

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

CECÍLIA MARLY SPIAZZI DOS SANTOS

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE DIFERENTES DOSES SUB-
ANESTÉSICAS DE CETAMINA SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE
OXIDATIVO EM CÉREBRO DE RATOS**

CRICIÚMA, NOVEMBRO DE 2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CECÍLIA MARLY SPIAZZI DOS SANTOS

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE DIFERENTES DOSES SUB-
ANESTÉSICAS DE CETAMINA SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE
OXIDATIVO EM CÉREBRO DE RATOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde para obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientadora: Dra. Alexandra Ioppi Zugno

CRICIÚMA, NOVEMBRO DE 2009

Dedico esse trabalho aos meus filhos, Emanuelle e Guilherme, que estiveram sempre ao meu lado, me incentivando em tudo que eu sempre quis ser e fazer e sendo para mim durante todos esses anos os pilares de minha vida pessoal e profissional. Obrigada por serem meus filhos e por terem desempenhado com tanto amor e compreensão esse papel, vocês agregaram outras pessoas ampliando os laços de união e construindo novos amores, Gaia, Rita, Nivaldo. Nunca será muito repetir que amo vocês.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Alexandra Ioppi Zugno minha orientadora, pelos ensinamentos deixados em minha memória, os quais podem ser traduzidos em palavras simples como respeito, dedicação e amizade.

Aos demais professores desse Programa de Pós-Graduação, pelas aulas que muito contribuíram para a construção do conhecimento.

Agradeço em especial a Samira do Laboratório de Neurociências pela inestimável ajuda, por sua dedicação, responsabilidade, competência, sempre com palavras de estímulo e por acreditar que tudo é “lindo demais” quando compartilhamos o saber.

A todos os integrantes do Laboratório de Neurociências. Certamente os méritos desse estudo são resultado de trabalho em equipe.

À Fran, secretária do Mestrado em Ciências da Saúde, que com simpatia, zelo e competência, soube orientar e resolver de imediato todos os problemas a ela dirigidos.

À Universidade do Extremo Sul Catarinense que possibilitou a realização deste projeto de pesquisa.

A Deus, em que tudo é possível.

**“Trabalhamos sob determinadas
suposições. Por exemplo: que o
conhecimento seja possível.”
Nietzsche.**

RESUMO

A esquizofrenia é um transtorno neuropsiquiátrico no qual os sintomas podem ser classificados como positivos e negativos, em que os primeiros são caracterizados por delírios e alucinações e os segundos, por embotamento e prejuízo social. Entretanto, os mecanismos envolvidos na doença ainda são pouco esclarecidos. Estudos prévios sugerem que espécies reativas de oxigênio têm um papel importante na fisiopatologia das doenças neurológicas e psiquiátricas. A administração de cetamina em doses sub-anestésicas em ratos vem sendo utilizada como um modelo animal de esquizofrenia. No presente estudo foram avaliados parâmetros de estresse oxidativo em cérebro de ratos após a administração de cetamina em doses sub-anestésicas. Foram usados ratos Wistar machos adultos com aproximadamente 90 dias de idade. Os animais receberam uma única injeção de cetamina [4, 10, ou 30 mg/kg intraperitoneal (i.p.)] ou salina (0,9%) i.p. Os animais foram mortos 30 min após a administração i.p., o cérebro foi rapidamente removido e dissecado em cerebelo, córtex pré-frontal, hipocampo, estriado e córtex. As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), a carbonilação de proteína e grupos sulfidríla de proteínas foram mensuradas como marcadores de estresse oxidativo. Em adição, as enzimas antioxidantes catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) foram mensuradas. Nossos resultados demonstram que houve um aumento na peroxidação lipídica e oxidação de proteína no cérebro de ratos, variando de acordo com as doses de cetamina administradas. A atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD também foi alterada. Em conclusão, nós observamos um aumento no dano oxidativo e uma diminuição na atividade das defesas antioxidantes enzimática no modelo animal de esquizofrenia. Esses dados podem explicar, ao menos em parte, o mecanismo fisiopatológico dessa grave doença mental psiquiátrica.

Palavras-chaves: esquizofrenia; estresse oxidativo; cetamina; radicais livres

ABSTRACT

Schizophrenia is a complex neuropsychiatry disorder in which symptoms can be classified as either positive, such as disillusions and hallucinations, or negative, such as blunted affect and social withdrawal. However, the mechanisms underly this disease are poorly understood. There is evidence that reative oxygen species play an important role in the pathogenesis of many diseases, particularly those which are neurological and psychiatric in nature. Ketamine has been used to induce a schizophrenia-like condition as an animal model to study this condition. In the present study we tested the effects of sub-anesthetic doses of ketamine on various parameters of oxidative stress in brain of rats. In this study we used adult rats with approximately 90 days old. Rats were given a single intraperitoneal (i.p.) injection of saline (0.9%) or ketamine (4, 10, or 30 mg/kg i.p.). The animals were killed by decapitation, the brain was removed, and cerebellum, prefrontal cortex, hippocampus, striatum and cerebral cortex were obtained. The thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), protein carbonyl and total thiol content were measured as markers of oxidative stress. Additionally, we evaluated the superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities the two major antioxidant enzymes. Our results indicate that lipid peroxidation and tissue protein oxidations were affected by varying sub-anesthetic doses of ketamine in multiple cerebral structures. Additionally, the activities of the antioxidant enzymes CAT and SOD were also found to be altered in most of the structures tested. In conclusion, we observed an increase in oxidatative damage evidenced by an increase in lipid peroxidation, oxidative protein damage and decreased in enzymatic defenses, in an animal model of schizophrenia. Given that oxidative stress could be related to schizophrenia, these findings may explain, at least in part, the mechanisms underlying this disease.

Key-words: schizophrenia; oxidative stress; ketamine; free radicals

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.2. FISIOPATOLOGIA E TRATAMENTO	10
1.2.1. DOPAMINA E ESQUIZOFRENIA	11
1.2.2. GLUTAMATO E ESQUIZOFRENIA	12
1.2.3. GABA E ESQUIZOFRENIA	15
1.2.4. SEROTONINA E ESQUIZOFRENIA	15
1.2.5. MODELOS ANIMAL DE ESQUIZOFRENIA	16
1.3. ESTRESSE OXIDATIVO E ESQUIZOFRENIA	18
2. OBJETIVO GERAL	22
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3. ARTIGO	24
3. DISCUSSÃO	47
REFERÊNCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

1.1. A ESQUIZOFRENIA

Os maiores transtornos mentais chamados de psicoses, são caracterizados por uma severa distorção da realidade e distúrbios na percepção, na função intelectual, no afeto (expressão da emoção), na motivação, nas relações sociais, e no comportamento motor. A esquizofrenia é um grave transtorno psicótico relativamente comum (Meyer & Quenzer, 2005).

A esquizofrenia é caracterizada por uma grande quantidade de sintomas que diferem entre os indivíduos na sua presença, frequência e severidade (Bowie & Harvey, 2006). Historicamente a esquizofrenia tem sido organizada em subtipos, classificada como catatônica (períodos alternados de imobilidade e exaltação da atividade motora), paranóide (desilusões características de grandeza ou perseguição), hebefrênica (emoções imaturas com comportamento desorganizado) e indiferenciado (casos que não satisfazem os critérios de outros subtipos) (Elkis, 2000). Essas categorias são baseadas nas observações de Emil Kraepelin no início dos anos 1900. Categorias similares são usadas no Manual Diagnóstico e Estatístico de Doenças Mentais (DSM IV – sigla do inglês) (Jorge, 2003).

Um segundo esquema de categorização usado é proveniente dos estudos de Crow (1980) e modificado mais recentemente por Andreasen et al. (1990) que classifica os sintomas como positivos e negativos. Os sintomas positivos da esquizofrenia incluem os mais dramáticos do transtorno, como delusões, alucinações, discurso desorganizado e comportamento bizarro. Os sintomas negativos são caracterizados por um declínio de funções normais e inclui redução do discurso (alogia), restrições na amplitude e intensidade da expressão emocional

(embotamento do afeto), perda da iniciativa e da motivação (avolição), acúmulo social, perda da capacidade de sentir prazer (anedonia) e prejuízo intelectual.

O diagnóstico da esquizofrenia é um tema central em psiquiatria, não somente pela dificuldade em se encontrar um marcador biológico que identifique o transtorno como tal, mas também pelo seu caráter incapacitante e evolutivo em indivíduos jovens. O impacto que a esquizofrenia causa na vida do indivíduo e de sua família é devastador e a melhor estratégia para evitar ou retardar tais efeitos ainda é o reconhecimento precoce dos sintomas e o tratamento incisivo dos surtos psicóticos (Shirakawa et al., 2001). Em adição, a esquizofrenia está associada a um significativo risco de suicídio (Harris & Barraclough, 1997; Inskip et al., 1998) em que a baixa qualidade de vida e a grande quantidade de comorbidades contribuem para elevadas taxas de mortalidade na doença (Pack, 2009).

Além disso, essa grave doença crônica possui uma importante carga em termos financeiros e sociais, não somente para o paciente, mas para a família, para os cuidadores e para a sociedade como um todo. No Brasil, a esquizofrenia ocupa 30% dos leitos psiquiátricos hospitalares, cerca de 100 mil leitos por dia e representa o segundo lugar das consultas psiquiátricas ambulatoriais (14%) e o quinto lugar na manutenção de auxílio doença. Na sociedade americana representa um custo anual de 33 a 40 bilhões de dólares (Kapczinski, 2004). De acordo com um estudo global feito através de uma metodologia preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pelo Banco Mundial que avalia anos de vida perdidos ajustados pela incapacidade (DALYs – sigla do inglês), a esquizofrenia causa um alto grau de incapacidade, o qual totaliza 1,1% do total de DALYs e 2,8% do total de anos de vida com incapacidade. Nesse mesmo relatório da OMS, a esquizofrenia é listada

como a oitava causa mundial em DALYs no grupo com idade entre 15 e 44 anos (WHO, 2001).

A literatura demonstra que a prevalência na esquizofrenia gera uma estimativa de aproximadamente 0,5% por ano. Os estudos sugerem também uma prevalência na ordem de 1%. Diversas estimativas de incidência nessa grave doença mental indicam a ocorrência aproximada de quatro casos novos por ano para uma população de 10.000 habitantes. A incidência real deve estar entre 1 e 7 casos novos para 10.000 habitantes por ano, dependendo do critério diagnóstico adotado na estimativa. Os estudos epidemiológicos adotados no Brasil originaram estimativas de incidência e prevalência semelhantes com as observadas em outros países. Nos diversos levantamentos epidemiológicos existem divergências de possíveis diferenças na prevalência de esquizofrenia entre os sexos, independentemente da metodologia aplicada. O começo da doença é mais precoce no homem do que na mulher. Entretanto, na presença de história familiar positiva para distúrbios psicóticos, a idade de início é mais precoce para ambos os sexos. Casos novos são raros antes da puberdade e depois dos 50 anos. As mulheres apresentam um curso mais brando da esquizofrenia, portanto, um melhor prognóstico e uma melhor possibilidade de adaptação social (Mari & Leitão, 2000).

1.2. FISIOPATOLOGIA E TRATAMENTO

Sua fisiopatologia completa é desconhecida, mas não existem mais dúvidas de que existem alterações anatômicas e bioquímicas cerebrais em sua gênese (Swerdlow et al., 1998). Vários fatores sugerem que a esquizofrenia seja um transtorno poligênico em que atuam vulnerabilidades ambientais e do neurodesenvolvimento (Lewis & Lieberman, 2000), levando a crer que existiria uma

“lesão adormecida” e dependendo dos estímulos-estresse ambientais somados a idade em que o indivíduo sofresse tais estímulos resultaria na manifestação da esquizofrenia (Farber et al., 1995). Estudos demonstraram a existência de desequilíbrios em vários sistemas neurotransmissores, levando a formação de algumas teorias para se explicar a esquizofrenia.

1.2.1. DOPAMINA E ESQUIZOFRENIA

A primeira teoria proposta para explicar a esquizofrenia foi a dopaminérgica, que propunha um aumento na ocupação dos receptores D_2 pela dopamina, assim os sintomas positivos da esquizofrenia estariam associados a uma hiperfunção dopaminérgica (Carlsson & Lindqvist, 1963). O fato dos primeiros antipsicóticos - antagonistas dopaminérgicos - demonstrarem eficácia para tratar os sintomas positivos da esquizofrenia, delírios e alucinações, somado com a capacidade das anfetaminas de desencadearem alterações comportamentais nos animais, que simulam os sintomas positivos da esquizofrenia, reforçam a ideia da teoria dopaminérgica. Atualmente é reconhecido que todas as medicações com propriedades antipsicóticas possuem algum nível de antagonismo dos receptores dopaminérgicos D_2 , levando a crer que a fisiopatologia da esquizofrenia se explicaria no sistema dopaminérgico. Porém, logo foi visto que este sistema não poderia explicar todo o espectro da esquizofrenia. Isto porque com o uso crônico de antipsicóticos observou-se que estes eram bastante efetivos para o tratamento dos sintomas positivos, mas não dos negativos, cognitivos e afetivos (que poderiam inclusive ser piorados por estas medicações em algumas situações) (Meltzer et al., 1989; Meyer, 2007; Nikam & Awasthi, 2008). Além disso, a medicação mais eficaz para o tratamento da esquizofrenia é a clozapina, que possui um perfil de afinidade

por receptores cerebrais diferente dos outros antipsicóticos tradicionais. Isto levou a uma busca de medicações que fossem mais eficazes, porém com menos efeitos colaterais que a clozapina, culminando na nova geração de antipsicóticos (Meltzer et al., 2003).

Assim, vários outros neurotransmissores, além da dopamina, começaram a ser estudados na fisiopatologia da esquizofrenia, como a serotonina, o ácido gama-aminobutírico (GABA), a noraepinefrina, os canabinóides endógenos e o glutamato, dentre outros.

1.2.2. GLUTAMATO E ESQUIZOFRENIA

O glutamato é um dos principais neurotransmissores estudados na esquizofrenia. Dentre as evidências científicas que levaram a pensar na participação do glutamato na fisiopatologia da esquizofrenia podemos destacar que foram encontrados níveis diminuídos de glutamato no líquido de pacientes com esse transtorno. Além disso, a fenciclidina (PCP da sigla em inglês) e a cetamina, duas drogas antagonistas do receptor glutamatérgico N-metil D-Aspartato (NMDA), provocam intensos sintomas semelhantes aos observados na esquizofrenia (Park e Holzman, 1992; Krystal et al., 1994). Entretanto, frente à grande diversidade clínica observada na esquizofrenia, tudo leva a crer que haja uma grande complexidade da fisiopatologia deste transtorno, envolvendo vários circuitos neurais (Laruelle & Innis, 1996; Abi-Dargham et al., 1998).

Em relação ao glutamato foram propostas duas teorias para explicar a sua participação na esquizofrenia: a teoria da hipofunção glutamatérgica (Kim et al., 1980) e a teoria da hiperfunção glutamatérgica (Deakin et al., 1989). A teoria da hipofunção glutamatérgica propõe que uma deficiência do receptor glutamatérgico

de áreas fronto-corticais cause um estímulo no sistema dopaminérgico (Kim et al., 1980; Carlsson & Svensson, 1990). A teoria da hiperfunção glutamatérgica propõe que haja uma hipofunção de receptores NMDA no córtex temporal, levando a uma tentativa de compensação do sistema glutamatérgico no córtex frontal, por meio de uma maior ativação de receptores ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico (AMPA), KAINATO e metabotrópicos; isto, somado a liberação provocada de outros neurotransmissores, como o a dopamina, levariam aos sintomas da esquizofrenia (Deakin et al., 1989; Simpson et al., 1998; Dursun & Deakin, 2001).

O sistema glutamatérgico atua como um controlador cortical da liberação de monoaminas, seja por um estímulo positivo através de neurônios glutamatérgicos ou através de neurônios GABAérgicos usados como “freio”, utilizando parcialmente vias de feedback do estriado e do tálamo (Carlsson et al., 2001). O sistema glutamatérgico é composto por receptores do tipo ionotrópicos e metabotrópicos. Sendo que os receptores ionotrópicos são divididos em: NMDA, AMPA e KAINATO (Figura 1). Cada um destes receptores com suas subunidades e sítios de ligação diferentes.

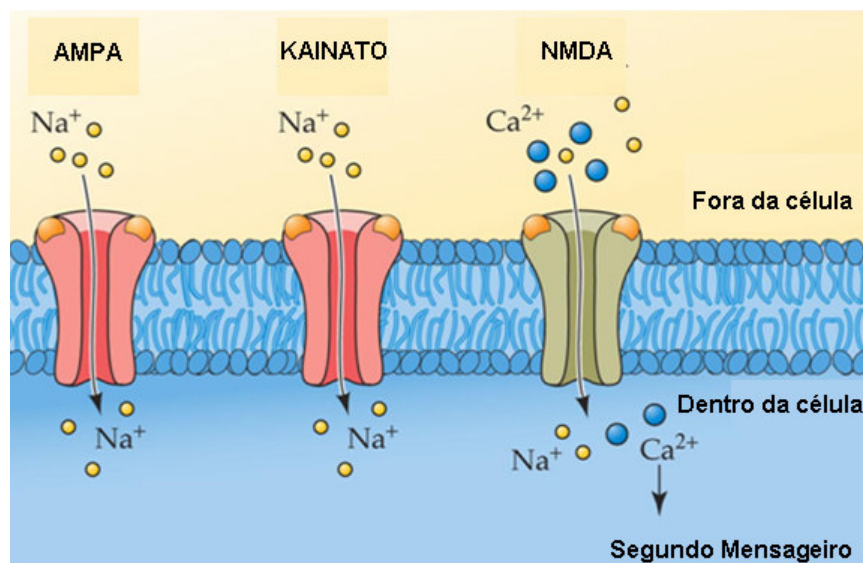


Figura 1. Receptores ionotrópicos de glutamato (Meyer & Quenzer, 2005).

A desregulação deste sistema pode causar tanto aumento quanto diminuição de monoaminas em determinadas áreas do cérebro, causando seu sintoma característico. Por exemplo, a diminuição de liberação de dopamina no córtex frontal, causada por uma hipofunção glutamatérgica, leva à formação de sintomas negativos. A complexidade com que o sistema glutamatérgico faz a regulação das monoaminas e sua própria é muito grande. Acredita-se que haja um sistema de inter-regulação entre os diferentes tipos de receptores glutamatérgicos e apesar do NMDA ser o mais focado, alterações em qualquer outro receptor pode mimetizar uma condição de funcionamento anormal do NMDA.

Alterações nos receptores metabotrópicos, apesar de teoricamente parecerem promissoras, ainda foram muito pouco estudadas. Os receptores do tipo Kainato estão alterados em diversas áreas corticais na esquizofrenia (Nishikawa et al., 1983), porém não foi descrita nenhuma alteração deste receptor em áreas subcorticais (Meador-Woodruff et al., 2001). Vários indícios apontam para uma diminuição da expressão do receptor tipo AMPA no lobo temporal médio, envolvendo alterações da expressão gênica da subunidade do receptor, levando a crer que este tipo de receptor possa estar alterado em outras áreas do cérebro (Menuz & Nicoll, 2008).

Foi observado que existem substâncias endógenas que causam uma hipofunção glutamatérgica; como o NAAG (N-acetilaspargilglutamato), que é encontrado em grandes concentrações nos cérebros dos mamíferos, (Coyle, 1997). Estudos *post-mortem* comparando cérebros de esquizofrênicos com de não-esquizofrênicos mostraram um aumento de NAAG no sistema límbico (Tsai et al., 1998; Moghaddam, 1994; Olney et al., 1999).

1.2.3. GABA E ESQUIZOFRENIA

Também foram observadas alterações no sistema GABAérgico, sendo relatado diminuição de neurônios GABAérgicos no sistema límbico e pré-frontal cortical de cérebros de pacientes esquizofrênicos *post-mortem* (Reynolds & Beasley, 2001). Praticamente todo sistema neuronal no cérebro contém neurônios GABAérgicos atuando em alguma forma de controle. Um déficit de neurônios GABAérgicos, causado por alguma lesão neonatal ou alteração do neurodesenvolvimento, causaria uma sobrecarga de ativação neuronal nos indivíduos esquizofrênicos, contribuindo para a formação dos sintomas (Carlsson et al., 2001).

1.2.4. SEROTONINA E ESQUIZOFRENIA

Quanto ao sistema serotoninérgico, existem estudos de imagem e *post-mortem* que sugerem não só hiperatividade dopaminérgica, mas também deficiência na função do receptor de serotonina (5-HT). Em adição, um aumento na densidade de 5-HT_{1A} nas regiões pré-frontal e temporal; havendo diminuição da densidade de 5-HT_{2A} nas regiões frontal e parietal (Hashimoto et al., 1991). Csernansky e colegas (1990) encontraram uma correlação positiva entre 5-HIAA (um metabólito de 5-HT) no fluido cérebro espinhal e taxas de sintomas negativos, o que pode sugerir que o aumento da função de 5-HT esteja associado a este sintoma. Aparentemente, o papel da serotonina na esquizofrenia parece ter sua importância dentro uma visão maior na relação das várias monoaminas, pois como fator isolado não parece ter um papel decisivo.

Desde a postulação da teoria dopaminérgica foi ficando claro que a esquizofrenia não poderia ser explicada somente por uma via neuronal; mas sim por complexas alterações no neurodesenvolvimento, lesões intra-uterinas, lesões neonatais e distúrbios de expressão gênica, que englobam diversos neurotransmissores e circuitos neuronais.

1.2.5. MODELOS ANIMAIS DE ESQUIZOFRENIA

O desenvolvimento de modelos animais tem sido uma importante ferramenta para o estudo de novos sistemas intracelular que podem estar envolvidos na esquizofrenia. Entretanto, a esquizofrenia apresenta um curso clínico complexo e os modelos animais mimetizam apenas alguns aspectos da doença. Várias drogas já foram utilizadas nos modelos animais para se estudar a esquizofrenia. O modelo animal que utiliza antagonistas do receptor NMDA talvez seja o melhor modelo animal existente para esquizofrenia, geralmente usando substâncias como a fenciclidina (PCP – sigla do inglês) e a cetamina (Krystal et al., 1994).

O grande interesse desses dois fármacos para o estudo da esquizofrenia está baseado em dois aspectos principais: a administração aguda de PCP ou cetamina causa sintomas cognitivos e afetivos muito semelhantes às observadas na esquizofrenia, e a administração dessas duas drogas em pacientes esquizofrênicos exacerba esses sintomas. É importante destacar que a administração subanestésica em voluntários saudáveis faz com que estes experimentem sintomas tanto positivos (alucinação, desorganização conceitual, comportamento bizarro) quanto negativos (embotamento afetivo, prejuízo emocional, retardo motor) quando injetada em altas doses. Neste mesmo estudo os efeitos psicóticos causados pela administração de cetamina desapareciam quando o efeito da droga acabava. Entretanto, um estudo

subsequente sobre o abuso de cetamina demonstrou que os sintomas dissociativos e esquizotípicos (distorção perceptual, ideação mágica, pensamento transtornado) eram ainda presentes três dias após o mais recente uso (Curran & Morgan, 2000).

Como acima citado, o principal alvo molecular para ambos PCP e cetamina é o receptor NMDA. O receptor NMDA é um importante receptor ionotrópico do neurotransmissor excitatório, glutamato. PCP e cetamina são antagonistas não-competitivos no complexo do receptor de NMDA, isto é, eles bloqueiam o receptor em um sítio diferente do local a que o glutamato ou o NMDA (agonista exógeno do receptor NMDA) se ligam. De fato, o sítio de ligação de cetamina e PCP é dentro do canal iônico do receptor (Figura 2). O receptor NMDA é altamente distribuído no cérebro e tem um papel chave na sinalização de glutamato (Meyer & Quenzer, 2005).

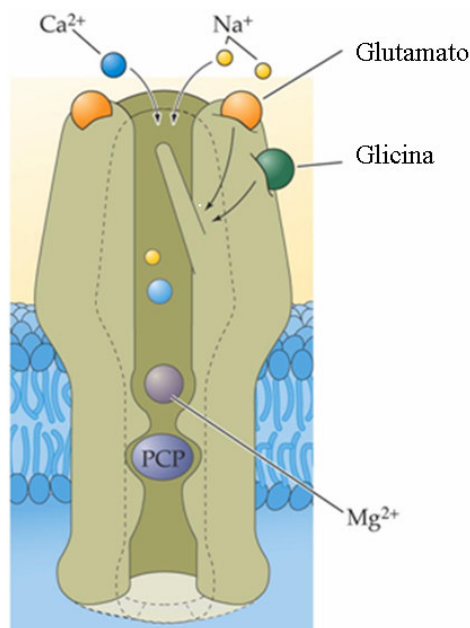


Figura 2: Receptor de glutamato do tipo NMDA. O receptor pode ser bloqueado por íons de Mg²⁺ durante o potencial de repouso neuronal e também pelo uso de drogas como a fenciclidina (PCP) ou cetamina (Meyer & Quenzer, 2005).

O modelo que utiliza a anfetamina foi muito utilizado e ajudou a corroborar a hipótese dopaminérgica, pois provoca liberação de dopamina e, conseqüentemente,

psicose (Liang & Rutledge, 1982; Sulzer et al., 1995; Kahlig et al., 2005). Porém logo foi ficando claro que o modelo utilizando anfetaminas para causar psicose não seria adequado para se estudar todo fenômeno, pois o distúrbio provocado pela anfetamina só demonstra os sintomas positivos da esquizofrenia, não atuando em outras esferas sintomatológicas da enfermidade (Bell, 1965; Kramer et al., 1967; Snyder, 1973; Lipska et al., 1993). Logo se começou a argumentar se o sistema dopaminérgico não estaria com sua função aumentada o tempo todo, mas parece que na verdade há uma hiporresponsividade dopaminérgica, com aumento de sua função somente na exacerbação da doença – psicose (Abi-Dargham et al., 1998; Laruelle & Innis, 1996).

Estudos com antipsicóticos utilizando o modelo de antagonistas do NMDA mostraram que, principalmente os antipsicóticos atípicos podem antagonizar várias alterações comportamentais provocadas pelos antagonistas do NMDA (Duncan et al., 2000). Isto abriu um novo campo na fisiopatologia da esquizofrenia. Os antipsicóticos atípicos são conhecidos por atuarem tanto em sintomas positivos quanto negativos, também provocam muito menos efeitos extra-piramidais. Até então a pesquisa de antipsicóticos seguia o antagonismo dos receptores D_2 e $5HT_{2A}$; porém a clozapina, que tem fracas ações em D_1 e D_2 (com antagonismo potente de receptores serotoninérgicos, adrenérgicos, histaminérgicos e muscarínicos; sendo o modelo de antipsicótico atípico) é dos antipsicóticos que mais inibiram alterações comportamentais em ratos provocadas pela cetamina (Duncan et al., 2000).

1.3. ESTRESSE OXIDATIVO E ESQUIZOFRENIA

Radical livre é qualquer espécie química capaz de existência independente que contém um ou mais elétrons desemparelhados. Pode ser formado pela perda de

um elétron de um não-radical ou no caso do rompimento de uma ligação covalente, caso cada um dos átomos envolvidos fiquem com um elétron. Essa situação energeticamente instável é o que confere alta reatividade a essas espécies (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Espécies ativas de oxigênio (EAO) é um termo freqüentemente utilizado para incluir radicais de oxigênio ($O_2^{\cdot-}$ e OH^{\cdot}), mas também derivados não radicais de O_2 (H_2O_2 , O_3) (Halliwell & Gutteridge, 1999). Além dessas, existem ainda espécies ativas de nitrogênio (EAN), que têm como principais representantes o óxido nítrico (NO^{\cdot}) e peroxinitrito (Sakar & Bhaduri, 2001; Bowler & Crapo, 2002).

Em condições normais (organismos saudáveis), a produção de EAO é em maior parte balanceada pelos sistemas de defesas antioxidantes no organismo. Quando um desequilíbrio ocorre entre a produção de oxidantes e a defesas antioxidantes, cria-se um estado que se denomina estresse oxidativo (Cross et al., 2002). Assim, o termo estresse oxidativo é usado para se referir à situação na qual a geração de espécies reativas é maior do que a capacidade de produção das defesas antioxidantes disponíveis. Podem resultar tanto em uma diminuição das defesas antioxidantes quanto de uma produção aumentada de oxidantes, bem como da liberação de metais de transição ou uma combinação de qualquer um desses fatores (Halliwell, 2001). Portanto, o estresse oxidativo se refere à situação onde há um desequilíbrio na produção das EAO e as defesas antioxidantes, podendo causar dano em todos os tipos de biomoléculas, incluindo DNA, proteínas e lipídeos (peroxidação de lipídeos). O estresse oxidativo severo produz danos irreversíveis que leva à morte celular, podendo ocorrer tanto por necrose quanto por apoptose (Halliwell & Gutteridge, 1999).

EAO têm um papel importante na fisiopatologia de diversas doenças neuropsiquiátricas (Bem-Shachar, 2002; Calabrese et al., 2001). O cérebro é em particular vulnerável à produção de EAO, pois metaboliza 20% do oxigênio total do corpo e por isso possui uma capacidade antioxidante limite (Floyd, 1999). Em situações onde a geração de radicais livres excede a capacidade de defesa antioxidante, o estresse oxidativo pode levar a degradação da membrana, disfunção e apoptose neuronal.

Isso pode ser relevante para a fisiopatologia da esquizofrenia, pois estudos clínicos têm demonstrado aumento de radicais livres em pacientes com diagnóstico para esquizofrenia (Zhang et al., 2006; Yao et al., 2001; Treasaden & Puri, 2008). Além disso, estudos *post-mortem* têm demonstrado o envolvimento da disfunção mitocondrial no cérebro de pacientes esquizofrênicos (Bem-Shachar et al., 2008; Regenold et al., 2008; Rollins et al., 2009), sugerindo que disfunção mitocondrial pode ser o mecanismo fisiopatológico desta doença, sendo que a mitocôndria é a maior fonte de EAO. Muitos estudos mostram atrofia cerebral e alargamento dos ventrículos em função de perda celular em pacientes esquizofrênicos. Outras áreas cerebrais também apresentam diminuição de volume como gânglios basais, lobo temporal e muitas regiões do sistema límbico, como o hipocampo (DeLisi et al., 1991). Diferenças estruturais nessas áreas também ocorrem entre gêmeos monozigóticos, quando apenas um deles apresenta esquizofrenia (Suddath et al., 1990) (Figura 3).

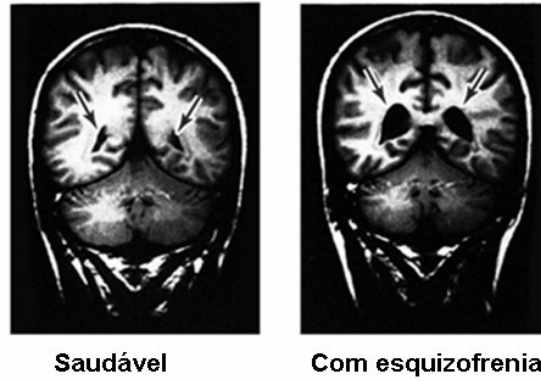


Figura 3. Imagens cerebrais de um casal de gêmeos idênticos. Um saudável (direita) e outro com esquizofrenia (esquerda) (Meyer & Quenzer, 2005).

Em adição, numerosos estudos demonstram que as células hipocâmpais de pacientes esquizofrênicos são desorganizadas e atrofiadas quando comparadas com voluntários saudáveis (Liu et al., 2007; Casanova et al., 2002) (Figura 4). O estresse oxidativo pode ser um importante link para explicar essa perda e atrofia celular observada em pacientes esquizofrênicos.

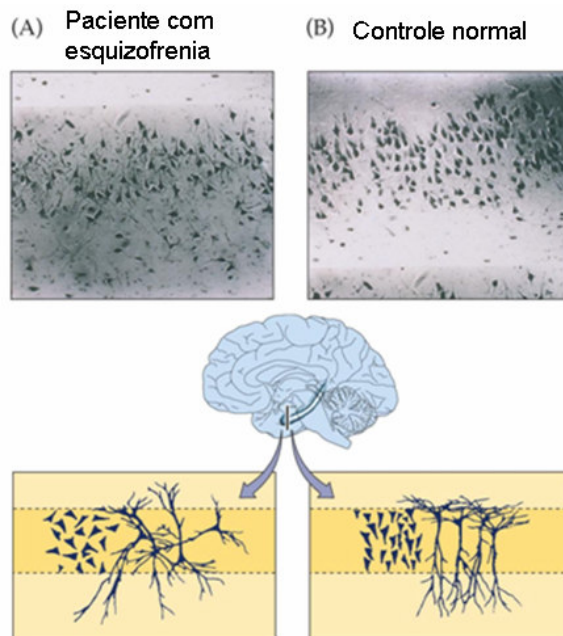


Figura 4. Atrofia e desorganização neuronal observada em pacientes esquizofrênicos (Meyer & Quenzer, 2005).

As estratégias celulares de defesa contra as EAO que incluem defesas enzimáticas e não enzimáticas são encarregadas de manter baixas as concentrações de EAO (Lesuy, 2002). Para evitar a formação, assim como reparar os danos oxidativos em tecidos e macromoléculas, todos os organismos possuem um complexo sistema de defesa antioxidante (Molina et al., 2003). Algumas destas defesas enzimáticas são a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (Ames et al., 1993).

Apesar de várias informações sobre estresse oxidativo na esquizofrenia, as diferentes vias bioquímicas que podem estar mediando o estresse oxidativo foram pouco exploradas.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de diferentes doses sub-anestésicas de cetamina sobre parâmetros de estresse oxidativo no cérebro de ratos Wistar.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar os efeitos da administração de diferentes doses sub-anestésicas de cetamina na produção de espécies ativas ao ácido tiobarbitúrico em tecido cerebral de ratos Wistar.
2. Avaliar os efeitos da administração de diferentes doses sub-anestésicas de cetamina na produção de carbonilação de proteínas em tecido cerebral de ratos Wistar.
3. Avaliar os efeitos da administração de diferentes doses sub-anestésicas de cetamina no conteúdo de elementos sulfidril em tecido cerebral de ratos Wistar.

4. Avaliar os efeitos da administração de diferentes doses sub-anestésicas de cetamina na atividade da superóxido dismutase em tecido cerebral de ratos Wistar.
5. Avaliar os efeitos da administração de diferentes doses sub-anestésicas de cetamina na atividade da catalase em tecido cerebral de ratos Wistar.

3. ARTIGO

(Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry)

DIFFERENT SUB-ANESTHETIC DOSES OF KETAMINE INCREASE OXIDATIVE STRESS IN THE BRAIN OF RATS

Larissa de Oliveira ¹; Cecília Marly dos S. Spiazzi¹; Thaize Bortolin ¹; Leila Canever ¹;
Fabricia Petronilho ²; Franciele Gonçalves Mina ²; Felipe Dal-Pizzol ²; João Quevedo
¹; Alexandra I. Zugno ¹.

1. Universidade do Extremo Sul Catarinense, Laboratório de Neurociências,
Criciúma, SC – Brasil.

2. Universidade do Extremo Sul Catarinense, Laboratório de Fisiopatologia
Experimental, Criciúma, SC – Brasil.

Abstract

Schizophrenia is a complex neuropsychiatric disorder in which symptoms can be classified as either positive, such as delusions and hallucinations, or negative, such as blunted affect and social withdrawal. However, the mechanisms underlying this disease are poorly understood. There is evidence that reactive oxygen species (ROS) play an important role in the pathogenesis of many diseases, particularly those which are neurological and psychiatric in nature. In the present study we tested the effects of sub-anesthetic doses of ketamine on various parameters of oxidative stress in the brain of rats. Our results indicate that lipid peroxidation and tissue protein oxidation were affected by varying sub-anesthetic doses of ketamine in multiple cerebral structures. Additionally, the activity of the antioxidant enzymes CAT and SOD was measured and was also found to be altered in most of the structures tested. In conclusion, we observe an increase in oxidative damage marked by an increase in lipid peroxidation, oxidative protein damage and a decrease in enzymatic defenses, in an animal model of schizophrenia. Given that oxidative stress could be related to schizophrenia, these findings may explain, at least in part, the mechanisms underlying in this disease.

Key words: Schizophrenia, oxidative stress, ketamine, free radicals.

Introduction

Schizophrenia is a disease defined by a constellation of symptoms that can differ across individuals with respect to their presence, frequency, severity, and topography. This heterogeneity of symptoms has complicated the search for the etiology of the disease as well as for the means of its treatment (Bowie and Harvey, 2006). Because of the pervasiveness of associated deficits and the fact that it frequently runs a life-long course, it is among the top ten leading causes of disease-related disability in the world (Tandon et al., 2008).

The signs and symptoms of schizophrenia include alterations in aspects of consciousness, awareness, orientation, and perception, as well as cognitive impairments that affect thought and language, and neurological soft signs (Bowie and Harvey 2006). According to DSM-IV criteria (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - Fourth Edition), the symptoms of schizophrenia are classified as positive symptoms, such as delusions and hallucinations, and negative symptoms, such as blunted affect and social withdrawal.

The mechanisms of this disease are poorly understood. A dysfunction of the dopaminergic system has been postulated to be a contributing factor based in part on the functional roles of dopamine with respect to physiological and illness-associated cognitive performance, especially working memory, as well as reward circuitry. (Meinsenzahl et al., 2007). This hypothesis was widely accepted for decades based on the observations that the symptoms caused by the abuse of stimulants (such as amphetamines and cocaine) resemble the positive symptoms of schizophrenia and that the antipsychotic drugs used to treat the disorder, such as haloperidol and chlorpromazine, have in common an ability to block dopamine D2 receptors. The

binding affinity of the receptors for these drugs correlates in a highly significant fashion to their clinical potency in ameliorating psychosis (Tsai and Coyle, 2002). A recent study reported abnormalities in glutamate receptors, suggesting that an interaction between different neurotransmitter systems may also be important (Goff and Coyle, 2001). Typically, antipsychotic medications that block dopamine D2 receptors are effective in treating the psychosis associated with schizophrenia but have limited effects on the negative symptoms and cognitive impairments. Considerable research has demonstrated that noncompetitive *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonists, such as the dissociative anesthetics phencyclidine and ketamine, reproduce the cardinal symptomatic features of schizophrenia (Tsai and Coyle, 2002).

Many animal models have been utilized to try to better understand this complex disease. In humans, ketamine can produce hallucinations and paranoia similar to the positive symptoms of schizophrenia (Hunt et al., 2006). Ketamine can also produce social withdrawal, poverty of speech, and blunted affect resembling the negative symptoms of the disease (Adler et al 1999; Krystal et al 1994). Because of these properties, ketamine has been used to induce a schizophrenia-like condition as an animal model in which to study this condition.

Considerable research has shown that reactive oxygen species (ROS) have an important role in the pathogenesis of many diseases, especially in neurological and psychiatric diseases (Takuma et al., 2004). Oxidative stress may be a common pathogenic mechanism underlying many major psychiatric disorders as the brain has comparatively greater vulnerability to oxidative damage (Ng et al., 2007). In this context, it has already been reported that free radicals are elevated in patients diagnosed with schizophrenia (Lohr and Browning, 1995; Mahadik and Mukherjee,

1996; Reddy e Yao, 1996; Yao *et al.*, 1998, Fendri *et al.*, 2006). More recently, Young and colleagues (2007) reported that there was an increase in protein carbonyl groups as well as damage to the DNA in schizophrenic patients, suggesting that an oxidative alteration had occurred. Data from the literature shows that activities of the antioxidant enzymes SOD and GSH-Px were decreased and levels of MDA were elevated in patients with all forms of schizophrenia studied as compared to normal controls (Zhang *et al.*, 2006).

Given that oxidative stress in the brain has been proposed to play a role in the etiology of neuropathic disorders, in the present study we examined the effects of sub-anesthetic doses of ketamine on parameters of oxidative stress such as thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), carbonyl and sulfhydryl content of protein, and catalase and superoxide dismutase activities in the brain of rats.

Materials and Methods

Animals

Male adult (90-day-old) Wistar rats weighting 300 g were obtained from our breeding colony. The animals were housed five to a cage with food and water available *ad libitum* and were maintained on a normal 12-h light/dark cycle (lights on at 7:00 AM). This study was performed in accordance with the Brazilian Society for Neuroscience and Behavior (SBNeC) recommendations for animal care and with the approval of Ethics Committee from Universidade do Extremo Sul Catarinense.

Acute administration of ketamine

A single injection of sub-anesthetic doses of ketamine (4, 10 or 30 mg/kg, intraperitoneal) or saline (0.9%) was given to rats, and, 30 minutes after

administration, the animals were killed by decapitation, the brain was removed, and the cerebellum, prefrontal cortex, hippocampus, striatum and cerebral cortex were obtained.

Tissue preparation

Brain structures were homogenized according to the buffer requirements of each assay. For total thiol and carbonyl content determinations, the striatum was homogenized with 20 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4, containing 140 mM KCl. For measurement of the antioxidant enzymes CAT, the homogenate was dissolved in 10 mM potassium phosphate buffer, pH 7.6, and for SOD activity assays, in 50 mM Tris-HCl buffer containing 1.0 mM EDTA, pH 8.2. Homogenates were centrifuged at 750 g for 10 min at 4°C. The pellet was discarded, and the supernatant was immediately separated and used for the measurements.

TBARS assay

TBARS is a measurement of lipid peroxidation and was determined as described by Ohkawa (1979). Briefly, homogenates in 1.15% KCl were mixed with 20% trichloroacetic acid and 0.8% thiobarbituric acid and heated in a boiling water bath for 60 min. TBARS was determined by the absorbance at 535 nm. The results were reported as nmol of malonaldehyde per mg of protein (nmol/mg protein).

Protein Carbonyl Content

Oxidatively modified proteins present an enrichment of carbonyl content (Stadtman, 1990). In this study, carbonyl content was assayed by a method based on the reaction of protein carbonyls with dinitrophenylhydrazine forming

dinitrophenylhydrazone, a yellow compound, measured spectrophotometrically at 370 nm. Briefly, 100 ml of homogenate were added to plastic tubes containing 400 ml of 10 mM dinitrophenylhydrazine (prepared in 2 M HCl). This was kept in the dark for 1 h and vortexed each 15 min. After that, 500 ml of 20% trichloroacetic acid were added to each tube. The mixture was vortexed and centrifuged at 1,000 g for 3 min. The supernatant obtained was discarded. The pellet was washed with 1 ml ethanol:ethyl acetate (1:1, v/v), vortexed, and centrifuged at 1,000 g for 3 min. This washing procedure was repeated once more and, after centrifugation, the supernatant was discarded and the pellet resuspended in 600 ml of 6 M guanidine (prepared in a 20 mM potassium phosphate solution pH 2.3). The sample was vortexed and incubated at 60°C for 15 min. After that, it was centrifuged at 1,000 g for 3 min and the absorbance was measured at 370 nm (UV) in a quartz cuvette. Results were reported as nmol of carbonyl content per mg of protein (nmol/mg protein).

Total thiol content

This assay is based on the reduction of 5,5 -dithio-bis (2- nitrobenzoic acid) (DTNB) by thiols, which in turn become oxidized (disulfide), generating a yellow derivative (TNB) whose absorption is measured spectrophotometrically at 412 nm (Aksenov and Markesbery, 2001). Briefly, 50 ml of homogenate was added to 1 ml of PBS buffer pH 7.4 containing 1 mM EDTA. Then 30 ml of 10 mM DTNB, prepared in a 0.2 M potassium phosphate solution pH 8.0, was added. Subsequently, the mixture was incubated for 30 min incubation at room temperature in a dark room. Absorption was measured at 412 nm. Results were reported as nmol of TNB per mg of protein (nmol/mg protein).

Superoxide Dismutase Assay

This method for the assay of SOD activity is based on the capacity of pyrogallol to autoxidize, a process highly dependent on O_2^{-2} ; a substrate for SOD (Marklung, 1985). The inhibition of autoxidation of this compound thus occurs when SOD is present, and the enzymatic activity can be then indirectly assayed spectrophotometrically at 420 nm, using a doublebeam spectrophotometer with temperature control. A calibration curve was performed using purified SOD as the standard, in order to calculate the specific activity of SOD present in the samples. A 50% inhibition of pyrogallol autoxidation is defined as 1 unit of SOD, and the specific activity is represented as units per mg of protein.

Catalase assay

CAT activity was assayed using a double-beam spectrophotometer with temperature control. This method is based on the disappearance of H_2O_2 at 240 nm in a reaction medium containing 20 mM H_2O_2 , 0.1% Triton X-100, 10 mM potassium phosphate buffer, pH 7.0, and 0.1– 0.3 mg protein/ml (Aebi, 1984). One CAT unit is defined as 1 mol of hydrogen peroxide consumed per minute, and the specific activity is reported as units per mg protein.

Protein determination

Protein was measured by the Lowry method (1951) using bovine serum albumin as a standard.

Statistical analysis

Data were analyzed by the Student's *t*-test or by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test when the *F*-test was significant. All analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software. A value of $p < 0.05$ was considered to be significant.

Results

In this study, we investigated whether lipid peroxidation, as determined by assaying TBARS, and tissue protein oxidation, as measured by both sulfhydryl and carbonyl content, were affected by different sub-anesthetic doses of ketamine. Figure 1 shows that TBARS increases significantly in the cerebellum [$F_{(3-13)} = 9.250$; $p < 0.05$], pre-frontal cortex [$F_{(3-12)} = 15.787$; $p < 0.05$], hippocampus [$F_{(3-14)} = 6.365$; $p < 0.05$], striatum [$F_{(3-16)} = 5.143$; $p < 0.05$] and cerebral cortex [$F_{(3-13)} = 6.845$; $p < 0.05$] administration of 4 mg/kg ketamine. We similarly observed an increase in TBARSs in the cerebellum, striatum and pre-frontal cortex after an injection of 10 mg/kg ketamine (figure 1 A). These results indicate that lipid peroxidation is stimulated in a rat model of induced schizophrenia.

To investigate oxidative damage to proteins, we evaluated the carbonyl and sulfhydryl content of brain homogenates. Figure 2 shows an increase in carbonyl content at ketamine doses of 10 mg/kg in the hippocampus [$F_{(3-13)} = 16.764$; $p < 0.05$] and estriatum [$F_{(3-15)} = 6.153$; $p < 0.05$] as well as at ketamine doses of 30 mg/kg in hippocampus. We observed a decrease in the prefrontal cortex at 30 mg/kg ketamine. Figure 3 shows that the sulfhydryl content was decreased at 4 mg/kg ketamine in the hippocampus [$F_{(3-12)} = 55.34$; $p < 0.01$] and cerebral cortex [$F_{(3-8)} = 155.33$; $p < 0.01$], at 10 mg/kg in the cerebellum [$F_{(3-13)} = 242.24$ $p < 0.05$],

hippocampus, striatum [$F_{(3-12)}= 3.128$; $p<0.05$] and cerebral cortex and at 30 mg/kg ketamine in the cerebellum, striatum and cerebral cortex.

Next, we examined the activities of the antioxidant enzymes CAT and SOD in the same cerebral structures. Figures 4 and 5 show that these activities were altered in all structures tested. Figure 4 shows that SOD activity was decreased in all doses tested in the pre-frontal cortex [$F_{(3-10)}= 10.34$; $p<0.05$], cerebellum [$F_{(3-12)}= 2.83$; $p<0.05$], hippocampus [$F_{(3-11)}= 9.74$; $p<0.05$] and striatum [$F_{(3-12)}= 6.46$; $p<0.05$]. We also observed an increase in the cerebral cortex at 30 mg/kg ketamine [$F_{(3-10)}= 12.87$; $p<0.05$]. CAT activity (figure 5) is decreased in all doses tested in the cerebellum [$F_{(3-13)}= 19.83$; $p<0.01$] and pre-frontal cortex [$F_{(3-15)}= 4.16$; $p<0.05$], as well as decreased at 10 mg/kg ketamine in the hippocampus [$F_{(3-15)}= 4.73$; $p<0.05$] and at 30 mg/kg ketamine in the cerebral cortex [$F_{(3-12)}= 2.08$; $p<0.05$]. We did not observe any alteration in CAT activity in the striatum [$F_{(3-15)}= 1.05$; $p>0.05$] at these doses.

Discussion

Schizophrenia is a complex disease that manifests with a heterogeneous profile across patients. An important clinical distinction involves negative and positive symptoms (Bowie e Harvey, 2006). Recent studies have shown that the blockade of NMDA receptors in adult animals mimics the symptoms of schizophrenia, and this approach has thus gained popularity as a model in which to study this disease. Supporting this are the findings that antagonizing NMDA receptors in schizophrenic patients exacerbates some psychotic symptoms and has psychotomimetic effects in normal humans (Krystal et al. 1994). In rodents and monkeys, acute sub-anesthetic doses of NMDA antagonists produce a schizophrenia-like symptomatology, including

hyperlocomotion, enhanced stereotyped behaviors, cognitive and sensorimotor gating deficits, and impaired social interactions (Lipska and Weinberger, 2000, Keilhoff et al., 2004; Pietraszek, 2003; Bressan e Pilowskv, 2003)

In the present study, rats were submitted to different sub-anesthetic doses of ketamine, an NMDA antagonist which induces symptoms similar to those of schizophrenia. We then studied the effect of these different doses of ketamine on parameters of oxidative stress in various regions of the brain. While the pathogenesis of schizophrenia remains unknown, evidence has indicated that there may be a relationship between oxidative stress and the disease (Reddy e Yao, 1996).

Oxidative stress is manifested as an increase in lipid peroxidation end-products, DNA (and often RNA) base oxidation products and oxidative protein damage (Halliwell 2001; Halliwell, 2006). It is an important event that has been related to the pathogenesis of many diseases affecting the central nervous system (CNS), such as neurodegenerative disorders, Parkinson and Alzheimer's diseases (Fendri *et al* 2006), epilepsy, sclerosis, dementia and bipolar disorder (Halliwell, 2001).

The data presented in this study demonstrate that sub-anesthetic doses of ketamine at 4 and 10 mg/kg increased TBARS, indicating an increase in lipid peroxidation. Our data corroborate evidence from human studies showing an elevation in lipid peroxidation products in non-treated schizophrenic patients (Arvindakshan *et al.*, 2003; Mahadik *et al.*, 1998; Petronijevic *et al.*, 2003; Srivastava *et al.*, 2001).

We also demonstrated an increase in the carbonyl content and a decrease in the sulfhydryl content of protein, two parameters used to evaluate protein damage, in treated animals when compared to the control group. Protein oxidation is increased

in neurodegenerative disorders, advanced age and diseases such as Alzheimer's, Huntington's and Parkinson (Butterfield e Kanski, 2001). Our results suggest that protein damage is also related to the pathogenesis of schizophrenia. Recent studies showed increased levels of various specific biomarkers of oxidative stress in plasma from schizophrenic patients (Dietrich-Muszalska et al., 2009; Dietrich-Muszalska and Olas, 2009). This group also showed that levels of homocysteine in plasma was higher and that levels of glutathione, cysteine and cysteinylglycine were decreased in patients compared with the control group, suggesting that the amount of carbonyl groups and 3-nitrotyrosine in plasma proteins may be important indicators of protein damage in vivo in schizophrenia (Dietrich-Muszalska et al., 2009; Dietrich-Muszalska and Olas, 2009). Treasaden and Puri (2008) suggested that there is an increase in cerebral mitochondrial oxidative phosphorylation, which leads to the formation of superoxide radicals and other reactive oxygen species, in schizophrenic patients with a history of serious and dangerous violent offenses.

Finally, we investigated the effect of sub-anesthetic doses of ketamine on enzymatic antioxidant defenses in the brain of rats by determining SOD and CAT activities. We observed that ketamine decreased the activity of both of these enzymes in almost all structures tested, indicating an effect on another important biomarker of oxidative stress in the brain.

The pathophysiology of schizophrenia is still poorly understood; however the increase in lipid peroxidation, oxidative protein damage and the decrease in enzymatic defenses observed in an animal model of induced schizophrenia indicate that oxidative stress could be related to the development of this disease and these findings may explain, at least in part, the mechanisms which underlie it.

Acknowledgements

This research was supported by grants from CNPq, FAPESC, Instituto Cérebro e Mente and UNESCO to AIZ, FDP, and JQ. JQ and FDP are CNPq Research Fellows.

References

- Adler CM, Malhotra AK, Elman I, Goldberg T, Egan M, Pickar D, Breier A. Comparison of ketamine-induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1999; 156:1646– 1649.
- Aebi H. Catalase, in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105:121–126
- Aksenov MY, Markesbery WR. Change in thiol content and expression of glutathione redox system gene in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2001; 302:141–145.
- Arvindakshan M, Sitasawa S, Debsikdar V, Ghate M, Evans D, Horrobin DF, Bennett C, Ranjekar PK, Mahadik SP. Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never-medicated and medicated schizophrenia patients. *Biol. Psychiatry*; 2003; 53:56-64.
- Bowie CR, Harvey PD. Schizophrenia from neuropsychiatry perspective. *Mt. Sinai J. Med.* 2006; 73:993-998.

Bressan RA, Pilowsky LS. Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. Rev. Bras. Psiquiatr. 2003; 25:177-183.

Butterfield DA, Kanski J. Brain protein oxidation in age-related neurodegenerative disorders that are associated with aggregated proteins. Mech. Ageing and Dev. 2001; 122:945-962.

Dietrich-Muszalska A, Olas B, Głowacki R, Bald E. Oxidative/Nitrative Modifications of Plasma Proteins and Thiols from Patients with Schizophrenia Neuropsychobiology 2009; 59:1–7.

Dietrich-Muszalska A, Olas B, Modifications of blood platelet proteins of patients with schizophrenia. Platelets 2009; 20:90-96.

Fendri C, Mechri A, Khiari G, Othman A, Kerkeni A, Gaha L. Oxidative stress involvement in schizophrenia pathophysiology: a review. Encephale. 2006; 32:244-252.

Grace AA, Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. Neuroscience 1991; 41, 1 –24.

Goff DC, Coyle JT. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. Am. J. Psychiatry 2001; 158, 1367– 1377.

Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J. Neurochem.* 2006; 97:1634-1658.

Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. Therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs. Aging.* 2001; 18:685-716.

Hunt MJ, Raynaud B, Garcia R. Ketamine dose-dependently induces high-frequency oscillations in the nucleus accumbens in freely moving rats. *Biol. Psychiatry.* 2006; 60:1206-1214.

Keilhoff G, Becker A, Grecksch G, Wolf G, Bernstein HG. Repeated application of ketamine to rats induces changes in the hippocampal expression of parvalbumin, neuronal nitric oxide synthase and cFOS similar to those found in human schizophrenia. *Neuroscience.* 2004; 126: 591-598.

Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Charney DS. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen. Psychiatry.* 1994; 51:199-214.

Lipska BK and Weinberger DR. To Model a Psychiatric Disorder in Animals: Schizophrenia As a Reality Test. *Europsychopharmacology*; 2000 23: 223-239.

Lohr JB, Browning JA. Free radical involvement in neuropsychiatry illnesses. *J. Psychopharmacol Bull.* 1995; 31:159-65.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193:265-267.

Mahadik SP, Mukherjee S. Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophrenia Research* 1996; 10:1-17.

Mahadik SP, Mukherjee S, Scheffer R, Correnti EE, Mahadik JS. Elevated plasma lipid peroxides at the onset of nonaffective psychosis. *Biological Psychiatry* 1998; 43:674-679.

Marklund SL. Pyrogallol autoxidation. In: Greenwald RA (ed) *Handbook for oxygen radical research*. CRC Press, Boca Raton, pp 243–247, 1985.

Meinsenzahl EM, Schmitt GJ, Scheuerecker J, Möller HJ. The role of dopamine for the pathophysiology of schizophrenia. *Int. Rev. Psychiatry* 2007; 19: 337 – 345.

Meltzer HY, Li Z, Kaneda Y, Ichikawa J. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27: 1159-72.

Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008; 11:851-76.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95:351–358.

Petronijevic ND, Micic DV, Duricic B, Marinkovic D, Paunovic VR. Substrate kinetics of erythrocyte membrane Na, K-ATPase and lipid peroxides in schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacology Biol Psychiatry*. 2003; 27:431-40.

Pietraszek M. Significance of dysfunctional glutamatergic transmission for the development of psychotic symptoms. *Pol. J. Pharmacol*. 2003; 55:133-54.

Reddy RD, Yao JK. Free radical pathology in schizophrenia: a review. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1996; 55:33-43.

Stadtman EA. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med*. 1990; 9:315–325

Shirakama I. Aspectos gerais do manejo do tratamento com pacientes esquizofrenia. *Rev. Bras. Psiquiatria*. 2000; 22:56-58.

Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, “Just the Facts”: What we know in 2008 Part 1: Overview. *Schizophrenia Research* 2008; 100: 4–19

Takuma K, Baba A, Matsuda T. Astrocyte apoptosis: implications for neuroprotection. *Prog. Neurobiol*. 2004; 72:111–27.

Treasaden IH, Puri BK. Cerebral spectroscopic and oxidative stress studies in patients with schizophrenia who have dangerously violently offended. *BMC Psychiatry* 2008; 17:8 Suppl 1:S7.

Tsai G and Coyle JT. Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2002; 42:165–79.

Yao JK, Peddy R, Mcelhinny LG, Van Kammen DP. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1998; 32:1-8.

Young J, McKinney SB, Ross BM, Wahle KW, Boyle SP. Biomarkers of oxidative stress in schizophrenic and control subjects. *Prostaglandins. Leukot. Essent. Fatty Acids* 2007; 76:73-85.

Zhang XY, Tan YL, Cao LY, Wu GY, Xu Q, Shen Y, Zhou DF. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. *Schizophrenia Research* 2006; 81: 291– 300.

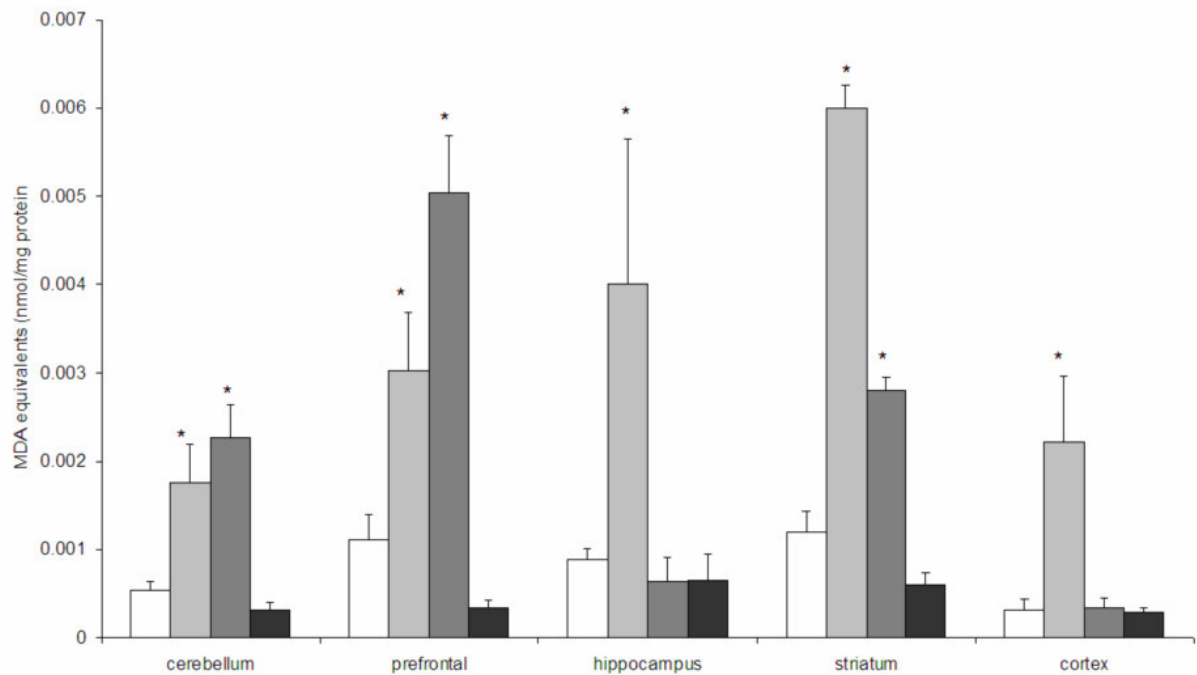


Figure 1. Effect of sub-anesthetic doses of ketamine (control, 4, 10 and 30 mg/Kg) on TBARS in different cerebral structures of rats. Data are expressed as mean \pm SD of five animals in each group. *Different from control, $p < 0.01$ (Student's t-test). (White bars= control group; light grey bars= 4 mg/kg; medium grey bars = 10 mg/kg and dark grey bars = 30 mg/kg).

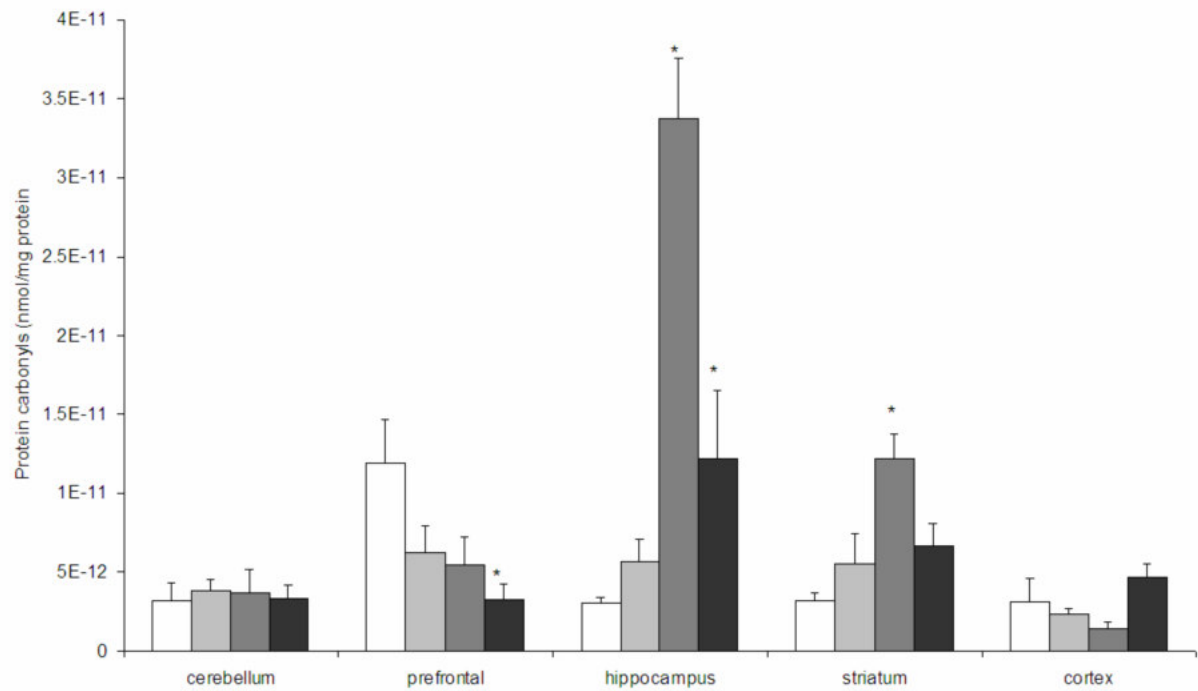


Figure 2. Effect of sub-anesthetic doses of ketamine (control, 4, 10 and 30 mg/Kg) on carbonyl content in different cerebral structures of rats. Data are expressed as mean \pm SD of five animals in each group. *Different from control, $p < 0.01$ (Student's t-test). (White bars= control group; light grey bars= 4 mg/kg; medium grey bars = 10 mg/kg and dark grey bars= 30 mg/kg).

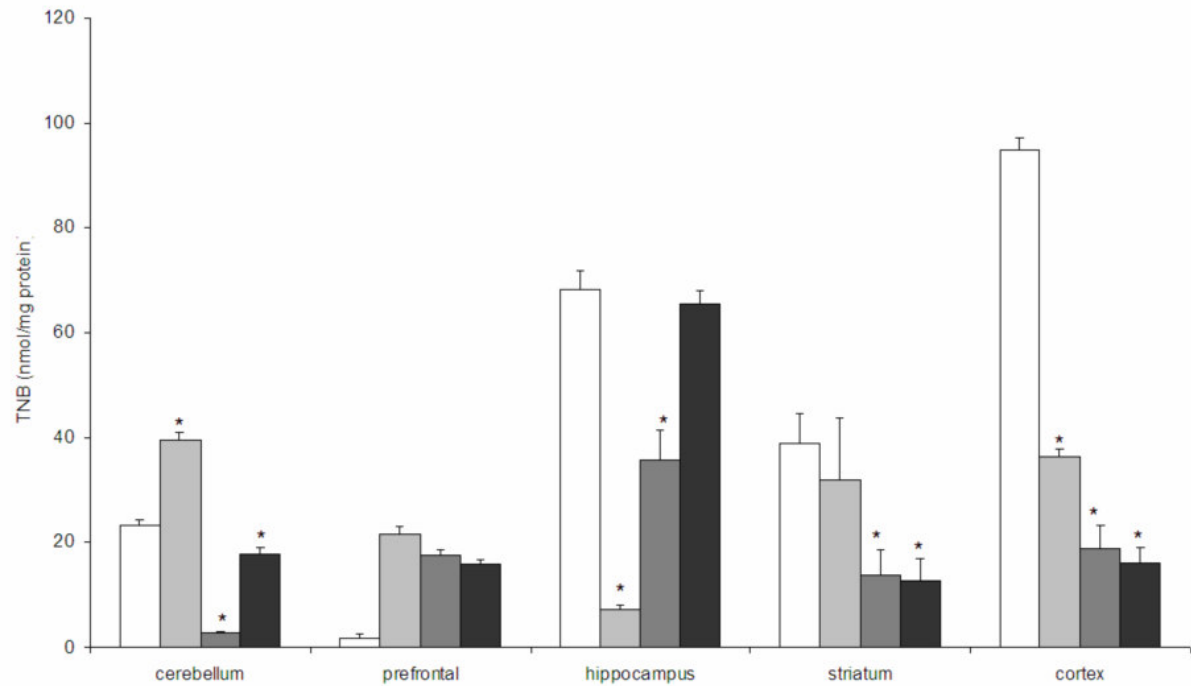


Figure 3. Effect of sub-anesthetic doses of ketamine (control, 4, 10 and 30 mg/kg) on sulfhydryl content in different cerebral structures of rats. Data are expressed as mean \pm SD of five animals in each group. *Different from control, $p < 0.01$ (Student's t-test). (White bars= control group; light grey bars= 4 mg/kg; medium grey bars = 10 mg/kg and dark grey bars = 30 mg/kg).

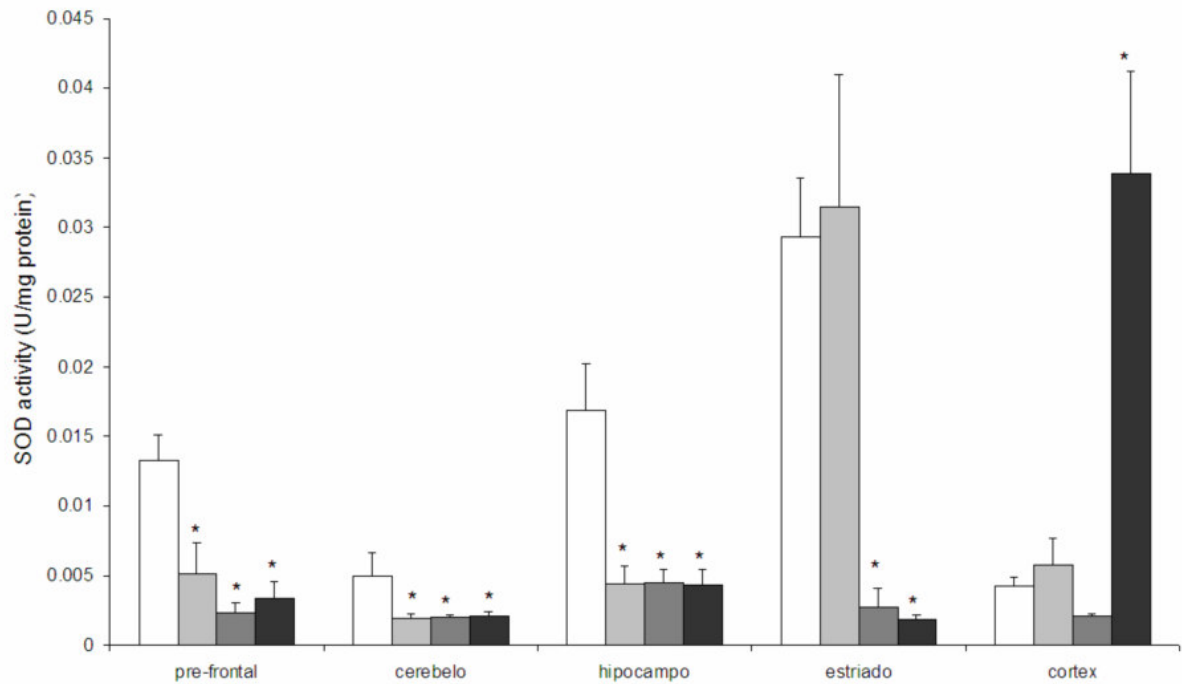


Figure 4. Effect of sub-anesthetic doses of ketamine (control, 4, 10 and 30 mg/Kg) on SOD activity in different cerebral structures of rats. Data are expressed as mean \pm SD of five animals in each group. *Different from control, $p < 0.01$ (Student's t-test). (White bars= control group; light grey bars= 4 mg/kg; medium grey bars = 10 mg/kg and dark grey bars = 30 mg/kg).

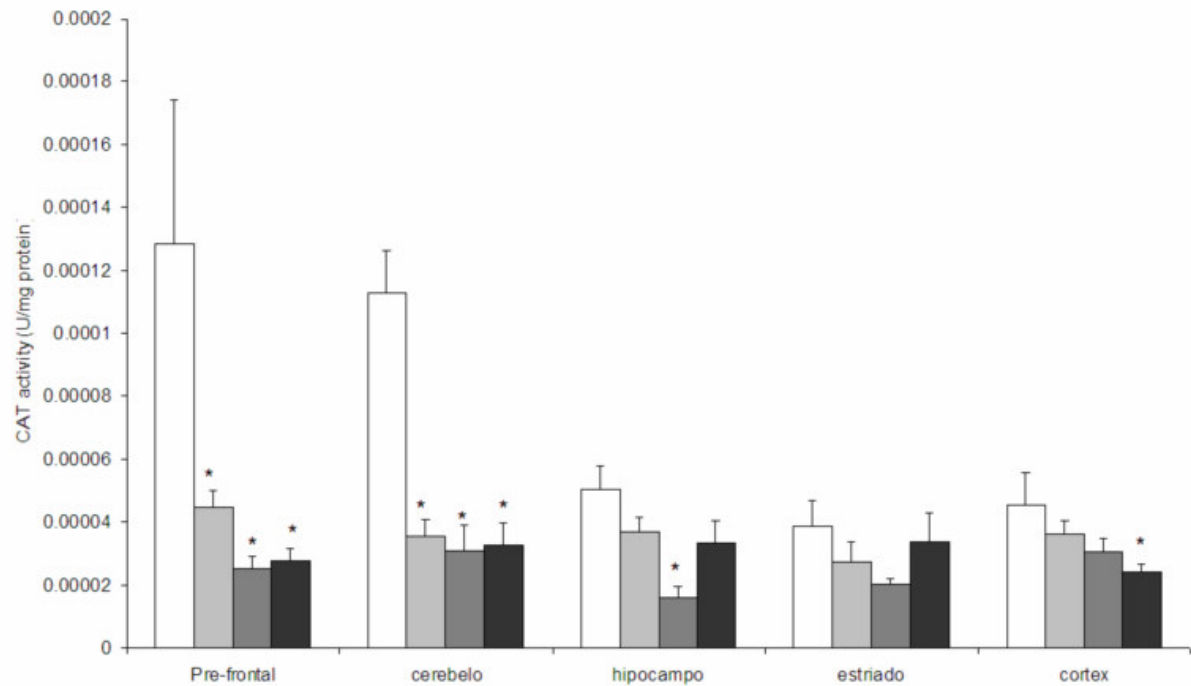


Figure 5. Effect of sub-anesthetic doses of ketamine (control, 4, 10 and 30 mg/Kg) on CAT activity in different cerebral structures of rats. Data are expressed as mean \pm SD of five animals in each group. *Different from control, $p < 0.01$ (Student's t-test). (White bars= control group; light grey bars= 4 mg/kg; medium grey bars = 10 mg/kg and dark grey bars = 30 mg/kg).

3. DISCUSSÃO

A esquizofrenia é uma doença complexa que se manifesta com um perfil heterogêneo em pacientes (Bowie & Harvey, 2006). Recentes estudos têm mostrado que o bloqueio de receptores de NMDA em animais imita os sintomas de esquizofrenia, e essa aproximação tem adquirido notoriedade como um modelo para se estudar a doença. Estudos clínicos mostram que a administração de antagonistas dos receptores de NMDA em pacientes esquizofrênicos exacerba alguns sintomas psicóticos e tem efeitos psicomiméticos em humanos saudáveis (Krystal et al., 1994). Além disso, em roedores e macacos, doses agudas sub-anestésicas de antagonista de NMDA produzem uma sintomatologia semelhante à esquizofrenia, incluindo hiperlocomoção, aumento de comportamentos de estereotipia, déficits sensoriomotores e cognitivos, interação social debilitada (Lipska & Weinberger, 2000; Keilhoff et al., 2004; Pietraszek, 2003; Bressan & Pilowskv, 2003).

No presente estudo, ratos foram submetidos a diferentes doses sub-anestésicas de cetamina, um antagonista de NMDA que induz sintomas similares aos de esquizofrenia. No presente trabalho foram estudados os efeitos de diferentes doses de cetamina sobre os parâmetros de estresse oxidativo em várias regiões do cérebro de ratos. Enquanto a patogenia da esquizofrenia continua desconhecida, evidências tem indicado que pode haver uma relação entre estresse oxidativo e a doença (Reddy & Yao, 1996; Yao et al., 2001).

O estresse oxidativo é manifestado como um aumento de produtos finais da peroxidação lipídica, produtos da oxidação de base de DNA (e freqüentemente RNA) e dano oxidativo na proteína (Halliwell, 2001; Halliwell, 2006). É um acontecimento celular importante que tem sido relatado na patogênese de várias doenças que afetam o sistema nervoso central (SNC), como transtornos neurodegenerativos,

doença de Parkinson e Alzheimer (Fendri et al., 2006), epilepsia, esclerose, demência e transtorno bipolar (Halliwell, 2001).

Os dados apresentados nesse estudo demonstraram que doses sub-anestésicas de cetamina em 4 e 10 mg/kg aumentou TBARS, indicando um aumento na peroxidação lipídica. Nossos dados reforçam resultados de estudos com humanos, mostrando também uma elevação em produtos da peroxidação lipídica em pacientes esquizofrênicos não tratados (Mahadik et al., 1998; Arvindakshan et al., 2003; Petronijevic et al., 2003).

Nós também demonstramos um aumento no conteúdo de carbonilas e uma diminuição no conteúdo de grupamentos sulfidrila, dois parâmetros usados para avaliar dano em proteína. Estudos têm demonstrado que a oxidação de proteína esta aumentada em transtornos neurodegenerativos, idade avançada e doenças como Alzheimer, Huntington and Parkinson (Butterfield & Kanski, 2001). Estudos recentes mostraram um aumento nos níveis de vários biomarcadores específicos de estresse oxidativo em plasma de pacientes esquizofrênicos (Dietrich-Muszalska et al., 2009; Dietrich-Muszalska & Olan, 2009). Além disso, este mesmo grupo mostrou que em pacientes esquizofrênicos níveis de homocisteína no plasma foram maiores e que níveis de glutathiona, cisteína e cisteinilglicina estavam diminuídos quando comparados com voluntários saudáveis, sugerindo que níveis de grupos carbonil e 3-nitrotirosina em proteínas do plasma podem ser importantes indicadores de dano a proteína *in vivo* em esquizofrenia (Dietrich-Muszalska et al., 2009; Dietrich-Muszalska & Olan, 2009). Treasaden and Puri (2008) mostram que existe um aumento na fosforilação oxidativa mitocondrial em pacientes esquizofrênicos, o que leva a formação de radicais superóxido e outras espécies reativas de oxigênio.

Finalmente, nós avaliamos o efeito de doses sub-anestésicas de cetamina sobre defesas antioxidantes enzimáticas no cérebro de ratos, determinando atividades de SOD e CAT. Nós observamos que cetamina diminui atividade de ambas as enzimas em quase todas as estruturas cerebrais testadas, indicando um efeito sobre outro importante marcador de estresse oxidativo no cérebro.

A fisiopatologia da esquizofrenia é ainda pouco entendida. Porém o aumento da peroxidação lipídica, dano oxidativo à proteína e diminuição nas defesas enzimáticas observadas em um modelo animal de esquizofrenia indica que estresse oxidativo pode ter um papel importante para o desenvolvimento dessa doença e essas descobertas podem explicar, pelo menos em parte, os mecanismos que lhe estão subjacentes.

REFERÊNCIAS

- ABI-DARGHAM A; GIL R; KRYSTAL J; BALDWIN RM; SEIBYL JP; BOWERS M; van DYCK CH; CHARNEY DS; INNIS RB; LARUELLE M. Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. **American journal of Psychiatry**.155:761-767.1998.
- AMES BN; SHIGENAGA MK; HEGEN TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. **Proceedings of the National Academy Science of the United States of America**. 90:7915-7922. 1993.
- ANDREASEN NC; FLAUM M; SWAYZE VW. Positive and negative symptoms in schizophrenia. A critical reappraisal. **Archives General Psychiatry**. 47:615-21. 1990.
- ARVINDAKSHAN M; SITASAWA S; DEBSIKDAR V; GHATE M; EVANS D; HORROBIN DF; BENNETT C; RANJEKAR PK; MAHADIK SP. Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never-medicated and medicated schizophrenia patients. **Biological Psychiatry**. 53:56-64. 2003.
- BELL DS. Comparison of amphetamine psychosis and schizophrenia. **Brazilian Journal Psychiatry**. 111:701-707. 1965.
- BEM-SHACHAR, D. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: a possible lineage to dopamine. **Journal of Neurochemistry**. 83:1241-1251. 2002.
- BEN-SHACHAR D; KARRY R. Neuroanatomical pattern of mitochondrial complex I pathology varies between schizophrenia, bipolar disorder and major depression. **PLoS One**. 3:3676. 2008.
- BOWIE CR; HARVEY PD. Schizophrenia from neuropsychiatry perspective. **Mount Sinai Journal of Medicine**. 73:993-998. 2006.
- BOWLER R; CRAPO JD. Oxidative Stress in Airways: is there a role for extracellular superoxide dismutase? **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. 166: 38-43. 2002.
- BRESSAN RA; PILOWSKV LS. Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. 25:177-183. 2003.
- BUTTERFIELD DA; KANSKI J. Brain protein oxidation in age-related neurodegenerative disorders that are associated with aggregated proteins. **Mech. Ageing and Development**. 122:945-962. 2001.
- CALABRESE V; SCAPAGNINI G; GIUFFRIDA-STELLA AM. Mitochondrial involvement in brain function and dysfunction: relevance to aging, neurodegenerative disorders and longevity. **Neurochemistry Research**. 26:739-764. 2001.

CARLSSON A; LINDQVIST M. Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. **Acta pharmacologica et toxicológica**. 20:140-144. 1963.

CARLSSON M; SVENSSON A. Interfering with glutamatergic neurotransmission by means of NMDA antagonist administration discloses the locomotor stimulatory potential of other transmitter systems. **Pharmacology Biochemistry Behavior**. 36:45-50. 1990.

CARLSSON A; WATERS N; HOLM-WATERS S; TEDROFF J; NILSSON M; CARLSSON ML. Interactions Between Monoamines, Glutamate, and GABA in Schizophrenia: New Evidence. **Annual Review Pharmacology Toxicology**. 41:237-60. 2001.

CASANOVA MF; MANNHEIM G; KRUESI M. Hippocampal pathology in two mentally ill paraphiliacs. **Psychiatry Research**. 115:79-89. 2002.

COYLE JT. The nagging question of the function of N-acetylaspartylglutamate. **Neurochemistry**. 4:231-238. 1997.

CROSS CE; VALACCHI G; SHOCK B; WILSON M; WEBER S; EISERICH J.; VLIET A. Environmental Oxidant Pollutant Effects on Biologic System. **American Journal of respiratory and critical care medicine**. 166:44-50. 2002.

CROW TJ. Molecular Pathology of schizophrenia: More than one disease process?. **British Medical Journal**. 280:66-68.1980.

CSERNANSKY JG; KING RJ; FAUSTMAN WO; MOSES JA JR; POSCHER ME; FAULL KF. 5-HIAA in cerebrospinal fluid and deficit schizophrenic characteristics. **The British journal of psychiatry**. 156:501-7. 1990.

CURRAN HV; MORGAN C. Cognitive, dissociative and psychotogenic effects of ketamine in recreational users on the night of drug use and 3 days later. **Addiction**. 95:575-90. 2000.

DEAKIN JF; SLATER P; SIMPSON MD; GILCHRIST AC; SKAN WJ; ROYSTON MC; REYNOLDS GP; GROSS AJ. Frontal cortical and left temporal glutamatergic dysfunction in schizophrenia. **Journal of Neurochemistry**. 52:1781-1786. 1989.

DELISI LE, STRITZKE PH, HOLAN V, ANAND A, BOCCIO A, KUSCHNER M, RIORDAN H, MCCLELLAND J, VANEYLE O. Brain morphological changes in 1st episode cases of schizophrenia: are they progressive? **Schizophrenia Research**. 5:206-8. 1991.

DIETRICH-MUSZALSKA A; OLAS B; GŁOWACKI R; BALD E. Oxidative/Nitrative Modifications of Plasma Proteins and Thiols from Patients with Schizophrenia. **Neuropsychobiology**. 59:1–7. 2009.

DIETRICH-MUSZALSKA A; OLAS B. Modifications of blood platelet proteins of patients with schizophrenia. **Platelets**. 20:90-96. 2009.

DUNCAN GE; MIYAMOTO S; LEIPZIG JN; LIEBERMAN JA. Comparison of the Effects of Clozapine, Risperidone, and Olanzapine on Ketamine-Induced Alterations in Regional Brain Metabolism. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 293:8-14. 2000.

DURSUN SM; DEAKIN JFW. Augmenting antipsychotic treatment with lamotrigine or topiramate in patients with treatment-resistant schizophrenia: a naturalistic case-series outcome study. **Journal of Psychopharmacology**. 15:297-301. 2001.

ELKIS H. A evolução do conceito de esquizofrenia neste século esquizofrenia neste século. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. 22:23-6. 2000.

FARBER NB; WOZNIAK DF; PRICE MT; LABRUYERE J; HUSS J; PETER H St; OLNEY JW. Age-Specific Neurotoxicity in the Rat Associated with NMDA Receptor Blockade: Potential Relevance to Schizophrenia? **Biological Psychiatry**. 38:788-96. 1995.

FENDRI C; MECHRI A; KHIARI G; OTHMAN A; KERKENI A; GAHA L. Oxidative stress involvement in schizophrenia pathophysiology: a review. **Encephale**. 32:244-252. 2006.

FLOYD RA. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**. 222:236-45. 1999.

HALLIWELL B.; GUTTERIDGE JMC. **Free radicals in Biology and Medicine**. 3ª edição, Oxford, London, 1999.

HALLIWELL B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. Therapeutic implications for antioxidant treatment. **Drugs Aging**. 18:685-716. 2001.

HALLIWELL B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **J. Neurochemistry**. 97:1634-1658. 2006.

HASHIMOTO T; NISHINO N; NAKAI H; TANAKA C. Increase in serotonin 5-HT1A receptors in prefrontal and temporal cortices of brains from patients with chronic schizophrenia. **Life Sciences**. 48:355-363. 1991.

HARRIS EC; BARRACLOUGH B. Suicide as an outcome for mental disorders. A meta-analysis. **The British journal of psychiatry**. 170:205-28.1997.

INSKIP HM; HARRIS EC; BARRACLOUGH B. Lifetime risk of suicide for affective disorder, alcoholism and schizophrenia. **The British journal of psychiatry**. 172:35-7. 1998.

JORGE MR. **DSM-IV-TR: manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais**. Artmed, Porto Alegre, pp.880. 2003.

KAHLIG KM; BINDA F; KHOSHBOUEI H; BLAKELY RD; MCMAHON DG; JAVITCH JA; GALLI A. Amphetamine induces dopamine efflux through a dopamine transporter channel. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**.102:3495-3500. 2005.

KAPCZINSKI F; QUEVEDO J; IZQUIERDO IA. **Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos**. Artmed, Porto Alegre, 272. 2004.

KEILHOFF G; BECKER A; GRECKSCH G; WOLF G; BERNSTEIN HG. Repeated application of ketamine to rats induces changes in the hippocampal expression of parvalbumin, neuronal nitric oxide synthase and cFOS similar to those found in human schizophrenia. **Neuroscience**. 126:591-598. 2004.

KIM JS; KORNUBER HH; SCHMID-BURGK W; HOLZMÜLLER B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. **Neuroscience letters**. 20:379-382. 1980.

KRAMER JC; FISCHMAN VS; LITTLEFIELD DC. Amphetamine abuse. Pattern and effects of high doses taken intravenously. **Journal of the American Medical Association**. 201:305–309. 1967.

KRYSTAL JH; KARPER LP; SEIBYL JP; FREEMAN GK; DELANEY R; BRENNER JD; HENINGER GR; BOWERS Jr MB; CHARNEY DS. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. **Archives of general psychiatry**. 51:199-214. 1994.

LARUELLE M; INNIS RB. Images in neuroscience. SPECT imaging of synaptic dopamine. **American journal of Psychiatry**.153: 1249. 1996.

LESUY SF. “Introducción y Especies Activas de Oxígeno”. IN MARRÓN, N.P.: **Estresse Oxidativo e Antioxidantes**. Editora Ultra, Canoas, 2002.

LEWIS DA; LIEBERMAN JA. Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. **Neuron**. 28:325-34. 2000.

LIANG NY; RUTLEDGE CO. Evidence for carrier-mediated efflux of dopamine from corpus striatum. **Biochemical pharmacology**. 31:2479–2484.1982.

LIPSKA BK; JASKIW GE; WEINBERGER DR. Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential model of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**. 9: 67–75. 1993.

LIPSKA BK; WEINBERGER DR. To Model a Psychiatric Disorder in Animals: Schizophrenia As a Reality Test. **Europsychopharmacology**. 23:223-239. 2000.

LIU L; SCHULZ SC; LEE S; REUTIMAN TJ; FATEMI SH. Hippocampal CA1 pyramidal cell size is reduced in bipolar disorder. **Cellular and molecular neurobiology**. 27:351-8. 2007.

MARI JJ; LEITÃO JR. A epidemiologia da esquizofrenia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. 22:15-7. 2000.

MAHADIK SP; MUKHERJEE S; SCHEFFER R; CORRENTI EE; MAHADIK JS. Elevated plasma lipid peroxides at the onset of nonaffective psychosis. **Biological Psychiatry**. 43:674-679. 1998.

MEADOR-WOODRUFF JH; DAVIS KL; HAROUTUNIAN V. Abnormal kainite receptor expression in prefrontal cortex in schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**. 24:545-552. 2001.

MELTZER HY; BASTANI B; RAMIREZ L; MATSUBARA S. Clozapine: new research on efficacy and mechanism of action. **European Archives of Psychiatry and Neurological Sciences**. 238:332-339. 1989.

MENUZ K; NICOLL RA. Loss of inhibitory neuron AMPA receptors contributes to ataxia and epilepsy in stargazer mice. **Journal of Neuroscience**. 28:10599-603. 2008.

MEYER JM. Antipsychotic safety and efficacy concerns. **Journal of Clinical Psychiatry**. 68:20-26. 2007.

MEYER JS; QUENZER FL. Schizophrenia. In: **Psychopharmacology: Drugs, The brain, and Behavior**. Sinauer, USA, pp. 442-467. 2005.

MOGHADDAM B. Recent basic findings in support of excitatory aminoacids hypotheses of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacol & Biological Psychiatry**. 18:859-870. 1994.

MOLINA MF; SANCHEZ-REUS I; IGLESIAS I; BENEDI J. Quercetin, a flavomoid antioxidant, prevents and protects against ethanol-induced oxidative stress in mouse liver. **Biological & pharmaceutical bulletin**. 13:1398-1402. 2003.

NIKAM SS; AWASTHI AK. Evolution of schizophrenia drugs: a focus on dopaminergic systems. **Current opinion in investigational drugs**. 9:37-46. 2008.

NISHIKAWA T; TAKASHIMA M; TORU M. Increased [³H]kainic acid binding in the prefrontal cortex in schizophrenia. **Neuroscience Letters**. 40:245-250. 1983.

OLNEY JW; NEWCOMER JW; FARBER NB. NMDA receptor hypofunction modelo f schizophrenia. **Journal Psychiatry Research**. 33:523-533. 1999.

PACK S. Poor physical health and mortality in patients with schizophrenia. **Nursing Standard**. 23:41-5. 2009.

PARK S; HOLZMAN PS. Schizophrenics show spatial working memory deficits. **Archives General Psychiatry**. 49:975-982. 1992.

PETRONIJEVIC ND; MICIC DV; DURICIC B; MARINKOVIC D; PAUNOVIC VR. Substrate kinetics of erythrocyte membrane Na, K-ATPase and lipid peroxides in schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacol & Biological Psychiatry**. 27:431-40. 2003.

PIETRASZEK M. Significance of dysfunctional glutamatergic transmission for the development of psychotic symptoms. **Polish Journal of Pharmacology**. 55:133-54. 2003.

REDDY RD; YAO JK. Free radical pathology in schizophrenia: a review. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**. 55:33-43. 1996.

REGENOLD WT; PHATAK P; MARANO CM; SASSAN A; CONLEY RR; KLING MA. Elevated cerebrospinal fluid lactate concentrations in patients with bipolar disorder and schizophrenia: implications for the mitochondrial dysfunction hypothesis. **Biological Psychiatry**. 65:489-94. 2008.

REYNOLDS GP; BEASLEY CL. GABAergic neuronal subtypes in the human frontal cortex-development and deficits in schizophrenia. **Journal of chemical neuroanatomy**. 22:95-100. 2001.

ROLLINS B; MARTIN MV; SEQUEIRA PA; MOON EA; MORGAN LZ; WATSON SJ; SCHATZBERG A; AKIL H; MYERS RM; JONES EG; WALLACE DC; BUNNEY WE; VAWTER MP. Mitochondrial variants in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. **PLoS One**. 4:4913-19. 2009.

SAKAR A; BHADURI A. Black tea is a powerful chemopreventor of reactive oxygen and nitrogen species: comparison with its individual catechin constituents and green tea. **Biochemistry and Biophys Research Communications**. 284:173-178. 2001.

SIMPSON MDC; SLATER P; DEAKIN JFW. Comparison of Glutamate and Gamma-Aminobutyric Acid Uptake Binding Sites in Frontal and Temporal Lobes in Schizophrenia. **Society of Biological Psychiatry**. 44:423-427. 1998.

SHIRAKAWA O; KITAMURA N; LIN XH; HASHIMOTO T; MAEDA K. Abnormal neurochemical asymmetry in the temporal lobe of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacol & Biological Psychiatry**. 25:867-77. 2001.

SUDDATH RL; CHRISTISON GW; TORREY EF; CASANOVA MF; WEINBERGER DR. Anatomical abnormalities in the brains of monozygotic twins discordant for schizophrenia. **The New England journal of medicine**. 322:789-94. 1990.

SULZER D; CHEN TK; LAU YY; KRISTENSEN H; RAYPORT S; EWING A. Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport. **Journal of Neuroscience**. 15:4102–4108.1995.

SNYDER SH. Amphetamine psychosis: a 'model' schizophrenia mediated by catecholamines. **The American journal of psychiatry**. 130: 61–67. 1973.

SWERDLOW NR; BAKSHI V; WAIKAR M; TAAD N; GEYER MA. Seroquel, clozapine and chlorpromazine restore sensorimotor gating in ketamine-treated rats. **Psychopharmacology**. 140:75-80. 1998.

TREASADEN IH; PURI BK. Cerebral spectroscopic and oxidative stress studies in patients with schizophrenia who have dangerously violently offended. **BMC Psychiatry**. 17:8 Suppl 1:S7. 2008.

TSAI G; van KAMMEN DP; CHEN S; KELLEY ME; GRIER A; COYLE JT. Glutamatergic neurotransmission involves structural and clinical deficits of schizophrenia. **Biological Psychiatry**. 44:667-674. 1998.

Yao JK; Reddy RD; van Kammen DP. Oxidative damage and schizophrenia: an overview of the evidence and its therapeutic implications. **CNS Drugs**.15:287-310. 2001.

World Health Organization – WHO. **Mental health: new understanding, new hope**. Geneva, 2001.

Zhang XY; Tan YL; Cao LY; Wu GY; Xu Q; Shen Y; Zhou DF. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. **Schizophrenia Research**. 81:291–300. 2006.

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](#)