

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

RICHARD TRAJANO DA ROSA

**HALOPERIDOL ALTERA FATORES NEUROTRÓFICOS E
PARÂMETROS EPIGENÉTICOS EM MODELO ANIMAL DE
ESQUIZOFRENIA INDUZIDA POR CETAMINA**

CRICIÚMA – SC, SETEMBRO DE 2020

RICHARD TRAJANO DA ROSA

**HALOPERIDOL ALTERA FATORES NEUROTRÓFICOS E
PARÂMETROS EPIGENÉTICOS EM MODELO ANIMAL DE
ESQUIZOFRENIA INDUZIDA POR CETAMINA**

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

Orientador: Prof. Dr.^a Alexandra Ioppi Zugno
Coorientador: Prof. Dr. João L. de Quevedo

CRICIÚMA - SC, SETEMBRO DE 2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

R788h Rosa, Richard Trajano da.

Haloperidol altera fatores neurotróficos e parâmetros epigenéticos em modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina / Richard Trajano da Rosa. - 2020.

50 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2020.

Orientação: Alexandra Ioppi Zugno.

Coorientação: João Luciano de Quevedo.

1. Haloperidol. 2. Esquizofrenia. 3. Epigenética. 4. Esquizofrenia - Tratamento. 5. Cetamina. I. Título.

CDD 21. ed. 616.8982

Bibliotecária Elisângela Just Steiner - CRB 14/1576
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

Esta dissertação foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. O trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Psiquiatria Translacional do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por todas as oportunidades e bênçãos na minha vida.

À minha família, meus pais, irmãos, cunhada e sobrinhos por todo apoio e suporte em todos os momentos de minha vida.

À minha companheira, Ane Bruch, à sua mãe, seus filhos e agregados por estarem do meu lado em todas as situações, ajudando-me a suportar todo o estresse de uma vida acadêmica.

À minha orientadora, Cuca, que me guiou por essa jornada, mostrando-me, inclusive, com os exemplos de sua vida, como fazer as melhores escolhas que nos levam ao sucesso e ao mesmo tempo amenizam a caminhada.

A todos os colegas e funcionários do PPGCS e do Curso de Medicina da UNESC e da UCS, em especial ao Paulo Roberto Lino, Bruna Tiemi Ogliari, Carolina Schaeffer do Amaral, Maria Carolina Lieske e Rutielin Machado Leite, pela amizade e toda ajuda durante o andamento do mestrado.

À Pró-Reitoria de Extensão (PROEX) da UNESC e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Estudos no período desta pesquisa.

E a todos meus amigos e parentes que, de alguma maneira, me ajudaram e torceram por mim.

EPÍGRAFE

“O conhecimento é como uma viagem de trem. Quando você resolve descer em uma estação, restam a sua bagagem e a visão do trem seguindo viagem.”

Prof. Dr. Arício Treintinger (*in memoriam*)

Professor do Departamento de Análises Clínicas do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). † 18/06/2016

RESUMO

A esquizofrenia é um importante transtorno psiquiátrico e geralmente associado a danos sociais e ocupacionais, envolvendo episódios de psicose crônica ou recorrente. A prevalência varia entre 0,6 a 1,9% na população, com o início dos sintomas ocorrendo antes dos 25 anos de idade e persistindo durante toda a vida. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do haloperidol sobre parâmetros epigenéticos e fatores neurotróficos no cérebro de ratos submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina. Foram utilizados 32 ratos Wistar, divididos em 4 grupos experimentais, tratados com cetamina ou solução salina por 14 dias do experimento. Entre o 8º e 14º dias, foram administrados água ou haloperidol. Configurando, dessa forma, os grupos: Controle (Solução salina + água); Haloperidol (Solução salina + haloperidol), Cetamina (Cetamina + água) e Cetamina + Haloperidol (Cetamina + haloperidol). Decorridos 30 minutos após a última aplicação das drogas, os animais foram submetidos ao teste de campo aberto. Imediatamente após, foram eutanasiados e as estruturas cerebrais, como córtex frontal, hipocampo e estriado, foram cuidadosamente dissecadas. As amostras cerebrais foram congeladas para análises das atividades de enzimas epigenéticas e níveis de fatores neurotróficos. A cetamina aumentou a atividade locomotora e as doses de haloperidol não foram eficazes contra essas modificações. As atividades da DNA MetilTransferase (DNMT) e Histona Desacetilase (HDAC) aumentaram no córtex frontal e estriado nos grupos Haloperidol, Cetamina e Cetamina + Haloperidol. O haloperidol diminuiu os níveis dos fatores neurotróficos analisados (BDNF, NGF, NT-3 e GDNF), praticamente, em todas as estruturas cerebrais avaliadas. Em síntese, examinando os resultados de nosso trabalho, observa-se que a administração de haloperidol é capaz de alterar os níveis de fatores neurotróficos e a atividade das enzimas epigenéticas, o que pode ser um fator no desenvolvimento de efeitos colaterais em pacientes com esquizofrenia. Os mecanismos precisos envolvidos nas alterações observadas no presente estudo ainda não estão bem esclarecidos, mas uma possível disfunção epigenética ou um efeito primário do haloperidol em enzimas como DNMT e HDAC e a interrupção da expressão gênica de fatores neurotróficos nos neurônios não deve ser descartada.

Palavras-chave: esquizofrenia; haloperidol; enzimas epigenéticas; DNMT; HDAC; BDNF.

ABSTRACT

Schizophrenia is an important psychiatric disorder and is usually associated with social and occupational damage, involving episodes of chronic or recurrent psychosis. The prevalence ranges from 0.6 to 1.9% in the population, with the onset of symptoms occurring before the age of 25 and persisting throughout life. The aim of this study was to evaluate the effects of haloperidol on epigenetic parameters and neurotrophic factors in the brain of rats submitted to the animal model of ketamine-induced schizophrenia. Thirty-two Wistar rats were used, divided into 4 experimental groups, treated with ketamine or saline solution for 14 days of the experiment. Between the 8th and 14th days, water or haloperidol were administered. Thus configuring the groups: Control (Saline + water); Haloperidol (Saline + haloperidol), Ketamine (Ketamine + water) and Ketamine + Haloperidol (Ketamine + haloperidol). Elapsed 30 minutes after the last drug application, the animals were submitted to an open field test. Immediately afterwards, they were euthanized and the brain structures, such as frontal cortex, hippocampus and striatum, were carefully dissected. Brain samples were frozen for analysis of epigenetic enzyme activities and levels of neurotrophic factors. Ketamine increased locomotor activity and haloperidol doses were not effective against these changes. DNA MethylTransferase (DNMT) and Histone Deacetylase (HDAC) activities increased in the frontal and striated cortex in the Haloperidol, Ketamine and Ketamine + Haloperidol groups. Haloperidol decreased the levels of the neurotrophic factors analyzed (BDNF, NGF, NT-3 and GDNF), in practically all brain structures evaluated. In summary, examining the results of our work, it is observed that the administration of haloperidol is able to alter the levels of neurotrophic factors and the activity of epigenetic enzymes, which may be a factor in the development of side effects in patients with schizophrenia. The precise mechanisms involved in the alterations observed in the present study are still not well understood, but a possible epigenetic dysfunction or a primary effect of haloperidol in enzymes such as DNMT and HDAC and the interruption of gene expression of neurotrophic factors in neurons should not be ruled out.

Key words: schizophrenia; haloperidol; epigenetic enzymes; DNMT; HDAC; BDNF.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês <i>Brain-derived neurotrophic factor</i>)
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (do inglês <i>Deoxyribonucleic acid</i>)
DNMTs	DNA MetilTransferases
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico (do inglês <i>Gamma-aminobutyric acid</i>)
GDNF	Fator Neurotrófico Derivado da linha celular Glial (do inglês <i>Glial cell-derived neurotrophic factor</i>)
HATs	Histona AcetilTransferases
HDACs	Histona Desacetilases
mRNA	Ácido Ribonucleico mensageiro (do inglês <i>messenger Ribonucleic acid</i>)
NGF	Fator de Crescimento Neural (do inglês <i>Nerve growth factor</i>)
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
NMDAR	Receptor de N-Metil-D-Aspartato
NT-3	NeuroTrofina-3
PGAs	Primeira Geração de medicamentos Antipsicóticos
SGAs	Segunda Geração de medicamentos Antipsicóticos
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 FISIOPATOLOGIA DA ESQUIZOFRENIA E EPIGENÉTICA	12
1.2 CETAMINA E MODELO FARMACOLÓGICO DE ESQUIZOFRENIA	16
1.3 SINTOMATOLOGIA E TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA	19
2 OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 ANIMAIS	23
3.2 DROGAS	23
3.3 DESENHO EXPERIMENTAL	23
3.4 TESTE COMPORTAMENTAL	24
3.5 AMOSTRAS DO CÉREBRO	24
3.6 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS	24
3.7 ANÁLISE MOLECULAR E BIOQUÍMICA	24
3.7.1 Atividade de DNMT, HDAC e HAT	24
3.7.2 Níveis de BDNF, NGF, NT-3 e GDNF	25
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
4 RESULTADOS	26
4.1 TESTE COMPORTAMENTAL	26
4.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	26
4.2.1 Atividade das enzimas epigenéticas	26
4.2.2 Níveis de fatores neurotróficos	30
5 DISCUSSÃO	34
6 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39
ANEXOS	49
ANEXO A – Ata de Mestrado em Ciências da Saúde – Nº 366	50

1 INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é um importante transtorno psiquiátrico e geralmente associado a danos sociais e ocupacionais (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION [APA], 2013), envolvendo episódios de psicose crônica ou recorrente. Segundo Murray e Lopez (1996), a esquizofrenia é classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das dez principais doenças mundiais, sendo um transtorno profundamente incapacitante e com enormes prejuízos econômicos. O transtorno tem característica heterogênea, principalmente manifestada através de perturbações da linguagem, percepção, pensamento, atividade social, afeto e tomada de decisões, não havendo características clínicas exclusivas do transtorno. Geralmente, seu início ocorre no final da adolescência de forma insidiosa, tendo muitas vezes um prognóstico reservado devido à evolução com prejuízo social e distorção da realidade, com delírios e alucinações (KASPER *et al.*, 2017).

Segundo Kaplan e Sadock (2007), a prevalência da esquizofrenia varia entre 0,6 a 1,9% na população em geral, com o início dos sintomas na maior parte das vezes ocorrendo antes dos 25 anos de idade, sem preferência por classes sociais e persistindo durante toda a vida do paciente. Abel, Drake e Goldstein (2010) afirmam que na incidência da doença há uma predileção pelo sexo masculino no diagnóstico da esquizofrenia, com uma razão de 1,4 em relação ao sexo feminino, sendo que as mulheres são diagnosticadas mais tarde que os homens. No sexo masculino, a idade de maior prevalência do diagnóstico é entre 18 e 25 anos, enquanto nas mulheres ocorrem de forma bimodal, com um pico entre os 25 e 35 anos e um segundo pico por volta da menopausa.

Uma adversidade significativa com relação à esquizofrenia, tanto para os pacientes quanto para seus familiares, é referente ao pouco conhecimento sobre o transtorno, já que muitas vezes pode ocorrer o isolamento ou exclusão dos mesmos das atividades sociais assim como a adoção de cuidados insuficientes (KAPLAN; SADOCK, 2007).

De forma geral a esquizofrenia é tida como uma síndrome em que os pacientes apresentam diversos domínios de sintomas podendo estes se manifestarem como sintomas positivos, sintomas negativos, comprometimento cognitivo e sintomas de humor e ansiedade. De acordo com Fischer e Buchanan

(2017), os sintomas positivos incluem distorção da realidade, alucinações, delírios, pensamentos e comportamentos desorganizados. Já os sintomas negativos podem incluir anedonia, expressão emocional diminuída, prejuízo da concentração e redução da atividade social. O comprometimento cognitivo na esquizofrenia ocorre em diversas áreas incluindo velocidade do pensamento, memória-aprendizagem, raciocínio e compreensão, sendo que, segundo Bora e Murray (2013), geralmente sintomas cognitivos ocorrem anteriormente ao aparecimento de sintomas positivos. Outro importante sintoma na esquizofrenia é referente ao humor e ansiedade devido a uma maior prevalência destes quando comparados à população em geral (FISCHER; BUCHANAN, 2017).

Em alguns quadros de esquizofrenia, podem ocorrer também manifestações físicas associadas, dentre elas distúrbios neurológicos envolvendo deficiências leves relacionadas à integração sensorial, coordenação motora e sequenciamento das atividades (HEINRICHS; BUCHANAN, 1988) e até distúrbios metabólicos, incluindo diabetes, dislipidemia e hipertensão, morbidades estas que reduzem a expectativa de vida dos pacientes (HENNEKENS *et al.*, 2005).

1.1 FISIOPATOLOGIA DA ESQUIZOFRENIA E EPIGENÉTICA

A patogênese da esquizofrenia ocorre, provavelmente, através de uma interação complexa entre fatores genéticos e ambientais, porém, a compreensão total da fisiopatologia ainda é desconhecida e por ter características heterogêneas, o distúrbio possui fatores etiológicos e fisiopatológicos que são de difícil explicação (FISCHER; CARPENTER, 2009).

Com relação ao risco genético, alguns estudos foram baseados em gêmeos buscando avaliar a taxa de concordância da doença entre eles. Segundo Kringlen (2000), entre gêmeos monozigóticos que possuem 100% de seus genes iguais, a taxa de concordância é de 40 a 50%, enquanto em gêmeos dizigóticos (compartilham 50% dos genes) é de 10 a 15%. Sendo assim, o aumento da taxa de concordância, quando comparados os gêmeos monozigóticos e dizigóticos, sugere importante fator genético para a esquizofrenia. Outro importante fator que colabora com a influência genética é percebido através de descendentes de indivíduos monozigóticos não afetados terem maior risco para o desenvolvimento da esquizofrenia (CANNON *et al.*, 1998; CARDNO *et al.*, 1999).

Apesar das fortes evidências da influência genética na esquizofrenia, os genes específicos que compõem a etiologia ainda não foram identificados. A partir do mapeamento do Genoma Humano e estudos correlacionados, verificou-se um possível modelo poligênico na patogênese do distúrbio, o qual numerosos genes com diminutos efeitos que em associação promovem um caráter aditivo, favorecem o aparecimento do distúrbio (RIPKE *et al.*, 2014). Outro importante estudo que buscou evidências genéticas para o distúrbio da esquizofrenia foi realizado por Stefansson e colegas (2008), o qual encontrou taxas maiores de uma alteração genética específica em pacientes com esquizofrenia, a deleção no braço longo do cromossomo 22 (22q11).

A literatura sugere possível herança genética através de múltiplas associações genômicas para a explicação da fisiopatologia da esquizofrenia. Estudos recentes também apontam que fatores genéticos e epigenéticos estão envolvidos na etiologia da esquizofrenia, mas a interação entre eles é desconhecida (NEED; GOLDSTEIN, 2014; HARRISON, 2015). Epigenética é a ciência que estuda as transformações transmitidas para o genótipo durante a divisão celular, porém sem implicar em modificações na sequência do DNA (ácido desoxirribonucleico, do inglês *deoxyribonucleic acid*). Alterações epigenéticas, como metilação do DNA, modificações de histonas e RNAs (ácido ribonucleico, do inglês *ribonucleic acid*) não codificadores, desempenham o controle na expressão genética (SHORTER; MILLER, 2015; MATRISCIANO *et al.*, 2018). Um dos mecanismos epigenéticos mais estudados é a metilação do DNA, que regula a expressão gênica, desempenhando um papel essencial na maturação, funcionamento do cérebro e neurogênese (FENG *et al.*, 2005; GUO *et al.*, 2011; MOORE; LE; FAN, 2013; CHOLEWA-WACLAW *et al.*, 2016).

A metilação do DNA é modulada pelas enzimas chamadas DNA Metiltransferases (DNMTs), que transferem um grupo metil para a posição C5 da citosina para formar a 5-metilcitosina, silenciando a expressão gênica (CHAROSTAD *et al.*, 2019). Modificações de histonas podem influenciar a expressão gênica. Portanto, as Histona Acetiltransferases (HATs) e Histona Desacetilases (HDACs), responsáveis pelo processo de acetilação/desacetilação das histonas, também estão envolvidas nos mecanismos epigenéticos. A acetilação de histonas catalisadas por HATs induz o relaxamento da cromatina e, conseqüentemente, um aumento na transcrição de genes. Por sua vez, as HDAC catalisam o processo oposto, causando

condensação da cromatina, diminuindo a expressão gênica (MITCHELMORE; GEDE, 2014).

Segundo Valvassori e colegas (2014, 2016), a compreensão dos mecanismos epigenéticos envolvidos na expressão dos fatores neurotróficos pode ser um papel fundamental na fisiopatologia e no tratamento de transtornos mentais. De fato, estudos demonstraram que existe uma relação entre distúrbios psiquiátricos e esses fatores. Fatores neurotróficos, como Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), Neurotrofina-3 (NT-3), Fator de Crescimento Neural (NGF) e Fator Neurotrófico Derivado da Linha Celular Glial (GDNF) desenvolvem um papel essencial no Sistema Nervoso Central (SNC), incluindo excitabilidade neuronal e liberação de neurotransmissores (SCOLA; ANDREAZZA, 2015; WIENER *et al.*, 2015, 2017; SAFARI *et al.*, 2017). Alterações nos fatores neurotróficos, como BDNF e NT-3, surgem também como novas hipóteses na fisiopatologia da esquizofrenia (CASTRÉN, 2014).

Com relação aos fatores de riscos ambientais destacam-se diversas condições. Dentre elas, as complicações obstétricas para o aumento do risco de desenvolver o distúrbio esquizofrênico, as quais incluem hemorragia, trabalho de parto prematuro, incompatibilidades materno-fetais de grupos sanguíneos, hipóxia fetal e infecções (CLARKE; HARLEY; CANNON, 2006). Reforçando o fator de risco obstétrico para o desenvolvimento da doença, foram realizados estudos na Holanda e na China a qual, durante as décadas de 40 no primeiro país e entre os anos de 1959 a 1961 no segundo, houve um período de escassez de alimentos que foi associado com um risco duas vezes maior do desenvolvimento de esquizofrenia nos descendentes, mostrando que o estado nutricional materno é um fator de risco para o desenvolvimento do transtorno (SUSSER *et al.*, 1996; ST CLAIR *et al.*, 2005; XU *et al.*, 2009), assim como uma gravidez indesejada (MYHRMAN *et al.*, 1996) ou morte pré-natal do pai (HUTTUNEN; NISKANEN, 1978).

Outra condição significativa verificada através de estudos epidemiológicos é a viabilidade da contribuição de determinados agentes infecciosos como fator de risco na patogênese da esquizofrenia. Um relevante estudo de Brown e Derkits (2009) evidenciou o aumento na prevalência de esquizofrenia em pacientes que nasceram ao longo de epidemias de gripe, ao encontro de tal condição observou-se um aumento no risco de desenvolvimento da doença naqueles que nasceram entre as estações de inverno e primavera, reforçando a hipótese de que a exposição ao vírus

da gripe pode ter influência no desenvolvimento neuronal pré-natal. Outros consideráveis agentes infecciosos que foram relacionados com o aumento do risco para o desenvolvimento da esquizofrenia são o parasita *Toxoplasma gondii* (MORTENSEN *et al.*, 2007), Herpes simplex virus tipo 2 (BUKA *et al.*, 2008), *Measles morbillivirus* (DICKERSON *et al.*, 2010) e infecções bacterianas que necessitaram de hospitalização para sua resolução (NIELSEN; BENROS; MORTENSEN, 2013).

A fisiopatologia para o desencadeamento e/ou aumento do risco de desenvolver esquizofrenia a partir de infecções ainda não está totalmente esclarecido. Uma possível explicação ocorre a partir do desencadeamento de uma resposta imune materna a partir de determinados agentes etiológicos, sendo que os componentes imunes atravessam a barreira hematoencefálica e promovem uma reação cruzada com componentes do SNC prejudicando o seu desenvolvimento. Estudos mais recentes propõem que esses fatores ambientais, como complicações obstétricas e agentes infecciosos, anteriormente citados, levam a distúrbios em mecanismos epigenéticos, que somados à pré-disposição genética, são capazes de colaborar como gatilhos para transtornos neuropsiquiátricos, como a esquizofrenia (BENROS *et al.*, 2011; MATRISCIANO *et al.*, 2018).

Outro marcante componente na patogênese da esquizofrenia é o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (MILLER *et al.*, 2011). A elevação de componentes inflamatórios periféricos pode modificar a permeabilidade da barreira hematoencefálica ou serem produzidos no próprio SNC a partir da ativação de células fagocitárias neuronais denominadas micróglia, promovendo ou exacerbando sintomas psicóticos ou comprometimento cognitivo (MONJI; KATO; KANBA, 2009). Ao encontro de tal condição, alguns distúrbios inflamatórios de caráter autoimune têm sido associados com uma maior taxa de desenvolvimento da esquizofrenia, como a anemia hemolítica, doença celíaca e cistite intersticial (EATON *et al.*, 2006). Um importante estudo de A Kato e colegas (2011) com relação às propriedades anti-inflamatórias dos antipsicóticos através de modulações de células neuronais na esquizofrenia revela um papel indiscutível da ativação da micróglia na patogênese da esquizofrenia além de um provável processo neurodegenerativo, sugerindo que os medicamentos antipsicóticos possuem efeito anti-inflamatório, reforçando assim o componente inflamatório na patogênese da doença.

Além dos fatores descritos, outros componentes estão envolvidos na patogênese da esquizofrenia. O uso de *Cannabis*, descrito por Andréasson e colegas (1987), revelou ser um fator de risco independente para o desenvolvimento da doença, além do tabagismo materno durante o período gestacional (NIEMELÄ *et al.*, 2016) e a imigração (WERBELOFF; LEVINE; RABINOWITZ, 2012) também elevam o risco para o desenvolvimento do distúrbio.

Com relação ao estudo da patogênese da esquizofrenia tem-se observado que o bloqueio de receptores dopaminérgicos, através de medicamentos como o haloperidol, melhora os sintomas da doença. Por este motivo acredita-se que a dopamina exibe um papel fundamental na patogênese da doença, porém nem todos os sintomas são aliviados com uso de medicamentos antagonistas de receptores dopaminérgicos, à vista disto, acredita-se que haja uma disfunção de outros neurotransmissores para a manifestação clínica (GOLDMAN-RAKIC *et al.*, 2004).

Outro neurotransmissor essencial envolvido na fisiopatologia da doença inclui o glutamato, o principal neurotransmissor excitatório do SNC que interage com receptores denominados NMDA (N-metil-D-aspartato). Evidências clínicas de pacientes que utilizaram antagonistas do receptor de NMDA (cetamina e fenciclidina) e estudos pós-morte demonstraram a contribuição deste neurotransmissor para patologia da esquizofrenia (LAHTI *et al.*, 2001; GEDDES; HUANG; NEWELL, 2011). Além dos já citados, outro neurotransmissor que pode estar envolvido na patogênese da esquizofrenia é o principal neurotransmissor inibitório do SNC, denominado GABA (ácido gama-aminobutírico, do inglês *gamma-aminobutyric acid*). Através de estudos pós-morte, pacientes com diagnóstico de esquizofrenia apresentaram uma redução dos níveis de expressão do mRNA (Ácido Ribonucleico mensageiro, do inglês *messenger Ribonucleic acid*) do transportador de recaptação de GABA (KINON, *et al.*, 2011).

1.2 CETAMINA E MODELO FARMACOLÓGICO DE ESQUIZOFRENIA

A cetamina ou quetamina é um anestésico dissociativo sintético, não barbitúrico e injetável sintetizado pela primeira vez em 1962 (LIU *et al.*, 2016). Devido ao seu rápido início de ação e curta duração de ação com apenas leve depressão cardiorrespiratória em comparação com outros anestésicos gerais e a possibilidade de inalação para manter o estado anestésico, a cetamina é uma droga

preferida para procedimentos cirúrgicos de curta duração em medicina veterinária e humana, especialmente em crianças (HIJAZI; BOLON; BOULIEU, 2001). De fato, em adultos, induz reações psicomiméticas severas, como alucinações, delírios, pesadelos, alterações da cognição e memória de curto prazo. Também tem sido proposto como analgésico, para o tratamento do alcoolismo e para o tratamento da depressão, devido ao seu rápido início de ação e efeitos duradouros (4 horas após a administração) (COYLE; LAWS, 2015).

Ela produz um estado de anestesia dissociativa, com uma sensação de dissociação do corpo e do ambiente. Representa um estado cataléptico caracterizado por analgesia profunda e completa e amnésia total com preservação dos reflexos protetores das vias aéreas (intubação desnecessária), respirações espontâneas e estabilidade cardiovascular (ou seja, a pressão arterial e a pulsação não diminuem e podem até aumentar ligeiramente). O estado dissociativo parece resultar de uma dissociação funcional: inibição das vias talamocorticais e estimulação das regiões límbicas do cérebro. Esses sistemas neuronais ajudam a manter as conexões neuronais necessárias para a consciência (ROBERTS *et al.*, 2013).

A cetamina é principalmente um antagonista estereosseletivo não competitivo do receptor ionotrópico do NMDA, reduzindo o influxo de íons cálcio através desse canal e, portanto, previne a ativação neuronal requerida para o estado consciente. Este efeito nos receptores NMDA é capaz de reverter a maior sensibilidade à dor que está frequentemente presente em grandes traumatismos ou ferimentos cirúrgicos e aumenta os efeitos antinociceptivos dos anti-inflamatórios não-opioides e convencionais. Além disso, a cetamina também exerce efeitos não relacionados com o NMDA, interagindo com vários receptores, nomeadamente: (1) receptores opióides μ , κ e δ , que contribuem para seus efeitos analgésicos; (2) efeito anticitocina; (3) inibição dos receptores muscarínicos e nicotínicos da acetilcolina; (4) inibição da corrente dos canais de cálcio e sódio tipo L; (5) receptores adrenérgicos; (6) receptores de serotonina; (7) receptores dopaminérgicos D_2 ; e (8) inibição dos canais de sódio neuronais (produzindo uma modesta ação anestésica local). Em oposição a vários outros anestésicos, ele não afeta os receptores do ácido γ -aminobutírico em concentrações clinicamente relevantes (SMITH; LARIVE; ROMANELLI, 2002).

Embora, a terapia com cetamina seja geralmente considerada segura, várias

consequências toxicológicas podem ser destacadas: (1) em doses menores, causa intoxicação leve, pensamento sonhador, alterações de fala, audição e visão, descoordenação muscular, desorientação, ansiedade, desinibição, euforia, ver o mundo de maneira diferente e irracional; (2) doses mais elevadas causam grande dificuldade de movimentação, distúrbios respiratórios, convulsões e náuseas; (3) doses extremas produzem completa dissociação da realidade e perda de consciência, alucinações, experiências fora do corpo e as chamadas “experiências de quase morte” ou o “buraco K”; (4) na ausência de outras drogas, as mortes por overdose (por exemplo, devido à depressão respiratória) são raras, uma vez que as doses utilizadas por dependentes químicos são tipicamente menores do que o necessário para a anestesia terapêutica. Mortes acidentais têm sido relatadas como consequência de queda, hipotermia, acidente de trânsito ou afogamento; e (5) o uso frequente de cetamina pode levar a dependência. Às vezes a cetamina é misturada com outras drogas, como cocaína, metanfetamina, 3,4-metilenodioximetanfetamina e benzodiazepínicos (MUETZELFELDT *et al.*, 2008).

Como a cetamina impede as ações do glutamato sobre os receptores de NMDA (NMDAR), a hipótese do glutamato da esquizofrenia é baseada em achados de aumento da gravidade dos sintomas em pacientes com esquizofrenia e o surgimento de sintomas positivos e negativos semelhantes à esquizofrenia em indivíduos saudáveis evocados por antagonistas do NMDAR (KRYSTAL, 1994).

Os modelos farmacológicos da esquizofrenia, como os estados semelhantes à psicose induzida por drogas, poderiam facilitar a pesquisa e o desenvolvimento de medicamentos, fornecendo uma maneira de verificar o envolvimento do alvo funcional e a capacidade de priorizar os medicamentos candidatos. Antagonistas da neurotransmissão glutamatérgica, como a cetamina, são substâncias promissoras nessa abordagem. Além disso, a cetamina piorou os sintomas positivos, negativos e cognitivos em pacientes não medicados com esquizofrenia (JAVITT *et al.*, 2011).

Em nível molecular, a cetamina tem demonstrado afetar a interação dopamina-glutamato na densidade pós-sináptica das sinapses excitatórias glutamatérgicas. De modo a avaliar os efeitos de fármacos candidatos a novas estratégias de tratamento na esquizofrenia, existe uma necessidade urgente de identificar outros biomarcadores encontrados como estando alterados tanto em pacientes com esquizofrenia como em modelos farmacológicos da doença tais como o modelo da esquizofrenia com cetamina. Isto pode oferecer a oportunidade de

avaliar os efeitos de drogas pré-clínicas/clínicas sobre alterações patológicas induzidas pela cetamina de tais biomarcadores para identificar fármacos candidatos para o tratamento da esquizofrenia. O modelo da cetamina em si, apesar de oferecer um forte valor explicativo, tem várias deficiências. Mais importante ainda, o modo de ação de cetamina não é restrita a NMDAR, mas envolve vários sistemas neurotransmissores, tais como a dopamina (agonismo parcial dos receptores D₂) e a serotonina (agonismo dos receptores 5-HT_{2A}) (TOMASETTI *et al.*, 2017).

1.3 SINTOMATOLOGIA E TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA

Com relação às principais manifestações clínicas da esquizofrenia, Fischer e Buchanan (2017) enfatizam os sintomas positivos e negativos. Dentre os sintomas positivos, podemos destacar alucinações e delírios, assim como pensamentos e comportamentos desorganizados. Por definição, temos que as alucinações ocorrem através de uma distorção da percepção de um processo sensorial desde que não haja uma causa externa que justifique o quadro. Nos quadros esquizofrênicos, as alucinações auditivas são as formas mais comuns ocorrendo em até 80% dos pacientes. Segundo Thomas e colegas (2007), de uma forma geral tais alucinações ocorrem no formato de vozes, porém podem ocorrer também outros sons como, por exemplo, músicas. Além das alucinações auditivas os pacientes também podem apresentar alucinações visuais, olfativas, gustativas ou até mesmo somáticas as quais os pacientes sentem ser tocados ou a uma percepção de dor.

Outra séria manifestação demonstrada como sintoma positivo são os delírios. Ocorrendo em aproximadamente 80% dos pacientes os delírios são definidos como fixos, ou seja, mesmo com evidências contraditórias há uma resistência à mudança de falsas crenças (ANDREASEN; FLAUM, 1991). Teoricamente os delírios podem ser categorizados em ilusões bizarras ou não bizarras, sendo o primeiro com total impossibilidade de ser verdadeiro (como exemplo, ilusões alienígenas), já o segundo, há uma compreensão e possibilidade de veracidade, porém não é um fato real. A temática dos delírios também pode ser categorizada, sendo divididas em ideias de referência, delírios grandiosos, alusões paranoicas, alusões niilistas e delírios erotomaníacos (CERMOLACCE; SASS; PARNAS, 2010).

Distinto dos sintomas anteriores, no paciente esquizofrênico pode ocorrer também um distúrbio de pensamento, caracterizado pela desorganização em seu

comportamento e o pensamento. A principal manifestação desta sintomatologia é relacionada a padrões de fala desconectados e desconexos, demonstrando uma descontinuidade na organização dos processos mentais do paciente. Tais demonstrações podem ocorrer através de uma fala tangencial, um discurso circunstancial, mudanças de assuntos repentinas sem lógica, neologismos ou uma fala com palavras dietas sem sensatez (ANDREASEN *et al.*, 2012).

Nos sintomas negativos, por definição, temos uma ausência ou diminuição dos processos considerados normais. Estes sintomas podem ser classificados como primários ou secundários. Os primários refletem uma característica típica da esquizofrenia, sendo ditos como sintomas de déficit (STRAUSS *et al.*, 2013). Segundo Blanchard e Cohen (2005), há uma resistência ao tratamento quando o paciente apresenta sintomas negativos primários, sendo os sintomas negativos independentes dos positivos. Por outro lado, tais sintomas podem ser secundários a outras situações, por exemplo, ocorrer isolamento social devido paranoia ou um quadro depressivo maior que leve a perda da capacidade de sentir prazer.

Outra importante questão referente aos sintomas negativos, de acordo com Blanchard e Cohen (2005) e Strauss e colegas (2013), é reconhecer a presença de dois componentes de sintomas negativos: a expressão diminuída e a apatia. Estes sintomas podem ser abordados através de diversas manifestações. Referente à expressão diminuída temos uma subdivisão em uma redução afetiva e outra denominada alogia, sendo a primeira manifestada através de poucos movimentos, redução do contato visual, não responsividade afetiva ou até mesmo expressão facial imutável e a segunda se refere à pobreza no discurso, bloqueio de pensamento ou até mesmo aumento da latência da resposta. Quanto à apatia, esta pode ser dividida em apatia própria ou anedonia, a primeira manifestada através de má higiene, anergia ou falha de responsabilidades. Já a anedonia ocorre através de pouco ou nenhum interesse em atividades, pouco interesse em relações sexuais, pouca ou nenhuma intimidade com outros ou falha em se envolver.

O diagnóstico de esquizofrenia requer a presença de “sintomas característicos” do transtorno (delírios, alucinações, fala ou comportamento desorganizado e/ou sintomas negativos) associados a disfunção social e/ou ocupacional por pelo menos seis meses na ausência de outro diagnóstico que melhor explicaria a apresentação. As perturbações encontradas não podem ser causadas pelos efeitos fisiológicos diretos de uma substância (por exemplo, uma

droga de abuso ou medicação) ou de uma condição médica geral. (APA, 2013).

Desde a síntese da clorpromazina em 1950 e do haloperidol em 1958 e seus respectivos usos terapêuticos, os antipsicóticos são a primeira escolha para o tratamento efetivo desse transtorno, porém 50 a 70% dos pacientes com esquizofrenia manifesta recuperação dos sintomas (KAPLAN; SADOCK, 2007; BRUNTON, 2012; OVENDEN *et al.*, 2018). Essa primeira geração de medicamentos antipsicóticos (PGAs), como o haloperidol, diminui os sintomas positivos da esquizofrenia, através do antagonismo aos receptores D₂ pós-sinápticos da dopamina (SEEMAN *et al.*, 1976; CITROME, 2010). No entanto, os PGAs induzem efeitos colaterais extrapiramidais, como sintomas físicos, incluindo tremor, fala arrastada, acatisia, distonia, ansiedade, angústia, paranóia e bradifrenia (NORD; FARDE, 2010). Além disso, o haloperidol não melhora os déficits cognitivos e sintomas negativos observados em pacientes esquizofrênicos (TODA; ABI-DARGHAM, 2007). No entanto, as evidências mostraram que a segunda geração de medicamentos antipsicóticos (SGAs), como a clozapina, poderia melhorar as funções cognitivas em pacientes com esquizofrenia (KANE, 1988; MELTZER; HORIGUCHI; MASSEY, 2011). Embora o tratamento com SGAs seja preferível, pois pode melhorar os sintomas negativos e resultados em longo prazo, os PGAs ainda são prescritos em muitos casos de esquizofrenia e transtorno bipolar. Os motivos que fazem o médico testar outro antipsicótico de classe diferente ou até da mesma classe é que os SGAs não são 100% efetivos na remissão dos sintomas positivos da esquizofrenia, além dos efeitos colaterais, o que faz diminuir a adesão ao tratamento (BUHAGIAR; GHAFOURI; DEY, 2019).

Apesar de ser um dos antipsicóticos mais antigos usados no tratamento da esquizofrenia e com efeitos colaterais importantes, o Haloperidol continua sendo umas das principais opções no arsenal farmacológico contra esse transtorno. Com as recentes descobertas de estudos, a farmacogenética, baseada em achados da epigenética, torna-se uma considerável possibilidade para aprimorar os desfechos do tratamento da esquizofrenia, assim como na intervenção ou diminuição dos efeitos colaterais desse antipsicótico, pois a diversidade dos sintomas e resultados dos tratamentos é muito associada às variedades genéticas e epigenéticas dos pacientes (OVENDEN *et al.*, 2018) e um melhor entendimento dos efeitos do haloperidol sobre a atividade das enzimas epigenéticas e níveis de fatores neurotróficos no cérebro pode contribuir para esse aperfeiçoamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do haloperidol sobre parâmetros epigenéticos e fatores neurotróficos no cérebro de ratos submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a atividade locomotora de ratos Wistar submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina;

Avaliar a atividade das enzimas epigenéticas DNMT, HDAC e HAT nas estruturas cerebrais, córtex frontal, hipocampo e estriado de ratos Wistar submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina;

Avaliar os fatores neurotróficos BDNF, NGF, NT-3 e GDNF nas estruturas cerebrais, córtex frontal, hipocampo e estriado de ratos Wistar submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Os experimentos foram realizados no Laboratório Translacional de Psiquiatria da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC). Todos os procedimentos experimentais foram realizados seguindo as Recomendações Internacionais para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, propostas pela Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento (SBNeC). Este projeto (número) foi iniciado após a aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNESC. No presente estudo foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, com 60 dias de idade, peso médio entre 250g e 300g. Os animais foram obtidos da colônia da UNESC, mantidos em gaiolas com ciclo de 12 horas claro/escuro. Comida e água estavam disponíveis *ad libitum*, e a temperatura foi mantida a $22 \pm 1^\circ \text{C}$.

3.2 DROGAS

No presente estudo, foi utilizada uma solução salina (Sal, NaCl 0,09%, 10 mL/kg), cetamina (CU ChemieUetikon, Alemanha), usada em solução aquosa de 1g/100mL preparada usando porcentagem em peso (p/v) (BECKER; GRECKSCH, 2004; IMRE *et al.*, 2006), e haloperidol (Sigma–Aldrich, Oakville, ON, Canada).

3.3 DESENHO EXPERIMENTAL

Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais (n = 8 por grupo):

- I. Solução salina + água (Grupo Controle);
- II. Solução salina + haloperidol (0,1 mg/kg) (Grupo Haloperidol);
- III. Cetamina (25 mg/kg) + água (Grupo Cetamina);
- IV. Cetamina (25 mg/kg) + haloperidol (0,1 mg/kg) (Grupo Cetamina + Haloperidol).

As injeções de cetamina ou solução salina foram administradas via intraperitoneal (i.p.) (uma vez ao dia) entre o 1º e o 14º dias do experimento. Água e haloperidol foram administradas via gavagem entre o 8º e 14º dias experimentais. Após 30 minutos da última injeção de cetamina ou soro fisiológico, os animais foram submetidos ao teste comportamental (atividade locomotora).

3.4 TESTE COMPORTAMENTAL

A atividade locomotora foi pontuada usando um Monitor de Atividade (*Insight Equipment Laboratory*) para medir as mudanças comportamentais nos animais que foram induzidas pela cetamina e que podem ter sido evitadas pelo haloperidol. Os animais foram avaliados 30 minutos após a última injeção de cetamina ou salina. Essa atividade foi realizada em um gabinete de 45x45 cm de acrílico, cercado por paredes com aproximadamente 50 cm de altura. O monitor é cercado por seis barras paralelas, cada uma contendo 16 sensores infravermelhos que detectam a posição e os movimentos exatos do sujeito, avaliando o comportamento detalhado do animal em teste. Os animais foram avaliados por um período de 15 minutos (DE OLIVEIRA *et al.*, 2009). As informações detectadas pelos sensores foram então transmitidas para um computador através da versão Open Source do Interbase 6:01 *software* (*Activity Monitor*, Ribeirão Preto - SP - Brasil). Foram analisados a distância percorrida e o tempo gasto na área central.

3.5 AMOSTRAS DO CÉREBRO

Imediatamente após o teste comportamental, os animais foram mortos por decapitação. Os cérebros foram então dissecados cuidadosamente no córtex frontal, hipocampo e estriado. As amostras cerebrais foram congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C para análises bioquímicas das atividades DNMT, HDAC e HAT e níveis de BDNF, NGF, NT-3 e GDNF.

3.6 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

As medidas bioquímicas do presente estudo foram normalizadas de acordo com o método de Lowry e colegas (1951).

3.7 ANÁLISE MOLECULAR E BIOQUÍMICA

3.7.1 Atividade de DNMT, HDAC e HAT

As amostras foram submetidas primeiro à extração de conteúdo nuclear

através do *EpiQuik Nuclear Extraction Kit* (PIGENTEK®), de acordo com as instruções do fabricante. O teor de proteínas dos extratos nucleares foi analisado pelo método de Lowry (LOWRY *et al.*, 1951). A atividade DNMT foi avaliada através do Kit de Ensaio de Atividade/Inibição do EpiQuik DNA Metiltransferase (DNMT) (PIGENTEK®), a atividade HDAC foi avaliada através do Kit de Ensaio de Atividade/Inibição EpiQuik HDAC (Colorimétrico) (PIGENTEK®) e a atividade do HAT foi avaliada através da Atividade EpiQuik HAT/Kit de teste de inibição (PIGENTEK®) de acordo com as instruções do fabricante.

3.7.2 Níveis de BDNF, NGF, NT-3 e GDNF

As amostras cerebrais foram homogeneizadas em uma solução tamponada com fosfato (PBS) com fluoreto de fenilmetilsulfonil 1 mM (PMSF) e etileno glicol bis (éter 2-aminoetilético) 1 mM (éter 2-aminoetilético) -N, N, N'N'-tetraacético (EGTA). Os sobrenadantes foram coletados após centrifugação a 10.000 x g por 20 minutos para quantificação dos níveis de fatores neurotróficos. Os níveis de BDNF, NGF, NT-3 e GDNF no córtex frontal, hipocampo e estriado foram avaliados por ensaio imunoabsorvente ligado à enzima sanduíche usando kits comerciais de acordo com as instruções do fabricante [NGF e BDNF: kit da Chemicon (EUA); Níveis de GDNF e NT-3: kit da Biosensis (EUA)].

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis foram analisadas de acordo com sua distribuição através do teste de normalidade de Shapiro Wilk. O teste de Levene avaliou a homogeneidade das variações entre os grupos. Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.) e foram analisados por ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Tukey, se necessário. O software Statistica 7® foi utilizado para realizar todas as análises. As diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente significantes quando $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 TESTE COMPORTAMENTAL

A Figura 1 demonstra que a administração de cetamina aumentou a distância percorrida (1A) e o tempo gasto na área central (1B) dos animais quando comparado ao grupo controle. O tratamento com haloperidol não reverteu essas alterações comportamentais. Dados da ANOVA bidirecional revelaram efeitos significativos da administração de cetamina [Distância percorrida: $F(1,20) = 7,72240$, $p < 0,01$; Tempo gasto na área central: $F(1,20) = 13,3516$, $p < 0,001$] tratamento [Distância percorrida: $F(1,20) = 0,06276$, $p = 0,804744$; Tempo gasto na área central: $F(1,20) = 4,33379$, $p = 0,050319$] e administração de cetamina \times interação com o tratamento [Distância percorrida: $F(1,20) = 0,69728$, $p = 0,413563$; Tempo gasto na área central: $F(1,20) = 0,6580$, $p < 0,426808$].

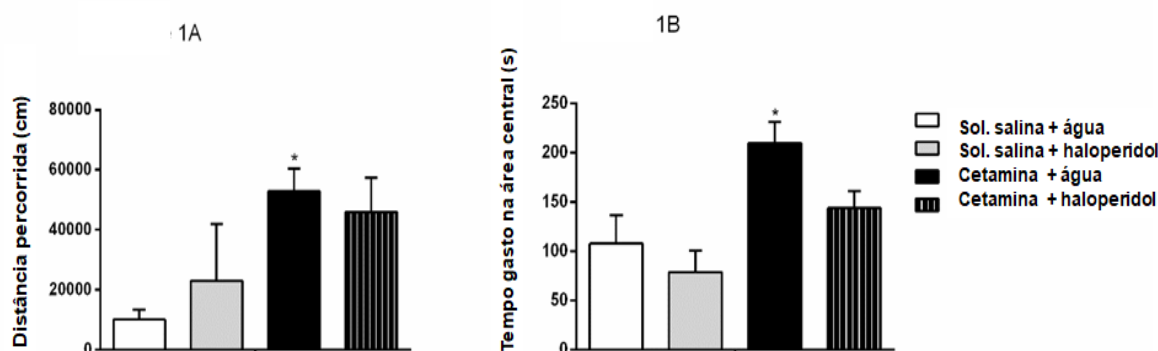


Figura 1. Teste de campo aberto. Esta figura mostra a comparação das distâncias percorridas (1A) e do tempo gasto na área central entre os grupos experimentais. Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, divididos em 4 grupos experimentais ($n = 8$ por grupo). Dados da ANOVA bidirecional revelaram efeitos significativos da administração de cetamina [Distância percorrida: $F(1,20) = 7,72240$, $p < 0,01$ (*); Tempo gasto na área central: $F(1,20) = 13,3516$, $p < 0,001$ (*)] tratamento [Distância percorrida: $F(1,20) = 0,06276$, $p = 0,804744$; Tempo gasto na área central: $F(1,20) = 4,33379$, $p = 0,050319$] e administração de cetamina \times interação com o tratamento [Distância percorrida: $F(1,20) = 0,69728$, $p = 0,413563$; Tempo gasto na área central: $F(1,20) = 0,6580$, $p < 0,426808$]. Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.). Figura elaborada pelo autor.

4.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

4.2.1 Atividade das enzimas epigenéticas

Pode-se observar nas figuras 2, 3 e 4, a seguir, os resultados dos efeitos da cetamina, bem como do haloperidol e da combinação de ambos nas atividades das

enzimas epigenéticas no cérebro de ratos submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina.

A Figura 2 mostra que a administração de cetamina aumentou a atividade da DNMT no córtex frontal e estriado, mas não no hipocampo, quando comparado ao grupo controle. No entanto, o haloperidol não afetou as alterações da atividade da DNMT induzidas pela cetamina em nenhuma estrutura cerebral. Os tratamentos com haloperidol, por si só, aumentaram a atividade da DNMT em todas as estruturas avaliadas. Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 53,3654$, $p < 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 5,2650$, $p < 0,05$; estriado: $F(1,16) = 25,079$, $p < 0,01$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 46,45991$, $p = 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 13,2101$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,16) = 28,461$, $p < 0,01$] e administração de cetamina \times interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 28,0638$, $p < 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 5,2301$, $p < 0,05$; estriado: $F(1,16) = 20,955$, $p < 0,01$].

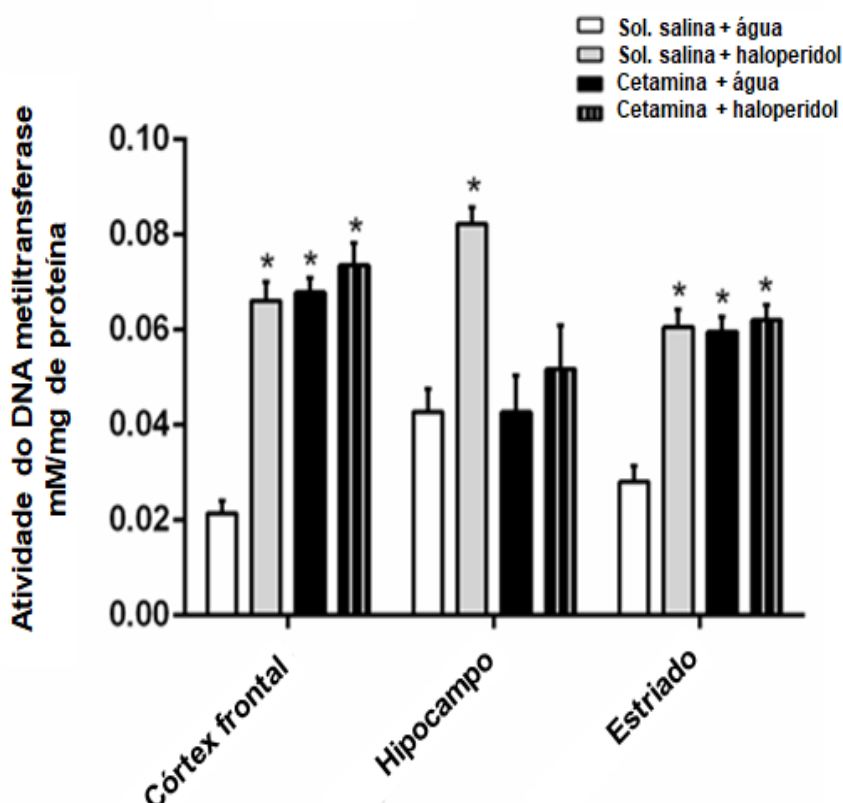


Figura 2. Atividade da DNMT. Esta figura mostra a comparação das atividades da DNA metiltransferase em diferentes áreas cerebrais entre os grupos experimentais. Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, divididos em 4 grupos experimentais ($n = 8$ por grupo). Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 53,3654$, $p < 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 5,2650$, $p < 0,05$; estriado: $F(1,16) = 25,079$, $p < 0,01$ (*)], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 46,45991$, $p = 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 13,2101$, $p < 0,01$ (*); estriado: $F(1,16) = 28,461$, $p < 0,01$ (*)] e administração de cetamina \times interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 28,0638$, $p < 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 5,2301$, $p < 0,05$; estriado: $F(1,16) = 20,955$, $p < 0,01$ (*)].

<0,01 (*); hipocampo: $F(1,16) = 5,2301$, $p < 0,05$; estriado: $F(1,16) = 20,955$, $p < 0,01$ (*). Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.). Figura elaborada pelo autor.

Na Figura 3, observa-se que a administração de cetamina aumentou a atividade da HDAC no córtex frontal e estriado, mas não no hipocampo, em comparação ao grupo controle. O haloperidol não afetou as alterações da HDAC induzidas por cetamina no córtex frontal; no entanto, esta droga potencializou o aumento da atividade da HDAC induzida pela cetamina no estriado. O haloperidol por si só aumentou a atividade da HDAC em todas as estruturas cerebrais avaliadas. Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 14,8862$, $p < 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 15,9430$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,15) = 32,6706$, $p < 0,01$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 29,9416$, $p = 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 21,4549$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,15) = 32,2803$, $p < 0,01$] e, administração de cetamina \times interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 15,7612$, $p < 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 35,5007$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,15) = 0,4119$, $p = 0,530695$].

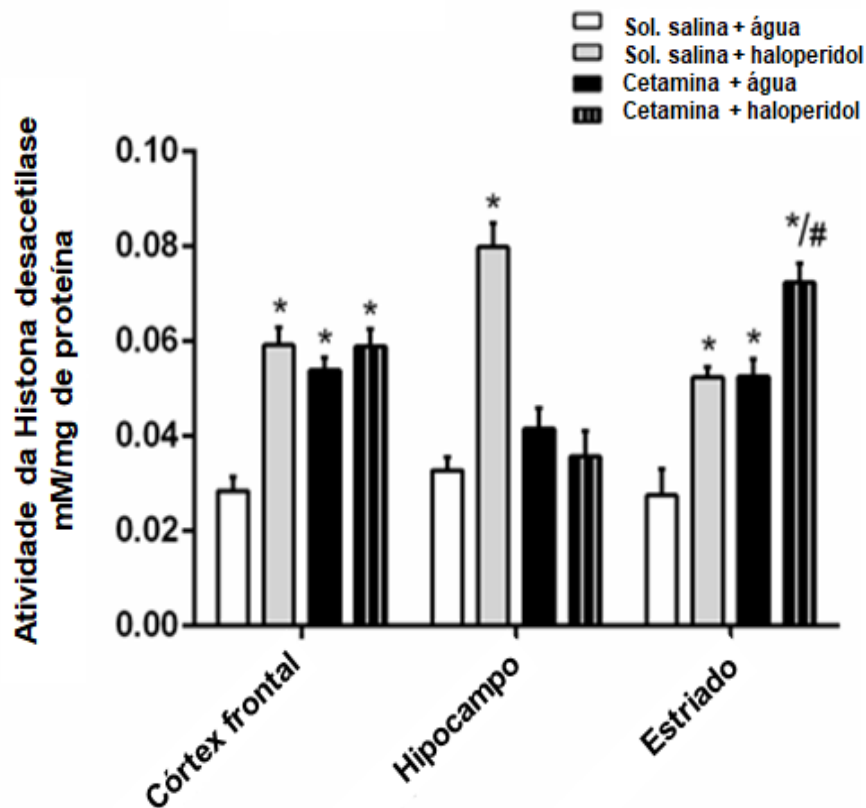


Figura 3. Atividade da HDAC. Esta figura mostra a comparação das atividades da Histona desacetilase em diferentes áreas cerebrais entre os grupos experimentais. Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, divididos em 4 grupos experimentais ($n = 8$ por grupo). Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 14,8862$, $p < 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 15,9430$, $p < 0,01$ (*); estriado: $F(1,15) = 32,6706$, $p < 0,01$ (*)], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 29,9416$, $p = 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 21,4549$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,15) = 32,2803$, $p < 0,01$ (*)] e,

administração de cetamina × interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 15,7612$, $p < 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 35,5007$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,15) = 0,4119$, $p = 0,530695$ (*/#)]. Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.). Figura elaborada pelo autor.

A Figura 4 mostra que a administração de cetamina ou haloperidol não alterou a atividade da HAT em nenhuma estrutura cerebral avaliada quando comparada ao grupo controle. Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,4506$, $p = 0,511606$; hipocampo: $F(1,16) = 1,8274$, $p = 0,195241$; estriado: $F(1,15) = 0,0564$, $p = 0,815298$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0047$, $p = 0,946094$; hipocampo: $F(1,16) = 0,0229$, $p = 0,881701$; estriado: $F(1,16) = 0,6208$, $p = 0,442274$] e, administração de cetamina × interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,1437$, $p = 0,709653$; hipocampo: $F(1,16) = 0,1466$, $p = 0,690344$; estriado: $F(1,16) = 0,8736$, $p = 0,363844$].

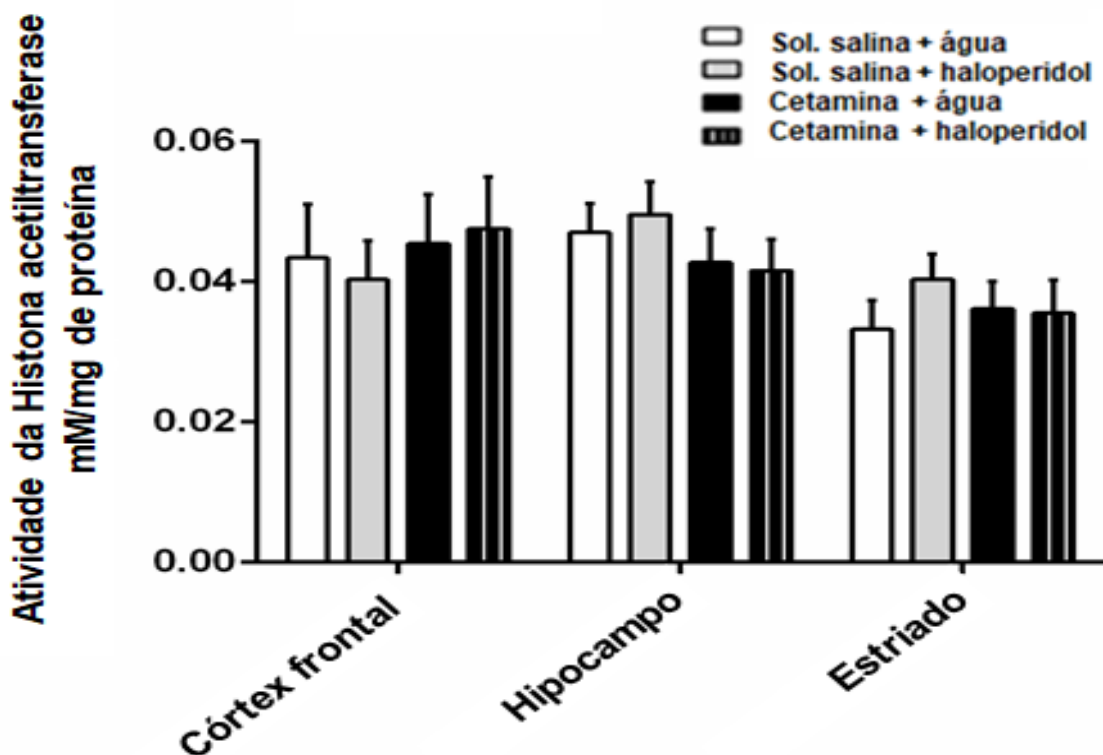


Figura 4. Atividade da HAT. Esta figura mostra a comparação das atividades da Histona acetiltransferase em diferentes áreas cerebrais entre os grupos experimentais. Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, divididos em 4 grupos experimentais ($n = 8$ por grupo). Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,4506$, $p = 0,511606$; hipocampo: $F(1,16) = 1,8274$, $p = 0,195241$; estriado: $F(1,15) = 0,0564$, $p = 0,815298$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0047$, $p = 0,946094$; hipocampo: $F(1,16) = 0,0229$, $p = 0,881701$; estriado: $F(1,16) = 0,6208$, $p = 0,442274$] e, administração de cetamina × interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,1437$, $p = 0,709653$; hipocampo: $F(1,16) = 0,1466$, $p = 0,690344$; estriado: $F(1,16) = 0,8736$, $p = 0,363844$]. Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.). Figura elaborada pelo autor.

4.2.2 Níveis de fatores neurotróficos

Os resultados demonstrados nas figuras 5, 6, 7 e 8, a seguir, mostram os efeitos da cetamina, bem como do haloperidol e da combinação de ambos nos níveis de fatores neurotróficos no córtex frontal, hipocampo e estriado de ratos submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina.

Pode ser observado na Figura 5 que a administração de cetamina não teve efeitos nos níveis de BDNF em nenhuma estrutura avaliada. No entanto, a administração de haloperidol em si diminuiu os níveis de BDNF em todas as estruturas avaliadas. Além disso, o haloperidol diminuiu os níveis de BDNF no córtex frontal e no estriado, mas não no hipocampo dos animais que receberam cetamina. Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0108$, $p = 0,918669$; hipocampo: $F(1,16) = 3,6139$, $p = 0,075467$; estriado: $F(1,16) = 0,5092$, $p = 0,485750$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 67,3939$, $p < 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 15,1561$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,16) = 17,4922$, $p < 0,01$] e, administração de cetamina \times interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,7729$, $p = 0,392339$; hipocampo: $F(1,16) = 15,1561$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,16) = 0,3505$, $p = 0,562081$].

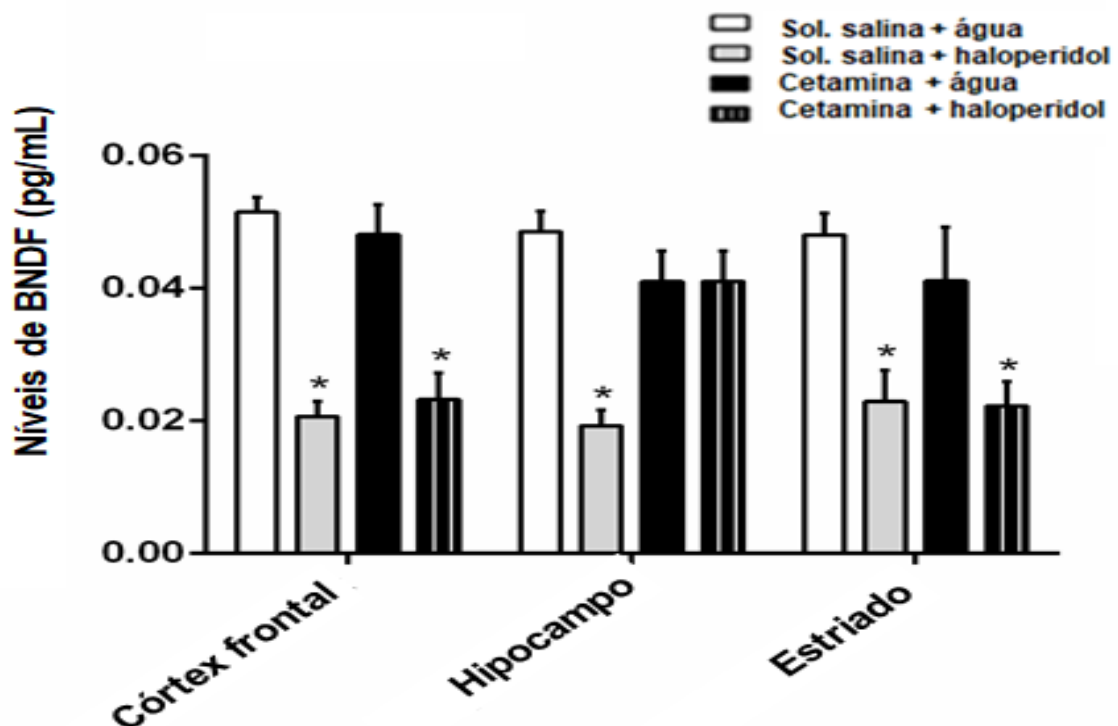


Figura 5. Níveis de BDNF. Esta figura mostra a comparação dos níveis de BDNF em diferentes áreas cerebrais entre os grupos experimentais. Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, divididos em 4 grupos experimentais ($n = 8$ por grupo). Dados da ANOVA de duas vias para administração

de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0108$ (*), $p = 0,918669$; hipocampo: $F(1,16) = 3,6139$, $p = 0,075467$; estriado: $F(1,16) = 0,5092$, $p = 0,485750$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 67,3939$, $p < 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 15,1561$, $p < 0,01$ (*); estriado: $F(1,16) = 17,4922$, $p < 0,01$ (*)] e, administração de cetamina x interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,7729$, $p = 0,392339$; hipocampo: $F(1,16) = 15,1561$, $p < 0,01$ (*); estriado: $F(1,16) = 0,3505$, $p = 0,562081$]. Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.). Figura elaborada pelo autor.

A Figura 6 mostra que a administração de cetamina não alterou os níveis de NGF no córtex frontal e no hipocampo dos animais quando comparados ao grupo controle; no entanto, diminuiu os níveis de NGF no estriado. A administração de cetamina associada ao haloperidol (grupo cetamina + haloperidol) diminuiu os níveis de NGF no córtex frontal e estriado dos animais. O haloperidol *per se* diminuiu os níveis de NGF em todas as estruturas cerebrais avaliadas. Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,2642$, $p = 0,614293$; hipocampo: $F(1,16) = 1,7572$, $p = 0,203585$; estriado: $F(1,16) = 7,9906$, $p < 0,01$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 83,9908$, $p < 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 5,0794$, $p < 0,05$; estriado: $F(1,16) = 28,6933$, $p < 0,01$] e, administração de cetamina x interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,3985$, $p = 0,536801$; hipocampo: $F(1,16) = 5,0794$, $p < 0,05$; estriado: $F(1,16) = 7,9894$, $p < 0,01$].

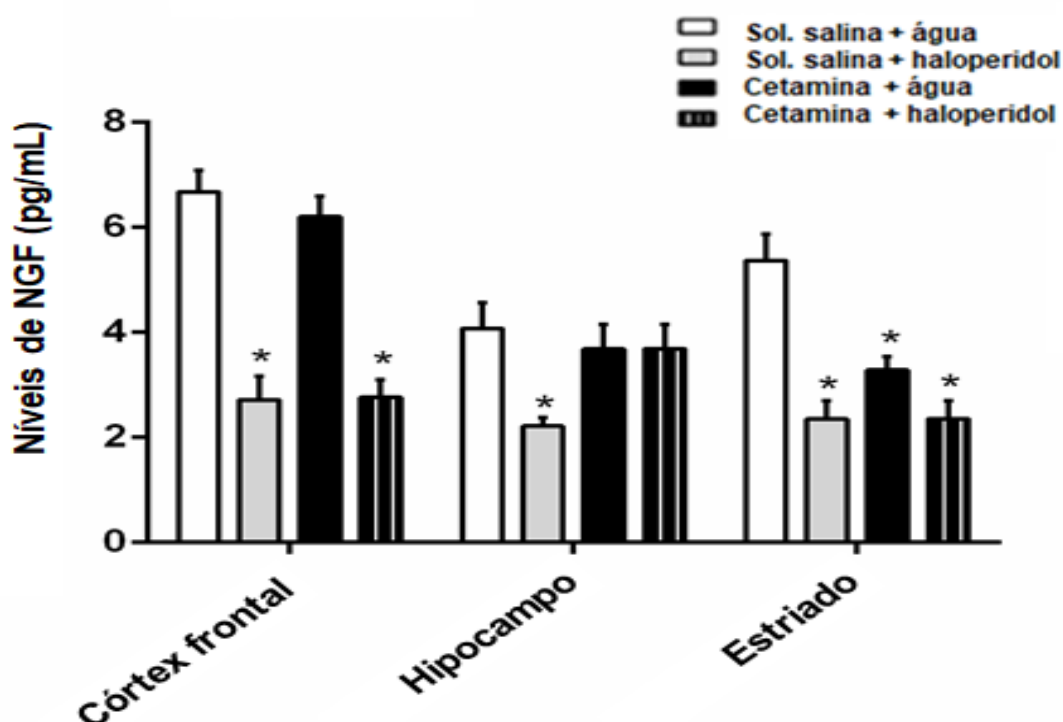


Figura 6. Níveis de NGF. Esta figura mostra a comparação dos níveis de NGF em diferentes áreas cerebrais entre os grupos experimentais. Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, divididos em 4 grupos experimentais ($n = 8$ por grupo). Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,2642$, $p = 0,614293$; hipocampo: $F(1,16) = 1,7572$, $p = 0,203585$; estriado: $F(1,16) = 7,9906$, $p < 0,01$ (*)], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 83,9908$, $p < 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 5,0794$, $p < 0,05$ (*); estriado: $F(1,16) = 28,6933$, $p < 0,01$ (*)] e, administração de cetamina x interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,3985$, $p = 0,536801$; hipocampo: $F(1,16) = 5,0794$, $p < 0,05$; estriado: $F(1,16) = 7,9894$, $p < 0,01$].

(1,16) = 5,0794, $p < 0,05$ (*); estriado: $F(1,16) = 7,9894$, $p < 0,01$ (*). Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.). Figura elaborada pelo autor.

A Figura 7 mostra que a administração de cetamina sozinha não afetou os níveis de NT-3 em nenhuma estrutura avaliada. Além disso, a administração de cetamina associada ao haloperidol diminuiu os níveis de NT-3 em todas as estruturas cerebrais avaliadas. O haloperidol *per se* diminuiu os níveis de NT-3 no córtex frontal e no hipocampo de ratos. Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0012$, $p = 0,973164$; hipocampo: $F(1,16) = 0,3810$, $p = 0,545737$; estriado: $F(1,16) = 8,4880$, $p < 0,01$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 75,4446$, $p < 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 35,1466$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,16) = 1,5470$, $p = 0,231496$] e, administração de cetamina \times interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 1,3524$, $p = 0,261914$; hipocampo: $F(1,16) = 3,2181$, $p = 0,091748$; estriado: $F(1,16) = 3,2874$, $p = 0,088616$].

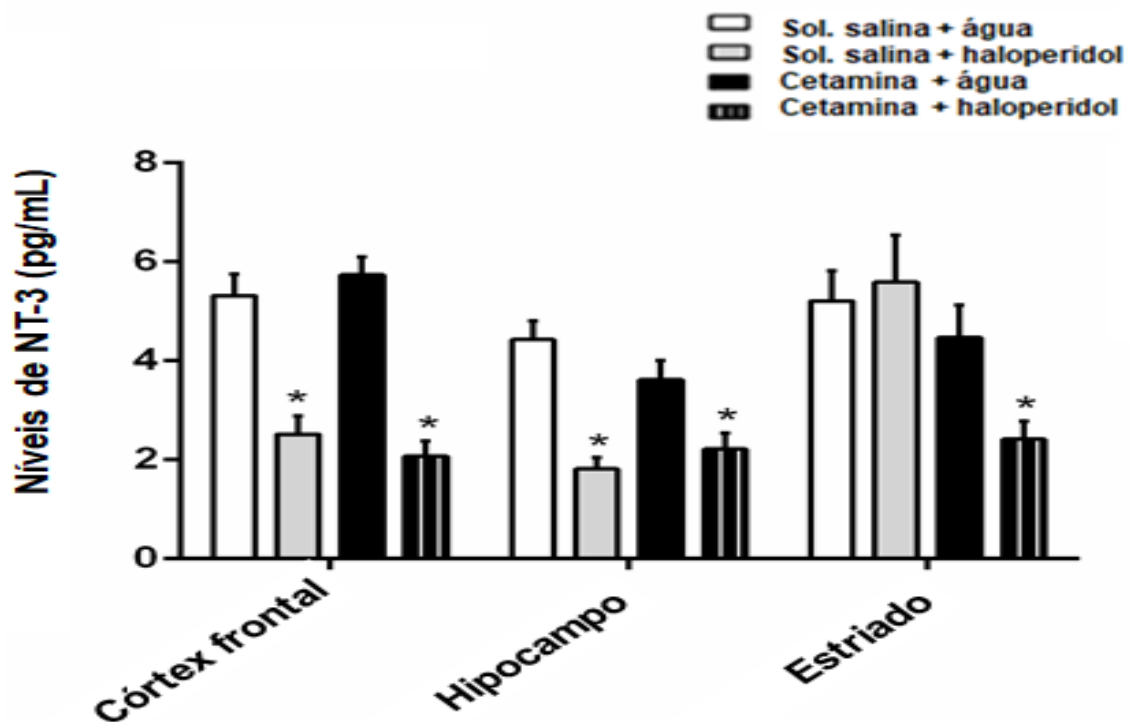


Figura 7. Níveis de NT-3. Esta figura mostra a comparação dos níveis de NT-3 em diferentes áreas cerebrais entre os grupos experimentais. Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, divididos em 4 grupos experimentais ($n = 8$ por grupo). Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0012$, $p = 0,973164$; hipocampo: $F(1,16) = 0,3810$, $p = 0,545737$; estriado: $F(1,16) = 8,4880$, $p < 0,01$ (*)], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 75,4446$, $p < 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 35,1466$, $p < 0,01$ (*); estriado: $F(1,16) = 1,5470$, $p = 0,231496$] e, administração de cetamina \times interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 1,3524$, $p = 0,261914$; hipocampo: $F(1,16) = 3,2181$, $p = 0,091748$ (*); estriado: $F(1,16) = 3,2874$, $p = 0,088616$ (*)]. Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.). Figura elaborada pelo autor.

Pode ser observado na Figura 8 que a administração de cetamina diminuiu os níveis de GDNF no estriado de ratos, mas não no córtex frontal e no hipocampo. A administração de haloperidol *per se* ou associada à cetamina diminuiu os níveis de GDNF em todas as estruturas avaliadas. Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0603$, $p = 0,809147$; hipocampo: $F(1,16) = 0,7584$, $p = 0,396694$; estriado: $F(1,16) = 9,2330$, $p < 0,01$], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 51,1453$, $p < 0,01$; hipocampo: $F(1,16) = 13,6773$, $p < 0,01$; estriado: $F(1,16) = 12,7391$, $p < 0,01$] e, administração de cetamina \times interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0754$, $p = 0,787117$; hipocampo: $F(1,16) = 0,7993$, $p < 0,384567$; estriado: $F(1,16) = 2,5781$, $p = 0,127906$].

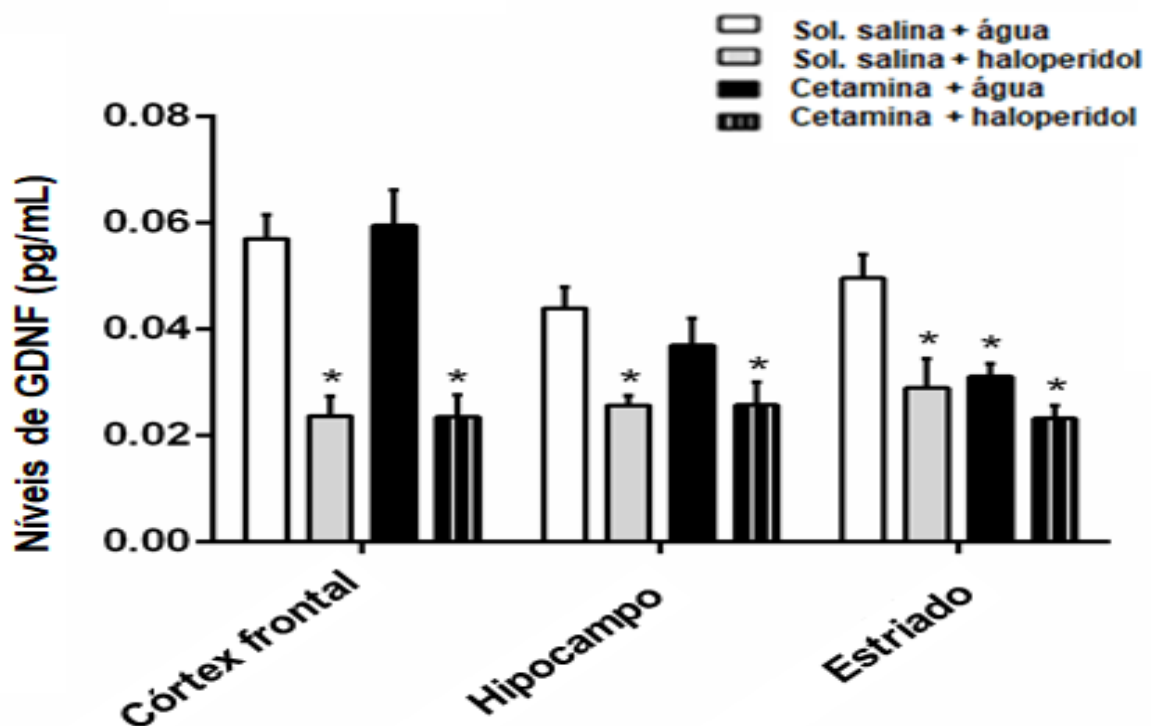


Figura 8. Níveis de GDNF. Esta figura mostra a comparação dos níveis de GDNF em diferentes áreas cerebrais entre os grupos experimentais. Foram utilizados 32 ratos Wistar adultos do sexo masculino, divididos em 4 grupos experimentais ($n = 8$ por grupo). Dados da ANOVA de duas vias para administração de cetamina [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0603$, $p = 0,809147$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 0,7584$, $p = 0,396694$ (*); estriado: $F(1,16) = 9,2330$, $p < 0,01$ (*)], tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 51,1453$, $p < 0,01$ (*); hipocampo: $F(1,16) = 13,6773$, $p < 0,01$ (*); estriado: $F(1,16) = 12,7391$, $p < 0,01$ (*)] e, administração de cetamina \times interação com o tratamento [córtex frontal: $F(1,16) = 0,0754$, $p = 0,787117$; hipocampo: $F(1,16) = 0,7993$, $p < 0,384567$; estriado: $F(1,16) = 2,5781$, $p = 0,127906$ (*)]. Todos os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média (S.E.). Figura elaborada pelo autor.

5 DISCUSSÃO

Em nosso estudo, evidenciamos que o haloperidol modifica parâmetros epigenéticos e fatores neurotróficos no cérebro de ratos Wistar submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzida por cetamina e os principais resultados e sugestões de como isso acontece serão analisadas a seguir.

A administração de cetamina aumentou a atividade locomotora de ratos Wistar e comportamento de riscos, como ficar mais tempo exposto em área central, o que já era sugerido por estudos anteriores que validaram a administração dessa droga como um modelo adequado de esquizofrenia por mimetizar alterações comportamentais observadas em pacientes com esquizofrenia, como hiperatividade e danos à memória (BECKER *et al.*, 2003; BECKER; GRECKSCH, 2004; IMRE *et al.*, 2006; YADAV *et al.*, 2018). Entretanto, observou-se que o tratamento com haloperidol, a 0,1 mg/kg, apesar de diminuir a distância percorrida e o tempo gasto na área central, não reverteu significativamente as alterações comportamentais induzidas pela cetamina. Validando o presente estudo, Becker e Grecksch (2004) demonstraram que a dose de 0,025 mg/kg de haloperidol não teve efeitos contra alterações comportamentais induzidas pela cetamina nos animais. Por outro lado, Yadav e colegas (2018) constataram que a dose de 1 mg/kg diminuiu as alterações locomotoras induzidas pela cetamina. Essa discordância pode ser explicada, em parte, pela diferença entre as doses utilizadas nos estudos, sugerindo que doses menores de haloperidol não são eficazes contra alterações comportamentais induzidas pela administração de cetamina.

Observa-se também que alterações comportamentais induzidas por antagonistas de receptores NMDA, como a cetamina, podem envolver alterações na metilação do DNA e expressão de DNMT (KOHR; DURIEUX, 1998; MATRISCIANO *et al.*, 2013). Tais mecanismos epigenéticos, como metilação do DNA e expressão de DNMT, estão envolvidos no controle da expressão gênica, independentemente de alterações na sequência do DNA (MOORE; LE; FAN, 2013; AFONSO-GRUNZ; MÜLLER, 2015). Alguns estudos demonstraram que essas diferenças epigenéticas, incluindo modificações de histonas, induzidas por fatores ambientais, podem contribuir para o desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos, como a esquizofrenia (MEANEY; SZYF, 2005; BENES *et al.*, 2007; MCGOWAN; SZYF, 2010; MATRISCIANO *et al.*, 2012, 2013, 2016). O presente trabalho verificou

que a administração de cetamina aumentou as atividades de DNMT e HDAC no córtex frontal e estriado de animais e a administração de haloperidol não afetou esse aumento. Um ensaio clínico demonstrou que a DNMT é altamente expressa em neurônios GABAérgicos de pacientes com esquizofrenia (ZHUBI *et al.*, 2009). Outro estudo determinou que a superexpressão da DNMT pudesse levar à hipermetilação dos genes GABA e glutamato e regular negativamente a expressão da DNMT na esquizofrenia (RUZICKA *et al.*, 2007). Além disso, as alterações na DNMT podem induzir um desequilíbrio na interação entre os neurônios GABAérgicos, glutamatérgicos e monoaminérgicos, que pode exacerbar episódios psicóticos (MELTZER; Horiguchi; Massey, 2011). A cetamina também pode regular a atividade do HDAC (CHOI *et al.*, 2015). É descrito que a superexpressão de HDAC1 em neurônios do córtex pré-frontal medial pode imitar fenótipos de esquizofrenia (BAHARI-JAVAN *et al.*, 2017). Juntos, esses dados podem explicar, pelo menos em parte, que alterações comportamentais observadas no presente estudo podem estar associadas a modificações nas atividades de DNMT e HDAC. Portanto, a neurotransmissão GABAérgica pode ser um alvo importante no tratamento da esquizofrenia (GUIDOTTI *et al.*, 2005).

Nosso trabalho também demonstrou que a administração de haloperidol aumentou as atividades de DNMT e HDAC em todas as estruturas avaliadas, mas não influenciou a atividade de HAT. Sabe-se que o haloperidol pode alterar as características de metilação do DNA, induzindo resposta farmacoepigênética, e essa que parece ser regulada pela DNMT. Alguns estudos identificaram o papel epigenético na esquizofrenia, demonstrando a influência dos antipsicóticos no epigenoma dos indivíduos (SWATHY; BANERJEE, 2017). Além disso, ensaios observaram que o haloperidol pode alterar a expressão gênica, resultando em efeitos colaterais importantes mediados por mecanismos epigenéticos (MACGIBBON *et al.*, 1994; INOUE *et al.*, 1998; FERNØ *et al.*, 2005; MINET-RINGUET *et al.*, 2007). Como relatado anteriormente, o haloperidol atua no sistema dopaminérgico por antagonismo do receptor D₂ (SEEMAN *et al.*, 1976; TYLER; ZALDIVAR-DIEZ; HAGGARTY, 2017). Alterações no sistema dopaminérgico, demonstradas em estudos passados, podem levar a alterações na atividade e expressão da DNMT e HDAC em algumas regiões do sistema límbico, como córtex frontal, hipocampo e estriado, ampliando esses efeitos colaterais. O tratamento com inibidores de HDAC propicia a conservação de neurônios dopaminérgicos,

diminuindo fatores inflamatórios e revigorando a sinalização apropriada no receptor D₂, podendo reduzir os efeitos colaterais do haloperidol (MONTALVO-ORTIZ *et al.*, 2017; ANIER *et al.*, 2018; VALVASSORI *et al.*, 2018).

Apesar do haloperidol, na dosagem administrada, não reverter a alteração comportamental, conforme os resultados mostrados nesse projeto, ele diminuiu os níveis de fatores neurotróficos na maioria das estruturas cerebrais avaliadas. Ensaios demonstraram que modulações no sistema dopaminérgico por meio da administração de psicoestimulantes, como as anfetaminas, podem alterar os níveis de fatores neurotróficos, como BDNF, NGF, NT-3 e GDNF (VALVASSORI *et al.*, 2019). No presente estudo, o haloperidol diminuiu os níveis de BDNF, NGF, NT-3 e GDNF no córtex frontal, hipocampo e estriado de ratos. Essas modificações, em geral, não foram observadas nos animais que receberam cetamina. Considerando que a cetamina é um antagonista dos receptores NMDA (NEWPORT *et al.*, 2015), pode-se sugerir que as reduções nos níveis de BDNF, NGF, NT-3 e GDNF no presente estudo possam estar associadas, inicialmente, à modulação do sistema dopaminérgico pelo haloperidol. No entanto, a cetamina diminuiu os níveis de NGF e GDNF no estriado dos animais quando comparados ao grupo controle. Esses fatores neurotróficos são muito expressos nos astrócitos do estriado (CHEN *et al.*, 2006). Além disso, variações no sistema glutamatérgico podem levar a alterações nos níveis de fatores neurotróficos, como o GDNF (JINDAL *et al.*, 2017). Logo, essas informações podem explicar, pelo menos em parte, as reduções nos níveis de GDNF e NGF no estriado induzido pela cetamina. Sugere-se também que a acetilação da histona, que é um mecanismo importante na expressão gênica, regule a expressão de BDNF e GDNF em astrócitos. Da mesma forma, é descrito que a regulação da expressão de BDNF e GDNF pela inibição de HDAC pode proteger os neurônios dopaminérgicos do cérebro (WU *et al.*, 2008; MONTALVO-ORTIZ *et al.*, 2017). Juntos, esses dados indicam que o haloperidol pode influenciar a expressão gênica e regular fatores neurotróficos através da modulação do sistema dopaminérgico.

No SNC, alguns fatores neurotróficos, como BDNF, NGF, NT-3 e GDNF, estão envolvidos na sobrevivência neuronal, excitabilidade, formação de memória e liberação de neurotransmissores (WIENER *et al.*, 2015; SCOLA; ANDREAZZA, 2015; WIENER *et al.*, 2017; SAFARI *et al.*, 2017). O BDNF é sintetizado nos neurônios dopaminérgicos, um grupo de células envolvidas na esquizofrenia (GUILLIN; DEMILY; THIBAUT, 2007). Sugestiona-se que os neurônios

dopaminérgicos sejam sensíveis à síntese de mRNA do BDNF, uma vez que alterações na expressão do mRNA do BDNF podem prejudicar os mesmos presentes no mesencéfalo em estudos com animais. (FAVALLI *et al.*, 2012; PENG *et al.*, 2018). Em adição, o controle da expressão do receptor D₂ pelo BDNF pode regular as funções das vias dopaminérgicas no sistema límbico (GUILLIN; DEMILY; THIBAUT, 2007; PENG *et al.*, 2018). Além disso, observa-se polimorfismo em genes de fatores neurotróficos, como o NGF (rs6330, rs4839435) em pacientes com esquizofrenia. Sabe-se também que os pacientes com esquizofrenia tratados com haloperidol apresentaram reduções nos níveis de NGF no sangue (ZAKHARYAN *et al.*, 2014). Desse modo, pode-se sugerir que o tratamento com haloperidol possa desenvolver efeitos colaterais também através da diminuição dos níveis dos fatores neurotróficos.

6 CONCLUSÃO

Em síntese, analisando os resultados de nosso trabalho, observa-se que a administração de haloperidol é capaz de alterar os níveis de fatores neurotróficos e a atividade das enzimas epigenéticas, o que pode ser um fator no desenvolvimento de efeitos colaterais em pacientes com esquizofrenia. Os mecanismos precisos envolvidos nas alterações observadas no presente estudo ainda não estão bem esclarecidos, mas uma possível disfunção epigenética ou um efeito primário do haloperidol em enzimas como DNMT e HDAC e a interrupção da expressão gênica de fatores neurotróficos nos neurônios não deve ser descartada. No entanto, são necessários mais estudos para entender melhor esses mecanismos.

REFERÊNCIAS

A KATO, T. *et al.* Anti-Inflammatory properties of antipsychotics via microglia modulations: are antipsychotics a 'fire extinguisher' in the brain of schizophrenia? **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 11, n. 7, p. 565-574, 2011.

ABEL, Kathryn M.; DRAKE, Richard; GOLDSTEIN, Jill M. Sex differences in schizophrenia. **International review of psychiatry**, v. 22, n. 5, p. 417-428, 2010.

AFONSO-GRUNZ, Fabian; MÜLLER, Sören. Principles of miRNA–mRNA interactions: beyond sequence complementarity. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, n. 16, p. 3127-3141, 2015.

ANDREASEN, Nancy C.; FLAUM, Michael. Schizophrenia: the characteristic symptoms. **Schizophrenia bulletin**, v. 17, n. 1, p. 27-49, 1991.

ANDREASEN, Nancy C. *et al.* Negative versus positive schizophrenia. **Springer Science & Business Media**, 2012.

ANDRÉASSON, Sven *et al.* Cannabis and schizophrenia A longitudinal study of swedish conscripts. **The Lancet**, v. 330, n. 8574, p. 1483-1486, 1987.

ANIER, Kaili *et al.* Cocaine-induced epigenetic DNA modification in mouse addiction-specific and non-specific tissues. **Neuropharmacology**, v. 139, p. 13-25, 2018.

APA - American Psychiatric Association. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5)**, American Psychiatric Association, Arlington, VA 2013.

BAHARI-JAVAN, Sanaz *et al.* HDAC1 links early life stress to schizophrenia-like phenotypes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 23, p. E4686-E4694, 2017.

BECKER, Axel *et al.* Ketamine-induced changes in rat behaviour: a possible animal model of schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 27, n. 4, p. 687-700, 2003.

BECKER, Axel; GRECKSCH, Gisela. Ketamine-induced changes in rat behaviour: a possible animal model of schizophrenia. Test of predictive validity. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 28, n. 8, p. 1267-1277, 2004.

BENES, Francine M. *et al.* Regulation of the GABA cell phenotype in hippocampus of schizophrenics and bipolars. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 24, p. 10164-10169, 2007.

BENROS, Michael E. *et al.* Autoimmune diseases and severe infections as risk factors for schizophrenia: a 30-year population-based register study. **American Journal of Psychiatry**, v. 168, n. 12, p. 1303-1310, 2011.

BLANCHARD, Jack J.; COHEN, Alex S. The structure of negative symptoms within schizophrenia: implications for assessment. **Schizophrenia bulletin**, v. 32, n. 2, p. 238-245, 2005.

BORA, Emre; MURRAY, Robin M. Meta-analysis of cognitive deficits in ultra-high risk to psychosis and first-episode psychosis: do the cognitive deficits progress over, or after, the onset of psychosis? **Schizophrenia bulletin**, v. 40, n. 4, p. 744-755, 2013.

BROWN, Alan S.; DERKITS, Elena J. Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. **American Journal of Psychiatry**, v. 167, n. 3, p. 261-280, 2009.

BRUNTON, Laurence L. (org.). **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2012.

BUHAGIAR, Kurt; GHAFOURI, Mustafa; DEY, Mrinalini. Oral antipsychotic prescribing and association with neighbourhood-level socioeconomic status: analysis of time trend of routine primary care data in England, 2011-2016. **Social Psychiatry And Psychiatric Epidemiology**, [S.L.], v. 55, n. 2, p. 165-173, 19 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00127-019-01793-9>.

BUKA, Stephen L. *et al.* Maternal exposure to herpes simplex virus and risk of psychosis among adult offspring. **Biological psychiatry**, v. 63, n. 8, p. 809-815, 2008.

CANNON, Tyrone D. *et al.* The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort: a population-based modeling study. **Archives of general psychiatry**, v. 55, n. 1, p. 67-74, 1998.

CARDNO, Alastair G. *et al.* Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. **Archives of general psychiatry**, v. 56, n. 2, p. 162-168, 1999.

CASTRÉN, Eero. Neurotrophins and psychiatric disorders. In: **Neurotrophic Factors**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2014. p. 461-479.

CERMOLACCE, M.; SASS, L.; PARNAS, J. What is bizarre in bizarre delusions? A critical review. **Schizophrenia bulletin**, v. 36, n. 4, p. 667-679, 2010.

CHAROSTAD, Javad *et al.* DNA methyltransferases in virus-associated cancers. **Reviews in Medical Virology**, v. 29, n. 2, p. e2022, 2019.

CHEN, Liang-Wei *et al.* Localization of nerve growth factor, neurotrophin-3, and glial cell line-derived neurotrophic factor in nestin-expressing reactive astrocytes in the caudate-putamen of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-treated C57/Bl mice. **Journal of Comparative Neurology**, v. 497, n. 6, p. 898-909, 2006.

CHOI, Miyeon *et al.* Ketamine produces antidepressant-like effects through phosphorylation-dependent nuclear export of histone deacetylase 5 (HDAC5) in rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 51, p. 15755-15760, 2015.

CHOLEWA-WACLAW, Justyna *et al.* The role of epigenetic mechanisms in the regulation of gene expression in the nervous system. **Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 45, p. 11427-11434, 2016.

CITROME, L. Lurasidone for schizophrenia: a review of the efficacy and safety profile for this newly approved second-generation antipsychotic. **International Journal Of Clinical Practice**, [S.L.], v. 65, n. 2, p. 189-210, 3 dez. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-1241.2010.02587.x>.

CLARKE, Mary Catherine; HARLEY, Michelle; CANNON, Mary. **The role of obstetric events in schizophrenia**. 2006.

COYLE, Caoimhe M.; LAWS, Keith R. The use of ketamine as an antidepressant: a systematic review and meta-analysis. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, Southampton, v. 30, p. 152-163, 2015.

DE OLIVEIRA, Larissa *et al.* Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 6, p. 1003-1008, 2009.

DICKERSON, Faith *et al.* Antibodies to measles in individuals with recent onset psychosis. **Schizophrenia research**, v. 119, n. 1-3, p. 89-94, 2010.

EATON, William W. *et al.* Association of schizophrenia and autoimmune diseases: linkage of Danish national registers. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 3, p. 521-528, 2006.

FAVALLI, Gabriela *et al.* The role of BDNF in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. **Journal of psychiatric research**, v. 46, n. 1, p. 1-11, 2012.

FENG, Jian *et al.* Dynamic expression of de novo DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b in the central nervous system. **Journal of neuroscience research**, v. 79, n. 6, p. 734-746, 2005.

FERNØ, J. *et al.* Antipsychotic drugs activate SREBP-regulated expression of lipid biosynthetic genes in cultured human glioma cells: a novel mechanism of action? **The pharmacogenomics journal**, v. 5, n. 5, p. 298-304, 2005.

FISCHER, Bernard A.; BUCHANAN, Robert W. Schizophrenia in adults: Clinical manifestations, course, assessment, and diagnosis. **UpToDate**, Waltham, MA, 2017.

FISCHER, Bernard A.; CARPENTER JR, William T. Will the Kraepelinian dichotomy survive DSM-V? **Neuropsychopharmacology**, v. 34, n. 9, p. 2081, 2009.

GEDDES, Amy E.; HUANG, Xu-Feng; NEWELL, Kelly A. Reciprocal signalling between NR2 subunits of the NMDA receptor and neuregulin1 and their role in schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 4, p. 896-904, 2011.

GOLDMAN-RAKIC, Patricia S. *et al.* Targeting the dopamine D 1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction. **Psychopharmacology**, v. 174, n. 1, p. 3-16, 2004.

GUIDOTTI, Alessandro *et al.* GABAergic dysfunction in schizophrenia: new treatment strategies on the horizon. **Psychopharmacology**, v. 180, n. 2, p. 191-205, 2005.

GUILLIN, Olivier; DEMILY, Caroline; THIBAUT, Florence. Brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia and its relation with dopamine. **International review of neurobiology**, v. 78, p. 377-395, 2007.

GUO, Junjie U. *et al.* Neuronal activity modifies the DNA methylation landscape in the adult brain. **Nature neuroscience**, v. 14, n. 10, p. 1345-1351, 2011.

HARRISON, Paul J. Recent genetic findings in schizophrenia and their therapeutic relevance. **Journal of psychopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 85-96, 2015.

HEINRICHS, Douglas W.; BUCHANAN, Robert W. Significance and meaning of neurological signs in schizophrenia. **The American journal of psychiatry**, v. 145, n. 1, p. 11, 1988.

HENNEKENS, Charles H. *et al.* Schizophrenia and increased risks of cardiovascular disease. **American heart journal**, v. 150, n. 6, p. 1115-1121, 2005.

HIJAZI, Youssef; BOLON, Magali; BOULIEU, Roselyne. Stability of ketamine and its metabolites norketamine and dehydronorketamine in human biological samples. **Clinical chemistry**, v. 47, n. 9, p. 1713-1715, 2001.

HUTTUNEN, Matti O.; NISKANEN, Pekka. Prenatal loss of father and psychiatric disorders. **Archives of general psychiatry**, v. 35, n. 4, p. 429-431, 1978.

IMRE, Gabor *et al.* Dose–response characteristics of ketamine effect on locomotion, cognitive function and central neuronal activity. **Brain research bulletin**, v. 69, n. 3, p. 338-345, 2006.

INOUE, Atsuko *et al.* Differential effects on D2 dopamine receptor and prolactin gene expression by haloperidol and aripiprazole in the rat pituitary. **Molecular brain research**, v. 55, n. 2, p. 285-292, 1998.

JAVITT, D. C. *et al.* Translating Glutamate: from pathophysiology to treatment. **Science Translational Medicine**, [S.L.], v. 3, n. 102, p. 1-13, 28 set. 2011. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3002804>.

JINDAL, Neeru *et al.* Alteration of Neurotrophic Factors After Transplantation of Bone Marrow Derived Lin-ve Stem Cell in NMDA-Induced Mouse Model of Retinal Degeneration. **Journal of cellular biochemistry**, v. 118, n. 7, p. 1699-1711, 2017.

KANE, John. Clozapine for the Treatment-Resistant Schizophrenic. **Archives Of General Psychiatry**, [S.L.], v. 45, n. 9, p. 789-796, 1 set. 1988. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.1988.01800330013001>.

KAPLAN, HI. & SADOCK, B. **Compêndio de Psiquiatria**. 9ª edição. Porto Alegre: Artes Médicas, 2007.

KASPER, Dennis L. *et al.* **Medicina interna de Harrison**. 19. ed. Porto Alegre: AMGH, 2017.

KINON, Bruce J. *et al.* A multicenter, inpatient, phase 2, double-blind, placebo-controlled dose-ranging study of LY2140023 monohydrate in patients with DSM-IV schizophrenia. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 31, n. 3, p. 349-355, 2011.

KOHR, Rainer; DURIEUX, Marcel E. Ketamine: teaching an old drug new tricks. **Anesthesia & Analgesia**, v. 87, n. 5, p. 1186-1193, 1998.

KRINGLEN, Einar. Twin studies in schizophrenia with special emphasis on concordance figures. **American journal of medical genetics**, v. 97, n. 1, p. 4-11, 2000.

KRYSTAL, John H. Subanesthetic Effects of the Noncompetitive NMDA Antagonist, Ketamine, in Humans. **Archives Of General Psychiatry**, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 199-214, 1 mar. 1994. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.1994.03950030035004>.

LAHTI, Adrienne C. *et al.* Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. **Neuropsychopharmacology**, v. 25, n. 4, p. 455-467, 2001.

LIU, Yu *et al.* Ketamine abuse potential and use disorder. **Brain research bulletin**, v. 126, p. 68-73, 2016.

LOWRY, Oh *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265, 1951.

MACGIBBON, G. A. *et al.* Clozapine and haloperidol produce a differential pattern of immediate early gene expression in rat caudate-putamen, nucleus accumbens, lateral septum and islands of Calleja. **Molecular brain research**, v. 23, n. 1-2, p. 21-32, 1994.

MATRISCIANO, Francesco *et al.* Epigenetic alterations in prenatal stress mice as an endophenotype model for schizophrenia: Role of metabotropic glutamate 2/3 receptors. **Frontiers in molecular neuroscience**, v. 11, p. 423, 2018.

MATRISCIANO, Francesco *et al.* Epigenetic modifications of GABAergic interneurons are associated with the schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. **Neuropharmacology**, v. 68, p. 184-194, 2013.

MATRISCIANO, Francesco *et al.* Metabotropic glutamate 2/3 receptors and epigenetic modifications in psychotic disorders: a review. **Current neuropharmacology**, v. 14, n. 1, p. 41-47, 2016.

MATRISCIANO, Francesco *et al.* Pharmacological activation of group-II metabotropic glutamate receptors corrects a schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 4, p. 929-938, 2012.

MCGOWAN, Patrick O.; SZYF, Moshe. The epigenetics of social adversity in early life: implications for mental health outcomes. **Neurobiology of disease**, v. 39, n. 1, p. 66-72, 2010.

MEANEY, Michael J.; SZYF, Moshe. Maternal care as a model for experience-dependent chromatin plasticity? **Trends in neurosciences**, v. 28, n. 9, p. 456-463, 2005.

MELTZER, Herbert Y.; HORIGUCHI, Masakuni; MASSEY, Bill W. The role of serotonin in the NMDA receptor antagonist models of psychosis and cognitive impairment. **Psychopharmacology**, [S.L.], v. 213, n. 2-3, p. 289-305, 8 jan. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-010-2137-8>.

MILLER, Brian J. *et al.* Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. **Biological psychiatry**, v. 70, n. 7, p. 663-671, 2011.

MINET-RINGUET, J. *et al.* Alterations of lipid metabolism and gene expression in rat adipocytes during chronic olanzapine treatment. **Molecular psychiatry**, v. 12, n. 6, p. 562-571, 2007.

MITCHELMORE, Cathy; GEDE, Lene. Brain derived neurotrophic factor: epigenetic regulation in psychiatric disorders. **Brain research**, v. 1586, p. 162-172, 2014.

MONJI, Akira; KATO, Takahiro; KANBA, Shigenobu. Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. **Psychiatry and clinical neurosciences**, v. 63, n. 3, p. 257-265, 2009.

MONTALVO-ORTIZ, Janitza L. *et al.* Histone deacetylase inhibitors reverse age-related increases in side effects of haloperidol in mice. **Psychopharmacology**, v. 234, n. 16, p. 2385-2398, 2017.

MOORE, Lisa D.; LE, Thuc; FAN, Guoping. DNA methylation and its basic function. **Neuropsychopharmacology**, v. 38, n. 1, p. 23-38, 2013.

MORTENSEN, Preben Bo *et al.* Toxoplasma gondii as a risk factor for early-onset schizophrenia: analysis of filter paper blood samples obtained at birth. **Biological psychiatry**, v. 61, n. 5, p. 688-693, 2007.

MUETZELFELDT, L. *et al.* Journey through the K-hole: phenomenological aspects of ketamine use. **Drug And Alcohol Dependence**, [S.L.], v. 95, n. 3, p. 219-229, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2008.01.024>.

MURRAY CJL, LOPEZ AD. **The Global Burden of Disease**, Harvard University Press, Cambridge, MA 1996.

MYHRMAN, Antero *et al.* Unwantedness of a pregnancy and schizophrenia in the child. **The British Journal of Psychiatry**, v. 169, n. 5, p. 637-640, 1996.

NEED, Anna C.; GOLDSTEIN, David B. Schizophrenia genetics comes of age. **Neuron**, v. 83, n. 4, p. 760-763, 2014.

NEWPORT, D. Jeffrey *et al.* Ketamine and other NMDA antagonists: early clinical trials and possible mechanisms in depression. **American Journal of Psychiatry**, v. 172, n. 10, p. 950-966, 2015.

NIELSEN, Philip R.; BENROS, Michael E.; MORTENSEN, Preben B. Hospital contacts with infection and risk of schizophrenia: a population-based cohort study with linkage of Danish national registers. **Schizophrenia bulletin**, v. 40, n. 6, p. 1526-1532, 2013.

NIEMELÄ, Solja *et al.* Prenatal nicotine exposure and risk of schizophrenia among offspring in a national birth cohort. **American Journal of Psychiatry**, v. 173, n. 8, p. 799-806, 2016.

NORD, Magdalena; FARDE, Lars. Antipsychotic Occupancy of Dopamine Receptors in Schizophrenia. **Cns Neuroscience & Therapeutics**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 97-103, 8 dez. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00222.x>.

OVENDEN, Ellen S. *et al.* DNA methylation and antipsychotic treatment mechanisms in schizophrenia: Progress and future directions. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 81, p. 38-49, 2018.

PENG, Shiyong *et al.* BDNF as a biomarker in diagnosis and evaluation of treatment for schizophrenia and depression. **Discovery Medicine**, v. 26, n. 143, p. 127-136, 2018.

RIPKE, Stephan *et al.* Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. **Nature**, v. 511, n. 7510, p. 421, 2014.

ROBERTS, R Edward *et al.* Abnormalities in White Matter Microstructure Associated with Chronic Ketamine Use. **Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 329-338, 9 ago. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2013.195>.

RUZICKA, W. B. *et al.* Selective epigenetic alteration of layer I GABAergic neurons isolated from prefrontal cortex of schizophrenia patients using laser-assisted microdissection. **Molecular psychiatry**, v. 12, n. 4, p. 385-397, 2007.

SAFARI, Roghaiyeh *et al.* Glial cell-derived neurotrophic factor gene polymorphisms affect severity and functionality of bipolar disorder. **Journal of Integrative Neuroscience**, v. 16, n. 4, p. 471-481, 2017.

SCOLA, Gustavo; ANDREAZZA, Ana Cristina. The role of neurotrophins in bipolar disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 56, p. 122-128, 2015.

SEEMAN, P. *et al.* Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. **Nature**, [S.L.], v. 261, n. 5562, p. 717-719, jun. 1976. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/261717a0>.

SHORTER, Kimberly R.; MILLER, Brooke H. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. **Progress in biophysics and molecular biology**, v. 118, n. 1-2, p. 1-7, 2015.

SMITH, Kelly M.; LARIVE, Lisa L.; ROMANELLI, Frank. Club drugs: methylenedioxymethamphetamine, flunitrazepam, ketamine hydrochloride, and gamma-hydroxybutyrate. **American Journal Of Health-System Pharmacy**, [S.L.], v. 59, n. 11, p. 1067-1076, 1 jun. 2002. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/ajhp/59.11.1067>.

ST CLAIR, David *et al.* Rates of adult schizophrenia following prenatal exposure to the Chinese famine of 1959-1961. **Jama**, v. 294, n. 5, p. 557-562, 2005.

STEFANSSON, Hreinn *et al.* Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. **Nature**, v. 455, n. 7210, p. 232, 2008.

STRAUSS, Gregory P. *et al.* Deconstructing negative symptoms of schizophrenia: avolition–apathy and diminished expression clusters predict clinical presentation and functional outcome. **Journal of psychiatric research**, v. 47, n. 6, p. 783-790, 2013.

SUSSER, Ezra *et al.* Schizophrenia after prenatal famine: further evidence. **Archives of general psychiatry**, v. 53, n. 1, p. 25-31, 1996.

SWATHY, Babu; BANERJEE, Moinak. Understanding epigenetics of schizophrenia in the backdrop of its antipsychotic drug therapy. **Epigenomics**, v. 9, n. 5, p. 721-736, 2017.

THOMAS, P. *et al.* Correlates of hallucinations in schizophrenia: A cross-cultural evaluation. **Schizophrenia research**, v. 92, n. 1-3, p. 41-49, 2007.

TODA, Mitsuru; ABI-DARGHAM, Anissa. Dopamine hypothesis of schizophrenia: making sense of it all. **Current Psychiatry Reports**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 329-336, 11 jul. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11920-007-0041-7>.

TOMASETTI, Carmine *et al.* Treating the Synapse in Major Psychiatric Disorders: the role of postsynaptic density network in dopamine-glutamate interplay and psychopharmacologic drugs molecular actions. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 135-156, 12 jan. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18010135>.

TYLER, Marshall W.; ZALDIVAR-DIEZ, Josefa; HAGGARTY, Stephen J.. Classics in Chemical Neuroscience: haloperidol. **ACS Chemical Neuroscience**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 444-453, 15 fev. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acscemneuro.7b00018>.

VALVASSORI, Samira S. *et al.* Sodium butyrate functions as an antidepressant and improves cognition with enhanced neurotrophic expression in models of maternal deprivation and chronic mild stress. **Current neurovascular research**, v. 11, n. 4, p. 359-366, 2014.

VALVASSORI, Samira S. *et al.* Sodium butyrate has an antimanic effect and protects the brain against oxidative stress in an animal model of mania induced by ouabain. **Psychiatry Research**, v. 235, p. 154-159, 2016.

VALVASSORI, Samira S. *et al.* The effects of histone deacetylase inhibition on the levels of cerebral cytokines in an animal model of mania induced by dextroamphetamine. **Molecular neurobiology**, v. 55, n. 2, p. 1430-1439, 2018.

VALVASSORI, Samira S. *et al.* The role of neurotrophic factors in manic-, anxious- and depressive-like behaviors induced by amphetamine sensitization: Implications to the animal model of bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**, v. 245, p. 1106-1113, 2019.

WERBELOFF, Nomi; LEVINE, Stephen Z.; RABINOWITZ, Jonathan. Elaboration on the association between immigration and schizophrenia: a population-based national study disaggregating annual trends, country of origin and sex over 15 years. **Social psychiatry and psychiatric epidemiology**, v. 47, n. 2, p. 303-311, 2012.

WIENER, Carolina David *et al.* Brief psychoeducation for bipolar disorder: Evaluation of trophic factors serum levels in young adults. **Psychiatry Research**, v. 257, p. 367-371, 2017.

WIENER, Carolina David *et al.* Serum levels of nerve growth factor (NGF) in patients with major depression disorder and suicide risk. **Journal of affective disorders**, v. 184, p. 245-248, 2015.

WU, Xuefei *et al.* Histone deacetylase inhibitors up-regulate astrocyte GDNF and BDNF gene transcription and protect dopaminergic neurons. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 8, p. 1123-1134, 2008.

XU, Ming-Qing *et al.* Prenatal malnutrition and adult schizophrenia: further evidence from the 1959-1961 Chinese famine. **Schizophrenia bulletin**, v. 35, n. 3, p. 568-576, 2009.

YADAV, Monu *et al.* Potential effect of spermidine on GABA, dopamine, acetylcholinesterase, oxidative stress and proinflammatory cytokines to diminish ketamine-induced psychotic symptoms in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, p. 207-213, 2018.

ZAKHARYAN, Roksana *et al.* Nerve growth factor and its receptor in schizophrenia. **BBA clinical**, v. 1, p. 24-29, 2014.

ZHUBI, A. *et al.* An upregulation of DNA-methyltransferase 1 and 3a expressed in telencephalic GABAergic neurons of schizophrenia patients is also detected in peripheral blood lymphocytes. **Schizophrenia research**, v. 111, n. 1-3, p. 115-122, 2009.

ANEXOS

ANEXO A – Ata de Mestrado em Ciências da Saúde – Nº 366



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA ACADÊMICA - PROACAD
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 366

Com início às 14h (quatorze horas) do dia vinte e nove de setembro de 2020 (dois mil e vinte), realizou-se, via ferramenta digital *Google Meet*, o seminário formal de apresentação dos resultados da dissertação de Mestrado de **RICHARD TRAJANO DA ROSA**, sob a orientação da **Profa. Dra. Alexandra Ioppi Zugno** e coorientação do **Prof. Dr. João Luciano de Quevedo** intitulada “**HALOPERIDOL ALTERA FATORES NEUROTRÓFICOS E PARÂMETROS EPIGENÉTICOS EM MODELO ANIMAL DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDA POR CETAMINA**”. A dissertação foi examinada por uma banca examinadora constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. Cinara Ludvig Gonçalves (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovado, Profa. Dra. Vanessa Moraes de Andrade (Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC) – Conceito final: Aprovado e Prof. Dr. Guilhian Leiniz (Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: APROVADO, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 15h (quinze horas), dos quais eu, Fernanda Nunes Peruchi, Assistente Administrativo do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC lavrei a presente ata, que assino juntamente com o Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol, Coordenador do Programa. Criciúma, 29 (vinte e nove) de setembro de 2020 (dois mil e vinte).

Prof. Dr. Felipe Dal Pizzol
Coordenador do PPGCS

Fernanda Nunes Peruchi
Assistente Administrativo