

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

ANGELO DIEGO SUPP

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM
UM MODELO ANIMAL DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO POR
CETAMINA**

CRICIÚMA 2018

ANGELO DIEGO SUPP

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM
UM MODELO ANIMAL DE ESQUIZOFRENIA INDUZIDO POR
CETAMINA**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alexandra Ioppi Zugno.

CRICIÚMA 2018

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Esquizofrenia.....	11
1.2 Epidemiologia da doença.....	11
1.3 Apresentação clínica.....	12
1.4 Fisiopatologia.....	12
1.5 Teoria dos neurotransmissores.....	13
1.6 Sistema imune e o estresse oxidativo.....	16
1.7 Ácido ascórbico e seu papel neuroprotetor.....	18
1.8 Modelos animais de esquizofrenia e cetamina.....	19
2 JUSTIFICATIVA.....	20
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 Geral.....	22
3.2 Específicos.....	22
4 MATERIAS E MÉTODOS.....	23
4.1 Aspectos éticos.....	23
4.2 Animais.....	23
4.3 Testes comportamentais.....	24
4.3.1 Discriminação olfatória.....	24
4.3.2 Interação social.....	25
4.3.3 Inibição por Pré-Pulso.....	25
4.4 Danos oxidativos aos lipídios e proteínas.....	26
4.5 Determinação dos grupos sulfidrilas.....	27
4.6 Atividade das enzimas antioxidantes.....	28
4.7 Glutathiona reduzida.....	29
4.8 Níveis cerebrais de IL-1 β e IL-10.....	29
4.9 Análises estatísticas.....	30

5 RESULTADOS.....	31
6 DISCUSSÃO.....	44
7 CONCLUSÃO.....	56
8 REFERÊNCIAS.....	57

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi escrita seguindo o estilo Vancouver e será apresentada de forma tradicional.

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Psiquiatria Translacional do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Universidade do Extremo Sul Catarinense.

RESUMO

A esquizofrenia é um transtorno neuropsiquiátrico crônico de fisiopatologia pouco conhecida, debilitante e de consequências muito graves. As teorias sobre a doença versam principalmente sobre uma desregulação em um ou mais sistemas de neurotransmissores, sendo que a progressão do transtorno acarreta na presença de danos oxidativos a proteínas e lipídeos de membrana desencadeados pelo desbalanço das enzimas antioxidante que combatem o estresse oxidativo muito presente neste transtorno. A presença de marcadores inflamatórios durante o desenvolvimento da esquizofrenia também indica a possibilidade de que o distúrbio seja inicialmente uma doença inflamatória. Para o tratamento os medicamentos antipsicóticos têm sido o método utilizado ao longo dos anos. Entretanto, a eficácia tardia do tratamento e os efeitos colaterais levam ao abandono dos pacientes ao uso dos antipsicóticos. Estudos tem demonstrado que o ácido ascórbico possui efeitos neuroprotetores, atuando também na síntese de neurotransmissores e ainda possui grande poder antioxidante, sendo por isso seu estudo de grande interesse para novas estratégias terapêuticas no transtorno esquizofrênico. O objetivo desse trabalho foi avaliar a suplementação do ácido ascórbico em um modelo animal de esquizofrenia. Foram avaliados parâmetros comportamentais tais como (discriminação olfatória, interação social e inibição por Pré-pulso), danos oxidativos as membranas através da avaliação das proteínas carboniladas, grupo sulfidrilas, glutationa e as TBARS, atividade das enzimas antioxidantes (SOD-CAT-GPx) e também citocinas envolvidas na inflamação IL-1 β , IL-10. Foram utilizados 96 ratos *Wistar* com 60 dias de vida, os quais tiveram suplementação com ácido ascórbico nas doses de 0,1, 1 e 10 mg/kg ou salina durante 14 dias, via gavagem orogástrica. Posteriormente, 4 grupos (12 ratos por grupo) receberam administração de cetamina (25mg/kg) e 4 grupos receberam salina, via intraperitoneal, do 9^o-15^o dia de experimento. Após 30 minutos da última administração de cetamina/salina realizou-se os testes comportamentais, em seguida os animais foram decapitados por guilhotina e imediatamente as estruturas cerebrais retiradas (bulbo, córtex pré-frontal, estriado e hipocampo). Pode-se concluir que a suplementação de ácido ascórbico neste modelo animal de esquizofrenia induzido por cetamina foi capaz de prevenir danos oxidativos a lipídeos e proteínas. Além disso, foi observada também uma prevenção na perda sensório motora, além de manter as enzimas antioxidantes e citocinas pró e anti-inflamatórias dentro de parametros fisiológicos. Estes resultados mostram que o ácido ascórbico pode ser um importante alvo terapêutico na esquizofrenia podendo auxiliar na melhora da qualidade de vida do paciente esquizofrênico.

Palavras-chave: Esquizofrenia, Ácido Ascórbico, Estresse Oxidativo, Cetamina.

ABSTRACT

Schizophrenia is a chronic neuropsychiatric disorder with pathophysiology that is poorly known, debilitating, and very serious consequences. The theories about the disease are mainly about dysregulation in one or more systems of neurotransmitters, and the progression of the disorder trigger the presence of oxidative damages to proteins and membrane lipids promoted by the imbalance of the antioxidant enzymes that combat the very present oxidative stress in this disorder. The presence of inflammatory markers during the development of schizophrenia also indicates the possibility that the disorder is initially an inflammatory disease. The treatment with antipsychotic drugs has been the method used for long years. However, late onset of treatment and side effects lead to patient withdrawal from antipsychotic use. Studies have shown that ascorbic acid has neuroprotective effects, also acting in the synthesis of neurotransmitters and still possesses great antioxidant power, being, therefore, its study of great interest by new therapeutics in schizophrenia. The objective of this study was to evaluate the ascorbic acid supplementation in an animal model of schizophrenia, evaluating on behavioral parameters (olfactory discrimination, social interaction and pre-pulse inhibition), oxidative damage to membranes through the evaluation of carbonylated proteins, group glutathione and TBARS, antioxidant enzyme activity (SOD-CAT-GPx) and also cytokines involved in inflammation IL-1 β , IL-10. A total of 96 male Wistar rats with 60 days of age were used which were supplemented with ascorbic acid at 0.1, 1 and 10 mg/kg or saline for 14 days via orogastric gavage. Subsequently, 4 groups (12 rats per group) were given ketamine (25mg / kg) and 4 groups received intraperitoneal saline from the 9th-15th day of the experiment. After 30 minutes of the last administration of ketamine/saline, and behavioral test, rats were killed by guillotine decapitation and the brain structures (Bulb, striatum, hippocampus and prefrontal cortex) were carefully dissected for biochemical analysis. It can be concluded that ascorbic acid supplementation in this animal model of schizophrenia using ketamine was able to prevent oxidative damage to lipids and proteins, also prevented motor sensory loss and maintained the balance of antioxidant enzymes and pro and anti-inflammatory cytokines. These results show that ascorbic acid may be an important therapeutic target in schizophrenia and may help to improve the schizophrenic patient's quality of life.

Key words: Schizophrenia, Ascorbic acid, Oxidative Stress, Ketamine.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA - Ácido Ascórbico.

AMPA - Ácido-amino- 3-hidroxi-5-metil-isoxazol-4-propionico (do inglês, *α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*).

ANOVA - Análise de Variância.

APG - Antipsicóticos de Primeira Geração.

ASG - Antipsicóticos de Segunda Geração.

BPRS - Escala Breve de Avaliação Psiquiátrica.

CAT - Catalase.

CEUA - Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais.

DA - Dopamina.

DPNH – Dinitrofenilhidrazina (do inglês, *Dinitrophenylhydrazine*)

DTNB - Ácido Ditionitrobenzóico (do inglês, *Dithionitrobenzoic Acid*)

EPM - Erro Padrão da Média.

ERO's - Espécies Reativas de Oxigênio.

GABA - Ácido Gama-Aminobutírico (do inglês, *γ-Amino Butyric Acid*).

GPx - Glutathione Peroxidase (do inglês, *Glutathione Peroxidase*)

GSH - Glutathione Reduzida (do inglês, *Glutathione Reduced*).

GSSG - Glutathione Dissulfeto (do inglês, *Glutathione disulfide*).

IFN-β - Interferon beta.

IL-1β - Interleucina 1beta.

IL-2 - Interleucina-2.

IL-6 - Interleucina-6.

IL-10 - Interleucina-10.

IPP - Inibição Pré Pulso.

KA – Cainato (do inglês, *kainate*).

MDA – Malondiadeído (do inglês, *malondialdehyde*).

MGlur- Receptores Metabotrópicos.

NADPH - Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (do inglês, *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*).

NMDA - N-metil-D-aspartato (do inglês, *N-methyl-D-aspartate*).

SH - Sulfidrila.

SNC - Sistema Nervoso Central.

SOD - Superóxido Dismutase.

SPSS - Statistical Package for the Social Science.

SZ – Esquizofrenia (do inglês, *schizophrenia*).

TBARS - Ácido Tiobarbitúrico (do inglês, *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*).

TCA - Ácido Tricloroacético (do inglês, *Trichloroacetic Acid*).

UNESC - Universidade do Extremo Sul Catarinense.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Desenho experimental.....24
- Figura 2:** Apresenta o número de travessias entre os ambientes com serragem com cheiro do animal e o ambiente com serragem nova dos ratos que receberam suplementação de AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (dose de 25mg/kg).....32
- Figura 3:** Apresenta o tempo em segundos de preferência pelo ambiente familiar ou não familiar dos ratos que receberam suplementação de AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (dose de 25mg/kg).....33
- Figura 4: 4a.** Apresenta o tempo de latência entre o primeiro contato entre os animais que receberam suplementação de AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (dose de 25mg/kg). **4b.** Apresenta o número de interações entre os animais que receberam suplementação de AA 0.1,1,10mg/kg e/ou cetamina (dose de 25mg/kg). **4c.** Apresenta o tempo de contato entre os animais que receberam suplementação de AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (dose de 25mg/kg).....34
- Figura 5:** Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg/kg) sobre a porcentagem de inibição do Pré pulso em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....35
- Figura 6:** Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg/kg) sobre aos níveis de TBARS em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....36
- Figura 7:** Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg/kg) sobre aos níveis de carbonilação de proteínas em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....37
- Figura 8:** Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg/kg) sobre o conteúdo de sulfidrilas em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (bulbo olfatório, córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....38

Figura 9: Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg/kg) sobre o conteúdo de glutathiona reduzida (GSH) em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (bulbo olfatório, córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....	39
Figura 10: Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg/kg) sobre a atividade da enzima SOD em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....	40
Figura 11: Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg / kg) sobre a atividade da enzima CAT em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....	41
Figura 12: Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou tratamento com cetamina (25 mg/kg) sobre a atividade da enzima GPx em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....	42
Figura 13: Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg/kg) sobre os níveis de IL-1beta em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (bulbo olfatório, córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....	43
Figura 14: Apresenta o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (25 mg/kg) sobre os níveis de IL-10 em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (bulbo olfatório, córtex pré-frontal, hipocampo e estriado).....	44

1 INTRODUÇÃO

1.1 Esquizofrenia

O termo esquizofrenia (SZ) é usado para designar um grupo de psicoses com duração de pelo menos seis meses nas quais ocorrem sintomas característicos como delírios, alucinações e catatonia (Kaplan et al., 2002; Bowie e Harvey 2006), é um distúrbio complexo e crônico de saúde mental (Patel et al., 2014), sendo considerado um dos mais graves transtornos psiquiátricos, afetando desfavoravelmente a vida dos pacientes, além de seus familiares, acarretando em um custo importante para a sociedade (Salokangas et al., 2001; Pádua et al., 2005).

Os sintomas começam no final da adolescência ou início da idade adulta. O que caracteriza este transtorno é a perda de envolvimento do indivíduo com a realidade, descaracterizando-o diante das relações interpessoais e limitando-o diante de tarefas rotineiras, tais como estudar e trabalhar (Mari e Leitão 2000; Marsman et al., 2013). Em cerca de 15% dos casos ocorrem alucinações visuais, auditivas em 50%, táteis em 5% e os delírios em mais de 90% deles (Pull 2005). Menos de 20% dos pacientes esquizofrênicos estão inclusos no mercado de trabalho e ainda 40% a 50% dos pacientes relatam que já cogitaram suicídio, sendo que destes 4-13% cometem-o (Mauri et al., 2013).

1.2 Epidemiologia da doença

A SZ é uma patologia comum e debilitante que afeta tanto homens quanto mulheres, (WHO, 1998; Wong e Tol 2003), aflinge aproximadamente 1% da população mundial (Gogtay et al., 2011; Zuccoli et al., 2017; Cattane et al., 2018), alguns estudos sugerem a ocorrência de aproximadamente quatro novos casos por ano para uma população de 10.000 habitantes (Sartorius et al., 1986; Mari e Leitão 2000). A expectativa de vida para indivíduos com SZ é cerca de 20% menor que na população em geral (Tandon et al., 2008; Silva et al., 2017). Além disso, enquanto em outras patologias psiquiátricas a mortalidade tende a decrescer, na SZ os números permanecem inalterados (Sadock et al., 2009).

1.3 Apresentação clínica

Os pacientes com manifestações de SZ são divididos em três grupos de acordo com seus sintomas, sendo eles pacientes com sintomas positivos, sintomas negativos e sintomas cognitivos (Bilder et al., 1985; Gilman et al., 1996). Os sintomas positivos caracterizam-se por alucinações, agitação, euforia, irritabilidade, agressividade e delírios. Os sintomas negativos envolvem apatia, desmotivação, perda de interesse pela vida e depressão, já os sintomas cognitivos estão associados ao prejuízo na memória de trabalho, desorganização, desorientação e falta de atenção (Reis e Arruda 2011; Silva et al., 2017).

O prognóstico para pacientes com SZ é geralmente imprevisível, apenas 20% dos pacientes relatam resultados favoráveis do tratamento, os demais pacientes apresentam numerosos episódios psicóticos, sintomas crônicos e uma resposta fraca aos antipsicóticos (APA 2013). Embora os sintomas positivos frequentemente respondam bem à medicação antipsicótica, sobre os sintomas negativos e os déficits cognitivos não há boa resposta.

Por isso, existe uma necessidade urgente de novos tratamentos farmacológicos para tratar estes e outros sintomas associados à SZ (Rabinowitz et al., 2012). Embora essa patologia seja bem descrita na literatura, pouco se conhece sobre seus mecanismos deste transtorno exatos. Devido a estas dificuldades o tratamento da doença ainda continua sendo atenuar os sintomas apresentados pelo paciente (Becker et al., 2003; Bressan e Pilowskyb 2003; Diefenderfer e Iuppa 2018).

1.4 Fisiopatologia

A fisiopatologia da SZ é muito complexa, o que torna difícil encontrar um tratamento adequado para este distúrbio. Segundo Walker et al. (2004) a SZ parece ser um transtorno poligênico na qual fatores genéticos combinados com anormalidades no desenvolvimento precoce do cérebro (incluindo apoptose, poda sináptica e interrupção da migração neuronal) podem conferir uma vulnerabilidade constitucional ao transtorno. Anormalidades na neurotransmissão têm fornecido a base para as teorias sobre a fisiopatologia da SZ (de Oliveira et al., 2009).

A maioria destas teorias centram-se em um excesso ou uma deficiência de neurotransmissores, incluindo dopamina, serotonina, glutamato e ácido gama-aminobutírico (GABA), como parte do desequilíbrio neuroquímico da SZ (Patel et al., 2014). Existem também evidências de disfunção do sistema imunológico, levando à inflamação neuronal em pacientes esquizofrênicos (Miller et al., 2011). No entanto os mecanismos das alterações nas estruturas cerebrais, e o mecanismo envolvido na pobre resposta dos antipsicóticos aos sintomas negativos e cognitivos ainda não estão bem elucidados e explicados na literatura.

1.5 Teoria dos neurotransmissores

A teoria dopaminérgica da SZ foi fundamentada em observações de que certas drogas tinham capacidade de estimular a neurotransmissão da dopamina (DA), como o uso de psicoestimulantes, como a anfetamina e cocaína. Estas quando administradas em doses altas e repetidas, causavam uma psicose tóxica com características muito semelhantes às da SZ paranóide em fase ativa (Graeff et al., 1999). Além disso, outras observações corroboraram com a teoria dopaminérgica, como o tratamento com antagonistas dos receptores de DA, especificamente antagonistas D₂ que reduzem os sintomas da SZ principalmente os sintomas positivos em muitos dos pacientes (Golan e Galanter, 2009).

O sistema dopaminérgico se distribui no cérebro em quatro ramos principais: nigroestriatal, mesolímbico, mesocortical e túberoinfundibular (Ashton, 1992). Postula-se que os sintomas positivos, como ilusões, alucinações, psicoses, paranóias, pensamentos desordenados e fala desorganizada, ocorram devido à hiperatividade dopaminérgica na área mesolímbica dos pacientes esquizofrênicos (Andreasen e Olsen, 1982). Já os sintomas negativos, como a desmotivação, comportamento emocional violento, isolamento social, seriam oriundos de uma hipoatividade dopaminérgica nas projeções do córtex pré-frontal via mesolímbica (Andreasen e Olsen, 1982; Gilman et al., 1996). Porém a fisiopatologia dos sintomas negativos carece da devida compreensão e continua a ser um componente relativamente refratário e debilitante no tratamento da SZ (Tandon et al., 2009).

Para entender o sistema dopaminérgico precisa-se conhecer os receptores que fazem parte do sistema. Atualmente, são conhecidos cinco tipos de receptores dopaminérgicos (D₁, D₂, D₃, D₄, D₅) e estes são organizados em dois grupos, o grupo

tipo D₁ e o grupo tipo D₂, todos eles acoplados a uma proteína G. O grupo tipo D₁ está representado pelos receptores D₁ e D₅ e o grupo tipo D₂ pelos receptores D₂, D₃ e D₄. Os pertencentes ao grupo tipo D₁ estimulam a enzima adenilato ciclase e aumentam o nível intracelular de AMP cíclico, enquanto os do grupo tipo D₂ inibem essa enzima e diminuem o AMP cíclico intracelular (Sibley e Monsma, 1992; Wolters, 1996; Watts, 1997). A ação dos antipsicóticos deve-se, principalmente, mas não exclusivamente, ao antagonismo de receptores D₂ na via dopaminérgica mesolímbica (Seeman e Van Tol, 1994; Stahl, 2002; Moreira e Guimarães, 2007).

Os antipsicóticos usados para o tratamento da SZ podem ser chamados de típicos - antipsicóticos de primeira geração (APG) e atípicos - antipsicóticos de segunda geração (ASG). Os APG atuam predominantemente no bloqueio dos receptores dopaminérgicos; já os ASG promovem um bloqueio nos receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos (Reynolds e Kirk, 2010; Sun et al., 2013).

A diferença principal entre estes dois tipos de fármacos é que os ASG possibilitam melhores resultados em relação a diminuição tanto dos sintomas positivos quanto dos sintomas negativos (Cordioli e Filho, 2000; Reynolds e Kirk, 2010). Porém, tanto os antipsicóticos típicos, usados anteriormente, quanto os atípicos tem efeitos colaterais que consistem em distúrbios motores extrapiramidais como tremores, rigidez muscular, catatonia e os distúrbios endócrinos como hiperglicemia, hiperprolactinemia, além disso os pacientes tratados com antipsicóticos podem ainda desenvolver ginecomastia e ter ganho de peso que levariam a piora da qualidade devida dos pacientes (Abreu et al., 2000).

A dificuldade no uso dos antipsicóticos está na sua janela terapêutica estreita pois é necessária uma ocupação de receptores acima 65% para o efeito terapêutico, enquanto que uma ocupação acima de 78-80% resultam em efeitos colaterais (Kapur et al., 2000; Moreira e Guimarães, 2007). Segundo Bressan et al., 2001 em seu estudo, indivíduos com ocupações superiores a 78% tiveram maior chance de apresentar sintomas depressivos.

A teoria glutamatérgica surgiu a partir da evidência de que há diminuição dos níveis de glutamato em pacientes esquizofrênicos (Kim et al., 1980). O sistema glutamatérgico envolve uma série de receptores que são ativados pelo aminoácido glutamato (Cotman et al., 1995). Este aminoácido é considerado o maior neurotransmissor excitatório do SNC. O sistema glutamatérgico está dividido em duas

famílias de receptores, receptores ionotrópicos e receptores metabotrópicos (Bressan e Pilowskyb, 2003).

Os receptores ionotrópicos formam canais iônicos responsáveis pela transmissão sináptica rápida, são conhecidos três tipos o N-metil-D-aspartato (NMDA), o ácido-amino- 3-hidroxi-5-metil-isoxazol-4-propiónico (AMPA) e o cainato (KA) (Pinheiro e Mulle, 2008; Ruggiero, et al. 2011). Já os receptores metabotrópicos (mGluR) agem através de segundos mensageiros intracelulares que modulam a transmissão sináptica, por esse motivo, são responsáveis pela geração de respostas pós-sinápticas mais lentas (Ferraguti e Shigemoto, 2006; Pinheiro e Mulle, 2008).

Pesquisas recentes têm sugerido que os receptores tipo NMDA estão envolvidos na fisiopatologia da SZ e podem ser alvo para tratamentos psicofarmacológicos (Bressan et al., 2001), visto que a administração de antagonistas do receptor NMDA como cetamina e fenciclidina em pacientes com SZ, induz exacerbação do quadro psicótico e o padrão de sintomas psicóticos é semelhante ao padrão previamente sentido pelos pacientes durante episódios psicóticos agudos (Itil et al., 1967; Malhotra et al., 1997; Canever et al., 2010; de Oliveira et al., 2011).

A precipitação dos sintomas esquizofrênicos deve-se ao fato de que o circuito neuronal glutamatérgico está envolvido com o dopaminérgico, pois quanto mais glutamato interage em receptores NMDA na via mesocortical, mais dopamina é liberada nesta mesma via, portanto, se há uma hipofunção glutamatérgica nesta via, conseqüentemente ocorrerá pouca liberação de dopamina no córtex e isto resulta em sintomas negativos e cognitivos (Stahl, 2007; Neto et al., 2007).

Por outro lado na via mesolímbica, a qual é responsável pelas atitudes emotivas, os neurônios glutamatérgicos diminuem a liberação de dopamina através de neurônios intermediários que são GABAérgicos, explicitando que a hipofunção NMDA mesolímbica estimula pouco os neurônios GABAérgicos intermediários, que desta forma não conseguem diminuir o suficiente a liberação de dopamina nesta região, ou seja, a dopamina interage com receptores D₂ acima do que o normal e isto precipita sintomas positivos da SZ (Reis e Arruda, 2011; Rang e Dale, 2016).

A desregulação destes neurotransmissores afetam mecanismos homeostáticos da sobrevivência dos neurônios, desencadeando processos inflamatórios e de estresse oxidativos, que por sua vez podem induzir reciprocamente um ao outro através de um ciclo de feedback positivo na indução do aumento da produção de radicais livres e citocinas (Farber et al., 2002; Okusaga, 2013).

1.6 Sistema imune e o estresse oxidativo

Trabalhos recentes indicam a existência de uma desregulação do sistema imunológico na SZ (Kunz et al., 2011; Rahmoune et al., 2013), trabalhos de Wildenauer et al. (1991) e Körschenhausen et al. (1996) feitos anteriormente embasam esta evidencia, afirmando que produtos da degradação de substâncias inflamatórias foram encontrados tanto no tecido cerebral como no fluido cérebro espinhal em cerca de 50% dos seus pacientes estudados com SZ, além deste os estudos de Doorduyn et al. (2009) e Aguiar et al. (2010) demonstraram que o processo neuroinflamatório foi encontrado no hipocampo de pacientes em fase de recuperação de um surto psicótico, mostrando que a neuroinflamação tem um envolvimento importante na SZ, principalmente durante a psicose.

Segundo Benros (2011) e Jones e Thomsen (2013) a neuroinflamação desempenha um papel crítico em diferentes doenças neurológicas e psiquiátricas, estas evidências sugerem que existe um risco aumentado de sintomas neuropsiquiátricos quando o cérebro é exposto a processos de neuroinflamação, embora a neuroinflamação possa ser um processo de defesa fisiológica benéfico para a reparação e recuperação do sistema nervoso central (SNC), pode ser danosa aos neurônios quando de forma crônica, pois assim pode destruir tecido e causa morte celular (Yong, 2010).

A inflamação é o processo pelo qual as células das imunidades inata e adaptativa juntamente com proteínas plasmáticas circulantes alcançam sítios de lesão (secundária ou não a processos infecciosos) para restaurar a homeostase tecidual (Na et al., 2014). Os mecanismos imunomoduladores que regulam o tipo, a extensão e o resultado de qualquer resposta inflamatória existem no SNC e envolvem a regulação de citocinas pró e/ou anti-inflamatórias (Smyth e Lawrie, 2013).

As citocinas são uma superfamília de proteínas de baixo peso molecular secretadas por uma variedade de tipos de células e têm amplas funções dentro da resposta inflamatória inata e adaptativa (Zimmerman et al., 2014). Alguns estudos apontam haver um aumento das concentrações séricas de várias citocinas em pacientes com SZ e isto levaria a neurogênese anormal, neurodegeneração e anormalidades na substância branca cerebral, além disso o aumento da secreção de citocinas, como IL-1, IL-2, TNF- α , IFN- α e IFN- β , modificariam a liberação de

neurotransmissores contribuindo para a fisiopatologia do transtorno (Monji et al., 2009; Campos-Carli et al., 2016).

Evidências também sugerem que o estresse oxidativo provocado por Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), conhecidos também como radicais livres, tem papel importante na fisiopatologia da SZ (Aguiar et al., 2010; Chittiprol et al., 2010; Zugno et al., 2014). Este achado é sustentado pelas evidências que apontam que subunidades de receptores NMDA são altamente sensíveis aos altos níveis de ERO's e esta sensibilidade desestabiliza a estrutura do receptor, alterando sua isoforma e induzindo a uma possível hiperfunção, e esta alteração prejudica a síntese de GABA dificultando a modulação dopaminérgica no sistema límbico provocando sintomas característicos do transtorno esquizofrênico (Do et al., 2009).

O estresse oxidativo também pode aumentar a peroxidação lipídica e este processo desencadear a formação de malondialdeído (MDA), sendo este o principal e mais estudado produto da peroxidação dos ácidos graxos poli-insaturados. Este processo de estresse oxidativo também pode desencadear a oxidação de proteínas dando origem a carbonilação das proteínas, além disso ainda pode diminuir os grupos sulfidrilas. Esses eventos têm sido relacionados à patogênese de muitas doenças que afetam o SNC, como distúrbios neurodegenerativos, doenças de Parkinson e Alzheimer, epilepsia, esclerose múltipla, demência e transtorno bipolar (Halliwell, 2001; Fendri et al., 2006; de Oliveira et al., 2009).

A toxicidade dos radicais livres é neutralizada por um número de enzimas citoprotetoras e antioxidantes que limitam o dano. Este mecanismo de proteção funciona cooperativamente na forma de uma cascata que inclui várias enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx) e catalase (CAT) (Dadheech et al., 2008). No entanto, estudos realizados em pacientes com SZ geralmente sugeriram a presença de um sistema antioxidante comprometido (Pavlović et al., 2002; Gysin et al., 2007; Dadheech et al., 2008). Esse desequilíbrio dos radicais livres pode ser combatido por substâncias antioxidantes, pois elas são capazes de retardar este processo, neutralizando e removendo os radicais livres do corpo (Vasconcelos et al., 2015), uma das vitaminas mais comuns usadas com esse recurso é o ácido ascórbico (AA).

1.7 Ácido ascórbico e seu papel neuroprotetor

O AA, conhecido popularmente como vitamina C, é uma vitamina hidrossolúvel, essencial para o funcionamento do organismo e fundamental para a síntese de colágeno e reparação de tecidos, ela pode ser sintetizada pela maioria dos animais, porém o ser humano não tem esta capacidade devido à ausência da enzima gulonolactona oxidase, e por isso o organismo não sintetiza o AA a partir da glicose (Nelson e Cox, 2011).

Sabe-se que os neurônios usam AA para muitas reações químicas e enzimáticas diferentes, incluindo a síntese de neurotransmissores e hormônios (Arrigoni e Tullio, 2002) e ainda o AA possui ação neuromoduladora sobre a neurotransmissão dopaminérgica e glutamatérgica, e ainda é importante para a síntese de catecolaminas e neurotransmissores (Rebec e Pierce, 1994; Rice, 2000; Naidu, 2003). A literatura relata que existem altas concentrações de AA em tecidos cerebrais e isso poderia ser capaz de diminuir a ação da dopamina em seus receptores além de favorecer a um melhor desempenho de fármacos antipsicóticos. (Hadjiconstantinou e Neff, 1983; Agus et al., 1997).

Uma das principais funções conhecidas desta vitamina é a sua capacidade de reagir com as ERO's devido a seu poder redutor, e por isso o AA proporciona proteção contra a oxidação descontrolada exercida pelos radical livres na célula garantindo a homeostase do sistema (Padayatty et al., 2003). O AA, atua reduzindo os processos danosos dos radicais livres, visto que o cérebro do paciente esquizofrênico parece estar sobre intensa agressão destas substâncias além de processos inflamatórios como visto anteriormente e isto expõe os neurônios a grandes concentrações de radicais livres, favorecendo para que ocorra degeneração neuronal (Dakhale et al., 2005; Popa e Ladea, 2012; Ramachandran e Thirunavakaras, 2012).

Vários estudos têm mostrado que vitaminas e minerais estão envolvidos em diversas vias bioquímicas e ações fisiológicas que influenciam a função do cérebro humano. Estudos tem mostrado que deficiências de vitaminas se correlacionam com alguns transtornos mentais como Alzheimer, Parkinson e SZ (Ramachandran e Thirunavakaras, 2012; Wadidi, 2015). A utilização da suplementação de vitaminas para transtornos psiquiátricos tem sido estudada nos últimos anos, e estes estudos tem mostrado que certas vitaminas como as do complexo B, a vitamina D e as vitaminas antioxidantes, como a vitamina E e o AA podem contribuir muito com a

qualidade de vida do paciente com transtornos mentais, principalmente os acometidos com SZ, pois estas vitaminas usadas concomitantemente com os antipsicóticos atuam na diminuição dos efeitos adversos destes fármacos e ainda são fatores de proteção cerebral.

1.8 Modelos animais de esquizofrenia e cetamina

A pesquisa científica de doenças psiquiátricas e neurológicas necessita do desenvolvimento adequado, mesmo que limitado, de modelos animais, sendo que o principal objetivo dos modelos animais é melhorar nossa compreensão de um fenômeno humano. Diante desta procura sabe-se que é muito difícil reconhecer e reproduzir uma doença tão complexa como a SZ em um animal (Geyer e Markou, 1995). Vários modelos têm sido propostos para simular parcialmente a SZ, os mais utilizados baseiam-se em mudanças produzidas por drogas e por lesões cerebrais em áreas supostamente envolvidas na SZ (Silva et al., 2016).

Dentre os modelos farmacológicos da SZ, o modelo de hipofunção ou antagonismo dos receptores NMDA é o que produz quadros psicóticos que mais se assemelham à SZ, pois a administração de antagonistas NMDA a pacientes com SZ induz exacerbação do quadro psicótico (Bressan e Pilowskyb, 2003). Entre os antagonistas de NMDA usados, a cetamina tem recebido atenção em uma série de trabalhos na literatura científica (Duncan, et al. 2000; Miyamoto et al., 2001; Becker et al., 2003; Zugno et al., 2014; Zugno et al., 2016), o interesse pelo seu estudo surgiu a partir de um trabalho realizado por (Lahti et al., 1995) no qual a cetamina de forma dose resposta induziu sintomatologia psicótica em voluntários humanos saudáveis.

A cetamina é um derivado do cloridrato de fenciclidina, ela é um anestésico dissociativo, que afeta a atividade glutamatérgica por meio do bloqueio do receptor NMDA. Já se sabe que a cetamina causa psicoses individuais em pacientes esquizofrênicos remitidos e o uso dessa substância também é usado para avaliar sintomas positivos e negativos da SZ em voluntários saudáveis. (Lahti et al., 2001; de Oliveira et al., 2009; Canever et al., 2010; de Oliveira et al., 2011; Zugno et al., 2016; Damazio et al., 2017).

Em roedores e macacos, doses sub-anestésicas agudas deste antagonista de NMDA produz uma constelação de fenômenos potencialmente relevantes para a sintomatologia esquizofrênica, incluindo hiperlocomoção, comportamentos

estereotipados, déficits cognitivos e sensoriomotores, e interações sociais prejudicadas (de Oliveira et al., 2009), sendo que os antagonistas do receptor NMDA ainda aumentam os níveis extracelulares da dopamina e glutamato bem como os níveis de noradrenalina e acetilcolina no córtex pré-frontal (Verma e Moghaddam, 1996; Bubeníková-Valešová et al., 2008).

2 JUSTIFICATIVA

Este estudo justifica-se devido à dificuldade em estabelecer uma estratégia terapêutica eficaz contra a SZ, visto que os inúmeros medicamentos até o momento disponíveis apenas atenuam os sintomas positivos principalmente apresentados pelo paciente com transtorno esquizofrênico, e os sintomas negativos e cognitivos permanecem prejudicando a vida do doente. Além disso parece existir um processo inflamatório descontrolado e um excesso de produção de radicais livres desencadeando o estresse oxidativo no paciente com o transtorno esquizofrênico, e estes processos estão ligados diretamente com as alterações na neurotransmissão, destruição e morte neuronal e os fármacos antipsicóticos que são usados como tratamento do transtorno não são capazes de combater com eficiência.

Por não existir uma terapêutica eficiente até o momento na atenuação do transtorno, o doente esquizofrênico tende a desistir do tratamento medicamentoso por não ver melhoras significativas e ainda pelos desagradáveis efeitos adversos que eles acarretam no doente. Este estudo busca uma possível estratégia de tratamento neste transtorno com o uso do AA, pois a literatura nos mostra que esta vitamina possui grande influência na fisiologia do SNC além de estar envolvida na atividade de vários neurotransmissores, podendo ser por isso um grande alvo para pesquisas e estudos no desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento da SZ.

Nosso estudo busca propor uma possível aplicação terapêutica com o uso do AA, para isso serão avaliados parâmetros comportamentais, inflamatórios e de estresse oxidativo, com doses específicas do AA na busca de resultados satisfatórios no controle comportamental e na homeostase cerebral dos ratos *wistars* utilizados no estudo através do modelo de SZ induzido por cetamina.

Esta pesquisa busca contribuir para o avanço na compreensão sobre a fisiopatologia da SZ e com isso promover uma alternativa terapêutica que auxilie na qualidade de vida e no bem-estar do paciente esquizofrênico.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o efeito da suplementação de AA em diferentes doses (0,1, 1 e 10mg/kg) sobre parâmetros comportamentais, enzimáticos, inflamatórios e danos oxidativos em um modelo animal de SZ induzido por cetamina.

3.2 Específicos

Avaliar o efeito da suplementação de AA em diferentes doses (0,1, 1 e 10mg/kg) sobre os testes comportamentais: discriminação olfatória; interação social; e Inibição por Pré-pulso.

Avaliar o efeito da suplementação de AA em parâmetros inflamatórios (níveis IL-1 β , IL-10), nas enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx, e na concentração de grupamentos sulfidrilas, glutationa reduzida, TBARS e proteínas carboniladas, em estruturas cerebrais específicas, sendo estas, bulbo olfatório, córtex pré-frontal, estriado e hipocampo.

4 MATERIAS E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Psiquiatria Translacional da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC. Todos os procedimentos experimentais foram realizados conforme as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, considerando também as recomendações para o uso de animais da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento (SBNeC).

Ressalta-se que esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) sob o protocolo 037/2017-1 (Adendo do protocolo 058/2016-2). Todos os equipamentos, reagentes e drogas necessárias para a execução deste projeto foram disponíveis ao proponente, não havendo critérios aparentes de suspensão ou encerramento da pesquisa.

4.2 Animais

O estudo utilizou 96 ratos *Wistar* com idade de 60 dias, pesando em média 250g a 300g. Os animais foram obtidos do Biotério da Universidade e mantidos em gaiolas em grupos de 5 animais, em ciclos de 12 horas dia-noite, com alimentação e água disponíveis, com temperatura entre $22 \pm 1^\circ$ Celsius. Para o experimento os ratos estavam separados em 8 grupos de 12 animais, divididos da seguinte forma por grupo; Salina+Água; Salina+AA0,1mg/kg; Salina+AA1mg/kg; Salina+AA10mg/kg; Cetamina+Água; Cetamina+AA0,1mg/kg; Cetamina+AA1mg/kg; e Cetamina+AA10mg/kg. As doses deste estudo foram baseadas em trabalhos analisados por (Binfaré et al., 2009; Damazio et al., 2017).

O AA (Sigma-Aldrich) foi dissolvido em água destilada e esta solução era preparada todos os dias e administradas oralmente por gavagem em três doses diferentes (0,1-1-10mg/kg), por um período de 14 dias. A cetamina foi preparada em solução salina a um volume de 1mL / 100g (Becker et al., 2003; Imre et al., 2006; Tomiya et al., 2006).

A cetamina (Vetaset®-Zoetis) ou salina foram injetadas via intraperitoneal (i.p) entre os dias 9-15 do experimento, após um período de 30 minutos da última injeção de cetamina ou salina os animais foram submetidos aos testes comportamentais e após eutanasiados por decaptação.

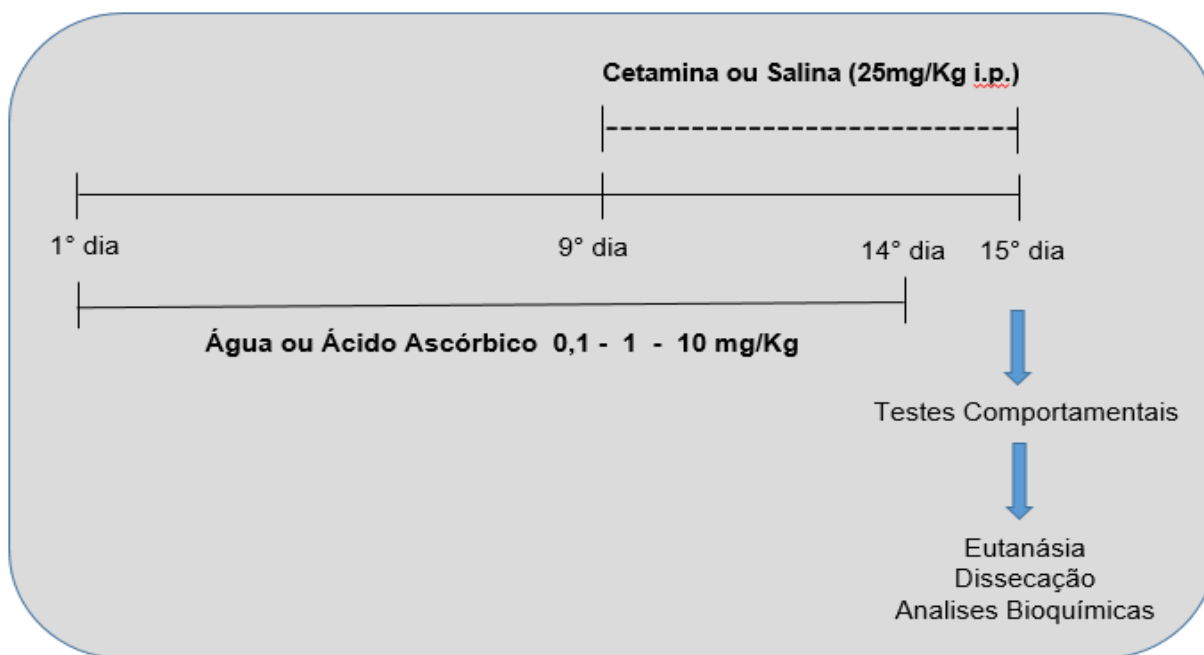


Fig. 1. Desenho experimental: Ácido ascórbico (AA) nas doses de 0,1 - 1 e 10 mg/kg administradas por 14 dias e cetamina/salina por 7 dias na dose de 25 mg/kg (i.p.).
Fonte: do autor, 2018.

4.3 Testes comportamentais

4.3.1 Discriminação olfatória

Previamente ao início do teste de discriminação olfatória os animais permaneceram 48 horas sem a troca da maravalha para que houvesse uma padronização da impregnação do odor. Para a realização deste experimento foi utilizada uma caixa que se apresentava com dois compartimentos idênticos de (30 x 30 x 20 cm) separados por uma porta aberta que permite o acesso dos animais para ambos os compartimentos. O chão de um dos compartimentos estava forrado com a serragem retirada da gaiola (familiar) na qual o animal esteve isolado por 48 horas, enquanto o outro compartimento (não-familiar) continha serragem limpa e inodora.

O experimento consistiu em colocar o rato na caixa de discriminação olfatória e registrar, durante um período de 5 minutos, o tempo que o animal gastou investigando cada um dos compartimentos. A discriminação olfatória foi avaliada pela preferência do rato em ficar no compartimento impregnado com o seu cheiro (compartimento familiar) em relação ao compartimento inodoro (não-familiar), visto que nesta situação, tem sido demonstrado que ratos machos adultos preferem permanecer em ambientes impregnados com seu próprio cheiro (Castro et al., 2012).

4.3.2 Interação social

No dia do experimento, os animais estavam isolados uns dos outros em gaiolas de plástico medindo 43 x 28 x 15 cm por 6 horas antes do experimento.

O teste teve seu início quando foi colocado dois animais do mesmo grupo experimental, mas de diferentes gaiolas para a caixa de teste e permaneceram nela por um período de 15 minutos, esta caixa tendo as seguintes dimensões, 60x60x30cm. Iniciando-se o teste primeiramente verificamos o tempo de latência que os animais levaram para iniciar a interação social (seguir ou se aproximar do parceiro, montagem sobre o parceiro, cheirar ou grooming de qualquer parte do corpo do parceiro), seguindo o teste foi verificado o número de contatos entre os animais e o tempo total gasto no comportamento social (Niesink e Van Ree, 1989; Schneider e Przewłocki, 2005; Canever et al., 2010). O comportamento social foi avaliado para um par de animais, portanto o comportamento individual do animal não foi analisado.

4.3.3 Inibição por Pré-Pulso

O teste de inibição por Pré Pulso (IPP), é um modelo utilizado para o estudo do controle neural exercido por estruturas corticais e límbicas sobre processos de filtro e sua possível deficiência em desordens neuropsiquiátricas. Este teste nos dá uma medida operacional do filtro sensorio-motor do animal, sendo ele responsável em propiciar ao animal a capacidade de discriminar estímulos externos de relevância fisiológica ou cognitiva

A quantificação da inibição promovida por um Pré-Pulso após a resposta ao pulso será realizada com base no protocolo descrito por (Kinkead et al., 2006) e por

ser já um protocolo utilizado em outro trabalho do nosso grupo de pesquisa (Zugno et al., 2014). Para esta avaliação foram utilizadas caixas de medida de sobressalto com vedação sonora (Insight® - EP 175), nas quais a amplitude do sobressalto foi quantificada após a apresentação de um estímulo sonoro, sendo que durante todo o tempo era produzido um barulho de fundo de 65 dB. Os animais permaneceram por um período de habituação de 5 minutos nessas caixas. Durante a sessão, foram apresentados 3 tipos de estímulos por 10 vezes e distribuídos randomicamente em intervalos médios de 20 segundos: 1) Pulsos de 120 dB por 40 ms (capaz de produzir uma resposta de sobressalto); 2) Pré-Pulsos de 65, 70 ou 75 dB por 20 ms apresentados 80 ms antes do pulso; 3) ausência de estímulo. No início de cada sessão, 10 pulsos estavam sendo apresentados para a habituação dos animais (essa série não foi levada em conta para os cálculos). A média da amplitude de sobressalto após as sessões de pulso (P) bem como a média da amplitude da resposta de sobressalto após as sessões de Pré-pulso - Pulso (PP) foram calculadas para cada animal.

4.4 Danos oxidativos aos lipídios e proteínas.

Para determinar o dano oxidativo aos lipídios nas estruturas cerebrais dos animais, foi medida a formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como descrito (Draper e Hadley, 1990). As amostras do córtex pré-frontal, estriado e hipocampo foram misturadas a 300µL de ácido tricloroacético a 10% e 300µL de ácido tiobarbitúrico a 0,67%, e então aquecidas em banho fervente (~100°C), por 25 minutos. Os resultados foram expressos como TBARS (nmol/mg proteína) (Zugno et al., 2014).

A determinação do teor de carbonila foi avaliado por um método baseado na reação de proteínas carbonilas com dinitrofenilhidrazina (DNPH), formando dinitrofenilhidrazona, um composto amarelo, medido espectrofotometricamente a 370nm (Stadtman, 1990). Resumidamente foi pipetado em cada eppendorf 100 µL de homogeneizado e foram adicionados 400 µL de DNPH 10 mM (preparada em HCl 2 M). Este foi mantido no escuro por 1 hora e vortexando os eppendorfs a cada 15 min. Depois disso, 500 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 20% foram adicionados a cada eppendorf. A mistura foi agitada em vortex e centrifugada a 14000 rpm por 3 minutos.

O sobrenadante obtido foi descartado. O sedimento foi lavado com 1 ml etanol: acetato de etila (1:1, v / v), então foi agitada novamente em vortex e aguardou-se 10 minutos. A seguir, centrifugou-se a mistura a 14000 rpm por 3 minutos. Este procedimento de lavagem foi repetido mais uma vez e, após centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspensão em 600 μ L de guanidina 6 M (preparado em potássio 20 mM solução de fosfato pH 2,3). A amostra foi submetida a vórtice e incubada a 60 °C durante 15 min. Depois disso, foi centrifugado a 14000 rpm por 3 minutos e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 370 nm (UV) em uma cubeta de quartzo. Os resultados foram relatados como nmol de conteúdo de carbonila por mg de proteína (nmol / mg de proteína) (de Oliveira et al., 2009).

4.5 Determinação dos grupos sulfidrilas

A sulfidrilas é caracterizada por um átomo de enxofre ligado a um átomo de hidrogênio, a função química determinada por esse grupo é a função tiol. Este ensaio baseia-se na redução do ácido 5,5-ditio-bis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) por tióis, que por sua vez se tornam oxidados (dissulfeto), gerando um derivado amarelo (TNB)

As condições de medição do DTNB foram como descritas em (Riddles et al., 1983). Resumidamente, 30 μ L de uma amostra foi misturada com 1 ml de PBS/1 mM EDTA (pH 7,4). A reação foi iniciada pela adição de 30 μ L de uma solução 10 mM de DTNB em PBS. As amostras de controle, isto é, que não continham DTNB ou proteína, foram medidas simultaneamente. Após 30 min de incubação no escuro a temperatura ambiente, a quantidade de TNB formada [equivalente ao valor de sulfidrilas (SH)] foram calculadas com base na absorbância de 412 nm.

4.6 Atividade das enzimas antioxidantes.

A atividade da SOD é definida como a capacidade do pirogalol auto oxidar, sendo este um processo altamente dependente de O_2^{-2} ; um substrato para SOD (Bannister e Calabrese, 1987). Resumidamente, a presença de SOD influencia a inibição da auto oxidação do pirogalol, portanto, a atividade enzimática pode ser indiretamente testada. A atividade foi realizada em um espectrofotômetro de feixe duplo (420 nm). Além disso, para definir a curva padrão de calibração, usamos a SOD purificado. Os valores da atividade da SOD foram expressos em unidades por mg de proteína, sendo que 1 unidade de SOD é definida quando há 50% de auto oxidação do pirogalol.

Para a análise da CAT, o protocolo de (Laemmli, 1970) foi aplicado utilizando o espectrofotômetro a 240 nm. O método baseia-se no desaparecimento de H_2O_2 no meio reacional contendo H_2O_2 a 20 mM, Triton X-100 a 0,1%, tampão de fosfato de potássio a 10 mM, pH 7,0 e 0,1-0,3 mg de proteína / ml. Uma unidade CAT foi definida como 1 mol de peróxido de hidrogênio consumido por minuto.

A atividade da GPX foi determinada pelo método de (Wendel, 1981) que utiliza o peróxido de terbutila como substrato da reação, ocorrendo a oxidação da GSH pela GPx gerando GSSG, que é convertido em GSH pela glutathione redutase, consumindo nessa reação uma molécula de NADPH, a qual pode ser acompanhada em espectrofotômetro a 340nm. A atividade enzimática foi medida monitorizando a taxa de desaparecimento de NADPH a 340 nm em tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, contendo 1,0 mM de EDTA, 2,0 mM GSH, 0,2 U/mL GSH redutase, 1,0 mM azida sódica, 0,2 mM peróxido de terbutila, 0,2 mM de NADPH, e sobrenadante contendo 0,2-0,3 mg de proteína/mL. A unidade de atividade de GPx foi expressa em nmol de NADPH oxidado por minuto por mg de proteína, usando um coeficiente de extinção de 6.22×10^6 para o NADPH.

Todas as medidas relacionadas às atividades das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GPx) foram normalizadas utilizando os valores de proteína total (albumina sérica bovina) das amostras, conforme descrito (Lowry et al., 1951).

4.7 Glutathiona reduzida

O conteúdo de glutathiona reduzida (GSH) foi determinado conforme o método descrito por (Browne e Armstrong, 1998). As regiões do bulbo olfatório, córtex pré-frontal, estriado e hipocampo foram homogeneizadas em um tampão de fosfato de sódio (0,1 M, pH 8,0) contendo 5 mM EDTA e as proteínas foram precipitadas com ácido metafosfórico 1,7%. O sobrenadante foi analisado com oftaldialdeído (1mg/mL de metanol) a temperatura ambiente durante 15 minutos. A fluorescência foi medida utilizando comprimentos de onda de 350nm de excitação e 420nm de emissão. Uma curva de calibração foi realizada com soluções padrão de glutathiona (2,5-80 μ M). As concentrações de GSH foram expressas como nmol/mg de proteína.

4.8 Níveis cerebrais de IL-1 β e IL-10

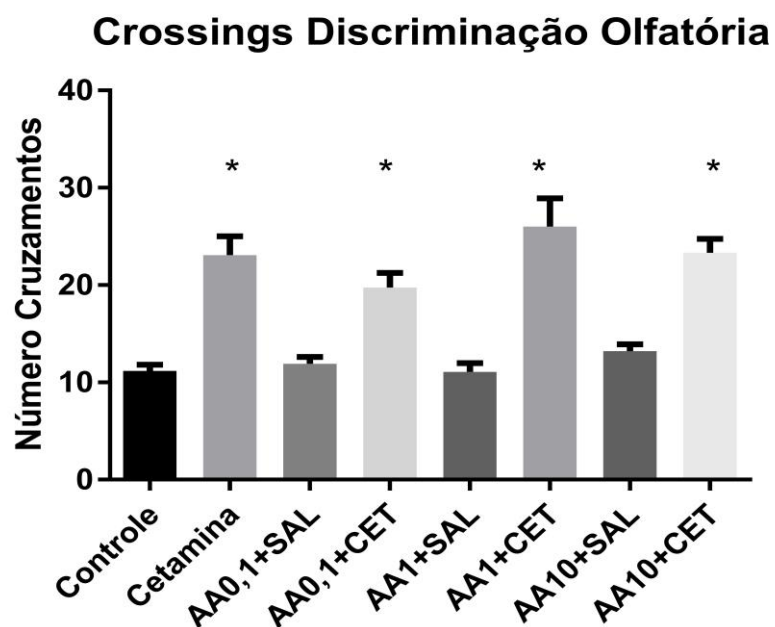
Os níveis das citocinas IL-1 β e IL-10 foram avaliados no córtex frontal, hipocampo, estriado, bulbo olfatório e medidos por ensaio imunoenzimático, utilizando-se kits comerciais de acordo com as instruções do fabricante (IL-1 β , IL-10 R&DSystems, Inc.–USA). Resumidamente, as estruturas cerebrais foram homogeneizadas em tampão fosfato (PBS) e centrifugadas (3.000 g por 5 min), sendo retirados os sobrenadantes para a realização das análises. Placas de microtitulação (96 poços de fundo plano) foram revestidas por 12h (Overnight) com o anticorpo de captura. No dia seguinte, as placas foram lavadas três vezes com o reagente de lavagem (wash buffer) e, após, adicionado o reagente diluente por 1h. Em seguida, as placas foram lavadas novamente e, em seguida, foram adicionados as amostras e o padrão para realização da curva por 2h. As placas foram lavadas e incubadas com os anticorpos de detecção (anti IL-1 β e anti IL-10) por 2h em temperatura ambiente. Após a lavagem, adicionou-se a estreptavidina por 20 minutos, evitando-se o contato com a luz. Novamente, as placas foram lavadas e foi adicionada a solução de substrato por mais 20 minutos, sendo que as placas foram guardadas no escuro. Após 20 minutos adicionou-se a solução de parada e finalmente foi realizada a leitura das placas em 450nm. A proteína total foi medida pelo método de (Lowry et al.,1951) usando soro de albumina bovina como padrão.

4.9 Análises estatísticas

Os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA) de duas vias acompanhada pelo post hoc Tukey quando F for significativo. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). Em todas as análises, valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos estatisticamente. Dois programas foram utilizados para a realização das análises estatísticas: Statistical Package for the Social Science (SPSS) e o software Estatística 7.0.

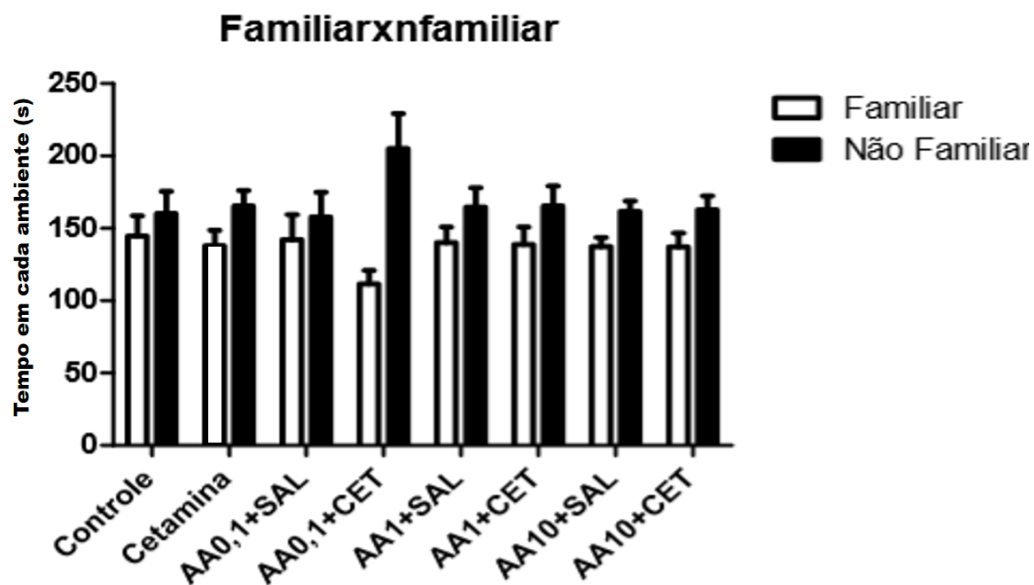
5 RESULTADOS

Testes comportamentais



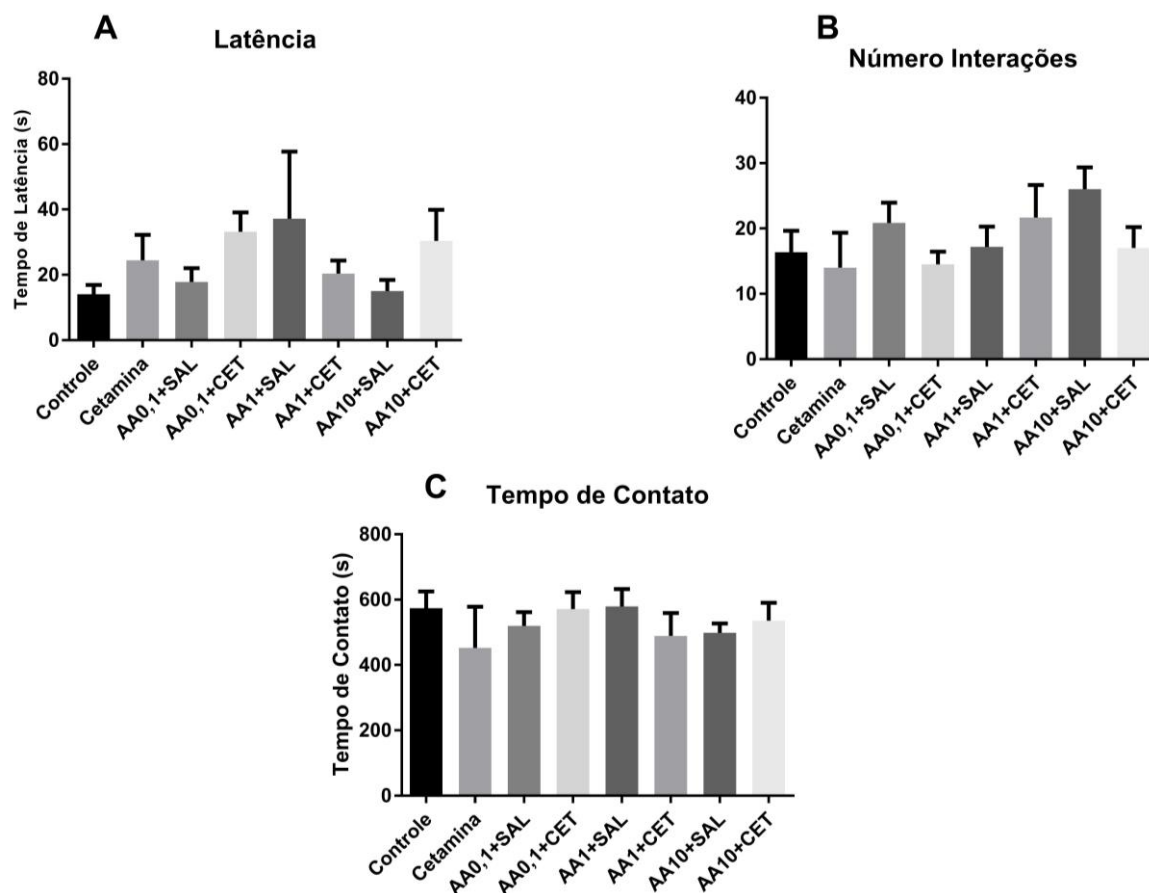
A figura 2 representa o número de cruzamentos entre os ambientes com serragem com cheiro do animal e o ambiente com serragem nova dos ratos que receberam suplementação de AA 0.1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (dose de 25mg/kg). Os valores foram expressos como média ± EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=12$. * diferente do grupo Controle (Salina+Água).

Na Figura 2 são apresentados os resultados do crossing de discriminação olfatória [$F(7,91) = 17,606$, $p < 0,01$], nos grupos com cetamina foi observado aumento significativo do trânsito dos animais entre os ambientes de maravalha com cheiro do animal e o ambiente com maravalha nova. Este achado foi comprovado por ANOVA de duas vias, o qual demonstrou diferença estatística para os grupos cetamina quando comparados ao grupo controle, sugerindo assim que este comportamento parece estar envolvido com o aumento nos níveis da atividade locomotora induzida pela cetamina.



A figura 3 representa o tempo em segundos de preferência pelo ambiente familiar ou não familiar dos ratos que receberam suplementação de AA 0,1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (dose de 25mg/kg). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 12$. * diferença entre os ambientes no mesmo grupo.

Na Figura 3 são apresentados os resultados em segundos da preferência dos animais pelo ambiente familiar [$F(7,91) = 0.857$, $p = 0,544$] ou não familiar [$F(7,91) = 1.094$, $p = 0,375$]. ANOVA de duas vias não apresentou qualquer diferença entre a preferência dos animais nos ambientes familiar ou não familiar para os animais dos grupos Controle, Salina+AA0,1mg/kg; Salina+AA1mg/kg; Salina+AA10mg/kg; Cetamina; Cetamina+AA0,1mg/kg; Cetamina+AA1mg/kg; e Cetamina+AA10mg/kg.

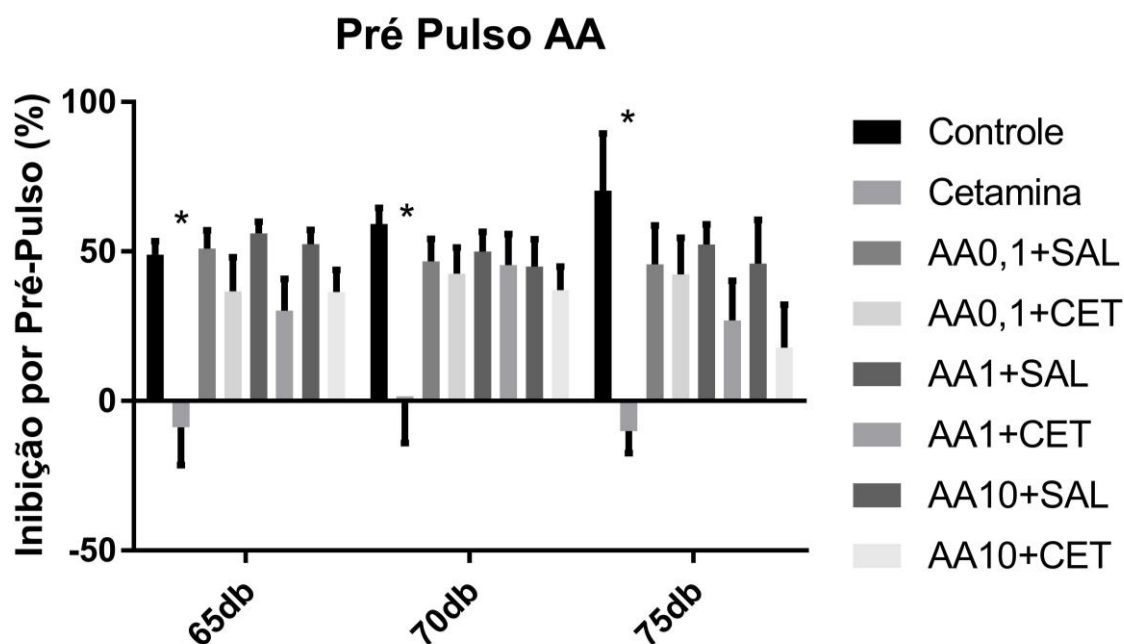


A figura 4 (A, B e C) representa o (A) tempo de latência entre o primeiro contato (B) números de interações e (C) tempo de contato entre os animais que receberam suplementação de AA 0,1, 1, 10mg/kg e/ou cetamina (dose de 25mg/kg). Os valores foram expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 6$. * diferente do grupo Controle (Salina+Água).

Na figura 4 (A) são apresentados os resultados do tempo de latência para os animais iniciarem o contato social [(7,44) = 0.829, $p = 0,570$]. ANOVA de duas vias não revelou qualquer diferença significativa na latência para iniciar a interação social nos grupos Controle, Salina+AA0,1mg/kg; Salina+AA1mg/kg; Salina+AA10mg/kg; Cetamina; Cetamina+AA0,1mg/kg; Cetamina+AA1mg/kg; e Cetamina+AA10mg/kg.

Na figura 4 (B) são apresentados os resultados do número de interações entre os animais [F(7,44) = 1.180 $p = 0,338$]. ANOVA de duas vias não revelou qualquer diferença significativa entre o número de contatos nos grupos Controle, Salina+AA0,1mg/kg; Salina+AA1mg/kg; Salina+AA10mg/kg; Cetamina; Cetamina+AA0,1mg/kg; Cetamina+AA1mg/kg; e Cetamina+AA10mg/kg.

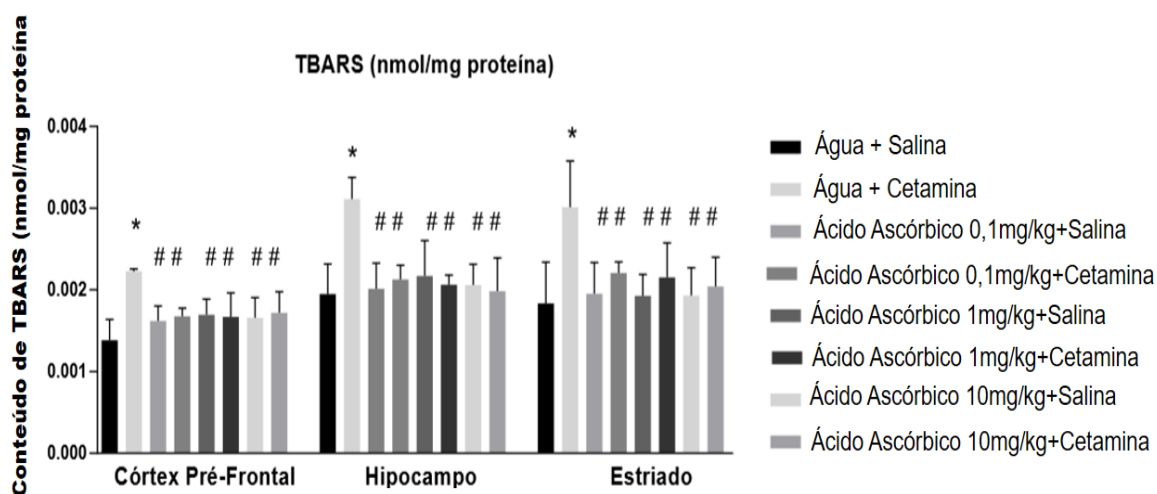
Na figura 4 (C) são apresentados os resultados do tempo de contato entre os animais [F(7,44) = 0.502 p = 0,827. ANOVA de duas vias não apresentou qualquer diferença significativa entre o tempo de contato nos grupos Controle, Salina+AA0,1mg/kg; Salina+AA1mg/kg; Salina+AA10mg/kg; Cetamina; Cetamina+AA0,1mg/kg; Cetamina+AA1mg/kg; e Cetamina+AA10mg/kg.



A figura 5 representa o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre a porcentagem de inibição do Pré pulso em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 6$. * diferente do grupo Controle (Salina+Água).

Na figura 5 são apresentados os resultados do percentual de inibição Pré pulso em 65db [F(7,82) = 3.063, $p < 0,01$, em 70db [F(7,82) = 2.225, $p < 0,05$ e em 75db [F(7,80) = 2.205, $p < 0,05$. ANOVA de duas vias demonstrou diferença estatística para os grupos cetamina quando comparados ao grupo controle (Salina+Água). Estes resultados demonstram que houve alteração do perfil sensório-motor nos animais que receberam a administração de cetamina (25 mg/kg). A perda da IPP é um dos efeitos característicos dos antagonistas NMDA em roedores, nossos achados demonstram que essas perdas da IPP podem ser evitadas pela suplementação de AA nas doses de 0.1, 1 e 10mg/kg.

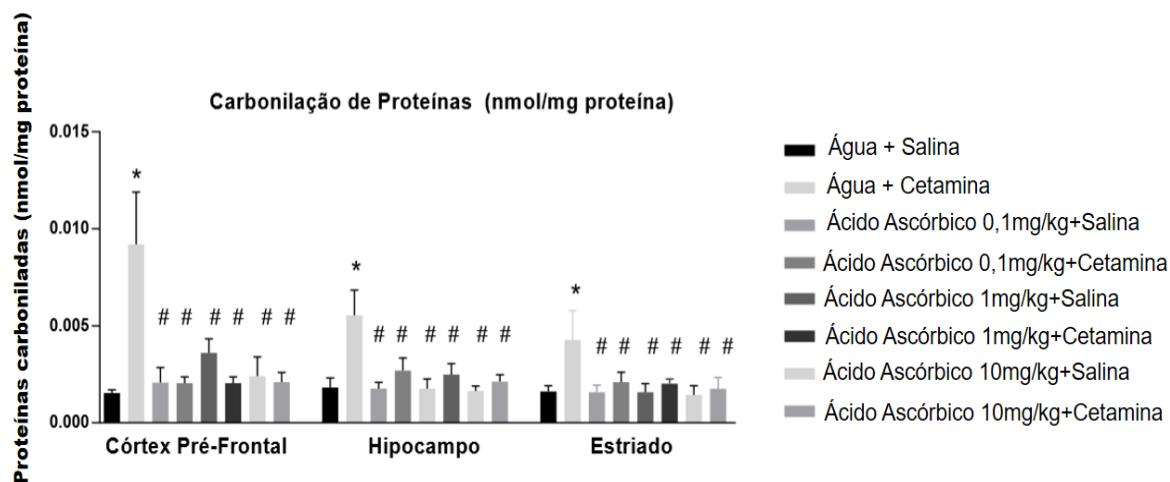
Níveis de TBARS



A figura 6 representa o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre aos níveis de TBARS em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=12$. * diferente do grupo Água + Salina, # diferente do grupo Água + Cetamine $p < 0,05$.

Na figura 6 são apresentados os resultados dos níveis de TBARS. Primeiramente todos os grupos que receberam cetamina apresentaram valores aumentados de TBARS nas regiões cerebrais do córtex pré-frontal, no hipocampo e no estriado. Para níveis de TBARS no córtex pré-frontal, ANOVA duas vias revelou aumento significativo para cetamina [$F(1, 23) = 9,054$ $P = 0,0063$] e interação entre os grupos [$F(3, 23) = 6,925$ $P = 0,0017$]. No hipocampo, o teste ANOVA duas vias revelou efeito principal para AA [$F(3, 32) = 5.678$ $P = 0,0031$], aumento da cetamina [$F(1, 32) = 7,729$ $P = 0,0090$] e também mostrou diferença estatística na interação entre grupos [$F(3, 32) = 9.412$ $P = 0,0001$]. No estriado, ANOVA duas vias revelou efeito principal para AA [$F(3, 32) = 2,562$ $P = 0,0721$], aumento da cetamina [$F(1, 32) = 12,73$ $P = 0,0012$], e também diferença estatística na interação entre grupos [$F(3, 32) = 3,984$ $P = 0,0161$]. Estes resultados indicam que a peroxidação lipídica é estimulada no modelo animal de SZ induzida por cetamina e que a suplementação de AA 0.1, 1, 10mg/kg pode prevenir os danos aos lipídeos nas regiões do córtex pré-frontal, hipocampo e estriado.

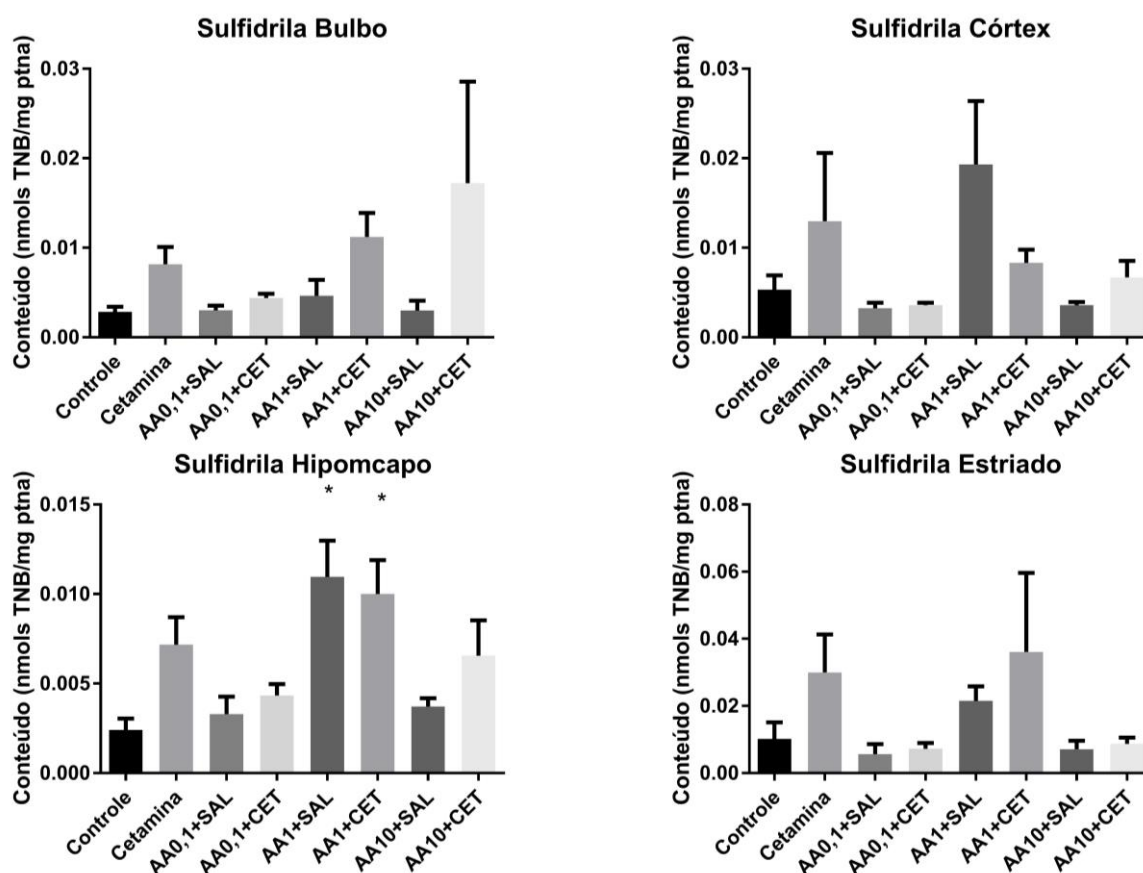
Níveis de Carbonilação de Proteínas



A figura 7 representa o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre aos níveis de carbonilação de proteínas em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=12$. * diferente do grupo Água + Salina, # diferente do grupo Água + Cetamina $p < 0,05$.

Primeiramente todos os grupos que receberam cetamina apresentaram valores aumentados da carbonilação de proteínas nas regiões cerebrais do córtex pré-frontal, no hipocampo e no estriado. Para os níveis de carbonila no córtex pré-frontal, a ANOVA de duas vias revelou efeito significativo para AA [F (3, 32) = 19,00 P <0,0001] e efeito principal significativo para a cetamina [F (1, 32) = 16,88 P = 0,0003], bem como a interação entre os grupos [F (3, 32) = 35,77 P <0,0001]. Para os níveis de carbonila no hipocampo, a ANOVA de duas vias revelou efeito significativo para AA [F (3, 32) = 16,07 P <0,0001], e efeito principal significativo para a cetamina [F (1, 32) = 52,34 P <0,0001], bem como a interação entre os grupos [F (3, 32) = 14,05 P <0,0001]. Para os níveis de carbonila no estriado, a ANOVA de duas vias revelou efeito significativo para AA [F (3, 32) = 8,173 P = 0,0004], e efeito principal significativo para a cetamina [F (1, 32) = 21,52 P <0,0001], bem como a interação entre os grupos [F (3, 32) = 6,993 P = 0,0010]. Estes resultados indicam que a carbonilação de proteínas é estimulada no modelo animal de SZ induzida por cetamina e que a suplementação de AA 0.1, 1, 10mg/kg pode prevenir os danos as proteínas nas regiões do córtex pré-frontal, hipocampo e estriado.

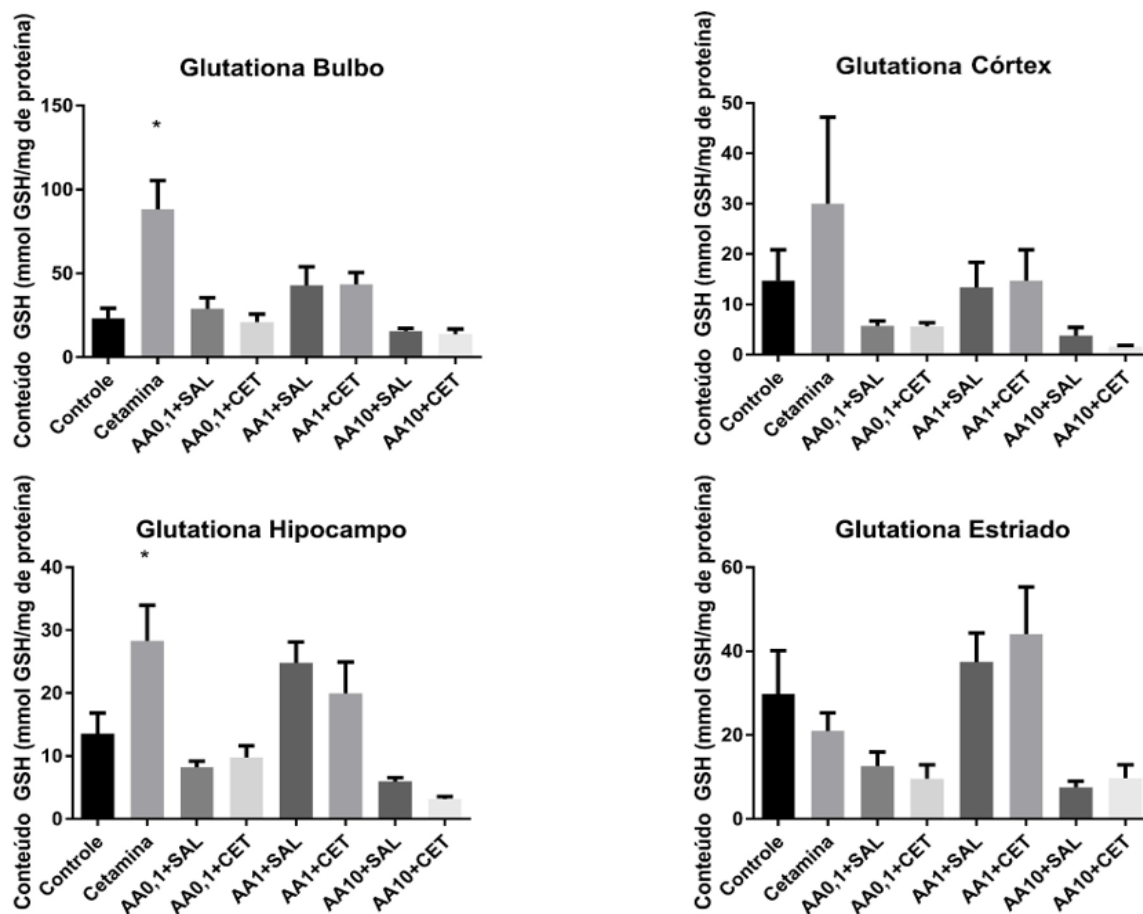
Níveis de Sulfidrilas



A figura 8 representa o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre o conteúdo de sulfidrilas em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=12$. * diferente do grupo Controle (Salina+Água).

Para investigar o dano oxidativo às proteínas, avaliamos o teor do grupamento sulfidrilas nas regiões do cérebro. ANOVA duas vias demonstrou aumento significativo no conteúdo de sulfidrilas no Hipocampo [$F(7,47) = 5.056$, $p < 0,01$], enquanto que nas outras áreas cerebrais não foi significativo para Bulbo [$F(7,39) = 2.001$, $p = 0,086$], córtex pré-frontal [$F(7,47) = 2.186$, $p = 0,056$] e Estriado [$F(7,44) = 1.752$, $p = 0,127$]. A redução nos níveis de sulfidrilas indica maior dano oxidativo à proteína, com os resultados obtidos no hipocampo, sugerimos que AA possa ter um efeito protetor ao grupamento sulfidrilas nesta região cerebral.

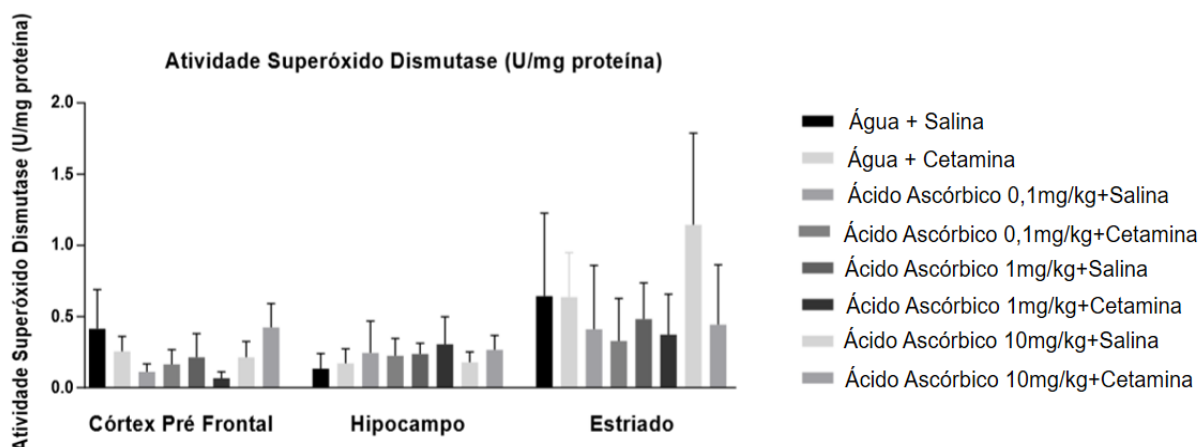
Níveis de Glutaciona Reduzida



A figura 9 representa o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre o conteúdo de glutaciona reduzida (GSH) em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 12$. * diferente do grupo Controle (Salina+Água).

Para investigar o estresse oxidativo avaliamos o teor de glutaciona reduzida nas regiões do cérebro. ANOVA duas vias demonstrou aumento significativo no conteúdo de glutaciona na região do Hipocampo [$F(7,42) = 7.024$, $p < 0,01$] assim como no Bulbo [$F(7,43) = 8.642$, $p < 0,01$] e no Estriado [$F(7,44) = 4.654$, $p < 0,01$] enquanto que no córtex pré-frontal [$F(7,39) = 1.624$, $p = 0,164$] não houve diferença estatística. Sugere-se assim que a cetamina induz um dano oxidativo nestas regiões, e como resposta ocorre um aumento compensatório imediato na produção de GSH.

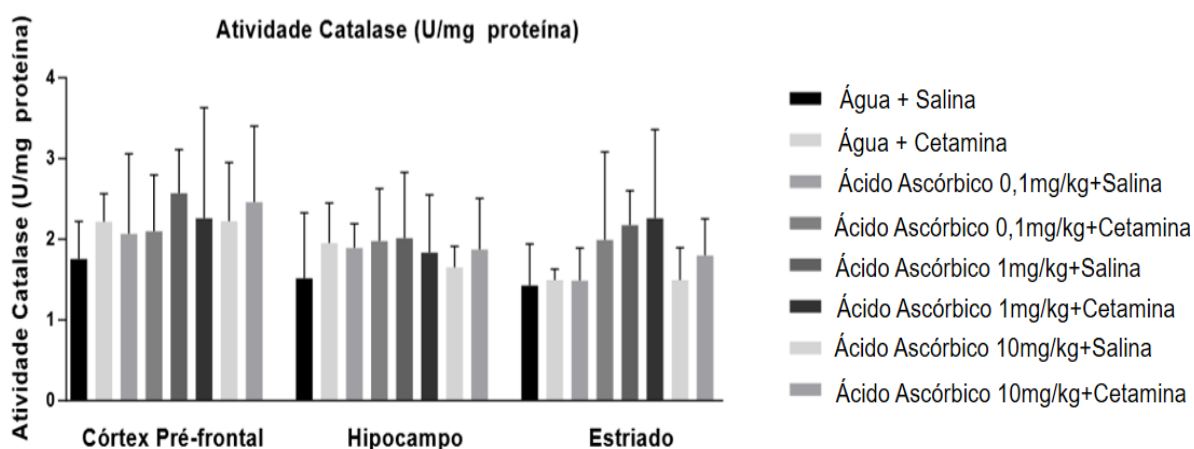
Atividade da Enzima Superoxido Dismutase



A figura 10 representa o efeito da suplementação com AA 0,1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre a atividade da enzima SOD em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 12$. * diferente do grupo Água + Salina.

Para investigar o estresse oxidativo o estudo avaliou a atividade da enzima superóxido dismutase no córtex pré-frontal [$F(1, 18) = 0,03921$ $P = 0,8452$], no hipocampo [$F(1, 29) = 0,9352$ $P = 0,3415$] assim como no estriado [$F(1, 22) = 2,223$ $P = 0,1502$]. ANOVA duas vias não demonstrou aumento significativo na atividade da enzima SOD, sugerindo assim uma eficácia do AA para eliminar o radical (O_2^{\bullet}).

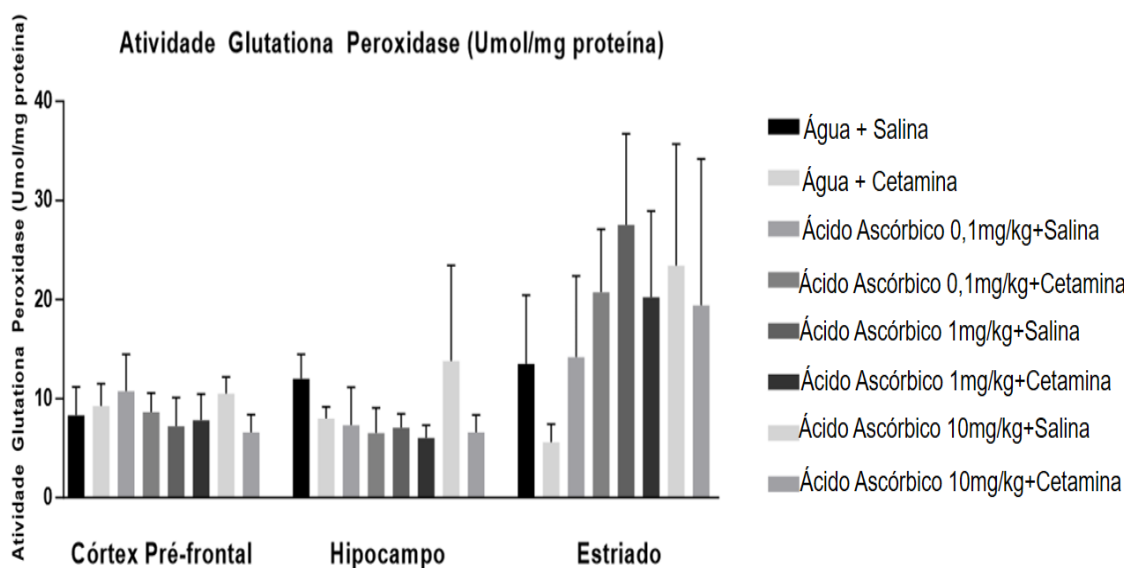
Atividade da enzima Catalase



A figura 11 representa o efeito da suplementação com AA 0,1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre a atividade da enzima CAT em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 12$. * diferente do grupo Água + Salina.

Para investigar o estresse oxidativo o estudo avaliou a atividade da enzima CAT. Para a atividade da catalase no córtex pré-frontal [$F(1, 34) = 0,1701$ $P = 0,6826$] assim como no Hipocampo [$F(1, 40) = 0,5827$ $P = 0,4497$] e também no estriado [$F(1, 41) = 1,677$ $P = 0,2026$], ANOVA não revelou diferença estatística na atividade desta enzima. A ação da CAT predomina em altas concentrações de H_2O_2 , sugerimos assim que a suplementação com AA 0,1, 1, 10mg/kg foi capaz de manter a formação de H_2O_2 abaixo dos níveis de ativação desta enzima, contribuindo assim com o equilíbrio do sistema.

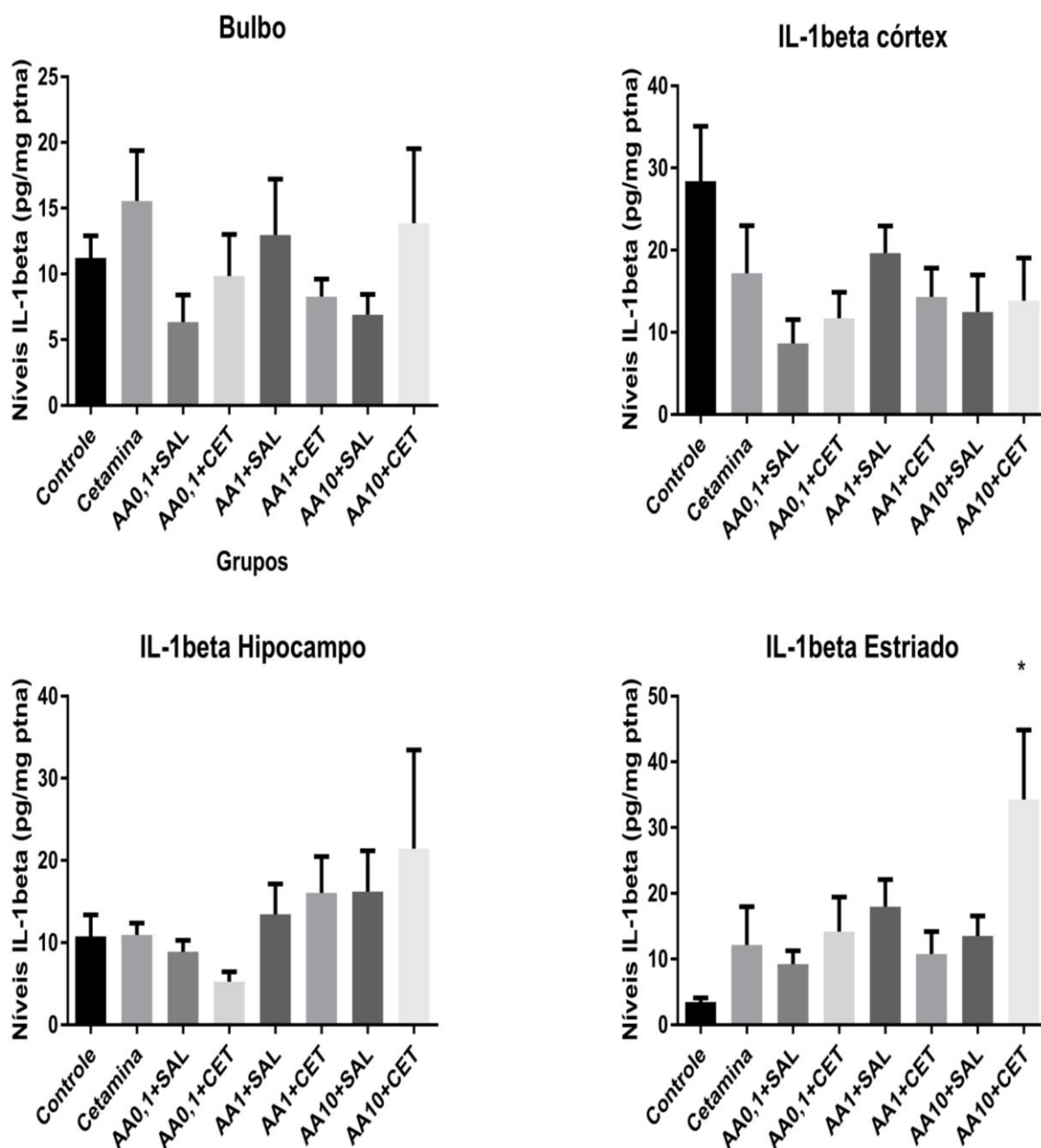
Atividade da enzima Glutaciona Peroxidase



A figura 12 representa o efeito da suplementação com AA 0.1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre a atividade da enzima GPx em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (CórTEX pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 12$. * diferente do grupo Água + Salina.

Para investigar o estresse oxidativo o estudo avaliou a atividade da enzima GPx. Para a atividade GPX no córtex pré-frontal [$F(1, 33) = 1,936$ $P = 0,1734$] assim como no Hipocampo [$F(3, 37) = 1,724$ $P = 0,1789$] e também no estriado, [$F(3, 34) = 1,325$ $P = 0,2823$]. ANOVA não revelou diferença estatística na atividade desta enzima, sugerimos assim que em nosso estudo a suplementação de AA com AA 0.1, 1, 10mg/kg preveniu o aumento excessivo dos níveis de H_2O_2 e os manteve dentro de uma concentração ao ponto de não ativar a enzima.

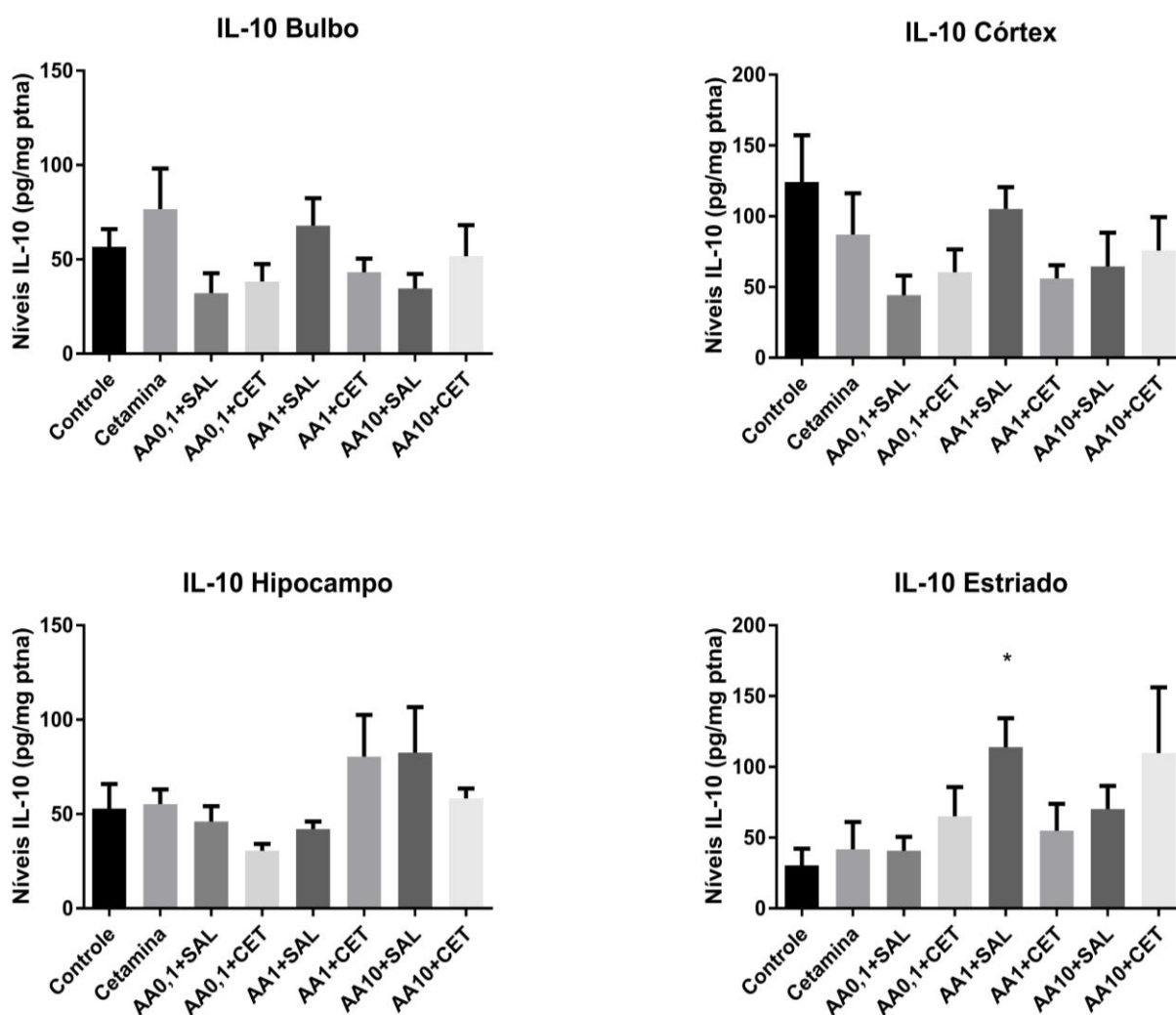
Níveis de IL-1beta



A figura 13 representa o efeito da suplementação com AA 0,1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre os níveis de IL-1beta em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Bulbo olfatório, córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n=12$. * diferente do grupo Controle (Água + Salina).

Afim de avaliar a ativação imune e processos inflamatórios foi avaliada a concentração da IL-1beta nas regiões do Bulbo [$F(7,39) = 1.120$, $p = 0,375$], Cortex [$F(7,38) = 1.304$, $p = 0,281$], Hipocampo [$F(7,40) = 1.258$, $p = 0,301$] e Estriado [$F(7,35) = 4.138$, $p < 0,05$]. ANOVA duas vias demonstrou aumento significativo no conteúdo de IL-1beta na região do estriado no grupo AA 10mg/kg+cetamina.

Níveis de IL-10



A figura 14 representa o efeito da suplementação com AA 0,1, 1, 10mg/kg ou tratamento com cetamina (25 mg / kg) sobre os níveis de IL-10 em diferentes estruturas cerebrais dos ratos (Bulbo olfatório, córtex pré-frontal, hipocampo e estriado). Os dados são expressos como média \pm EPM (Erro Padrão da Média). Sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, $n = 12$. * diferente do grupo Controle (Água + Salina).

No intuito de avaliar a ativação imune e processos inflamatórios foi avaliada a concentração da IL-10 nas regiões do Bulbo [$F(7,37) = 1.062$, $p = 0,411$], córtex pré-frontal [$F(7,39) = 2.262$, $p = 0,055$] Estriado [$F(7,38) = 2.542$, $p < 0,05$] e Hipocampo [$F(7,39) = 1.675$, $p = 0,151$]. ANOVA duas vias demonstrou aumento significativo no conteúdo de IL-10 na região do estriado no grupo AA 1mg/kg+salina. Esses dados mostram que o AA na concentração de 1mg/kg pode ajudar na elevação da IL-10 em regiões específicas do cérebro, sugerimos assim que o AA possa ter uma ação de contribuição anti-inflamatória e assim prevenir danos cerebrais.

6 DISCUSSÃO

Vitaminas e minerais estão envolvidos em várias vias bioquímicas e ações fisiológicas que influenciam a função do cérebro humano, pois suas deficiências estão correlacionadas com transtornos neuropsiquiátricos como na doença de Alzheimer, Parkinson e na SZ (Ramachandran e Thirunavakaras, 2012; Brown e Roffman, 2014; Wadidi et al., 2015).

Estudos mostram existir uma correlação entre a deficiência de AA e SZ. A hipótese de que esta vitamina possa estar envolvida na etiologia do transtorno é baseada em estudos clínicos que sugerem que o AA pode melhorar os sintomas da SZ e ajudar a reduzir o dano oxidativo causado pela desregulação do sistema antioxidante que se estabelece com a evolução da SZ. Isso se deve principalmente a poderosa ação antioxidante do AA, pois essa vitamina age inibindo a peroxidação dos fosfolípidios da membrana e eliminando radicais livres (Milner, 1963; Dakhale et al., 2005; Firth et al., 2017). Corroborando com os benefícios anteriores, o AA mostrou-se também eficiente como tratamento coadjuvante com antipsicóticos atípicos, nos trabalhos de (Dakhale et al., 2005). Neste estudo o AA foi bem tolerado e sem efeitos colaterais, além disso o resultado da escala de avaliação psiquiátrica (BPRS) foi significativamente reduzido em pacientes que fizeram suplementação de AA (Dakhale et al., 2005), mostrando que o AA foi eficiente na melhora da qualidade de vida do paciente.

No presente estudo, avaliamos a hipótese de que a suplementação com AA poderia prevenir algum dos sintomas comportamentais semelhantes à esquizofrenia, além de prevenir danos causados ao cérebro pelo estresse oxidativo, evento este muito presente em doenças psiquiátricas. Para isso o presente estudo utilizou ratos *Wistar* em um modelo animal de SZ com doses de (25mg/kg) de cetamina por sete dias, pois nesta concentração produz uma sintomatologia semelhante à da SZ, incluindo hiperlocomoção, comportamentos estereotipados aumentados, déficits cognitivos e de ativação sensório-motora, além de algumas interações sociais prejudicadas, sendo este um modelo animal de SZ muito estudado pelo nosso grupo de pesquisa (de Oliveira et al., 2011; Zugno et al., 2013; Zugno et al., 2016; Damazio et al., 2017).

A fim de avaliar possíveis alterações na capacidade olfatória dos animais foi realizado o teste de discriminação olfatória, pois pacientes com SZ apresentam déficits olfatórios. Sabe-se que roedores preferem ficar em ambiente “familiar”, com odores de urina, fezes e feromônios de outros roedores de seus grupos sociais, e os odores de seu próprio corpo (de Souza et al.,2012; Pacheco, et al.,2018), além de ser esta busca pelo odor do ninho uma habilidade e um instinto social essencial para a sua sobrevivência (Schneider e Przewłocki, 2005; Miller e Spear, 2009; Pacheco et al., 2018).

Nosso estudo demonstrou que os ratos em todos os grupos tratados com cetamina cruzaram mais vezes entre os ambientes familiar e não familiar, enquanto que o grupo controle e os grupos AA+salina em todas as concentrações testadas mantiveram menor trânsito entre os ambientes. Este comportamento parece estar envolvido com o aumento nos níveis da atividade locomotora induzida pela cetamina, este sendo um parâmetro bem estabelecido e consolidado relacionado ao modelo animal induzido pela cetamina. Este comportamento alterado está relacionado aos sintomas positivos dentro deste modelo animal de SZ. Com este resultado observou-se que o AA utilizado isoladamente não tem qualquer influência em relação ao comportamento do animal, portanto não precipitou o aparecimento de hiperlocomoção (sintomas positivos) no animal (de Oliveira et al., 2011; Damazio et al., 2017; Réus et al., 2018).

Já os resultados apresentados na fig.3 não apresentaram diferença significativa entre os grupos em relação a preferência dos animais pelo ambiente familiar ou não familiar, esse resultado segue o caminho dos estudos de Ansoleaga et al. (2015) e Kiparizoska e Ikuta (2017) , que não souberam identificar se tais déficits olfatórios são devidos à própria condição da SZ, ou um efeito colateral do uso das medicações antipsicóticas á longo prazo, além disso os estudos de Pacheco et al. (2018) mostraram que a retirada do medicamento antipsicótico produz déficit sensorial no animal, sugerindo assim que seria resultado de uma abstinência ao uso do fármaco. Estes resultados levantam a hipótese de que os déficits na função olfatória na SZ podem estar relacionados tanto ao uso prolongado como à retirada dos fármacos antipsicóticos e não ao desenvolvimento do transtorno, no entanto estes mecanismos ainda são pouco compreendidos.

O isolamento social é um dos sintomas negativos que aparecem com muita frequência e bem no início do desenvolvimento da SZ. No intuito de mimetizar este

tipo de comportamento, são utilizados modelos animais, porém os resultados são limitados devido à forte diferença com a interação humana, diferença essa imposta principalmente pelo papel da linguagem nesta última (Anderzhanova et al., 2017).

Em nosso estudo o comportamento social foi avaliado em pares de animais, sendo que individualmente eles não foram analisados. Os parâmetros avaliados foram a latência para iniciar o comportamento social (seguir ou aproximar-se do parceiro de teste, montar ou rastejar sobre o parceiro de teste, farejar qualquer parte do corpo do parceiro de teste) e também o tempo total gasto no comportamento social e o número total de contatos sociais entre os animais (Canever et al., 2010; Canever et al., 2018).

Nossos resultados não apresentaram diferenças estatísticas para nenhum dos grupos estudados em relação aos três testes comportamentais (latência de contato, tempo total de contato e número de contatos). Por ser um teste que avalia os animais em dupla, dois animais de gaiolas diferentes de um mesmo grupo, que são colocados em campo aberto para avaliar os parâmetros de interação social, temos que cada par dos animais corresponde a um resultado, o que limita o número de animais no estudo.

Neste estudo comportamental utilizamos um número de 12 animais por grupo obtendo assim um $n=6$, o número de animais neste teste pode variar devido à necessidade de muitos animais para obter os resultados. Outros trabalhos que utilizaram a mesma dosagem de cetamina 25mg/kg no animal e com um número maior de animais também não obtiveram resultados significativos em relação a latência e números de contato (Canever et al., 2010), e também no número de contatos e tempo total de interação (Comim et al., 2015). Enquanto outros autores afirmam que a administração de cetamina (7 a 30 mg/kg) prejudicam a interação social em ratos adultos do sexo masculino (Silvestre et al., 1997; Becker et al., 2003; Matsuoka et al., 2008).

Determinar a validade de construto dos déficits sociais produzidos por modelos de roedores da SZ é considerada difícil, uma vez que os processos subjacentes à interação social não são bem compreendidos, por isso a existência de vários modelos utilizando uma variação grande de cetamina, que podem conter entre 7 a 80mg/kg do fármaco, e também com variações de tempo de administração, desde dose única a tratamentos agudos de 7 dias ou crônicos de 14 dias. Muito destas discrepâncias de resultados deste modelo pode-se explicar devido ao fato de que a cetamina possui propriedades antidepressivas em doses subanestésicas levando o

animal a não ter a interação social prejudicada (Li et al., 2011; Abdallah et al., 2015; Duman et al., 2016 ; Duman, 2018), nosso estudo assim como os demais acabam mostrando que mais pesquisas precisam ser realizadas para a completa compreensão destes mecanismos, pois a diminuição da interação social é o único parâmetro ligado à sintomatologia dos sintomas negativos da SZ. Em relação aos resultados da suplementação do AA temos de positivo é que o AA administrado isoladamente não precipitou qualquer tipo de déficit na interação social dos animais.

Anormalidades na atenção e no processamento de informação têm sido observadas em pacientes com distúrbios esquizofrênicos (Swerdlow et al.,1992; Morales-Muñoz et al., 2016; Swerdlow et al., 2016; Schneider et al., 2017). Para se ter um sistema nervoso intacto, o organismo desenvolve uma variedade de mecanismos para suprimir ou "filtrar" informações irrelevantes nos domínios sensorial, cognitivo e motor para permitir que um indivíduo se concentre nos estímulos mais relevantes no meio ambiente, protegendo assim o sistema nervoso contra um excesso de informações (Braff e Geyer, 1990; Weiss e Feldon, 2001), capacidade essa que está comprometida nos portadores de algum transtorno psiquiátrico (O'Connor e O'Shea, 2015; Neumeister et al., 2017).

Quando acontece um estímulo suficiente para desencadear uma resposta, ocorre nos mamíferos e roedores o que se chama de reflexo de sobressalto, que é uma resposta defensiva e protetora a um estímulo intenso e inesperado, que podem vir de diferentes modalidades de estímulos (auditivo, visual ou tátil). Este reflexo gera uma contração involuntária, incontrolável e espontânea dos músculos esqueléticos e faciais em resposta ao estímulo (Ramirez-Moreno e Sejnowski, 2012; Echiverri-Cohen et al., 2017).

A IPP é uma forma de plasticidade deste reflexo de sobressalto, pois a IPP é uma redução normal do reflexo de sobressalto a um estímulo intenso (pulso) quando o estímulo é imediatamente precedido (10-400 ms) por um estímulo mais fraco (Pré-Pulso) (Salum et al., 2007). O teste IPP tem atraído considerável interesse nos últimos anos, uma vez que pode medir deficiências de atenção associadas aos transtornos psiquiátricos, além de verificar a prevenção e reversão dos sintomas positivos e negativos da SZ.

Afim de avaliar os possíveis déficits sensório motores nos animais foi realizado o teste de IPP, nosso estudo mostrou que no grupo controle cetamina houve alterações deste parâmetro nos animais, este resultado vem em concordância com os

estudos de Bakshi e Geyer (1998) e Leung e Ma (2018) que demonstram que um dos efeitos característicos dos antagonistas NMDA em roedores é a perda da IPP. Os antagonistas dos receptores NMDA, levam à perda de IPP provavelmente por causa de alterações nas estruturas do sistema límbico, como a amígdala e o hipocampo. Acredita-se que esses receptores sejam expressos em interneurônios GABAérgicos, e o bloqueio desses receptores desencadeia a inibição da atividade neuronal nessas regiões (Zugno et al., 2017).

A inibição dos neurônios GABAérgicos na via mesolímbica tem por consequência a não diminuição da liberação de dopamina nesta região, ou seja, a dopamina interage com receptores D₂ muito mais do que o normal e este aumento significativo da atividade dopaminérgica parece ser fundamental para a perda do IPP por parte do animal, visto que nos estudos de Salum et al. (2007) o uso do fármaco haloperidol, antagonista com alta afinidade pelos receptores D₂, foi capaz de prevenir o déficit na IPP causado por agonistas dopaminérgico, dando suporte à hipótese de que alterações dopaminérgicas são responsáveis por alterarem a IPP.

Em nosso estudo a suplementação de AA nas doses 0.1, 1 e 10mg/kg foi capaz de prevenir a perda da IPP, isso pode ser devido a capacidade do AA em modular a neurotransmissão dopaminérgica. Os estudos de Rebec e Pierce (1994) mostram que o AA altera os receptores de dopamina atuando como um inibidor alostérico, tendo assim uma ação antidopaminérgica. Além disso nos trabalhos de Rebec et al. (1985) a utilização de injeção intraperitoneal de 1000 mg/kg de ascorbato potencializaram a capacidade do haloperidol em bloquear comportamentos induzidos por anfetaminas em ratos.

Enquanto a patogênese da SZ permanece desconhecida, evidências indicam haver uma relação entre o estresse oxidativo e o transtorno (Mahadik et al., 1998; Arvindakshan et al., 2003; Smaga et al., 2015; Bentsen et al., 2018; Sampaio et al., 2018). O estresse oxidativo tem se mostrado bem envolvido na fisiopatologia dos principais distúrbios neuropsiquiátricos, devido ao fato de que o aumento dos níveis de ERO's geram efeitos danosos sobre a transdução de sinal e também desestabilizando a estrutura de receptores, além de induzir a peroxidação lipídica em membranas celulares, danos às proteínas e a ácidos nucleicos (Machado-Vieira et al., 2007; Andreazzav 2008; Gazal et al., 2014; Smaga et al., 2015).

Dentre os produtos gerados pela peroxidação lipídica está o MDA, sua concentração tem sido utilizada para estimar a intensidade da degradação de células

e tecidos, e este composto pode ser avaliado pela reação de formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Bonnes-Taourel et al., 1992; Mafra et al., 1999; Sampaio et al., 2018).

Nossos resultados mostraram aumento significativo nos níveis de TBARS dentro do córtex pré-frontal, estriado e hipocampo no grupo controle cetamina. Assim como nos trabalhos de Gazal et al. (2014) que mostraram dano lipídico induzido pela administração crônica de cetamina (25 mg / kg) e Zugno et al. (2016) que apresentou dano lipídico com a administração aguda e crônica de cetamina 25mg/kg, estes, assim como nosso estudo validam a utilização da cetamina como um bom modelo animal, visto que estudos em humanos mostraram uma elevação nos produtos de peroxidação lipídica em pacientes esquizofrênicos não tratados.

Nossa suplementação de AA pelo período de 14 dias nas doses de 0.1, 1 e 10mg/kg foi capaz de prevenir o aumento da peroxidação lipídica em todos os grupos em comparação com o grupo controle cetamina, mostrando a potencialidade antioxidante do AA, estes resultados também provaram que o uso da vitamina isoladamente não teve influência na elevação dos níveis de peroxidação lipídica. Estes dados seguem de acordo com os estudos de England e Seifter (1986) e Padh (1990) que descrevem o AA com capacidade de inibir a peroxidação dos fosfolípidios da membrana e que podem atuar como um sequestrador de radicais livres.

Em relação aos danos oxidativo este estudo avaliou também os níveis de proteínas carboniladas, pois o conteúdo carbonílico de proteínas é amplamente utilizado como marcador de dano oxidativo em proteínas, sendo que a oxidação de proteínas pelas ERO's pode levar à modificações de aminoácidos que tornam as proteínas não funcionais (Vasconcelos et al., 2007).

Sabe-se que a oxidação de proteínas aumenta em doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Huntington e Parkinson (Butterfield e Kanski 2001; Calabrese et al., 2017), além destas, o dano oxidativo induzido pelas ERO's também está envolvida na fisiopatologia da SZ (Lohr, 1991; Cunha et al., 2015; Koga, et al., 2016), pois vários biomarcadores específicos de estresse oxidativo já foram encontrados no plasma de pacientes esquizofrênicos (Dietrich-Muszalska e Olas , 2009; Lai et al., 2016; Mohammadia et al., 2018).

Os resultados deste estudo mostraram que a suplementação de AA nas doses 0.1, 1 e 10mg/kg conseguiram prevenir o dano oxidativo nas proteínas, provocada pela cetamina, em todas as estruturas cerebrais (córtex pré-frontal, hipocampo e

estriado) comparando-se ao grupo controle cetamina, mostrando mais uma vez a capacidade neuroprotetora do AA. Estes resultados corroboram com estudos feitos por Carty et al. (2000) e Sato et al. (2014) que sugerem fortemente que o AA desempenha um papel importante na prevenção da oxidação proteica *in vivo*.

Os grupos sulfidril (SH) são considerados os maiores e mais frequentes antioxidantes no plasma (Pérez et al., 2012). Como se sabe, à redução nos níveis de sulfidril indicam maior dano oxidativo à proteína, pois a maioria das proteínas plasmáticas possui grupamentos sulfidril livres, que podem ser oxidados pela ação de radicais livres (Zoppi et al., 2003; Souza et al., 2010). Dessa forma, a quantificação da concentração plasmática dos grupamentos sulfidril totais fornece uma ideia do nível de ataque oxidativo a proteínas plasmáticas (Zoppi et al., 2003).

Os resultados deste estudo mostraram que a suplementação de AA nas doses 0.1, 1 e 10mg/kg apresentaram diferenças estatísticas na região do hipocampo nos grupos AA 1mg/kg+salina e AA1mg/kg+cetamina, apresentando aumento nos níveis de sulfidrilas nestes grupos, sugerindo assim um efeito protetor ao grupamento sulfidril nesta região cerebral pelo AA. Com os resultados da prevenção da formação de proteínas carbonílicas assim como prevenção no aumento da peroxidação lipídica juntamente com o aumento dos grupos sulfidrilas, todos estes resultados indicam que o AA apresenta notável ação contra os danos oxidativos.

Para combater o excesso de formação das ERO's e manter o balanço redox, o organismo possui duas classes de sistemas antioxidantes, o sistema antioxidante enzimático formado pela glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT), e o sistema antioxidante não enzimático formado pela glutathione (GS), a vitamina E (alfa-tocoferol) e o AA. Os principais componentes oxidantes endógenos são o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila (OH^{\bullet}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio singleto (1O_2) (Kamata e Hirata, 1999; Thannickal e Fanburg, 2000; Khan, 2014; Lepetsos e Papavassiliou, 2016).

A GS é um tripeptídeo contendo em sua fórmula o grupamento tiol, este grupamento é altamente polarizável, o que faz dele um nucleófilo doador de elétrons, e conseqüentemente atrai compostos eletrófilos. Desta forma, a habilidade de doar elétrons o faz um ótimo redutor, o que leva a proteção contra as espécies reativas de oxigênio e compostos gerados por processos oxidativos, dessa maneira a glutathione desempenha um papel central na defesa contra o dano oxidativo, pois as células que são privadas de glutathione normalmente sofrem danos oxidativos graves associados

à degeneração das mitocôndrias (Meister e Anderson, 1983; Masella et al., 2005; Valko et al., 2007; Kim et al., 2015).

A glutathiona existe no organismo em suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG). O mecanismo de ação da GSH se divide em três ações distintas no organismo, sendo elas; Primeiro: A GSH é usada como substrato pela GPx, na eliminação de peróxidos. Segundo: A GSH reduz a forma oxidada do AA, que assim pode voltar a atuar como antioxidante. Terceiro: A GSH pode através da glutathiona-S-transferase, detoxificar aldeídos reativos, que são gerados durante a peroxidação lipídica. Dentre essas a mais importante defesa contra as lesões oxidativas induzidas pelas ERO's é a manutenção da homeostase da GSH, para ser utilizada pela enzima GPx, que assim pode combater o excesso de peróxido de hidrogênio (Benzi e Moretti, 1995; Huber et al., 2008).

Estudos mostram que o ascorbato, forma oxidada do AA, e GSH têm ações em comum, pois podem reagir tanto com o peróxido de hidrogênio como com as ERO's, além disso o ascorbato tem a capacidade de poupar o gasto da glutathiona, sendo o AA utilizado como doador de elétrons para os radicais livres (Meister, 1994; Harrison et al., 2014). Outro achado importante está no fato de que a deficiência na produção de glutathiona leva ao aumento na síntese de AA no fígado (Martensson e Meister, 1992; Meister, 1994). É interessante também os resultados obtidos com a suplementação de ascorbato quando administrado a ratos recém-nascidos, essa suplementação resultou em um aumento significativo nos níveis de glutathiona nos tecidos e em suas mitocôndrias (Meister, 1994).

Em nosso estudo a GSH teve aumento significativo no grupo controle cetamina nas regiões do bulbo e hipocampo, sugerindo assim que a cetamina induz a um dano oxidativo nestas regiões, e como resposta ocorre um aumento compensatório imediato na produção de GSH, enquanto que nas outras estruturas o AA foi capaz de prevenir o aumento da GSH, corroborando com os resultados de Meister (1994) que mostram que o AA tem capacidade de manter a GSH em reserva, enquanto o próprio AA é utilizado na estabilização dos radicais livres.

Os resultados dos estudos de Jain, et al. (1992) mostram que o ascorbato protege contra o dano celular no pulmão e no músculo esquelético de camundongos adultos com deficiência de glutathiona, mostrando mais uma vez a interação entre esses antioxidantes. Além disso como AA tem a capacidade de aumentar a síntese de GSH, sugerimos assim que ele possa ajudar a remover um possível fator

neurotóxico que é o glutamato em excesso, pois a síntese de GSH requer glutamato como substrato, e aumentar a síntese de GSH exigirá maior consumo de glutamato (Benzi e Moretti, 1995; Lu, 2013).

Mesmo sendo o principal sistema antioxidante na fisiologia e no controle redox do organismo a GSH está presente em concentrações relativamente baixas nos corpos celulares neuronais do cérebro de roedores e macacos (Slivka et al., 1987). Os estudos de Do et al. (2000) e Do et al. (2009) nos mostram que um déficit de GSH causam hipofunção dos receptores NMDA, e esta hipofunção do receptor já é bem estudada e bem descrita, sua relação com os sintomas esquizofrênicos, pois camundongos com déficit de GSH apresentam alterações comportamentais relacionadas à SZ (Steullet et al., 2010).

Corroborando com estes resultados temos ainda os estudos de Berk et al. (2008) que mostram que a diminuição dos níveis de GSH tem sido observado em cérebros post mortem de pacientes com SZ. Recentes estudos têm mostrado que a suplementação do precursor da GSH a substância N-acetilcisteína tem capacidade de aumentar os níveis de GSH periférico e esta suplementação tem melhorado déficits neurofisiológicos em pacientes (Rae e Williams, 2017; Shahidi et al., 2017; Conus et al., 2018). Isso nos mostra que manter a GSH em equilíbrio parece ser um alvo bem relevante no controle da SZ, sendo que o AA tem papel muito importante dentro do metabolismo e síntese da GSH, pois pode ajuda a manter os níveis de GSH em equilíbrio e favorece assim na melhora do paciente.

O estresse oxidativo é um mecanismo bem conhecido de lesão celular, isto ocorre devido a um distúrbio no equilíbrio pró-oxidante-antioxidante em favor do pró-oxidante (Sies, 1991; Pisoschi e Pop, 2015). Na SZ tem sido observado alterações nas concentrações das enzimas antioxidantes, como nos estudos de Zhang et al. (2006) e Miljević et al. (2018) onde foram observados diminuição na atividade das enzimas SOD e GPx em pacientes esquizofrênicos, enquanto em outros estudos pacientes esquizofrênicos apresentaram aumento da atividade das enzimas SOD (Reddy et al., 1991) e diminuição da atividade da enzima CAT (Ruiz-Litago et al., 2012).

Em nosso estudo não foram encontradas diferenças estatística significativa na atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT no córtex pré-frontal, hipocampo e estriado dos animais suplementados com AA nas doses 0.1, 1 e 10mg/kg. A função catalítica da enzima SOD é transformar o radical superóxido (O_2^{\bullet}), em peróxido de

hidrogênio (H_2O_2) enquanto que as enzimas CAT e GPx se integram para impedir o acúmulo de H_2O_2 , sendo que a CAT atua na conversão de H_2O_2 em O_2 e H_2O , enquanto que a GPx atua catalisando a redução do H_2O_2 em H_2O . Apesar de não ser um radical livre o H_2O_2 é igualmente reativo e capaz de promover danos potenciais ao organismo (Barbosa et al., 2010).

Para explicar o fato da enzima SOD não ter alteração significativa nas estruturas cerebrais em nossos resultados, temos os estudos de Nandi e Chatterjee (1987) que concluem em suas pesquisas que a eficácia do AA para eliminar o radical (O_2^{\bullet}) em tecidos animais parece ser melhor que a da enzima SOD, podendo ser justificada por que a concentração de AA nos tecidos é cerca de 1000 vezes maior que a concentração média da SOD, e ainda corroborando a isso tem-se também o fato de que a eliminação de (O_2^{\bullet}) pelo AA em conjunto com a glutathiona é mais econômica ao organismo.

Em relação aos resultados da enzima CAT não terem alterações significativas pode-se explicar devido ao fato de que as enzimas CAT e GPx dividem o mesmo substrato, o H_2O_2 , o que as diferencia em relação a afinidade ao substrato é a constante de Michaelis-Menten (K_m). O K_m de um substrato é a concentração do substrato na qual a velocidade inicial de reação equivale à metade da velocidade máxima; quanto menor seu valor, maior a afinidade da enzima pelo substrato. O k_m da enzima GPx é bem menor que o da enzima CAT em relação ao substrato H_2O_2 , isso explicaria o fato da GPx em nosso estudo estar elevada enquanto a CAT não.

A função de desmutação do H_2O_2 pela CAT é dividida com a GPx, a qual atua, preferencialmente na presença de baixos níveis de H_2O_2 , enquanto que em altas concentrações de H_2O_2 predomina a ação da CAT (Neto et al., 2008), assim sugerimos que em nosso estudo o AA preveniu o aumento excessivo dos níveis de H_2O_2 e os manteve dentro de uma concentração ao ponto de não ativar a enzima CAT, mostrando não haver excesso do agente oxidante H_2O_2 . Pois quando se tem alta atividade da enzima CAT é indicativo de dano oxidativo, devido ela necessitar de alta concentração de H_2O_2 .

A presença de marcadores inflamatórios durante o desenvolvimento da SZ tem sugerido a possibilidade de que o distúrbio seja inicialmente uma doença inflamatória (Xiu et al., 2014; Lesh et al., 2018). Corroboram a isso os estudos de Monji et al. (2009) que mostram células microgliais ativadas no SNC, e estas liberam citocinas pró-inflamatórias que promovem mudanças neuronais (degeneração

neuronal, anormalidades da substância branca e diminuição da neurogênese) contribuindo assim para a fisiopatologia da SZ (Monji et al., 2009).

Vários trabalhos têm mostrado que as interleucinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TGF- β estão aumentadas durante o progresso da SZ, e estes aumentos estão bem relacionados ao comportamento do transtorno, como anedonia, comprometimento cognitivo e retraimento social (Ganguli et al., 1993; Maes et al., 1995; Erbağci et al., 2001; Miller et al., 2011; Girgis et al., 2014), enquanto que a interleucina anti-inflamatória IL-10 está diminuída na fase aguda inicial do transtorno e também em fases crônicas de outros transtornos neurodegenerativos, sendo que a diminuição dos níveis de IL-10 estão relacionados a níveis mais altos de sintomas negativos e cognitivos em pacientes com SZ (Xiu et al., 2014).

Resultados de estudos com anti-inflamatórios inibidores da enzima COX-2 evidenciam ainda mais o papel da inflamação no desenvolvimento do transtorno, pois o uso deste fármaco tem apresentado resultados promissores na redução dos níveis cerebrais de citocinas inflamatórias (IL-1 β e TNF-a). Isto sugere que o fármaco, representa um composto anti-neuroinflamatório que atenua a neurodegeneração e melhora o comprometimento cognitivo, visto que estas citocinas IL-1 β e TNF-a, têm sido relacionadas com a inibição da neurogênese in vivo (Monji et al., 2009; El-Sayed, et al., 2016). Promover uma melhor atividade das defesas anti-inflamatórias do organismo parece ser um bom caminho na busca de qualidade de vida do paciente esquizofrênico.

O presente estudo avaliou a citocina pró-inflamatória IL-1 β e a citocina anti-inflamatória IL-10 nas estruturas cerebrais bulbo, córtex pré-frontal, hipocampo e estriado. Em relação a IL-1 β os resultados apresentaram aumento significativo na região do estriado no grupo AA 10mg/kg+cetamina, já para a IL-10 tiveram aumento significativo na região do estriado também, porém no grupo AA1mg/kg+salina.

Esses dados mostram que o AA na concentração de 1mg/kg pode ajudar na elevação da IL-10 em regiões específicas do cérebro, sendo assim, sugerimos que o AA possa ter uma ação de contribuição anti-inflamatória e assim prevenir danos cerebrais ao auxiliar na diminuição da inflamação, visto que o aumento das citocinas inflamatórias estão envolvidas na disfunção de neurotransmissores, pois podem influenciar negativamente na recaptação e liberação de neurotransmissores como a serotonina, norepinefrina, dopamina e glutamato, estes últimos, tanto dopamina como

glutamato sabe-se que suas disfunções estão intimamente ligadas aos sintomas da SZ (Miller et al., 2013).

Em relação aos resultados obtidos com os testes das interleucinas temos um fator limitante que é a influência da própria cetamina no processo inflamatório. Alguns trabalhos apontam ocorrer ação anti-inflamatória com o uso da cetamina, limitando assim a exacerbação da inflamação sistêmica (Taniguchi et al., 2001; Yang et al., 2005; Loix et al., 2011). Por outro lado, há estudos apontando o contrário, que a cetamina pode aumentar os níveis das citocinas inflamatórias IL-6 e IL-1 β , o que levaria à neuroinflamação (da Silva et al., 2017; Li et al., 2017). Com esses dados conflitantes enfatizamos a necessidade de mais estudos com novos modelos de SZ para analisar melhor as mudanças nos níveis das citocinas e suas influências no desenvolvimento do transtorno.

7 CONCLUSÃO

Este estudo investigou a hipótese de que a suplementação de AA poderia prevenir alterações comportamentais e de citocinas, além de danos oxidativos em ratos *Wistar* submetidos ao modelo animal de SZ induzido pela cetamina. Pode-se concluir que o AA se mostra efetivo na prevenção de algumas alterações comportamentais além de prevenir danos oxidativos em lipídios e proteínas, e ainda dentro de parâmetros fisiológicos a atuação das enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPx além dos níveis da GHS, e também favoreceu o aumento do grupamento sulfidrilas em regiões específicas do cérebro. O AA teve papel importante também na prevenção do aumento da IL-1 β em quase todas as regiões cerebrais além de elevar a concentração da IL-10 na região do estriado neste modelo animal de esquizofrenia.

De acordo com os dados apresentados neste trabalho, concluímos que o AA pode ser uma importante ferramenta terapêutica na esquizofrenia, visto que suas ações contribuíram para prevenção de danos oxidativos e comportamentais. Todos estes resultados indicam que o AA apresenta notável ação contra os danos oxidativos e que pode auxiliar na melhora da qualidade de vida do paciente esquizofrênico. No entanto novos experimentos pré-clínicos precisam ser realizados para confirmar esta hipótese e melhorar ainda mais o conhecimento sobre este transtorno tão complexo.

8 REFERÊNCIAS

Abdallah CG, Sanacora G, Duman RS, Krystal JH. Ketamine and Rapid-Acting Antidepressants: A Window into a New Neurobiology for Mood Disorder Therapeutics. *Annu Rev Med.*, 2015: 509-523.

Abreu PB, Bolognesi G, Rocha N. Prevenção e tratamento de efeitos adversos de antipsicóticos. *Revista Brasileira de Psiquiatria.* 2000; 22: 41-44.

Aguiar CCT, Alves CD, Rodrigues FAR, Barros FWA, Sousa FCF de, Vasconcelos SMM, Macedo DS. Schizophrenia: an inflammatory disease? *Jornal Brasileiro de Psiquiatria.* 2010; 59(1) 52-57.

Agus DB, Gambhir SS, Pardridge WM, Spielholz C, Baselga J, Vera JC, Golde DW. Vitamin C Crosses the Blood–Brain Barrier in the Oxidized Form Through the Glucose Transporters. *J Clin Invest.* 1997; 100(11):2842-2848.

American Psychiatric Association. Schizophrenia and other psychotic disorders. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DMS-V*, Washington, D.C, 2013; 89-122.

Anderzhanova E, Kirmeier T, Wotjak CT. Animal models in psychiatric research: The RDoC system as a new framework for endophenotype-oriented translational neuroscience. *Neurobiol of Stress.* 2017; 47-56.

Andreasen NC, Olsen S. Negative v positive schizophrenia: Definition and validation. *Arch Gen Psychiatry.* 1982; 39(7):789-94.

Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, Yatham LN. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord.* 2008; 111(2-3):135-44.

Ansoleaga B, Garcia-Esparcia P, Pinacho R, Haro JM, Ramos B, Ferrer I. Decrease in olfactory and taste receptor expression in the dorsolateral prefrontal cortex in chronic schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2015; 60:109-16.

Arrigoni O, De Tullio MC. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochim at Biophys Acta.* 2002; 1569(1-3):1-9.

Arvindakshan M, Sitasawad S, Debsikdar V, Ghate M, Evans D, Horrobin DF, Bennett C, Ranjekar PK, Mahadik SP. Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never-medicated and medicated schizophrenia patients. *Biol Psychiatry.* 2003; 53(1):56-64.

Ashton, Heather. "Part V: Schizophrenia. Brain Function and Psychotropic Drugs, por Heather Ashton, 279-329. Oxford University Press, 1992.

Bakshi VP, Geyer. Multiple limbic regions mediate the disruption of prepulse inhibition produced in rats by the noncompetitive NMDA antagonist dizocilpine. *J Neurosci.* 1998; 18(20):8394-401.

Bannister JV, Calabrese L. Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal.* 1987; 32:279-312.

Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr* 2010; 23:629–43.

Becker A, Peters B, Schroeder H, Mann T, Huether G, Grecksch G. Ketamine-induced changes in rat behaviour: A possible animal model of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2003; 27(4):687-700.

Benros ME, Nielsen PR, Nordentoft M, Eaton WW, Dalton SO, Mortensen PB. Autoimmune diseases and Severe Infections as Risk Factors for Schizophrenia: A 30-year Population-based Register Study. *Am J Psychiatry.* 2011; 168(12):1303-1310.

Bentsen, H, D Solberg, H Refsum, e O Andreassen. Redox regulators and oxidative. Schizophrenia Bulletin, 2018: S122.

Benzi G, Moretti A. Age- and peroxidative stress-related modifications of the cerebral enzymatic activities linked to mitochondria and the glutathione system. Free Radic Biol Med. 1995; 19(1):77-101.

Berk M, Copolov D, Dean O, Lu K, Jeavons S, Schapkaitz I, Anderson-Hunt M, Judd F, Katz F, Katz P, Ording-Jespersen S, Little J, Conus P, Cuenod M, Do KQ, Bush AI. N-acetyl cysteine as a glutathione precursor for schizophrenia--a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Biol Psychiatry. 2008; 64(5):361-368.

Bilder RM, Mukherjee S, Rieder RO, Pandurangi AK. Symptomatic and neuropsychological components of defect states. Schizophrenia Bulletin. 1985; 11:409-419, 198.

Binfaré RW, Rosa AO, Lobato KR, Santos AR, Rodrigues AL. Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: Evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009; 33(3):530-40.

Bonnes-Taourel D, Guérin MC, Torreilles J. Is malonaldehyde a valuable indicator of lipid peroxidation? Biochem Pharmacol. 1992; 44(5):985-988.

Bowie CR, Harvey PD. Schizophrenia from neuropsychiatric perspective. Mount Sinai Journal of Medicine. 2006; 73(7):993-998.

Braff DL, Geyer MA. Sensorimotor gating and schizophrenia. Human and animal model studies. Arch Gen Psychiatry. 1990; 47(2):181-188.

Bressan RA, Bigliani V, Pilowsky LS Neuroimagem de receptores D2 de dopamina na esquizofrenia. Rev Bras Psiquiatr. 2001;23(Supl 1): S146:S164-S149-S164.

Bressan RA, Pilowsky BLS. Glutamatergic Hypothesis Of Schizophrenia. *Rev Bras Psiquiatr.* 2003; 25:177–183.

Brown HE, Roffman JL. Vitamin Supplementation in the Treatment of Schizophrenia. *CNS Drugs*, 2014; 8(7):611-22.

Browne RW, Armstrong D. Reduced glutathione and glutathione disulfide. *Methods Mol Biol.* 1998; 108:347-52.

Bubeníková-Valesová V, Horáček J, Vrajová M, Höschl C. Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008; 32(5):1014-23.

Butterfield DA, Kanski J. Brain protein oxidation in age-related neurodegenerative disorders that are associated with aggregated proteins. *Mech Ageing Dev.* 2001; 122(9):945-62.

Calabrese V, Giordano J, Crupi R, Di Paola R, Ruggieri M, Bianchini R, Ontario ML, Cuzzocrea S, Calabrese EJ. Hormesis, Cellular Stress Response and Neuroinflammation in Schizophrenia: Early Onset Versus Late Onset State. *J Neurosci Res.* 2017; 95(5):1182-1193.

Campos-Carli SM de, Salgado JV, Teixeira AL. Imunologia da esquizofrenia: evidências, perspectivas e desafios." *revista debates em psiquiatria*, 2016; 6-14.

Canever L, Freire TG, Mastella GA, Damázio L, Gomes S, Fachim I, Michels C, Carvalho G, Godói AK, Peterle BR, Gava FF, Valvassori SS, Budni J, Quevedo J, Zugno AI. Changes in behavioural parameters, oxidative stress and neurotrophins in the brain of adult offspring induced to an animal model of schizophrenia: The effects of FA deficient or FA supplemented diet during the neurodevelopmental phase. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2018; 30; 86:52-64.

Canever L, Oliveira L, D'Altoé de Luca R, Correa PT, de B Fraga D, Matos MP, Scaini G, Quevedo J, Streck EL, Zugno AI. A rodent model of schizophrenia reveals increase

in creatine kinase activity with associated behavior changes. *Oxid Med Cell Longev*. 2010;3(6):421-427.

Carty JL, Bevan R, Waller H, Mistry N, Cooke M, Lunec J, Griffiths HR. The Effects of Vitamin C Supplementation on Protein Oxidation in Healthy Volunteers. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000; 273(2):729-35.

Castro AA, Ghisoni K, Latini A, Quevedo J, Tasca CI, Prediger RD. Lithium and valproate prevent olfactory discrimination and short-term memory impairments in the intranasal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) rat model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res*. 2012 ;229(1):208-215.

Cattane N, Richetto J, Cattaneo A. Prenatal exposure to environmental insults and enhanced risk of developing Schizophrenia and Autism Spectrum Disorder: Focus on biological pathways and epigenetic mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev*. 2018; S0149-7634(17)30972-30977.

Chittiprol S, Venkatasubramanian G, Neelakantachar N, Babu SV, Reddy NA, Shetty KT, Gangadhar BN. Oxidative stress and neopterin abnormalities in schizophrenia: a longitudinal study. *J Psychiatr Res*. 2010; 44(5):310-313.

Comim CM, Silva NC, Patrício JJ, Palmas D, Mendonça BP, Bittencourt MO, Cassol OJ Jr, Barichello T, Zugno AI, Quevedo J, Dal-Pizzol F. Effect of sepsis on behavioral changes on the ketamine-induced animal model of schizophrenia. *J Neuroimmunol*. 2015; 15;281: 78-82.

Conus P, Seidman LJ, Fournier M, Xin L, Cleusix M, Baumann PS, Ferrari C, Cousins A, Alameda L, Gholam-Rezaee M, Golay P, Jenni R, Woo TW, Keshavan MS, Eap CB, Wojcik J, Cuenod M, Buclin T, Gruetter R, Do KQ. N-acetylcysteine in a Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial: Toward Biomarker-Guided Treatment in Early Psychosis. *Schizophr Bull*. 2018; 44(2):317-327.

Cordioli AV, Correia Filho AG. *Psicofármacos: consulta rápida*. Porto Alegre: Artmed, 2000.

Cotman CW, Kahle JS, Miller SE, Ulas Jo, Bridges RJ. Excitatory amino acid neurotransmission. in *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*, by David J. Kupfer and E Borroni. New york: Raven Press Ltd, 1995.

Cunha MG, PJ Lembi, LCA Martins, R Nicolato. Papel do estresse oxidativo na fisiopatologia da esquizofrenia. *Rev Med Minas Gerais*, 2015: S30-S34.

da Silva Araújo T, Maia Chaves Filho AJ, Monte AS, Isabelle de Góis Queiroz A, Cordeiro RC, de Jesus Souza Machado M, de Freitas Lima R, Freitas de Lucena D, Maes M, Macêdo D. Reversal of schizophrenia-like symptoms and immune alterations in mice by immunomodulatory drugs. *J Psychiatr Res*. 2017; 84:49-58.

Dadheech G, Mishra S, Gautam S, Sharma P. Evaluation of antioxidant deficit in schizophrenia. *Indian J. Psychiatry*. 2008;50, 16–20.

Dakhale GN, Khanzode SD, Khanzode SS, Saoji A. Supplementation of vitamin C with atypical antipsychotics reduces oxidative stress and improves the outcome of schizophrenia. *Psychopharmacology*. 2005;182(4):494-498.

Damazio LS, Silveira FR, Canever L, Castro AA, Estrela JM, Budni J, Zugno AI. The preventive effects of ascorbic acid supplementation on locomotor and acetylcholinesterase activity in an animal model of schizophrenia induced by ketamine. *An Acad Bras Cienc*. 2017; 89(2):1133-1141.

de Oliveira L, Spiazzi CM, Bortolin T, Canever L, Petronilho F, Mina FG, Dal-Pizzol F, Quevedo J, Zugno AI. Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009; 33(6):1003-1008.

de Oliveira L, Fraga DB, De Luca RD, Canever L, Ghedim FV, Matos MP, Streck EL, Quevedo J, Zugno AI. Behavioral changes and mitochondrial dysfunction in a rat model of schizophrenia induced by ketamine. *Metab Brain Dis*. 2011; 26(1):69-77.

de Souza MA, Szawka RE, Centenaro LA, Diehl LA, Lucion AB. Prenatal stress produces sex differences in nest odor preference. *Physiol Behav.* 2012; 105(3):850-5.

Diefenderfer LA, Iuppa C. Brexpiprazole: A review of a new treatment option for schizophrenia and major depressive disorder. *Ment Health Clin.* 2018; 7(5):207-212.

Dietrich-Muszalska A, Olas B. Modifications of blood platelet proteins of patients with schizophrenia. *Platelets.* 2009; 20(2):90-96.

Do KQ, Trabesinger AH, Kirsten-Krüger M, Lauer CJ, Dydak U, Hell D, Holsboer F, Boesiger P, Cuénod M. Schizophrenia: glutathione deficit in cerebrospinal fluid and prefrontal cortex in vivo. *Eur J Neurosci.* 2000; 12(10):3721-3728.

Do KQ, Cabungcal JH, Frank A, Steullet P, Cuenod M. Redox dysregulation, neurodevelopment, and schizophrenia. *Curr Opin Neurobiol.* 2009; 19(2):220-230.

Doorduyn J, de Vries EF, Willemsen AT, de Groot JC, Dierckx RA, Klein HC. Neuroinflammation in Schizophrenia-Related Psychosis: A PET Study. *J Nucl Med.* 2009; 50(11):1801-1807.

Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990; 186:421-31.

Duman RS, Aghajanian GK, Sanacora G, Krystal JH. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. *Nat Med.* 2016; 22(3):238-249.

Duman, RS. Ketamine and rapid-acting antidepressants: a new era in the battle against depression and suicide. *F1000Res*, 2018: 1-10.

Duncan GE, Miyamoto S, Leipzig JN, Lieberman JA. Comparison of the Effects of Clozapine, Risperidone, and Olanzapine on Ketamine-Induced Alterations in Regional Brain Metabolism. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000; 293(1):8-14.

Echiverri-Cohen A, Zoellner L, Gallop R, Bedard-Gilligan M, Jaeger J, Feeny N. Enhanced Prepulse Inhibition Predicts Treatment Response in PTSD. *Journal of Depression and Anxiety*, 2017; 6(4) 1-7.

El-Sayed El-Sisi A, Sokkar SS, El-Sayed El-Sayad M, Sayed Ramadan E, Osman EY. Celecoxib and omega-3 fatty acids alone and in combination with risperidone affect the behavior and brain biochemistry in amphetamine-induced model of schizophrenia. *Biomed Pharmacother*. 2016; 82:425-31.

Englard S, Seifter S. The biochemical functions of ascorbic acid. *Annu Rev Nutr*. 1986; 6:365-406.

Erbağci AB1, Herken H, Köylüoğlu O, Yılmaz N, Tarakçıoğlu M. Serum IL-1beta, sIL-2R, IL-6, IL-8 and TNF-alpha in schizophrenic patients, relation with symptomatology and responsiveness to risperidone treatment. *Mediators Inflamm*. 2001;10(3):109-15.

Farber NB, Kim SH, Dikranian K, Jiang XP, Heinkel C. Receptor mechanisms and circuitry underlying NMDA antagonist neurotoxicity. *Mol Psychiatry*. 2002;7(1):32-43.

Fendri C, Mechri A, Khiari G, Othman A, Kerkeni A, Gaha L. Oxidative stress involvement in schizophrenia pathophysiology: a review. *Encephale*. 2006; 32:244-52.

Ferraguti F, Shigemoto R. Metabotropic glutamate receptors. *Cell Tissue Res*. 2006; 326(2):483-504.

Firth J, Stubbs B, Sarris J, Rosenbaum S, Teasdale S, Berk M, Yung AR. The effects of vitamin and mineral supplementation on symptoms of schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Psychol Med*. 2017; 47(9):1515-1527.

Ganguli, R, Brar JS, Chengappa KN, Yang ZW, Nimgaonkar VL, e Rabin BS. Autoimmunity in schizophrenia: a review of recent findings. *Ann Med.*, 1993: 489-496.

Gazal M, Valente MR, Acosta BA, Kaufmann FN, Braganhol E, Lencina CL, Stefanello FM, Ghisleni G, Kaster MP. Neuroprotective and antioxidant effects of curcumin in a ketamine-induced model of mania in rats. *Eur J Pharmacol.* 2014; 5;724: 132-139.

Geyer MA, Markou A. Animal models of psychiatric disorders. In: Bloom FE, Kupfer D (eds) *Psychopharmacology: the fourth generation of progress.* Raven Press, New York. 1995 pp 787–798.

Gilman S, Newman SW, Manter JT. Illustration Errata Booklet for Manter and Gatz's *Essentials of Clinical Neuroanatomy and Neurophysiology.* 9. Philadelphia: F. A. Davis Company, 1996.

Girgis RR, Kumar SS, Brown AS. The Cytokine Model of Schizophrenia: Emerging Therapeutic Strategies. *Biol Psychiatry.* 2014; 75(4):292-299.

Gogtay N1, Vyas NS, Testa R, Wood SJ, Pantelis C. Age of Onset of Schizophrenia: Perspectives From Structural Neuroimaging Studies. *Schizophr Bull.* 2011; 37(3):504-13.

Golan D, Galanter JM. Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica. Em *PRÍNCÍPIOS de FARMACOLOGIA- A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia*, por David E Golan, Armen H. Tashjian e Ehrin J. Armstrong, 165-185. Guanabara Koogan, 2009.

Graeff FG, Guimarães FS, Zuardi AW. Medicamentos antipsicóticos. Em *Fundamentos de psicofarmacologia*, por Frederico Guilherme Graeff, Francisco Silveira Guimarães e Antonio Waldo Zuardi, 69-91. São Paulo: atheneu, 1999.

Gysin R, Kraftsik R, Sandell J, Bovet P, Chappuis C, Conus P, Deppen P, Preisig M, Ruiz V, Steullet P, Tosic M, Werge T, Cuénod M, Do KQ. Impaired glutathione synthesis in schizophrenia: Convergent genetic and functional evidence. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104(42):16621-16626.

Hadjiconstantinou M, Neff NH. Ascorbic acid could be hazardous to your experiments: a commentary on dopamine receptor binding studies with speculation on a role for ascorbic acid in neuronal function. *Neuropharmacology*. 1983; 22(8):939-43.

Halliwell, B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. Therapeutic implications. *Drugs Aging*. 2001; 18(9):685-716.

Harrison FE, Bowman GL, Polidori MC. Ascorbic Acid and the Brain: Rationale for the use against Cognitive Decline. *Nutrients*. 2014; 6(4):1752-1781.

Huber PC, Almeida WP, Fatima A. Glutathione and related enzymes: biological roles and importance in pathological processes. *Quím. Nova*. 2008; (31)1170-1179.

Imre G, Fokkema DS, Den Boer JA, Ter Horst GJ. Dose-response characteristics of ketamine effect on locomotion, cognitive function and central neuronal activity. *Brain Res Bull*. 2006; 69(3):338-345.

Itil T, Keskiner A, Kiremitci N, Holden JM. Effect of phencyclidine in chronic schizophrenics. *Can Psychiatr Assoc J*. 1967; 12(2):209-12.

Jain A, Mårtensson J, Mehta T, Krauss AN, Auld PA, Meister A. Ascorbic acid prevents oxidative stress in glutathione-deficient mice: effects on lung type 2 cell lamellar bodies, lung surfactant, and skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(11):5093-7.

Jenner P. The rationale for the use of dopamine agonists in Parkinson's disease. *Neurology*. 1995; 45(3 Suppl 3) S6-12.

Jones KA, Thomsen C. The role of the innate immune system in psychiatric disorders. *Mol Cell Neurosci*. 2013; 53:52-62.

Kamata H, Hirata H. Redox regulation of cellular signalling. *Cell Signal*. 1999; 11(1):1-14.

Kaplan HI, Sadock BJ, Grebb JA. *Compêndio de Psiquiatria: Ciências do Comportamento e Psiquiatria Clínica*. 7. Sao Paulo: Artmed, 2002.

Kapur S, Zipursky R, Jones C, Remington G, Houle S. Relationship between dopamine D2 occupancy, clinical response, and side effects: a double-blind PET study of first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2000; 157(4):514-520.

Khan SR. Reactive oxygen species, inflammation and calcium oxalate nephrolithiasis. *Transl Androl Urol*. 2014; 3(3):256-276.

Kim GH, Kim JE, Rhie SJ, Yoon S. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Exp Neurobiol*. 2015; 24(4):325-340.

Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmüller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci Lett*. 1980; 20(3):379-382.

Kinkead B, Selz KA, Owens MJ, Mandell AJ. Algorithmically designed peptides ameliorate behavioral defects in animal model of ADHD by an allosteric mechanism. *J Neurosci Methods*. 2006; 151(1):68-81.

Kiparizoska S, Ikuta T. Disrupted Olfactory Integration in Schizophrenia: Functional Connectivity Study. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2017; 20(9):740-746.

Koga M, Serritella AV, Sawa A, Sedlak TW. Implications for reactive oxygen species in schizophrenia pathogenesis. *Schizophr Res*. 2016; 176(1):52-71.

Körschenhausen DA, Hampel HJ, Ackenheil M, Penning R, Müller N. Fibrin degradation products in post mortem brain tissue of schizophrenics: a possible marker for underlying inflammatory processes. *Schizophr Res*. 1996; 19(2-3):103-9.

Kunz M, Ceresér KM, Goi PD, Fries GR, Teixeira AL, Fernandes BS, Belmonte-de-Abreu PS, Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Gama CS. Serum levels of IL-6, IL-10

and TNF- α in patients with bipolar disorder and schizophrenia: differences in pro-and anti-inflammatory balance. *Rev Bras Psiquiatr.* 2011; 33(3):268-74.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259):680-685.

Lahti AC, Koffel B, LaPorte D, Tamminga CA. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 1995; 13(1):9-19.

Lahti AC, Weiler MA, Tamara Michaelidis BA, Parwani A, Tamminga CA. Effects of Ketamine in Normal and Schizophrenic Volunteers. *Neuropsychopharmacology.* 2001; 25(4):455-67.

Lai CY, Scarr E, Udawela M, Everall I, Chen WJ, Dean B. Biomarkers in schizophrenia: A focus on blood based diagnostics and theranostics. *World J Psychiatry.* 2016;6(1):102-117.

Lepetsos P, Papavassiliou AG. ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis. *Biochim Biophys Acta.* 2016; 1862(4):576-591.

Lesh TA, Careaga M, Rose DR, McAllister AK, de Water JV, Carter CS, Ashwood P. Cytokine alterations in first-episode schizophrenia and bipolar disorder: relationships to brain structure and symptoms. *Journal of Neuroinflammation,* 2018; 15(165) 1-11.

Leung LS, Ma J. Medial septum modulates hippocampal gamma activity and prepulseinhibition in an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist model of schizophrenia. *Schizophr Res.* 2018; 198:36-44.

Li N, Liu RJ, Dwyer JM, Banasr M, Lee B, Son H, Li XY, Aghajanian G, Duman RS. Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure. *Biol Psychiatry.* 2011; 69(8):754-61.

Li Y, Shen R, Wen G, Ding R, Du A, Zhou J, Dong Z, Ren X, Yao H, Zhao R, Zhang G, Lu Y, Wu X. Effects of Ketamine on Levels of Inflammatory Cytokines IL-6, IL-1 β , and TNF- α in the Hippocampus of Mice Following Acute or Chronic Administration. *Front Pharmacol*. 2017; 8:139:1-14.

Lohr JB. Oxygen radicals and neuropsychiatric illness. Some speculations. *Arch Gen Psychiatry*. 1991; 48(12):1097-106.

Loix S, De Kock M, Henin P. The anti-inflammatory effects of ketamine: state of the art. *Acta Anaesthesiol Belg*. 2011; 62(1):47-58.

Lowry Oh, Rosebrough Nj, Farr Al, Randall Rj. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951; 193(1):265-75.

Lu SC. Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(5):3143-53

Machado-Vieira R, Andreazza AC, Viale CI, Zanatto V, Cereser V Jr, da Silva Vargas R, Kapczinski F, Portela LV, Souza DO, Salvador M, Gentil V. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci Lett*. 2007; 421(1):33-36.

Maes M, Bosmans E, Calabrese J, Smith R, Meltzer HY. Interleukin-2 and interleukin-6 in schizophrenia and mania: effects of neuroleptics and mood stabilizers. *J Psychiatr Res*. 1995;29(2):141-152.

Mafra D, Abdalla DSP, Cozzolino SMF. Lipid peroxidation in patients with chronic renal failure. *Rev. Nutr* 1999;12: 205–12.

Mahadik SP, Mukherjee S, Scheffer R, Correnti EE, Mahadik JS. Elevated plasma lipid peroxides at the onset of nonaffective psychosis. *Biol Psychiatry*. 1998; 43(9):674-9.

Malhotra AK, Pinals DA, Adler CM, Elman I, Clifton A, Pickar D, Breier A. Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology*. 1997; 17(3):141-150.

Mari JJ, Leitão RJ. A epidemiologia da esquizofrenia. *Rev Bras Psiquiatr.* 2000; 22 (Supl 1):15-17.

Marsman A, van den Heuvel MP, Klomp DW, Kahn RS, Luijten PR, Hulshoff Pol HE. Glutamate in Schizophrenia: A Focused Review and Meta-Analysis of 1 H-MRS Studies. *Schizophr Bull.* 2013; 39(1):120-129.

Mårtensson J, Meister A. Glutathione deficiency increases hepatic ascorbic acid synthesis in adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89(23):11566-11568.

Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem.* 2005;16(10):577-586.

Matsuoka T, Tsunoda M, Sumiyoshi T, Takasaki I, Tabuchi Y, Seo T, Tanaka K, Uehara T, Itoh H, Suzuki M, Kurachi M. Effect of MK-801 on Gene Expressions in the Amygdala of Rats. *Synapse.* 2008; 62(1):1-7.

Mauri MC, Paletta S, Maffini M, Moliterno D, Altamura AC. Suicide attempts in schizophrenic patients: clinical variables. *Asian J Psychiatr.* 2013; 6(5):421-427.

Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem.*, 1983: 711-760.

Meister A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *J Biol Chem.* 1994; 269(13):9397-400.

Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res.* 1994; 54(7Suppl):1969s-1975s.

Miljević, ČD, Blagojević DP, Nikolic-kokic A, Spasić MB. Association between soft neurological signs and antioxidant enzyme activity in schizophrenic patients. *Psychiatry Research*, 2018; 1-26.

Miller AH, Haroon E, Raison CL, Felger JC. Cytokine Targets in the Brain: Impact on Neurotransmitters and Neurocircuits. *Depress Anxiety*. 2013; 30(4):297-306.

Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, Kirkpatrick B. Meta-Analysis of Cytokine Alterations in Schizophrenia: Clinical Status and Antipsychotic Effects. *Biol Psychiatry*. 2011; 70(7):663-671.

Miller SS, Spear NE. Olfactory learning in the rat immediately after birth: unique salience of first odors. *Dev Psychobiol*. 2009; 51(6): 488–504.

Milner G. Ascorbic acid in chronic psychiatric patients: A controlled trial. *Br J Psychiatry* 1963; 109:294-299.

Miyamoto S, Mailman RB, Lieberman JA, Duncan GE. Blunted brain metabolic response to ketamine in mice lacking D1A dopamine receptors. *Brain Res*. 2001;894(2):167-180.

Mohammadi A, Rashidi E, Amooeian VG. Brain, blood, cerebrospinal fluid, and serum biomarkers in schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2018; 265:25-38.

Monji A, Kato T, Kanba S. Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2009; 63(3):257-65.

Morales-Muñoz I, Jurado-Barba R, Fernández-Guinea S, Rodríguez-Jiménez R, Jiménez-Arriero MÁ, Criado JR, Rubio G. Sensory Gating Deficits in First-Episode Psychosis: Evidence From Neurophysiology, Psychophysiology, and Neuropsychology. *J Nerv Ment Dis*. 2016; 204(12):877-884.

Moreira FA, Guimarães FS. Mecanismos de ação dos antipsicóticos: hipóteses dopaminérgicas. *Medicina Ribeirão Preto*. 2007; 40(1) 63-71.

Na KS, Jung HY, Kim YK. The role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014; 48:277-86.

Naidu, KA. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutr J.* 2003; 21; 2:7.

Nandi A, Chatterjee IB. Scavenging of superoxide radical by ascorbic acid, *J. Biosci.*, 1987; 11: 435–441.

Nelson DL, Cox MM. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 6. Porto Alegre: Artmed, 2011.

Neto AGAA, Bressan RA, Filho GB. Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais. *Revista Psiquiatria Clínica* 2007; 34:198-203.

Neto JMFA, Rivera RJB, Calvi RG, Raffa MF, Donadon CC, Pereira AG, Melo PDS. Comparative oxidative stress levels in mice submitted to two situations of organic limit: overreaching induced by swimming training and cancer. *Rev. Bra. Med. do Esporte* 2008; 14:548-552.

Neumeister H, Adelman M, Gallagher W, Gou J, Merrins K, Perkowski M, Shih S, Terranova B, Preuss T. Socially induced plasticity in sensorimotor gating in the African cichlid fish *Astatotilapia burtoni*. *Behav Brain Res.* 2017; 332:32-39.

Niesink RJ, Van Ree JM. Involvement of opioid and dopaminergic systems in isolation-induced pinning and social grooming of young rats. *Neuropharmacology.* 1989; 28(4):411-8.

O'Connor WT, O'Shea SD. Clozapine and GABA transmission in schizophrenia disease models Establishing principles to guide treatments. *Pharmacol Ther.* 2015; 150:47-80.

Okusaga OO. Accelerated aging in schizophrenia patients: the potential role of oxidative stress. *Aging Dis.* 2013; 5(4):256-62.

Pacheco FD, Silva MLD, Batista G, Santos W, Castro AA, Canever L, Zugno AI. Olfactory deficit as a result of clozapine withdrawal syndrome in an animal model of schizophrenia: preliminary results. *An Acad Bras Cienc.* 2018; 90(2):1659-1663.

Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK, Levine M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003; 22(1):18-35.

Padh, Harish. Cellular functions of ascorbic acid. *Biochem Cell Biol.* 1990; 68(10):1166-73.

Pádua AC, Gama CS, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu OS. Esquizofrenia: diretrizes e algoritmo para o tratamento farmacológico. In: Cordioli AV, editor. *Psicofármacos: consulta rápida.* 3rd ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p. 343.

Patel KR, Cherian J, Gohil K, Atkinson D. Schizophrenia: Overview and Treatment Options. *P T.* 2014; 39(9):638-45.

Pavlovic D, Tamburic V, Stojanovic I, Kocic G, Jevtovic T, Dordevic V. Oxidative stress as marker of positive symptoms in schizophrenia. *Facta Universitatis, Series: Medicine and Biology* 2002; 9:157–161.

Pérez Y, Pérez L, Netto R, Lima D, Lima E. Malondialdehyde and the sulfhydryl groups as biomarkers of oxidative stress in patients with systemic lupus erythematosus. *Revista Brasileira de Reumatologia.* 2012; 52: 656-660.

Pinheiro PS, Mulle C. Presynaptic glutamate receptors: physiological functions and mechanisms of action. *Nat Rev Neurosci.* 2008; 9(6):423-436.

Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015; 97:55-74.

Popa TA, Ladea M. The role of nutrition in schizophrenia. *Romanian Journal of Psychiatry.* 2012; 14(3) 93-96.

Pull C. Diagnóstico da esquizofrenia: uma revisão. In M. Maj & N. Sartorius (Orgs.), Esquizofrenia. Porto Alegre: Artmed. 2005;13-70.

Rabinowitz J, Levine SZ, Garibaldi G, Bugarski-Kirola D, Berardo CG, Kapur S. Negative symptoms have greater impact on functioning than positive symptoms in schizophrenia: Analysis of CATIE data. Schizophr Res. 2012; 137(1-3):147-50.

Rae CD, Williams SR. Glutathione in the human brain: Review of its roles and measurement by magnetic resonance spectroscopy. Anal Biochem. 2017; 529:127-143.

Rahmoune H, Harris LW, Guest PC, Bahn S. Targeting the inflammatory component of schizophrenia. Rev Psiquiatr. 2013; 28-34.

Ramachandran P, Thirunavakaras P. Vitamins in schizophrenia: a literature review. Journal Psychological Medicine 2012; 13(2): 74-79.

Ramirez-Moreno DF, Sejnowski TJ. A computational model for the modulation of the prepulse inhibition of the acoustic startle reflex. Biol Cybern. 2012; 106(3):169-76.

Rang HP, Dale MM. Fármacos antipsicóticos. Cap. 46 em Rang & Dale Farmacologia 8ª edição, por Rang HP, Dale MM. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016; 1303-1327.

Rebec GV, Centore JM, White LK, Alloway KD. Ascorbic acid and the behavioral response to haloperidol: implications for the action of antipsychotic drugs. Science. 1985; 227(4685):438-40.

Rebec GV, Pierce RC. A vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission. Prog Neurobiol. 1994; 43(6):537-565.

Reddy R, Sahebarao MP, Mukherjee S, Murthy JN. Enzymes of the antioxidant defense system in chronic schizophrenic patients. Biol Psychiatry. 1991; 30(4):409-12.

Reis GC, Arruda ALA. Fisiopatologia da esquizofrenia baseada nos aspectos moleculares. *Revista brasileira de farmácia*. 2011; 118-122.

Réus GZ, Becker IRT, Scaini G, Petronilho F, Osés JP, Kaddurah-Daouk R, Ceretta LB, Zugno AI, Dal-Pizzol F, Quevedo J, Barichello T. The inhibition of the kynurenine pathway prevents behavioral disturbances and oxidative stress in the brain of adult rats subjected to an animal model of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2018; 2;81: 55-63.

Reynolds GP, Kirk SL. Metabolic side effects of antipsychotic drug treatment pharmacological mechanisms. *Pharmacol Ther*. 2010;125(1):169-179.

Rice ME. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. *Trends Neurosci*. 2000; 23(5):209-16.

Riddles PW, Blakeley RL, Zerner B. Reassessment of Ellman's reagent. *Methods Enzymol*. 1983; 91:49-60.

Ruggiero RN, Bueno-Júnior LS, Ross JB, Fachim HA, Padovan-Neto FE, Merlo S, et al. Neurotransmissão glutamatérgica e plasticidade sináptica: aspectos moleculares, clínicos e filogenéticos. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2011; 44:143-56.

Ruiz-Litago F, Seco J, Echevarría E, Martínez-Cengotitabengoa M, Gil J, Irazusta J, González-Pinto AM. Adaptive response in the antioxidant defence system in the course and outcome in first-episode schizophrenia patients: A 12-months follow-up study. *Psychiatry Res*. 2012; 200(2-3):218-222.

Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P. Kaplan & Sadock's *Comprehensive Textbook of Psychiatry* 9th Edition. Vol. 1. LWW, 2009.

Salokangas RK, Honkonen T, Stengård E, Koivisto AM. To be or not to be married – that is the question of quality of life in men with schizophrenia. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2001; 36(8):381-390.

Salum C; Pereira ACCI, Guimaraes, EADBB. Dopamina, Óxido Nítrico e suas Interações em Modelos para o Estudo da Esquizofrenia. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 2007; 21(2):186-194.

Sampaio LRL, Cysne Filho FMS, de Almeida JC, Diniz DDS, Patrocínio CFV, de Sousa CNS, Patrocínio MCA, Macêdo D, Vasconcelos SMM. Advantages of the Alpha-lipoic Acid Association with Chlorpromazine in a Model of Schizophrenia Induced by Ketamine in Rats: Behavioral and Oxidative Stress evidences. *Neuroscience*. 2018;1; 373:72-81.

Sartorius N, Jablensky A, Korten A, Ernberg G, Anker M, Cooper JE, Day R. Manifestations and first-contact incidence of schizophrenia in different cultures. A preliminary report on the initial evaluation phase of the WHO Collaborative Study on Determinants of Outcome of Severe Mental Disorders. *Psychol Med*. 1986; 16(4):909-28.

Sato Y, Amano A, Kishimoto Y, Takahashi K, Handa S, Maruyama N, Ishigami A. Ascorbic acid prevents proteinOxidation in livers of senescence marker protein-30/gluconolactonase knockout mice. *Geriatr Gerontol Int*. 2014; 14(4):989-95.

Schneider S, Götz K, Birchmeier C, Schwegler H, Roskoden T. Neuregulin-1 mutant mice indicate motor and sensory deficits, indeed few references for schizophrenia endophenotype model. *Behav Brain Res*. 2017; 30;322: 177-185.

Schneider T, Przewłocki R. Behavioral Alterations in Rats Prenatally Exposed to Valproic. *Neuropsychopharmacology*. 2005; 30(1):80-89.

Seeman P, Van Tol HH. Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol Sci*. 1994;15(7):264-70.

Shahidi S, Zargooshnia S, Asl SS, Komaki A, Sarihi A. Influence of N-acetyl cysteine on beta-amyloid-induced Alzheimer's disease in a rat model: A behavioral and electrophysiological study. *Brain Res Bull*. 2017; 131:142-149.

Sibley DR, Monsma FJ Jr. Molecular biology of dopamine receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 1992; 13(2):61-9.

Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991;30;91(3C):31S-38S.

Silva AASD, Ribeiro MVMR, Sousa-Rodrigues CF, Barbosa FT. Association between antipsychotics and cardiovascular adverse events: A systematic review. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2017; 63(3):261-267.

Silva MTA, Guerra LGCG, Alves CRR. Modelos comportamentais em neurociências. *Revista Brasileira de Análise do Comportamento.* 2016;1(2): 167-185.

Silvestre JS, Nadal R, Pallarés M, Ferré N. Acute effects of ketamine in the holeboard, the elevated-plus maze, and the social interaction test in Wistar rats. *Depress Anxiety.* 1997; 5(1):29-33.

Slivka A, Mytilineou C, Cohen G. Histochemical evaluation of glutathione in brain. *Brain Res.* 1987; 409(2):275-84.

Smaga I, Niedzielska E, Gawlik M, Moniczewski A, Krzek J, Przegaliński E, Pera J, Filip M. Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism. *Pharmacol Rep.* 2015; 67(3):569-580.

Smyth AM, Lawrie SM. The Neuroimmunology of Schizophrenia. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2013;11(3):107-117.

Souza CT, Medeiros C, Silva LA, Silveira TC, Silveira PC, Pinho CA. et al. Serum measurement of muscle and oxidative damage in soccer players after a game. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 2010;12(4):269-274.

Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med.* 1990; 9(4):315-325.

Stahl SM. *Psicofarmacologia: base neurocientífica e aplicações práticas*. 2. Rio de Janeiro: MEDSI, 2002.

Stahl SM. Beyond the dopamine hypothesis to the NMDA glutamate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *CNS Spectr.* 2007;12(4):265-268.

Steullet P, Cabungcal JH, Kulak A, Kraftsik R, Chen Y, Dalton TP, Cuenod M, Do KQ. Redox dysregulation affects the ventral but not dorsal hippocampus: impairment of parvalbumin neurons, gamma oscillations, and related behaviors. *J Neurosci.* 2010;30(7):2547-2558.

Sun J, Zhao M, Fanous AH, Zhao Z. Characterization of Schizophrenia Adverse Drug Interactions through a Network Approach and Drug Classification. *BioMed Research International.* 2013; 1-10.

Swerdlow NR1, Caine SB, Braff DL, Geyer MA. The neural substrates of sensorimotor gating of the startle reflex: a review of recent findings and their implications. *J Psychopharmacol.* 1992; 6(2):176-90.

Swerdlow NR, Braff DL, Geyer MA. Sensorimotor gating of the startle reflex: what we said 25 years ago, what has happened since then, and what comes next. *J Psychopharmacol.* 2016; 30(11):1072-1081.

Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res.* 2008; 102(1-3):1-18.

Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS. Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res.* 2009; 110(1-3):1-23.

Taniguchi T, Shibata K, Yamamoto K. Ketamine Inhibits Endotoxin-induced Shock in Rats. *Anesthesiology.* 2001; 95(4):928-32.

Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2000; 279(6): L1005-1028.

Tomiya M, Fukushima T, Kawai J, Aoyama C, Mitsuhashi S, Santa T, Imai K, Toyo'oka T. Alterations of plasma and cerebrospinal fluid glutamate levels in rats treated with the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, ketamine. *Biomed Chromatogr*. 2006;20(6-7):628-33.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007; 39(1):44-84.

Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Benfato VMMSB, Kubota LT. Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: The main analytical methods for their determination [in Portuguese]. *Quim. Nova* 2007; 30: 1323–1338.

Vasconcelos TB, Cardoso AR, Josino JB, Macena RH, Bastos VP. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo? *UNOPAR Cient Cienc Biol Saude*. 2015; 16(3):213-9.

Verma A, Moghaddam B. NMDA Receptor Antagonists Impair Prefrontal Cortex Function as Assessed via Spatial Delayed Alternation Performance in Rats: Modulation by bopamine. *J Neurosci*. 1996; 16(1):373-379.

Wadidi SA, Mohammed NA, Abdalla MHA. Association of psychological disorders and Vitamin B12 deficiency in Sudan. *European Academic Research*.2015; 3(6)6191-6197.

Walker E, Kestler L, Bollini A, Hochman KM. Schizophrenia: etiology and course. *Annual Review of Psychology*. 2004; 55: 401-430.

Watts RL. The role of dopamine agonists in early Parkinson's disease. *Neurology*. 1997;49(1 Suppl 1): S34-48.

Weiss IC, Feldon J. Environmental animal models for sensorimotor gating deficiencies in schizophrenia: a review. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001; 156(2-3):305-26.

Wendel A. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*. 1981; 77:325-33.

Wildenauer DB, Körschenhausen D, Hoechtlen W, Ackenheil M, Kehl M, Lottspeich F. Analysis of cerebrospinal fluid from patients with psychiatric and neurological disorders by two-dimensional electrophoresis: identification of disease-associated polypeptides as fibrin fragments. *Electrophoresis*. 1991; 12(7-8):487-92.

Wolters EC. The role of D-1 and D-2 dopamine receptors in motor behaviour of patients with Parkinson's disease. *European Journal Of Neurology* 1996; 19-24.

Wong AH, Van Tol HH. Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003; 27(3):269-306.

World Health Organization. *Schizophrenia and Public Health*. 1998.

Xiu MH, Yang GG, Tan YL, Chen DC, Tan SP, Wang ZR, Yang FD, Okusaga O, Soares JC, Zhang XY. Decreased interleukin-10 serum levels in first-episode drug-naïve schizophrenia: Relationship to psychopathology. *Schizophr Res*. 2014; 156(1):9-14.

Yang J, Li W, Duan M, Zhou Z, Lin N, Wang Z, Sun J, Xu J. Large dose ketamine inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Inflamm Res*. 2005; 54(3):133-137.

Yong VW. Inflammation in Neurological Disorders: A Help or a Hindrance? *Neuroscientist*. 2010;16(4):408-420.

Zhang XY, Tan YL, Cao LY, Wu GY, Xu Q, Shen Y, Zhou DF. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different forms of schizophrenia treated with typical and atypical antipsychotics. *Schizophr Res.* 2006; 81(2-3):291-300.

Zimmerman LM, Bowden RM, Vogel LA. A vertebrate cytokine primer for eco-immunologists. *Functional Ecology.* 2014; 28:1061-1073.

Zoppi C, Antunes-Neto J, Catanho FO, Goulart LF, Motta e Moura N, Macedo DV. Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. *Rev Paul Educ Fís.* 2003;17(2):119-30.

Zuccoli GS1, Saia-Cereda VM, Nascimento JM, Martins-de-Souza D. The Energy Metabolism Dysfunction in Psychiatric Disorders Postmortem Brains: Focus on Proteomic Evidence. *Front Neurosci.* 2017; 11: 1-14.

Zugno AI, de Miranda IM, Budni J, Volpato AM, Luca RD, Deroza PF, de Oliveira MB, Heylmann AS, da Rosa Silveira F, Wessler P, Antunes Mastella G, Cipriano AL, Quevedo J. Effect of maternal deprivation on acetylcholinesterase activity and behavioral changes on the ketamine-induced animal model of schizophrenia. *Neuroscience.* 2013; 17; 248:252-260.

Zugno AI, Chipindo HL, Volpato AM, Budni J, Steckert AV, de Oliveira MB, Heylmann AS, da Rosa Silveira F, Mastella GA, Maravai SG, Wessler PG, Binatti AR, Panizzutti B, Schuck PF, Quevedo J, Gama CS. Omega-3 prevents behavior response and brain oxidative damage in the ketamine model of schizophrenia. *Neuroscience.* 2014;14;259: 223-31.

Zugno AI, Canever L, Heylmann AS, Wessler PG, Steckert A, Mastella GA, de Oliveira MB, Damázio LS, Pacheco FD, Calixto OP, Pereira FP, Macan TP, Pedro TH, Schuck PF, Quevedo J, Budni J. Effect of folic acid on oxidative stress and behavioral changes in the animal model of schizophrenia induced by ketamine. *J Psychiatr Res.* 2016; 81:23-35.

Zugno AI, Oliveira MB, Mastella GA, Heylmann ASA, Canever L, Pacheco FD, Damazio LS, Citadin SA, de Lucca LA, Simões LR, Malgarin F, Budni J, Barichello T, Schuck PF, Quevedo J. Increased risk of developing schizophrenia in animals exposed to cigarette smoke during the gestational period. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2017;3;75: 199-206.



Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Efeito da suplementação de ácido ascórbico em um modelo animal de esquizofrenia induzido por cetamina**", registrada com o protocolo nº **037/2017-1 (Adendo do protocolo 058/2016-2)**, sob a responsabilidade de **Alexandra Ioppi Zugno**, junto à equipe: Louyse Sulzbach Damázio, Alice Nagel Darós, Ângelo Diego Supp, Amanda Godói, Lara Canever, Isadora Fachim, Sarah Gomes, Laura Marcon Bischoff, Alex Victor Souza Bialecki - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **04/04/2017**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	05/04/2017 a 02/10/2017
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico Wistar
Nº de animais	96
Idade/Peso	60 dias / 250-300g
Gênero	Masculino
Origem	Biotério UNESC

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the following Project:

Project title: "**Effect of supplementation of ascorbic acid in animal model of schizophrenia induced ketamine**"


Protocol number: **037/2017-1 (Adendo do protocolo 058/2016-2)**

Principal Investigator: **Alexandra Ioppi Zugno**

Researchers: **Louyse Sulzbach Damázio, Alice Nagel Darós, Ângelo Diego Supp, Amanda Godói, Lara Canever, Isadora Fachim, Sarah Gomes, Laura Marcon Bischoff, Alex Victor Souza Bialecki.**

The project was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on www.unesc.net/propex/ceua or by e-mail: ceua@unesc.net.

Criciúma, 04 de abril de 2017.


Jairo José Zocche
Coordenador da CEUA