



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

**EFEITOS DAS VITAMINAS "E" E "C" NA SUPERSENSIBILIDADE
DOPAMINÉRGICA INDUZIDA PELO HALOPERIDOL:
ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E ENZIMÁTICOS**

VIVIANE KEPPEL

FLORIANÓPOLIS

2002

Viviane Kepper

**EFEITOS DAS VITAMINAS "E" E "C" NA SUPERSENSIBILIDADE
DOPAMINÉRGICA INDUZIDA PELO HALOPERIDOL:
ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E ENZIMÁTICOS**

**Dissertação apresentada ao curso de
Pós-Graduação em Farmacologia do
Centro de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Santa Catarina
como requisito para obtenção do título
de Mestre em Farmacologia.**

Orientadora: Doutora Maria Aparecida Barbato Frazão Vital

Florianópolis, 2002

**“EFEITOS DAS VITAMINAS E e C NA SUPERSENSIBILIDADE
DOPAMINÉRGICA INDUZIDA PELO HALOPERIDOL:
ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E ENZIMÁTICOS”**

POR

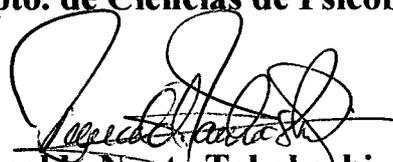
VIVIANE KEPPER

**Dissertação julgada e aprovada em sua
forma final, pela Orientadora e membros
da Banca Examinadora *ad hoc*, composta
pelos Professores Doutores:**


Maria Aparecida B. Frazão Vital
Orientadora – PGFMC – UFSC

Roberto Andreatini
Depto. de Farmacologia – UFPR

Sérgio Tufik
Depto. de Ciências de Psicobiologia – UNIFESP


Reinaldo Naoto Takahashi
PGFMC – UFSC
Membro Titular e Coordenador

Florianópolis, 27 de fevereiro de 2002.

*À Amiga e Professora Doutora Maria Aparecida
Barbato Frazão Vital, pela valorosa orientação e
pelo exemplo de competência e dedicação.
Obrigada por ter estado sempre presente, e
acima de tudo, agradeço por doar seu coração.
Foi este verdadeiro sentimento que me fez
seguir e lutar por esta conquista.*

À minha Super Mãe, Marta, pelo imenso amor, constante apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao meu Pai "Gordo", pelo amor, confiança e apoio sempre presentes.

Aos meus Queridos Irmãos, Roberta e Marcos, pelo incentivo, carinho e amizade constantes.

Ao meu Amor Marcelinho, que tranquilizou minha alma através da sua existência.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores e ao Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade concedida na realização do presente trabalho.

Ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Aos Professores e ao Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Paraná pelo apoio oferecido à este trabalho.

Aos Professores Doutores Roberto Frussa Filho e Rosana de Alencar Ribeiro do Departamento de Farmacologia da UNIFESP (EPM), pela colaboração nas dosagens enzimáticas.

À Colega (Doutoranda) Vanessa Abilio, do Departamento de Farmacologia da UNIFESP (EPM), pela constante dedicação na realização das dosagens enzimáticas.

Aos Amigos do curso de Pós-Graduação do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina pela convivência e amizade.

À (Doutoranda) Fabiane Veiga, pela amizade e companhia de intermináveis horas de viagem.

Aos Funcionários do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal do Paraná, em especial à Lindacir Rocio do Nascimento, que quando solicitado, sempre esteve presente.

Aos Funcionários do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Ao Boticário do Brasil pela doação da vitamina E.

À Hoffmann – La Roche LTD, pela doação das vitaminas E e C.

Ao Colégio e Curso Posiville pela compreensão da minha ausência em determinados momentos.

Ao Amigo Professor Doutor João Bosco Pesquero, pelo estímulo e amizade preciosa.

Ao Professor e Amigo Hamilton B. Júnior pelo “pontapé” inicial.

À amiga Léia Rachel Castellar, pela responsável e eficiente editoração desta dissertação.

A tantos “ratinhos”, que estiveram sempre presentes nesta minha conquista.

A todos, que de certa forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Em especial:

Ao Amigo Professor Doutor Reinaldo Takahashi, pelo incansável apoio, confiança e oportunidade em realizar este trabalho.

À grande Amiga Doutora Daniela Cabrini, pelo exemplo de dedicação e amor à ciência. Obrigada, pois sem o seu “empurrão”, não conquistaria este trabalho.

À Mestranda Juliana C. Perry, que além de amiga, agradeço pelo estímulo e constante auxílio nos experimentos comportamentais.

Ao grande Amigo “Michelzinho”, que com seu olhar maravilhoso, iluminou o meu caminho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 DOPAMINA E RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS.....	2
1.2 GÂNGLIOS DA BASE E VIAS DOPAMINÉRGICAS.....	3
1.3 HALOPERIDOL E DISCINESIA TARDIA (DT).....	4
1.4 SUPERSENSIBILIDADE DOPAMINÉRGICA.....	6
1.5 ESTRESSE OXIDATIVO E NEUROTOXICIDADE.....	7
1.6 SISTEMAS DE DEFESAS ANTIOXIDANTES.....	9
1.6.1 Glutaciona Total (GSH).....	10
1.6.2 Enzimas Antioxidantes.....	10
1.6.2.1 Glutaciona Peroxidase (GSH-Px).....	10
1.6.2.2 Superóxido Dismutase (SOD).....	10
1.6.2.3 Catalase.....	11
1.6.3 Vitamina E.....	11
1.6.4 Vitamina C.....	14
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 ANIMAIS.....	20
3.2 DROGAS.....	20
3.3 OBSERVAÇÕES COMPORTAMENTAIS.....	20
3.3.1 Medida da Atividade Geral dos Animais (ATG).....	20
3.3.1.1 Análise Estatística.....	21
3.3.2 Medida do Comportamento Estereotipado (CE) Induzido por Apomorfina.....	22
3.3.2.1 Análise Estatística.....	22
3.3.3 Observação dos Movimentos Periorais Induzidos pelo Haloperidol.....	23

3.3.3.1	Análise Estatística.....	23
3.4	AVALIAÇÃO DOS AGENTES ANTIOXIDANTES.....	24
3.4.1	Preparo das Amostras	24
3.4.2	Avaliação de Defesas e Enzimas Antioxidantes.....	24
3.4.2.1	Avaliação da Razão GSSG/GSH.....	25
3.4.2.2	Determinação da Catalase (CAT).....	25
3.4.2.3	Avaliação da Glutathiona Peroxidase (GSH-Px).....	26
3.4.2.4	Dosagem da Superóxido Dismutase (SOD).....	26
3.4.2.5	Dosagem de Proteínas	27
3.4.2.6	Análise Estatística.....	27
4	RESULTADOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	28
4.1	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Boticário) NA ATIVIDADE GERAL (ATG) DE RATOS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL.....	29
4.2	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO PROLONGADA E CONCOMITANTE DE HALOPERIDOL E VITAMINA E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Boticário) NA ATIVIDADE GERAL (ATG) E NO COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO (CE) DE RATOS	34
4.2.1	Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E na ATG dos Animais	34
4.2.2	Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E no Comportamento Estereotipado (CE) Induzido por Apomorfina	45
4.3	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Roche) NA ATIVIDADE GERAL (ATG) DE RATOS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL.....	47
4.4	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO PROLONGADA E CONCOMITANTE DE HALOPERIDOL E VITAMINA E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Roche) NA ATIVIDADE GERAL (ATG) E NO COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO (CE) DE RATOS	52
4.4.1	Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E na ATG dos Animais.....	52

4.4.2	Efeitos do Tratamento Prolongado e Concomitantemente de Haloperidol e Vitamina E na Avaliação de Comportamento Estereotipado (CE) Induzido por Apomorfina.....	63
4.5	EFEITOS DA VITAMINA E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Roche) NAS FREQUÊNCIAS DE PROTRUSÃO DE LÍNGUA (PL) E DE "VACUOUS CHEWING MOVEMENTS" (VCM) DE RATOS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL.....	65
4.6	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA C (Ácido Ascórbico, Roche) E VITAMINA E (d-l- α -Tocoferol, Roche) NA ATIVIDADE GERAL (ATG) DE RATOS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL.....	68
4.7	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO PROLONGADA E CONCOMITANTE DE HALOPERIDOL, VITAMINA C (Ácido Ascórbico, Roche) E VITAMINA E (d-l- α -Tocoferol, Roche) NA ATG E NO CE DE RATOS.....	74
4.7.1	Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol, Vitamina C e Vitamina E na ATG dos Animais.....	74
4.7.2	Efeitos do Tratamento Prolongado e Concomitantemente de Haloperidol, Vitamina C e Vitamina E na Avaliação de Comportamento Estereotipado (CE) Induzido por Apomorfina.....	85
4.8	EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO PROLONGADA E CONCOMITANTE DE HALOPERIDOL E VITAMINA E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Roche) NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES.....	88
4.8.1	Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E na Determinação de GSSG, GSH e na Avaliação da Razão GSSG/GSH.....	88
4.8.2	Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E na Determinação da Glutathione Peroxidase (GSH-Px), da Superóxido Dismutase (SOD) e da Catalase (CAT).....	93
5	DISCUSSÃO.....	97
6	CONCLUSÕES.....	113
7	REFERÊNCIAS.....	116

LISTA DE TABELAS

1	ESCALA DE ESCORES PROPOSTA POR SETLER et al. (1976) PARA QUANTIFICAR O COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO (CE).....	23
2	FREQÜÊNCIA DE LOCOMOÇÃO DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	30
3	FREQÜÊNCIA DE LEVANTAR DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	31
4	DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	32
5	DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	33
6	FREQÜÊNCIA DE LOCOMOÇÃO EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	38
7	FREQÜÊNCIA DE LEVANTAR EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	40
8	DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	42
9	DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	44
10	COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO DE RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	46

11	FREQÜÊNCIA DE LOCOMOÇÃO DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	48
12	FREQÜÊNCIA DE LEVANTAR DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	49
13	DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	50
14	DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E Vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	51
15	FREQÜÊNCIA DE LOCOMOÇÃO EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	56
16	FREQÜÊNCIA DE LEVANTAR EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	58
17	DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	60
18	DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	62
19	COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO DE RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	64
20	EFEITOS DA VITAMINA E (500 mg/kg) NAS FREQÜÊNCIAS DE PROTRUSÃO DE LÍNGUA EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg).....	66
21	EFEITOS DA VITAMINA E (500 mg/kg) NAS FREQÜÊNCIAS DE "VACUOUS CHEWING MOVEMENTS" EM RATOS TRATADOS	

	PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg).....	67
22	FREQÜÊNCIA DE LOCOMOÇÃO DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.), VITAMINA C (50 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	70
23	FREQÜÊNCIA DE LEVANTAR DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.), VITAMINA C (50 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	71
24	DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.), VITAMINA C (50 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	72
25	DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.), VITAMINA C (50 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.).....	73
26	FREQÜÊNCIA DE LOCOMOÇÃO EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA C (50 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	78
27	FREQÜÊNCIA DE LEVANTAR EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA C (50 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	80
28	DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA C (50 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	82
29	DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA C (50 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg).....	84
30	COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO DE RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA E (500 mg/kg) E VITAMINA C (50 mg/kg).....	87

31	AVALIAÇÃO DA GLUTATIONA TOTAL (GSH) NO ESTRIADO DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.)	90
32	DETERMINAÇÃO DA GLUTATIONA OXIDADA (GSSG) NO ESTRIADO DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.)	91
33	DETERMINAÇÃO DA RAZÃO GSSG/GSH NO ESTRIADO DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.)	92
34	AVALIAÇÃO DA GLUTATIONA PEROXIDASE (GSH-PX) NO CÓRTEX DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.)	94
35	AVALIAÇÃO DA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) NO CÓRTEX DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.)	95
36	DETERMINAÇÃO DA CATALASE (CAT) NO CÓRTEX DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.)	96

LISTA DE FIGURAS

1	Freqüência de locomoção de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	30
2	Freqüência de levantar de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	31
3	Duração de imobilidade (segundos) em animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	32
4	Duração de limpeza (segundos) em animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	33
5	Freqüência de locomoção em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	37
6	Freqüência de levantar em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	39
7	Duração de imobilidade (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	41
8	Duração de limpeza (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	43
9	Comportamento estereotipado de ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	46
10	Freqüência de locomoção de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	48
11	Freqüência de levantar de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	49
12	Duração de imobilidade (segundos) em animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	50
13	Duração de limpeza (segundos) em animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	51
14	Freqüência de locomoção em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	55

15	Frequência de levantar em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	57
16	Duração de imobilidade (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	59
17	Duração de limpeza (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	61
18	Comportamento estereotipado de ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg).....	64
19	Efeitos da vitamina E (500 mg/kg) nas frequências de protrusão de língua em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg).....	66
20	Efeitos da vitamina E (500 mg/kg) nas frequências de “vacuous chewing movements” em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg).....	67
21	Frequência de locomoção de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.), vitamina C (50 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	70
22	Frequência de levantar de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.), vitamina C (50 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	71
23	Duração de imobilidade (segundos) de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.), vitamina C (50 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	72
24	Duração de limpeza (segundos) de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.), vitamina C (50 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	73
25	Frequência de locomoção em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina E (500 mg/kg) e vitamina C (50 mg/kg).....	77
26	Frequência de levantar em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina C (50 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg)....	79

27	Duração de imobilidade (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina C (50 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg)	81
28	Duração de limpeza (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina C (50 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg)	83
29	Comportamento estereotipado de ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina E (500 mg/kg) e vitamina C (50 mg/kg)	87
30	Avaliação da glutatona total (GSH) no estriado de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	90
31	Determinação da glutatona oxidada (GSSG) no estriado de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	91
32	Determinação da razão GSSG/GSH no estriado de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	92
33	Avaliação da glutatona peroxidase (GSH-Px) no córtex de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	94
34	Avaliação da superóxido dismutase (SOD) no córtex de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	95
35	Determinação da catalase (CAT) no córtex de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.).....	96

RESUMO

O presente trabalho buscou investigar a hipótese da neurotoxicidade na etiologia da discinesia tardia, através da observação dos efeitos das vitaminas E e C na supersensibilidade de receptores dopaminérgicos centrais, induzida pela administração prolongada de haloperidol

A administração aguda de vitamina E (Boticário e Roche) não interferiu nos efeitos agudos do haloperidol, observados através do registro de parâmetros (frequências de locomoção e levantar, duração de imobilidade e limpeza) da atividade geral (ATG) de ratos em um campo aberto.

A administração prolongada da vitamina E (Boticário) concomitantemente ao haloperidol aumentou a frequência de levantar de ratos em relação aos animais que receberam salina. Em adição, observou-se ainda que o comportamento estereotipado (CE) induzido por apomorfina não foi alterado após tratamento prolongado com este antioxidante. Por outro lado, a administração prolongada e concomitante de haloperidol e vitamina E (Roche) resultou em uma atenuação da supersensibilidade de receptores dopaminérgicos, expressa através da diminuição da locomoção e do levantar de ratos. Porém, esta vitamina não alterou o CE induzido por apomorfina e não modificou as frequências de protrusão de língua (PL) e de "movements vacuous chewing"(VCM) nestes animais.

O tratamento agudo com haloperidol, concomitantemente à vitamina C e vitamina E mostrou que o sinergismo destas vitaminas potencializou o efeito do neuroléptico, observado através do aumento da duração de imobilidade de ratos em comparação aos animais que receberam o neuroléptico.

Por outro lado, o tratamento prolongado com haloperidol, concomitantemente às vitaminas C e E, mostrou uma atenuação da supersensibilidade de receptores dopaminérgicos, expressa, pela diminuição do levantar de ratos neste modelo experimental às 48 horas. Entretanto, estas vitaminas não alteraram o CE de ratos induzidos por apomorfina.

A administração prolongada e concomitante de vitamina E (Roche) e haloperidol aumentou significativamente a atividade da glutathione total (GSH) no estriado dos animais do grupo salina (Sal) + vitamina E (E) em comparação aos animais dos grupos haloperidol (Halo) + E e sal + veículo (Veíc.) Mais ainda, o tratamento prolongado com essa vitamina reduziu significativamente a glutathione oxidada (GSSG) estriatal dos animais do grupo Halo + E em comparação aqueles do grupo Sal + E. Porém, a administração da vitamina E não mostrou efeito significativo sobre a razão GSSG/GSH neste tecido, nem sobre a atividade das enzimas corticais glutathione peroxidase (GSH-PX), da superóxido dismutase (SOD) e da catalase (CAT).

Deste modo, nossos resultados nos levam a sugerir que a hipótese da degeneração neuronal possa estar envolvida com a etiologia da discinesia tardia.

ABSTRACT

The present study was performed to investigate the neurotoxicity hypothesis in the etiology of tardive dyskinesia (TD) through the administration of α -tocopherol and ascorbic acid in the dopaminergic supersensitivity receptors induced by long-term haloperidol administration.

The acute injection of the α -tocopherol did not change the haloperidol effects observed in an open-field (locomotion and rearing frequencies, immobility time and grooming).

The long-term neuroleptic treatment concomitantly to α -tocopherol from Boticario, increased the rearing frequency in comparison to saline prolonged treated animals. In addition, it was observed that the stereotyped behavior induced by apomorphine was not modified after the treatment with this antioxidant in supersensitive rats. By the other hand, the long-term haloperidol treated rats that received α -tocopherol from Roche, exhibited a significant decrease in the locomotion and rearing frequencies in the open-field test. However, this vitamin did not change the stereotyped behavior induced by apomorphine. Thus, neither the α -tocopherol nor the haloperidol changed the tongue protrusion and the vacuous chewing movements in these rats.

The acute and simultaneous treatment with haloperidol plus the association of α -tocopherol and ascorbic acid showed that these vitamins increased the immobility time in haloperidol group when it was compared to saline treated rats.

When these two antioxidants were long term injected concomitantly to haloperidol, this association indicated a reduction in the rearing frequency of the animals of this group in comparison to control group. Moreover, this association did not change the stereotyped behavior induced by apomorphine in these rats.

Finally, we evaluated the effects of the α -tocopherol and haloperidol administered concomitantly and in long-term treatment on antioxidants enzymes of the rats. The data show that the treatment produced a significant increase in striatal glutathione levels to control group and α -tocopherol in relation to control group and to group that received haloperidol and α -tocopherol. Thus, the antioxidant did not change the glutathione peroxidase, superoxide dismutase or catalase.

Taken together these data indicate that the neurotoxicity hypothesis may be involved in the etiology of TD.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Dopamina e Receptores Dopaminérgicos

Durante muito tempo a dopamina (DA) era vista apenas como uma simples molécula precursora das catecolaminas, e em meados da década de 60, passou a apresentar também um papel relevante como neurotransmissor no sistema nervoso central (SNC). A dopamina é a catecolamina mais abundante no cérebro de mamíferos e sua ação periférica ocorre principalmente no sistema nervoso autônomo, onde os neurônios dopaminérgicos são encontrados no trato gastro intestinal. Suas principais funções fisiológicas, como motora e psíquica, vêm sendo amplamente estudadas, estando também envolvida com a função endócrina, onde apresenta uma função inibitória sobre a liberação de prolactina (ARNT, 1987; CARLSSON, 1988; CIVELLI et al., 1991).

A síntese da DA ocorre a partir da tirosina, um aminoácido aromático presente nos líquidos corporais. Este aminoácido é captado por neurônios catecolaminérgicos, onde será convertido para 3,4 dihidroxifenilalanina (DOPA) através da enzima tirosina-hidroxilase. A etapa seguinte consiste na conversão da DOPA em DA pela DOPA-descarboxilase, uma enzima abundante em diversos tecidos.

A degradação metabólica da DA ocorre através de duas enzimas, a monoamina-oxidase (MAO) principalmente encontrada nas membranas das mitocôndrias de células neuronais e a catecol-O-metiltransferase (COMT), amplamente distribuída no organismo. Os principais produtos dessa degradação são o ácido 3,4 dihidroxifenilacético (DOPAC) e o ácido homovanílico (HVA) que são excretados pela urina.

A DA tem sido correlacionada a diversas patologias de ordem psíquica e motora (MILLS, 1992), como a esquizofrenia. Esta hipótese é devida à maioria das drogas antipsicóticas ou neurolépticas atuarem em receptores dopaminérgicos, antagonizando-os. Além disso, sabe-se que drogas que causam liberação de dopamina, como a cocaína e anfetamina em altas doses, produzem estados mentais similares aos encontrados na esquizofrenia (RANDRUP & MUNKVAD, 1965; WYATT et al., 1989; WITHERS et al., 1995; WYATT et al., 1998).

A esquizofrenia foi caracterizada no fim do século passado pelo psiquiatra alemão E. KRAEPELIN, o qual denominou-a de demência precoce, uma vez que, em geral, se manifesta no início da juventude, com progressiva deterioração da capacidade mental. Esta hipótese sugere que os sintomas da esquizofrenia sejam em parte devidos a uma hiperatividade dos sistemas dopaminérgicos no SNC; e que, devido ao bloqueio desses receptores por drogas antipsicóticas, o número de receptores D₂ estaria aumentado em algumas regiões cerebrais (BURT et al., 1977; ANDREASEN, 1988; SAKAI et al., 2001). Porém, este aumento no número de receptores é questionável, podendo ser decorrente da própria progressão da doença.

Em 1979, KEBABIAN & CALNE classificaram os receptores de dopamina em dois grupos: D₁ e D₂, os quais apresentam a capacidade de estimular ou inibir respectivamente a adenil-ciclase. Estudos de biologia molecular dividiram esses receptores em subtipos, onde a família de D₁ inclui os subtipos D₁ e D₅, enquanto a família de D₂ foi dividida em D₂, D₃ e D₄ (CIVELLI et al., 1991). Vale ressaltar que todos pertencem a família de receptores acoplados à proteína G. Os receptores dopaminérgicos podem ainda ser diferenciados através da capacidade de permitir ou não a ligação de agonistas e antagonistas seletivos. Em geral estão amplamente distribuídos no SNC, onde exercem algumas funções, como a modulação de efeitos cognitivos, sensorimotores e neuroendócrinos.

1.2 Gânglios da Base e Vias Dopaminérgicas

O termo gânglios da base foi introduzido em 1879, porém apenas se referia ao putâmen e ao globo pálido. Somente na década de 1960, os gânglios da base foram melhor compreendidos, tanto morfológica como fisiologicamente. Nesta época ficou clara a importância dessas estruturas em muitos aspectos das funções cognitivas e motoras. Lesões nesses núcleos ou mesmo uma modificação do funcionamento podem ocasionar diversos distúrbios, os quais foram designados por Wilson em 1912, de distúrbios extrapiramidais.

Compreende cinco núcleos subcorticais: o *núcleo caudado* e o *putâmen*, que são denominados de *estriado*, derivados do telencéfalo; o *globo pálido*, dividido em externo (GPe) e interno (GPi), ambos derivam do diencéfalo; o *núcleo subtalâmico*, localizado na área de transição entre o diencéfalo e o tegmento do mesencéfalo; e a *substância negra*, localizada no mesencéfalo e dividida em parte compacta (SNc) e reticulada (SNr) (CÔTE & CRUTCHER, 1991; BASSITT & NETO, 1999).

Dentre os diversos neurotransmissores cerebrais, a DA exerce suas principais funções nos gânglios da base, pois 80% da DA do SNC, encontra-se localizada nessas estruturas.

As principais vias dopaminérgicas são: a via *nigroestriatal*, que é formada por neurônios, cujos corpos celulares se encontram na substância negra (grupo celular A9) e projetam-se ao estriado. É responsável por aproximadamente 75% da DA do SNC, e pode estar envolvida com os efeitos extrapiramidais dos neurolépticos, entre eles a discinesia tardia (DT); a via *mesolímbica*, na qual os corpos celulares situam-se principalmente na área do tegmento ventral mesencefálico (grupo celular A10) e cujos axônios projetam-se para estruturas límbicas, especialmente ao núcleo accumbens; a via *mesocortical*, que, do ponto de vista anatômico (GRAEFF, 1999), é de difícil distinção entre a via mesolímbica, onde os corpos celulares também situam-se na área do tegmento ventral do mesencéfalo e ainda na substância negra, de onde projetam-se para áreas corticais e a via *tuberoinfundibular*, a qual é um sistema curto, que vai do núcleo arqueado do hipotálamo para a eminência média e também para a hipófise (GRAEFF, 1999).

1.3 Haloperidol e Discinesia Tardia (DT)

O haloperidol é um antipsicótico ou neuroléptico típico do grupo das butirofenonas, utilizado para tratar doenças psiquiátricas graves, entre elas, a esquizofrenia.

A absorção do haloperidol pelo trato gastrointestinal é rápida e em geral 85% encontra-se ligado à albumina do plasma. Sua meia vida é de 20 – 40 horas (GILMAN, 1996).

Sua ação, e de outros neurolépticos típicos, tem sido relacionada ao bloqueio de receptores dopaminérgicos. Entretanto, após sua administração, ocorre aumento da taxa de produção de DA e seus metabólitos (HVA e DOPAC) em áreas cerebrais. Este aumento pode ser explicado tanto por uma maior atividade da tirosina hidroxilase, como pelo aumento da taxa de disparos dos neurônios das áreas A9 e A10 (SEEMAN, 1987). Porém, o aumento da produção de DA, bem como a hiperatividade eletrofisiológica, não são mantidos quando os neurolépticos são administrados prolongadamente.

Em geral, os neurolépticos típicos bloqueiam receptores D₂ e a terapia eficaz resulta em um bloqueio de aproximadamente 80% dos receptores. Entretanto, estes medicamentos podem produzir distúrbios extrapiramidais como o parkinsonismo farmacológico, acatisia, distonia e discinesia tardia (MARSDEN & JENNER, 1980; KANE, 2001). Porém, diversos autores relatam movimentos discinéticos em pacientes esquizofrênicos sem o uso dos neurolépticos (CASEY & HANSEN, 1984; CHATTERJEE et al., 1995; GUPTA et al., 1995), movimentos que foram mais freqüentes em mulheres idosas (CASEY & HANSEN, 1984). KANE (2001), através de uma recente revisão, relata que estudos com antipsicóticos atípicos da nova geração estão associados à redução dos sintomas extrapiramidais e ao bloqueio de receptores 5HT₂ e D₄.

A discinesia tardia (DT) consiste em um sintoma extrapiramidal geralmente irreversível, associada normalmente ao uso prolongado de neurolépticos típicos, ocorrendo em aproximadamente 20% dos pacientes tratados com neurolépticos (BOOMERSHINE et al., 1999). Os movimentos discinéticos caracterizam-se por serem repetitivos, anormais e involuntários, principalmente envolvendo a face e a língua, mas também podem atingir o tronco e os membros (KANE, 1992; KULKARNI & NAIDU, 2001).

A primeira descrição dessa síndrome foi feita por SCHNOECKER em 1957 na Alemanha, enquanto o termo foi proposto por FAURBYE e colaboradores, em 1964, uma vez que a mesma era referida como “síndrome buco-linguo-mastigatória” (CASEY, 1987).

A base neuronal da DT ainda permanece desconhecida (NAIDU & KULKARNI, 2001). Entretanto, muitos fatores de risco e a vulnerabilidade individual são importantes variáveis no desenvolvimento desta síndrome (JORGENSEN et al., 1994). Estudos clínicos sugerem que sintomas extrapiramidais, como acatisia e parkinonismo possam estar associados com o aumento do risco em desenvolver posteriormente a DT.

Muitas hipóteses tem sido propostas para explicar a etiologia da DT. Entretanto, duas são de maior importância: a da supersensibilidade dopaminérgica (KLAWANS & RUBOVITZ, 1972; CASEY, 1995; SACHDEV et al., 1999) e a hipótese da degeneração neuronal devido aos efeitos neurotóxicos dos radicais livres (CADET et al., 1986; CADET & LOHR, 1989; YOKOYAMA et al., 1994; CASEY, 1995; GALILI et al., 2000; ANDREASSEN & JORGENSEN, 2000 & YAO et al., 2001).

1.4 Supersensibilidade Dopaminérgica

A hipótese da supersensibilidade dopaminérgica tem recebido atenção nas últimas duas décadas (SACHDEV et al., 1999) por apresentar importantes implicações clínicas, visto ser o seu desenvolvimento fisiologicamente similar à aquele da DT (KLAWANS, 1973; CASEY, 1995). O fenômeno geral da supersensibilidade é semelhante ao que ocorre na periferia e que foi denominado de supersensibilidade por desnervação (SHARPLESS, 1964, 1975). Baseia-se no fato de que a interrupção prolongada da transmissão nervosa, tanto no sistema nervoso autônomo (SNA) como no SNC, por meios cirúrgicos ou farmacológicos, resulta em um aumento da resposta desses sistemas, a administração do correspondente

neurotransmissor, dos precursores deste, ou de agonistas de receptores onde atua este neurotransmissor. Foi CANNON (1939) o primeiro cientista que denominou este fenômeno de supersensibilidade.

Alguns modelos animais da supersensibilidade em sistemas dopaminérgicos vêm sendo propostos. Neste sentido, BERNARDI & PALERMONETO, (1979) e BERNARDI et al. (1981) observaram um aumento da atividade geral de ratos após a retirada abrupta de haloperidol administrado prolongadamente. Outros modelos, como a indução do comportamento estereotipado, a partir de agonistas dopaminérgicos como a apomorfina (DE SOUZA et al., 1982) e a anfetamina (KLAWANS et al., 1983); o "vacuous chewing movements" (VCM - movimentos mandibulares) (FAHN, 1983) e o aumento da frequência de protrusão de língua induzido pela administração repetida de reserpina (NEISEWANDER et al., 1994), vem sendo amplamente utilizados para compreender a síndrome e/ou para avaliar tratamento para estes sintomas. Todavia, a hipótese da supersensibilidade para DT é questionável, ainda que SMITH (1988) sugere que a mesma possa ser uma consequência normal do tratamento com neurolépticos.

1.5 Estresse Oxidativo e Neurotoxicidade

O estresse oxidativo caracteriza-se pelo alto nível celular de espécies reativas ao oxigênio (ROS) ou radicais livres, os quais são considerados bioprodutos do metabolismo de catecolaminas. Alguns deles são o radical superóxido (O_2^-), o radical hidroxila (OH^\cdot) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A produção de oxidantes é um fenômeno celular constante como consequência da adaptação dos organismos em estados aeróbios, podendo provocar danos em estruturas intracelulares ou desintegrar células de vários tecidos, incluindo o SNC. Nesse sentido, várias desordens psiquiátricas, como a esquizofrenia, a síndrome de Down, a doença de Parkinson, Alzheimer, entre outras tem sido relacionadas à produção de oxidantes (BEHL, 1997; VATASSERY et al., 1999), pois o cérebro é particularmente sensível

aos danos oxidativos, devido às altas concentrações de ácidos graxos polinsaturados (BOLKENIUS et al., 1996).

FERREIRA & MATSUBARA (1997), em um artigo de revisão, descrevem as ROS, onde o radical superóxido (O_2^-) é formado após a primeira redução do oxigênio. Este radical existe em quase todas as células aeróbias e é produzido durante a ativação máxima de neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1990). O radical hidroxila (OH^-) é considerado o mais reativo nos sistemas biológicos, devido à sua rápida combinação com metais ou a outros radicais. Pode atuar inativando proteínas, o DNA celular, ou ainda iniciar a oxidação de ácidos graxos das membranas celulares, um fenômeno denominado peroxidação lipídica (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1986). Já o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que, apesar de não ser propriamente um radical livre, é um metabólito do oxigênio extremamente deletério, é capaz de atravessar camadas lipídicas e reagir com proteínas ligadas ao ferro, tornando-se altamente tóxico (EATON, 1991), podendo ainda agir em outras regiões, como no botão sináptico (EDELMAN & GALLY, 1992; ZOCCARATO et al., 1995).

Em circunstâncias normais as ROS são controladas por enzimas celulares como por exemplo a superóxido dismutase (SOD), a glutathiona peroxidase (GSH-Px) e a catalase (CAT) – YAO et al., 1998. Além destas, a glutathiona total (GSH) ou outras defesas antioxidantes como as vitaminas A, E e C, β -caroteno e flavonóides podem agir neste controle (MAHADIK et al., 2001).

Os gânglios da base, em virtude do alto metabolismo oxidativo, podem ser mais vulneráveis à peroxidação lipídica da membrana, como resultado do aumento do "turnover" de catecolaminas induzido por neurolépticos (CADET et al., 1986; LOHR et al., 1988; LOHR, 1991). Neste sentido, YOKOYAMA et al. (1997) comentam que o aumento do "turnover" de DA pode acelerar a formação de peróxido de hidrogênio. Deste modo, a peroxidação lipídica de membranas neuronais pelos radicais hidroxilas pode apresentar um papel importante na causa da DT (CADET et al., 1986; YOKOYAMA et al., 1994). Em adição, estudos *in vitro*

tem mostrado que os neurolépticos típicos inibem as funções mitocondriais, ficando mais susceptíveis à formação de radicais livres em áreas do sistema nervoso (BEAL et al., 1993; ARNAIZ et al., 1999).

É bastante conhecido o efeito citotóxico do haloperidol (BESRET et al., 2000) e evidências que apoiam esse fato incluem elevados níveis de peroxidação lipídica em ratos (MEISTER, 1991; SHIVAKUMAR & RAVINDRANATH, 1993; POST et al., 1998). Ainda haloperidol depleta GSH de várias regiões do cérebro de roedores (POST et al., 1998) e, além de induzir mudanças no potencial de membrana mitocondrial, e um aumento intracelular de cálcio em culturas de células corticais de ratos (SAGARA, 1998). Estudos nesses animais mostram que o haloperidol administrado subcronicamente diminuiu a expressão da tirosina hidroxilase em discretas áreas do sistema nervoso, ressaltando que a vulnerabilidade desta enzima torna a célula mais susceptível ao estresse oxidativo (BESRET et al., 2000). Mais ainda, estes autores observaram que o haloperidol aumenta os níveis de íon ferro no cérebro, o qual é considerado como o principal íon gerador de radicais livres da substância negra na doença de Parkinson (HIRSCH & FAUCHEUX, 1998).

1.6 Sistemas de Defesas Antioxidantes

É imprescindível aos sistemas biológicos aeróbios o equilíbrio entre os agentes oxidantes e o sistema de defesa antioxidante. Assim, FERREIRA & MATSUBARA (1997) citam que as células possuem duas linhas de defesa, uma que atua como detoxificadora do oxidante, antes que a lesão se instale, e a outra que atua reparando a lesão já formada. Deste modo, o GSH, as enzimas CAT, GSH-Px, a SOD, e a vitamina E compreendem as defesas anteriores à lesão, enquanto que, na lesão já instalada outros antioxidantes poderão ser eficazes, entre os quais pode-se citar a vitamina C, a glutathiona redutase (GSH-Rd), além da GSH-Px.

1.6.1 Glutathiona Total (GSH)

O GSH (L- γ -glutamil-L-cistenil-glicina) é um importante antioxidante não enzimático para detoxificar o H_2O_2 . Atua nesta detoxificação concomitantemente com a GSH-Px (SAGARA, 1998), e ainda, juntamente com essa mesma enzima, atenua a oxidação causada pelo ânion peroxinitrito ($ONOO^-$), um radical formado a partir do O_2^- combinado com o óxido nítrico (NO^-) (BRIVIBA et al., 1999).

É um importante sistema de defesa contra exposição a íons ferro, radiação e luz ultravioleta. Apresenta ainda, outros papéis, como participação na síntese de DNA e de proteínas (MEISTER, 1991).

1.6.2 Enzimas Antioxidantes

1.6.2.1 Glutathiona Peroxidase (GSH-Px)

Essa enzima é responsável por reduzir o H_2O_2 e também peróxidos orgânicos às custas da conversão da GSH para GSSG, a forma oxidante (YAO et al., 1998). Como anteriormente mencionado, a GSH-Px atua juntamente com o GSH na inativação do peroxinitrito (BRIVIBA et al., 1999).

1.6.2.2 Superóxido Dismutase (SOD)

A SOD consiste em uma enzima capaz de inativar o ânion superóxido (O_2^-), pela dismutação deste à H_2O_2 e O_2 (ROSS & MOLDEUS, 1991; YAO et al., 1998). É encontrada no citosol das células, bem como nas mitocôndrias destas. Muitos autores já verificaram aumento dos níveis desta enzima em plaquetas de pacientes esquizofrênicos (REDDY et al., 1991; MAHADIK & MUKHERJEE, 1996; REDDY & YAO, 1996; TSAI et al., 1998). Segundo esses mesmos autores, este aumento nos níveis de enzimas antioxidantes em pacientes esquizofrênicos sugere o aumento do estresse oxidativo e sua correlação com a esquizofrenia.

1.6.2.3 Catalase

A catalase é uma enzima citoplasmática que cataliza a redução do H_2O_2 a H_2O e oxigênio molecular (YAO et al., 1998). Sua atividade depende do NADPH e é freqüentemente encontrada no sangue, na medula óssea, no fígado e rim. Diversos autores, verificaram diminuição nos níveis de catalase em células sanguíneas de pacientes esquizofrênicos (REDDY et al., 1991; MAHADIK & MUKHERJEE, 1996; LOVEN et al., 1996; REDDY & YAO, 1996; TSAI et al., 1998).

1.6.3 Vitamina E

A vitamina E foi isolada por EVANS et al. (1936) a partir do óleo de germen de trigo. Atualmente são conhecidos oito (8) tocoferóis de ocorrência natural, dentre estes, o α -tocoferol (5,7,8-trimetil-tocol) é o que apresenta maior atividade biológica, representando cerca de 90 % dos tocoferóis em tecidos animais (BOURGEOIS, 1992).

A vitamina E caracteriza-se por ser lipossolúvel e ser absorvida a partir do trato gastrointestinal. Penetra na corrente sanguínea e passa a ser captada pelo fígado, de onde é secretada com lipoproteínas de baixa densidade. A seguir, se associa a β -lipoproteínas plasmáticas e se distribui para todos os tecidos, acumulando-se principalmente no fígado e no tecido adiposo (RUPÉREZ et al., 1998).

A vitamina E (α -tocoferol) pode incluir em sua estrutura química, o isômero *d*, ou os isômeros *d* e *l* em sua forma livre, na forma de acetato de α -tocoferol ou na forma de succinato de α -tocoferil. A principal característica química dos tocoferóis é atuarem como antioxidantes e, quando a vitamina E é oxidada, pode ser regenerada por outros antioxidantes, como o ácido ascórbico (PACKER et al., 1979; MAXWELL, 1995).

Essa vitamina é o mais importante antioxidante lipídico que atua na manutenção da estrutura e do funcionamento do SNC (SOKOL, 1989). Atua pela presença do grupo fenol, o qual libera prótons para detoxificar as ROS e/ou também os radicais lipídicos (HALIWELL & GUTTERIDGE, 1989), atua ainda em membranas

celulares onde previne a propagação das ROS (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; HERRERA & BARBAS, 2001).

Alguns trabalhos citam a capacidade da vitamina E em proteger células neuronais contra a ação tóxica do haloperidol (MEISTER, 1991; BEHL et al., 1995; POST et al., 1998; BEHL, 1999; GALILI et al., 2000). Isso deve-se ao fato do haloperidol interagir facilmente com as membranas celulares e por interromper e alterar o estado redox (HALIWELL & GUTTERIDGE, 1989; SAGARA, 1998).

Revisões recentes de SOARES & McGRATH (1999, 2001); de BOOMERSHINE et al. (1999) e de VATASSERY et al. (2000) citam diversos trabalhos que destacam a importância da vitamina E no tratamento da DT.

Nos últimos 14 anos, muitos trabalhos verificaram os efeitos da vitamina E em pacientes que apresentavam DT com resultados promissores. Entre eles, LOHR et al. (1988) estudaram os efeitos dessa vitamina na dose de 1200 IU/dia em 15 pacientes por 4 semanas e observaram uma redução de 43% dos movimentos involuntários anormais (AIMS), relatando ainda que a redução desses movimentos é maior nos pacientes que apresentavam DT há pouco tempo. Mais ainda, no estudo de ELKASHEF et al. (1990), 5 dos 8 pacientes avaliados, (idade entre 18 e 75 anos, tratados por 10 semanas, com dose diária de 400 IU de vitamina E), apresentaram uma redução de 30% dos AIMS. De modo similar, EGAN et al. (1992) trataram 18 pacientes com DT por 6 semanas (doses entre 400 – 1600 IU/dia) e verificaram redução de 18,5% dos AIMS nos pacientes com DT há 5 anos ou menos. Nesta linha, SPIVAK et al. (1992) trataram 7 pacientes com DT (3 meses a 4 anos) com 600 IU/dia de vitamina E durante 4 semanas. Dos 7 pacientes estudados, 4 apresentaram 50% de redução dos AIMS. Mais ainda, JUNKER et al. (1992) descreveram que a vitamina E (1200 IU/dia) mostrou atenuar a pontuação da AIMS nos pacientes mais velhos (acima dos 40 anos). Em adição, AKTHAR et al. (1993) estudaram o efeito desta vitamina na dose de 1200 IU/dia em 32 pacientes por 4 semanas e relataram uma melhora significativa da pontuação da AIMS. ADLER et al. (1993) trataram 28 pacientes por 8 semanas com 1600 IU/dia da vitamina E e

verificaram uma redução de 30% dos AIMS. Esses mesmos autores citam ainda que a melhor resposta ao tratamento ocorreu nos pacientes que apresentavam a DT há 5 anos ou menos. Nesta linha de raciocínio, PEET et al. (1993), também observaram uma melhora dos AIMS em 43% dos 14 pacientes tratados com 1200 IU/dia do antioxidante. DABIRI et al. (1994), em um estudo de 12 semanas, trataram 11 pacientes entre 30 – 70 anos, com vitamina E nas doses de 400 – 1200 IU/dia e observaram uma redução de 36% dos AIMS e, em contraste com outros estudos, verificaram que 4 dos 5 pacientes com DT há 5 anos ou mais apresentaram melhoras dos AIMS. Finalmente, LORH et al. (1996) observaram que a vitamina E (1600 I.U./dia) administrada por 2 meses, reduziu 35% dos AIMS em pacientes portadores de DT há cinco anos ou menos e 11% em pacientes com DT há mais de cinco anos.

Por outro lado, SCHMIDT et al. (1991) trataram 23 pacientes por 28 dias na dose de vitamina E de 1200 IU/dia e não notaram diferenças entre os grupos placebo e tratado com a vitamina E. No estudo de SHRIQUI et al. (1992), 27 pacientes com idade entre 18 – 70 anos, foram tratados com este antioxidante na dose de 400 IU (3 vezes ao dia) por um período de 6 semanas. Esse estudo mostrou que nesse esquema e nessa dose, a vitamina E não apresentou efeitos em pacientes portadores de DT, os quais eram sintomáticos há mais de 10 anos. Em adição, LAM et al. (1994) verificaram em um estudo com 16 pacientes, os quais receberam 1200 IU/dia de vitamina E, ausência de efeitos nos AIMS. Finalmente, DOREVITCH et al. (1997), trataram, 36 pacientes esquizofrênicos idosos (média de 64,4 anos), durante 20 semanas com vitamina E (400 – 1600 IU/dia), e não encontraram diferenças em comparação ao grupo controle.

Ainda, sobre o aspecto da vitamina E estar implicada com a etiologia da DT, GATTAZ et al. (1993) corroboram a afirmação de que esta vitamina pode ser útil nessa síndrome, pois demonstraram que a mesma, administrada na ração de ratos (400 mg/kg/dia) por 7 semanas, atenuou o comportamento estereotipado de ratos tratados prolongadamente com haloperidol. Recentemente, entretanto, SACHDEV et al. (1999)

trataram 36 ratos com vitamina E na ração, em 3 diferentes doses (1, 40 e 600 mg/kg). Estes pesquisadores verificaram que essa vitamina não atenuou, em nenhuma dose, os movimentos periorais (VCM, PL e tremor) induzidos por neurolépticos.

Portanto, em resumo, dos 16 estudos citados (14 em pacientes e 2 em ratos), 11 reportam os efeitos benéficos da vitamina E na DT. Porém a eficácia dessa vitamina ainda permanece incerta. E por esta razão, o presente trabalho, tem por objetivo verificar os efeitos comportamentais e também bioquímicos dessa vitamina na supersensibilidade dopaminérgica.

1.6.4 Vitamina C

A história da vitamina C iniciou-se já no tempo das Cruzadas através da doença causada pela sua deficiência, conhecida por escorbuto. Porém, só em 1928, SZENT-GYORGYI isolou um composto redutor na forma pura do repolho e denominou-o de ácido hexurônico, por ser uma molécula com seis (6) carbonos. Este ácido provém de muitas frutas frescas e vegetais, os quais poderiam melhorar o escorbuto. Devido a essa propriedade, passou a ser denominado de ácido ascórbico (GILMAN, 1996).

O termo vitamina C deve ser utilizado para todos os compostos que exibem atividade biológica qualitativa do ácido ascórbico. Ele é oxidado reversivelmente no organismo a ácido desidroascórbico, o qual possui atividade integral da vitamina C. A atividade deve-se quase que totalmente ao isômero / presente. Uma propriedade química fundamental do ácido ascórbico é a doação de elétrons, participando como cofator de diversas reações de hidroxilação e amidação (REBEC & PIERCE, 1994).

A maioria dos animais sintetizam esse ácido a partir da glicose através de uma série de enzimas hepáticas, porém os mamíferos não apresentam tal capacidade e, conseqüentemente, necessitam da vitamina C na dieta. Essa vitamina caracteriza-se por ser hidrossolúvel e rapidamente absorvida pelo intestino. Encontra-se presente no plasma e distribui-se ao organismo. O cérebro e o córtex da adrenal

são as regiões do organismo em que a concentração da vitamina C é maior (REBEC & PIERCE, 1994).

O ácido ascórbico é geralmente administrado por via oral e a quantidade necessária para se manter no plasma é igual à quantidade excretada. Isto equivale a aproximadamente a ingestão de 60 mg ao dia de vitamina C para um homem adulto.

Recentemente tem se mostrado que o ácido ascórbico atua como neuromodulador extracelular do SNC (LIU et al., 2000), e que os níveis dessa vitamina endógena (maioria dos animais) são aumentados no estriado através da administração da própria vitamina ou pela administração do haloperidol (PIERCE et al., 1994).

Em 1999, SMYTHIES relata em sua revisão que o ascorbato, a glutatona e a vitamina E são os principais antioxidantes do cérebro. Mais ainda, o autor menciona que a vitamina C é o principal antioxidante na inativação de H_2O_2 e ROS dos fluidos extracelulares no cérebro, incluindo os botões sinápticos das células. Este fato também é descrito por EDELMAN & GALLY (1992) e por ZOCCARATO et al. (1995).

O ácido ascórbico vem sendo indicado para o tratamento da esquizofrenia e de outras desordens mentais (STRAW et al., 1989; SANDYK & KANOFISKY, 1993; REBEC & PIERCE, 1994), devido a possibilidade dessas desordens estarem envolvidas com a formação de radicais livres. Assim, HERJANIC (1973) relatou que pacientes esquizofrênicos apresentam baixo nível plasmático de ascorbato. Deste modo, SUBOTICANEC et al. (1990) sugerem uma dose diária de 70 mg de vitamina C pois observou-se que o ácido ascórbico em altas doses associado ao haloperidol potencializou a ação desse neuroléptico na indução da catalepsia e no bloqueio do comportamento estereotipado com anfetamina ou com apomorfina (REBEC et al., 1985; DORRIS & DILL 1986; WHITE et al., 1990; PIERCE et al., 1991; GULLEY & REBEC, 1999). Em contraste a estes estudos, empregando altas doses de vitamina C, a administração de baixas doses (50 – 200 mg/kg) tende a aumentar a atividade motora induzida por anfetamina (WAMBEBE & SOKOMBA, 1986; PIERCE et al., 1995).

ANGELIS (1995) relata em seu trabalho que a vitamina C (administrada 45 minutos antes do teste, na dose de 250 mg/kg) associada a neurolépticos (administrados 30 minutos antes do teste) diminuiu os parâmetros de locomoção e de levantar de camundongos (8 – 10 semanas de idade) em um campo aberto quando comparados ao grupo controle. Como mencionado anteriormente, BESRET et al. (2000) avaliaram a atividade da tirosina hidroxilase em um estudo com 63 ratos e verificaram que o tratamento subcrônico (6 semanas) com haloperidol diminuiu a expressão dessa enzima em áreas do sistema nervoso. Este estudo, ainda indica que a vitamina C (nas doses de 125 ou 500 mg/kg) quando adicionada à água preveniu esta redução.

Muitos autores mencionam que o ascorbato bloqueia o *binding* de agonistas e antagonistas dopaminérgicos no estriado (HADJICONSTANTINO & NEFF, 1983; HEIKKILA et al., 1993; GULLEY & REBEC, 1999). Entretanto, ainda não é compreendido como a vitamina C modula os efeitos do haloperidol (STRAW et al., 1989). É possível que esta vitamina possa atuar indiretamente no sistema dopaminérgico através da ação em outros sistemas de neurotransmissores, entre eles o glutamatérgico (PIERCE et al., 1994; GULLEY & REBEC, 1999), pois altas doses dessa vitamina *in vitro* bloqueiam receptores NMDA (MAJEWSKA et al., 1990).

Diante do exposto, decidimos estudar o efeito deste antioxidante na supersensibilidade dopaminérgica induzida por haloperidol em ratos. Mais ainda, avaliamos o efeito do possível sinergismo das vitaminas E e C em ratos tratados prolongadamente com este neuroléptico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar os efeitos da administração das vitaminas E e C na supersensibilidade de receptores dopaminérgicos centrais induzida pela administração prolongada de haloperidol.

2.2 Objetivos Específicos

Este trabalho buscou verificar:

- O efeito da administração aguda e prolongada da vitamina E na atividade geral (ATG) de ratos tratados com haloperidol.
- O efeito da administração prolongada e concomitante de haloperidol e vitamina E no comportamento estereotipado (CE) induzido por apomorfina de ratos.
- O efeito da administração prolongada e concomitante de haloperidol e vitamina E nas freqüências de protrusão de língua e de “vacuous chewing movements” de ratos.
- O efeito da administração aguda e prolongada da vitamina C na atividade geral (ATG) de ratos tratados com haloperidol.
- O efeito da administração prolongada e concomitante de haloperidol e vitamina C no comportamento estereotipado (CE) de ratos.
- O efeito do possível sinergismo das vitaminas C e E em animais tratados aguda e prolongadamente com haloperidol.
- O efeito da administração da vitamina E na avaliação da razão GSSG/GSH e na atividade das enzimas antioxidantes presentes respectivamente, no estriado e no córtex de ratos tratados prolongadamente com haloperidol.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, de 3 meses de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Paraná.

Os animais foram alojados em número de cinco por gaiola, em caixas plásticas medindo 40 x 30 x 17 cm. Essas caixas foram mantidas em salas com ventilação e temperatura controladas ($22 \pm 1^\circ \text{C}$), em um ciclo claro-escuro de 12 horas, iniciando-se a fase clara às 7:00 horas. Água e comida foram fornecidas à vontade aos animais.

3.2 Drogas

- Haloperidol (1,0 mg/kg - i.p.) - Jansen Farmacêutica
- Apomorfina, cloridrato de (0,6 mg/kg - s.c.) - Sigma Chemical Company
- Vitamina E (cf-/a-tocoferol acetato, 500 mg/kg - v.o.) - Boticário do Brasil
- Vitamina E (d-/a-tocoferol acetato, 500 mg/kg - v.o.) - Hoffmann-La Roche LTD
- Vitamina C (ácido ascórbico, 50 mg/kg - i.p.) - Hoffmann-La Roche LTD
- Xarope de glicose (500 ml/kg) - veículo para vitamina E (Boticário)
- Óleo de Girassol (500 ml/kg - v.o) - veículo para vitamina E (Roche)
- Salina (NaCl 0,9% - 1,0 ml/kg - i.p.)

3.3 Observações Comportamentais

3.3.1 Medida da Atividade Geral dos Animais (ATG)

A ATG dos animais foi avaliada em um campo aberto, o qual consiste em uma arena circular de madeira com 97 cm de diâmetro e 32,5 cm de altura, pintada de branco e estando a 48 cm do chão. O fundo da arena é dividida em 3 círculos concêntricos, os quais são subdivididos por retas em 19 partes aproximadamente

iguais. Na parte frontal da arena existe uma cortina que, devido às condições de iluminação, permite uma total observação do animal, dificultando a este, a visão do experimentador. Este aparelho foi construído de acordo com aquele proposto por BROADHURST (1960).

Cada animal foi colocado, individualmente, no centro do campo aberto, onde foi observado por um período de 5 minutos. Os animais dos grupos controle e experimentais foram observados, intercaladamente, entre as 7:00 e às 12:00 horas. Entre as observações de cada rato, a arena foi limpa com uma solução de álcool a 5%.

Durante o experimento no campo aberto foram registrados os seguintes parâmetros indicativos da ATG, frequência de locomoção (LO), onde cada unidade de LO corresponde ao ato do animal penetrar com as 4 patas, em uma das divisões do chão da arena; frequência de levantar (LE), o qual corresponde ao animal permanecer apoiado somente nas patas posteriores, ficando com o corpo perpendicular ao chão da arena; duração de imobilidade (DI), que consiste no período de tempo, em segundos, em que o animal não apresenta atividade motora, permanecendo estático no que diz respeito à cabeça, tronco e membros (ADES, 1965); e a duração de limpeza (LIM), onde observou-se o tempo em segundos em que o animal permanece limpando a pelagem, genitália e focinho. A duração de imobilidade e a duração de limpeza foram registradas através do uso de cronômetros.

3.3.1.1 Análise Estatística

Através do teste de BARTLET (JOHNSON & LEONE 1974), verificou-se que os dados da ATG são paramétricos. Assim, utilizou-se a ANOVA (análise de variância), proposta por SNEDOCOR (1946), seguida do teste de TUKEY, utilizado para avaliar as possíveis diferenças nas medidas dos parâmetros da ATG entre os grupos. A probabilidade de $p < 0,05$ foi considerada significativa para todas as comparações realizadas.

3.3.2 Medida do Comportamento Estereotipado (CE) Induzido por Apomorfina

Para o registro quantitativo do CE, os animais foram alojados, individualmente, em gaiolas metálicas medindo 16x30x18 cm. As observações foram realizadas 100 horas após a retirada dos tratamentos, no período da tarde (13:30 - 17:30 horas).

Para a quantificação do CE, utilizou-se a escala de escores proposta por SETLER et al. (1976), conforme mostra a Tabela 1. Esta escala atribui valores crescentes aos parâmetros comportamentais exibidos pelos animais, após o tratamento com apomorfina. A partir da administração da apomorfina, o CE foi observado a intervalos de 10 minutos, durante 90 minutos consecutivos. Cada animal foi observado durante 10 segundos para atribuição do escore. Os escores obtidos para cada animal, nos 90 minutos, foram somados e com esses valores, calculou-se, em cada grupo, as medianas da somatória dos escores.

3.3.2.1 Análise Estatística

Através do teste de BARTLET (JOHNSON & LEONE 1974), verificou-se que os dados do CE não são paramétricos. Assim, empregou-se a análise de variância não paramétrica de KRUSKAL-WALLIS (SIEGEL.1956), seguida pelo teste de Comparações Múltiplas. A probabilidade de $p < 0,05$ foi considerada como diferença significativa.

TABELA 1 - ESCALA DE ESCORES PROPOSTA POR SETLER et al. (1976) PARA QUANTIFICAR O COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO (CE)

ESCORES	COMPORTAMENTO
0	Adormecido ou parado.
1	Ativo.
2	Predominantemente ativo, mas com períodos curtos de farejar e/ou levantar estereotipado.
3	Atividade estereotipada constante, tal como farejar, levantar ou balançar a cabeça, mas com atividade locomotora ainda presente.
4	Atividade estereotipada constante realizada em um só local.
5	Atividade estereotipada constante, mas com períodos curtos de lamber e/ou roer e morder as barras da gaiola.
6	Lamber e/ou roer e morder as barras da gaiola.

3.3.3 Observação dos Movimentos Periorais Induzidos pelo Haloperidol

Para o registro dos movimentos periorais, os animais foram colocados individualmente em gaiolas metálicas (16x30x18 cm), providas de espelhos na parte inferior e posterior, às 48 e 72 horas após a retirada do neuroléptico. Cada animal foi observado durante 5 minutos, e nesse período, foram quantificadas tanto a frequência de protrusão de língua (PL), como a frequência de *vacuous chewing movements* (VCM). As observações foram realizadas no período da tarde, das 13:30 às 17:30 horas.

3.3.3.1 Análise Estatística

A aplicação do teste de BARTLET (JOHNSON & LEONE, 1974) mostrou serem os dados de PL e de VCM paramétricos ($p < 0,05$). Assim, utilizou-se a ANOVA (análise de variância), proposta por SNEDOCOR (1946), seguida do teste de TUKEY, a fim de avaliar as possíveis diferenças entre os grupos.

3.4 Avaliação dos Agentes Antioxidantes

Esta etapa foi realizada em colaboração com os professores Dr. Roberto Frussa Filho e Dra. Rosana de Alencar Ribeiro do Departamento de Farmacologia da UNIFESP (EPM).

3.4.1 Preparo das Amostras

Os animais procedentes do tratamento prolongado com haloperidol e vitamina E (d-/a-tocoferol acetato / Roche, 500 mg/kg - v.o.) foram sacrificados em uma guilhotina, e tiveram seus cérebros retirados sobre placa de gelo. Em seguida, os corpos estriados e os córtex foram dissecados, em um período máximo de 3 minutos para cada animal. Estes tecidos foram então pesados e congelados em freezer a - 80° C. O material foi transportado em gelo seco para o laboratório de Farmacologia da UNIFESP, onde também foi armazenado a - 80° C. Quinze minutos antes do início dos ensaios, o material dissecado foi transferido para um freezer a - 23° C.

3.4.2 Avaliação de Defesas e Enzimas Antioxidantes

Para quantificar as espécies reativas do metabolismo do oxigênio foram utilizadas técnicas de dosagem dos antioxidantes, ou técnicas que permitem medir a atividade enzimática, a detecção direta dessas espécies reativas ao oxigênio é dificultada devido as suas concentrações serem extremamente baixas (aproximadamente 10^{-11} M) com altas velocidades de reação (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Portanto, para tal observação, foram utilizados os estriados para a dosagem da glutathiona total (GSH), da glutathiona oxidada (GSSG), bem como a razão entre GSSG/GSH. No córtex dos animais, determinou-se as dosagens das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px), da superóxido dismutase (SOD) e da catalase (CAT).

3.4.2.1 Avaliação da Razão GSSG/GSH

Inicialmente os estriados foram homogeneizados em ácido perclórico 0.5 M na proporção 1:50 (p/v) e centrifugados a 5000 rpm, por 10 minutos a 4-5° C. Uma alíquota do sobrenadante (S1) foi neutralizada com K_3PO_4 1,75 M e novamente centrifugada a 12000 rpm por 3 minutos. O sobrenadante (S2) da segunda centrifugação foi utilizado para determinação de GSH (TIETZE, 1969). Para isso, o tampão utilizado no ensaio de GSH foi o fosfato 0,1 M (pH = 7.0), contendo GSSG padrão, DTNB, sendo adicionados ainda a glutatona redutase e o NADPH, os quais presentes no meio promovem a redução de GSSG presente no tecido formando GSH. A leitura da absorbância foi realizada em 412 nm a 25° C, durante 180 segundos a intervalos de 30 segundos.

Um índice mais seguro e sensível da ocorrência do estresse oxidativo é avaliar a razão GSSG/GSH (TOBOREK & HENNING, 1994). Para tal, verificamos a quantidade de GSSG presente no tecido, onde uma alíquota do sobrenadante (S1), foi neutralizada e centrifugada da mesma forma descrita anteriormente para GSH. Utilizou-se o sobrenadante (S2) com a finalidade de determinar a GSSG. Com o tampão fosfato 0,5 M (pH = 6.8), contendo NADPH e glutatona redutase, realizou-se a leitura da absorbância a 340 nm a uma temperatura de 30° C, nos tempos de 8, 10, 12 e 16 minutos. A absorbância no tempo zero foi determinada por meio da regressão linear. Os valores foram determinados em μ moles de GSH e GSSG por grama de tecido e expressos como (μ moles de GSH por grama de tecido ou como razão GSSG/GSH).

3.4.2.2 Determinação da Catalase (CAT)

Para a dosagem da catalase, o córtex foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH = 7.0), na proporção 1:4 (p/v), os quais foram centrifugados a 3000 rpm, a 4-5° C, durante 15 minutos. O sobrenadante da primeira centrifugação (S1) foi centrifugado a 1200 rpm, na mesma temperatura, por 20 minutos. E o

sobrenadante dessa segunda centrifugação (S2) foi então utilizado na determinação da CAT, de acordo com a técnica de ADAMO et al. (1989). Essa técnica permite quantificar a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio pela enzima através do decréscimo da absorbância a 240 nm a 30° C ($\epsilon = 0.04 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

A amostra foi adicionada ao meio contendo H_2O_2 10 mM e tampão fosfato de potássio 50 mM (pH = 7.4). Os resultados foram expressos em Unidades (U) por mg de proteína, onde 1 U significa a quantidade de enzima necessária para catalisar a hidrólise de 1 μM de H_2O_2 por minuto a 30° C em pH 7.4

3.4.2.S Avaliação da Glutathione Peroxidase (GSH-Px)

A GSH-Px foi determinada pela homogeneização do córtex da mesma forma descrita acima para a CAT. A quantificação da GSH-Px foi realizada de acordo com o método de SIES et al. (1979), baseado na medida da oxidação de NADPH catalisada pela glutathione redutase, que é proporcional à produção de GSSG, catalisada pela GSH-Px em presença de peróxido de tert-butila (t-BOOH).

A amostra foi adicionada ao meio de reação contendo NADPH 20 mM, GSH 0,1 M, glutathione redutase 0,1 U/ml, EDTA 5 mM e tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH = 7.0). Após um minuto de estabilização, foi adicionado t-BOOH 0.5 mM e o decréscimo da absorbância foi acompanhado a 340 nm, a uma temperatura de 30° C ($\epsilon = 6.22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Os resultados foram expressos em Unidades (U) por mg de proteína, onde 1 U significa a quantidade de enzima necessária para catalisar a oxidação de 1 μmol de NADPH por minuto a 30° C em pH 7,0.

3.4.2.4 Dosagem da Superóxido Dismutase (SOD)

Da mesma forma descrita acima, o córtex foi homogeneizado e o sobrenadante (S2) foi utilizado na determinação da SOD. A atividade da enzima foi avaliada segundo o método de McCORD e FRIDOVICH (1969), baseada na transformação de xantina em ácido úrico, catalisada pela enzima xantina oxidase.

que ativa o oxigênio molecular a ânion superóxido. A reação é acompanhada à redução do citocromo c pelo ânion superóxido, que pode ser acompanhada por meio da redução da absorbância em 550 nm, a 25° C. A adição da SOD promove inibição na velocidade de redução do citocromo c, uma vez que esta enzima compete com o citocromo c pelo ânion superóxido, dismutando-o a peróxido de hidrogênio. A atividade total da SOD foi medida na presença de KCN, inibindo-se assim a atividade da citocromo c oxidase. Os resultados foram expressos em Unidades (U) por mg de proteína, onde 1 U significa a quantidade de enzima necessária para inibir 50 % da redução do citocromo c, por minuto, a 25° C em pH 7.8.

3.4.2.5 Dosagem de Proteínas

As concentrações de proteínas das amostras foram determinadas segundo o método de Lowry (LOWRY et al., 1951), utilizando-se como padrão a albumina sérica bovina.

5.4.2.6 Análise Estatística

A análise do teste de BARTLET mostrou que os dados de avaliação das enzimas foram considerados paramétricos. Assim, utilizou-se a ANOVA (análise de variância), proposta por SNEDOCOR (1946), seguida do teste de DUNCAN.

4 RESULTADOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Efeitos da Administração Aguda de Vitamina E (d-l-a-Tocoferol-Acetato, Boticário) na Atividade Gerai (ATG) de Ratos Tratados Agudamente com Haioperidol

Delineamento Experimental

Foram utilizados 40 ratos divididos aleatoriamente em quatro grupos; Salina (Saí) + Veículo (Veíc), Salina (Saí) + Vitamina E (E), Haioperidol (Halo) + Veículo (Veíc) e Haioperidol (Halo) + Vitamina E (E). Os animais foram tratados pela manhã de acordo com o seguinte procedimento:

1. Sal + Veíc: administrou-se NaCl 0,9% (Sal - 1,0 ml/kg i.p.) e, após 30 minutos os animais receberam o Veíc (5,0 ml/kg v.o.).
2. Sal + E: inicialmente injetou-se Sal (1,0 ml/kg i.p.) e, decorridos 30 minutos, administrou-se a vitamina E (500 ml/kg v.o.).
3. Halo + Veíc: inicialmente os animais receberam Halo (1,0 mg/kg i.p.) e 30 minutos após receberem o Veíc (5,0 ml/kg v.o.).
4. Halo + E: a este grupo foi administrado Halo (1,0 mg/kg i.p.) e decorridos 30 minutos administrou-se a vitamina E (500 mg/kg v.o.).

Decorridos 30 minutos após a segunda administração da vitamina E ou veículo, os animais foram colocados em um campo aberto (CA) para a observação da ATG. Foram verificados os parâmetros de locomoção (LO), de levantar (LE), duração de imobilidade (DI) e duração de limpeza (LIM).

Resultados

As Figuras 1, 2, 3 e 4 e as Tabelas 2, 3, 4 e 5 mostram os efeitos decon[^]entes da administração aguda de haioperidol e vitamina E nas freqüências de locomoção (LO), levantar (LE), duração de imobilidade (DI) e duração de limpeza (LIM). Os resultados indicam que a administração aguda de Halo resultou, num

decréscimo significativo da função motora dos animais dos grupos Halo + Veíc e Halo + E, em comparação com aquela dos animais dos grupos Sal + Veíc e Sal + E. De fato, observou-se a redução das freqüências de LO (Fig. 1 e Tab. 2), de LE (Fig. 2 e Tab. 3) e de LIM (Fig. 4 e Tab. 5), bem como aumento da DI (Fig. 3 e Tab. 4). Além disso, a administração aguda da vitamina E não alterou a ATG dos animais em um CA.

TABELA 2 - FREQUÊNCIA DE LOCOMOÇÃO DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	3,2	6,7 * ☆
Halo + Veíc	2,6	5,7 * ☆
Sal + E	74,1	21,6
Sal + Veíc	65,7	13,2

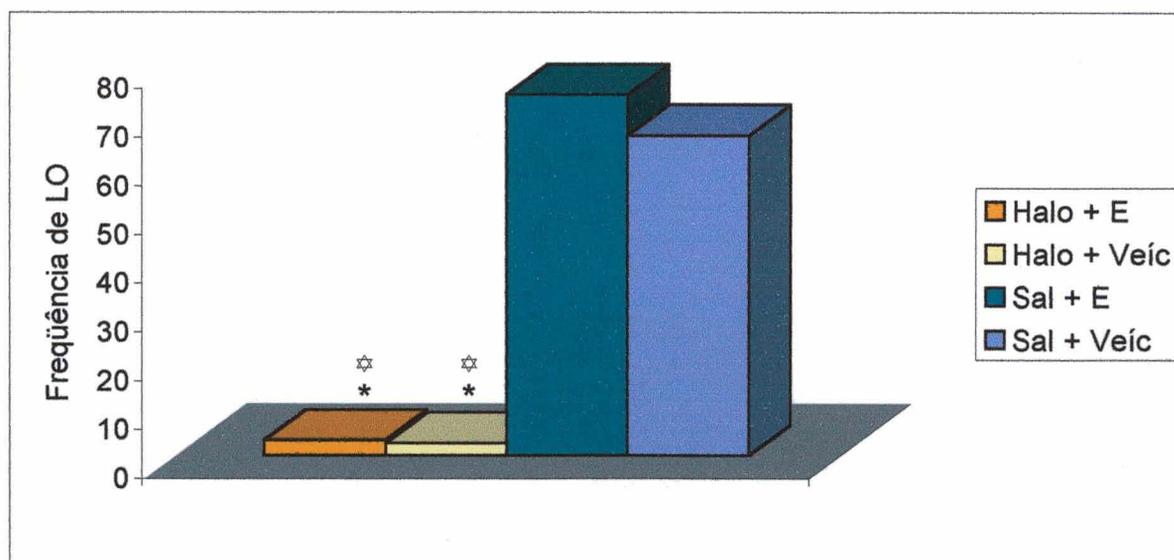


FIGURA 1 - Frequência de locomoção de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 83,2$. * $p < 0,001$ versus Sal + E; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Veíc.

TABELA 3 - FREQUÊNCIA DE LEVANTAR DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	0,8	1,3 * ☆
Halo + Veíc	1,1	2,6 * ☆
Sal + E	27,1	9,5
Sal + Veíc	22,4	6,0

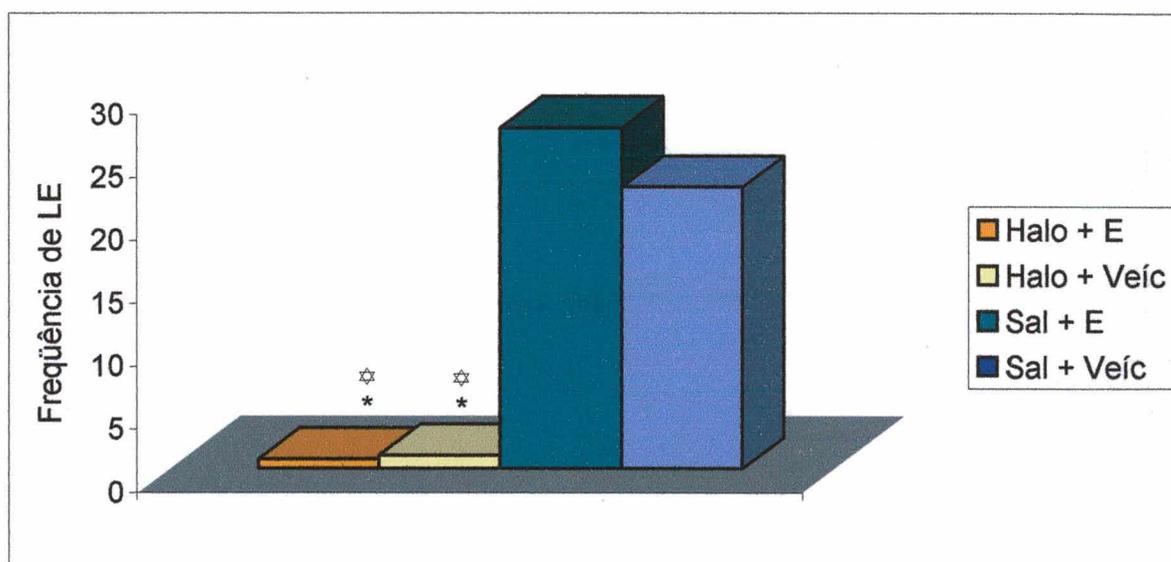


FIGURA 2 - Frequência de levantar de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 56,9$. * $p < 0,001$ versus Sal + E; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Veíc.

TABELA 4 - DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	223,6	26,6 * ☆
Halo + Veíc	223,6	58,4 * ☆
Sal + E	9,8	18,5
Sal + Veíc	8,0	8,2

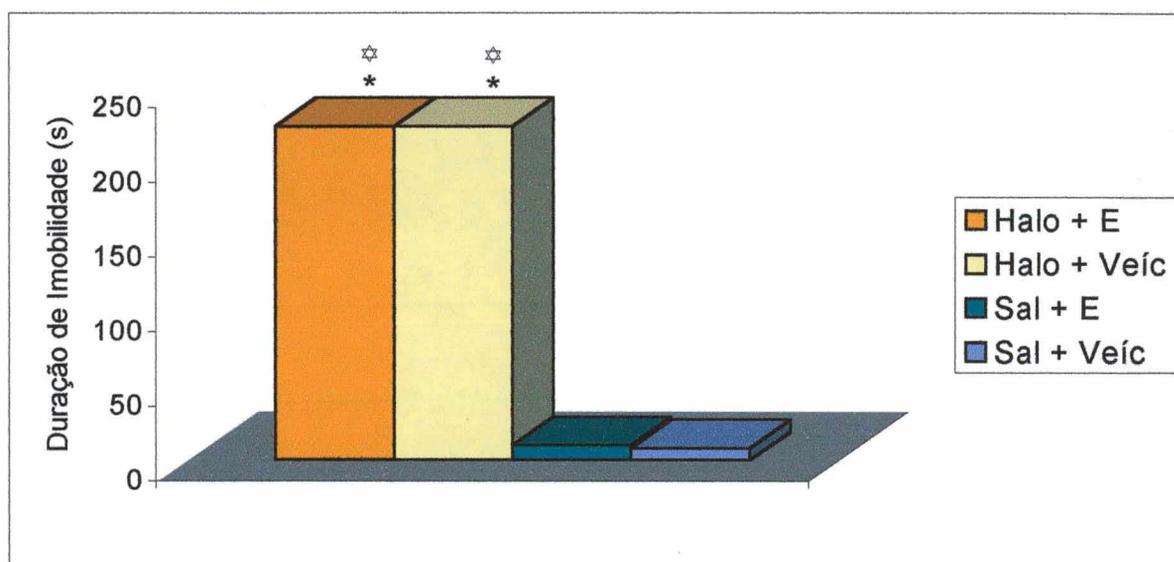


FIGURA 3 - Duração de imobilidade (segundos) em animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 135,4$. * $p < 0,001$ versus Sal + E; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Veíc.

TABELA 5 - DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	7,0	8,1 * ☆
Halo + Veíc	3,5	5,5 * ☆
Sal + E	24,0	14,5
Sal + Veíc	26,9	20,4

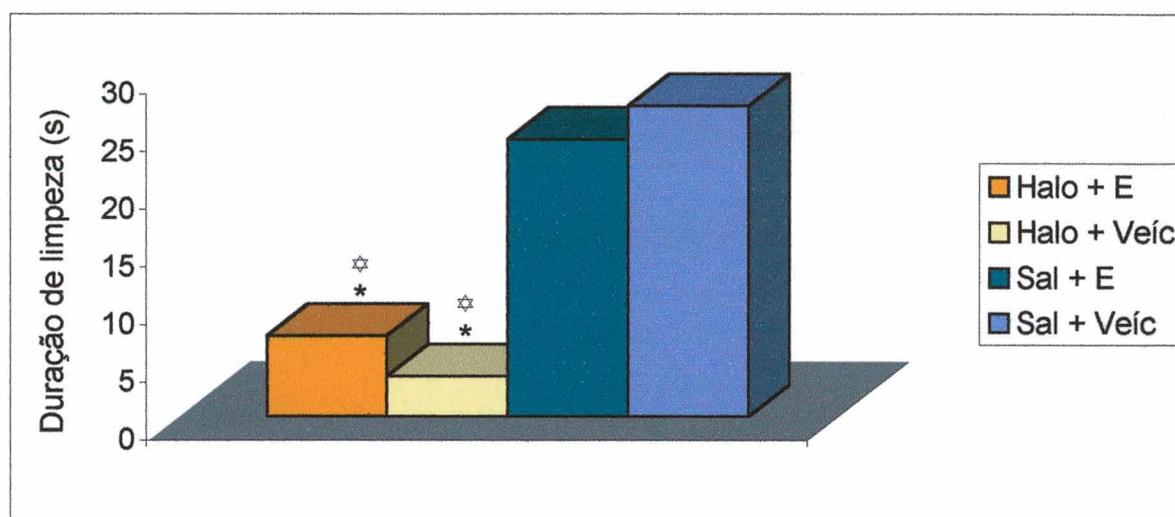


FIGURA 4 - Duração de limpeza (segundos) em animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 7,6$. * $p < 0,001$ versus Sal + E; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Veíc.

4.2 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Boticário) na Atividade Geral (ATG) e no Comportamento Estereotipado (CE) de Ratos

4.2.1 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E na ATG dos Animais

Delineamento Experimental

Foram utilizados 40 ratos divididos aleatoriamente em quatro grupos: **Sal + Veíc**, **Sal + E**, **Halo + Veíc** e **Halo + E**. Todos os animais foram tratados prolongadamente por 30 dias (duas vezes ao dia – 9:00 e às 17:00 horas) de acordo com o seguinte esquema de tratamento:

1. **Sal + Veíc**: administrou-se Sal aos animais pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e receberam o Veíc somente no período da tarde (5,0 ml/kg v.o.).
2. **Sal + E**: injetou-se Sal pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e administrou-se a vitamina E apenas no período da tarde (500 mg/kg v.o.).
3. **Halo + Veíc**: inicialmente os animais receberam Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e receberam o Veíc somente à tarde (5,0 ml/kg v.o.).
4. **Halo + E**: a este grupo foi administrado Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e a vitamina E somente à tarde (500 mg/kg v.o.).

Após a sexagésima injeção do haloperidol, ou da salina, o tratamento foi interrompido e os animais foram observados para a avaliação da ATG em um campo aberto. Foram verificados os parâmetros de locomoção (LO), levantar (LE), duração de imobilidade (DI) e duração de limpeza (LIM). Este procedimento foi realizado aos 30 min., 24, 48, 72 e 96 horas (hs), após a retirada do neuroléptico.

Resultados

As Figuras 5 e 6 e as Tabelas 6 e 7 mostram as freqüências de LO e LE, enquanto que as Figuras 7 e 8 e as Tabelas 8 e 9 indicam a duração (s) de imobilidade (DI) e de limpeza (LIM) de ratos tratados concomitantemente com haloperidol e vitamina E.

Trinta minutos após a retirada do neuroléptico, observou-se uma diminuição significativa das freqüências de LO (Fig. 5 e Tab. 6) e de LE (Fig. 6 e Tab. 7) dos animais dos grupos Halo + E e Halo + Veíc, além de um aumento significativo da DI (Fig. 7 e Tab. 8) em relação aos animais dos grupos Sal + Veíc e Sal + E. Não foram observadas diferenças significantes quanto à duração de limpeza (LIM) dos animais (Fig. 8 e Tab. 9).

Após 24 hs, observou-se um aumento significativo na LO (Fig. 5 e Tab. 6) dos grupos Halo + E e Halo + Veíc, quando comparados aos demais grupos. Não foram verificadas diferenças significantes entre nenhum grupo nos parâmetros LE (Fig. 6 e Tab. 7) e DI (Fig. 7 e Tab. 8). Além disso, foi verificado um aumento significativo da LIM (Fig. 8 e Tab. 9) nos ratos do grupo Halo + E em comparação com os animais do grupo Sal + E.

A observação dos animais, 48 hs após a retirada do haloperidol, mostrou um aumento significativo da freqüência de LO (Fig. 5 e Tab. 6) dos animais do grupo Halo + E e Halo + Veíc em relação aos demais grupos e também, aumento do parâmetro LE (Fig. 6 e Tab. 7) nos ratos do grupo Halo + E em comparação aos animais dos grupos Sal + E e Sal + Veíc. No parâmetro DI, (Fig. 7 e Tab. 8) houve uma diminuição significativa nos animais dos grupos Halo + E e Halo + Veíc em relação aos demais grupos. Além disso, verificou-se (Fig. 8 e Tab. 9) um aumento significativo da LIM nos animais do grupo Halo + E em relação aos demais grupos.

Após 72 hs da retirada do haloperidol, observou-se aumento significativo no parâmetro LO (Fig. 5 e Tab. 6) nos ratos dos grupos Halo + E e Halo + Veíc, quando comparados aos animais dos grupos Sal + E e Sal + Veíc. Além disso, os animais do

grupo Halo + E mostraram aumento significativo do parâmetro LE (Fig. 6 e Tab. 7) em relação aos animais do grupo Sal + E. No parâmetro DI (Fig. 7 e Tab. 8) não foram observadas diferenças entre os grupos de animais. Quanto ao parâmetro LIM (Fig. 8 e Tab. 9), houve aumento significativo dos ratos do grupo Halo + E, em comparação aos animais do grupo Sal + E.

Finalmente, 96 hs após a retirada do neuroléptico, observou-se aumento da frequência de LO (Fig. 5 e Tab. 6) nos animais do grupo Halo + E e Halo + Veíc em comparação aos ratos do grupo Sal + E. Em relação ao LE (Fig. 6 e Tab. 7), DI (Fig. 7 e Tab. 8) e LIM (Fig. 8 e Tab. 9), não foram verificadas diferenças entre todos os grupos estudados.

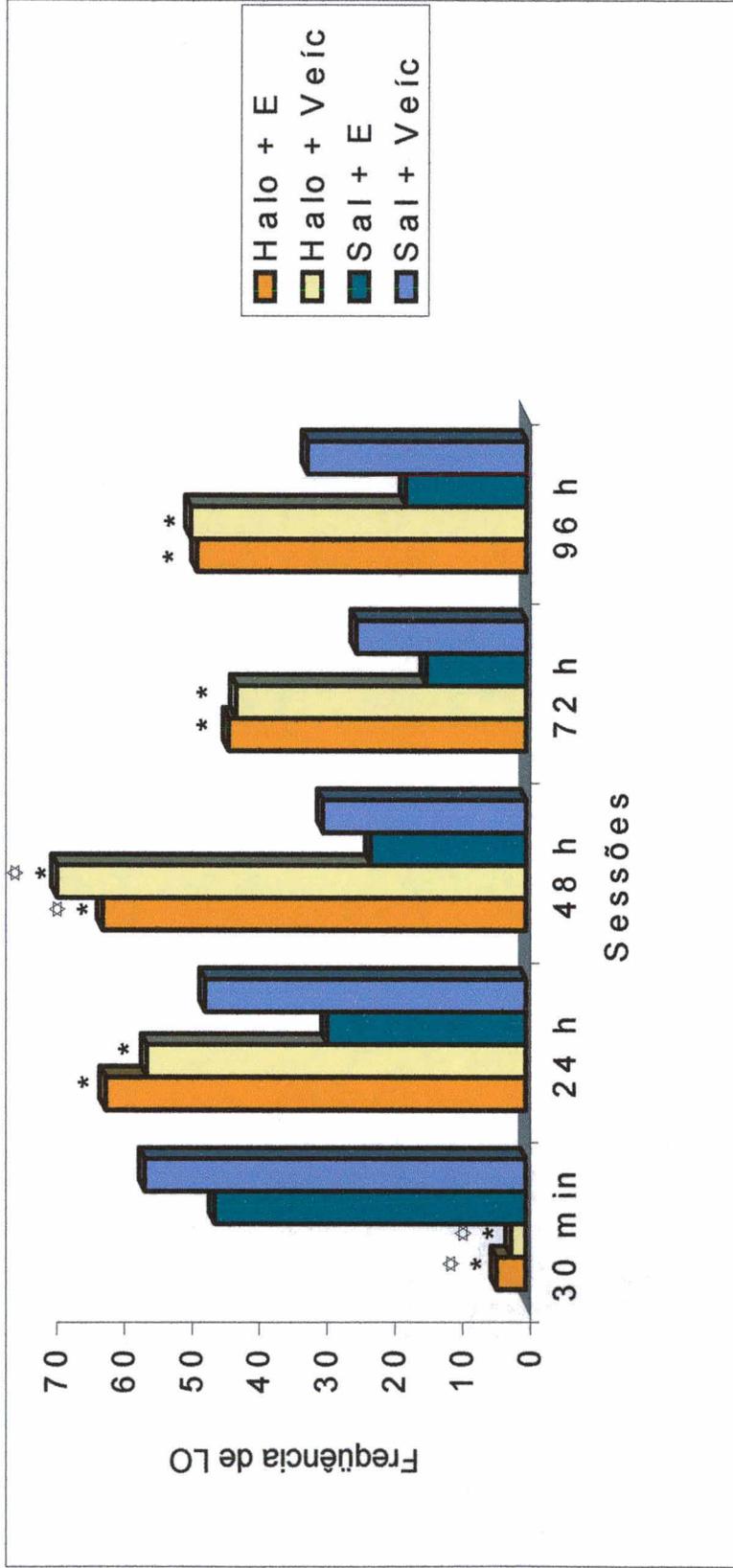


FIGURA 5 - Frequência de locomoção em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 37,73$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 6,35$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 10,56$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 7,20$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 6,90$. * $p < 0,05$ versus grupo Sal + E, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veíc.

TABELA 6 - FREQUÊNCIA DE LOCOMOÇÃO EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Halo + E	4,3 ± 3,9 * ☆	62,1 ± 21,7 *	62,5 ± 24,1 * ☆	43,9 ± 18,9 *	48,6 ± 22,8 *
Halo + Veic	2,1 ± 3,4 * ☆	56,0 ± 11,1 *	69,3 ± 26,4 * ☆	42,8 ± 13,9 *	49,5 ± 11,1 *
Sal + E	45,9 ± 27,3	29,3 ± 17,6	22,9 ± 20,5	14,7 ± 13,8	17,8 ± 13,5
Sal + Veic	56,3 ± 7,5	47,3 ± 19,2	30,0 ± 18,0	25,1 ± 19,2	32,3 ± 22,0

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 37,73$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 6,35$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 10,56$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 7,20$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 6,90$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + E

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic

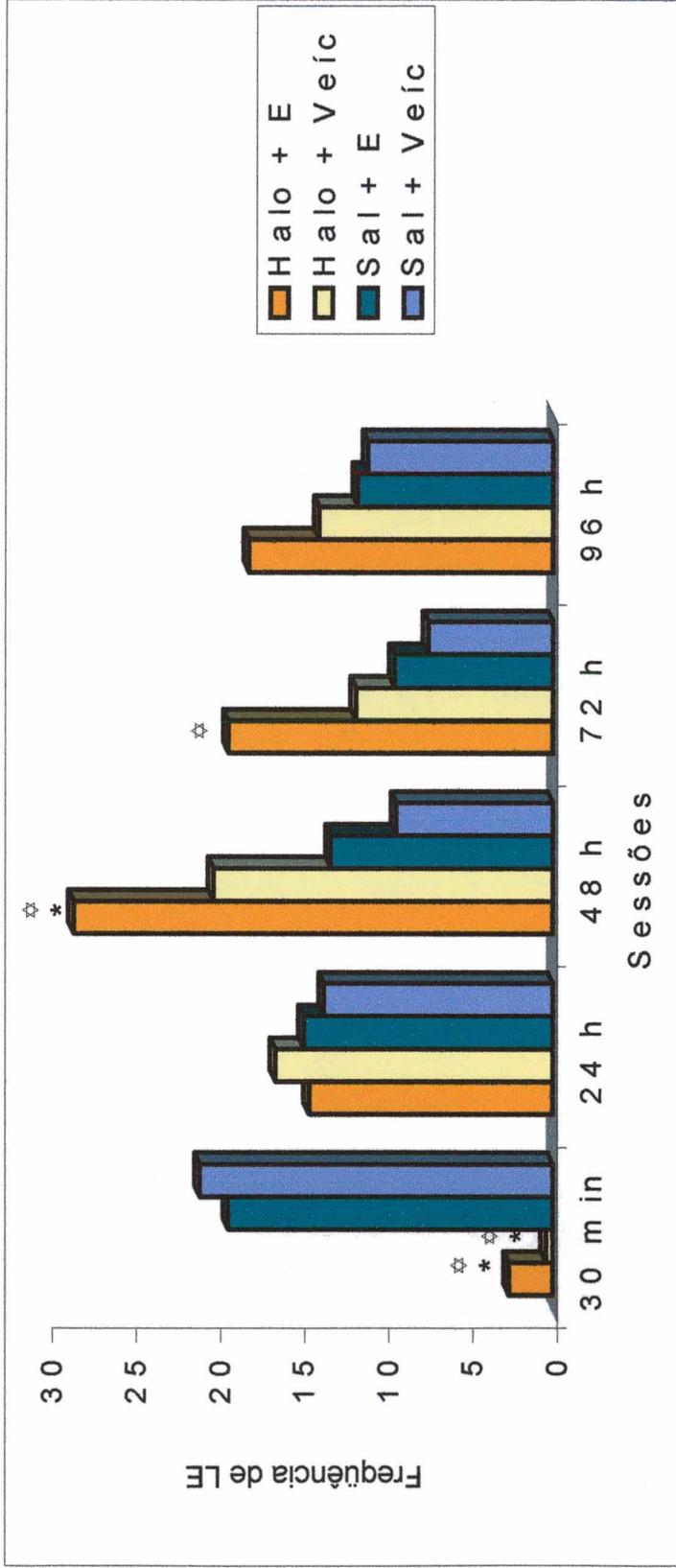


FIGURA 6 - Frequência de levantar em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 20,86$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 0,13$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 6,56$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 3,69$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 1,09$. * $p < 0,05$ versus grupo Sal + E, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veíc.

TABELA 7 - FREQUÊNCIA DE LEVANTAR EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Halo + E	2,6 ± 2,3 * ☆	14,5 ± 14,1	28,5 ± 12,6 * ☆	19,3 ± 11,1 ☆	18,1 ± 11,9
Halo + Veíc	0,4 ± 0,8 * ☆	16,5 ± 5,4	20,2 ± 11,0	11,7 ± 10,1	13,9 ± 8,5
Sal + E	19,3 ± 11,2	14,8 ± 10,8	13,2 ± 10,6	9,4 ± 7,1	11,6 ± 8,7
Sal + Veíc	21,0 ± 9,5	13,6 ± 9,3	9,3 ± 6,2	7,4 ± 3,9	11,0 ± 9,3

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 20,86$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 0,13$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 6,56$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 3,69$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 1,09$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + E

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veíc

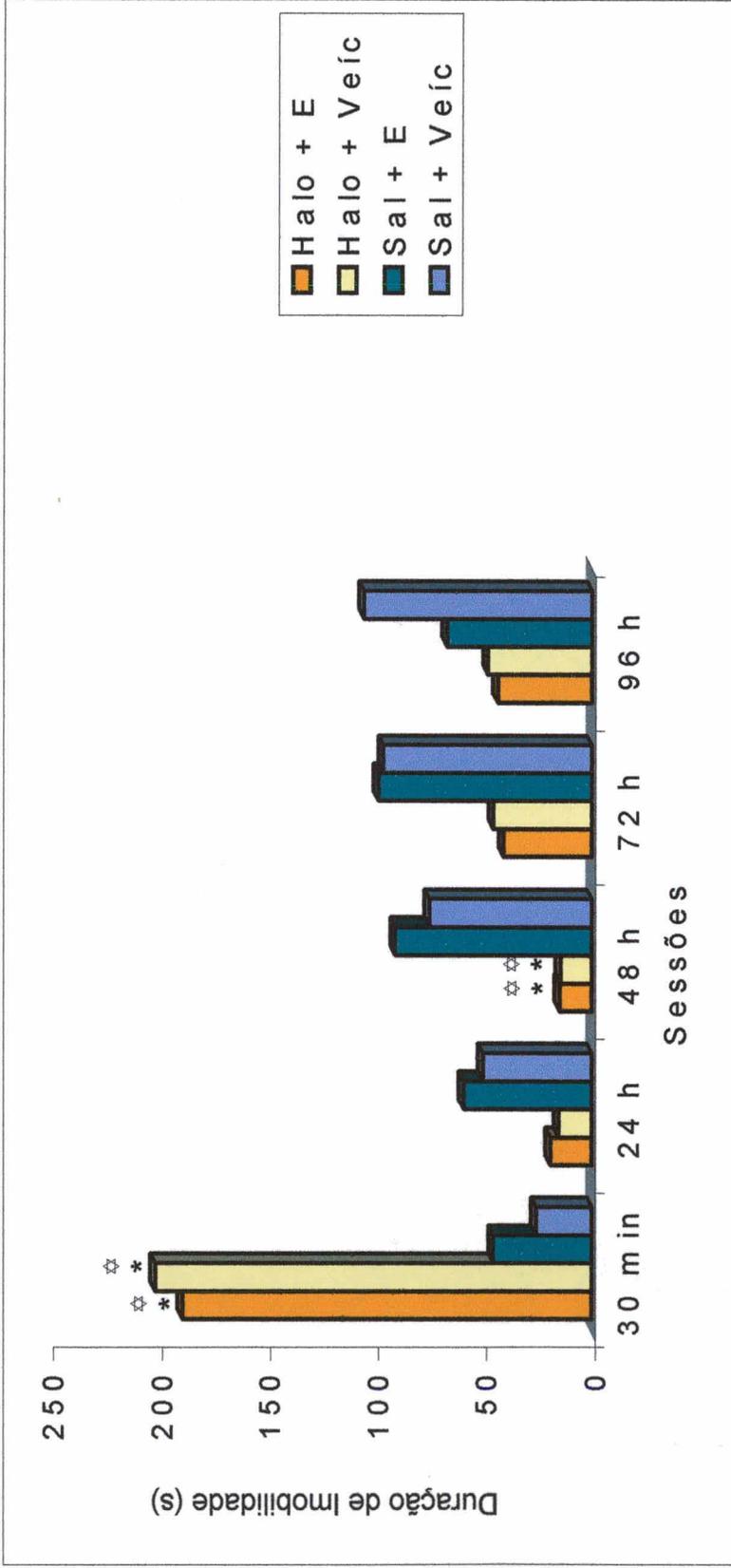


FIGURA 7 - Duração de imobilidade (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 47,05$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 3,59$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 7,63$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 2,95$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 1,75$. * $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic. E, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic.

TABELA 8 - DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Halo + E	189,1 ± 47,0 * ☆	19,1 ± 19,7	15,1 ± 18,5 * ☆	40,7 ± 45,3	43,4 ± 63,9
Halo + Veic	201,6 ± 40,2 * ☆	15,3 ± 19,7	14,6 ± 20,5 * ☆	45,4 ± 32,5	47,9 ± 59,0
Sal + E	45,4 ± 53,2	59,0 ± 46,4	90,6 ± 66,6	98,5 ± 80,5	66,7 ± 61,6
Sal + Veic	28,8 ± 25,3	50,2 ± 49,2	74,8 ± 55,2	96,2 ± 61,3	105,1 ± 81,4

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{min}} = 47,05$; $F(3,36)_{24\text{h}} = 3,59$; $F(3,36)_{48\text{h}} = 7,63$; $F(3,36)_{72\text{h}} = 2,95$ e $F(3,36)_{96\text{h}} = 1,75$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + E

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic

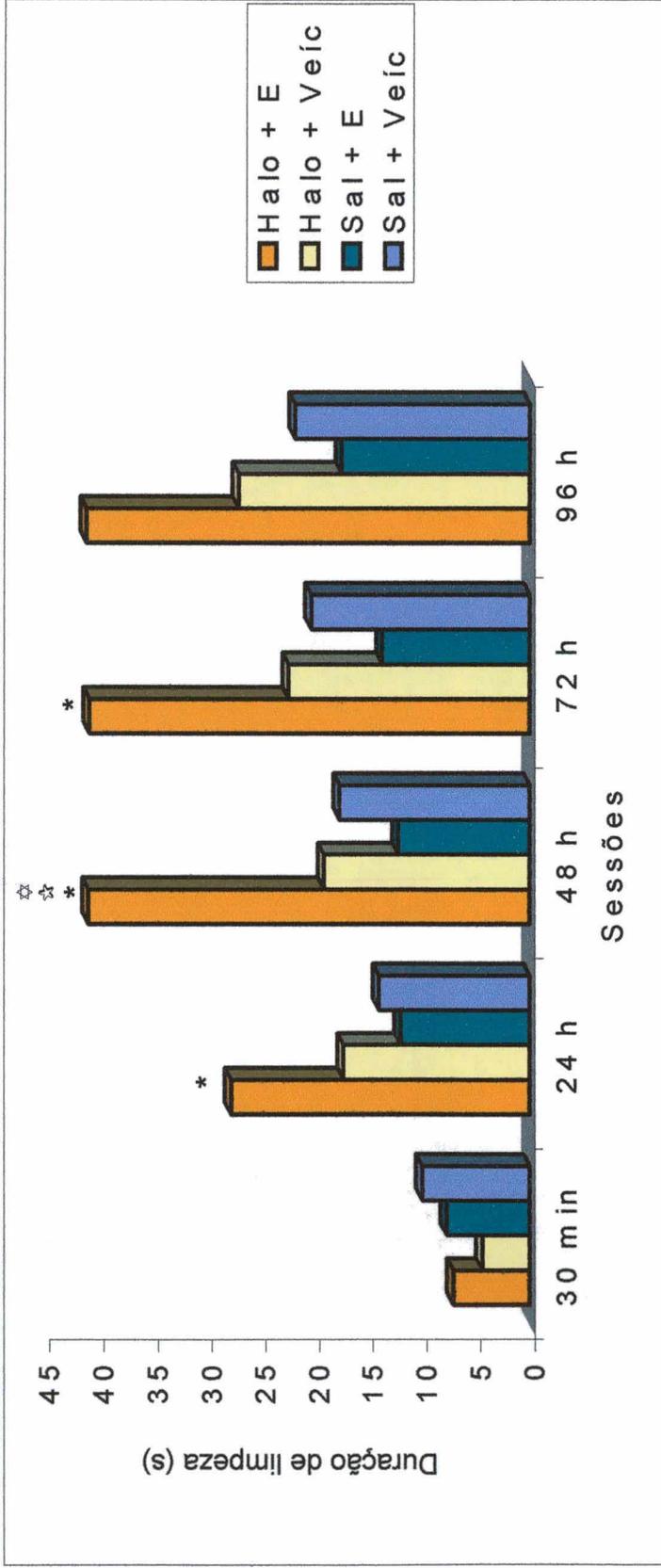


FIGURA 8 - Duração de limpeza (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 1,52$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 3,15$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 5,32$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 3,30$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 2,74$. * $p < 0,05$ versus grupo Sal + E, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Halo + Veic.

TABELA 9 - DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Halo + E	7,1 ± 8,7	27,8 ± 16,4 *	41,0 ± 28,9 * ☆ ☆	40,9 ± 32,8 *	41,2 ± 29,5
Halo + Veíc	4,4 ± 3,2	17,3 ± 9,7	19,1 ± 10,4	22,4 ± 13,8	27,1 ± 16,6
Sal + E	7,7 ± 3,3	12,0 ± 10,6	12,2 ± 8,6	13,7 ± 9,4	17,5 ± 9,9
Sal + Veíc	10,0 ± 6,3	14,0 ± 9,9	17,7 ± 13,6	20,3 ± 16,8	21,8 ± 17,3

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{ min}} = 1,52$; $F(3,36)_{24\text{ h}} = 3,15$; $F(3,36)_{48\text{ h}} = 5,32$; $F(3,36)_{72\text{ h}} = 3,30$ e $F(3,36)_{96\text{ h}} = 2,74$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + E

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veíc

☆☆ $p < 0,05$ versus grupo Halo + Veíc

4.2.2 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E no Comportamento Estereotipado (CE) Induzido por Apomorfina

Delineamento Experimental

Quarenta ratos foram aleatoriamente divididos em 4 grupos: **Sal + Veíc**, **Sal + E**, **Halo + Veíc** e **Halo + E**. Todos os animais foram tratados prolongadamente por 30 dias (duas vezes ao dia, 9:00 e às 17:00 horas) de acordo com o seguinte esquema de tratamento:

1. **Sal + Veíc**: administrou-se Sal aos animais pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e receberam o Veíc somente no período da tarde (5,0 ml/kg v.o.).
2. **Sal + E**: injetou-se Sal pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e administrou-se a vitamina E apenas no período da tarde (500 mg/kg v.o.).
3. **Halo + Veíc**: inicialmente os animais receberam Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e receberam o Veíc somente à tarde (5,0 ml/kg v.o.).
4. **Halo + E**: a este grupo foi administrado Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e a vitamina E apenas à tarde (500 mg/kg v.o.).

Decorridas 100 hs após a retirada dos tratamentos, todos os animais foram colocados em gaiolas metálicas individuais e receberam apomorfina (APO) 0,6 mg/kg s.c. para o registro do CE de acordo com a escala de SETLER et al. (1976).

Resultados

A Figura 9 e a Tabela 10, mostram o CE em ratos tratados com haloperidol ou salina, concomitantemente a vitamina E ou ao veículo por 30 dias. Os dados estão representados pela mediana das somatórias. Os resultados mostram que não foram verificadas diferenças significantes entre os grupos tratados.

TABELA 10 - COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO DE RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas medianas e respectivos intervalos.

TRATAMENTO	MEDIANA DA SOMATÓRIA	INTERVALO
Halo + E	32,0	(23 a 40)
Halo + Veíc	27,0	(23 a 34)
Sal + E	24,5	(19 a 31)
Sal + Veíc	24,0	(20 a 29)

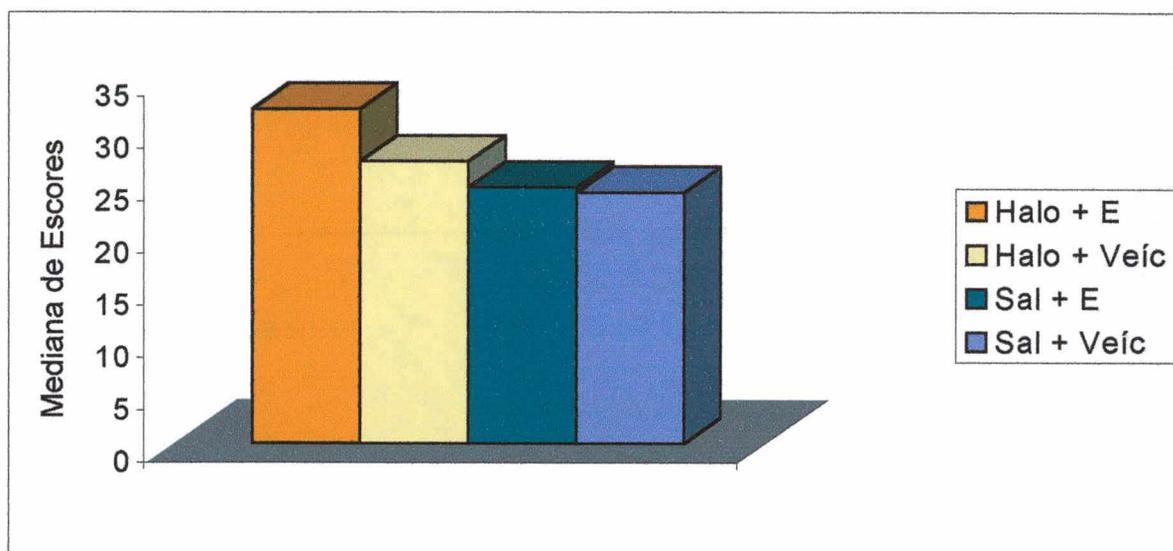


FIGURA 9 - Comportamento estereotipado de ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas medianas. Kruskal-Wallis $H(3,36) = 9,69$.

4.3 Efeitos da Administração Aguda de Vitamina E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Roche) na Atividade Geral (ATG) de Ratos Tratados Agudamente com Haloperidol

Delineamento Experimental

Foram utilizados 40 ratos divididos aleatoriamente em quatro grupos: **Sal + Veíc**, **Sal + E**, **Halo + Veíc** e **Halo + E**. Os animais foram tratados no período da manhã, de acordo com o seguinte procedimento:

1. **Sal + Veíc**: administrou-se NaCl 0,9% (Sal – 1,0 ml/kg i.p.) e, após 30 minutos os animais receberam o Veíc (5,0 ml/kg v.o.).
2. **Sal + E**: inicialmente injetou-se Sal (1,0 ml/kg i.p.) e, decorridos 30 minutos, administrou-se a vitamina E (500 mg/kg v.o.).
3. **Halo + Veíc**: inicialmente os animais receberam Halo (1,0 mg/kg i.p.) e 30 minutos após receberem o Veíc (5,0 ml/kg v.o.).
4. **Halo + E**: a este grupo foi administrado Halo (1,0 mg/kg i.p.) e decorridos 30 minutos administrou-se a vitamina E (500 mg/kg v.o.).

Decorridos 30 minutos após a segunda administração da vitamina E ou veículo, os animais foram colocados em um campo aberto (CA) para a observação da ATG. Foram verificados os parâmetros LO, LE, DI e LIM.

Resultados

As Figuras 10, 11, 12 e 13 ilustram e as Tabelas 11, 12, 13 e 14 mostram os efeitos decorrentes da administração aguda de haloperidol e vitamina E (Roche) nas freqüências de LO, LE, DI e LIM. Os resultados indicam que a administração aguda de haloperidol resultou num decréscimo significativo da função motora dos animais dos grupos Halo + Veíc e Halo + E, em comparação com aquela dos animais dos grupos Sal + Veíc e Sal + E. De fato, observou-se a redução das freqüências de LO (Fig. 10 e Tab. 11), de LE (Fig. 11 e Tab. 12) e redução de LIM

(Fig. 12 e Tab. 13), bem como aumento da DI (Fig. 13 e Tab. 14). Portanto, a administração aguda da vitamina E não alterou a ATG dos animais em um CA.

TABELA 11 - FREQUÊNCIA DE LOCOMOÇÃO DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	5,9	17,6 * ☆
Halo + Veíc	5,0	10,1 * ☆
Sal + E	50,9	31,9
Sal + Veíc	47,6	27,2

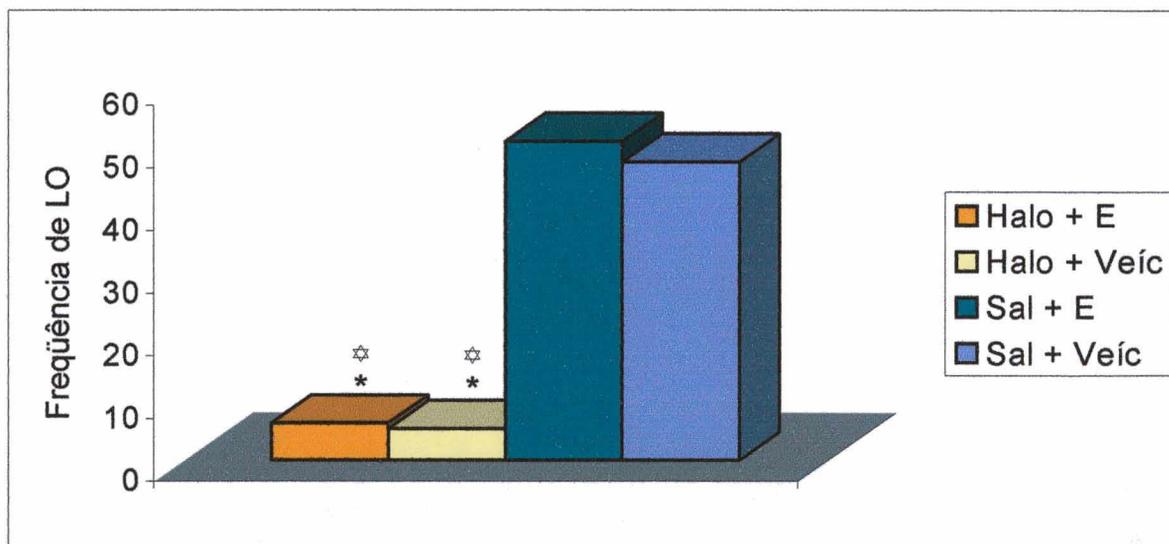


FIGURA 10 - Frequência de locomoção de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 11,7$. * $p < 0,001$ versus Sal + E; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Veíc.

TABELA 12 - FREQUÊNCIA DE LEVANTAR DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	2,5	6,5 * ☆
Halo + Veíc	3,6	6,7 * ☆
Sal + E	21,7	11,2
Sal + Veíc	22,2	16,5

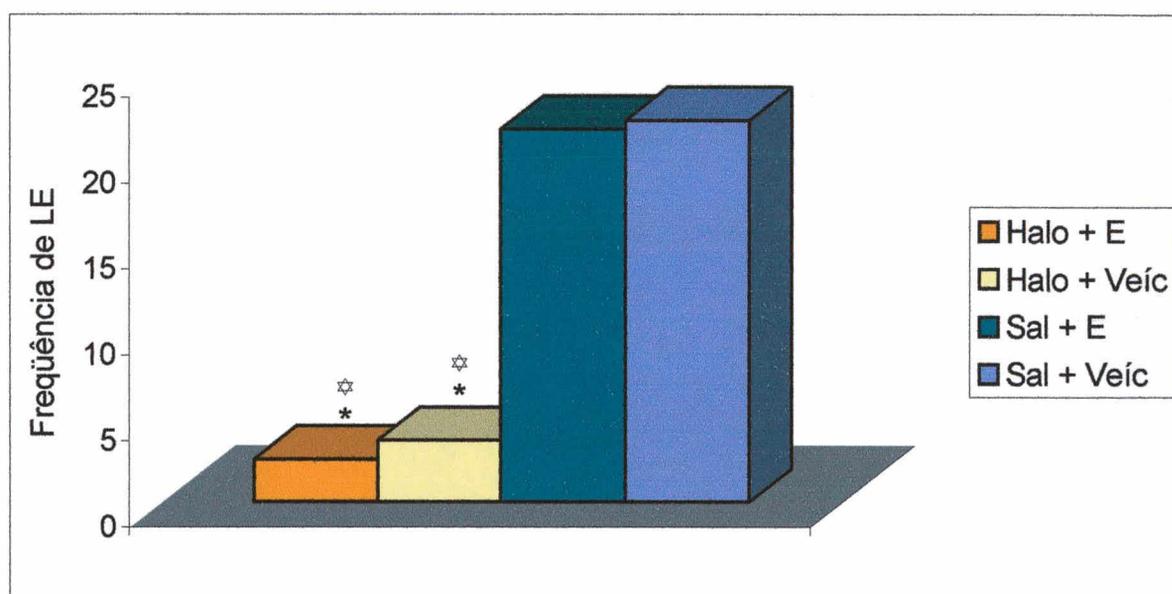


FIGURA 11 - Frequência de levantar de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 9,77$. * $p < 0,001$ versus Sal + E; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Veíc.

TABELA 13 - DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	201,0	70,0 * ☆
Halo + Veíc	197,0	63,4 * ☆
Sal + E	17,4	41,1
Sal + Veíc	10,8	18,5

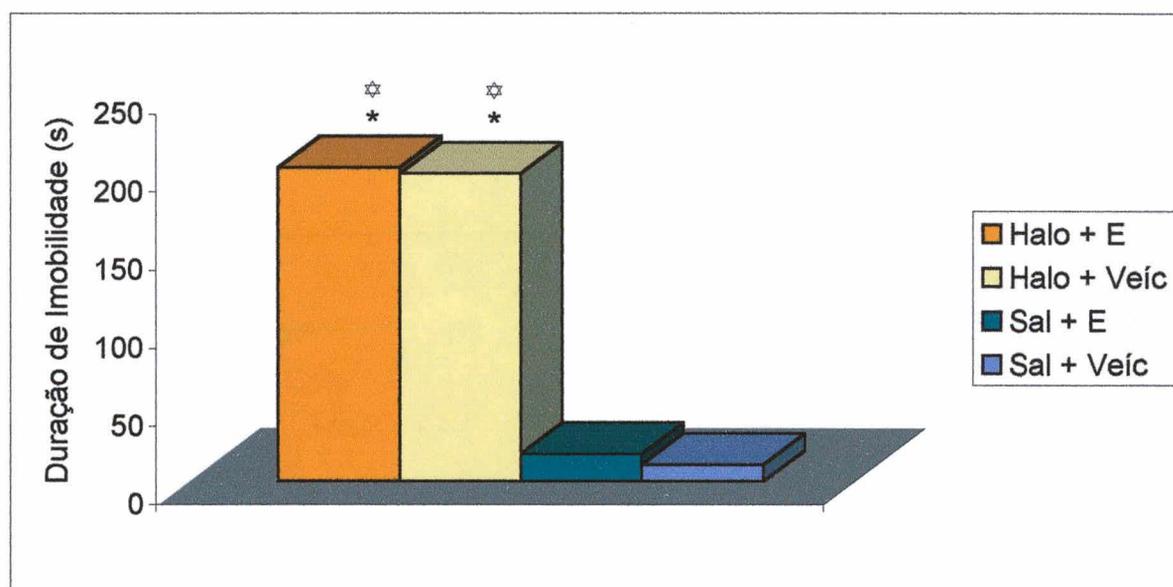


FIGURA 12 - Duração de imobilidade (segundos) em animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 41,59$. * $p < 0,001$ versus Sal + E; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Veíc.

TABELA 14 - DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E Vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	4,6	5,7 *
Halo + Veíc	2,6	2,9 * ☆
Sal + E	21,7	14,1
Sal + Veíc	16,3	14,2

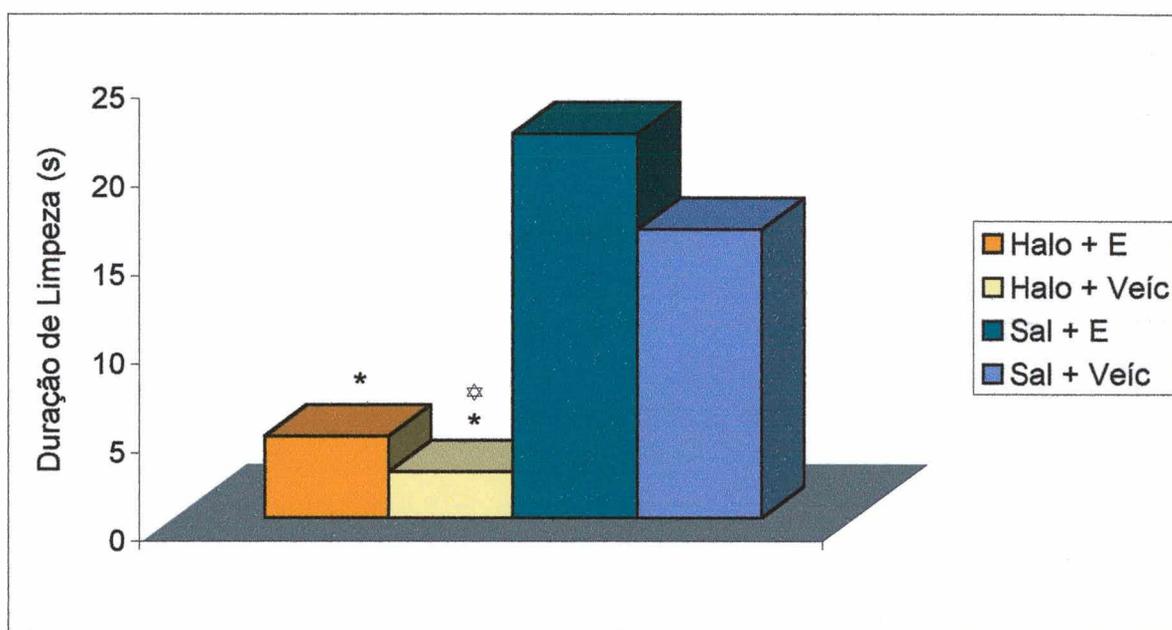


FIGURA 13 - Duração de limpeza (segundos) em animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 7,55$. * $p < 0,001$ versus Sal + E; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Veíc.

4.4 Efeitos da Administração Prolongada e concomitante de Haloperidol e Vitamina E (d-I- α -Tocoferol-Acetato, Roche) na Atividade Geral (ATG) e no Comportamento Estereotipado (CE) de Ratos

4.4.1 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E na ATG dos Animais.

Delineamento Experimental

Foram utilizados 40 ratos divididos aleatoriamente em quatro grupos: **Sal + Veíc**, **Sal + E**, **Halo + Veíc** e **Halo + E**. Todos os animais foram tratados prolongadamente por 30 dias (duas vezes ao dia – 9:00 e às 17:00 horas) de acordo com o seguinte esquema de tratamento:

1. **Sal + Veíc**: administrou-se Sal aos animais pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e receberam o Veíc somente no período da tarde (5,0 ml/kg v.o.).
2. **Sal + E**: injetou-se Sal pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e administrou-se a vitamina E apenas no período da tarde (500 mg/kg v.o.).
3. **Halo + Veíc**: inicialmente os animais receberam Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e receberam o Veíc somente à tarde (5,0 ml/kg v.o.).
4. **Halo + E**: a este grupo foi administrado Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e a vitamina E apenas à tarde (500 mg/kg v.o.).

Após a sexagésima injeção do halperidol, ou salina, o tratamento foi interrompido e os animais foram observados para a avaliação da ATG em um campo aberto. Foram verificados os parâmetros de LO, LE, DI e LIM. Este procedimento foi realizado aos 30 min., 24, 48, 72 e 96 hs após a retirada do haloperidol.

Resultados

As Figuras 14 e 15 e as Tabelas 15 e 16 mostram os efeitos do Haloperidol e da vitamina E nas freqüências de LO e LE. As Figuras 16 e 17 e as Tabelas 17 e 18 mostram a DI e LIM de ratos tratados prolongadamente e concomitantemente com estas drogas.

Após 30 min. da retirada do neuroléptico, observou-se uma diminuição significativa das freqüências de LO (Fig. 14 e Tab. 15) e de LE (Fig. 15 e Tab. 16) dos animais dos grupos Halo + E e Halo + Veíc, além de aumento significativo da DI (Fig. 16 e Tab. 17) em relação aos animais dos grupos Sal + Veíc e Sal + E. Quanto à LIM (Fig. 17 e Tab. 18) não foram verificadas diferenças entre os grupos de animais estudados.

A observação dos animais 24 hs após a retirada, mostrou que a locomoção não diferiu entre os grupos (Fig. 14 e Tab. 15). Por outro lado, o grupo Halo + E mostrou uma diminuição significativa no LE (Fig. 15 e Tab. 16) quando comparado aos animais do grupo Halo + Veíc. Não foram observadas diferenças entre os demais grupos. A DI (Fig. 16 e Tab. 17) foi significativamente menor nos animais do grupo Halo + Veíc, em comparação aos ratos do grupo Sal + E. Quanto à LIM, não foram verificadas diferenças significantes entre os grupos de animais (Fig. 17 e Tab. 18).

A observação dos animais, 48 hs após a retirada do haloperidol, mostrou diminuição significativa da freqüência de LO (Fig. 14 e Tab. 15.) dos animais do grupo Halo + E em relação aos ratos do grupo Halo + Veíc. Além disso, o grupo Halo + E mostrou aumento significativo deste parâmetro quando comparado com o grupo Sal + E. Os ratos do grupo Halo + Veíc, também mostraram aumento de LO em comparação aos animais dos grupos Sal + Veíc e Sal + E. O LE (Fig. 15 e Tab. 16) do grupo Halo + Veíc foi significativamente maior em comparação aos grupos Halo + E, Sal + E e Sal + Veíc. No parâmetro DI, (Fig. 16 e Tab. 17) houve uma diminuição desta medida dos ratos do grupo Halo + Veíc em relação aos animais do grupo Sal + E. Além disso, a LIM (Fig. 17 e Tab. 18) não foi alterada em todos os tratamentos.

Após 72 hs da retirada do haloperidol, os ratos do grupo Halo + Veio mostraram aumento da LO (Fig. 14 e Tab. 15) quando comparados aos grupos Sal + E e Sal + Veíc. Mais ainda, o grupo Halo + E mostrou aumento do parâmetro em relação aos animais do grupo Sal + E. O LE (Fig. 15 e Tab. 16) do grupo Halo + Veíc foi significativamente maior em relação aos grupos Halo + E, Sal + E e Sal + Veíc. A DI (Fig. 16 e Tab. 17) não mostrou diferenças significantes entre os grupos de animais. A análise da LIM (Fig. 17 e Tab. 18), mostrou aumento significativo dos ratos do grupo Sal + Veíc, em comparação com os grupos Sal + E e Halo + Veíc.

Finalmente, 96 hs após a retirada, verificou-se que as frequências de LO (Fig. 14 e Tab. 15) dos animais do grupo Halo + Veíc foram maiores que aquelas dos ratos do grupo Sal + E. Em relação ao LE (Fig. 15 e Tab. 16), nenhuma diferença entre os grupos foi encontrada. Quanto à DI (Fig. 16 e Tab. 17), não foram registradas diferenças significantes nos grupos estudados. Em relação a LIM (Fig. 17 e Tab. 18), foi observado um aumento deste parâmetro nos ratos do grupo Sal + Veíc, em comparação aos animais do grupo Sal + E.

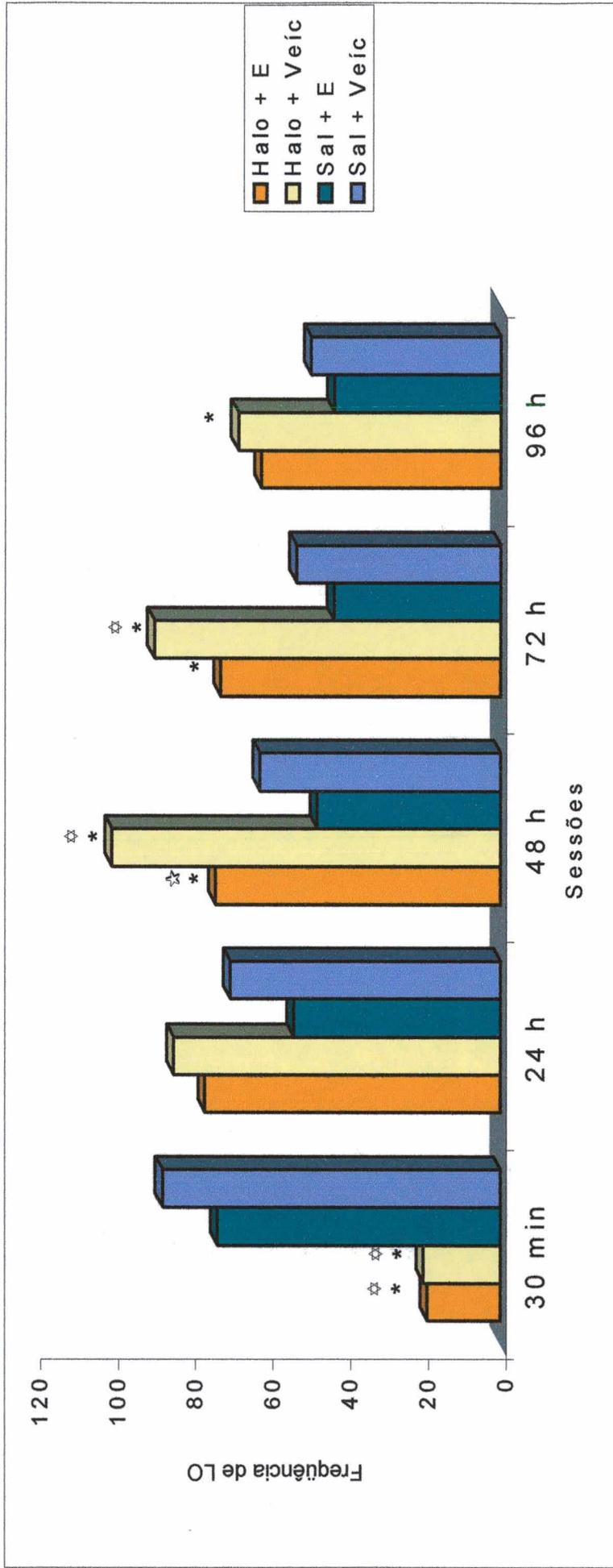


FIGURA 14 - Frequência de locomoção em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 43,62$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 2,61$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 15,70$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 12,40$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 3,34$. * $p < 0,05$ versus grupo Sal + E, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Halo + Veic.

TABELA 15 - FREQUÊNCIA DE LOCOMOÇÃO EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Halo + E	18,9 ± 8,6 * ☆	76,2 ± 23,9	73,5 ± 17,2 * ☆	72,2 ± 13,7 *	61,7 ± 12,6
Halo + Veic	20,0 ± 14,2 * ☆	84,3 ± 24,5	100,3 ± 16,0 * ☆	89,3 ± 22,5 * ☆	67,7 ± 24,3 *
Sal + E	73,0 ± 22,0	53,2 ± 27,5	47,3 ± 21,3	42,9 ± 16,8	42,9 ± 20,3
Sal + Veic	87,2 ± 19,7	69,6 ± 27,1	62,1 ± 16,4	52,6 ± 19,8	48,9 ± 19,7

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 43,62$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 2,61$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 15,70$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 12,40$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 3,34$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + E

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic

☆ $p < 0,05$ versus grupo Halo + Veic

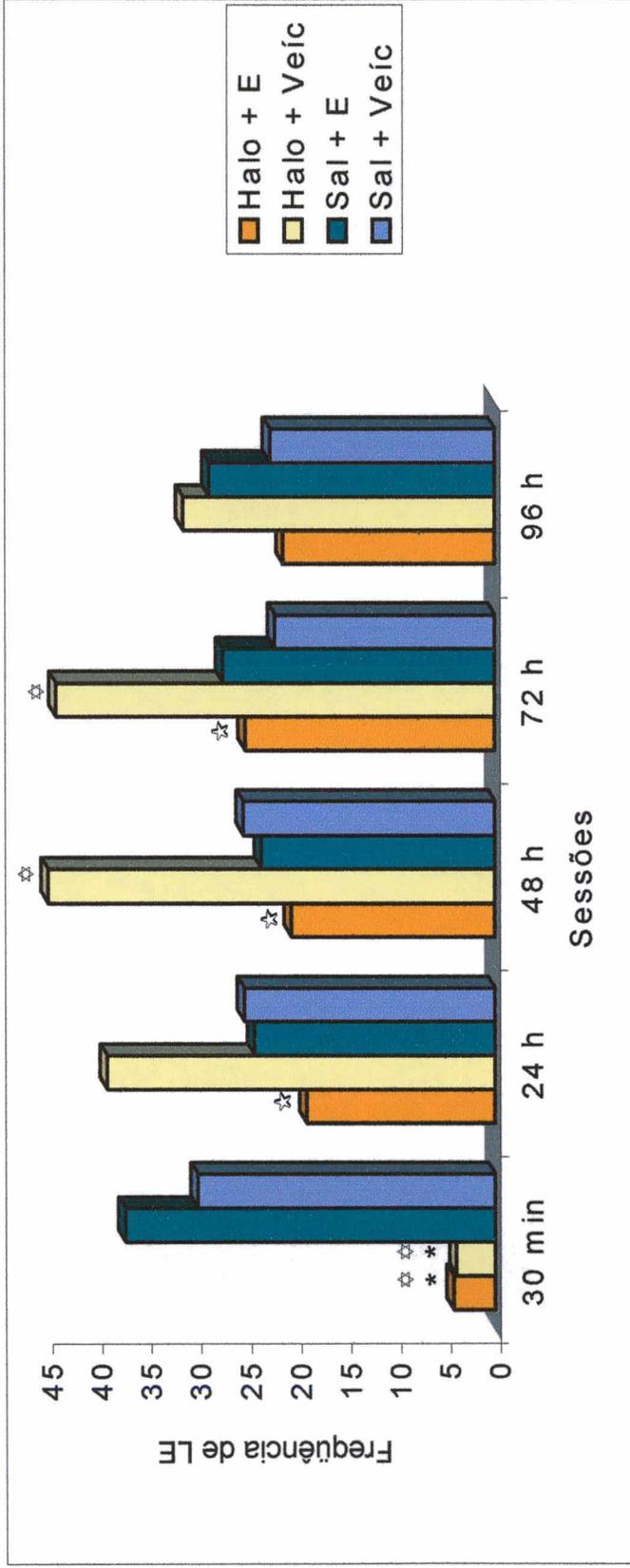


FIGURA 15 - Frequência de levantar em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 31,00$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 3,87$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 12,59$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 8,22$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 2,50$. * $p < 0,05$ versus grupo Sal + E, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Halo + Veic.

TABELA 16 - FREQUÊNCIA DE LEVANTAR EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Halo + E	4,2 ± 2,3 * ☆	18,9 ± 5,5 ☆	20,4 ± 7,6 ☆	25,0 ± 8,4 ☆	21,2 ± 5,0
Halo + Veíc	3,9 ± 2,9 * ☆	38,9 ± 20,0	44,8 ± 10,7 * ☆	44,0 ± 15,3 * ☆	31,2 ± 13,0
Sal + E	37,1 ± 16,4	24,1 ± 13,7	23,4 ± 7,3	27,2 ± 7,8	28,6 ± 11,3
Sal + Veíc	29,8 ± 9,8	25,1 ± 11,4	25,2 ± 12,7	22,0 ± 10,1	22,5 ± 6,6

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 31,00$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 3,87$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 12,59$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 8,22$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 2,50$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + E

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veíc

☆ $p < 0,05$ versus grupo Halo + Veíc

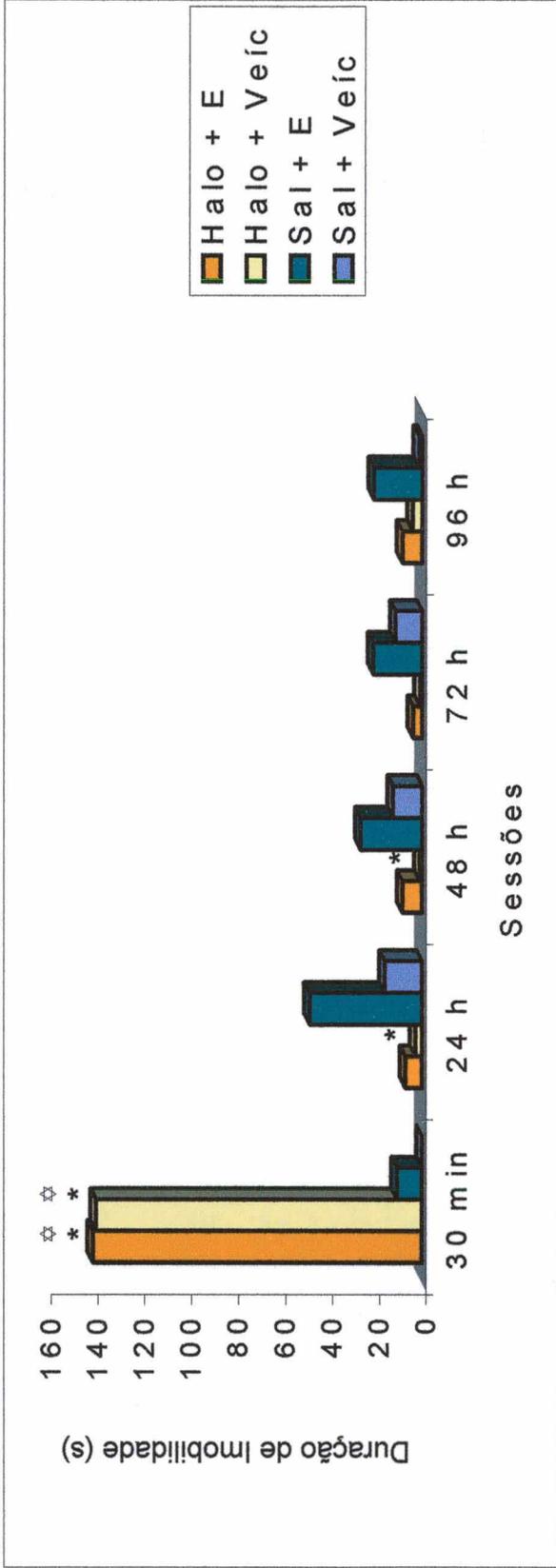


FIGURA 16 - Duração de imobilidade (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{ min}} = 81,02$; $F(3,36)_{24\text{ h}} = 3,07$; $F(3,36)_{48\text{ h}} = 4,68$; $F(3,36)_{72\text{ h}} = 2,67$ e $F(3,36)_{96\text{ h}} = 2,54$. * $p < 0,05$ versus grupo Sal + E, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic.

TABELA 17 - DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Halo + E	140,2 ± 33,7 * ☆	7,2 ± 10,2	8,4 ± 13,3	3,8 ± 5,3	8,5 ± 14,0
Halo + Veíc	139,0 ± 38,6 * ☆	2,7 ± 7,2 *	1,1 ± 3,4 *	0,9 ± 2,8	4,1 ± 6,1
Sal + E	10,6 ± 18,5	47,8 ± 62,4	26,3 ± 22,2	20,9 ± 25,3	20,6 ± 29,8
Sal + Veíc	0,0 ± 0,0	16,0 ± 36,5	12,5 ± 16,5	11,4 ± 22,6	1,4 ± 3,2

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 81,02$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 3,07$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 4,68$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 2,67$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 2,54$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + E

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veíc

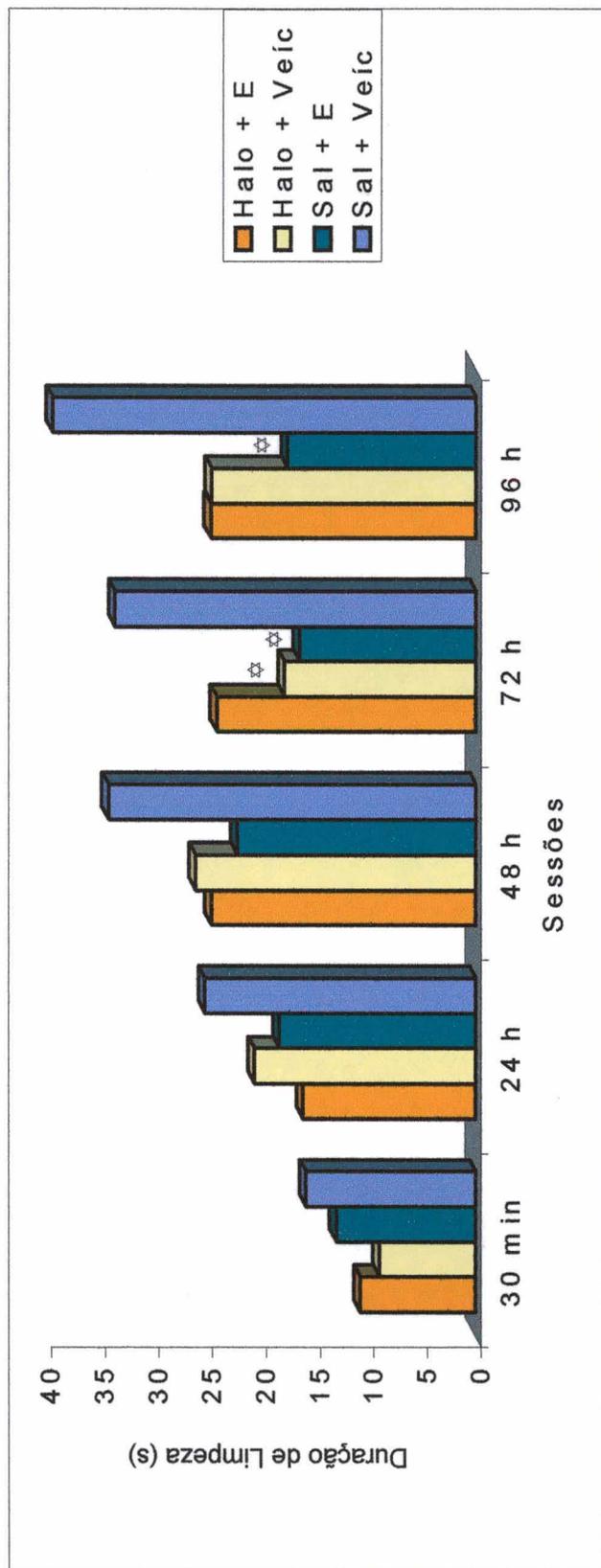


FIGURA 17 - Duração de limpeza (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{ min}} = 1,23$; $F(3,36)_{24\text{ h}} = 0,74$; $F(3,36)_{48\text{ h}} = 1,23$; $F(3,36)_{72\text{ h}} = 4,16$ e $F(3,36)_{96\text{ h}} = 4,90$. ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic.

TABELA 18 - DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Halo + E	10,8 ± 5,6	16,1 ± 6,5	24,6 ± 9,5	24,1 ± 9,8	24,7 ± 10,6
Halo + Veic	9,0 ± 5,7	20,6 ± 13,7	26,1 ± 14,6	17,8 ± 5,3 ✱	24,6 ± 13,8
Sal + E	13,0 ± 12,3	18,3 ± 18,8	22,2 ± 14,3	16,4 ± 13,4 ✱	17,5 ± 11,1 ✱
Sal + Veic	15,8 ± 7,7	25,2 ± 15,2	34,2 ± 19,0	33,6 ± 16,8	39,4 ± 16,1

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 1,23$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 0,74$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 1,23$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 4,16$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 4,90$.

✱ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veic

4.4.2 Efeitos do Tratamento Prolongado e Concomitantemente de Haloperidol e Vitamina E na Avaliação de Comportamento Estereotipado (CE) Induzido por Apomorfina

Delineamento Experimental

Quarenta ratos foram aleatoriamente divididos em 4 grupos: Sal + Veíc, Sal + E, Halo + Veíc e Halo + E. Todos os animais foram tratados prolongadamente por 30 dias (duas vezes ao dia - 9:00 e às 17:00 horas) de acordo com o seguinte esquema de tratamento:

1. **Sal + Veíc:** administrou-se Sal aos animais pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) os quais receberam o Veíc somente no período da tarde (5,0 ml/kg v.o.).
2. **Sal + E:** injetou-se Sal pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e administrou-se a vitamina E apenas no período da tarde (500 mg/kg v.o.).
3. **Halo + Veíc:** inicialmente os animais receberam Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e receberam o Veíc somente à tarde (5,0 ml/kg v.o.).
4. **Halo + E:** a este grupo foi administrado Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e a vitamina E somente à tarde (500 mg/kg v.o.).

Decorridas 100 h após a retirada dos tratamentos, todos os animais foram colocados em gaiolas metálicas individuais e receberam apomorfina (APO) 0,6 mg/kg s.c. para o registro do CE de acordo com a escala proposta por SETLERetal. (1976).

Resultados

Os resultados da Figura 18 e a Tabela 19, apresentam a mediana das somatórias dos escores do CE em animais tratados com o haloperidol ou salina concomitantemente à vitamina E ou ao veículo por 30 dias. Observou-se que o CE

dos ratos dos grupos Halo + E e Halo + Veíc, mostram um aumento significativo em relação aqueles dos grupos Sal + E enquanto os ratos do grupo Halo + E diferem ainda do grupo Sal + Veíc.

TABELA 19 - COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO DE RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas medianas e respectivos intervalos. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MEDIANA DA SOMATÓRIA	INTERVALO
Halo + E	36,5 * ☆	(27 a 41)
Halo + Veíc	32,5 *	(28 a 46)
Sal + E	23,0	(17 a 33)
Sal + Veíc	27,5	(23 a 33)

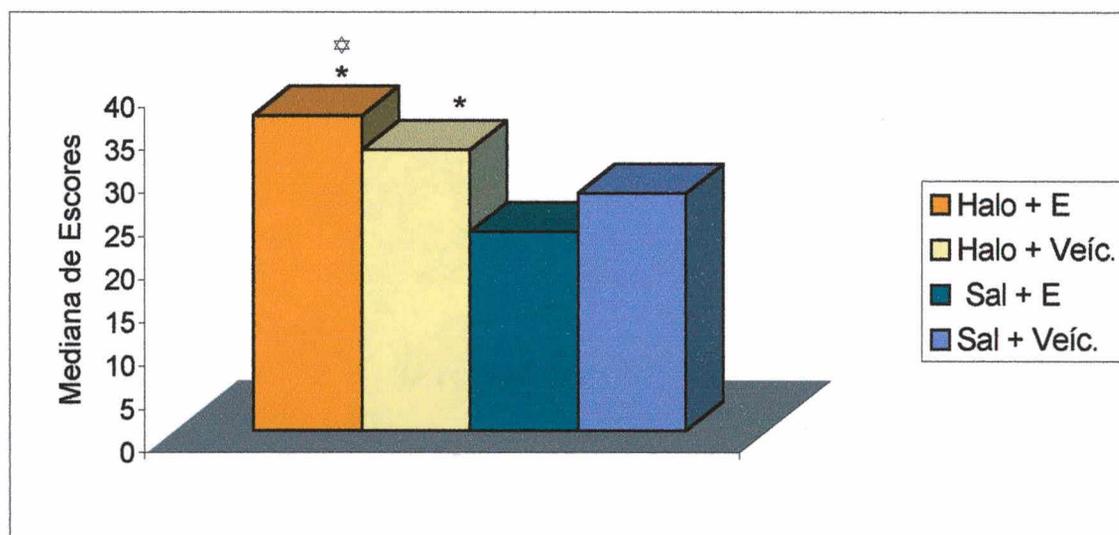


FIGURA 18 - Comportamento estereotipado de ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas medianas. Kruskal-Wallis $H(3,36) = 20,83$. * $p < 0,05$ versus grupo Sal + E, ☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Veíc.

4.5 Efeitos da Vitamina E (d-I-a-Tocoferol-Acetato, Roche) nas Frequências de Protrusão de língua (PL) e de “Vacuous Chewing Movements”(VCM) de Ratos Tratados Prolongadamente com Haloperidol

Delineamento Experimental

Foram utilizados 40 ratos divididos aleatoriamente em quatro grupos: Sal + Veíc Sal + E, Halo + Veíc e Halo + E. Todos os animais foram tratados prolongadamente por 30 dias (duas vezes ao dia - 9:00 e às 17:00 horas) de acordo com o seguinte esquema de tratamento:

1. Sal + Veíc: administrou-se Sal aos animais pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e o Veíc somente no período da tarde (5,0 ml/kg v.o.).
2. Sal + E: injetou-se Sal pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e administrou-se a vitamina E apenas no período da tarde (500 mg/kg v.o.).
3. Halo + Veíc: inicialmente os animais receberam Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e receberam o Veíc somente à tarde (5,0 ml/kg v.o.).
4. Halo + E: a este grupo foi administrado Halo nos períodos da manhã e da tarde (1,0 mg/kg i.p.) e a vitamina E apenas à tarde (500 mg/kg v.o.).

Após 48 e 72 horas da retirada do neuroléptico, os animais foram isolados em gaiolas metálicas, e alternando-se os grupos, foram observados durante 5 minutos para a avaliação da PL, do VCM.

Resultados

A Figura 19 e a Tabela 20, mostram os resultados do tratamento prolongado e concomitante do haloperidol com a vitamina E na frequência de protrusão de língua (PL). Os dados mostram que não houve diferença significativa em nenhuma das duas sessões analisadas. A Figura 20 e a Tabela 21 mostram os resultados do “vacuous

chewing movements” (VCM). Estes resultados indicam que não houve diferença significativa em nenhum grupo de animais nas sessões avaliadas.

TABELA 20 - EFEITOS DA VITAMINA E (500 mg/kg) NAS FREQUÊNCIAS DE PROTRUSÃO DE LÍNGUA EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e desvios-padrão.

TRATAMENTO	48h	72h
Halo + E	2,4 ± 1,7	1,9 ± 1,7
Halo + Veíc	3,5 ± 3,5	2,1 ± 1,5
Sal + E	1,6 ± 1,4	1,0 ± 1,7
Sal + Veíc	3,2 ± 4,0	2,1 ± 1,9

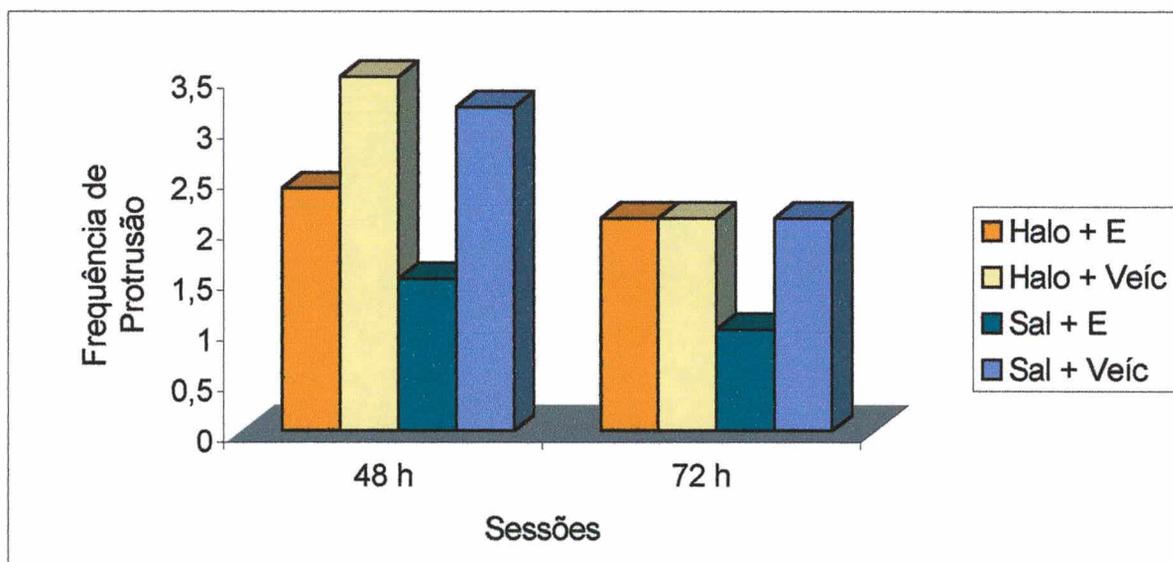


FIGURA 19 - Efeitos da vitamina E (500 mg/kg) nas frequências de protrusão de língua em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{48h} = 0,81$ e $F(3,36)_{72h} = 0,70$.

TABELA 21 - EFEITOS DA VITAMINA E (500 mg/kg) NAS FREQUÊNCIAS DE "VACUOUS CHEWING MOVEMENTS" EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e desvios-padrão.

TRATAMENTO	48h	72h
Halo + E	12,4 ± 8,6	5,5 ± 2,5
Halo + Veíc	9,1 ± 4,5	6,2 ± 3,5
Sal + E	7,9 ± 8,1	7,0 ± 7,7
Sal + Veíc	15,1 ± 11,6	5,4 ± 4,7

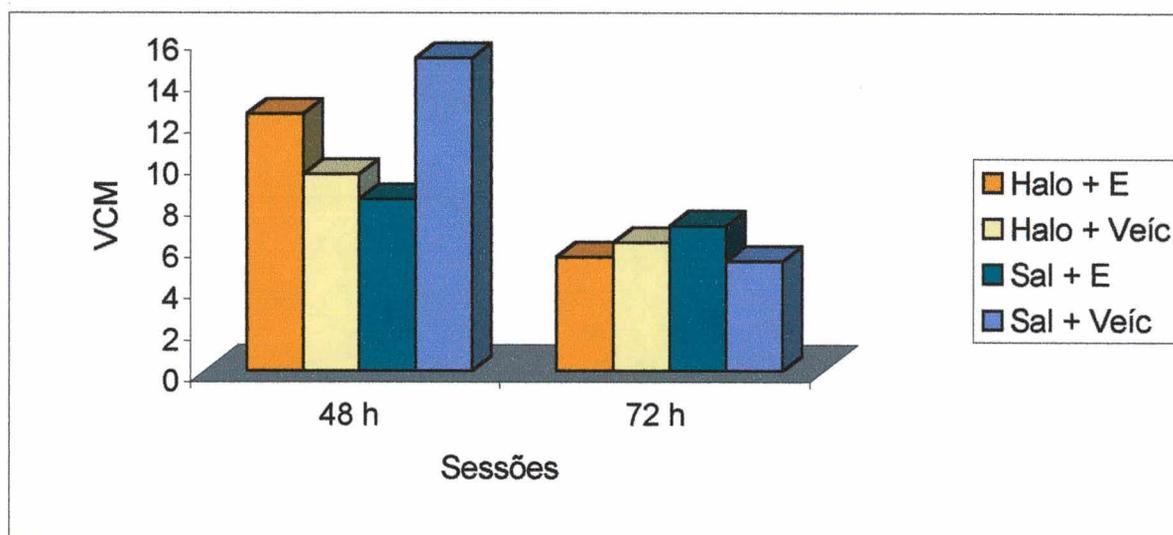


FIGURA 20 - Efeitos da vitamina E (500 mg/kg) nas frequências de "vacuous chewing movements" em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{48h} = 1,43$ e $F(3,36)_{72h} = 0,20$.

4.6 Efeitos da Administração Aguda de Vitamina C (Ácido Ascórbico, Roche) e Vitamina E (d-l-a-Tocoferol, Roche) na Atividade Geral (ATG) de Ratos Tratados Agudamente com Haloperidol

Delineamento Experimental

Foram utilizados 60 ratos divididos aleatoriamente em seis grupos: Sal + Sal, Sal + C, Halo + Sal, Halo + C, Sal + C + E e Halo + C + E. Os animais foram tratados no período da manhã, de acordo com o seguinte procedimento:

1. **Sal + Sal:** administrou-se Sal aos animais e 30 minutos após receberam outra injeção de Sal (1,0 ml/kg i.p.).
2. **Sal + C:** injetou-se Sal (1,0 ml/kg i.p.) e 30 minutos após, administrou-se a vitamina C (50 mg/kg i.p.).
3. **Halo + Sal:** os animais receberam Halo (1,0 mg/kg i.p.) e 30 minutos após receberam a Sal (1,0 ml/kg i.p.).
4. **Halo + C:** a este grupo foi administrado Halo (1,0 mg/kg i.p.) e 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.).
5. **Sal + C + E:** inicialmente os animais receberam a Sal (1,0 ml/kg i.p.), 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). Finalmente, após 30 minutos receberam a vitamina E (500 mg/kg v.o.).
6. **Halo + C + E:** os animais receberam o Halo (1,0 mg/kg i.p.), após 30 minutos receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). Finalmente, após 30 minutos receberam a vitamina E (500 mg/kg v.o.).

Decorridos 30 minutos após a última administração de cada grupo, os animais foram colocados em um campo aberto (CA) para a observação da ATG. Foram verificados os parâmetros de LO, LE, DI e LIM.

Resultados

As Figuras 21 e 22 e as Tabelas 22 e 23 mostram os efeitos da administração aguda de haloperidol, vitamina C e vitamina E nas frequências de LO e LE, enquanto que as Figuras 23 e 24 e as Tabelas 24 e 25 mostram a DI e de LIM. Os resultados indicam que o haloperidol administrado agudamente resultou em uma diminuição significativa da LO (Fig. 21 e Tab. 22) e do LE (Fig. 22 e Tab. 23) em comparação aos animais que receberam salina. Além disso, o LE dos animais do grupo Sal + C + E foi significativamente menor que aqueles do grupo Sal + Sal. Quanto à DI (Fig. 23 e Tab. 24), verificou-se um aumento significativo nos ratos dos grupos que receberam haloperidol em comparação aos ratos que receberam salina. Também, observou-se um aumento deste parâmetro nos animais do grupo Halo + C + E quando comparados aos animais do grupo Halo + Sal. Finalmente, a Figura 24 e a Tabela 25, mostram a duração de LIM dos animais, este parâmetro foi significativamente menor nos animais que receberam haloperidol em comparação aos animais dos grupos Sal + C e Sal + C + E. Finalmente, observou-se um aumento significativo deste parâmetro nos animais do grupo Sal + C em comparação aos ratos do grupo Sal + Sal.

TABELA 22 - FREQUÊNCIA DE LOCOMOÇÃO DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.), VITAMINA C (50 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Sal + Sal	81,0	18,8
Sal + C	69,8	22,2
Halo + Sal	4,0	6,6 * ☆ ☆
Halo + C	3,4	9,0 * ☆ ☆
Sal + C + E	63,8	22,8
Halo + C + E	0,4	1,2 * ☆ ☆

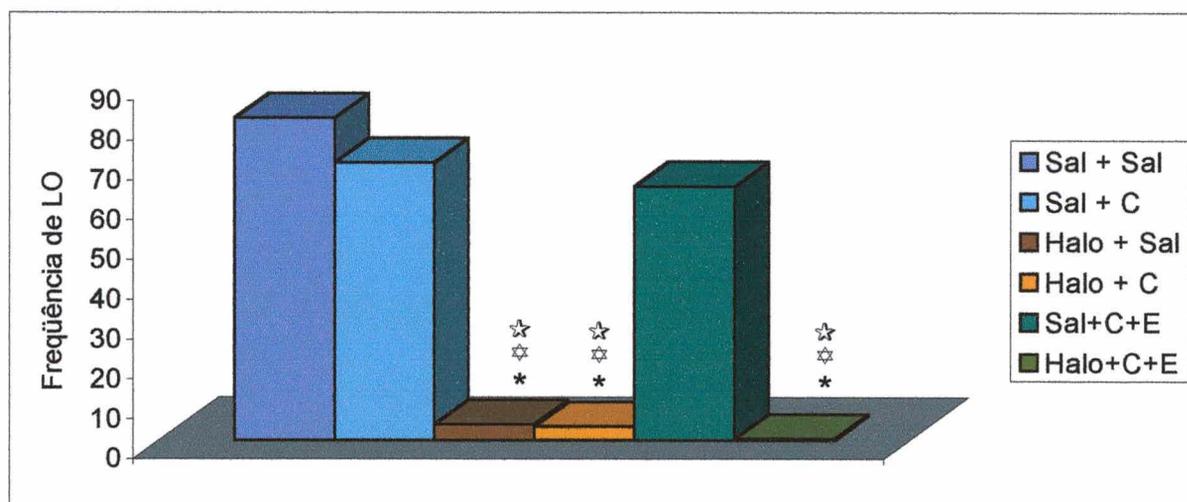


FIGURA 21 - Frequência de locomoção de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.), vitamina C (50 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 58,2$. * $p < 0,001$ versus Sal + C ; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Sal; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + C + E.

TABELA 23 - FREQUÊNCIA DE LEVANTAR DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.), VITAMINA C (50 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Sal + Sal	29,0	8,3
Sal + C	33,4	11,5
Halo + Sal	1,0	1,4 * ☆ ☆
Halo + C	1,9	5,0 * ☆ ☆
Sal + C + E	19,3	8,1 * ☆
Halo + C + E	0,3	0,9 * ☆ ☆

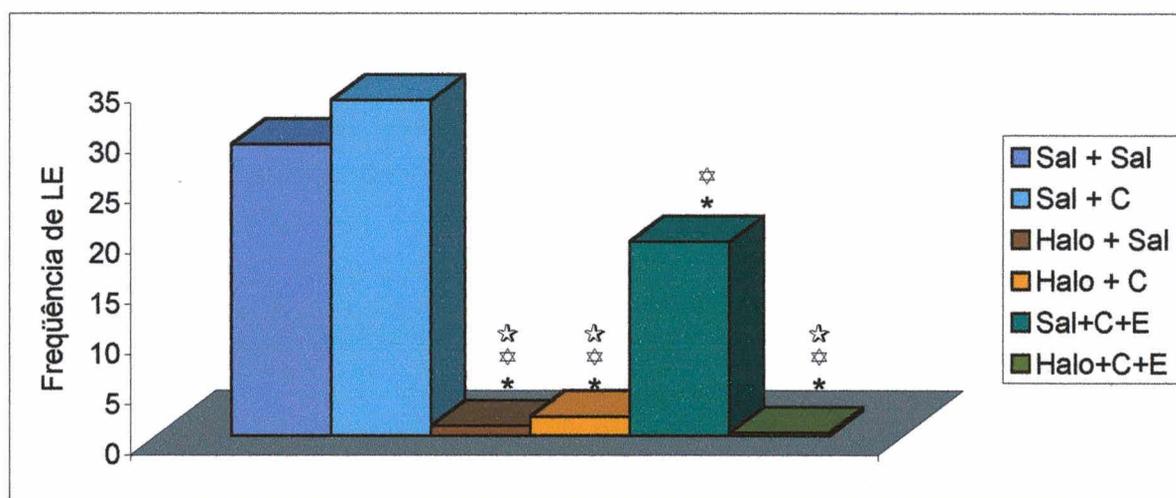


FIGURA 22 - Frequência de levantar de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.), vitamina C (50 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 45,5$. * $p < 0,001$ e $p < 0,05$ versus Sal + C ; ☆ $p < 0,001$ e $p < 0,05$ versus Sal + Sal; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + C + E.

TABELA 24 - DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.), VITAMINA C (50 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Sal + Sal	8,5	13,8
Sal + C	9,0	9,9
Halo + Sal	218,8	18,5 * ☆ ☆
Halo + C	240,0	38,1 * ☆ ☆
Sal + C + E	26,3	20,1
Halo + C + E	258,6	31,4 * ☆ ☆ ☆ †

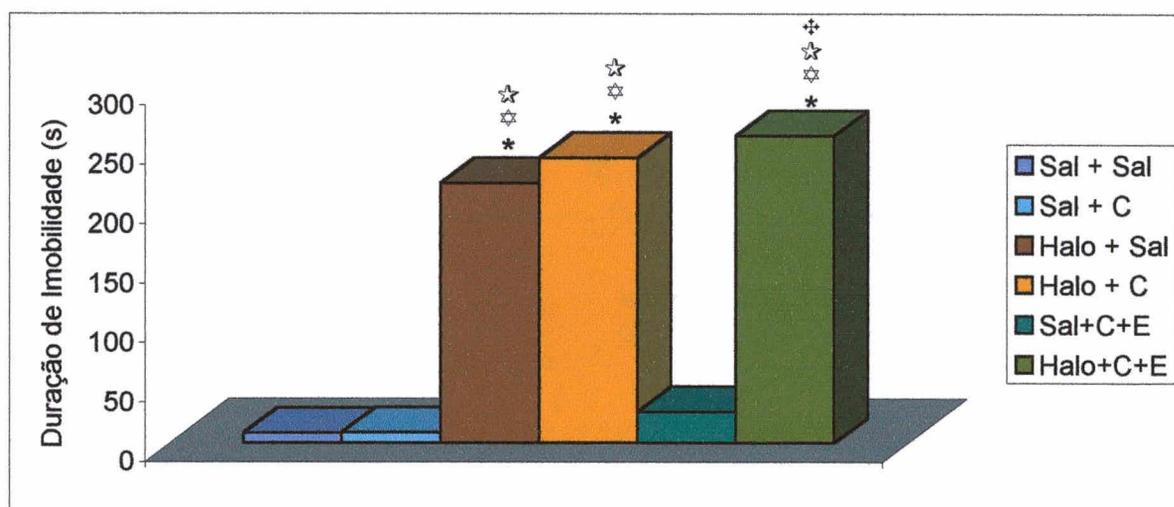


FIGURA 23 - Duração de imobilidade (segundos) de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.), vitamina C (50 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 263,8$. * $p < 0,001$ versus Sal + C; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + Sal; ☆ $p < 0,001$ versus Sal + C + E; † $p < 0,01$ versus Halo + Sal.

TABELA 25 - DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) DE ANIMAIS TRATADOS AGUDAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.), VITAMINA C (50 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Sal + Sal	11,9	6,3
Sal + C	26,8	19,37 ☆
Halo + Sal	6,6	6,1 *
Halo + C	3,6	8,7 * ☆
Sal + C + E	18,5	12,9
Halo + C + E	3,7	5,0 * ☆

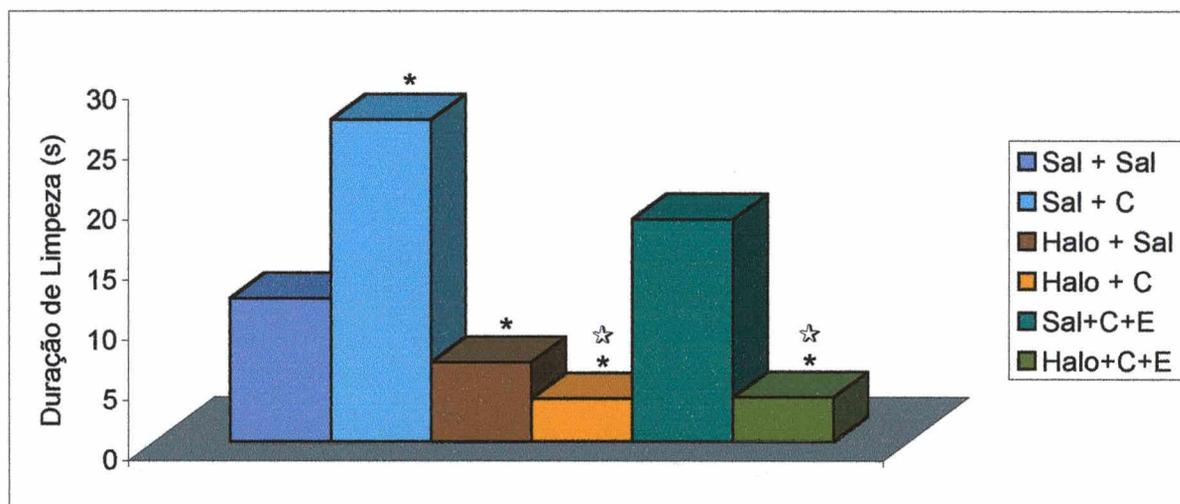


FIGURA 24 - Duração de limpeza (segundos) de animais tratados agudamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.), vitamina C (50 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36) = 7,1$. * $p < 0,01$ e $p < 0,001$ versus Sal + C ; ☆ $p < 0,05$ versus Sal + Sal; ☆ $p < 0,05$ versus Sal + C + E.

4.7 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol, Vitamina C (Ácido Ascórbico, Roche) e Vitamina E (d-l-a-Tocoferol, Roche) na ATG e no CE de Ratos

4.7.1 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol, Vitamina C e Vitamina E na ATG dos Animais

Delineamento Experimental

Foram utilizados 60 ratos divididos aleatoriamente em seis grupos: Sal + Sal, Sal + C, Halo + Sal, Halo + C, Sal + C + E e Halo + C + E. Todos os animais foram tratados prolongadamente por 30 dias (duas vezes ao dia - 9:00 e às 17:00 horas) de acordo com o seguinte esquema de tratamento:

1. Sal + Sal: administrou-se Sal aos animais no período da manhã e da tarde (1,0 ml/kg i.p.). Após 30 minutos, este procedimento foi repetido.
2. Sal + C: injetou-se Sal pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e 30 minutos após cada injeção, administrou-se a vitamina C (50 mg/kg i.p.).
3. Halo + Sal: os animais receberam Halo (1,0 mg/kg i.p.) e 30 minutos após receberem a Sal (1,0 ml/kg i.p.).
4. Halo + C: a este grupo foi administrado Halo (1,0 mg/kg i.p.) e 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.).
5. Sal + C + E: inicialmente os animais receberam pela manhã a Sal (1,0 ml/kg i.p.), e 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). No período da tarde, administrou-se a Sal (1,0 mg/kg i.p.), 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). Finalmente, após 30 minutos receberam a vitamina E (500 mg/kg v.o.).
6. Halo + C + E: os animais receberam o Halo (1,0 mg/kg i.p.), e 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). No período da tarde, administrou-se o Halo (1,0 mg/kg i.p.), e após 30 minutos receberam a

vitamina C (50 mg/kg i.p.). Finalmente, após 30 minutos receberam a vitamina E (500 mg/kg v.o.).

Após a sexagésima injeção do haloperidol, ou salina, o tratamento foi interrompido e os animais foram observados para a avaliação da ATG em um campo aberto. Foram verificados os parâmetros de LO, LE, DI e LIM. Este procedimento foi realizado aos 30 min., 24, 48, 72 e 96 hs após a retirada do haloperidol.

Resultados

As Figuras 25 e 26 e as Tabelas 26 e 27 mostram os efeitos do haloperidol, da vitamina E e da vitamina C nas frequências de LO e LE. As Figuras 27 e 28 e as Tabelas 28 e 29 ilustram a duração (s) de imobilidade (DI) e de limpeza (LIM) de ratos tratados prolongadamente e concomitantemente com estas drogas.

Após 30 min. da retirada do neuroléptico, observou-se uma diminuição significativa das frequências de LO (Fig. 25 e Tab. 26) e de LE (Fig. 26 e Tab. 27) dos animais dos grupos Halo + Sal, Halo + C e Halo + C + E, além de aumento significativo da DI destes (Fig. 27 e Tab. 28) em relação aos animais dos grupos Sal + Sal, Sal + C e Sal + C + E. Mais ainda, a LIM (Fig. 28 e Tab. 29) não foi alterada em todos os tratamentos.

A observação dos animais 24 hs após a retirada, mostrou que a locomoção (Fig. 25 e Tab. 26) foi significativamente maior nos ratos dos grupos Halo + Sal quando comparados aos animais dos grupos Sal + Sal, Sai + C e Sal + C + E. Em adição, os dados mostram um aumento significativo deste parâmetro dos ratos dos grupos Halo + C e Halo + C + E em comparação aos animais dos grupos Sal + C e Sal + C + E. Quanto ao LE (Fig. 26 e Tab. 27), não foram observadas diferenças entre os grupos. A DI (Fig. 27 e Tab. 28) foi significativamente menor nos animais dos grupos Halo + Sal, Halo + C e Halo + C + E em comparação aos ratos do grupo Sal + C + E. Mais ainda, este grupo foi significativamente maior em relação aos

animais dos grupos Sal + Sal e Sal + C. Quanto à LIM, não foram verificadas diferenças significantes nos grupos de animais estudados (Fig. 28 e Tab. 29).

A observação dos animais, 48 hs após a retirada do haloperidol, mostrou aumento significativo da frequência de LO (Fig. 25 e Tab. 26) dos animais do grupo Halo + Sal em relação aos ratos que receberam salina. Além disso, os ratos do grupo Halo + C + E mostraram aumento significativo deste parâmetro quando comparado com aqueles do grupo Sal + C. O LE (Fig. 26 e Tab. 27) do grupo Halo + Sal foi significativamente maior que aquele dos grupos Sal + C e Halo + C + E. No parâmetro DI, (Fig. 27 e Tab. 28) houve uma diminuição significativa dos animais dos grupos Halo + Sal e Halo + C e Halo + C + E em relação aos animais do grupo Sal + C + E, o qual ainda foi significativamente maior em relação aos ratos do grupo Sal + Sal. A LIM (Fig. 28 e Tab. 29) não foi alterada em todos os tratamentos.

Após 72 hs da retirada do haloperidol, observou-se aumento na LO (Fig. 25 e Tab. 26) dos animais dos grupos Halo + Sal, Halo + C e Halo + C + E em comparação aos animais do grupo Sal + C + E. Não foram observadas diferenças entre todos os grupos de animais nos parâmetros LE (Fig. 26 e Tab. 27) e LIM (Fig. 28 e Tab. 29). Quando se analisou o efeito dos tratamentos na DI (Fig. 27 e Tab. 28) foi observado aumento significativo nos animais do grupo Sal + C + E em comparação aos demais grupos estudados.

Finalmente, 96 hs após a retirada, verificou-se que as frequências de LO (Fig. 25 e Tab. 26) dos animais do grupo Halo + Sal foram significativamente maiores em comparação com aquelas observadas nos ratos dos grupos Sal + C e Sal + C + E. Não foram registradas diferenças significantes entre os grupos estudados nos parâmetros LE (Fig. 26 e Tab. 27), DI (Fig. 27 e Tab. 28) e LIM (Fig. 28 e Tab. 29).

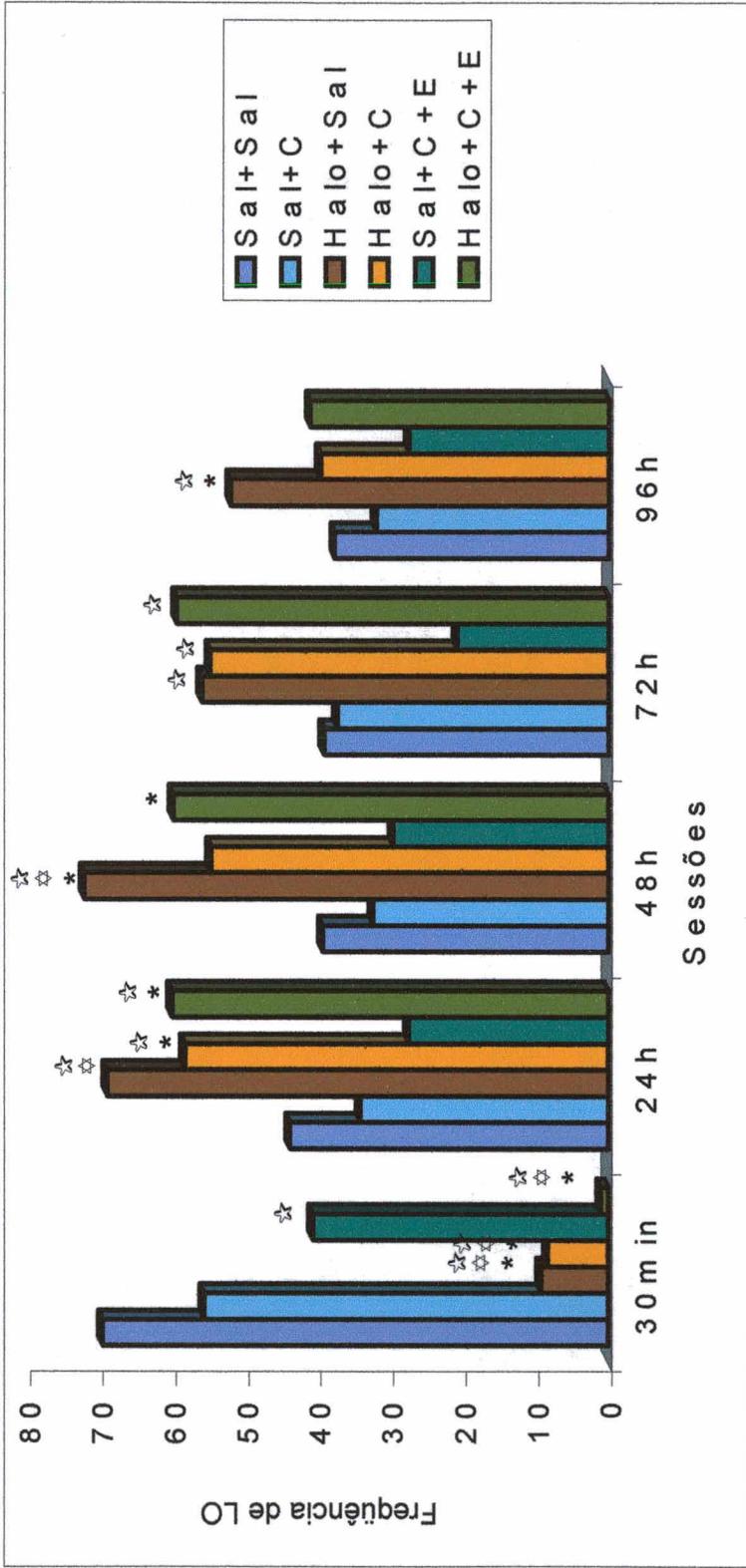


Figura 25 - Frequência de locomoção em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina E (500 mg/kg) e vitamina C (50 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{min}} = 69,63$; $F(3,36)_{24\text{h}} = 7,35$; $F(3,36)_{48\text{h}} = 7,14$; $F(3,36)_{72\text{h}} = 4,82$ e $F(3,36)_{96\text{h}} = 2,67$. * $p < 0,05$ versus Sal + C, ☆ $p < 0,05$ versus Sal + Sal, ☆ $p < 0,05$ versus Sal + C + E.

TABELA 26 - FREQUÊNCIA DE LOCOMOÇÃO EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA C (50 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Sal + Sal	69,5 ± 12,5	43,8 ± 14,1	39,3 ± 19,9	39,1 ± 12,5	37,6 ± 10,2
Sal + C	55,6 ± 14,8	34,1 ± 9,0	32,3 ± 12,6	37,2 ± 14,2	31,9 ± 12,3
Halo + Sal	9,3 ± 11,0 * ☆ ☆	68,9 ± 18,8 * ☆ ☆	72,1 ± 21,5 * ☆ ☆	55,9 ± 22,6 ☆	52,0 ± 15,4 * ☆
Halo + C	8,3 ± 8,5 * ☆ ☆	58,3 ± 22,2 * ☆	54,7 ± 18,8	54,8 ± 15,3 ☆	39,6 ± 12,6
Sal + C + E	40,6 ± 10,8 ☆	27,4 ± 14,9	29,6 ± 13,1	20,8 ± 12,6	27,4 ± 22,5
Halo + C + E	1,0 ± 1,4 * ☆ ☆	60,0 ± 18,6 * ☆	59,8 ± 20,9 *	59,4 ± 24,7 ☆	41,0 ± 17,5

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{ min}} = 69,63$; $F(3,36)_{24\text{ h}} = 7,35$; $F(3,36)_{48\text{ h}} = 7,14$; $F(3,36)_{72\text{ h}} = 4,82$ e $F(3,36)_{96\text{ h}} = 2,67$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + C

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Sal

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + C + E

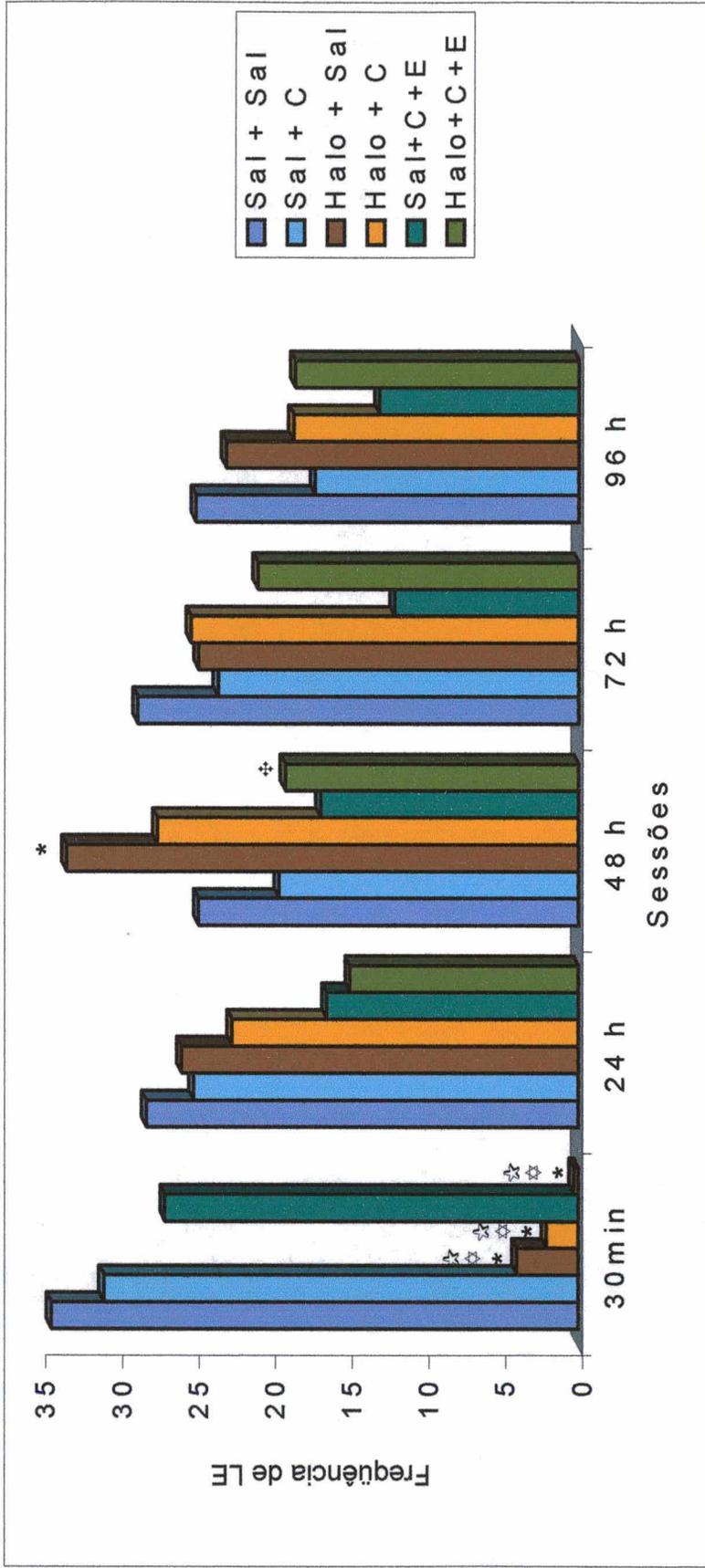


Figura 26 - Frequência de levantar em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina C (50 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{min}} = 52,09$; $F(3,36)_{24\text{h}} = 1,96$; $F(3,36)_{48\text{h}} = 3,18$; $F(3,36)_{72\text{h}} = 1,97$, e $F(3,36)_{96\text{h}} = 1,87$. * $p < 0,05$ versus Sal + C, ☆ $p < 0,05$ versus Sal + Sal, † $p < 0,05$ versus Sal + C + E, ‡ $p < 0,05$ versus Halo + Sal.

TABELA 27 - FREQUÊNCIA DE LEVANTAR EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA C (50 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Sal + Sal	34,4 ± 7,9	28,2 ± 9,94	24,8 ± 9,3	28,8 ± 10,2	25,0 ± 8,5
Sal + C	31,0 ± 11,1	25,1 ± 15,5	19,5 ± 10,6	23,5 ± 9,0	17,2 ± 8,1
Halo + Sal	4,0 ± 4,08 * ☆ ☆	25,9 ± 11,0	33,4 ± 14,1 *	24,8 ± 14,0	23,0 ± 11,5
Halo + C	2,1 ± 2,4 * ☆ ☆	22,6 ± 14,5	27,5 ± 10,6	25,3 ± 10,6	18,6 ± 4,2
Sal + C + E	27,0 ± 9,6	16,4 ± 3,7	16,8 ± 8,0	12,0 ± 5,6	13,0 ± 4,6
Halo + C + E	0,3 ± 0,48 * ☆ ☆	14,9 ± 4,7	19,1 ± 6,4 ‡	20,9 ± 8,5	18,5 ± 10,3

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30 \text{ min}} = 52,09$; $F(3,36)_{24 \text{ h}} = 1,96$; $F(3,36)_{48 \text{ h}} = 3,18$; $F(3,36)_{72 \text{ h}} = 1,97$ e $F(3,36)_{96 \text{ h}} = 1,87$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + C

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Sal

☆☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + C + E

‡ $p < 0,05$ versus grupo Halo + Sal

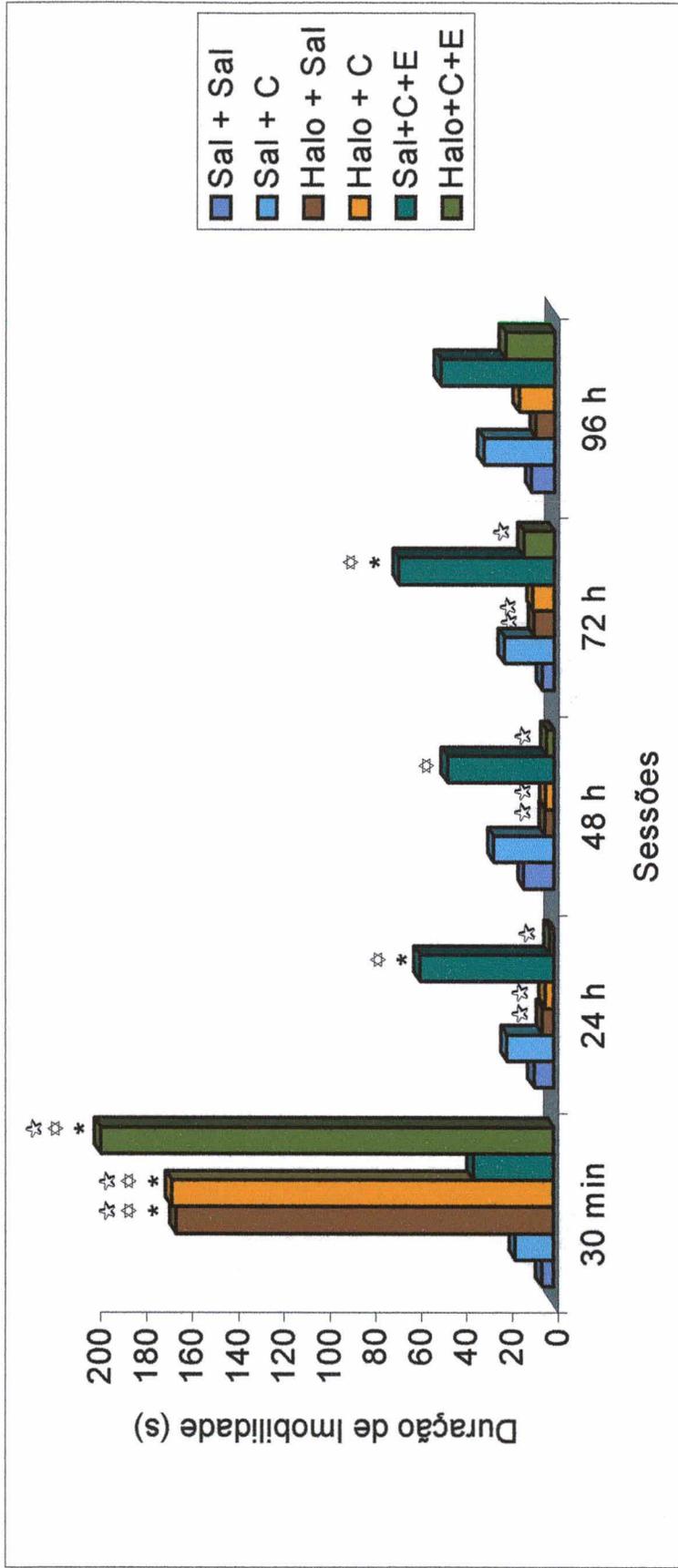


Figura 27 - Duração de imobilidade (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina C (50 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{min}} = 83,75$; $F(3,36)_{24\text{h}} = 10,39$; $F(3,36)_{48\text{h}} = 4,82$; $F(3,36)_{72\text{h}} = 4,72$ e $F(3,36)_{96\text{h}} = 1,99$. * $p < 0,05$ versus Sal + C, ☆ $p < 0,05$ versus Sal + Sal, ☆ $p < 0,05$ versus Sal + C + E.

TABELA 28 - DURAÇÃO DE IMOBILIDADE (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA C (50 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Sal + Sal	4,9 ± 11,3	8,5 ± 15,8	13,0 ± 26,9	5,1 ± 11,0	9,8 ± 12,7
Sal + C	16,5 ± 23,3	20,2 ± 31,1	26,3 ± 34,0	21,6 ± 24,4	30,9 ± 37,2
Halo + Sal	165,0 ± 40,0 * ☆ ☆	4,8 ± 8,7 ☆	3,9 ± 12,3 ☆	8,6 ± 19,9 ☆	8,0 ± 14,6
Halo + C	167,0 ± 39,3 * ☆ ☆	3,8 ± 5,5 ☆	3,5 ± 10,0 ☆	9,2 ± 24,0 ☆	15,4 ± 35,9
Sal + C + E	35,0 ± 8,8	58,6 ± 16,3 * ☆	46,6 ± 15,2 ☆	67,8 ± 41,8 * ☆	49,8 ± 34,5
Halo + C + E	197,8 ± 29,3 * ☆ ☆	1,6 ± 3,4 ☆	3,2 ± 5,6 ☆	13,2 ± 34,7 ☆	21,3 ± 31,1

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{min}} = 83,75$; $F(3,36)_{24\text{h}} = 10,39$; $F(3,36)_{48\text{h}} = 4,82$; $F(3,36)_{72\text{h}} = 4,72$ e $F(3,36)_{96\text{h}} = 1,99$.

* $p < 0,05$ versus grupo Sal + C

☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + Sal

☆☆ $p < 0,05$ versus grupo Sal + C

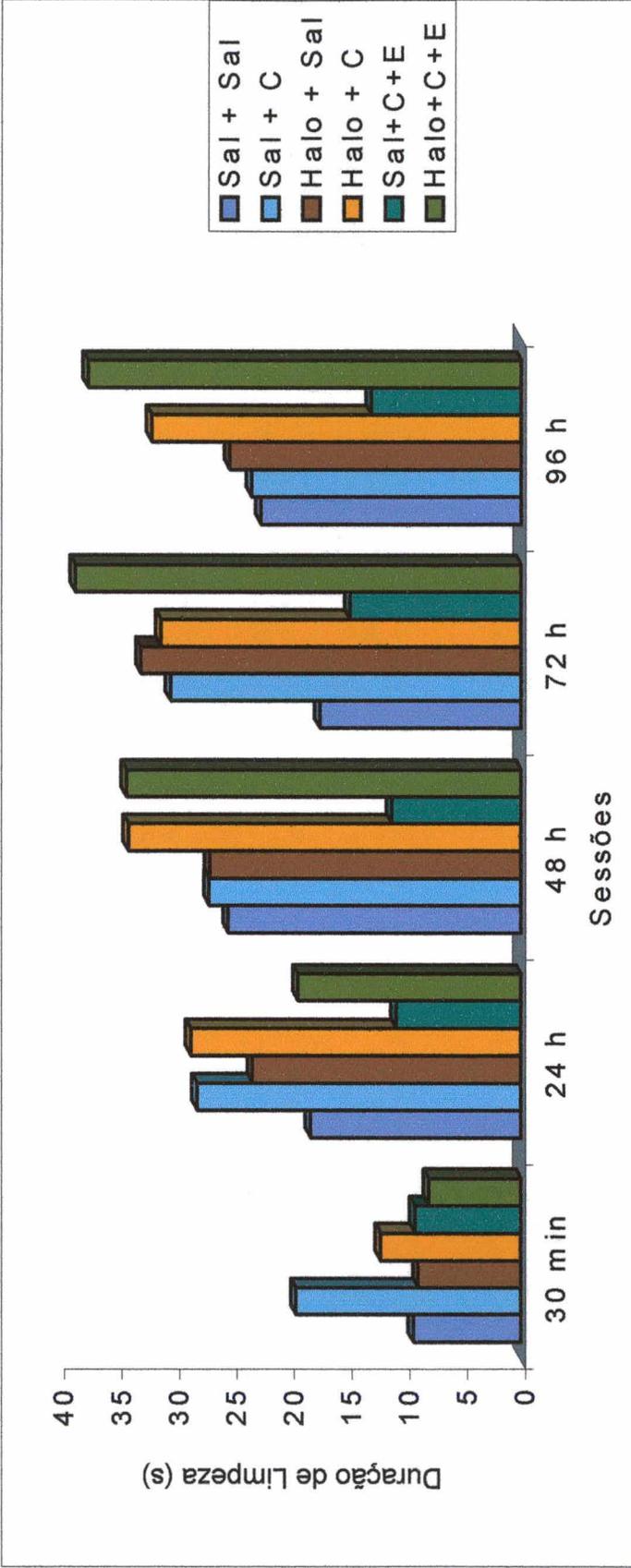


Figura 28 - Duração de limpeza (segundos) em ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina C (50 mg/kg) e vitamina E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{min}} = 1,59$; $F(3,36)_{24\text{h}} = 1,30$; $F(3,36)_{48\text{h}} = 1,30$; $F(3,36)_{72\text{h}} = 1,52$ e $F(3,36)_{96\text{h}} = 1,40$.

TABELA 29 - DURAÇÃO DE LIMPEZA (SEGUNDOS) EM RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA C (50 mg/kg) E VITAMINA E (500 mg/kg). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	30 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	96 HORAS
Sal + Sal	9,3 ± 9,6	18,2 ± 9,8	25,4 ± 12,4	17,4 ± 13,6	22,6 ± 21,1
Sal + C	19,5 ± 18,1	28,1 ± 21,2	27,1 ± 21,9	30,4 ± 27,3	23,4 ± 18,2
Halo + Sal	8,9 ± 6,2	23,3 ± 11,7	27,0 ± 11,9	33,0 ± 17,0	25,3 ± 13,3
Halo + C	12,2 ± 9,6	28,7 ± 21,7	34,1 ± 21,8	31,3 ± 16,3	32,1 ± 20,9
Sal + C + E	9,2 ± 7,3	10,8 ± 9,2	11,2 ± 11,1	14,8 ± 11,4	13,0 ± 8,0
Halo + C + E	8,0 ± 6,7	19,3 ± 14,2	34,3 ± 24,0	38,7 ± 31,1	37,6 ± 26,1

Anova seguido do teste de Tukey. $F(3,36)_{30\text{min}} = 1,59$; $F(3,36)_{24\text{h}} = 1,30$; $F(3,36)_{48\text{h}} = 1,30$; $F(3,36)_{72\text{h}} = 1,52$ e $F(3,36)_{96\text{h}} = 1,40$.

4.7.2 Efeitos do Tratamento Prolongado e Concomitantemente de Haloperidol, Vitamina C e Vitamina E na Avaliação de Comportamento Estereotipado (CE) Induzido por Apomorfina

Delineamento Experimental

Foram utilizados 60 ratos divididos aleatoriamente em seis grupos: Sal + Sal, Sal + C, Halo + Sal, Halo + C, Sal + C + E e Halo + C + E. Os animais foram tratados duas vezes ao dia (9:00 e às 17:00 hs), de acordo com o seguinte procedimento:

1. **Sal + Sal:** administrou-se Sal aos animais no período da manhã e da tarde (1,0 ml/kg i.p.). Após 30 minutos, este procedimento foi repetido.
2. **Sal + C:** injetou-se Sal pela manhã e à tarde (1,0 ml/kg i.p.) e 30 minutos após cada injeção, administrou-se a vitamina C (50 mg/kg i.p.).
3. **Halo + Sal:** os animais receberam Halo (1,0 mg/kg i.p.) e 30 minutos após receberam a Sal (1,0 ml/kg i.p.).
4. **Halo + C:** a este grupo foi administrado Halo (1,0 mg/kg i.p.) e 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.).
5. **Sal + C + E:** inicialmente os animais receberam pela manhã a Sal (1,0 ml/kg i.p.), e 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). No período da tarde, administrou-se a Sal (1,0 ml/kg i.p.), 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). Finalmente, após 30 minutos os ratos receberam a vitamina E (500 mg/kg v.o.).
6. **Halo + C + E:** os animais receberam o Halo (1,0 mg/kg i.p.), e 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). No período da tarde, administrou-se o Halo (1,0 mg/kg i.p.), e 30 minutos após receberam a vitamina C (50 mg/kg i.p.). Finalmente, após 30 minutos os animais receberam a vitamina E (500 mg/kg v.o.).

Decorridas 100 horas após a retirada dos tratamentos, todos os animais foram colocados em gaiolas metálicas individuais e receberam apomorfina (APO)

0,6 mg/kg s.c. para o registro do CE de acordo com a escala proposta por SETLERetal. (1976).

Resultados

A Figura 29 e a Tabela 30, mostram o CE em ratos tratados com haloperidol ou salina, concomitantemente a vitamina E e/ou a vitamina C por 30 dias. Os dados estão representados pela mediana das somatórias. Os resultados mostram que não foram verificadas diferenças significantes entre os grupos tratados.

TABELA 30 - COMPORTAMENTO ESTEREOTIPADO DE RATOS TRATADOS PROLONGADA E CONCOMITANTEMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg), VITAMINA E (500 mg/kg) E VITAMINA C (50 mg/kg). Os valores estão representados pelas medianas e respectivos intervalos.

TRATAMENTO	MEDIANA DA SOMATÓRIA	INTERVALO
Sal + Sal	28,0	(24 a 35)
Sal + C	28,0	(18 a 36)
Halo + Sal	35,0	(18 a 45)
Halo + C	33,0	(27 a 41)
Sal + C +E	31,0	(23 a 36)
Halo + C + E	32,0	(24 a 44)

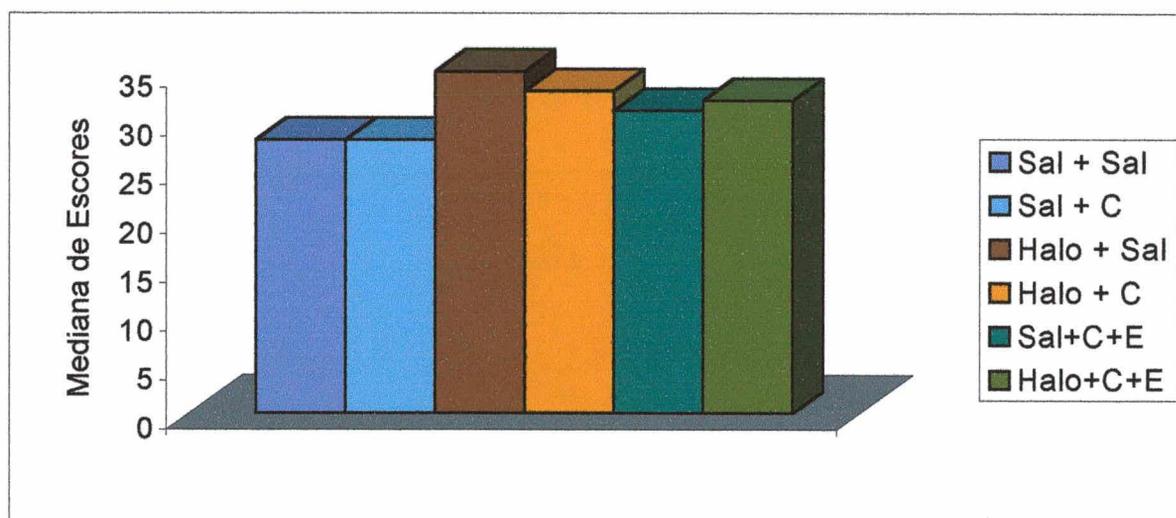


FIGURA 29 - Comportamento estereotipado de ratos tratados prolongada e concomitantemente com haloperidol (1,0 mg/kg), vitamina E (500 mg/kg) e vitamina C (50 mg/kg). Os valores estão representados pelas medianas. Kruskal-Wallis $H(3,36) = 7,79$.

4.8 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E (d-l- α -Tocoferol-Acetato, Roche) na Atividade das Enzimas Antioxidantes

4.8.1 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E na Determinação de GSH, GSSG e na Avaliação da Razão GSSG/GSH

Delineamento Experimental

Foram utilizados 36 ratos tratados como a seguir descrito, e que foram divididos em 4 grupos: **Sal + Veíc**, **Sal + E**, **Halo + Veíc** e **Halo + E**. Todos os animais foram tratados prolongadamente por 30 dias (duas vezes ao dia, 9:00 e às 17:00 horas) de acordo com o seguinte tratamento:

1. **Sal + Veíc**: administrou-se Sal aos animais (n = 10, 1,0 ml/kg i.p.). À tarde, repetiu-se este procedimento e após 30 minutos receberam o Veíc (5,0 ml/kg v.o.).
2. **Sal + E**: injetou-se Sal aos animais (n = 7, 1,0 ml/kg i.p.). À tarde os animais receberam Sal e após 30 minutos, administrou-se a vitamina E (500 mg/kg v.o.).
3. **Halo + Veíc**: os animais (n = 10) receberam Halo (1,0 mg/kg i.p.). Às 17:00 hs este procedimento foi repetido e decorridos 30 minutos, injetou-se o Veíc (5,0 ml/kg v.o.).
4. **Halo + E**: a este grupo (n = 9) foi administrado Halo (1,0 mg/kg i.p.). À tarde os ratos foram injetados novamente com haloperidol e após 30 minutos injetou-se a vitamina E (500 mg/kg v.o.).

Decorridas 72 horas após a retirada do haloperidol, ou salina, os animais foram sacrificados e seus cérebros foram dissecados conforme o procedimento descrito no item 3.4.1.

Resultados

As Figuras 30, 31 e 32 e as Tabelas 31, 32 e 33 mostram a determinação da GSH, GSSG, e da razão GSSG/GSH respectivamente nos estriados de ratos tratados com haloperidol ou salina, concomitantemente à vitamina E ou veículo por 30 dias. Os valores estão representados pelas médias. Em relação ao GSH (Fig. 30 e Tab.31), foi registrado aumento significativo desta enzima nos estriados dos ratos do grupo Sal + E em comparação aos animais dos grupos Sal + Veíc e Halo + E. Além disso, os resultados mostram diminuição de GSSG (Fig. 31 e Tab.32) nos estriados dos animais do grupo Halo + E em comparação ao grupo Sal + E. Quando se analisou a razão GSSG/GSH (Fig. 32 e Tab. 33) não foram observadas diferenças significantes entre os grupos de animais.

TABELA 31 - AVALIAÇÃO DA GLUTATIONA TOTAL (GSH) NO ESTRIADO DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	1,041	0,211 ☆
Halo + Veíc	1,128	0,224
Sal + E	1,296	0,100 *
Sal + Veíc	1,021	0,202

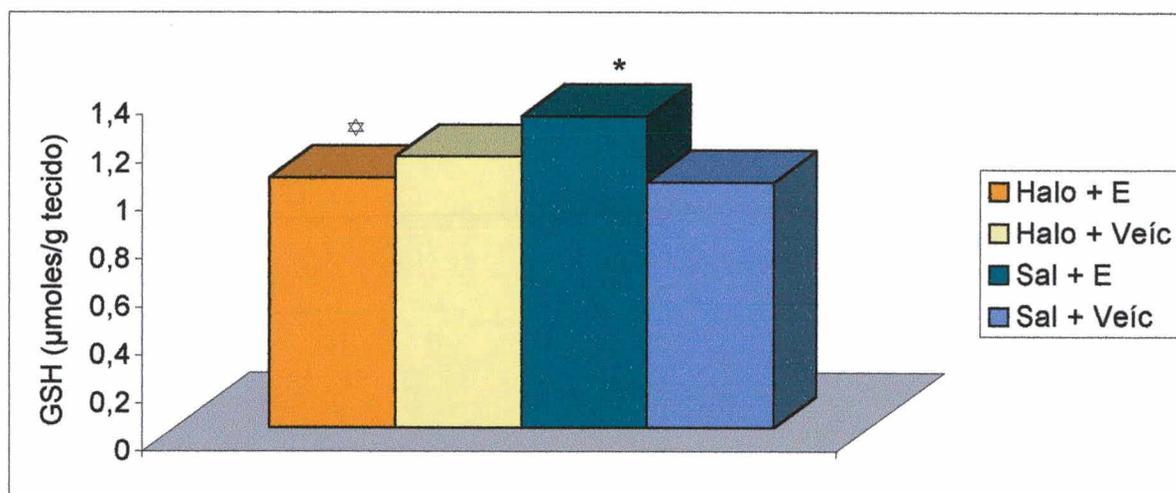


Figura 30 - Avaliação da glutatona total (GSH) no estriado de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Duncan. * $p < 0,05$ versus Sal + Veíc. ☆ $p < 0,05$ versus Sal + E.

TABELA 32 - DETERMINAÇÃO DA GLUTATIONA OXIDADA (GSSG) NO ESTRIADO DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão. A significância está representada junto ao gráfico abaixo.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	0,402	0,044 ☆
Halo + Veíc	0,417	0,032
Sal + E	0,445	0,026
Sal + Veíc	0,413	0,024

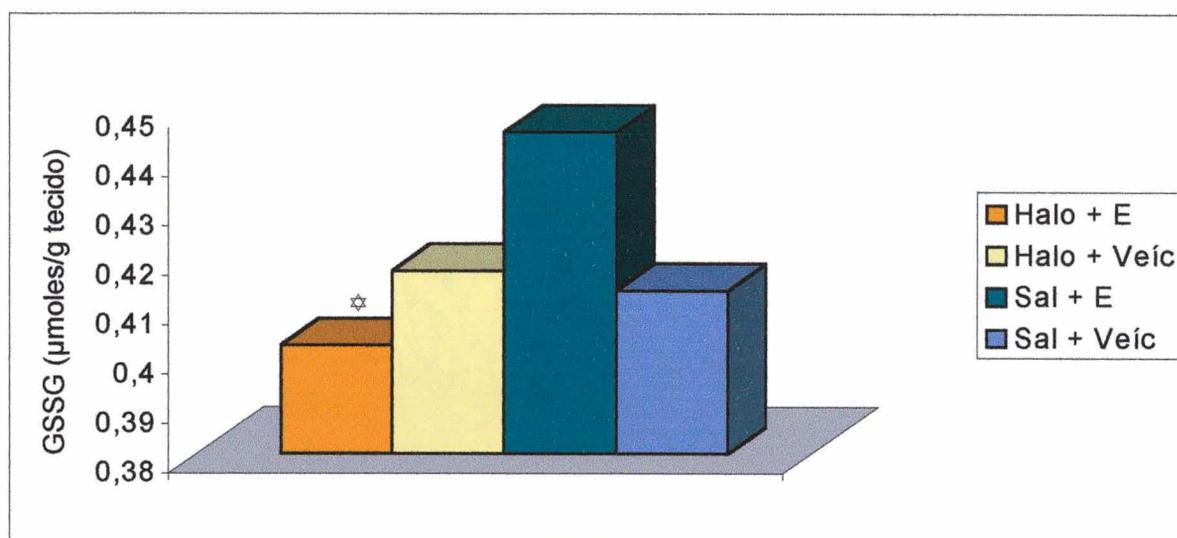


Figura 31 - Determinação da glutatona oxidada (GSSG) no estriado de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Duncan. ☆ $p < 0,05$ versus Sal + E.

TABELA 33 - DETERMINAÇÃO DA RAZÃO GSSG/GSH NO ESTRIADO DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	0,406	0,122
Halo + Veíc	0,382	0,076
Sal + E	0,345	0,028
Sal + Veíc	0,422	0,107

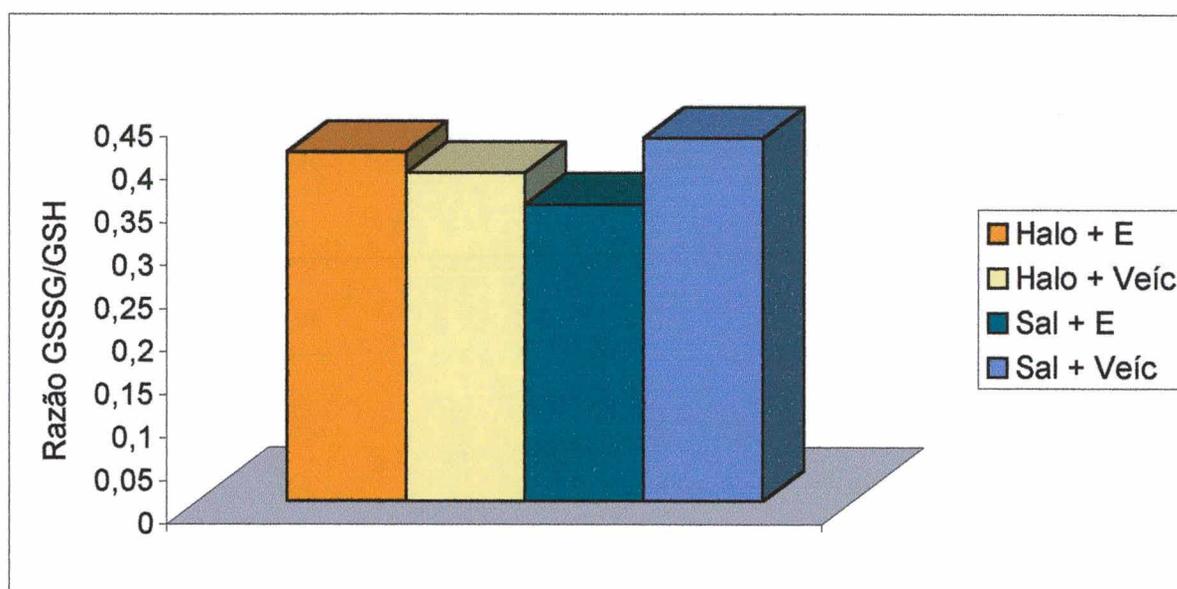


Figura 32 - Determinação da razão GSSG/GSH no estriado de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Duncan.

4.8.2 Efeitos da Administração Prolongada e Concomitante de Haloperidol e Vitamina E na Determinação da Glutathiona Peroxidase (GSH-Px), da Superóxido Dismutase (SOD) e da Catalase (CAT)

Delineamento Experimental

Foram utilizados 36 ratos tratados como a seguir descrito, e que foram divididos em 4 grupos: **Sal + Veíc**, **Sal + E**, **Halo + Veíc** e **Halo + E**. Todos os animais foram tratados prolongadamente por 30 dias (duas vezes ao dia, 9:00 e às 17:00 horas) de acordo com o seguinte tratamento:

1. **Sal + Veíc**: administrou-se Sal aos animais (n = 10, 1,0 ml/kg i.p.). À tarde, repetiu-se este procedimento e após 30 minutos receberam o Veíc (5,0 ml/kg v.o.).
2. **Sal + E**: injetou-se Sal aos animais (n = 7, 1,0 ml/kg i.p.). À tarde os animais receberam Sal e após 30 minutos, administrou-se a vitamina E (500 mg/kg v.o.).
3. **Halo + Veíc**: os animais (n = 10) receberam Halo (1,0 mg/kg i.p.). Às 17:00 hs este procedimento foi repetido e decorridos 30 minutos, injetou-se o Veíc (5,0 ml/kg v.o.).
4. **Halo + E**: a este grupo (n = 9) foi administrado Halo (1,0 mg/kg i.p.). À tarde os ratos foram injetados novamente com haloperidol e após 30 minutos injetou-se a vitamina E (500 mg/kg v.o.).

Decorridas 72 após a retirada do neuroléptico, ou salina, os animais foram sacrificados e seus cérebros foram dissecados conforme o procedimento descrito no item 3.4.1.

Resultados

As Figuras 33, 34 e 35 e as Tabelas 34, 35 e 36 mostram a determinação da GSH-Px, SOD e da CAT, respectivamente nos córtex de ratos tratados com haloperidol

ou salina, concomitantemente à vitamina E ou veículo por 30 dias. Os valores estão representados pelas médias. Os resultados mostram que nenhuma diferença nas dosagens da GSH-Px (Fig. 33 e Tab. 34), da SOD (Fig. 34 e Tab. 35) e da CAT (Fig. 35 e Tab. 36) foi observada nos animais submetidos à esses tratamentos.

TABELA 34 - AVALIAÇÃO DA GLUTATIONA PEROXIDASE (GSH-PX) NO CÓRTEX DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	1,472	0,259
Halo + Veíc	1,549	0,229
Sal + E	1,601	0,276
Sal + Veíc	1,599	0,244

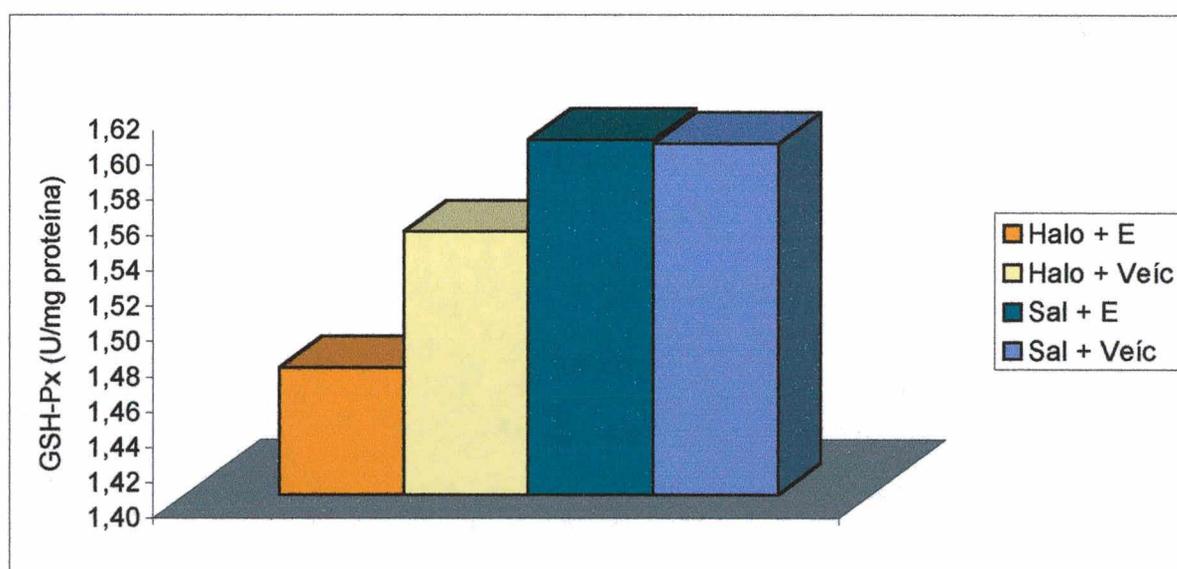


Figura 33 - Avaliação da glutatona peroxidase (GSH-Px) no córtex de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Duncan.

TABELA 35 - AVALIAÇÃO DA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) NO CÓRTEX DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	1807,076	691,667
Halo + Veíc	2095,040	1042,322
Sal + E	1578,007	722,563
Sal + Veíc	2008,647	806,376

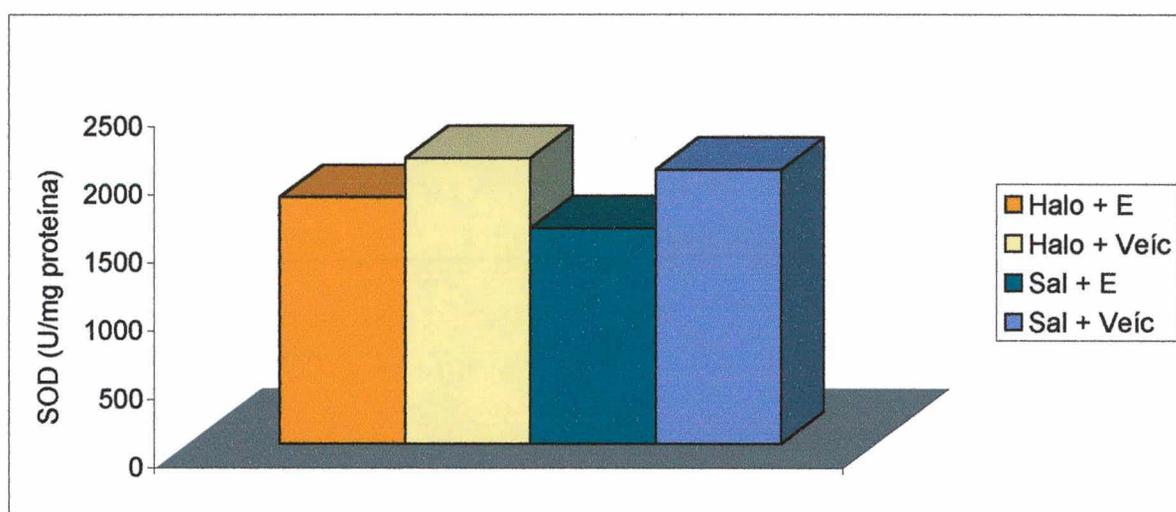


Figura 34 - Avaliação da superóxido dismutase (SOD) no córtex de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Duncan.

TABELA 36 - DETERMINAÇÃO DA CATALASE (CAT) NO CÓRTEX DE ANIMAIS TRATADOS PROLONGADAMENTE COM HALOPERIDOL (1,0 mg/kg i.p.) E VITAMINA E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias e respectivos desvios-padrão.

TRATAMENTO	MÉDIAS	DESVIOS-PADRÃO
Halo + E	466,701	56,029
Halo + Veíc	518,398	95,410
Sal + E	482,959	65,914
Sal + Veíc	523,394	102,396

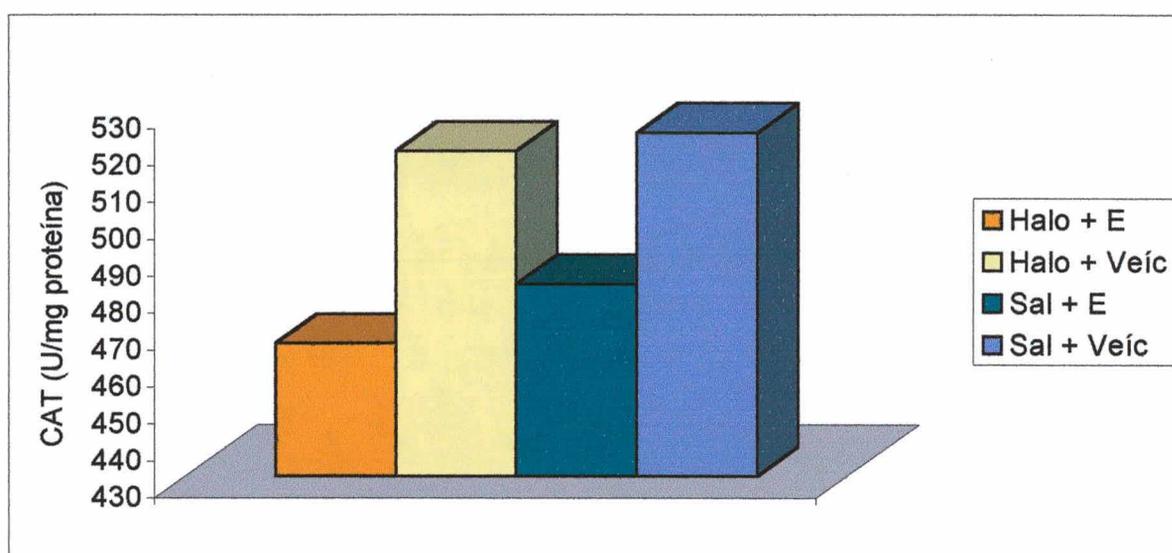


Figura 35 - Determinação da catalase (CAT) no córtex de animais tratados prolongadamente com haloperidol (1,0 mg/kg i.p.) e vitamina E (500 mg/kg v.o.). Os valores estão representados pelas médias. Anova seguido do teste de Duncan.

5 DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que a vitamina E modificou os efeitos do haloperidol dependendo da sua procedência, da duração do tratamento empregado e do modelo animal utilizado para detectar as adaptações neurobiológicas que ocorrem durante o desenvolvimento da supersensibilidade dopaminérgica.

No tratamento agudo, independentemente da procedência {Boticário ou Roche), a vitamina E não alterou os efeitos do haloperidol em relação à atividade geral dos animais.

No tratamento prolongado realizado com haloperidol + vitamina E (Boticário), a vitamina E foi ineficaz na redução da supersensibilidade dopaminérgica. Fato contrário ao encontrado na literatura, pois diversos autores já descreveram os efeitos dessa vitamina na atenuação de sinais comportamentais como a estereotipia induzida por apomorfina (GATTAZ et al., 1993) e na redução de sintomas da discinesia tardia (LOHR et al., 1988; ELKASHEF et al., 1990; DABIRI et al., 1994; LOHR & CALIGIURI, 1996).

Todavia, quando avaliamos os efeitos da administração prolongada de vitamina E (Roche) na supersensibilidade dopaminérgica induzida por haloperidol, verificamos uma atenuação significativa da locomoção dos ratos do grupo Halo + E em comparação ao grupo Halo + Veic às 48 horas, além da redução significativa do levantar do grupo Halo + E em relação aos ratos do grupo Halo + Veic às 24, 48 e 72 horas. Estes animais foram ainda avaliados quanto à frequência de VCM e PL. Nossos dados indicam que, nas nossas condições experimentais, não houve aumento destes parâmetros nos grupos tratados com haloperidol em comparação ao grupo salina tanto às 48 como às 72 horas.

A associação de dois agentes antioxidantes (Vitamina C e Vitamina E) foi avaliada no experimento onde estudamos os efeitos deste possível sinergismo na supersensibilidade dopaminérgica. Os experimentos da administração aguda da vitamina C, vitamina E e do haloperidol indicam que, de acordo com a duração de

imobilidade dos animais, o grupo Halo + C + E mostrou aumento significativo deste parâmetro, indicando uma potencialização do efeito depressor e não uma redução deste, conforme esperado. Os resultados do tratamento prolongado mostram a supersensibilidade dopaminérgica pelo aumento da locomoção dos animais do grupo Halo + Veíc em comparação ao grupo Sal + Veíc, e que o tratamento com a vitamina C aparentemente bloqueou este aumento, ou seja, não se observaram diferenças significantes entre os grupos Halo + C e Halo + C + E em comparação ao grupo Sal + Sal.

A avaliação das enzimas antioxidantes mostrou que as enzimas corticais catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) não foram alteradas, quer pelo tratamento com o haloperidol, quer pela vitamina E. Por outro lado, nossos resultados mostram ainda que a avaliação estriatal da GSSG (glutathiona oxidada) foi significativamente reduzida no grupo Halo + E em comparação ao grupo Sal + E. Neste sentido, a GSH (glutathiona total) também foi reduzida significativamente nos grupos Halo + E e Halo + Veíc em comparação ao grupo tratado com Sal + E. Entretanto, a razão GSSG/GSH não foi alterada pelos tratamentos, tanto com o haloperidol, como com a vitamina E.

A administração prolongada de haloperidol produziu, de fato, supersensibilidade de receptores dopaminérgicos centrais. Esta supersensibilidade foi verificada pelo aumento da ATG nos ratos observados em um CA, e pelo aumento do CE induzido pela apomorfina, quando da retirada abrupta do neuroléptico. Estes dados confirmam, assim, observações anteriores realizadas com o próprio haloperidol (BERNARDI et al., 1981), bem como com outros bloqueadores dopaminérgicos como o sulpiride (FRUSSA-FILHO & PALERMO-NETO, 1990), o droperidol (FRUSSA-FILHO & PALERMO-NETO, 1991), o bromopride (FELICIO et al., 1989), o pimozide (COSTALL et al., 1978) a clorpromazina (TARSI & BALDESSARINI, 1974), a trifluoperazina e a tioridazina (CLOW et al., 1979).

PALERMO-NETO (1982) sugeriu serem as alterações comportamentais e, portanto, a supersensibilidade, decorrentes de uma adaptação plástica do sistema

dopaminérgico central, provavelmente ao nível de seus receptores. Este tipo de supersensibilidade obtida após bloqueio prolongado dos receptores pós-sinápticos, foi classificada por TRENDELENBURG (1966), como do tipo pós-sináptico ou por “desnervação”.

Apesar da hipótese da supersensibilidade dopaminérgica ser a mais diretamente relacionada à etiologia da DT há mais de três décadas, novas teorias, como a da degeneração neuronal devida aos efeitos neurotóxicos dos radicais livres, têm sido estudadas e, até o momento, não podem ser descartadas. De fato, como sugerido por PALERMO-NETO & FRUSSA-FILHO (2000), ambas não são conflitantes e podem representar uma somatória de fatores desencadeantes que conduzem à alterações neuronais que resultam na DT.

Nesta linha de raciocínio, o haloperidol é considerado um neuroléptico tóxico para diversas culturas celulares (BEHL et al., 1995,1996). A adição de haloperidol à cultura de células piramidais HT22 resultou em alterações morfológicas que se iniciaram aproximadamente 6 horas após a administração desse neuroléptico e resultaram em morte celular em torno de 20 horas após o tratamento com 100 μ M (POST et al., 1998). Além disso, este medicamento foi capaz de aumentar os níveis de peroxidação lipídica em ratos (SHIVAKUMAR & RAVINDRANATH, 1993) e em humanos (LOHR et al., 1990; PAI et al., 1994).

Os efeitos agudos da vitamina E foram observados em cultura de células neuronais, às quais foi adicionado haloperidol. Este resultado indica que este antioxidante foi capaz de atenuar as alterações morfológicas induzidas por esse neuroléptico nessas células (BEHL et al., 1995).

Os dados acima mostram que sob o aspecto neuroquímico, a vitamina E foi eficaz em atenuar a toxicidade do haloperidol, entretanto, o mesmo não se pode dizer com relação aos parâmetros comportamentais analisados no presente trabalho.

Nossos resultados dos experimentos da administração aguda e concomitante de haloperidol e vitamina E mostram que, independentemente da procedência deste antioxidante (Boticário ou Roche), o haloperidol reduziu a

locomoção dos ratos (Figs. 1 e 10), o levantar (Figs. 2 e 11) e aumentou a DI (Figs. 3 e 12). Enquanto a duração de limpeza (Figs. 4 e 13) foi significativamente reduzida nos grupos tratados com haloperidol. O tratamento com vitamina E não reverteu os efeitos depressores deste neuroléptico. Mais ainda, a administração de vitamina E aos ratos do grupo Sal + E não diferiu em nenhum dos parâmetros analisados em comparação aos ratos do grupo controle.

Esta ineficácia da vitamina E na atenuação dos efeitos comportamentais do haloperidol é de difícil explicação, pois em termos de doses, utilizou-se 1,0 mg/kg de haloperidol e 500 mg/kg do antioxidante. O trabalho de POST et al., (1998) mostrou que há uma relação dose-dependente na proteção da morte celular em culturas de células hipocâmpais. Estes autores mostraram que somente na dose 200 μ M a vitamina E bloqueou os efeitos de 100 μ M de haloperidol, ou seja razão 2:1. Todavia, tal hipótese não parece se correlacionar aos efeitos comportamentais do haloperidol e da vitamina E, pois no presente trabalho a razão foi de 5:1. Uma hipótese alternativa pode estar associada à diferenças farmacocinéticas entre estes dois compostos. De fato, conforme sugerido por GATTAZ et al. (1993), o haloperidol poderia cruzar a barreira hemato-encefálica mais rapidamente que a vitamina E. Esta hipótese somente poderá ser avaliada após a determinação sérica e cerebral dos níveis deste antioxidante, mas nos parece, até o momento, a mais plausível para explicar a ausência de efeitos, mesmo em altas doses, após administração aguda da vitamina E.

Os resultados do tratamento prolongado com haloperidol e vitamina E mostram que a procedência desta vitamina alterou os dados. Assim, a frequência de locomoção dos ratos tratados prolongadamente com haloperidol (Fig. 5) mostrou que 30 minutos após a retirada abrupta desse neuroléptico, verificou-se redução significativa deste parâmetro. Entretanto, 24, 48 e 72 horas após a retirada, estes animais exibiram um aumento significativo deste parâmetro em comparação aos animais tratados prolongadamente com salina, o qual é um indicativo da supersensibilidade dopaminérgica. Contrariamente ao esperado, a vitamina E (Boticário) não atenuou este

fenômeno conforme sugere GATTAZ et al. (1993). O parâmetro levantar (Fig. 6) também foi significativamente reduzido nos grupos de ratos tratados com haloperidol aos 30 minutos da retirada do neuroléptico em comparação aos animais dos grupos que receberam salina. Por outro lado, somente nos ratos do grupo Halo + E observamos um aumento significativo do levantar tanto na sessão 48 como na sessão 72 horas em comparação aos animais que foram tratados com salina. Este fato surpreendente nos parece indicar que, neste caso, a vitamina E potencializou a supersensibilidade dopaminérgica. Não sabemos como explicar este dado até o presente momento, que não tem nenhum subsídio na literatura para entendimento do fato. Com relação ao parâmetro DI (Fig. 7), verificou-se que 30 minutos após a retirada, ambos grupos tratados com haloperidol exibiram aumento significativo em comparação com os ratos que receberam salina, corroborando o efeito depressor do neuroléptico. A supersensibilidade dopaminérgica foi observada somente às 48 horas, quando os ratos dos grupos Halo + E e Halo + Veíc mostraram redução significativa desta variável. Este fato, confirma a observação da supersensibilidade na locomoção de ambos os grupos. O parâmetro limpeza (Fig. 8), analisado nestes animais mostrou aumento significativo somente nos ratos do grupo Halo+E em comparação aos animais do grupo controle, nas sessões 24, 48 e 72 horas após a retirada do haloperidol. Na Figura 9 pode-se observar o efeito destes tratamentos no comportamento estereotipado induzido por apomorfina nos ratos estudados às 100 horas após a interrupção dos tratamentos. Os resultados mostram que neste período não houve diferença significativa entre os grupos avaliados, indicando uma redução natural na supersensibilidade dopaminérgica em receptores dopaminérgicos centrais.

A avaliação dos efeitos da vitamina E procedente da Roche, mostrou uma redução nos parâmetros comportamentais indicativos da supersensibilidade dopaminérgica. Assim, a frequência de locomoção (Fig. 14) indicou que aos 30 minutos após a retirada dos tratamentos houve uma redução significativa deste parâmetro nos grupos de animais tratados com haloperidol em comparação aos grupos tratados com salina. Por outro lado, tanto nas sessões de observação dos

animais às 48, 72 e 96 horas verificamos um aumento significativo da locomoção dos ratos do grupo Halo + Veíc em comparação aos animais do grupo controle, enquanto os ratos do grupo Halo + E exibiram somente diferença significativa entre os grupo Sal + E. De modo relevante, verificamos que às 48 horas, há uma redução significativa da locomoção do grupo Halo + E em comparação ao grupo Halo + Veíc. Este fato corrobora muitos estudos da literatura, que indicam ser este antioxidante capaz de atenuar a DT e portanto a supersensibilidade dopaminérgica central. O parâmetro levantar (Fig. 15) também foi significativamente reduzido aos 30 minutos nos animais tratados com haloperidol em comparação aos ratos que receberam salina. Nas sessões 24, 48 e 72 horas, nossos resultados mostram uma redução significativa deste parâmetro dos animais do grupo Halo + E quando comparados aos ratos do grupo Halo + Veíc. Mais ainda, somente no grupo Halo + Veíc houve um aumento significativo do levantar em comparação aos grupos que receberam salina, quando observados 48 e 72 horas. A DI ilustrada na Figura 16, mostra um aumento significativo desta variável nos animais que receberam haloperidol quando comparados aos grupos tratados com salina. Além disso, a observação dos animais às 24 e 48 horas indica que houve uma redução significativa do grupo Halo + Veíc em comparação ao grupo Sal + E. Quando avaliamos a LIM (Fig 17) dos animais, observamos uma redução significativa deste parâmetro nos grupos Halo + Veíc e Sal + E em comparação ao grupo Sal + Veíc às 72 horas e do grupo Sal + E em relação ao controle às 96 horas. Finalmente a observação do CE (Fig. 18) mostrou aumento significativo dos movimentos orofaciais induzidos pela apomorfina nos grupos que receberam haloperidol em comparação ao grupo Sal + E e dos ratos do grupo Halo + E em comparação ao controle.

Os dados acima apresentados mostram que a procedência da vitamina E modificou a supersensibilidade dopaminérgica estudada em ratos através da ATG em campo aberto e do CE induzido pela apomorfina. Considerando que ambas as formas de vitamina E (Boticário ou Roche) são acetato de a-tocoferol, e que as demais variáveis foram mantidas nas mesmas condições (experimentador).

haloperidol, ratos), uma possível explicação para as diferenças encontradas em relação à atenuação da supersensibilidade, pode envolver o veículo empregado. De fato, na vitamina E procedente do Boticário, o veículo utilizado foi xarope de glicose, enquanto na forma oriunda da Roche, o veículo foi óleo. Todavia, tais veículos não foram diferentes dos animais tratados com salina nos dois experimentos realizados. De qualquer modo, os últimos resultados {vitamina E - Roche} foram muito promissores e por esta razão, optamos por trabalhar somente com esta procedência.

Assim, nossos resultados corroboram dados da literatura que demonstram ser esta vitamina capaz de atenuar a DT em humanos (LOHR et al., 1996) e em ratos (GATTAZ et al., 1993). De fato, esta premissa sugere uma nova abordagem de tratamento da DT, que, entretanto, precisa ser melhor estudada pois ainda existem controvérsias. Neste sentido, conforme sugerem DOREVITCH et al. (1997) a capacidade da vitamina E em atenuar os sintomas da DT ainda permanece conflitante. Estes autores avaliaram 40 pacientes com idade média de 64,4 anos e com DT há mais de cinco anos e os trataram com vitamina E (400 - 1600 UI) durante 20 semanas. Os dados mostram que não houve alteração significativa dos movimentos discinéticos avaliados pela AIMS (GUY, 1976). Nesta linha, SHRIQUI et al. (1992) também mostraram que a vitamina E (400 UI) administrada três vezes ao dia durante 6 semanas à 27 pacientes avaliados pela AIMS (com faixa etária média de 42,9 anos e com DT há mais 10 anos), não resultou em melhora dos sintomas da DT em comparação com o grupo que recebeu placebo. Neste aspecto, SACHDEV et al. (1999) estudaram o efeito da vitamina E administrada na dieta e seus efeitos nos movimentos periorais em ratos. Tanto na dose mais alta (600 mg/kg) como na menor dose (1,0 mg/kg) este antioxidante não afetou os VCM e PL induzidos pela flufenazina.

Por outro lado, muitos autores demonstraram a eficácia desta vitamina na DT e na supersensibilidade dopaminérgica (LOHR et al., 1988; ELKASHEF et al., 1990; EGAN et al., 1992; SPIVAK et al., 1992; AKHTHAR et al., 1993; ADLER et al., 1993; GATTAZ et al., 1993; DABIRI et al., 1994; LOHR et al., 1996). Apesar dos

resultados promissores, todos esses autores sugerem estudos adicionais com a vitamina E, pois foram realizados com diferentes doses e esquemas de tratamento; bem como pacientes com diferentes faixas etárias e portadores de DT há intervalos de tempo muito diferentes (5 à 10 anos). Dentre estes trabalhos, somente o de GATTAZ et al. (1993) realizou estudos com ratos. Estes autores mostraram, similarmente aos nossos resultados obtidos com a vitamina E (Roche), que o tratamento prévio com vitamina E (400 mg/kg/dia - na ração durante três semanas) seguido da administração prolongada de haloperidol (0,05 mg/kg) durante 30 dias concomitantemente à vitamina E atenuou a expressão da supersensibilidade dopaminérgica avaliada através da observação de movimentos orofaciais induzidos pela apomorfina (0,25 mg/kg). Além disso, TAKEUCHI et al. (1998) mostraram que a administração prolongada de vitamina E (50 mg/kg, durante 28 ou 42 dias) atenuou os movimentos faciais induzidos pelo haloperidol.

Com relação ao nosso experimento, não encontramos até o momento, nenhum trabalho que tenha avaliado os parâmetros da ATG em animais supersensíveis e que receberam vitamina E. Deste modo, nossos resultados são inéditos e indicativos da redução da supersensibilidade e sugestivos da redução dos sintomas da DT em humanos. Todavia, somente verificamos este resultado promissor neste modelo animal de DT, pois no experimento 4.5, onde avaliamos os efeitos da vitamina E nos movimentos orofaciais espontâneos, não verificamos efeitos deste antioxidante.

A Figura 19 ilustra os efeitos da vitamina E na protrusão de língua de ratos tratados prolongadamente com haloperidol e avaliados tanto às 48 como às 72 horas após a retirada abrupta do neuroléptico. Os resultados mostram que não houve diferença significativa entre os animais que receberam haloperidol e aqueles tratados com salina. Em adição, a observação dos VCM (Fig. 20) mostra que os resultados foram similares aos encontrados para a PL. Uma possível explicação para este fato pode estar relacionada ao fato do grupo controle apresentar alta frequência destes movimentos orofaciais nas nossas condições experimentais. Embora este modelo

animal de DT seja considerado por alguns autores como o modelo que mais se assemelha à fisiopatologia da DT, nossos dados não confirmam esta assertiva. Embora, WADDINGTON (1990) e ANDREASSEN & JORGENSEN (1995) ressaltaram que os movimentos orofaciais encontrados nos ratos são similares àqueles verificados nos pacientes com DT, e outros autores sugerem que os VCM se assemelham mais aos sintomas extrapiramidais encontrados em humanos, como a distonia aguda (RUPNIAK et al., 1986) e o parkinsonismo induzido por neuroiépticos (STEINPREIS & SALAMONE, 1993), principalmente por serem observados nos estágios iniciais do tratamento com neuroiépticos.

Alguns autores mostram que o nível da vitamina E no plasma de pacientes esquizofrênicos é baixo (LIDAY et al., 1995; McCREADIE et al., 1995), e o mesmo pode ser mencionado para a vitamina C (HERJANIC, 1973; SUBOTICANEC et al., 1990). Portanto, a combinação de um protetor lipídico de membrana, como a vitamina E, com um protetor intracelular, como a vitamina C, provavelmente pelo sinergismo, formaria um sistema de defesa antioxidante com maior eficácia (BEHL, 1999; MAHADIK et al., 2001). Neste sentido, PACKER et al., (1979), relatam que o ácido ascórbico pode regenerar a forma oxidada da vitamina E, e dessa forma contribuir na defesa antioxidante. Muitos autores relatam uma interação entre a vitamina C e os receptores dopaminérgicos. Deste modo, DORRIS (1987) demonstrou que esta vitamina interfere com a ligação da espiperona [F] a sinaptossomas do corpo estriado de ratos. Além disso, DORRIS & DILL (1986) também descreveram que a vitamina C potencializou a catatonia induzida pelo haloperidol em ratos e primatas. Por estas razões optamos por avaliar este sinergismo nas nossas condições experimentais.

No experimento 4.6 avaliamos os efeitos do sinergismo vitamina C + vitamina E agudamente. Os dados mostram que a locomoção (Fig. 21 e Tab.22), a frequência de levantar (Fig. 22 e Tab. 23) e a duração de limpeza (Fig. 24 e Tab. 25) dos grupos que receberam haloperidol (Halo + Sai, Halo + C e Halo + C + E) diferiram daquelas dos grupos que receberam salina (Sal + Sal, Sal + C, Sal + C + E), sendo

que somente o levantar do grupo Sal + C + E foi significativamente menor que aquele dos grupos Sal + Sal e Sal + C. O parâmetro DI avaliado nos ratos (Fig. 23 e Tab. 24) mostrou que os grupos que receberam haloperidol exibiram um aumento significativo em comparação aos animais dos grupos que foram tratados com salina. Entretanto, somente neste parâmetro, verificamos um aumento significativo da DI dos ratos do grupo Halo + C + E em relação àquele dos animais do grupo Halo + Sal. Este dado é um indicativo que o sinergismo agudo vitamina C + E potencializou o efeito depressor do haloperidol.

O uso da vitamina C (ácido ascórbico) vem sendo sugerido como outro antioxidante importante em atenuar o estresse oxidativo induzido por neurolépticos (BESRET et al., 2000). Neste ponto de vista, estes mesmos autores mostram que essa vitamina reverteu a ação tóxica do haloperidol na atividade da enzima tirosina hidroxilase. Neste trabalho, estes autores utilizaram 63 ratos e administraram haloperidol (1,5 mg/kg) durante 6 semanas e observaram uma redução desta enzima nos animais tratados por este neuroléptico. Mais ainda, estes pesquisadores verificaram que a administração simultânea de vitamina C (125 ou 500 mg/kg) preveniu o decréscimo da tirosina hidroxilase. Neste sentido, ANGELIS (1995) relatou que a administração aguda da vitamina C (250 mg/kg) 15 minutos antes da injeção de antipsicóticos diminuiu os parâmetros de locomoção e levantar de camundongos em comparação aos animais do grupo controle. Assim, diversos autores sugerem o uso da vitamina C concomitantemente aos neurolépticos para o tratamento da esquizofrenia e de outras desordens mentais (SANDYK & KANOFKY, 1993; REBEC & PIERCE, 1994; ANGELIS, 1995). Por outro lado, diversos autores mostram que a vitamina C potencializa a ação do haloperidol na indução da catalepsia e no bloqueio do comportamento estereotipado com anfetamina ou com apomorfina (REBEC et al., 1985; DORRIS & DILL, 1986; WHITE et al., 1990; PIERCE et al., 1991; GULLEY & REBEC, 1999).

Nossos resultados do tratamento prolongado com vitamina C, concomitantemente à vitamina E e ao haloperidol, mostram que a frequência de

locomoção, (Fig. 25) aos 30 minutos da retirada do neuroléptico, foi significativamente reduzida nos animais tratados com haloperidol em comparação aos animais tratados com salina, independentemente da associação com os antioxidantes. Por outro lado, houve um aumento significativo deste parâmetro às 24 horas nos animais do grupo tratado com Halo + Sal em comparação aos animais tratados com Sal + Sal. Além disso, às 48 horas verificou-se um aumento da locomoção nos ratos do grupo Halo + Sal quando comparados aos animais do grupo Sal + Sal, o que é um indicativo da supersensibilidade de receptores dopaminérgicos. Nas duas últimas sessões de observação comportamental, verificamos dois fatos relevantes: primeiro os animais retirados de haloperidol desenvolveram supersensibilidade (Halo + Sal), segundo, a vitamina C atenuou este fenômeno (Halo + C), embora não tenha ocorrido efeito sinérgico entre os dois antioxidantes (Halo + E + C). Às 72 horas após a retirada do neuroléptico, observou-se um aumento significativo na locomoção nos animais dos grupos tratados com haloperidol em comparação aos animais do grupo Sal + C + E, enquanto que às 96 horas, verificou-se um aumento significativo dos ratos do grupo Halo + Sal, quando comparados aos grupos Sal + C e Sal + C + E. Quanto ao parâmetro levantar (Fig. 26), somente foram verificadas diferenças significativas aos 30 minutos e às 48 horas da retirada do neuroléptico. Assim, verificou-se uma diminuição significativa deste parâmetro aos 30 minutos nos animais dos grupos que receberam haloperidol quando foram comparados aos animais que receberam salina. Interessantemente, observou-se que às 48 horas houve um aumento significativo dos ratos tratados com Halo + Sal, em comparação aos animais dos grupos Halo + C + E. Este dado indica que o sinérgismo entre as duas vitaminas reduziu a expressão da supersensibilidade dopaminérgica central. De acordo com nosso recente levantamento bibliográfico esta é a primeira descrição deste fato, o qual sugere uma nova abordagem terapêutica para o tratamento farmacológico da DT. A Figura 27 mostra a DI, e pode-se verificar que aos 30 minutos após a retirada do neuroléptico houve um aumento significativo deste parâmetro nos animais tratados com haloperidol, quando comparados aos

animais que receberam salina. Os dados, tanto às 24, 48 e 72 horas, mostram um aumento significativo da DI nos animais do grupo Sal + C + E, em comparação aos demais grupos de animais. A duração de limpeza, ilustrada na Figura 28, mostra que não houve diferença significativa entre os animais que foram tratados com haloperidol dos animais que receberam salina. A Figura 29 mostra o CE de ratos tratados prolongadamente com haloperidol e concomitantemente à vitamina E e/ou vitamina C. Verificou-se, com esses dados, que não houve diferença significativa deste comportamento entre os grupos de animais estudados.

Na inativação de um agente oxidante ocorre produção de GSSG e depleção de GSH-Px. Em situações em que o sistema de óxido-redução está íntegro, haverá recuperação da GSH. Entretanto, sob condições de excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência do sistema protetor, haverá desequilíbrio entre o consumo de GSH e a produção de GSSG, o que caracteriza o estresse oxidativo (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

O haloperidol causa aumento do *turnover* dopaminérgico tanto em humanos como em ratos (SCATTON, 1977; MACKAY et al., 1982), e por esta razão acredita-se que este neuroléptico induz ao estresse oxidativo por aumentar a geração do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) como consequência do metabolismo das catecolaminas (CADET et al., 1986; MAHADIK & MUKHERJEE, 1996; SAGARA, 1998). Outra possível fonte geradora de radicais livres que mediarão esta toxicidade do haloperidol pode ser resultado do efeito deste na cadeia transportadora de elétrons (REYNOLDS & HASTINGS, 1995). Nesta linha, BARRIENTOS et al. (1998) descrevem o haloperidol como potencial inibidor do complexo I e V da atividade mitocondrial.

Nossos resultados mostram que a GSH (Fig. 30) avaliada no estriado de ratos 72 horas após a retirada do haloperidol não diferiu do grupo de ratos controle, mas somente dos animais do grupo Sal + E. Isto sugere que, nas nossas condições experimentais, o haloperidol não alterou os níveis de GSH. Este fato não corrobora outras evidências da literatura. Assim, SHIVAKUMAR & RAVINDRANATH (1993),

demonstraram o efeito do haloperidol na redução do GSH em diversas regiões do cérebro de ratos. Mais ainda, PAI et al. (1994) também observaram os níveis enzimáticos no fluido cérebro-espinhal de humanos tratados com haloperidol, nos quais a depleção de GSH foi associada com o aumento da peroxidação lipídica (PAI et al., 1994). Nesta linha, SAGARA (1998) mostrou que os níveis de GSH foram significativamente reduzidos em cultura primárias de neurônios e em células hipocâmpais HT22; mesmo em baixas doses (10 e 20 μ M) o GSH foi reduzido em 40% nas células HT22.

A avaliação da forma oxidada da glutatona (GSSG), ilustrada na Figura 31, mostra que não houve diferença entre os grupos que receberam haloperidol e o grupo controle. Indicando que o haloperidol não alterou a GSSG. Somente os ratos do grupo Halo + E mostram redução significativa quando comparados àqueles do grupo Sal + E, sendo que este último grupo não diferiu do controle. Mais ainda, a razão GSSG/GSH, a qual segundo FERREIRA & MATSUBARA (1997) é considerada o parâmetro que melhor caracteriza o estresse oxidativo, não foi alterada pelos tratamentos tanto com o haloperidol, como com a vitamina E (Fig. 32).

O sistema nervoso possui um amplo leque de defesa antioxidante enzimático, assim tanto a GSH-Px como a SOD são expressos em quantidades maiores que a catalase (SHIVAKUMAR & RAVINDRANATH, 1993). Este espectro de defesa enzimática sugere que o cérebro seja eficiente em metabolizar o superóxido, mas tenha dificuldade em eliminar o peróxido de hidrogênio produzido por esta reação (BELLISSIMO et al., 2001), o qual é eliminado pela glutatona peroxidase (GSH-Px) (HALLIWELL, 1989).

Quando observamos o efeito destes tratamentos na glutatona peroxidase cortical (GSH-Px), ilustrado na Figura 33, verificamos que não houve alteração nesta enzima, embora exista uma redução não significativa nos ratos do grupo Halo + E e Halo + Veie em comparação os animais tratados com salina. Este fato é sugestivo de que a produção de H_2O_2 deve estar ainda sob controle das defesas antioxidantes, pois a GSH-Px não foi alterada, e sabe-se que o GSH-Px tem um papel relevante na

inativação do peróxido de hidrogênio. Nesta direção, ABDALLA et al. (1986) mostraram que esta enzima também não foi alterada em pacientes esquizofrênicos em tratamento com neurolépticos e na retirada deste. Em adição, BUCKMAN et al. (1990) também mostraram que a atividade da GSH-Px plaquetária não foi correlacionada com o tratamento neuroléptico. Por outro lado, YAO et al. (1998) verificaram que a atividade eritrocitária da SOD e da GSH-Px foi significativamente aumentada em pacientes esquizofrênicos no período sem droga. Todavia, conforme indicam estes últimos autores, ainda não se sabe se este efeito do haloperidol sobre as enzimas SOD e GSH-Px é direto ou indireto através da produção de radicais superóxido.

A determinação da SOD cortical (Fig.34) mostrou que no presente estudo, não verificamos alteração nesta enzima antioxidante. ABDALLA ET AL. (1986) mostraram que, similarmente à GSH-Px, a SOD também não foi alterada em pacientes esquizofrênicos em tratamento com neurolépticos e na retirada deste. Por outro lado, YAO et al. (1998) mostraram que a atividade da SOD foi significativamente maior em esquizofrênicos retirados de haloperidol (17-82 dias) em comparação com aquela de pacientes normais e esquizofrênicos em tratamento com neurolépticos e na retirada deste. Como citado acima, ainda não é conhecido se este efeito do haloperidol na SOD e na GSH-Px é direto ou indireto. Todavia, SZABO et al. (1983) mostraram que o haloperidol aumenta a atividade da SOD em regiões cerebrais associadas ao decréscimo na peroxidação lipídica. De grande importância são os dados de YAMADA et al. (1997) que mostraram que pacientes discinéticos têm redução na atividade da SOD em comparação a pacientes tratados com neurolépticos sem discinesia tardia. Nesta linha, HORI et al. (2000) também encontraram uma significativa diferença na distribuição genotípica na SOD de pacientes esquizofrênicos com e sem discinesia tardia. Mais ainda, estes últimos autores verificaram tanto um aumento dos radicais livres como redução na atividade da SOD em portadores de discinesia tardia.

Diante do exposto, verifica-se a necessidade de incremento dos estudos de modelos animais de DT e a avaliação de enzimas antioxidantes, pois a escassez de

trabalhos nessa área dificulta a comparação aos presentes dados. Uma possível explicação para isso reside no fato de que a DT é resultante de tratamento com neurolépticos há muito anos, enquanto os modelos animais são resultados de dias de tratamento com neurolépticos. Assim, não encontramos na literatura estudos que associam modelos de discinesia tardia e a dosagem de enzimas antioxidantes. Em adição, outro fator que interfere com a nossa interpretação dos dados é que as enzimas CAT, SOD e GSH-Px foram avaliados no córtex, enquanto a GSH, GSSG e a razão GSSG/GSH foram quantificados no estriado.

Além disso, considerando todos os fatores de risco associados à precipitação dos movimentos discinéticos não se pode correlacionar a etiologia da DT à diminuição dos sistemas de defesas antioxidantes. De fato, a ampla maioria dos trabalhos que sugerem a vitamina E como uma nova abordagem terapêutica no tratamento desta síndrome, baseiam-se na atenuação parcial desses movimentos em pacientes.

Tomados em conjunto, nossos dados nos levam a sugerir que a hipótese da neurotoxicidade devida a um aumento da produção de radicais livres pode participar ativamente do fenômeno da supersensibilidade de receptores dopaminérgicos e talvez, da discinesia tardia. Todavia, os dados também indicam que este efeito benéfico foi principalmente verificado com as vitaminas E ou C administradas prolongadamente. Todavia, uma crítica importante à esta hipótese é que a sintomatologia agrava-se na privação do tratamento com neurolépticos. Futuros experimentos poderão auxiliar no entendimento destas questões.

6 CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- A administração aguda da vitamina E (Boticário ou Roche) em ratos não interferiu com os efeitos agudos do haloperidol, observados através do registro da atividade geral (ATG) em um campo aberto.
- A administração prolongada da vitamina E (Boticário) concomitantemente ao haloperidol, resultou em um aumento significativo do LE nos animais do grupo Halo + E em comparação aos animais que receberam salina. Além disso, a administração prolongada desta vitamina não atenuou o comportamento estereotipado (CE) de ratos induzido por apomorfina.
- A administração prolongada e concomitante de vitamina E (Roche) e haloperidol, resultou em uma atenuação significativa da supersensibilidade de receptores dopaminérgicos, expressa pela redução da LO e do LE em comparação aos ratos que receberam Halo + Veíc. Porém, a administração prolongada deste antioxidante não alterou o CE de ratos induzido por apomorfina, nem alterou as frequências de protrusão de língua e de “vacuous chewing movements” de animais tratados prolongadamente com haloperidol.
- A administração aguda de vitamina C (Roche) e vitamina E (Roche) concomitantemente ao haloperidol potencializou o efeito deste neuroléptico, devido ao aumento significativo da DI dos animais do grupo Halo + C + E em comparação aos animais do grupo Halo + Sal.
- A administração prolongada de vitamina C (Roche) e vitamina E (Roche) concomitantemente ao haloperidol, resultou em uma atenuação significativa da supersensibilidade de receptores dopaminérgicos, expressa pela diminuição do LE em comparação aos ratos que receberam Halo + Sal. Porém, estes antioxidantes não alteraram o CE de ratos induzido por apomorfina.

- **A administração prolongada e concomitante de vitamina E (Roche) e haloperidol reduziu significativamente a atividade de GSH dos animais dos grupos Halo + E e Sal + Veíc em comparação aos animais Sal + E. Mais ainda, o tratamento prolongado com essa vitamina reduziu significativamente o GSSG dos animais do grupo Halo + E em comparação àqueles do grupo Sal + E. Porém, não foi verificada diferença na razão GSSG/GSH entre os animais dos grupos avaliados. Além disso, os tratamentos realizados não alteraram a atividade das enzimas antioxidantes, como a GSH-PX, SOD e CAT.**

Estes resultados nos levam a sugerir que a hipótese da degeneração neuronal devido aos radicais livres deva de fato, estar envolvida com a etiologia da DT, pois, através de um modelo experimental de DT, observou-se que tanto a vitamina E, bem como o sinergismo desta vitamina com a vitamina C, resultou em uma atenuação da supersensibilidade dopaminérgica de ratos tratados prolongadamente com haloperidol.

7 REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, D.S.P.; MANTEIRO, H.P.; OLIVEIRA, J.A.C. & BECHARA, C.H. Activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in schizophrenic and manic depressive patients. **Clin. Chem.**, 32: 805-807, 1986.
- ADLER, L.; PESELOW, E.; ROTROSEN, J.; DUNCAN, E.; LEE, M.; ROSENTHAL, M. & ANGRIST, B. Vitamin E treatment of tardive dyskinesia. **Am. J. Psychiatry**, 150: 1405-1407, 1993.
- AKHTAR, S.; JAJOR, T.R. & KUMAR, S. Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia. **J Postgrad. Med.**, 39: 124-126, 1993.
- ANDREASEN, N.C. Brain imaging: application in psychiatry. **Science**, 239: 1381-1388, 1988.
- ANDREASSEN, O.A. & JORGENSEN, H.A. The rat model of tardive dyskinesia: relationship between vacuous chewing movements and gross motor activity during acute and long-term haloperidol treatment. **Life Sciences**, 57 (24): 2263-2272, 1995.
- ANDREASSEN, O.A. & JORGENSEN, H.A. Neurotoxicity associated with neuroleptic-induced oral dyskinesia in rats. Implications for tardive dyskinesia? **Prog. Neurobiol.**, 61 (5): 525-541, 2000.
- ANGELIS, L. Ascorbic acid and atypical antipsychotic drugs: modulation of amineptine-induced behavior in mice. **Brain Research**, 670: 303-307, 1995.
- ARNAIZ, S.L.; CORONEL, M.F. & BOVERIS, A. Nitric oxide, superoxide, and hydrogen peroxide production in brain mitochondria after haloperidol treatment. **Nitric Oxide**, 3 (3): 235-243, 1999.
- ARNT, J. Behavioural studies of dopamine receptors: evidence for regional selectivity and receptor multiplicity. In: Creese, I. & Fraser, C. (Eds.). **Dopamine Receptors**. Alan R. Liss, New York, p. 199-231, 1987.
- BARRIENTOS, A.; MARIN, C.; MIRO, O.; CASADEMONT, J.; GOMEZ, M.; NUNES, V.; TOLOSA, E.; URBANO-MARQUEZ, A. & CARDELLACH, F. Biochemical and molecular effects of chronic haloperidol administration on brain and muscle mitochondria of rats. **J. Neurosci. Res.**, 53: 475-481, 1998.
- BASSIT, D.P. & NETO, M.R.L. **Discinesia tardia**. São Paulo: Casa do Psicólogo, 1999.
- BEAL, M.F.; HYMAN, B.T. & KOROSHETZ, W. Do defects in mitochondrial energy metabolism underlie the pathology of neurodegenerative diseases. **Trends Neurosci.**, 16: 125-131, 1993.
- BEHL, C. Amyloid β -protein toxicity and oxidative stress in Alzheimer's disease. **Cell Tissue Res.**, 290: 471-480, 1997.
- BEHL, C. Vitamin E and other antioxidants in neuroprotection. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, 69 (3): 213-219, 1999.

BEHL, C.; RUPPRECHT, R.; SKUTELLA, T. & HOLSBOER, F. Haloperidol-induced cell death: mechanism and protection with vitamin E in vitro. **Neuroreport**, 7 (1): 360-364, 1995.

BEHL, C.; LEZOUALC'H, F.; WIDMANN, M.; RUPPRECHT, F. & HOLSBOER, F. Oxidative stress-resistant cells are protected against haloperidol toxicity. **Brain Res.**, 717: 193-195, 1996.

BELLISSIMO, M.I.; AMADO, D.; ABDALLA, D.S.P.; FERREIRA, E.C.; CAVALHEIRO, E.A. & MAZZACORATTI, M.G.N. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase activities and the hydroperoxide concentration are modified in the hippocampus of epileptic rats. **Epilepsy Research**, 46 (2): 121-128, 2001.

BERNARDI, M.M. & PALERMO-NETO, J. Effects of abrupt and gradual withdrawal from long-term haloperidol treatment behavior of rats. **Psychopharmacol.**, 65: 247-250, 1979.

BERNARDI, M.M.; DE SOUZA, H. & PALERMO-NETO, J. Effects of single and long-term haloperidol administration on open-field behavior of rats. **Psychopharmacol.**, 73: 171-175, 1981.

BESRET, L.; CALDWELL, M.A.; TORRES, E.M. & DUNNETT, S.B. Antioxidant strategy to counteract the side effects of antipsychotic therapy: na in vivo study in rats. **European Journal of Pharmacology**, 408 (1): 35-39, 2000.

BOLKENIUS, F.N.; VERNE-MISMER, J.; WAGNER, J. & GRISAR, M. Amphiphilic α -tocopherol analogues as inhibitors of brain lipid peroxidation. **European Journal of Pharmacology**, 298: 37-43, 1996.

BOOMERSHINE, K.H.; SHELTON, P.S. & BOOMERSHINE, J.E. Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia. **Ann. Pharmacother.**, 33 (11): 1195-1202, 1999.

BOURGEOIS, C. ed. Determination of vitamin E: tocopherols and tocotrienols. New York: **Elsevier Applied Science**, 1992.

BRIVIBA, K.; KLOTZ, L.O. & SIES, H. Defenses against Peroxynitrite. **Methods in Enzymology**, 301: 301-310, 1999.

BUCKMAN, T.D.; KLING, A.S.; EIDUSON, S.; SUTPHIN, M. S.; STEINBERG, A. & EIDUSON, S. Platelet glutathione peroxidase and monoamine oxidase activity in schizophrenics with CT scan abnormalities: relation to psychosocial variables. **Psychiatry Res.**, 31: 1-14, 1990.

BURT, D.R.; CREESE, I. & SYNDER, S.H. Antischizophrenic drugs: chronic treatment elevates dopamine receptor binding in the brain. **Science**, 196: 326-328, 1977.

CADET, J.L.; LOHR, J.B. & JESTE, D.V. Free radical and tardive dyskinesia. **Trends Neurosci.**, 9, 107-108, 1986.

CADET, J.L. & LOHR, J.B. Possible involvement of free radicals in neuroleptic-induced movement disorders: evidence from treatment of tardive dyskinesia with vitamin E. **Ann. NY Acad. Sci.**, 570: 176-185, 1989.

CANNON, W.B. A law of denervation. **Am. J. Med. Sci.**, 198: 737-750, 1939.

CARLSSON, A. The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Neuropsychopharmacol.**, 1: 179, 1988.

CASEY, D.E. Tardive dyskinesia. In: Meltzer, H.Y. (Ed.). **Psychopharmacology: The third generation of progress**. New York: Raven Press, p. 1411-1419, 1987.

CASEY, D.E. Tardive dyskinesia, pathophysiology. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Eds.). **Psychopharmacology: The fourth generation of progress**. New York: Raven Press, 1995.

CASEY, D.E. & HANSEN, T.E. Spontaneous dyskinesias. In: Jeste, D.V.; Wyatt, R.J. (Eds.). **Neuropsychiatric Movement Disorders**. Washington, D.C: American Psychiatric Press, p. 68-95, 1984.

CHATTERJEE, A.; CHAKOS, M.; KOREEN, A.; GEISLER, S.; SHEITMAN, B.; WOERNER, M.; KANE, J.M.; ALVIR, J. & LIEBERMAN, J.A. Prevalence and clinical correlates of extrapyramidal signs and spontaneous dyskinesia in never-medicated schizophrenic patients. **Am. J. Psychiatry**, 152 (12): 1724-1729, 1995.

CLOW, A.; JENNER, P. & MARSDEN, C.D. Changes in dopamine mediated behaviour during one year's neuroleptic administration. **Eur. J. Pharmacol.**, 57: 365-375, 1979.

CIVELLI, O.; BUNZOW, J.R.; GRANDY, D.K.; YONG, Q.Y. & VAN TOL, H.H.M. Molecular biology of the dopamine receptors. **European J. Pharmacol.**, 207: 277-286, 1991.

COSTALL, B.; NAYLOR, R.J. & OWEN, R.T. Behavioural correlates of modified dopaminergic/anticholinergic responses following chronic treatment with neuroleptics agents of differing spectra. **Eur. J. Pharmacol.**, 48: 29-36, 1978.

CÔTE, L. & CRUTCHER, M.D. The basal ganglia. In: Kandel, E.R. – Disorders of thought schizophrenia. In: KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H. & JESSEL, T.M. (Eds.). **Principles of neural sciences**. New York: Elsevier, p. 647-659, 1991.

DABIRI, L.M.; PASTA, D.; DARBY, J.K. & MOSBACHER, D. Effectiveness of vitamin E for treatment of long-term tardive dyskinesia. **Am. J. Psychiatry**, 151:6, 1994.

DE SOUZA, H. & PALERMO-NETO, J.A. A quantitative study of cholinergic dopaminergic interactions in the central nervous system. **Pharmacology**, 24: 222-229, 1982.

DOREVITCH, A.; KALIAN, M.; SHLAFMAN, M. & LERNER, V. Treatment of long-term tardive dyskinesia with vitamin E. **Biol. Psychiatry**, 41: 114-116, 1997.

DORRIS, R.L. Ascorbic acid reduces the accumulation of [³H] spiperone in mouse striatum in vivo. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 186: 13-16, 1987.

DORRIS, R.L. & DILL, R.E. Potentiation of haloperidol-induced catalepsy by ascorbic acid in rats and nonhuman primates. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 24: 781-783, 1986.

EATON, J.W. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary (editorial: comment). **J. Lab. Clin. Med.**, 118: 3-4, 1991.

EDELMAN, G.M. & GALLY, J.A. Nitric oxide: linking space and time in the brain. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 89: 11651-11652, 1992.

EGAN, M.F.; HYDE, T.M.; ALBERS, G.W.; ELKASHEF, A.; ALEXANDER, R.C.; REEVE, A.; BLUM, A.; SAENZ, R.E. & WYATT, R.J. Treatment of tardive dyskinesia with vitamin E. **Am. J. Psychiatry**, 149: 773-777, 1992.

ELKASHEF, A.M.; RUSKIN, P.E.; BACHER, N. & BARRETT, D. Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia. **Am. J. Psychiatry**, 147: 505-506, 1990.

EVANS, H.M.; EMERSON, O.H. & EMERSON, G.A.- The isolation from wheat germ oil of na alcohol, α -tocopherol, having properties of vitamin E. **J. Biol. Chem.**, 113: 329-332, 1936. Apud: Gilman, A.G. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 9.ed. McGraw-Hill Interamericana Editores, 1996.

FAHN, S. High dosage anticholinergic therapy in dystonia. **Neurology**, 33: 1255-1261, 1983.

FAURBYE, A.; RASCH, P.J.; PETERSON, P.B.; BRANDBORG, G.; PAKKER-BERG, H. **Acta Psychiatr. Scan.**, 40: 10-27, 1964.

FELICIO, L.F.; PALERMO-NETO, J. & NASELLO, A.G. Perinatal bromopride treatment: effects on motor activity and stereotyped behavior of offspring. **Physiol. Behav.**, 45: 1081-1085, 1989.

FERREIRA, A.L.A. & MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. **Ver. Ass. Med. Brasil**, 43 (1): 61-68, 1997.

FRUSSA-FILHO, R. & PALERMO-NETO, J. Effects of single and long-term of sulpiride administration on open-field and stereotyped behavior of rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 23: 463-472, 1990.

FRUSSA-FILHO, R. & PALERMO-NETO, J. Effects of single and long-term of droperidol administration on open-field and stereotyped behavior of rats. **Physiol. Behav.**, 50: 825-830, 1991.

GALILI, R.; MOSBERG, GIL-AD I., WEIZMAN, A.; MELAMED, E. & OFFEN, D. Haloperidol-induced neurotoxicity: possible implications for tardive dyskinesia. **J. Neural Transm.**, 107 (4): 479-490, 2000.

GATTAZ, W.F.; EMRICH, A. & BEHRENS, S. Vitamin E attenuates the development of haloperidol-induced dopaminergic hypersensitivity in rats: possible implications for tardive dyskinesia. **J. Neural Transm.**, 92: 197-201, 1993.

GILMAN, A.G. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 9.ed. McGraw-Hill Interamericana Editores, 1996.

GRAEFF, F.G. & BRANDÃO, M.L. *Neurologia das doenças mentais*. 5 ed. São Paulo: Lemos Editorial, 1999.

GULLEY, J.M. & REBEC, G.V. Modulatory effects of ascorbate, alone or with haloperidol, on a lever-release conditioned avoidance response task. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 63 (1): 125-129, 1999.

GUPTA, S.; ANDREASEN, N.C.; ARNDT, S.; FLAUM, M.; SCHULTZ, S.K.; HUBBARD, W.C. & SMITH, M. Neurological soft signs in neuroleptic-naive and neuroleptic-treated schizophrenic patients and in normal comparison subjects. **Am. J. Psychiatry**, 152 (2): 191-196, 1995.

GUY, W. Abnormal involuntary movement scale (AIMS). In: **Ecdeu Assessment Manual for Psychopharmacology**, 338. Rockville, M.D.: NIMH, p. 534-537, 1976.

HADJICONSTANTINO, M. & NEFF, N.H. Ascorbate acid could be hazardous to your experiments: a commentary on dopamine receptor binding studies with speculation on a role of ascorbic acid in neuronal function. **Neuropharmacology**, 22: 939-943, 1983.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. **Arch. Biochem. Biophys**, 246: 501-514, 1986.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford, UK: Oxford UP, 1989.

HALLIWELL, B. Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. **Acta Neurol. Scand.**, 126: 23-33, 1989.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymol.**, 186: 1-85, 1990.

HERJANIC, M. Ascorbic acid and schizophrenia. In: HAWKINS, D. & PAULING, L. (Eds.). **Orthomolecular Psychiatry: Treatment of Schizophrenia**. San Francisco: W.H. Freeman, p. 303-315, 1973.

HERRERA, E. & BARBAS, C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. **J. Physiol. Biochem.**, 57 (2): 43-56, 2001.

HEIKKILA, R.E.; CABBAT, F.S. & MANZINO, L. Stereospecific binding of ³H-dopamine in neostriatal membrane preparations: inhibitory effects of sodium ascorbate. **Life Sci.**, 32: 2183-2191, 1983.

HIRSCH, E.C. & FAUCHEUX, B.A. Iron metabolism and Parkinson's disease. **Mov. Disord.**, 13: 39-45, 1998.

HORI, H.; OHMORI, O.; SHINKAI, T.; KOJIMA, H.; OKANO, C.; SUZUKI, T.; NAKAMURA, J. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism and schizophrenia: relation to tardive dyskinesia. **Neuropsychopharmacology**, 23 (2): 170-177, 2000.

JORGENSEN, H.A.; ANDREASSEN, O.A. & HOLE, K. The relationship between motor effects in rats following acute and chronic haloperidol treatment. **Psychopharmacology**, 116: 89-92, 1994.

JUNKER, D.; STEIGLEIDER, P. & GATTAZ, W.F. Alpha-tocopherol in the treatment of tardive dyskinesia. **Clin. Neuropharmacol.**, 15(suppl 1, pt b): 639B, 1992.

KANE, J.M. Tardive dyskinesia. In: JOSEPH, A.B. & YOUNG, R.R. (Eds.). **Movement Disorders in Neurology and Neuropsychiatry**. Oxford: Blackwell, p. 33-39., 1992.

KANE, J.M. Tardive dyskinesia, epidemiological and clinical presentation. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Eds.). **Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress**. New York: Raven Press, 1995.

KANE, J.M. Extrapyramidal side effects are unacceptable. **European Neuropsychopharmacology**, 11 (4): S397-S403, 2001.

KEBABIAN, J.W. & CALNE, D.B. Multiple receptors for dopamine. **Nature**, 277: 93-96, 1979.

KLAWANS, H.L. The pharmacology of tardive dyskinesia. **Am. J. Psychiat.**, 130: 82-86, 1973.

KLAWANS, H.L. & RUBOVITS, R. An experimental model of tardive dyskinesia. **J. Neural Transm.**, 33: 235-246, 1972.

KLAWANS, H.L.; GOETS, C. & CARVEY, P. Animal models of tardive dyskinesia. **Clin. Neuropharmacol.**, 6: 129, 1983.

KULKARNI, S.K. & NAIDU, P.S. Tardive dyskinesia: an update. **Drugs Today**, 37: 97-119, 2001.

LAM, L.C.V.; CHIU, H.F.K. & HUNG, S.F. Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia: a replication study. **J. Nerv. Ment. Dis.**, 182: 113-114, 1994.

LIDAY, L.A.; PIPPENGER, C.E.; HOWARD, A.A. & LIEBERMAN, J.A. Free radical scavenging enzyme activity and related trace metals in clozapine - induced agranulocytosis. A pilot study. **J. Clin. Psychopharmacol.**, 15: 353-36, 1995.

LIU, W.; WU, C.F.; LIU, J.; HUANG, M. & XIAO, K. Differential effects of acute administration of haloperidol and clozapine on ethanol-induced ascorbic acid release in rat striatum. **European Journal of Pharmacology**, 398: 333-339, 2000.

LOHR, J.B.; CADET, J.L.; LOHR, M.A.; LARSON, L.; WASIL, E.; WADE, L.; HYLTON, R.; VIDONI, C.; JESTE, D. & WYATT, R.J. Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia: the possible involvement of free radical mechanisms. **Schizophr. Bull**, 14: 291-296, 1988.

LOHR, J.B. Oxygen radicals and neuropsychiatric illness. Some speculations. **Arch. Gen. Psychiatry**, 48: 1097-1106, 1991.

LOHR, J.B. & CALIGIURI, M.P. A double-blind placebo-controlled study of vitamin E treatment of tardive dyskinesia. **J. Clin. Psychiatry**, 57: 167-173, 1996.

LOVEN, D.P.; JAMES, J.F.; BIGGS, L. & LITTLE, K.Y. Increased manganese-superoxide dismutase activity in post-mortem brain from neuroleptic-treated psychotic patients. **Biol. Psychiatry**, 40: 230-232, 1996.

MACKAY, A.V.P.; IVERSEN, L.L.; ROSSOR, M.; SPOKES, E.G.; BIRD, E.; ARREGUI, A.; CREESE, I. & SNYDER, S.H. Increased brain dopamine and dopamine receptors in schizophrenia. **Arch. Gen. Psychiatry**, 39: 991-997, 1982.

McCREADIE, R.G.; McDONALD, E.; WILES, D.; CAMPBELL, G. & PATERSON, J.R. The nithsdale schizophrenia surveys. XIV: Plasma lipid peroxide and serum vitamin E levels in patients with and without tardive dyskinesia, and in normal subjects. **Brit. J. Psychiatry**, 167: 1-8, 1995.

MAHADIK, S.P.; EVANS, D. & LAL, H. Oxidative stress and role of antioxidant and ω -3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat**, 25, 463-493, 2001.

MAHADIK, S.P. & MUKHERJEE, S. Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. **Schizophr. Res.**, 19: 1-17, 1996.

MAJEWSKA, M.B.; BELL, J.A. & LONDON, E.D. Regulation of the NMDA receptor by redox phenomena – inhibitory role of ascorbate. **Brain Res.**, 537: 328-332, 1990.

MARSDEN, C.D. & JENNER, P. The pathophysiology of extrapyramidal side-effects of neuroleptic drugs. **Psychol. Med.**, 10: 55-72, 1980.

MAXWELL, S.R.J. Prospects for the use of antioxidant therapies. **Drugs**, 49 (3): 345-361, 1995.

MEISTER, A. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; applications in research and therapy. **Pharmacol. Ther.**, 51: 155-194, 1991.

MILLS, A. Dopamine: from cinderella to holy grail. **Trends Pharmacol. Sci.**, 13: 399-400, 1992.

NAIDU, P.S. & KULKARNI, S.K. Possible involvement of prostaglandins in haloperidol-induced orofacial dyskinesia in rats. **European Journal of Pharmacology**, 430: 295-298, 2001.

NEISEWANDER, J.L.; CASTANEDA, E. & DAVIS, D.A. Dose-dependent differences in the development of reserpine-induced oral dyskinesia in rats: support for a model of tardive dyskinesia. **Psychopharmacol.**, 116: 79-84, 1994.

PACKER, J.E.; SLATER, T.F. & WILSON, R.L. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. **Nature**, 278: 737, 1979.

PAI, B.N.; JANAKIRAMAIAH, N.; GANGADHAR, B.N. & RAVINDRANATH, V. Depletion of glutathione and enhanced lipid peroxidation in the CSF of acute psychotics following haloperidol administration. **Biol. Psychiatry**, 36: 489-491, 1994.

PALERMO-NETO, J. Supersensitivity, drug withdrawal, and open-field behavior. **Psychopharmacol. Bull.**, 18:11-12, 1982.

PALERMO-NETO, J. & FRUSSA-FILHO, R. Dopaminergic system. In: BOLIS, C.L. & LICINIO, J. (Eds.). **Its evolution from biology to clinical aspects. AIREN (International Association for Research and Training in Neurosciences and World Health Organization)** Geneva, Switzerland, 2000.

PEET, M.; LAUGHARNE, J.; RANGARAJAN, N.; REYNOLDS, G.P.; WATSON, R.E.B. & CUTTS, A.J. Tardive dyskinesia, lipid peroxidation and vitamin E treatment. **Schizophr. Res.**, 9 (2,3): 279, 1993.

PIERCE, R.C.; ROWLETT, J.K.; BARDO, M.T. & REBEC, G.V. Chronic ascorbate potentiates the effects of chronic haloperidol on behavioral supersensitivity but not D₂ dopamine receptor binding. **Neuroscience**, 45 (2): 373-378, 1991.

PIERCE, R.C.; ROWLETT, J.K.; REBEC, G.V. & BARDO, M.T. Ascorbate potentiates amphetamine-induced conditioned place preference and forebrain dopamine release in rats. **Brain Res.**, 688: 21-26, 1995.

PIERCE, R.C.; CLEMENS, A.J.; SHAPIRO, L.A. & REBEC, G.V. Repeated treatment with ascorbate or haloperidol, but not clozapine, elevates extracellular ascorbate in the neostriatum of freely moving rats. **Psychopharmacology**, 116 (1): 103-109, 1994.

POST, A.; HOLSBOER, F. & BEHL, C. Induction of NF- κ B activity during haloperidol-induced oxidative toxicity in clonal hippocampal cells: suppression of NF- κ B and neuroprotection by antioxidants. **The Journal of Neuroscience**, 18 (20): 8236-8246, 1998.

REBEC, G.V.; CENTORE, J.C.; WHITE, L.K. & ALLOWAY, K.D. Ascorbic acid and the behavioral response to haloperidol: implications for the action of antipsychotic drugs. **Science**, 227: 438-440, 1985.

REBEC, G.V. & PIERCE, R.C. A vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission. **Progress in Neurobiology**, 43: 537-565, 1994.

REDDY, R.; MAHADIK, S.P.; MUKHERJEE, M. & MURTHY, J.N. Enzymes of the antioxidant system in chronic schizophrenic patients. **Biol. Psychiatry**, 30: 409-412, 1991.

REDDY, R. & YAO, J.K. Free radical pathology in schizophrenia: a review. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, 55: 33-43, 1996.

REYNOLDS, I.J. & HASTINGS, T.G. Glutamate induces the production of reactive oxygen species in cultured forebrain neurons following NMDA receptor activation. **J. Neurosci.**, 15: 3318-3327, 1995.

ROSS, D. & MOLDEUS, P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In: VIGO-PELFREY, C (Ed.). **Membrane lipid oxidation**. 1.ed. Boca Raton, CRC Press: 151-170, 1991.

RUPÉREZ, F.J.; BARBAS, C.; CASTRO, M.; MARTÍNEZ, S. & HERRERA, E. Simplified method for vitamin E determination in rat adipose tissue and mammary glands by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, 823: 483-487, 1998.

RUPNIAK, N.M.J.; JENNER, P. & MARSDEN, C.D. Acute dystonia induced by neuroleptic drugs. **Psychopharmacol.**, 88: 403-419, 1986.

SACHDEV P.; SAHAROV, T. & CATHCART, S. The preventative role of antioxidants (selegiline and vitamin E) in a rat model of tardive dyskinesia. **Society of Biological Psychiatry**, 46 (12): 1672-1681, 1999.

SAGARA, Y. Induction of reactive oxygen species in neurons by haloperidol. **Journal of Neurochemistry**, 71 (3): 1002-1010, 1998.

SAKAI, K.; GAO, X.M.; HASHIMOTO, T. & TAMMINGA, C.A. Traditional and new antipsychotic drugs differentially alter neurotransmission markers in basal ganglia-thalamocortical neural pathways. **Synapse**, 39 (2): 152-160, 2001.

SANDYK, R. & KANOFSKY, J.D. Vitamin C in the treatment of schizophrenia. **Int. J. Neurosci.**, 68 (1-2): 67-71, 1993.

SCATTON, B. Differential regional development of tolerance to increase in dopamine turnover upon repeated neuroleptic administration. **Eur. J. Pharmacol.**, 46: 363-369, 1977.

SCHMIDT, M.; MEISTER, P. & BAUMANN, P. Treatment of tardive dyskinesia with vitamin E. **Eur. Psychiatry**, 6: 201-207, 1991.

SCHONECKER, M. Ein eigentümliches syndrom im oralen bereich bei megaphen applikation. **Nervenarzt.**, 28: 35, 1957.

SHARPLESS, S.K. Reorganization of function in the nervous system-use and disuse. **Ann. Ver. Physiol.**, 28: 357-388, 1964.

SHARPLESS, S.K. Supersensitivity-like phenomena in the central nervous system. **Fed. Proc.**, 34: 1990-1997, 1975.

SEEMAN, P. Dopamine receptor and the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Synapse**, 1: 133-152, 1987.

SHIVAKUMAR, B.R. & RAVINDRANATH, V. Oxidative stress and thiol modification induced by chronic administration of haloperidol. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 265: 1137-1141, 1993.

SHRIQUI, C.L.; BRADWEJN, J.; ANNABLE, L. & JONES, B.D. Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia: a double-blind placebo-controlled study. **Am. J. Psychiatry**, 149: 391-393, 1992.

SMITH, R.C. - Is the dopaminergic supersensitivity theory of tardive dyskinesia valid? In: WOLF, M.E. & MOSNAIM, A.D. (Eds.). **Tardive Dyskinesia: Biological Mechanisms and Clinical Aspects**. Washington DC: American Psychiatric Press, p. 1-22, 1988.

SMYTHIES, J. Redox mechanisms at the glutamate synapse and their significance: a review. **European Journal of Pharmacology**, 370: 1-7, 1999.

SNEDOCOR, G.W. **Statistical methods**. 4.ed. Iowa: Iowa States College Press, 1946.

SOARES, K.V.S. & McGRATH, J.J. The treatment of tardive dyskinesia – a systematic review and meta-analysis. **Schizophrenia Research**, 39: 1-16, 1999.

SOARES, K.V.S. & McGRATH, J.J. Vitamin E for neuroleptic-induced tardive dyskinesia (Cochrane Review). **Cochrane Database Syst Rev**, 4: 2001.

SOKOL, R.J. Vitamin E and neurologic function in man. **Free Radical Biol. Med.**, 6: 189-207, 1989.

SPIVAK, B.; SCHWARTZ, B.; RADWAN, M. & WEIZMAN, A. Alpha-tocopherol treatment for tardive dyskinesia. **J. Nerv. Ment. Dis.**, 180: 400-401, 1992.

STEINPREIS, R.E. & SALAMONE, J.D. The effects of acute haloperidol and reserpine administration on vacuous jaw movements in three different age groups of rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 46: 405-409, 1993.

STRAW, G.M.; BIGELOW, L.B. & KIRCH, D.G. Haloperidol and reduced haloperidol concentrations and psychiatric ratings in schizophrenic patients treated with ascorbic acid. **J. Clin. Psychopharmac.**, 9: 130-132, 1989.

SUBOTICANEC, K.; FOLNEGOVIC-SMALC, V.; KORBAR, M.; MESTROVIC, B. & BUZINA, R. Vitamin C status in chronic schizophrenia. **Biol. Psychiatry**, 28: 959-966, 1990.

SZABO, L.; LAJKO, K.; BARABAS, K. & MATKOVICS, B. Effects of neuroleptics on the lipid peroxidation and peroxide metabolism enzyme activities in various discrete areas of the rat brain. **Gen. Pharmacol.**, 14 (5): 537-539, 1983.

TAKEUCHI, H.; ISHIGOOKA, J.; KOBAYASHI, K.; WATANABE, S. & MIURA, S. Study on the suitability of a rat model for tardive dyskinesia and the preventive effects of various drugs. **Prog. Neuropsychopharmacol. & Biol. Psychiat.**, 22: 679-691, 1998.

TARSY, D. & BALDESSARINI, R.J. Behavioural supersensitivity to apomorphine following chronic treatment with drugs which interfere with the synaptic function of catecholamines. **Neuropharmacol.**, 13: 927-940, 1974.

TRENDLENBURG, U. Mechanisms of supersensitivity and subsensitivity to sympathomimetics amines. **Pharmacol. Rev.**, 18: 629-640, 1966.

TSAI, G.; GOFF, D.C.; CHANG, R.W.; FLOOD, J.; BAER, L. & COYLE, J.T. Markers of glutamatergic neurotransmission and oxidative stress associated with tardive dyskinesia. **Am. J. Psychiatry**, 155 (9): 1207-1213, 1998.

VATASSERY, G.T.; BAUER, T. & DYSKEN, M. High doses of vitamin E in the treatment of disorders of the central nervous system in the aged. **Am. J. Clin. Nutr.**, 70 (5): 793-801, 1999.

VATASSERY, G.T.; BAUER, T. & DYSKEN, M. High doses of vitamin E in the treatment of disorders of the central nervous system in the aged. **Am. J. Clin Nutr.**, 72 (1): 201-203, 2000.

WADDINGTON, J.L. Spontaneous orofacial movements induced in rodents by very long-term neuroleptic drug administration: phenomenology, pathophysiology and putative relationship to tardive dyskinesia. **Psychopharmacology**, 101: 431-447, 1990.

WAMBEBE, C. & SOKOMBA, E. Some behavioral and EEG effects of ascorbic acid in rats. **Psychopharmacology**, 89: 167-170, 1986.

WHITE, L.K.; MAURER, M.; SIDELL, E.A.; KRAFT, M.E.; OH, C. & REBEC, G.V. Intrastratial infusions of ascorbate antagonize the behavioral response to amphetamine. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 36: 485-489, 1990.

WHITHERS, N.W.; PULVIRENTI, L.; KOOB, G.F. & GILLIN, J.C. Cocaine abuse and dependence. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, 15: 63-78, 1995.

WYATT, R.; FAWCETT, R. & KIRCH, D. A possible animal model of deficit state schizophrenia. In: SCHULTZ, S. & TAMMINGA, C. (Eds.). **Schizophrenia: Scientific Progress**. New York: Oxford University Press, p. 184-189, 1989.

WYATT, R.J.; KAROUM, F. & MASSERANO, J. Effects of antipsychotics, vitamin E and MK-801 on dopamine dynamics in the rat brain following discontinuation of cocaine. **Psychiatry Research**, 80: 213-225, 1998.

YAMADA, K.; KANBA, S.; ANAMIZU, S.; OHNISHI, K.; ASHIKARI, I.; YAGI, G. & ASA, M. Low peroxide dismutase activity in schizophrenic patient with tardive dyskinesia. **Psychol. Med.**, 27 (5): 1223-1225, 1997.

YAO, J.K.; REDDY, R.D., McELHINNY, L.G. & VAN KAMMEN, D.P. Effects of haloperidol on antioxidant defense system enzymes in schizophrenia. **Journal of Psychiatric Research**, 32: 385-391, 1998.

YAO, J.K.; REDDY, R.D. & VAN KAMMEN, D.P. Human Plasma glutathione peroxidase and symptom severity in schizophrenia. **Society of Biological Psychiatry**, 45: 1512-1515, 1999.

YAO, J.K.; REDDY, R.D. & VAN KAMMEN, D.P. Oxidative damage and schizophrenia: an overview of the evidence and its therapeutic implications. **CNS Drugs**, 15 (4): 287-310, 2001.

YOKOYAMA, H.; MORI, N. & NIWA, S. Oxygen radical hypothesis for the pathogenesis of tardive dyskinesia. **Brain Sci. Mental Disord.**, 2: 219-225, 1994.

YOKOYAMA, H.; TSUCHIHASHI, N.; KASAI, N.; MATSUE, T.; UCHIDA, I.; MORI, N.; OHYA-NISHIGUCHI, H. & KAMADA, H. Hydrogen peroxide augmentation in a rat striatum after methamphetamine injection as monitored in vivo by a Pt-disk microelectrode. **Biosens. Bioelectron**, 12: 1037-1041, 1997.

YOKOYAMA, H.; KASAI, N.; UEDA, Y.; NIWA, R.; KONAKA, R.; MORI, N.; TSUCHIHASHI, N.; MATSUE, T.; OHYA-NISHIGUCHI, H. & KAMADA, H. In vivo analysis of hydrogen peroxide and lipid radicals in the striatum of rats under long-term administration of a neuroleptic. **Free Radical Biology & Medicine**, 24 (6): 1056-1060, 1998.

ZOCCARATO, F.; VALENTE, M. & ALEXANDRE, A. Hydrogen peroxide induces a long-lasting inhibition of the Ca^{2+} -dependent glutamate release in cerebrocortical synaptosomes without interfering with cytosolic Ca^{2+} . **J. Neurochem.**, 64: 2552-2558, 1995.