

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**ANA CAROLINE MARTINS VITOR**

**ESTUDO DOS EFEITOS DA SINVASTATINA EM MODELO ANIMAL DE  
ESQUIZOFRENIA INDUZIDO POR QUETAMINA**

**PATOS DE MINAS - MG  
SETEMBRO DE 2022**

**ANA CAROLINE MARTINS VITOR**

**ESTUDO DOS EFEITOS DA SINVASTATINA EM MODELO ANIMAL DE  
ESQUIZOFRENIA INDUZIDO POR QUETAMINA**

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

**Prof.(a). Dr.(a). Julia Ariana de Souza  
Gomes Lenzi**

**PATOS DE MINAS - MG  
SETEMBRO DE 2022**

**ANA CAROLINE MARTINS VITOR**

**Estudo dos efeitos da sinvastatina em modelo animal de esquizofrenia induzido por  
quetamina**

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Banca examinadora:

Prof.(a) Dr.(a) Júlia Ariana de Souza Gomes Lenzi – UFU  
Presidente

Prof.(a) Dr.(a) Enyara Rezende Moraes – UFU  
Membro

Prof.(a) Dr.(a) Greicy Coelho Arraes– UNICHRISTUS  
Membro

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa que se encontra no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da Universidade Federal de Uberlândia.

Patos de Minas, MG – 16 de setembro de 2022

## RESUMO

A esquizofrenia é um transtorno mental grave e incapacitante. Embora os antipsicóticos sejam eficazes para muitos pacientes, uma parcela importante destes é refratária ao tratamento. Assim, ressalta-se a importância de pesquisas para melhoria dos resultados clínicos da esquizofrenia. As estatinas, classe de fármacos que inibe a enzima 3-hidroxi-metilglutaril coenzima A redutase, são propostas para o tratamento de diversos transtornos psiquiátricos, incluindo a esquizofrenia, entretanto, os dados neste último ainda são controversos. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da sinvastatina e da associação de baixas doses do atípico olanzapina e sinvastatina em modelo animal de esquizofrenia induzido por quetamina. Foram utilizados camundongos Balb/C machos de 10 semanas de idade. Os animais receberam veículo, sinvastatina, olanzapina ou subdose de olanzapina + sinvastatina durante 14 dias. A partir do 8º dia, iniciou-se o tratamento com quetamina ou solução salina. Após esse período, os animais foram submetidos aos testes de campo aberto e labirinto em Y. Os resultados de comportamento não demonstraram diferença significativa entre os grupos. É possível que a dose utilizada de quetamina tenha sido insuficiente para induzir os comportamentos relacionados à esquizofrenia. Adicionalmente, no teste de labirinto em Y, os animais do grupo controle apresentaram porcentagem de alternância correta notavelmente menor que o esperado, o que, provavelmente, impossibilitou a indução de alteração pela quetamina. Conclui-se que mais estudos precisam ser conduzidos para avaliação do efeito da sinvastatina em modelos animais de esquizofrenia para avaliação do seu efeito nos comportamentos relacionados à esquizofrenia, assim como nas possíveis vias envolvidas.

Palavras-chave: Esquizofrenia. Estatinas. Antipsicóticos.

## **ABSTRACT**

*Schizophrenia is a severe and disabling mental disorder. Although antipsychotics are effective for many patients, an important proportion of these are refractory to treatment. Thus, the importance of research to improve the clinical results of schizophrenia is emphasized. Statins, a class of drugs that inhibit the enzyme 3-hydroxy-methylglutaryl coenzyme A reductase, are proposed for the treatment of several psychiatric disorders, including schizophrenia, however, data on the latter are still controversial. Thus, the objective of this work was to investigate the effects of simvastatin and the association of low doses of the atippsychotic olanzapine and simvastatin in an animal model of schizophrenia induced by ketamine. 10-week-old male Balb/C mice were used. Animals received vehicle, simvastatin, olanzapine or subdose of olanzapine + simvastatin for 14 days. From the 8th day, treatment with ketamine or saline solution was started. After this period, the animals were submitted to the open field and Y-maze tests. The behavior results showed no significant difference between the groups. It is possible that the dose of ketamine used was insufficient to induce schizophrenia-related behaviors. Additionally, in the Y-maze test, the animals in the control group showed a significantly lower percentage of correct alternation than expected, which probably prevented the induction of alteration by ketamine. It is concluded that more studies need to be conducted to evaluate the effect of simvastatin in animal models of schizophrenia to assess its effect on schizophrenia-related behaviors, as well as the possible pathways involved.*

*Keywords: Schizophrenia. Statins. Antipsychotics.*

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
1.1 Esquizofrenia .....	6
1.1.1 Fisiopatologia da Esquizofrenia .....	6
1.1.2 Farmacoterapia .....	8
1.2 Estatinas .....	9
1.2.1 Estatinas e Esquizofrenia .....	10
1.3 Etologia da esquizofrenia.....	11
OBJETIVOS.....	12
Objetivo Geral .....	12
Objetivos específicos.....	13
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.1 Animais .....	13
2.2 Tratamento Farmacológico .....	13
2.3 Protocolo de prevenção do modelo de esquizofrenia induzido por quetamina. ....	14
2.4 Avaliações comportamentais .....	14
2.4.1 Campo aberto .....	14
2.4.2 Labirinto em Y .....	15
2.5 Eutanásia.....	15
2.6 Análises Estatísticas.....	15
3 RESULTADOS .....	16
3.1 Campo aberto.....	16
3.2 Labirinto em Y.....	17
4 DISCUSSÃO.....	18
5 CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS .....	22

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Esquizofrenia

A esquizofrenia é um transtorno mental caracterizado por sintomas positivos, negativos e de desorganização. Os sintomas positivos incluem alucinações e delírios, enquanto os negativos são representados por perda de motivação, apatia e retraimento social. Já a desorganização inclui pensamentos desordenados, discurso incoerente e perturbação das emoções (MURRAY *et al.*, 2021; OMS, 2019). O aparecimento dos primeiros indícios de esquizofrenia geralmente surge ao final da adolescência e início da vida adulta, e pode afetar o desempenho da pessoa ao longo de toda a vida (MARDER; CANNON, 2019). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022), a esquizofrenia afeta mais de 20 milhões de indivíduos em todo o planeta aumentando de duas a três vezes as chances de morte por eventos cardiovasculares (IJAZ *et al.*, 2018; VANCAMPFORT *et al.*, 2015).

Apesar de sua baixa prevalência, a carga social e econômica da esquizofrenia tem sido enorme, não apenas para os pacientes, mas também para as famílias, cuidadores e a sociedade em geral. De fato, estudos mostram que os custos sociais e econômicos da esquizofrenia são desproporcionalmente altos em relação à sua incidência e prevalência (GALLETLY *et al.*, 2016).

### 1.1.1 Fisiopatologia da Esquizofrenia

Embora a fisiopatologia e a etiologia da esquizofrenia ainda não tenham sido completamente elucidadas, há estudos que caracterizam a doença pela redução do volume de substância branca e cinzenta do cérebro (SHAN *et al.*, 2019; MECHELLI *et al.*, 2011), distúrbios inflamatórios, desregulação do sistema imunológico (POLLAK *et al.*, 2019; VELÁSQUEZ *et al.*, 2019), distúrbios da homeostase da glicose (PILLINGER *et al.*, 2017), distúrbios do neurodesenvolvimento e disfunções mitocondriais (FERNANDEZ *et al.*, 2019). Ainda que pouco se saiba sobre a trajetória das alterações ocorridas na doença, há relatos sugerindo alterações na atividade cerebral como redução precoce do volume do córtex pré-frontal, giro temporal superior e redução do volume do giro hipocampal. Alterações na

atividade cerebral também são observadas em regiões que incluem cerebelo e giros frontais (BRYLL *et al.*, 2020).

Segundo Ben-Shachar (2017), a primeira hipótese e a mais aceita, refere-se à desregulação nos sistemas neurotransmissores dopaminérgicos, glutamatérgicos e GABAérgicos e suas interações interrompidas. Evidências sugerem que a neurotransmissão glutamatérgica disfuncional através do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) pode estar subjacente à fisiopatologia da esquizofrenia (HASHIMOTO, 2014). A hipótese do receptor NMDA na esquizofrenia foi proposta pela primeira vez há mais de 40 anos (COYLE, 2012). Foram encontradas alterações nos níveis de glutamina para glutamato no córtex pré-frontal medial e no córtex cingulado anterior dorsal nos cérebros de pacientes com esquizofrenia (SHIRAYAMA *et al.*, 2010, BUSTILLO *et al.*, 2014). Além disso, existem achados que sugerem o envolvimento do receptor NMDA no desenvolvimento de sintomas negativos e comprometimento cognitivo, uma vez que esse receptor medeia a liberação de neurotransmissores como dopamina, glutamato, acetilcolina e GABA (HASHIMOTO, 2014).

Além disso, diversos estudos sugerem a participação de processos inflamatórios, centrais e sistêmicos, na fisiopatologia da esquizofrenia (LEZA *et al.*, 2015; MULLER *et al.*, 2015), uma vez que os pacientes apresentam níveis sanguíneos elevados de citocinas (MILLER *et al.*, 2011) e ativação da microglial (BERCKEL *et al.*, 2008). Além disso, o desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio e o desempenho do sistema de defesa antioxidante também foram documentados na esquizofrenia (BAI *et al.*, 2018, SINGH *et al.*, 2008; RAFFA *et al.*, 2009), indicando que o estresse oxidativo está relacionado a uma variedade de processos fisiopatológicos da doença (RAJASEKARAN *et al.*, 2015) como, por exemplo, na disfunção da membrana. De fato, há evidências de que esta patologia se desenvolve devido às membranas pré-sinápticas neuroniais serem particularmente sensíveis ao estresse oxidativo, trazendo grande impacto nas funções cognitivas e comportamentais relacionadas à esquizofrenia. O estresse pode afetar a plasticidade neuronal, transdução de sinal e induzir apoptose (BRYLL *et al.*, 2020).

A disfunção mitocondrial é relatada como uma característica comum entre os distúrbios neurológicos, sendo um dos fatores de risco para doenças neurodegenerativas (WU; CHEN; JIANG, 2019). As mitocôndrias são essenciais para o desenvolvimento de diversos processos que ocorrem nos neurônios (RAJASEKARAN *et al.*, 2015) e disfunções ocorridas nessa organela podem levar ao estresse oxidativo (PRABAKARAN *et al.*, 2004) e à perda de ATP (WU; CHEN; JIANG, 2019), comprometendo, assim, o metabolismo energético cerebral (PRABAKARAN *et al.*, 2004).

As consequências do estresse oxidativo no cérebro podem incluir distúrbios do metabolismo da glicose (principal fonte de energia para o cérebro) e essas alterações são em grande parte devido à oxidação prejudicada das principais proteínas glicolíticas ou à produção de energia na forma de ATP. A diminuição de fornecimento de energia ao cérebro causa uma série de alterações, incluindo a exclusão de funções vitais, como potencial funcional prejudicado ou níveis aumentados de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, alterando as funções básicas dos neurônios. O estresse oxidativo aumenta os níveis intracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$  livre, o que pode levar ao comprometimento do suprimento de energia. A energia na forma de ATP necessária para o bom funcionamento dos neurônios pode ser regulada pelo nível intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ . Dessa forma, estas disfunções mitocondriais causam despolarização da membrana mitocondrial, distúrbios da fosforilação oxidativa e superprodução de radicais livres, resultando na exclusão de neurônios vitais do córtex frontal e hipocampo, que são fisiologicamente responsáveis pela plasticidade sináptica normal e pela liberação de neurotransmissores. Assim, eles afetam o aprendizado e a memória, o foco, as funções cognitivas (BRYLL *et al.*, 2020).

### 1.1.2 Farmacoterapia

A principal forma de tratamento da esquizofrenia se baseia no uso de fármacos antipsicóticos e, normalmente, eles possuem como alvo os receptores D2 da dopamina. O primeiro antipsicótico criado foi a clorpromazina, originalmente utilizada como adjuvante anestésico, até se tornar o principal tratamento para transtornos psicóticos (BAN, 2007). Devido ao grande sucesso clínico deste fármaco no tratamento da esquizofrenia, outras drogas foram desenvolvidas a partir dele e ficaram conhecidas como antipsicóticos de primeira geração ou antipsicóticos típicos, como o haloperidol. Contudo, pacientes tratados com esses compostos passaram a apresentar vários efeitos colaterais extrapiramidais e distúrbios graves do movimento, como sinais de tremor, acinesia e rigidez do tipo Parkinson. Assim, tornou-se necessário o desenvolvimento de antipsicótico mais eficientes e que não causassem tantos efeitos colaterais (GRAJALES; FERREIRA; VALVERDE, 2019; SEEMAN, 2013). Dessa forma, surgiram os antipsicóticos de segunda geração, conhecidos como antipsicóticos atípicos. Estes fármacos se popularizaram por induzir efeitos extrapiramidais ínfimos ou ausentes, além de apresentarem uma maior eficácia nos sintomas positivos e negativos da esquizofrenia (JEON; KIM, 2017).

Apesar de serem muito promissores na farmacoterapia da esquizofrenia, quando comparados aos antipsicóticos típicos, os antipsicóticos atípicos também possuem alguns malefícios. Grande parte deles (principalmente a clozapina e a olanzapina) estão associados a alterações na regulação da glicose e ao ganho de peso, induzindo, assim, à síndrome metabólica (PILLINGER, 2019). A olanzapina é uma das drogas frequentemente escolhidas com efeitos colaterais menores e, apesar de ser muito utilizada, seu uso a longo prazo está repleto de complicações cardiometabólicas (BRYLL *et al.*, 2020). Com isso, além de impactar a saúde dos pacientes tratados com esses fármacos, esses efeitos colaterais metabólicos também tornam o tratamento difícil e oneroso (JEON; KIM, 2017).

Além dos efeitos colaterais dos antipsicóticos, uma parte dos pacientes não responde adequadamente ao tratamento, sendo refratários à terapia antipsicótica existente na clínica. Assim, há a necessidade de se testar fármacos como estratégia de potencializar a ação antipsicótica para a melhora de sintomas positivos, negativos, de humor e cognitivos da esquizofrenia (ANDRADE *et al.*, 2018).

Estudos crescentes mostram que a inflamação tem se tornado a chave da patogênese de muitos transtornos mentais. Dessa forma, fármacos que atuem na inflamação podem ser um recurso alternativo para o tratamento desses transtornos. (KIM *et al.*, 2019). Nesse sentido, as estatinas têm se destacado, pois possuem propriedades anti-inflamatórias que são independentes de sua capacidade de reduzir o colesterol. Ao atravessar a barreira hematoencefálica, elas podem interferir nos processos patológicos da esquizofrenia, contribuindo com a ação dos fármacos antipsicóticos na reversão dos sintomas da doença (ANDRADE *et al.*, 2018; FRANCESCONI *et al.*, 2018).

## **1.2 Estatinas**

As estatinas são fármacos inibidores da enzima 3-hidroxi-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, sendo essa inibição reversível e competitiva com o substrato mevalonato. A inibição dessa enzima resulta em redução da biossíntese do colesterol e importante ação hipolipemiante, com consequente diminuição na incidência de eventos coronarianos (KIM *et al.*, 2019). Os efeitos antiateroscleróticos desta classe de fármacos se correlacionam positivamente com a diminuição do percentual do colesterol LDL, além de uma redução nos níveis de triglicerídeos e aumento do colesterol HDL (STONE *et al.*, 2014). Além disso, podem exercer efeitos antiateroscleróticos independentemente de sua ação hipolipidêmica. Como o metabolismo do mevalonato gera uma série de isoprenoides para

diferentes funções celulares, desde a síntese do colesterol até o controle do crescimento e diferenciação celular, a inibição da HMG-CoA redutase tem efeitos pleiotrópicos benéficos (STANCU; SIMA, 2001).

Em cultura de células e estudos em animais, os efeitos das estatinas de inibir a produção de intermediários isoprenóides na via biossintética do colesterol alteram a expressão da óxido nítrico sintase endotelial, a estabilidade das placas ateroscleróticas, a produção de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio, a reatividade das plaquetas e o desenvolvimento de hipertrofia e fibrose cardíacas, evidenciando seus efeitos pleiotrópicos no sistema cardiovascular (OESTERLE; LAUFS; LIAO, 2017).

As contribuições relativas da pleiotropia das estatinas para os resultados clínicos permanecem em debate. Entretanto, vários estudos comprovam ações das estatinas que vão além do seu efeito hipolipidêmico. Dentre estes efeitos destaca-se sua ação antiinflamatória, antioxidante, imunomoduladora e neuroprotetora (BEDI *et al.*, 2016). Assim, as estatinas têm sido utilizadas para o tratamento de várias doenças do sistema nervoso central, incluindo transtornos mentais e neurológicos (PAC-SOO *et al.*, 2011; DUTTA *et al.*, 2021; YU *et al.*, 2019; SHEN *et al.*, 2018).

### 1.2.1 Estatinas e Esquizofrenia

A esquizofrenia está associada à alta taxa de mortalidade, sendo a expectativa de vida dos indivíduos com esquizofrenia 20 anos menor, se comparada à média de pessoas que não possuem esse histórico (LAURSEN, 2014). Uma das explicações para a alta taxa de mortalidade deste transtorno mental está relacionada ao risco aumentado de síndrome metabólica e, conseqüentemente, morte por eventos cardiovasculares. Existem algumas evidências que apontam para a ocorrência de níveis elevados de glicose plasmática em jejum, redução da tolerância à glicose, aumento da insulina plasmática em jejum e aumento da resistência à insulina já no início da doença (PILLINGER *et al.*, 2017). Além disso, há hipóteses de que grande parte dos efeitos dos antipsicóticos estejam ligados ao ganho de peso, apresentando um efeito direto na sinalização da insulina e nas células  $\beta$  pancreáticas (WHICHER; PRICE; RICHARD, 2018). Alguns psicóticos atípicos, como a olanzapina, por exemplo, estão associados a alterações na regulação da glicose e ao ganho de peso, induzindo, assim, à síndrome metabólica (PILLINGER, 2019).

Embora a hiperlipidemia não seja considerada central para fisiopatologia da esquizofrenia, Correl *et al.* (2014), encontraram uma associação entre elas logo nos primeiros

episódios de psicose. Esse achado sugeriu que essa associação possa ser independente do uso de antipsicóticos. Dessa forma, embora a relação entre esquizofrenia e hiperlipidemia ainda não tenha sido completamente desvendada, a hiperlipidemia pode estar subjacente à fisiopatologia da esquizofrenia (NOMURA *et al.*, 2018). Além disso, também foi encontrada uma associação positiva entre alteração no colesterol e alteração na cognição ao longo do tratamento em pacientes atribuídos aos grupos olanzapina, clozapina ou haloperidol (KRAKOWSKI; CZOBOR, 2011). Assim, a adição de estatinas ao tratamento farmacológico poderia ser, além de uma opção para o tratar a hiperlipidemia na esquizofrenia, um tratamento adjuvante para melhorar os resultados clínicos dos fármacos antipsicóticos.

De fato, já há evidências a partir de dados clínicos e epidemiológicos sobre os efeitos positivos das estatinas no tratamento da esquizofrenia, sendo capaz de induzir melhora tanto dos sintomas positivos quanto negativos da esquizofrenia (SHEN *et al.*, 2018). Dentre os mecanismos envolvidos neste efeito, a ação anti-inflamatória das estatinas tem sido avaliada na literatura (KIM *et al.*, 2019). Entretanto, não há na literatura estudos sobre a participação de vias de estresse oxidativo. Além disso, não há registros de estudos utilizando modelos animais de esquizofrenia avaliando o efeito desse fármaco no comportamento e as possíveis vias envolvidas, incluindo a inflamação e o estresse oxidativo. Portanto, torna-se relevante a avaliação desta classe de fármacos em um modelo animal de esquizofrenia, uma vez que a ação desses fármacos ainda é controversa na esquizofrenia e cujos mecanismos envolvidos no possível efeito antipsicótico ainda permanecem por serem elucidados.

As estatinas podem ser amplamente classificadas como lipofílicas ou hidrofílicas, com base na sua capacidade de permear o cérebro (SCHACHTER, 2005). As estatinas lipofílicas, como sinvastatina, possuem maior facilidade de atravessar a barreira hematoencefálica interagindo com as regiões centrais do cérebro, além disso, as estatinas lipofílicas entram nas células por difusão passiva e, portanto, são amplamente distribuídas em vários tecidos, enquanto as estatinas hidrofílicas são mais específicas do fígado. Assim, apesar de vários estudos clínicos serem conduzidos com outras estatinas, já foi identificado que a sinvastatina, em comparação com outras estatinas, é mais indicada para tratamento de doenças do sistema nervoso central (SIERRA *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2019).

### **1.3 Etologia da esquizofrenia**

Os seres humanos são os únicos animais capazes de demonstrar verbalmente o que sabem, sentem e percebem sobre o mundo e sobre si mesmos. Devido a isso, para elucidar os

comportamentos emocionais e cognitivos de outros animais, os cientistas podem apenas observar seu comportamento (CARTER; SHIEH, 2015). Nesse sentido, a neurobiologia da esquizofrenia pode ser avaliada utilizando modelos animais induzidos por substâncias alucinógenas ou drogas psicoestimulantes.

A quetamina é um antagonista do receptor de glutamato N-metil D-aspartato que, a princípio, era utilizada como anestésico. No entanto, a quetamina também tem sido cada vez mais usada para fins recreativos, devido aos seus efeitos colaterais dissociativos como alucinações (LIU *et al.*, 2021). Evidências crescentes sugerem que a dependência de drogas recreativas, como a quetamina, causa danos neuronais em níveis corticais frontais seguidos de interferência da atividade do transmissor neural, particularmente a neurotransmissão de glutamato, produzindo consequências comportamentais e anormalidades de aprendizado em humanos e roedores (WANG *et al.*, 2019; XU; LIPSKY, 2014; CADINU, *et al.*, 2017). Dentre suas complicações em humanos, destacam-se seus efeitos psicotomiméticos positivos (desorganização conceitual, alucinações, desconfiança, conteúdo do pensamento) e efeitos psicotomiméticos negativos (embotamento afetivo, retraimento emocional, retardo motor). E em roedores, a administração da quetamina induz comportamentos relacionados a hiperlocomção e déficit na memória de trabalho (ONAOLAPO *et al.*, 2017; XIMENES *et al.*, 2018; MARTÍNEZ-PINTEÑO *et al.*, 2020). Dessa forma, a administração de quetamina produz sintomas semelhantes à esquizofrenia em humanos e em roedores (COYLE *et al.*, 2012).

Nesse sentido, a quetamina é uma droga importante e muito utilizada para induzir alterações neurológicas em modelo animal, sendo muito utilizada para avaliar a eficácia de novos fármacos. Estudos mostram que ela é capaz de induzir alterações na atividade locomotora e na memória de trabalho em camundongos (POWELL; MIYAKAWA, 2006; AFONSO *et al.*, 2020; ONAOLAPO *et al.*, 2017; XIMENES *et al.*, 2018; MARTÍNEZ-PINTEÑO *et al.*, 2020).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Investigar os efeitos da sinvastatina e da associação de baixas doses de olanzapina e sinvastatina em modelo animal de esquizofrenia induzido por quetamina.

## Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da sinvastatina e da associação de baixas doses de olanzapina e sinvastatina no teste de campo aberto em animais submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzido por quetamina;

- Avaliar o efeito da sinvastatina e da associação de baixas doses de olanzapina e sinvastatina no teste de labirinto em Y em animais submetidos ao modelo animal de esquizofrenia induzido por quetamina;

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Animais

Foram utilizados camundongos machos da linhagem Balb/C com 10 semanas de idade provenientes da Rede de Biotérios UFU (REBIR-UFU). Os animais foram mantidos com ração e água *ad libitum* e com ciclo claro-escuro de 12 horas. A metodologia foi aprovada pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da UNIPAM, sob o protocolo número 15/22.

### 2.2 Tratamento Farmacológico

A quetamina foi solubilizada em solução salina 0,9% e administrada por via intraperitoneal (i.p.) na dose de 20 mg/Kg (MONTE *et al.*, 2013). A olanzapina foi solubilizada em solução salina e administrada por gavagem na dose de 1 mg/kg (DE ARAÚJO *et al.*, 2021). A sinvastatina foi solubilizada em solução salina e administrada em doses de 3, 10 e 30 mg/Kg por gavagem (YILDIRIM; KAYGISIZ, 2018). O volume administrado nos animais foi de 1 ml/Kg. Os animais do grupo controle receberam um volume equivalente de solução salina. A administração de sinvastatina, olanzapina e veículo foram realizadas 30 minutos antes da administração de quetamina.

### 2.3 Protocolo de prevenção do modelo de esquizofrenia induzido por quetamina.

Foi realizado o protocolo de prevenção do modelo de esquizofrenia induzido por quetamina (MONTE *et al.*, 2013). Os animais receberam sinvastatina, olanzapina, subdose de olanzapina + sinvastatina ou veículo durante 14 dias de tratamento e, entre o 8º e o 14º dia, foi acrescentado o tratamento com quetamina ou veículo. Os testes comportamentais foram realizados ao final deste período.

O quadro a seguir esquematiza os grupos experimentais (Tabela 1).

**Tabela 1** - Protocolos de Prevenção do modelo animal de esquizofrenia induzido por quetamina

<b>GRUPOS DO PROTOCOLO DE PREVENÇÃO</b>		
<b>Grupos</b>	<b>Dias</b>	
	<b>1-7</b>	<b>8-14</b>
1. Controle	Salina	+ Salina
2. Sal + Ket	Salina	+ Quetamina
3. Olanzapina + Ket	Olanzapina 1 mg/kg	
4. SVT 3 + Ket	Sinvastatina 3 mg/kg	
5. SVT 10 + Ket	Sinvastatina 10 mg/kg	
6. SVT 30 + Ket	Sinvastatina 30 mg/kg	
7. OL 0,5 + SVT 10 + Ket	Olanzapina 0,5 mg/Kg + Sinvastatina 10 mg/kg	

Fonte: a autora. Ket = quetamina 20 mg/kg i.p.; Sal = solução salina 0,9 %; OL = Olanzapina 0,5 mg/kg i.p.; SVT= Sinvastatina (3, 10 e 30 mg/Kg).

### 2.4 Avaliações comportamentais

As avaliações comportamentais foram realizadas no 14º dia de tratamento após duas horas da última injeção.

#### 2.4.1 Campo aberto

No campo aberto, a atividade locomotora dos animais foi avaliada utilizando uma caixa vazia de formato cilíndrico medindo 30 cm de diâmetro e 30 cm de altura. Os animais foram

colocados no centro dessa caixa e tiveram seus movimentos registados utilizando-se uma câmera ao longo de cinco minutos de teste, conforme eles se moviam e exploravam o ambiente (CARTER; SHIEH, 2015). A distância percorrida e o tempo gasto na área central pelos animais foram contabilizados utilizando o software *Anymaze* (<https://www.any-maze.com/>).

#### 2.4.2 Labirinto em Y

No teste de labirinto em Y, foi avaliada a memória de curto prazo dos camundongos (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018). A alternância espontânea foi avaliada com base na tendência natural dos camundongos de explorar novos ambientes (HOLTER, 2015). O labirinto em Y apresenta três braços idênticos com 40 cm de comprimento, 25 cm de altura e 6 cm de largura. Os camundongos foram colocados na extremidade de um dos braços e puderam se movimentar livremente pelo labirinto (MONTE, *et al.*, 2013). Foi registrado cada braço que o camundongo entrou durante oito minutos (HOLTER, 2015). A alternância foi definida de acordo com a entrada em todos os três braços, sem repetição, em ocasiões consecutivas (MONTE, *et al.*, 2013; DALL'IGNA *et al.*, 2007). A porcentagem da alternância foi calculada de acordo o número total de alternâncias / (total de entradas de braço – 2) (DALL'IGNA *et al.*, 2007; MAURICE; LOCKHART; PRIVAT, 1996; MONTE *et al.*, 2013).

### 2.5 Eutanásia

Os animais foram submetidos à eutanásia por sobredosagem de anestésicos, seguido de exsanguinação. Os animais foram anestesiados com xilazina 12 mg/Kg e quetamina 120 mg/Kg administrados por via intraperitoneal e, após confirmada a perda de consciência, foi realizada a punção intracardíaca.

### 2.6 Análises Estatísticas

A análise dos dados foi realizada através do software *GraphPad Prism*, versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média e analisados através de *one-way* ANOVA seguido do teste de *Student's*-Newman-Keuls. Os valores foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Campo aberto

O teste de campo aberto, analisado através de *one-way* ANOVA, não revelou resultado significativo para  $p < 0,05$  em relação a distância percorrida (figura 1,  $F = 2,14$ ;  $p = 0,0639$ ) pelo animal e o tempo gasto no centro (figura 2,  $F = 1,353$ ;  $p = 0,254$ ) do equipamento. Os resultados obtidos no teste de *Student's*-Newman-Keuls também não foram significativos para  $p < 0,05$ , demonstrando que não houve diferença na distância percorrida e no tempo gasto no centro entre os 7 grupos observados (Figuras 1 e 2).

Figura 1- Distância percorrida no teste de campo aberto. Controle: tratamento com solução salina (n=8). KET: tratamento com quetamina (n=6). KET + OLA: tratamento com quetamina e olanzapina (n=8). KET + SIN 3 mg/kg: tratamento com quetamina e sinvastatina (n=8). KET + SIN 10 mg/kg: tratamento de quetamina e sinvastatina (n=7). KET + SIN 30 mg/kg: tratamento com quetamina e sinvastatina (n=8). KET + OLA + SIN: tratamento com quetamina e subdose de olanzapina + sinvastatina (n=7). A distância percorrida pelos camundongos no teste de campo aberto foi analisada através do teste *one-way* ANOVA seguido por teste de *Student's*-Newman-Keuls e os dados apresentados como média  $\pm$  E.P.M Os valores foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

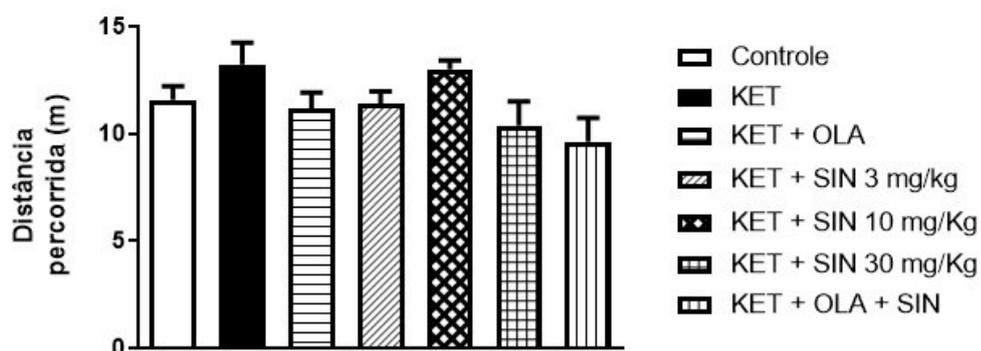
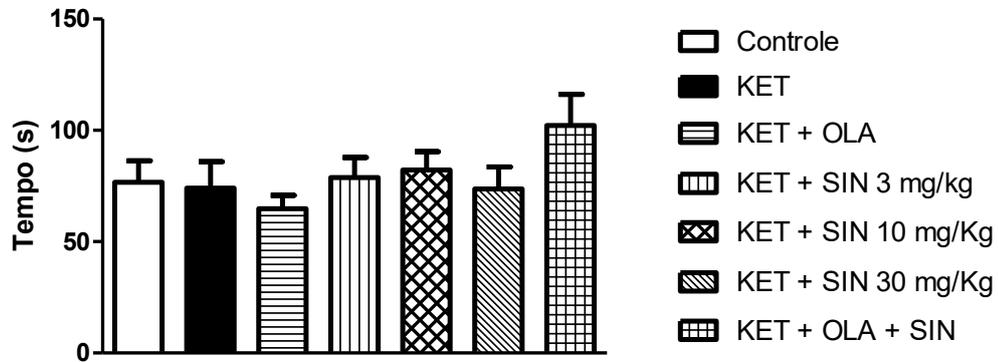


Figura 2 – Tempo gasto na área central no teste de campo aberto. Controle: tratamento com solução salina (n=8). KET: tratamento com quetamina (n=6). KET + OLA: tratamento com quetamina e olanzapina (n=8). KET + SIN 3 mg/kg: tratamento com quetamina e sinvastatina (n=8). KET + SIN 10 mg/kg: tratamento de quetamina e sinvastatina (n=7). KET + SIN 30 mg/kg: tratamento com quetamina e sinvastatina (n=8). KET + OLA + SIN: tratamento com quetamina e subdose de olanzapina + sinvastatina (n=7). O tempo gasto pelos camundongos dentro

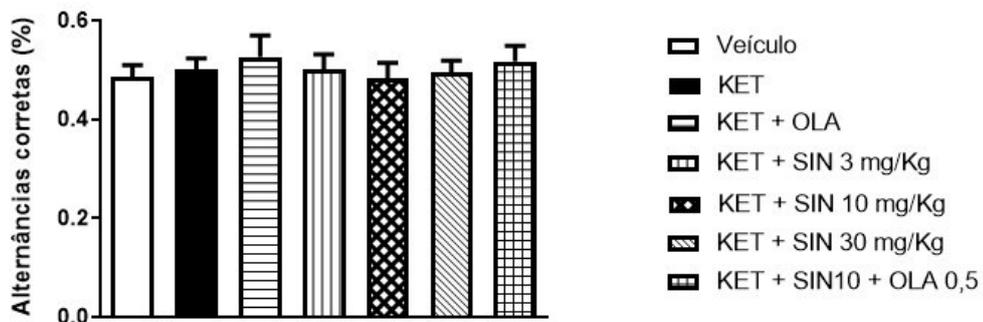
do centro no teste de campo aberto foi analisado pelo teste *one-way* ANOVA seguido por teste de *Student's-Newman-Keuls* e os dados apresentados como média  $\pm$  E.P.M. Os valores foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .



### 3.2 Labirinto em Y

No teste de labirinto em Y, analisado através de *one-way* ANOVA (Figura 3,  $F = 0,2701$ ;  $p = 0,9480$ ), não apresentou resultado significativo para  $p < 0,05$ . Os resultados obtidos no teste de *Student's-Newman-Keuls* também não foram significativos para  $p < 0,05$ , demonstrando que não houve diferença na alternância espontânea entre os 7 grupos observados (Figura 3).

Figura 3 – Alternância espontânea no teste de labirinto em Y. Controle: tratamento com solução salina ( $n=8$ ). KET: tratamento com quetamina ( $n=6$ ). KET + OLA: tratamento com quetamina e olanzapina ( $n=8$ ). KET + SIN 3 mg/kg: tratamento com quetamina e sinvastatina ( $n=8$ ). KET + SIN 10 mg/kg: tratamento de quetamina e sinvastatina ( $n=7$ ). KET + SIN 30 mg/kg: tratamento com quetamina e sinvastatina ( $n=8$ ). KET + OLA + SIN: tratamento com quetamina e subdose de olanzapina + sinvastatina ( $n=7$ ). A porcentagem de alternância espontânea no teste de labirinto em Y foi analisada através do teste *one-way* ANOVA seguido por teste de *Student's-Newman-Keuls* e os dados apresentados como média  $\pm$  E.P.M. Os valores foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .



## 4 DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliou-se os efeitos da sinvastatina e da associação de baixas doses de olanzapina e sinvastatina em modelo animal de esquizofrenia induzido por quetamina. Entretanto, os resultados de comportamento não demonstraram diferença significativa entre os grupos tratados. De acordo com os resultados comportamentais, foi observado que a distância percorrida e o tempo gasto na área central no teste de campo aberto, assim com a porcentagem de alternâncias corretas no teste de labirinto em Y não foram alteradas significativamente.

A atividade locomotora é influenciada pelo sistema motor do animal, assim como por fatores sensoriais e motivacionais (GRAHAM; MEYER; STANWOOD, 2018). Com isso, alterações na locomoção podem ser indicativas de processos neurológicos alterados e, portanto, podem refletir função cerebral anormal (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018). Ao analisar a atividade locomotora do animal, é possível observar diversos comportamentos. O comportamento de evitar a área central da caixa, ou seja, manter-se perto das paredes e andar na periferia é descrito como timotaxia e é detectado em roedores que apresentam alteração do comportamento (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018; GRAHAM; MEYER; STANWOOD, 2018). Os roedores, em geral, permanecem mais tempo na periferia do que dentro da área central. Esta é uma resposta defensiva natural desses animais, pois, ao andar na periferia, eles se sentem mais protegidos de predadores (KIATAQUI, 2021).

Além disso, outro parâmetro amplamente utilizado na avaliação da atividade locomotora é a distância percorrida pelo animal. Mudanças na distância total percorrida dentro da arena podem indicar processos neurológicos alterados ou comprometimento motor, bem como mudanças no comportamento do tipo ansiedade e efeito de drogas psicoestimulantes (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018; GRAHAM; MEYER; STANWOOD, 2018; FREED; BING; WYATT, 1984; O'NEILL; SHAW, 1999). Dessa forma, a utilização do campo aberto se torna uma medida importante para avaliar sinais de sintomas positivos da esquizofrenia, pois um modelo animal de esquizofrenia apresenta agitação psicomotora que inclui hiperatividade ou aumento de movimentos estereotipados. Drogas como a quetamina aumentam a atividade locomotora, e esse efeito pode ser diminuído pelo tratamento antipsicótico em camundongos (POWELL; MIYAKAWA, 2006; AFONSO et al., 2020).

No presente estudo, não se observou alterações na atividade locomotora induzidas pela quetamina esperadas para o modelo animal, impossibilitando a observação de efeito pelos fármacos testados neste estudo. A quetamina é um antagonista de receptor NMDA, que interfere

na atividade glutamatérgica através do bloqueio deste receptor (ELLISON, 1995). A administração de quetamina produz sintomas semelhantes à esquizofrenia, incluindo psicose, sintomas negativos e comprometimento cognitivo em humanos (COYLE *et al.*, 2012). Os estudos demonstram que o efeito da quetamina de induzir comportamentos que se assemelham à esquizofrenia em roedores, como a hiperlocomoção e déficit na memória de trabalho, encontra-se entre as doses de 15 e 30 mg/kg (ONALAPO *et al.*, 2017; XIMENES *et al.*, 2018; MARTÍNEZ-PINTEÑO *et al.*, 2020). A dose avaliada no presente estudo encontra-se dentro desta faixa efetiva, segundo os trabalhos, entretanto, não se mostrou eficaz. Assim, é possível que a dose utilizada de 20 mg/kg de quetamina tenha sido insuficiente para induzir os comportamentos relacionados à esquizofrenia (MARTÍNEZ-PINTEÑO *et al.*, 2020), sendo necessários, portanto, estudos posteriores para confirmação dos objetivos propostos utilizando uma dose superior.

A alternância espontânea, que mede a memória de trabalho espacial, pode ser avaliada permitindo que os camundongos explorem livremente os três braços do labirinto e esse comportamento é impulsionado pela curiosidade inata dos roedores em explorar novas áreas (LALONDE, 2002; KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018). Estudos anteriores demonstram que a porcentagem de alternância no labirinto em Y para o grupo controle varia entre 68% e 70% (ZHU *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2018). Esses dados, quando confrontados com os resultados obtidos no presente estudo, revelam que a porcentagem de alternância espontânea no labirinto em Y foi notavelmente menor que o esperado no grupo controle. Desta forma, este resultado impossibilitou a indução de alteração pela quetamina para avaliação de memória de trabalho no modelo de esquizofrenia, um comportamento relacionado aos sintomas negativos da esquizofrenia. Os animais que mostram uma porcentagem de alternância abaixo do esperado pode ser uma evidência de memória prejudicada, indicando que o funcionamento das áreas cerebrais que regulam esse comportamento está prejudicado (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018).

Os camundongos possuem um grande impacto na pesquisa científica, sendo frequentemente utilizados como modelo animal para estudos de doenças humanas (Bryda, 2013). Neste trabalho utilizou-se camundongos machos da linhagem Balb/C para obter resultados referentes ao efeito da sinvastatina e de sua associação com olanzapina. No entanto, estudos com machos desta linhagem mostraram que estes animais apresentam elevado grau de competitividade e agressividade quando colocados em um mesmo ambiente com outros machos (NEVES; FILHO; MENEZES, 2013). Nesse sentido, durante a experimentação foi observado casos de agressão física entre os animais o que resultou em redução do número amostral (n).

Dessa forma, pressupõe-se que a diminuição dos números de animais por grupo, também, possa ter prejudicado a observação dos objetivos propostos.

As estatinas são categorizadas como agentes de primeira escolha para prevenção primária e secundária de doenças cardiovasculares. Essas drogas reduzem a concentração plasmática circulante de colesterol através da inibição da principal enzima envolvida na síntese de colesterol no fígado (AVAN *et al.*, 2021). As estatinas possuem ações anti-inflamatória, antioxidante e neuroprotetora. A sinvastatina é um fármaco que vem ganhando cada vez mais destaque em estudos clínicos e pré-clínicos, devido ao seu potencial no tratamento de doenças do sistema nervoso central (KIM *et al.*, 2019). Um estudo de Chan *et al.* (2017), com pacientes com esclerose múltipla, mostrou que 24 meses de uso de sinvastatina retardou a progressão da disfunção cognitiva e perda de massa cinzenta cerebral. Outros estudos demonstraram que seu uso levou a melhoria nos sintomas da esquizofrenia, sem efeitos colaterais graves (CHAUDHRY *et al.*, 2013), além de uma redução dos sintomas negativos da esquizofrenia (ESMAEELI *et al.*, 2017). Apesar de ainda serem controversos, esses achados da literatura evidenciam a importância do uso da sinvastatina na redução dos sintomas da esquizofrenia e seu potencial como terapia adjuvante, destacando a necessidade de modelos animais que comprovem tal efeito.

## 5 CONCLUSÃO

Conclui-se que não foi observado mudanças no comportamento relacionado a memória de trabalho e atividade locomotora nos animais, não sendo possível a identificação do efeito da sinvastatina e da sua associação com baixas doses de olanzapina. Porém, a sinvastatina é descrita na literatura como uma droga amplamente promissora no tratamento da esquizofrenia, sendo capaz de induzir melhora tanto dos sintomas positivos quanto negativos da esquizofrenia. Desta forma, mais estudos precisam ser conduzidos para avaliação do efeito da sinvastatina em comportamentos de esquizofrenia, pois várias evidências apontam para o seu efeito nas alterações neurobiológicas relacionadas com esta condição patológica, além de um tratamento adjuvante para melhorar os resultados clínicos dos fármacos antipsicóticos. Portanto, com o refinamento contínuo dos modelos animais e nossa compreensão da fisiopatologia da

esquizofrenia, é possível o desenvolvimento de terapias de ação mais rápida com perfis de efeitos colaterais reduzidos em comparação com os agentes atualmente disponíveis.

## REFERÊNCIAS

- AFONSO, A. C. *et al.* Schizophrenia-like behavior is not altered by melatonin supplementation in rodents. **An Acad Bras Cienc**, v. 92, n. 4, 2020.
- ANDRADE, C. The Use of Statins for Antipsychotic Augmentation in Schizophrenia: Examination of Meta-Analyses With Flawed Methods and Conclusions. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 79, n. 5, p. 19980, 2018.
- AVAN R. *et al.* Update on Statin Treatment in Patients with Neuropsychiatric Disorders. **Life (Basel)**, v. 11, n. 12, p. 1365, 2021.
- BAI, Z. L. *et al.* Serum Oxidative Stress Marker Levels in Unmedicated and Medicated Patients with Schizophrenia. **Journal of Molecular Neuroscience**, 2018.
- BAN, T. Fifty years chlorpromazine: a historical perspective. **Neuropsychiatr Dis Treat**. v. 3, n. 4, p. 495-500, ago. 2007.
- BEDI, O. *et al.* Pleiotropic effects of statins: new therapeutic targets in drug design. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 389, n. 7, p. 695-712, 2016.
- BEN-SHACHAR, D. Mitochondrial multifaceted dysfunction in schizophrenia; complex I as a possible pathological target. **Schizophrenia Research**, v. 187, p. 3–10, 2017.
- BERCKEL, V. B. N. *et al.* Microglia Activation in Recent-Onset Schizophrenia: A Quantitative (R)-[11C]PK11195 Positron Emission Tomography Study. **Biological Psychiatry**, v. 64, n. 9, p. 820–822, 2008.
- BRYLL, A. *et al.* Oxidative-Antioxidant Imbalance and Impaired Glucose Metabolism in Schizophrenia. **Biomolecules**, v. 10, n. 3, p. 384, 2020.
- BUSTILLO, J. R. *et al.* Increased Glutamine in Patients Undergoing Long-term Treatment for Schizophrenia. **JAMA Psychiatry**, v. 71, n. 3, p. 265, 2014.
- CADINU, D. *et al.* NMDA receptor antagonist rodent models for cognition in schizophrenia and identification of novel drug treatments, an update. **Neuropharmacology**, v. 142, p. 41-62, 2017.

CARTER, M.; SHIEH, J. Animal Behavior. **Guide to Research Techniques in Neuroscience**, ed. 2, p. 39–71, 2015.

CHAN, D. *et al.* Effect of high-dose simvastatin on cognitive, neuropsychiatric, and health-related quality-of-life measures in secondary progressive multiple sclerosis: secondary analyses from the MS-STAT randomised, placebo-controlled trial. **The Lancet Neurology**, v. 16, n. 8, p. 591–600, 2017.

CHAUDHRY, I. B. *et al.* Ondansetron and simvastatin added to treatment as usual in patients with schizophrenia: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 14, n. 1, p. 101, 2013.

CORRELL, C. U. *et al.* Cardiometabolic Risk in Patients With First-Episode Schizophrenia Spectrum Disorders. **JAMA Psychiatry**, v. 71, n. 12, p. 1350, 2014.

COYLE, J. T. NMDA Receptor and Schizophrenia: A Brief History. **Schizophrenia Bulletin**, v. 38, n. 5, p. 920–926, 2012.

DALL'IGNA, O. *et al.* Caffeine and adenosine A2a receptor antagonists prevent  $\beta$ -amyloid (25–35)-induced cognitive deficits in mice. **Experimental Neurology**, v. 203, n. 1, p. 241–245, jan. 2007.

DE ARAÚJO, F. Y. R. *et al.* Involvement of anti-inflammatory, antioxidant, and BDNF up-regulating properties in the antipsychotic-like effect of the essential oil of *Alpinia zerumbet* in mice: a comparative study with olanzapine. **Metab Brain Dis**, v. 36, n. 8, p. 2283–2297, 2021.

DUTTA, S. *et al.* An evidence-based review of neuronal cholesterol role in dementia and statins as a pharmacotherapy in reducing risk of dementia. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 21, n. 12, p. 1455–1472, 2021.

ELLISON, G. The N-methyl-d-aspartate antagonists phencyclidine, ketamine and dizocilpine as both behavioral and anatomical models of the dementias. **Brain Research Reviews**, v. 20, n. 2, p. 250–267, 1995.

ESMAEELI, S. T. *et al.* Simvastatin adjunct therapy for negative symptoms of schizophrenia. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 32, n. 2, p. 87–94, 2017.

FERNANDEZ, A. *et al.* Mitochondrial Dysfunction Leads to Cortical Under-Connectivity and Cognitive Impairment. **Neuron**, v. 102, n. 6, p. 1127-1142, 2019.

FRANCESCONI, L. P. *et al.* Proinflammatory and anti-inflammatory biomarkers in schizophrenia and influence of simvastatin on the interleukin-6. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 34, n. 2, p. 84-88, 2018.

FREED, W. J.; BING, L. A.; WYATT, R.J. Effects of neuroleptics on phencyclidine (PCP)-induced locomotor stimulation in mice. **Neuropharmacology**, v. 23, n. 2, p. 175–181, 1984.

GALLETLY, C. *et al.* Royal Australian and New Zealand College of Psychiatrists clinical practice guidelines for the management of schizophrenia and related disorders. **Journal of Psychiatry**, v. 50, n. 5, p. 410-472, 2016.

GRAHAM, D. L.; MEYER, J. S.; STANWOOD, G. D. Behavioral Phenotyping in Developmental Neurotoxicology—Simple Approaches Using Unconditioned Behaviors in Rodents. **Handbook of Developmental Neurotoxicology**, p. 287–308, 2018.

GRAJALES, D.; FERREIRA, V.; VALVERDE, A. Second-Generation Antipsychotics and Dysregulation of Glucose Metabolism: Beyond Weight Gain. **Cells**, v. 8, n. 11, p. 1336, out. 2019.

HASHIMOTO, K. Targeting of NMDA receptors in new treatments for schizophrenia. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 18, n. 9, p. 1049–1063, 2014.

HOLTER, S. *et al.* Assessing Cognition in Mice. **Current Protocols in Mouse Biology**, v. 5, p. 331-358, dez. 2015.

IJAZ, S. *et al.* Antipsychotic polypharmacy and metabolic syndrome in schizophrenia: a review of systematic reviews. **BMC Psychiatry**, v. 18, n. 1, p. 1-15, set. 2018.

JEON, S.; KIM, Y. Unresolved Issues for Utilization of Atypical Antipsychotics in Schizophrenia: Antipsychotic Polypharmacy and Metabolic Syndrome. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 10, p. 1-16, out. 2017.

KIATAQUI, K. E. Caracterização de parâmetros comportamentais e morfológicos de camundongos balb/c fêmeas mutantes do gene nox3eq1b. **Universidade paulista**, 2021.

KIM, S. W. *et al.* Statins and inflammation: new therapeutic opportunities in psychiatry. **Frontiers in psychiatry**, v. 10, p. 103, 2019.

KRAEUTER, A.; GUEST, P.; SARNYAI, Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. **Pre-Clinical Models**, v. 1916, p. 105-111, 2018.

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. **Pre-Clinical Models**, p. 105-111, 2018.

KRAKOWSKI, M.; CZOBOR, P. Cholesterol and cognition in schizophrenia: A double-blind study of patients randomized to clozapine, olanzapine and haloperidol. **Schizophrenia Research**, v. 130, n. 1-3, p. 27–33, 2011.

LALONDE, R. The neurobiological basis of spontaneous alternation. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 1, p. 91–104, 2002.

LAURSEN, T.; NORDENTOFT, M.; MORTENSEN, P. Excess Early Mortality in Schizophrenia. **Annual Review of Clinical Psychology**, v. 10, n. 1, p. 425–448, 2014.

LEZA, J. C. *et al.* Inflammation in schizophrenia: A question of balance. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 55, p. 612–626, 2015.

LIU, L. *et al.* Severe Encephalopathy and Related Disorders From Long-Term Ketamine Abuse: A Case Report and Literature Review. **Frontiers**, v. 12, n. 707326, 2021.

MARDER, S.; CANNON, T. Schizophrenia. **New England Journal of Medicine**, v. 381, n. 18, p. 1753–1761, 2019.

MARTÍNEZ-PINTEÑO, A. *et al.* The positive allosteric modulator of the mGlu2 receptor JNJ-46356479 partially improves neuropathological deficits and schizophrenia-like behaviors in a postnatal ketamine mice model. **Journal of Psychiatric Research**, v. 126, p. 8–18, 2020.

MAURICE, T.; LOCKHART, B.; PRIVAT, A. Amnesia induced in mice by centrally administered  $\beta$ -amyloid peptides involves cholinergic dysfunction. **Brain Research**, v. 706, n. 2, p. 181–193, jan. 1996.

MECHELLI, A. *et al.* Neuroanatomical Abnormalities That Predate the Onset of Psychosis. **Archives of General Psychiatry**, v. 68, n. 5, p. 489, 2011.

MILLER, B. J. *et al.* Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. **Biol Psychiatry**, v. 70, n. 7, p. 663-71, 2011.

MONTE, A. *et al.* Prevention and reversal of ketamine-induced schizophrenia related behavior by minocycline in mice: Possible involvement of antioxidant and nitregeric pathways. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, n. 11, p. 1032–1043, nov. 2013.

MULLER, N. *et al.* The role of inflammation in schizophrenia. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, p. 372, 2015.

MURRAY, A. J. *et al.* Oxidative Stress and the Pathophysiology and Symptom Profile of Schizophrenia Spectrum Disorders. **Front Psychiatry**. v. 12, n. 703452, 2021.

NOMURA, I. *et al.* Statin add-on therapy in the antipsychotic treatment of schizophrenia: A meta-analysis. **Psychiatry Research**, v. 260, p. 41–47, 2018.

OESTERLE, A.; LAUFS, U.; LIAO, J. K. Pleiotropic effects of statins on the cardiovascular system. **Circulation research**, v. 120, n. 1, p. 229-243, 2017.

ONAOLAPO, O. J. *et al.* Ketamine-induced behavioural and brain oxidative changes in mice: an assessment of possible beneficial effects of zinc as mono- or adjunct therapy. **Psychopharmacology**, v. 234, n. 18, p. 2707–2725, 2017.

O'NEILL, M. F.; SHAW, G. Comparison of dopamine receptor antagonists on hyperlocomotion induced by cocaine, amphetamine, MK-801 and the dopamine D 1 agonist C-APB in mice. **Psychopharmacology**, v. 145, n. 3, p. 237–250, 1999.

Organização Mundial da Saúde – Esquizofrenia – 2022.

PAC-SOO, C. *et al.* Statins: the role in the treatment and prevention of Alzheimer's neurodegeneration. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 27, n. 1, p. 1-10, 2011.

PRABAKARAN, S., *et al.* Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. **Molecular Psychiatry**, v. 9, n. 7, p. 684–697, 2004.

PILLINGER, T. *et al.* Comparative effects of 18 antipsychotics on metabolic function in patients with schizophrenia, predictors of metabolic dysregulation, and association with

psychopathology: a systematic review and network meta-analysis. **The Lancet Psychiatry**, dez. 2019.

PILLINGER, T. *et al.* Cholesterol and triglyceride levels in first-episode psychosis: systematic review and meta-analysis. **British Journal of Psychiatry**, v. 211, n. 06, p. 339–349, 2017.

PILLINGER, T. *et al.* Impaired Glucose Homeostasis in First-Episode Schizophrenia. **JAMA Psychiatry**, v. 74, n. 3, p. 261, 2017.

POLLAK, T. A. *et al.* Autoimmune psychosis: an international consensus on an approach to the diagnosis and management of psychosis of suspected autoimmune origin. **The Lancet Psychiatry**, v. 7, n. 1, p. 93-108, 2019.

POWELL, C. M.; MIYAKAWA, T. Schizophrenia-Relevant Behavioral Testing in Rodent Models: A Uniquely Human Disorder? **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1198–1207, 2006.

RAFFA, M. *et al.* Decreased glutathione levels and antioxidant enzyme activities in untreated and treated schizophrenic patients. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 7, p. 1178–1183, 2009.

RAJASEKARAN, A. *et al.* Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: Pathways, mechanisms and implications. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 48, p. 10–21, 2015.

SEEMAN, P. Clozapine, a Fast-Off-D2 Antipsychotic. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 5, n. 1, p. 24–29, nov. 2014.

SCHACHTER, M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 19, n. 1, p. 117–125, 2005.

SHAN, X. *et al.* Increased frontal gray matter volume in individuals with prodromal psychosis. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 25, n. 9, p. 987-994, 2019.

SHEN, H. *et al.* Adjunctive therapy with statins in schizophrenia patients: a meta-analysis and implications. **Psychiatry Research**, v. 262, p. 84-93, 2018.

SHIRAYAMA, Y. *et al.* Specific metabolites in the medial prefrontal cortex are associated with the neurocognitive deficits in schizophrenia: A preliminary study. **NeuroImage**, v. 49, n. 3, p. 2783–2790, 2010.

SIERRA, S. *et al.* Statins as neuroprotectants: a comparative in vitro study of lipophilicity, blood-brain-barrier penetration, lowering of brain cholesterol, and decrease of neuron cell death. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 23, n. 2, p. 307-318, 2011.

SINGH, O. P. A. *et al.* Comparative study of oxidative stress and interrelationship of important antioxidants in haloperidol and olanzapine treated patients suffering from schizophrenia. **Indian J Psychiatry**, v. 50, n. 3, p. 171-6, 2008.

STANCU, C.; SIMA, A. Statins: mechanism of action and effects. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 5, n. 4, p. 378-387, 2001.

STONE, N. J. *et al.* 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 63, n. 25, p. 2889–2934, 2014.

SUN, K. *et al.* Matrine Attenuates D-Galactose-Induced Aging-Related Behavior in Mice via Inhibition of Cellular Senescence and Oxidative Stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1–12, 2018.

VANCAMPFORT, D. *et al.* Risk of metabolic syndrome and its components in people with schizophrenia and related psychotic disorders, bipolar disorder and major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. **World Psychiatry**, v. 14, n. 3, p. 339–347, out. 2015.

VELÁSQUEZ, E. *et al.* Quantitative subcellular proteomics of the orbitofrontal cortex of schizophrenia patients. **Journal of Proteome Research**. v. 18, n. 12, p. 4240-4253, 2019.

WANG, C. *et al.* Potential mechanisms for phencyclidine/ketamine-induced brain structural alterations and behavioral consequences. **NeuroToxicology**, v. 76, p. 213-219, 2019.

WHICHER, C. A.; PRICE, H. C.; HOLT, R. I. G. Mechanisms in endocrinology: Antipsychotic medication and type 2 diabetes and impaired glucose regulation. **European Journal of Endocrinology**, v. 178, n. 6, p. R245–R258, jun. 2018.

World Health Organization - Psychosis and Schizophrenia – 2019.

WU, Y.; CHEN, M.; JIANG, J. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases and drug targets via apoptotic signaling. **Mitochondrion**, v. 49, p. 35-45, 2019.

XIMENES, N. C. *et al.* Ethanolic extract of *Erythrina velutina* Willd ameliorate schizophrenia-like behavior induced by ketamine in mice. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 16, n. 2, 2018.

XU, K.; LIPSKY, R. H. Repeated ketamine administration alters N-methyl-d-aspartic acid receptor subunit gene expression: Implication of genetic vulnerability for ketamine abuse and ketamine psychosis in humans. **Experimental Biology and Medicine**, v. 240, n. 2, p. 145–155, 2014.

YILDIRIM, E.; KAYGISIZ, B. The Effects of Simvastatin on Experimental Schizophrenia Models in Mice. **Erciyes Medical Journal/Erciyes Tip Dergisi**, v. 40, n. 1, 2018.

YU, X. B. *et al.* Simvastatin prevents and ameliorates depressive behaviors via neuroinflammatory regulation in mice. **Journal of affective disorders**, v. 245, p. 939-949, 2019.

ZHU, Y. *et al.* Effect of Sensory Deprivation of Nasal Respiratory on Behavior of C57BL/6J Mice. **Brain Sci**, v. 11, n. 12, p. 1626., 2021.