

Juliana Naomi Okamoto<sup>1</sup>  
<https://orcid.org/0000-0002-3600-747X>

Mario Luiz Watanabe Gomes  
 Martins<sup>1</sup>  
<https://orcid.org/0000-0001-7717-6379>

Jorge Henna Neto<sup>2</sup>  
<https://orcid.org/0000-0003-4382-4299>

# A vitamina C na esquizofrenia apresenta benefício? Estudo preliminar com análise comportamental em ratos

*Does vitamin C have benefit in schizophrenia? Preliminary study with behavioral analysis in rats*

DOI: 10.1590/0047-2085000000373

## RESUMO

**Objetivo:** O objetivo deste estudo foi analisar em ratos modelos de esquizofrenia, induzidos pela administração de cetamina, a possibilidade dos efeitos benéficos do ácido ascórbico na esquizofrenia, por meio do teste comportamental. **Métodos:** O estudo preliminar foi simples-cego e randomizado. Foi realizado o protocolo de psicose por cetamina em 24 ratos Wistar submetidos posteriormente à análise comportamental. No primeiro grupo, foram administradas: água e cetamina; no segundo: ácido ascórbico e cetamina; no terceiro: antipsicótico, ácido ascórbico e cetamina; e no quarto: antipsicótico, água e cetamina. A análise comportamental foi feita por meio do *Open Field Test*, considerado o método-padrão para avaliar comportamento em modelos animais de esquizofrenia. A análise estatística foi realizada pelo *software* IBM-SPSS, por meio dos Modelos Lineares Generalizados. **Resultados:** O tratamento em monoterapia de haloperidol (Média Quadrante: 44,5 ± 15,8; IC: 13,54-75,46/Média Centro: 2,67 ± 0,67; IC: 1,63-4,35) e aquele em conjunto com a vitamina C (Média Quadrante: 38,67 ± 15,8; IC: 7,71-69,52/Média Centro: 2,00 ± 0,58; IC: 1,14-3,52) demonstraram benefícios nos ratos modelos de esquizofrenia induzidos por cetamina (Média Quadrante: 108,5 ± 15,8; IC: 77,54-139,46/Média Centro: 11,33 ± 1,37; IC: 8,94-14,37) ( $p < 0,001$ ). O tratamento isolado com a vitamina C não apresentou resultado significativo (Média Quadrante: 62,00 ± 15,8; IC: 31,04-92,96/Média Centro: 7,00 ± 1,08; IC: 5,17-9,47). **Conclusão:** A associação de antipsicótico e vitamina C e somente o antipsicótico demonstraram efeito terapêutico em relação aos controles. A vitamina C isolada não apresentou benefício.

## PALAVRAS-CHAVE

Esquizofrenia, ácido ascórbico, pesquisa comportamental.

## ABSTRACT

**Objective:** The objective of this study was to analyze in rats models of schizophrenia, induced by the administration of ketamine, the possibility of the beneficial effects of ascorbic acid in schizophrenia, through the behavioral test. **Methods:** This preliminary study was simple blind and randomized. The ketamine psychosis protocol was carried out in 24 Wistar rats, which were subsequently submitted to behavioral analysis. The first group was supplied with: water and ketamine; the second: ascorbic acid and ketamine; the third: antipsychotic, ascorbic acid and ketamine; the fourth: antipsychotic, water and ketamine. Behavioral analysis was performed using the Open Field Test, considered the standard method for assessing behavior in animal models of schizophrenia. Statistical analysis was performed by the IBM-SPSS software, using the Generalized Linear Models. **Results:** Treatment in haloperidol monotherapy (Quadrant Average: 44.5 ± 15.8; CI: 13.54-75.46/Center Average: 2.67 ± 0.67; CI: 1.63-4.35) and combined with vitamin C (Quadrant Average: 38.67 ± 15.8; CI: 7.71-69.52/Center Average: 2.00 ± 0.58; CI: 1.14-3.52), demonstrated benefits in the animal model of schizophrenia induced by ketamine (Quadrant Average: 108.5 ± 15.8; CI: 77.54-139.46/Center Average: 11.33 ± 1.37; CI: 8.94- 14.37) ( $p < 0.001$ ). The isolated treatment with vitamin C did not show a significant result (Quadrant Average: 62.00 ± 15.8; CI: 31.04-92.96/Mean Average: 7.00 ± 1.08; CI: 5.17-9.47). **Conclusion:** The association of antipsychotic and vitamin C and only the antipsychotic demonstrated a therapeutic effect respecting to controls. Vitamin C manage separately had no benefit.

## KEYWORDS

Schizophrenia, ascorbic acid, behavioral research.

Received in: Jun/16/2021. Approved in: Feb/18/2022.

<sup>1</sup> Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Sorocaba, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Departamento de Psiquiatria, Sorocaba, SP, Brasil.

Address for correspondence: Juliana Okamoto. Avenida Comendador Pereira Inácio, 391, ap. 92 – 18030-005 – Sorocaba, SP, Brasil. E-mail: junaomi1@hotmail.com



## INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é uma complexa desordem neuropsiquiátrica crônica que afeta cerca de 1% da população mundial<sup>1,2</sup>. Experimentos em animais e investigações de neuroimagem mostraram que a esquizofrenia está relacionada com três mecanismos: desregulação dopaminérgica, neurotransmissão glutamatérgica perturbada e aumento do estado pró-inflamatório do cérebro<sup>3</sup>.

O cérebro necessita de grande demanda energética e conseqüentemente de  $O_2$ <sup>4,6</sup>. Entretanto, esse consumo constante de oxigênio produz espécies reativas, as quais são responsáveis por deixar o cérebro suscetível ao estresse oxidativo<sup>4,5</sup>. Um exemplo é a alta atividade glutaminérgica, que leva ao aumento do glutamato extracelular, por conseguinte, ativa e sinaliza para os receptores específicos de glutamato (NMDA, AMPA e receptores de ácido cáinico), que eleva a absorção de cálcio intracelular, promovendo produção de radicais livres<sup>5,7-9</sup>. Além disso, neurotransmissores auto-oxidáveis (dopamina, epinefrina e norepinefrina) estão presentes em grandes quantidades no cérebro. Esse metabolismo dos neurotransmissores gera grandes quantidades de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e mitocôndrias neuronais, que podem levar à produção de radicais superóxidos ( $O_2^-$ )<sup>10</sup>.

Em geral, o corpo humano tem duas vias de defesas antioxidantes: a enzimática, que inclui enzimas como superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GpX) e catalase (CAT), que atuam bloqueando o início das reações em cadeia das espécies reativas<sup>11</sup>; já as defesas não enzimáticas são: a glutathione (GSH), a vitamina E, a vitamina C e o  $\beta$ -caroteno, que atuam reagindo com as espécies reativas e, por conseguinte, impedem a propagação dessas reações em cadeia<sup>10</sup>.

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é um antioxidante solúvel em água, o qual exerce papel vital para a fisiologia do corpo humano. No organismo, a vitamina C encontra-se em duas formas: a reduzida – o próprio ácido ascórbico que no pH fisiológico está na forma de ânion ascorbato – e a oxidada – ácido desidroascórbico (DHA)<sup>12,13</sup>. No sistema nervoso, atua na defesa antioxidante ao eliminar as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio produzidas pelo metabolismo celular<sup>14</sup>, além de ter ação sobre a biossíntese de colágeno, tirosina e hormônios peptídeos, bem como promove a formação da mielina e diferenciação das células de Schwann<sup>12,15</sup>.

A vitamina C é usada como um coantioxidante juntamente com a vitamina E, com o propósito de proteger o LDL de dano oxidativo pela ação de radicais de peroxila aquosos<sup>15</sup>. O alfatocoferol (vitamina E), encontrado em todas as membranas biológicas, está envolvido na prevenção da peroxidação lipídica pela remoção dos radicais peroxil. Durante esse processo, o  $\alpha$ -tocoferol é oxidado no radical  $\alpha$ -tocoferoxil, o que pode resultar em um efeito prejudicial. O ascorbato pode reduzir o radical tocoferoxil de volta ao tocoferol e, em

seguida, sua forma oxidada é reciclada por sistemas enzimáticos com o uso de NADH ou NADPH<sup>16</sup>.

Além disso, a vitamina C afeta a neurotransmissão, incluindo os sistemas colinérgico, catecolaminérgico e glutamatérgico. Ela regula a neurotransmissão bloqueando a ligação do neurotransmissor aos seus receptores ou modulando sua liberação e recaptção<sup>15</sup>. O ácido ascórbico também induz a liberação de acetilcolina e norepinefrina.

Devido a injúrias agudas no sistema nervoso central, como a invasão de patógenos ou lesões neuronais, as células da glia são ativadas e secretam mediadores inflamatórios, como óxido nítrico (NO), citocinas e quimiocinas. Essa neuroinflamação desempenha papel fundamental na fisiopatologia de doenças neurodegenerativas, por exemplo, a esquizofrenia. Estudos afirmam que a vitamina C suprime a produção de mediadores inflamatórios estimulada por LPS em coculturas de neurônios ou glia, inibindo as vias de sinalização MAPK e NF- $\kappa$ B<sup>17</sup>. Experimentos em animais comprovaram que o ácido ascórbico diminui prejuízos de memória e mediadores inflamatórios, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e a interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) no hipocampo de ratos<sup>15</sup>.

O ácido ascórbico pode modular o metabolismo neuronal mudando a preferência do substrato energético de glicose para lactato, durante a sinapse. A captação de glutamato é capaz de estimular a captação de glicose, glicólise e liberação de lactato em astrócitos. Nesse contexto, a troca metabólica do ácido ascórbico propõe um mecanismo responsável pela inibição da utilização de glicose neuronal durante a atividade sináptica<sup>4</sup>.

Apesar das relações estabelecidas entre a fisiopatologia da esquizofrenia e a função da vitamina C, ainda não existe comprovação científica da utilização dessa substância no tratamento e prevenção desse transtorno. O objetivo do estudo foi avaliar, por meio do teste comportamental, a possibilidade dos efeitos preventivos do ácido ascórbico na esquizofrenia e sua ação antipsicótica.

## MÉTODOS

### Animais

Foram utilizados 24 ratos Wistar machos adultos, de idade de 80 dias e peso de, aproximadamente, 375 g. Os animais foram cedidos pelo biotério da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde (FCMS) da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP). A conformidade deste projeto foi assistida de apresentação à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-FCMS) e aprovada por esse comitê (Protocolo nº 2019/107). As normas institucionais e nacionais para o cuidado e emprego de animais de laboratório foram estritamente seguidas. Os ratos foram mantidos em gaiolas contendo seis em cada, em temperatura ambiente, com ciclo de claro e escuro de 12 em 12 horas e acesso *ad libitum* a água e alimento.

## Ácido ascórbico

A solução de ácido ascórbico foi preparada a fresco antes de cada administração, por meio da dissolução de água destilada. Administrou-se essa solução oralmente por gavagem em três doses diariamente, durante 14 dias. As doses foram de 10 mg/kg<sup>18,19</sup>.

## Cetamina

A cetamina foi preparada a fresco em solução salina a um volume de 1 mL/100 g e foi administrada por via intraperitoneal (IP) entre o 9º e o 15º dia do início da administração de água destilada e ácido ascórbico em uma dose de 25 mg/kg<sup>20-22</sup>.

## Antipsicótico

O antipsicótico utilizado foi o haloperidol, que foi preparado em uma solução salina e administrado por via IP em um volume constante de 10 mL/kg de peso corporal, em dose diária de 0,2 mg/kg<sup>18</sup>.

## Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais com seis ratos em cada grupo; os modelos animais de esquizofrenia foram induzidos pela administração de cetamina. A administração das substâncias foi realizada simultaneamente em todos os grupos.

Os grupos foram nomeados em cores, a fim de que o avaliador dos testes não soubesse o que estaria sendo administrado para cada grupo, com o objetivo de não interferir na análise. No Grupo 1 (vermelho), foram administradas cetamina IP uma vez ao dia e água destilada três vezes ao dia por gavagem. No Grupo 2 (amarelo), foram administrados cetamina IP uma vez ao dia e ácido ascórbico três vezes ao dia por gavagem. No Grupo 3 (verde), foram administrados antipsicótico e cetamina IP uma vez ao dia e ácido ascórbico três vezes ao dia por gavagem. No Grupo 4 (azul), foram administrados antipsicótico e cetamina IP uma vez ao dia e água destilada três vezes ao dia por gavagem. A divisão dos grupos pode ser mais bem visualizada na tabela 1.

Todos os animais passaram pelas mesmas administrações e manejo a fim de que se causasse estresse nos ratos de maneira semelhante, portanto, para os grupos que não receberam a vitamina C, foi administrado placebo (água destilada) da mesma forma (gavagem).

**Tabela 1.** Divisão dos grupos experimentais (N total = 24 ratos/N por grupo = 6 ratos)

Grupos	Substâncias administradas
1 – Vermelho	Água Destilada + Cetamina (H <sub>2</sub> O+KET)
2 – Amarelo	Ácido Ascórbico + Cetamina (VitC+KET)
3 – Verde	Antipsicótico + Ácido Ascórbico + Cetamina (HAL+VitC+KET)
4 – Azul	Água Destilada + Antipsicótico + Cetamina (H <sub>2</sub> O+HAL+KET)

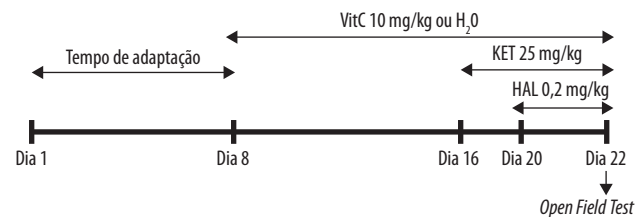
## Tipo de estudo e procedimentos

A pesquisa consistiu em um estudo preliminar de intervenção simples-cego e randomizado. Um pesquisador ficou responsável por administrar as doses de ácido ascórbico, cetamina, antipsicótico e água destilada, enquanto o outro fez a análise comportamental.

O fluxo iniciou-se com a adaptação do rato ao meio que o acompanharia até o final do experimento. Houve o fornecimento de água e alimento no regime *ad libitum*.

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais com seis ratos em cada grupo: água destilada + cetamina (25 mg/kg); ácido ascórbico (10 mg/kg) + cetamina (25 mg/kg); haloperidol (0,2 mg/kg) + ácido ascórbico (10 mg/kg) + cetamina; e haloperidol (0,2 mg/kg) + cetamina (25 mg/kg) + água destilada.

O experimento teve duração total de 22 dias, como esquematizado na figura 1, sendo sete dias destinados para a capacitação dos pesquisadores com o veterinário da universidade (PUC-SP) para o manejo dos animais. Além disso, a pesquisadora responsável pela administração das substâncias frequentou o biotério todos os dias por esse período para que os animais se acostumassem com a presença dela e não a associassem a algo punitivo, por sugestão do veterinário. Os seguintes 15 dias foram destinados à administração das substâncias e no último dia foi realizado o teste comportamental.



**Figura 1.** Linha do tempo do experimento.

O ácido ascórbico e a água destilada foram administrados do 8º ao 21º dia do experimento, às 7 horas, 13 horas e 16 horas; a última administração foi no 22º dia apenas às 7 horas. A cetamina foi administrada do 16º ao 22º dia do experimento, às 7 horas. O haloperidol foi administrado do 20º ao 22º dia, às 7 horas. O último dia do experimento (22º dia) foi destinado ao teste comportamental, após a última administração das substâncias no período da manhã. Esse teste foi realizado após 30 minutos da injeção final de cetamina isolada ou em conjunto com antipsicótico<sup>19</sup>.

O estudo teve duração total de dois anos, incluindo preparação do projeto, revisão bibliográfica, realização do experimento e análise estatística.

## Teste locomotor (*Open Field Test*)

A avaliação comportamental dos ratos Wistar foi realizada por meio do método "campo aberto" (*Open Field Test*) 30 minutos após a última injeção de cetamina<sup>19</sup>. E, sempre antes do teste, o animal foi ambientado por cinco minutos no campo aberto para, então, iniciarmos a análise<sup>23,24</sup>.

O aparato foi limpo com uma solução de 10% de etanol entre os testes com o intuito de esconder os vestígios dos animais<sup>18,25</sup>.

Logo após a ambientação, iniciou-se o teste. Registramos a locomoção do rato no interior do campo circular por seis minutos<sup>26,27</sup>. Durante esses seis minutos, avaliamos a quantidade de vezes que o animal cruzou o campo central e a quantidade de quadrantes que eles passaram como formas de avaliar a sua locomoção<sup>18</sup>.

Outros experimentos em animais utilizaram o tempo de cinco minutos para a avaliação da motricidade dos animais. Pérez *et al.* (2019) demonstraram que a atividade locomotora é maior nos primeiros cinco minutos após a exposição ao campo aberto<sup>28</sup>.

Estudos de psicose em ratos utilizando a cetamina mostram que eles possuem maior locomoção e tendem a ficar menos parados em determinadas áreas<sup>27</sup>.

### Análise estatística

Para a realização das comparações entre os grupos foi utilizado o método dos Modelos Lineares Generalizados (GLM), conforme descrito por Nelder *et al.* (1972) e indicado por Guimarães *et al.* (2013) e Morais *et al.* (2020). Esse método permite o ajustamento de modelos para situações na qual a variável de resposta apresenta distribuições não normais; dessa forma, para a escolha da melhor solução, utilizou-se aquela que forneceu o menor valor definido pelo critério de informação de Akaike (1974) e descrito por Duarte *et al.* (1974)<sup>29-33</sup>.

No caso de valores significativos, para a análise das médias dos tratamentos de cada grupo foi realizado um teste de comparações múltiplas, par a par, de acordo com o método de Sidak.

Para a realização dos testes, foi utilizado o *software* IBM SPSS Statistics Versão 21, sendo consideradas significativas as estatísticas que forneceram valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

No teste locomotor, quanto maior a locomoção, mais psicótico o rato estaria. Os resultados obtidos a partir da análise estatística foram explicitados na tabela 2 e na figura 2. As médias do parâmetro quadrante entre os grupos dos ratos modelos de esquizofrenia seguiram a seguinte ordem decrescente: vermelho (água + cetamina), amarelo (ácido ascórbico + cetamina), azul (antipsicótico + água + cetamina) e verde (antipsicótico + ácido ascórbico + cetamina). Entretanto, após a análise estatística, observou-se que apenas os grupos azul e verde apresentaram médias significantes, quando comparados ao grupo vermelho (controle); já o grupo amarelo não pode ser comparado com esse grupo, conforme a tabela 2, uma vez que, no caso de valores significativos, foi realizado

um teste de comparações múltiplas (par a par) das médias dos tratamentos de cada grupo, de acordo com o método de Sidak a 5%. Nesse critério, médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferenças pelo critério de Sidak a 5%. Como o grupo controle (vermelho) e o amarelo apresentaram as mesmas letras, essas médias não puderam ser comparadas. Conclui-se, então, que os grupos azul e verde apresentaram menor locomoção, quando comparados com o grupo vermelho.

Conforme a tabela 3 e a figura 3, as médias do parâmetro centro entre os grupos dos ratos modelos de esquizofrenia seguiram o mesmo padrão do parâmetro quadrantes. Após a análise estatística, observa-se que os grupos azul e verde apresentaram médias significantes, quando comparados ao grupo vermelho (controle); já o grupo amarelo apresentou médias semelhantes ao grupo vermelho, quando comparados, conforme a tabela 3. Conclui-se que os grupos azul e verde apresentaram menor locomoção, quando comparados com o grupo vermelho.

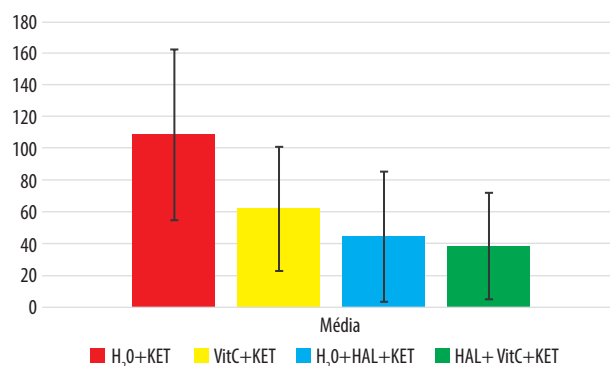
Apesar de as médias em número absoluto serem diferentes nos grupos verde e azul, quando realizada a análise estatística, não é possível compará-las. Portanto, não se pode afirmar que o tratamento isolado de haloperidol ou o tratamento em conjunto com a vitamina C são diferentes. Em outras palavras, ambos apresentaram diminuição da locomoção em relação ao grupo controle, mas não apresentaram diferença entre si.

**Tabela 2.** Variável quadrante (número de quadrantes pelos quais cada rato passou) do teste comportamental

Tratamento	Média <sup>a</sup>	Erro-padrão	Intervalo de confiança de Wald	
			Inferior	Superior
H <sub>2</sub> O+KET	108,50 A	15,80	77,54	139,46
VitC+KET	62,00 AB	15,80	31,04	92,96
H <sub>2</sub> O+HAL+KET	44,50 B	15,80	13,54	75,46
HAL+VitC+KET	38,67 B	15,80	7,71	69,62

A – Médias seguidas da mesma letra não apresentam diferenças pelo critério de Sidak a 5%; B – critério de informação de Akaike

Informações do modelo: distribuição de probabilidade normal, função de ligação Identidade  $p$ -valor < 0,001/AICb: 253,58.



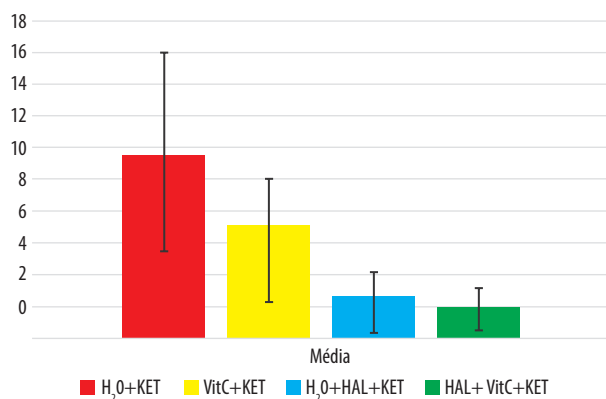
**Figura 2.** Representação gráfica das médias com desvio-padrão da tabela 2 (variável quadrantes).

**Tabela 3.** Variável centro (número de passagens pelo centro por cada rato) do teste comportamental

Tratamento	Média <sup>a</sup>	Erro-padrão	Intervalo de confiança de Wald	
			Inferior	Superior
H <sub>2</sub> O+KET	11,33 A	1,37	8,94	14,37
VitC+KET	7,00 A	1,08	5,17	9,47
H <sub>2</sub> O+HAL+KET	2,67 B	0,67	1,63	4,35
HAL+VitC+KET	2,00 B	0,58	1,14	3,52

A – médias seguidas da mesma letras não apresentam diferenças pelo critério de Sidak a 5%;  
B – critério de informação de Akaike.

Informações do modelo: distribuição de probabilidade Poisson, função de ligação log p-valor < 0,001/AICb 110,80.

**Figura 3.** Representação gráfica das médias com desvio-padrão da tabela 3 (variável centro).

## DISCUSSÃO

Neste estudo, foi observado que, no teste locomotor, os animais que receberam só cetamina apresentaram-se mais psicóticos, em comparação com os que foram tratados com haloperidol e vitamina C. É possível afirmar que tanto a monoterapia do haloperidol como o tratamento em conjunto com a vitamina C são benéficos para o tratamento da psicose. No entanto, a administração isolada da vitamina C não apresentou resultado significativo no nosso estudo.

O modelo de esquizofrenia induzida pela administração de cetamina é um modelo estabelecido na literatura. Foi evidenciado que, em roedores, essas drogas induzem os comportamentos característicos observados nesse transtorno, como hiperatividade, estereotipia, comportamento social alterado e déficits sensoriais ou cognitivos<sup>34</sup>.

Segundo Becker e Grecksch (2004), duas semanas após a conclusão do tratamento subcrônico com cetamina 30 mg/kg, os ratos apresentaram aumento da atividade locomotora<sup>20</sup>. Estudos cegos revelaram uma diminuição da ligação do receptor de glutamato no córtex frontal que se relaciona com a atividade locomotora aumentada após a injeção de cetamina. Investigações histopatológicas revelaram alterações na expressão hipocampal de parvalbumina, óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) e cFos semelhantes às encontradas na esquizofrenia humana. Foi sugerido que o

tratamento subcrônico com doses subanestésicas de cetamina induz alterações relacionadas à esquizofrenia, o que pode ser um modelo útil no estudo dessa patologia<sup>20,35</sup>. Neste estudo, foi administrada cetamina para todos os animais com o intuito de produzir o modelo de esquizofrenia. A dose e o tempo de administração foram escolhidos com base em um estudo da Universidade do Extremo Sul Catarinense (Damazio *et al.*, 2017), no qual se evidenciou aumento significativo da atividade locomotora nos animais que receberam essa substância, notando-se os sintomas positivos da esquizofrenia<sup>19</sup>.

O teste locomotor do nosso estudo apresentou divergências na literatura. Um estudo realizado por Damazio *et al.* (2017) evidenciou que a administração isolada de ácido ascórbico em doses de 0,1, 1 e 10 mg/kg diminuiu a locomoção e a agitação, em comparação com os animais modelos de esquizofrenia<sup>19</sup>. Já no nosso estudo, apesar de a média entre os grupos apresentar o mesmo resultado, quando realizada a análise estatística, a administração isolada de ácido ascórbico 10 mg/kg (vitamina C) não apresentou significância. Em contrapartida, as variáveis de ácido ascórbico + haloperidol + cetamina e cetamina + haloperidol foram significativas para a redução da locomoção.

Apesar dessa divergência, um estudo mais recente realizado pela mesma autora (Damazio *et al.*, 2020) corroborou o nosso resultado. No teste comportamental, os grupos tratados com cetamina cruzaram mais campos, já os que utilizaram ácido ascórbico isolado não apresentaram nenhuma influência no comportamento<sup>36</sup>. Além disso, uma revisão sistemática que reuniu nove artigos não chegou a uma associação entre esquizofrenia e transtorno afetivo bipolar com a deficiência de vitamina C, no entanto depressão e deficiência cognitiva apresentaram relação<sup>37</sup>.

A principal limitação do nosso estudo foi o N pequeno. Acreditamos que, com a utilização de um número maior de animais no ensaio clínico, poderíamos chegar a resultados mais significativos com menor variabilidade. Portanto, apesar do resultado observado nesse estudo, novas pesquisas devem ser realizadas para verificar a relação da deficiência de vitamina C com a esquizofrenia. Além disso, não foi realizada uma *baseline* de motricidade dos animais antes da administração das substâncias. Para novos estudos, seria interessante realizar essa *baseline* de locomoção, visto que na literatura não há um parâmetro bem estabelecido da motricidade de ratos Wistar.

Outra questão a ser discutida seria a influência da administração de haloperidol na indução de síndrome extrapiramidal, diminuindo, por conseguinte, a locomoção. Após revisão bibliográfica, não podemos afirmar que a administração de haloperidol na dose utilizada (0,2 mg/kg) e pelo tempo de três dias induziu ou não a síndrome extrapiramidal. A hipótese a que chegamos é de que um dos ratos do grupo azul (HAL+ H<sub>2</sub>O + KET) possa ter apresentado síndrome extrapiramidal, uma vez que destoou, apresentando baixo índice de motricidade.



Na literatura, não encontramos nenhum artigo afirmando que a dose de 0,2 mg/kg por três dias induziu síndrome extrapiramidal em ratos Wistar. Barroca *et al.* (2019) demonstraram que o haloperidol 0,5 e 1 mg/kg causou catalepsia significativa de 30 minutos até 75 minutos após o tratamento, sendo dose-dependente. O haloperidol 0,5 mg/kg, embora cause catalepsia da mesma forma que o haloperidol 1,0 mg/kg a partir de 45 minutos de administração, tem latência maior para atingir seu efeito de pico, exercendo efeito cataléptico significativamente menor do que haloperidol 1,0 mg/kg em 30 minutos<sup>38</sup>. Já Vasconcelos *et al.* (2003) mostraram que a administração crônica (30 dias) de haloperidol 0,2 e 1 mg/kg em ratos produz mudanças na locomoção e catalepsia, dependendo do tempo de retirada do medicamento. Fortes efeitos catalépticos e nenhuma atividade locomotora foram observados de 1 até 24 horas após a retirada da medicação<sup>39</sup>. No nosso estudo foi feito o teste comportamental após 30 minutos da administração de cetamina e haloperidol 0,2 mg/kg ou cetamina isolada.

A possível relação do ácido ascórbico com a esquizofrenia é relevante, uma vez que esse é um transtorno com difícil adesão ao tratamento e prognóstico muitas vezes ruim. Portanto, novas medidas terapêuticas com menos efeitos colaterais poderiam ser benéficas para o manejo da esquizofrenia.

## CONCLUSÃO

O tratamento em monoterapia de haloperidol e o tratamento em conjunto com a vitamina C demonstraram benefícios nos ratos modelos de esquizofrenia induzidos por cetamina. Contudo, o tratamento isolado com a vitamina C não apresentou resultado significativo em nosso estudo. Portanto, sugere-se que a vitamina C isolada não apresenta efeito benéfico na prevenção e tratamento da esquizofrenia; já o tratamento em conjunto com o haloperidol pode ser benéfico, uma vez que, apesar de não apresentar diferença em relação ao grupo tratado com o antipsicótico isolado, não apresentou prejuízo também. Apesar dos resultados positivos e de algumas divergências encontradas na literatura, são necessários mais estudos para estabelecer a relação da deficiência da vitamina C com esse transtorno.

## CONTRIBUIÇÕES INDIVIDUAIS

**Jorge Henna Neto** – Orientou e participou da escolha do tema, planejamento, estrutura e elaboração do projeto. Após o início do trabalho, auxiliou nos seguintes aspectos: manejo com os animais, administração das substâncias e realização do teste, discussão de possíveis modificações para a execução do projeto, verificação da análise estatística, escrita do

artigo e aconselhamento nas dificuldades encontradas no andamento do estudo.

**Juliana Naomi Okamoto** – Acadêmica de Medicina da PUC-SP do quinto ano participou da escolha do tema, planejamento, elaboração do projeto, realização do estudo, análise estatística e escrita do artigo. Foi responsável pela separação dos animais em grupos e administração das substâncias

**Mario Luiz Watanabe Gomes Martins** – Acadêmico do sexto ano de Medicina da PUC-SP participou da escolha do tema, planejamento, elaboração do projeto, realização do estudo, análise estatística e escrita do artigo. Foi responsável pela realização do teste locomotor, uma vez que o estudo foi simples-cego.

## CONFLITOS DE INTERESSE

Os acadêmicos do curso de Medicina da PUC-SP Juliana Naomi Okamoto e Mario Luiz Watanabe Gomes Martins e o Prof. Dr. Jorge Henna Neto não possuem conflitos de interesse. O trabalho foi financiado pelo PIBIC-CNPq.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Moema de Alencar Hausen (técnica do Laboratório de Biomateriais da PUC-SP), Luciana Canabarro (bióloga e técnica do Laboratório de Técnica Cirúrgica da PUC-SP) e Luís Carlos Ferreira de Almeida (estatístico), pelo auxílio, ensinamentos e apoio na realização do projeto.

## REFERÊNCIAS

- Patel KR, Cherian J, Gohil K, Atkinson D. Schizophrenia: overview and treatment options. *P T.* 2014;39(9):638-45.
- Javitt DC. Glutamatergic theories of schizophrenia. *Isr J Psychiatry Relat Sci.* 2010;47(1):4-16.
- Laurens KR, Cullen AE. Toward earlier identification and preventative intervention in schizophrenia: evidence from the London Child Health and Development Study. *Soc Psychiatr Epidemiol.* 2016;51(4):475-91.
- Covarrubias-Pinto A, Acuña AI, Beltrán FA, Torres-Díaz L, Castro MA. Old things new view: Ascorbic acid protects the brain in neurodegenerative disorders. *Int J Mol Sci.* 2015;16(12):28194-217.
- Santos ÍMS, Tomé AR, Saldanha GB, Ferreira PMP, Militão GCG, Freitas RM. Oxidative stress in the hippocampus during experimental seizures can be ameliorated with the antioxidant ascorbic acid. *Oxid Med Cell Longev.* 2009;2(4):214-21.
- Attwell D, Laughlin SB. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001;21(10):1133-45.
- Lafon-Cazal M, Pietri S, Culcasi M, Bockaert J. NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity. *Nature.* 1993;364(6437):535-7.
- Bondy SC, Lee DK. Oxidative stress induced by glutamate receptor agonists. *Brain Res.* 1993;610(2):229-33.
- Vesce S, Kirk L, Nicholls DG. Relationships between superoxide levels and delayed calcium deregulation in cultured cerebellar granule cells exposed continuously to glutamate. *J Neurochem.* 2004;90(3):683-93.

10. Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. *Drugs Aging*. 2001;164(5):1465-72.
11. Grabnar I, Vovk T, Kores Plesnicar B, Boskovic M. Oxidative stress in schizophrenia. *Curr Neuropharmacol*. 2011;9(2):301-12.
12. Kocot J, Luchowska-Kocot D, Kiełczykowska M, Musik I, Kurzepa J. Does vitamin C influence neurodegenerative diseases and psychiatric disorders? *Nutrients*. 2017;9(7).
13. Rebec GV, Pierce RC. A vitamin as neuromodulator: Ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission. *Progr Neurobiol*. 1994;43(6):537-65.
14. Hu TM, Chen YJ. Nitrosation-modulating effect of ascorbate in a model dynamic system of coexisting nitric oxide and superoxide. *Free Radic Res*. 2010;44(5):552-62.
15. Han QQ, Shen TT, Wang F, Wu PF, Chen JG. Preventive and Therapeutic Potential of Vitamin C in Mental Disorders. *Curr Med Sci*. 2018;38(1):1-10.
16. Hansen SN, Tveden-Nyborg P, Lykkesfeldt J. Does vitamin C deficiency affect cognitive development and function? *Nutrients*. 2014;6(9):3818-46.
17. Huang Y, Lai C, Chiu C, Lin J, Wang J. L-Ascorbate attenuates the endotoxin-induced production of inflammatory mediators by inhibiting MAPK activation and NF- $\kappa$ B translocation in cortical neurons/glia cocultures. *PLoS One*. 2014;9(7):e97276.
18. Binfaré RW, Rosa AO, Lobato KR, Santos ARS, Rodrigues ALS. Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: Evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009;33(3):530-40.
19. Damazio L, Silveira F, Canever L, Castro A, Estrela J, Budni J, et al. The preventive effects of ascorbic acid supplementation on locomotor and acetylcholinesterase activity in an animal model of schizophrenia induced by ketamine. *An Acad Bras Cienc*. 2017;89(2):1133-41.
20. Becker A, Grecksch G. Ketamine-induced changes in rat behaviour: A possible animal model of schizophrenia. Test of predictive validity. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2004;28(8):1267-77.
21. Sakano Y, Kerkhof L. Assessment of changes in microbial community structure during operation of an ammonia biofilter with molecular tools. *Appl Env Microbiol*. 1998;64(12):4877-82.
22. Imre G, Fokkema DS, Boer JAD, Ter Horst GJ. Dose-response characteristics of ketamine effect on locomotion, cognitive function and central neuronal activity. *Brain Res Bull*. 2006;69(3):338-45.
23. Gomes ESB, Farias LC, Silveira LH, Jesus CÍ, Rocha RGD, Ramos GV, et al. Conditioned fear stress increases bone resorption in apical periodontitis lesions in Wistar male rats. *Arch Oral Biol*. 2019;97:35-41.
24. Gomes EPP, Aguiar JCA, Fonseca-Silva T, Dias LC, Moura-Boas KP, Roy A, et al. Diazepam reverses the alveolar bone loss and hippocampal interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6 enhanced by conditioned fear stress in ligature-induced periodontal disease in rats. *J Period Res*. 2013;48(2):151-8.
25. Rosa AO, Kaster MP, Binfaré RW, Morales S, Martín-Aparicio E, Navarro-rico ML, et al. Antidepressant-like effect of the novel thiazolidinone NP031115 in mice. *Progr Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008;32(6):1549-56.
26. Ma J, Leung LS. Deep brain stimulation of the medial septum or nucleus accumbens alleviates psychosis-relevant behavior in ketamine-treated rats. *Behav Brain Res*. 2014;266:174-82.
27. Ma J, Leung LS. Involvement of posterior cingulate cortex in ketamine-induced psychosis relevant behaviors in rats. *Behav Brain Res*. 2018;338:17-27.
28. Pérez MÁ, Morales C, Santander O, García F, Gómez I, Peñaloza-Sancho V, et al. Ketamine-Treatment During Late Adolescence Impairs Inhibitory Synaptic Transmission in the Prefrontal Cortex and Working Memory in Adult Rats. *Front Cell Neurosci*. 2019;13:1-17.
29. Nelder JA, Wedderburn RWM. Generalized linear models. *J R Stat Soc Ser A*. 1972;135:370-84.
30. Guimarães LSP, Hirakata VN, Camey SA, Nunes LN, Mancuso ACB. The major designs in epidemiology clinical trial (part II). *Rev HCPA*. 2013;33(34):3-4.
31. Morais MHF, Sabroza PC, Pessanha JE, Sobral A. Visceral leishmaniasis control actions: Epidemiological indicators for its effectiveness evaluation in a Brazilian urban area. *Cad Saude Publica*. 2020;36(6):e00060219.
32. Akaike H. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans Autom Contr*. 1974;19(6):716-23.
33. Duarte JL, Giatti LL. Incidence of leptospirosis in a capital of the Western Brazilian Amazon and its relationship with climate and environmental variability, between the years of 2008 and 2013. *Epidemiol Serv Saude*. 2019;28(1).
34. Lipska BK, Weinberger DR. To model a psychiatric disorder in animals: Schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology*. 2000;23(3):223-39.
35. Keilhoff G, Becker A, Grecksch G, Wolf G, Bernstein HG. Repeated application of ketamine to rats induces changes in the hippocampal expression of parvalbumin, neuronal nitric oxide synthase and cFOS similar to those found in human schizophrenia. *Neuroscience*. 2004;126(3):591-8.
36. Supp AD, Avila S, Mastella GA, Damásio L, de Oliveira IH, Godoi AK, et al. Ascorbic acid supplementation attenuates schizophrenia-like symptoms in an animal model induced by ketamin. *Int J Dev Neurosci*. 2021;81(1):26-36.
37. Plevin D, Galletly C. The neuropsychiatric effects of vitamin C deficiency: a systematic review. *BMC Psychiatry*. 2020;20(1):1-9.
38. Barroca NCB, Guarda MD, Da Silva NT, Colombo AC, Reimer AE, Brandão ML, et al. Influence of aversive stimulation on haloperidol-induced catalepsy in rats. *Behav Pharmacol*. 2019;30(2and3-SpecialIssue):229-38.
39. Vasconcelos SMM, Nascimento VS, Nogueira CRA, Vieira CMAG, Sousa FCF, Fonteles MMF, et al. Effects of haloperidol on rat behavior and density of dopaminergic D2-like receptors. *Behav Processes*. 2003;63(1):45-52.