UFSM

Dissertação de Mestrado

EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA TINTURA DE *Valeriana officinalis* NO MODELO CRÔNICO DE DISCINESIA OROFACIAL INDUZIDA POR HALOPERIDOL EM RATOS

Roselei Fachinetto

PPGBT

Santa Maria, RS, Brasil

2006

EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA TINTURA DE *Valeriana officinalis* NO MODELO CRÔNICO DE DISCINESIA OROFACIAL INDUZIDA POR HALOPERIDOL EM RATOS

---

por

Roselei Fachinetto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Bioquímica Toxicológica**.

Santa Maria, RS, Brasil

2006

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
Aprova a Dissertação de Mestrado

EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA TINTURA DE *Valeriana officinalis* NO MODELO CRÔNICO DE DISCINESIA OROFACIAL INDUZIDA POR HALOPERIDOL EM RATOS

elaborada por

Roselei Fachinetto

como requisito parcial para a obtenção de grau de
Mestre em Bioquímica Toxicológica.

COMISSÃO EXAMINADORA

Juliano Ferreira
(Presidente/Orientador)
(UFSM)

Rodrigo Bainy Leal
(UFSC)

Vanderlei Folmer
(UNIPAMPA)

Santa Maria, 30 de outubro de 2006.

"NÃO ANDE PELO CAMINHO JÁ TRAÇADO;
ELE CONDUZ SOMENTE ATÉ ONDE OS OUTROS JÁ FORAM."

(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que nas suas mais diferentes formas de manifestação, está sempre presente guiando meus passos.

Aos meus pais, Jandir e Iria, meus maiores exemplos, pelo amor, compreensão, ensinamentos, apoio em todos os momentos; e a minha irmã, Juliana, pelo carinho.

Ao meu orientador Prof. Juliano Ferreira, pela orientação, amizade, paciência, confiança, dedicação e apoio dado à realização deste trabalho. Minha admiração e gratidão.

Ao meu co-orientador e pai científico, Prof. João Batista Teixeira da Rocha, pela orientação, ensinamentos e exemplo ao longo de minha formação acadêmica. Meu agradecimento e admiração.

Ao professor João Batista Calixto, pela colaboração na execução deste trabalho.

À Profª. Marilise Burger, pela colaboração na realização deste trabalho, ensinamentos, amizade e carinho.

Aos Professores Félix, Cristina e Gilson, pelos exemplos que são para mim, e ao pessoal dos seus laboratórios, pela amizade.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, que contribuíram de alguma forma para minha formação.

Ao Alcindo, pelo amor, carinho, amizade, incentivo, parceria, compreensão em todos os momentos.

Aos amigos do Laboratório, os que ainda estão conosco e também aqueles que seguiram outros rumos, principalmente aqueles que acompanharam a maior parte deste trabalho: Rafael, Robson, Daniel, Jéssie, Fabiane Lunardi, Cristiane, Daiana, Karine, Danúbia, Tiago, Alessandro, Carlos André, Nilda, Vanderlei, Néia, Farinon, Matheus, Alessandro, Diego, Diogo. Obrigada pelo carinho, amizade e companheirismo.

Em especial, gostaria de agradecer aqueles que contribuíram de forma direta para a realização deste trabalho: Carol, Rominha, Jardel, Tielle, Vê, Danieli Wondracek. Valeu. Sem vocês, a realização deste trabalho seria impossível.

Aos funcionários Angélica e Rinaldo pela dedicação e competência com que realizam os seus trabalhos.

Ao CNPq e a CAPES pela bolsa de estudos e pelos recursos financeiros concedidos.

Ao Biotério Central pelo fornecimento dos animais de laboratório.

Aos animais utilizados, todo o meu respeito, pois sem eles não teria sido possível a realização deste trabalho.

Enfim, agradeço à Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica pela possibilidade de realização deste curso.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS..... vii
LISTA DE FIGURAS E TABELAS..... viii
APRESENTAÇÃO..... ix
RESUMO..... x
ABSTRACT..... xii

1. INTRODUÇÃO..... 1
1.1. Esquizofrenia..... 1
1.2. Neurolépticos..... 1
1.3. Discinesia Tardia..... 2
1.4. Modelos animais de discinesia tardia..... 3
1.5. Hipóteses para a discinesia tardia..... 4
1.5.1. Hipótese da supersensibilidade dopaminérgica..... 4
1.5.2. Hipótese gabaérgica..... 5
1.5.3. Hipótese da excitotoxicidade..... 5
1.5.4. Hipótese dos radicais livres..... 6
1.6. Substâncias pró-oxidantes..... 6
1.7. Antioxidantes..... 7
1.8. *Valeriana officinalis*..... 8

2. OBJETIVOS..... 9
3. ARTIGOS CIENTÍFICOS..... 10
3.1. Artigo 1..... 11
3.2. Artigo 2..... 20
4. DISCUSSÃO..... 59
5. CONCLUSÕES..... 65
6. PERSPECTIVAS..... 66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 69

LISTA DE ABREVIATURAS

DCFH-DA – diacetato de diclorofluoresceína

DO – discinesia orofacial

DT – discinesia tardia

ERO – espécies reativas de oxigênio

GPx – glutationa peroxidase

H_2O_2 – peróxido de hidrogênio

HL - Hiperlipídica

MAO – enzima monoaminoxidase

MMV – movimentos de mascar no vazio

NL – Normolipídica

NMDA – N-Metil-D-Aspartato

MnSOD – Superóxido dismutase dependente de manganês

MPTP – neurotoxina 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina

$OH^{\bullet}$ – radical hidroxila

SOD – superóxido dismutase

TBARS – espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

TF – tremor facial

SNC – sistema nervoso central

V. officinalis – *Valeriana officinalis*

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Artigo 1

Figura 1. A) Body weight in rats fed normo fat (NF) and high fat (HF) diets for 6 months. B) Body weight in rats receiving diets and haloperidol treatment……. 14

Figura 2. Effects of the diet on orofacial dyskinesia……. 15

Figura 3. Effects of haloperidol (1 mg/kg/day) or vehicle (vegetable oil) long-term administration on vacuous chewing movements (A) and facial twitching (B) frequency concomitant of treatment with NF and HF diet……..... 15

Figura 4. Thiobarbituric acid-reactive species (TBARS) concentrations in cerebral cortex (A), striatum (B), subcortical parts (C), region of substantia nigra (D) and cerebellum (E) in rats after 13 months in a NF or HF diet and after treatment with haloperidol for 7 months……. 16

Tabela 1. Composition of the diets……. 14

Artigo 2

Figura 1. Effects of *V. officinalis* on haloperidol-induced orofacial dyskinesia…. 54

Figura 2: Effects of long-term treatment with haloperidol and *V. officinalis* on [^{3}H] dopamine uptake (CPM/mg protein) in slices from striatum of rats…….. 55

Figura 3. Effects of *V. officinalis* on open field test in rats…… 56

Figura 4. Effects of *V. officinalis* on plus maze test in rats…… 57

Figura 5: Linear regression analysis between SOD activity in cortex and VCM (A) and between DCFH-DA oxidation in substantia nigra and [3H] dopamine uptake (B) in striatum of rats following chronic treatment with haloperidol and *V. officinalis*…… 58

Tabela 1. Effects of haloperidol and *V. officinalis* treatments on oxidative stress parameters..... 53

APRESENTAÇÃO

No item **INTRODUÇÃO**, está descrita uma sucinta revisão bibliográfica sobre os temas trabalhados nesta dissertação.

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigos, os quais encontram-se no item **ARTIGOS CIENTÍFICOS**. As seções Materiais e Métodos, Resultados, Discussão dos Resultados e Referências Bibliográficas, encontram-se nos próprios artigos e representam a íntegra deste estudo.

Os itens, **DISCUSSÃO E CONCLUSÕES**, encontrados no final desta dissertação, apresentam interpretações e comentários gerais sobre os artigos científicos contidos neste trabalho.

As **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens **INTRODUÇÃO**, **DISCUSSÃO e CONCLUSÕES** desta dissertação.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

EFEITO DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DA TINTURA DE *Valeriana officinalis* NO MODELO CRÔNICO DE DISCINESIA OROFACIAL INDUZIDA POR HALOPERIDOL EM RATOS

AUTORA: Roselei Fachinetto
ORIENTADOR: Juliano Ferreira
CO-ORIENTADOR: João B.T. Rocha
LOCAL E DATA DA DEFESA: Santa Maria, novembro de 2006.

A discinesia orofacial (DO) induzida por haloperidol consiste num modelo de discinesia tardia (DT) cuja patofisiologia tem sido relacionada a um aumento na renovação de dopamina, à redução na neurotransmissão gabaérgica e ao estresse oxidativo. Existem relatos de que pacientes esquizofrênicos ingerem uma maior quantidade de gordura na dieta do que a população em geral e o aumento da ingestão de gordura pode levar a um aumento do estresse oxidativo em modelos animais. Assim, um primeiro objetivo deste estudo foi determinar se a associação de ingestão de dieta rica em gordura concomitante ao tratamento prolongado com haloperidol poderia alterar a DO e levar ao estresse oxidativo em cérebro de ratos (artigo 1). A administração de decanoato de haloperidol (38 mg/kg, equivalente a 1mg/kg/dia) mensalmente, por um período de 6 meses, a ratos previamente alimentados com dietas normolipídica (NL) e hiperlipídica (HL) causou um aumento na DO. Além disso, o haloperidol causou um aumento nos níveis de peroxidação lipídica em estriado e *substantia nigra* somente em ratos ingerindo dieta HL. Um outro objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da *V. officinalis* (administrada na água de beber na proporção de 1mL de tintura de raíz para 100mL de água) no modelo animal de DO induzido por tratamento prolongado com haloperidol (artigo 2). A *V. officinalis* tem sido largamente utilizada para o tratamento de insônia possuindo propriedades GABA-miméticas e antioxidantes. O tratamento concomitante com *V. officinalis* não modificou a intensidade ou a prevalência da DO. Além disto, não encontramos nenhuma diferença estatística entre os grupos quando os parâmetros de estresse oxidativo foram avaliados. Por outro lado, o tratamento com haloperidol reduziu significativamente a captação de [^{3}H]-dopamina em fatias de estriado de ratos, um efeito inalterado pela *V. officinalis*. O tratamento com *V. officinalis* reduziu a atividade locomotora no campo aberto e aumentou o tempo de permanência no braço aberto do labirinto em cruz elevado, o que confirma o efeito ansiolítico da *V. officinalis*. Em conjunto, estes resultados indicam que a dieta rica em gordura causou um aumento transitório da DO induzida por haloperidol em ratos o que pode, em parte, ser relacionado ao estresse oxidativo induzido por haloperidol em estruturas do cérebro envolvidas com a DO. Nossos dados também sugerem que a redução no transporte de dopamina pode ser um possível mecanismo relacionado à manutenção da DO crônica em ratos ingerindo dieta NL. Além disso, a *V. officinalis* parece não ser eficaz na redução da DO em ratos.

Palavras-chave: haloperidol, discinesia orofacial, discinesia tardia, radicais livres, neurolépticos, dieta, gordura, dopamina, plantas medicinais, estresse oxidativo, ganho de peso.

ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree
Post-Graduate Course in Toxicological Biochemistry
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

EFFECT OF HIGH FAT DIET AND OF *Valeriana officinalis* TINCTURE ON THE CHRONIC MODEL OF OROFACIAL DYSKINESIA INDUCED BY HALOPERIDOL IN RATS

AUTHOR: Roselei Fachinetto
ADVISOR: Juliano Ferreira
CO-ADVISOR: João B.T. Rocha
PLACE AND DATE OF THE DEFENSE: Santa Maria, 2006

Haloperidol-induced orofacial dyskinesia (OD) is a putative animal model of tardive dyskinesia (TD) whose pathophysiology has been related to an increase in dopamine turnover, reduction in gabaergic neurotransmission and oxidative stress. Schizophrenic patients have been reported to eat a diet higher in fat than the general population and dietary fat intake can lead to an increase in oxidative stress in animal models. Thus, the first objective of this study was to determine if the association of high fat diet ingestion with prolonged haloperidol treatment could alter the OD and lead to oxidative stress in the rat brain (article 1). Haloperidol decanoate administration (38 mg/kg, which is equivalent 1mg/kg/day) monthly for a period of 6 months to rats fed previously with a HF diet caused an increase in OD. Furthermore, haloperidol caused an increase in the levels of lipid peroxidation in striatum and substantia nigra only in rats fed with the HF diet. Another objective of this work was to evaluate the effects of *V. officinalis* (1% administered in the drink water) in the animal model of OD induced by long-term treatment with haloperidol (article 2). *V. officinalis* has been widely used to treat insomnia since it posses GABA-mimetic and antioxidant properties. Concomitant treatment with *V. officinalis* did not modify the intensity or prevalence of OD. We did not find any statistical differences among the groups when oxidative stress parameters were evaluated. On the other hand, haloperidol treatment significantly decreased [^{3}H]-dopamine uptake in slices from striatum of rats, an effect unaltered by *V. officinalis*. The treatment with *V. officinalis* reduced the locomotor activity in the open field and increased the time spent on open arm in the plus maze test, confirming the anxiolitic effect of *V. officinalis.* Taken together, these results indicate that a high fat diet caused a transitory increase in haloperidol-induced OD in rats and this, at least in part, can be related to the haloperidol-induced oxidative stress in brain structures. Our data also suggest that the reduction in dopamine transport can be a possible mechanism related to the maintenance of chronic OD in rats feeding NF diet. Finally, *V. officinalis* seems not to be efficacious in the reduction of OD in rats.

Keywords: haloperidol, orofacial dyskinesia, tardive dyskinesia, free radicals, neuroleptics, diet, fat, dopamine, medicinal plants, oxidative stress, body weight gain.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Esquizofrenia

A esquizofrenia consiste na principal desordem mental, afetando cerca de 1% da população em todo o mundo (Mahadik e cols., 2001), independente da cultura, país ou grupo racial (Bromet e Fenning, 1999). As manifestações da esquizofrenia surgem, geralmente, entre o final da segunda década de vida e início da terceira.

Em 1908, Eugene Bleuler definiu esquizofrenia como sendo a falta de interação entre o processo do pensamento e da percepção. Bleuler também classificou os sintomas da esquizofrenia, conforme suas características, em sintomas positivos, os quais incluem desilusão e alucinação, e negativos, como a perda de motivação e oscilação emocional (Lewis e Lieberman, 2000; Stotz-Ingenlath, 2000).

A etiologia da esquizofrenia continua ainda não completamente esclarecida. A teoria mais aceita para explicar as bases neuroquímicas da esquizofrenia é a de que existe uma hiperatividade da neurotransmissão dopaminérgica das projeções mesencefálicas para o estriado límbico, baseado no fato de que os neurolépticos que possuem maior eficácia terapêutica, principalmente para os sintomas positivos da esquizofrenia, são aqueles com maior afinidade por bloquear receptores dopaminérgicos D_2 (Snyder, 1976).

1.2 Neurolépticos

Os neurolépticos são fármacos utilizados no tratamento de psicoses, em particular a esquizofrenia. A clorpromazina foi o primeiro neuroléptico descrito, em 1952, por Delay e Deniker. Em 1957, Paul Janssen descobriu a atividade neuroléptica das butirofenonas. Nesta classe, encontra-se o haloperidol, um neuroléptico pertencente à classe dos neurolépticos clássicos ou típicos, que se destaca por sua potência, especificidade e longa ação (Niemegeers, 1983). A principal ação farmacológica dos neurolépticos clássicos ou típicos consiste em bloquear receptores dopaminérgicos D_2 (Creese e cols., 1976). No

entanto, o tratamento com estes fármacos possui eficácia comprometida por causarem efeitos colaterais extrapiramidais agudos e crônicos como, por exemplo, a Discinesia Tardia (DT) e o Parkisonismo.

Em 1958, Schmutz e cols. sintetizaram uma série de compostos denominados de dibenzazepinas tricíclicas, sendo que a clozapina, que foi o protótipo dos antipsicóticos atípicos, foi uma delas (Schmutz e Eichenberger, 1982). Estes novos compostos foram efetivos em alguns modelos animais de ação antipsicótica. Contudo, em contraste ao haloperidol e clorpromazina, os neurolépticos atípicos não foram efetivos em modelos de estereotipia induzidos por anfetamina e apomorfina (Healy, 2002; Hippius, 1989).

Mais tarde, observou-se que pacientes resistentes ao tratamento com haloperidol e clorpromazina, principalmente aqueles com sintomas negativos de esquizofrenia, respondiam de maneira satisfatória ao tratamento com clozapina (Kane e cols., 1988). Desta forma, novos antipsicóticos atípicos, começaram a ser sintetizados visando minimizar os efeitos colaterais extrapiramidais sem, contudo, diminuir a terapêutica. Entretanto, os antipsicóticos atípicos, além de não possuírem eficácia satisfatória nos sintomas positivos da esquizofrenia, apresentam uma série de efeitos colaterais, entre eles diabetes mellitus tipo 2 e agranulocitose e, em alguns casos, a própria DT (Henderson, 2000). Além disso, os antipsicóticos atípicos possuem custo muito elevado se comparados aos típicos. Desta forma os neurolépticos clássicos continuam sendo largamente empregados no tratamento das psicoses.

1.3. Discinesia Tardia

A DT consiste num distúrbio do movimento decorrente do uso prolongado de neurolépticos, sendo considerada o principal efeito colateral destes fármacos. As primeiras descrições desta síndrome foram publicadas entre 1956 e 1957. Inicialmente, a DT foi denominada de “discinesia persistente” sendo também referida como “síndrome buco-línguo-mastigatória” ou “síndrome da insuficiência extrapiramidal terminal” (Crane, 1968; Kane, 1995). O termo discinesia tardia foi proposto em 1964, por Faurbye e colaboradores.

A DT caracteriza-se por movimentos anormais hipercinéticos, sem propósito, repetitivos e involuntários que podem ocorrer durante ou após a interrupção de um tratamento prolongado com neurolépticos. Estes distúrbios do movimento ocorrem, mais freqüentemente, na região orofacial e incluem movimentos de mastigação, protusão da língua, estalido dos lábios, movimentos de franzir a face e piscar os olhos. Em alguns casos, os distúrbios hipercinéticos podem também atingir o pescoço, os membros (principalmente os superiores) e o tronco (Kane, 1995). Também podem desenvolver-se sintomas axiais de movimentos pélvicos para frente e para trás ou movimentos rotatórios, descontínuos, dos quadris. Estes sintomas possuem flutuações no decorrer do tempo, podendo variar em intensidade até mesmo dentro do mesmo dia (Gardos e Cole, 1983; Wolfarth e Ossowska, 1989; Laporta e cols., 1990).

Em 1988, a Associação Psiquiátrica Americana estimou a prevalência da DT em cerca de 10 a 20% dos pacientes que utilizam cronicamente drogas neurolépticas. Alguns autores estimam que a média de prevalência da DT em sujeitos recebendo tratamento com neurolépticos clássicos consiste de um índice em torno de 20–25%, mas este índice aumenta com a idade. De fato, a idade é considerada um dos fatores de risco para a DT, e atinge cerca de 50% dos pacientes, com mais de 50 anos de idade, em tratamento com neuroléptios (Kane e Smith, 1982; Gardos e Cole, 1983; Yassa e Jeste, 1992). O mais sério aspecto da DT consiste na persistência da síndrome por meses ou até anos após a retirada das drogas, sendo que pode ser irreversível (Crane, 1973; Jeste e cols., 1979; Casey, 1985; Glazer e cols., 1990).

1.4. Modelos animais de discinesia tardia

Para o estudo dos mecanismos da DT, que acontece em humanos, existem alguns modelos animais que são utilizados. Nos modelos animais, a discinesia é chamada de discinesia orofacial (DO). Dentre os modelos animais de DO destacam-se os modelos agudos induzidos por neurolépticos e o modelo de DO induzido por reserpina.

Contudo, esses modelos agudos em geral têm sido criticados devido a uma série de fatores, sendo que a principal crítica consiste no fato de a síndrome extrapiramidal aguda

apresentar mais similaridades com Parkisonismo do que com a DT propriamente dita (Egan e cols., 1996). Além disso, sabe-se que, em humanos, a retirada do tratamento prolongado com neurolépticos leva a uma exacerbação da síndrome, o que é visto apenas em modelos crônicos de DO (Gunne e cols., 1982; Egan e cols., 1994).

Algumas similaridades entre DO em animais e DT em humanos podem ser observadas. Tanto em humanos como em animais existe um subgrupo que é mais suscetível ao desenvolvimento da síndrome (Tamminga e cols., 1990; Egan e cols., 1994; Shirakawa e Tamminga, 1994). Os movimentos orofaciais induzidos por neurolépticos em animais possuem a mesma freqüência (1-3 Hz) da DT em humanos (See e Ellison, 1990). Como em humanos, o número de movimentos de mascar no vazio (MMV), que consiste no parâmetro mais utilizado para avaliação do desenvolvimento da DO, possui flutuações no decorrer do tempo e pode piorar muito quando existe um fator de estresse envolvido (Waddington, 1990; Kaneda e cols., 1992; Egan e cols., 1994). Em animais também é visto um aumento da DO com o aumento da idade tanto induzida por neurolépticos quanto espontânea (Kaneda e cols., 1992; Egan e cols., 1994; Jorgensen e cols., 1994; Andreassen e cols., 1996, 1999).

1.5. Hipóteses para a DT

Algumas hipóteses neuroquímicas têm sido propostas na tentativa de elucidar o mecanismo de desenvolvimento da DT. No entanto, sua exata patofisiologia permanece não esclarecida. A seguir descrevemos algumas das hipóteses mais aceitas para explicar a gênese da DT.

1.5.1. Hipótese da supersensibilidade dopaminérgica

A supersensibilidade dopaminérgica consiste na mais popular hipótese para explicar o desenvolvimento da DT após uso crônico de neurolépticos. Segundo esta hipótese, a DT é resultante de uma resposta do cérebro, secundária ao bloqueio crônico dos receptores dopaminérgicos pelos neurolépticos, em locais relacionados ao controle dos movimentos. Em resposta a este bloqueio crônico, há um aumento compensatório no número de

receptores dopaminérgicos, receptores estes que provavelmente respondem a menores níveis de dopamina levando a um estado hiperdopaminérgico e a manifestações clínicas como, por exemplo, a DT (Klawans e Rubovits, 1972; Burt e cols., 1977; Rubinstein e cols., 1990). No entanto, esta teoria possui algumas contradições. A principal inconsistência da teoria é que o mais importante fator de risco para o desenvolvimento da DT é a idade (Cavallero e Smeraldi, 1995; Kane, 1995; Woerner e cols., 1998). Contudo, foi demonstrado que o envelhecimento faz com que ocorra a redução tanto do número quanto da sensibilidade dos receptores dopaminérgicos (Lohr e Jeste, 1988; Sachdev, 2000).

1.5.2. Hipótese gabaérgica

Esta hipótese propõe que o desenvolvimento da DT seria devido à alteração da transmissão gabaérgica pelos neurolépticos (Andreassen e Jorgensen, 2000). Foi relatado que existe uma redução na atividade da enzima ácido glutâmico descarboxilase (GAD), enzima que faz a descarboxilação do glutamato para a síntese do ácido γ-aminobutírico (GABA), na *substantia nigra*, *globus pallidus* e núcleo subtalâmico em macacos e ratos com movimentos orofaciais induzidos por neurolépticos (Gunne e Haggstrom, 1983; Gunne e cols., 1984; Johansson e cols., 1990). Quando a transmissão dopaminérgica é bloqueada por drogas neurolépticas, pode ocorrer a redução na renovação do GABA na *substantia nigra* (Gale e Casu, 1981; Mao e cols., 1978). Sendo o GABA de importância crucial na retroinibição do tônus dopaminérgico striatonigral (Reavill e cols., 1980; Childs e Galé, 1983), o prejuízo de sua função poderia ter um importante papel no desenvolvimento da DT. Em modelos animais de DO o aumento do tônus gabaérgico, através de substâncias gabamiméticas, parece ser capaz de reverter a DO induzida por reserpina (Gao e cols., 1994; Araújo e cols., 2004; Peixoto e cols., 2005). No entanto, a eficácia clínica não é satisfatória, sendo útil em apenas alguns casos (Tamminga e cols., 1989; Umbrich e Soares., 2003; Soares e cols., 2004; Wonodi e cols., 2004).

1.5.3. Hipótese da excitotoxicidade

De Kayser propôs que o tratamento prolongado com neurolépticos poderia aumentar a liberação de glutamato dos terminais cortico-estriatais, levando à excitotoxicidade estriatal (De Kayser, 1991). Estudos posteriores demonstraram que existe um aumento de

liberação estriatal de glutamato, sendo que este aumento poderia levar à neurotoxicidade (Coyle e Puttfarchen, 1993; Castilho e cols., 1999). Além disso, a excessiva estimulação dos receptores N-Metil-D-Aspartato (NMDA) poderia induzir uma entrada massiva de Ca^{2+} nas células conduzindo a uma cascata de eventos que em última instância acabaria por levar à morte celular (Konradi e Heckers, 2003).

1.5.4. Hipótese dos radicais livres

Uma hipótese que vem ganhando atenção na literatura é a de que os radicais livres possam ter uma importante participação no desenvolvimento da DT (Cadet e cols., 1986, 1987; Lohr e cols., 2003). De acordo com isto, dados da literatura indicam que a administração de neurolépticos, por bloquear receptores dopaminérgicos, pode causar um aumento secundário na síntese de dopamina e consequentemente um aumento no seu metabolismo via aumento da atividade da enzima monoaminoxidase (MAO) (Lohr, 1991; Andreasen e Jorgensen, 2000). Sabe-se que a atividade das oxidases em geral, forma como produto o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que ao reagir com metais de transição forma radicais livres via reação de fenton, por exemplo, radicais hidroxila ($OH^{\cdot}$) e superóxido, além da formação de dopamina quinona via auto-oxidação da própria dopamina (Lohr e cols., 1991; 2003). Adicionalmente, contribuindo para um maior aumento na renovação de dopamina, foi demonstrado que alguns neurolépticos, dentre eles o haloperidol, foram capazes de inibir a captação de dopamina, *in vitro*, via interação direta com o transportador para dopamina (Lee e cols., 1997).

Além disso, o bloqueio dos receptores estriatais dopaminérgicos pode produzir um aumento no glutamato extracelular, o que pode levar a um aumento na produção de radicais livres (Coyle e Puttfarcken, 1993; Tsai e cols., 1998; Castilho e cols., 1999) através de mecanismos excitotóxicos.

1.6. Substâncias pró-oxidantes

Concordando com o fato de que os radicais livres estão envolvidos no desenvolvimento da DO, foi demonstrado que a administração de substâncias pró-oxidantes

é capaz de potencializar o desenvolvimento de DO em modelos animais (Andreassen e cols., 1998; Calvent e cols., 2002). De particular importância, existem evidências na literatura de que pacientes esquizofrênicos ingerem uma maior quantidade de gordura na dieta do que a população em geral (Brown e cols., 1999) e, a ingestão de dietas ricas em gordura está associada a um aumento de estresse oxidativo em roedores (Folmer e cols., 2003). Mais recentemente, foi demonstrado que dietas ricas em gordura aumentam a vulnerabilidade dos neurônios dopaminérgicos à neurotoxina 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP) (Choi e cols., 2005). Contudo, não existem dados na literatura indicando que uma excessiva ingestão de gordura pode alterar a prevalência de DT em pacientes esquizofrênicos.

1.7. Antioxidantes

Sabe-se que o cérebro é particularmente vulnerável à ação tóxica das espécies reativas de oxigênio (ERO) principalmente pela grande quantidade de energia utilizada que, via metabolismo oxidativo, pode levar à produção de ERO (Lohr, 1991). Além disso, o sistema nervoso central (SNC), por ser um local extremamente rico em ácidos graxos poliinsaturados, propicia a peroxidação lipídica (Lohr e cols., 2003). Com base em trabalhos recentes acerca de drogas capazes de reverter ou mesmo de impedir o desenvolvimento da DT, o uso de substâncias com potencial antioxidante parece ser promissor. Considerando que o sistema antioxidante endógeno, tanto enzimático, representado pelas enzimas glutationa peroxidase (GPx), catalase e superóxido dismutase (SOD), quanto não enzimático, principalmente representado pelas vitaminas E e C, parece ser fundamental neste caso, a estratégia terapêutica ou mesmo preventiva, estaria na administração de substâncias capazes de reestabelecer as defesas antioxidantes endógenas ou mesmo atuar complementando-as.

Dados da literatura têm demonstrado que, em animais tratados com neurolépticos, existe aumento nos níveis de peroxidação lipídica e de carbonilação de proteínas, redução na atividade de enzimas antioxidantes, como a SOD, a catalase e a GPx, e também redução da glutationa reduzida e conseqüente aumento da glutationa oxidada (Post e cols., 2002;

Naidu e cols., 2003a; Abílio e cols., 2004; Burger e cols., 2004; 2005 a; b; Faria e cols., 2005; Sadan e cols., 2005; Pillai e cols., 2006). Neste contexto, a enzima SOD tem recebido atenção na literatura. Foi demonstrado uma significativa redução no alelo mutante (alta atividade) para a MnSOD em pacientes com esquizofrenia e DT em comparação com aqueles sem DT, sugerindo que a alta atividade do alelo MnSOD pode proteger contra o desenvolvimento da DT (revisado por Lohr e cols., 2003). Além disso, o uso de substâncias com potencial antioxidante como é o caso da Vitamina E, melatonina, quercetina, diseleneto de difenila e ebselem foi capaz de atenuar ou mesmo reverter completamente a DO bem como restaurar os parâmetros bioquímicos que se apresentavam alterados (Sachdev e cols., 1999; Naidu e cols., 2003 a, b; Burger e cols., 2004; 2005a; 2006).

Mais importante, em humanos foi demonstrado que existe aumento de parâmetros oxidativos no fluído cérebro espinhal e plasma de pacientes com DT (Pall e cols., 1987; Tsai e cols., 1998; Lohr e cols., 1990). Foi reportado que o uso de substância antioxidantes como a vitamina E pode prevenir o aparecimento da discinesia em pacientes (Egan e cols., 1992; Dabiri e cols., 1994). No entanto, seu uso como tratamento após a síndrome já instalada, parece não ter eficácia.

1.8. *Valeriana officinalis*

O extrato da raiz de Valeriana (*Valeriana officinalis L.*, Valerianaceae) tem sido amplamente utilizado pela população em geral para tratamento de insônia. A *V. officinalis* possui constituintes com ação sedativa e calmante (Morazzoni e Bombardell, 1995; Fugh-Berman e Cott, 1999; Lustberg e Reynolds, 2000; McCabe, 2002).

Dados da literatura demonstram que alguns componentes presentes em seu extrato possuem afinidade por receptores presentes no sistema nervoso central. O mecanismo de ação da Valeriana parece incluir efeitos agonistas em receptores $GABA_A$ e potencialização da transmissão GABAergica via liberação do GABA e/ou inibição da recaptação do GABA (Mennini e cols., 1993; Santos e cols., 1994; Ortiz e cols., 1999, 2006; Sharifzadeh e cols., 2006). O ácido valerênico parece ser um agonista parcial serotonérgico (Dietiz e cols., 2005). Alguns monoterpenos presentes nos óleos essenciais de algumas plantas medicinais,

dentre elas a *V. officinalis*, possuem afinidade por receptores gabaérgicos (Granger e cols., 2005).

Além disto, um recente trabalho de nosso laboratório, demonstrou que o extrato de *V. officinalis* possui capacidade antioxidante, em baixas concentrações, em modelos *in vitro* utilizando diferentes agentes pró-oxidantes (Rocha e cols., dados não publicados).

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste estudo consiste em avaliar o efeito da administração crônica de dieta hiperlipídica (HL) e da tintura de *V. officinalis* na DO induzida por haloperidol em ratos.

Os objetivos específicos deste trabalho consistem em:

→ Avaliar o efeito das dietas e da *V. officinalis* sobre parâmetros comportamentais de DO, induzida por haloperidol em ratos;

→ Investigar o efeito dos tratamentos sobre parâmetros de estresse oxidativo em estruturas específicas do cérebro dos animais;

→ Verificar o efeito do tratamento com haloperidol na recaptação de dopamina e sua possível relação com o desenvolvimento da DO em ratos.

3- ARTIGOS CIENTÍFICOS

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigos científicos, os quais se encontram aqui organizados. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão dos Resultados e Referências Bibliográficas, encontram-se nos próprios artigos. O **artigo 1** está disposto na forma que foi publicado na edição da revista científica **Pharmacology, Biochemistry and Behavior.** O **artigo 2** está disposto na forma submetida para publicação.

3.1 – EFEITO DE DIETA NORMOLÍPIDICA E HIPERLIPÍDICA SOBRE DISCINESIA OROFACIAL INDUZIDA POR HALOPERIDOL EM RATOS

Artigo 1

HIGH FAT DIET INCREASES THE INCIDENCE OF OROFACIAL DYSKINESIA AND OXIDATIVE STRESS IN SPECIFIC BRAIN REGIONS OF RATS

FACHINETTO, R., BURGER, M.E., WAGNER, C., WONDRACEK, D.C., BRITO, V.B., NOGUEIRA, C.W., FERREIRA, J., ROCHA, J.B.T.

Pharmacology, Biochemistry and Behavior 81 (2005) 585-592.

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE DIRECT

Pharmacology, Biochemistry and Behavior 81 (2005) 585 – 592

PHARMACOLOGY BIOCHEMISTRY AND BEHAVIOR

www.elsevier.com/locate/pharmbiochembeh

High fat diet increases the incidence of orofacial dyskinesia and oxidative stress in specific brain regions of rats

Roselei Fachinetto[a], Marilise E. Burger[b], Caroline Wagner[a], Daniele C. Wondracek[a], Verônica B. Brito[a], Cristina W. Nogueira[a], Juliano Ferreira[a], João B.T. Rocha[a,*]

[a]*Departamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Curso de Mestrado/Doutorado em Ciências Biológicas, Bioquímica Toxicológica, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil*

[b]*Departamento de Fisiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil*

Received 22 December 2004; received in revised form 28 April 2005; accepted 3 May 2005
Available online 2 June 2005

Abstract

Haloperidol-induced orofacial dyskinesia (OD) is a putative animal model of tardive dyskinesia (TD) whose pathophysiology has been related to free radical generation and oxidative stress. Schizophrenic patients have been reported to eat a diet higher in fat than the general population and dietary fat intake can lead to an increase in oxidative stress in animal models. The objective of this study was to determine whether association of ingestion of a high fat diet with prolonged haloperidol treatment could lead to OD and oxidative stress in the rat brain. Haloperidol decanoate administration (38 mg/kg, IM, which is equivalent to 1 mg/kg/day) monthly for a period of 6 months to rats fed previously with a high fat and normo fat diets (6 months) caused a increase in vacuous chewing (VCM) and duration of facial twitching (FT). Haloperidol caused a reduction in body weight gain and the loss of body weight occurred after 4 months of treatment with haloperidol. The effects on body weight were more accentuated in HF diet group. HF diet ingestion was associated with an increase in TBARS levels in cerebellum and cerebral cortex (regardless of haloperidol treatment). A significant diet × haloperidol treatment interaction in striatum, subcortical parts and the region containing the substantia nigra was observed for TBARS. In fact, haloperidol caused an increase in TBARS levels of these regions only in rats fed with the HF. These results indicate that a high fat diet caused a transitory increase in haloperidol-induced OD in rats and this in part can be related to the haloperidol-induced oxidative stress in brain structures involved with OD.
© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Haloperidol; Orofacial dyskinesia; Tardive dyskinesia; Free radical; Neuroleptics; Neurotoxicity; High fat diet

1. Introduction

Schizophrenia is the major mental disorder that has a lifetime risk of 1% and affects at young age in many cultures around the world (Mahadik et al., 2001). Haloperidol, a typical member of the conventional neuroleptics, is thought to exert its motor side effects through striatal dopamine D_2-receptors (Creese et al., 1976) and sigma-receptors (Walker et al., 1990; Vilner et al., 1995). The neuroleptic efficacy of haloperidol in psychotic patients is somewhat compromised by the drug's liability to cause acute and chronic extrapyramidal side effects, including TD (Andreasen and Jorgensen, 2000). The mean prevalence of TD is 20–25% in subjects receiving classical neuroleptic treatment, but the rate increases strongly with age, and prevalence above 50% has been reported in patients older than 50 years (Kane and Smith, 1982; Woerner et al., 1991; Yassa and Jeste, 1992). The most serious aspect of TD is that it may persist for months or years after drug withdrawal, and in some patients it is irreversible (Crane, 1973; Jeste et al., 1979; Casey, 1985). Some neurochemical hypothesis has been proposed for the development of TD during the last decades. They include dopaminergic hypersensitivity, disturbed balance between dopaminergic and cholinergic systems, dysfunction of striatonigral GABAergic neurons and excitotoxicity (Andreasen and Jorgensen, 2000; Ebadi and Srinivasan, 1995). However, the molecular mechanisms

* Corresponding author. Tel.: +21 55 220 8140; fax: +21 55 220 8978.
E-mail address: jbtrocha@yahoo.com.br (J.B.T. Rocha).

0091-3057/$ - see front matter © 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.
doi:10.1016/j.pbb.2005.05.001

responsible for the neuropathophysiology of TD are still not completely understood.

One hypothesis that has gained experimental support in literature is that free radicals may play an important role in the physiopathology of such disorders (Cadet et al., 1986, 1987). In line with this, literature of data indicates that neuroleptic administration can increase the turnover of dopamine and the production of reactive substances as products of dopamine metabolism (Andreasen and Jorgensen, 2000; Casey, 1995; Lohr, 1991; Polydoro et al., 2004). Furthermore, blockage of striatal dopamine receptors can produce an increase in extracellular glutamate (Burger et al., 2005; See and Lynch, 1996), which in turn can increase the production of free radical species (Castilho et al., 1999; Coyle and Puttfarcken, 1993; Tsai et al., 1998).

In line with this hypothesis, several authors have demonstrated the reversion of OD with the administration of antioxidants substances, including FK-506 (Singh et al., 2003), melatonin (Naidu et al., 2003a,b), quercetin (Naidu et al., 2003a,b), ebselen (Burger et al., 2003) and diphenyl–diselenide (Burger et al., 2004). Recently, Abílio et al. (2004) reported that striatal catalase has an important role in the protection of spontaneously hypertensive rats (SHR) against the reserpine-induced OD. Most importantly, patients with TD have elevated markers of oxidative stress in CSF and plasma when compared to controls subjects (Lohr et al., 1990; Tsai and Ikonomidou, 1995; Brown et al., 1998). Additionally some authors have demonstrated that high doses of vitamin E are able to prevent TD in patients under chronic with neuroleptic treatment (Egan et al., 1992; Adler et al., 1993).

Dietary fat intake has been shown to be important in the development of human obesity (Warwick and Schiffman, 1992) and there are also experimental studies showing that high fat diet can be associated with increased oxidative stress in rodents (Storlien et al., 1986, 2000; Folmer et al., 2003) and more recently literature data have indicate that high fat diet may increase the vulnerability of dopaminergic neurons to MPTP (Choi et al., 2005).

Of particular importance, schizophrenic patients have been reported to eat a diet higher in fat than the general population (Brown et al., 1999) and Gardos and Cole (1986) suggested that schizophrenia may confer resistance to the development of tardive dyskinesia. However, there are no data in the literature indicating that excessive fat intake can change the incidence of tardive dyskinesia in schizophrenics. High level of fat intake is considered to be an important factor in the development of insulin resistance and obesity. Schizophrenic individuals appear to have at increased risk for certain obesity-related conditions such as type II diabetes and cardiovascular disease (Mukherjee et al., 1996) in comparison with general population. Metabolic dysfunctions have been associated with antipsychotic treatment including increased levels of circulating leptin and these changes can be an important link in the development of overweight and the insulin resistance syndrome in subjects receiving antipsychotic drugs (Hagg et al., 2001; Haupt et al., 2005; Henderson, 2002; Kraus et al., 1999; Melkersson et al., 2000; Morimoto et al., 1999; Simpson et al., 2001).

In line with this, over production of reactive oxygen species (ROS) and antioxidant depletion have been associated with the diabetes manifestation (Hunt et al., 1988; Wolff and Dean, 1987), OD in animal models (Naidu et al., 2003a,b; Burger et al., 2003) and TD in humans (Andreasen and Jorgensen, 2000; Lohr et al., 2003). These considerations raise the possibility that a relation among neuroleptic treatment and diet can exist. Furthermore, it is plausible to suppose that some exacerbation of their pro-oxidant activity could occur by simultaneous exposure to them.

The aim of this study consisted in investigate the effects of the normo fat (NF) and high fat (HF) diets on the development of OD haloperidol-induced and TBARS in brain regions as measure of oxidative stress.

2. Materials and methods

2.1. Drugs

Haloperidol decanoate (Janssen Pharmaceutical); ketamine (Dopalen/ Division VetBrands/ Sespo-Brasil). Haloperidol was injected intramuscularly (I.M.) and Ketamine was injected intraperitoneally (i.p.).

2.2. Animals and diets

Male Wistar rats (2 months old), weighing between 270 and 320 g, from our own breeding colony (Animal Householding, UFSM, Brasil) were kept in wire cages with free access to the diets and water, in a room with controlled temperature (22 ± 3 °C) and in 12-h light/dark cycle with lights on at 7:00 am. The animals were maintained and used in accordance to the guidelines of the Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources, School of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo, Brasil.

The rats were randomly divided into two groups, with 16 animals each, and a fed either a NF or a HF diet. The composition of the diets is shown in Table 1. Food was placed daily before the beginning of the dark cycle. Food offering was adjusted in such a way that leftovers were less than 10%. Diets were prepared weekly and stored at 4 °C. Rats received the diets for 13 months and were monthly weighed.

2.3. Induction of orofacial dyskinesia

Chronic OD haloperidol-induced occurred after 6 months of the treatment with diets, when the rats were divided in two subgroups. The NF control group ($n = 7$) received NF diet and vegetable oil solution intramuscularly (I.M.). The NF haloperidol group ($n = 7$) received NF diet and haloper-

Table 1

Composition of the diets	High fat diet (HF)	Normo fat diet (NF)
	(g/kg)	
Protein	75.0	76.0
Carbohydrate	483.0	765.0
Fiber	35.00	37.00
Fat acid saturated	125.00	8.00
Fat acid unsaturated	230.0	62.0
Salt mixture[1]	48.00	48.00
Caloric content (cal/g)	5.35	3.91

[1]The salt mixture has the following composition (g/kg): KCl, 96.3; $MgSO_4$, 56.7; $ZnCl_2$, 0.4; $CuCO_4$, 0.7; $MnSO_4$, 1.2; bonemeal, 449; salt ligth, 152. The values were retired from Andriguetto (1986).

idol decanoate (I.M.), the HF control group ($n=7$) received HF diet and vegetal oil (I.M.) and the HF haloperidol ($n=9$) group received HF diet and haloperidol decanoate (I.M.). The haloperidol groups received the depot neuroleptic drug, haloperidol decanoate (Janssen Pharmaceutical) at a dose of 38 mg/kg, the equivalent of 1 mg/kg/day of unconjugated haloperidol. Injections were given intramuscularly each 4 weeks during one period of 7 months.

2.4. Behavioral testing

One behavioral analyze was realized in the beginning of treatment with the diets (0 month) and compared with 6 months of diet intake. Haloperidol treatment was started after 6 months of experimental diets intake. We examined the effect of haloperidol decanoate after 28 days (1 month) of the first injection, because it is well established in the literature that haloperidol-treated animals develop orofacial dyskinesia (Andreassen et al., 1998, 2003; Egan et al., 1999; Hamid et al., 1998). The others evaluations were performed 2, 3, 4, 5, 6, 7 months of haloperidol treatment. To quantify the occurrence of orofacial dyskinesia rats were placed individually in cages (20 × 20 × 19 cm) and hand operated counters were employed to vacuous chewing (VCMs) frequency and stopwatches were employed to score the duration of twitching of the facial musculature (FT).

VCMs are referred as a single mouth opening in the vertical plane not directed towards physical material. If VCMs or FT occurred during a period of grooming they were not taken into account. The behavioral parameters of orofacial dyskinesia were measured continuously for 6 min after a period of 2 min adaptation. During the observation sessions, mirrors were placed under the floor and behind the backwall of the experimental cage to permit observation when the animal was faced away from the observer. The behavioral tests were always conducted by four observers blind.

2.5. Experimental procedure

After 30 days of the last administration of drugs and 24 h of last section of behavioral quantification, all the rats were injected with the anesthetic ketamine (1 mg/kg) (Dopalen/ Division VetBrands/ Sespo-Brasil). After the rats were killed for decapitation, the brains were immediately excised and the cerebellum, cerebral cortex, striatum, region containing the substantia nigra and subcortical parts of the brain were separated, weighed and homogenized in 10 volumes (w/v) of 10 mM Tris–HCl, pH 7.5. The homogenates were centrifuged for 10 min at 1800 ×g and the supernatant was used to TBARS determination as described early on (Ohkawa et al., 1979; Rossato et al., 2002).

2.6. Statistical analysis

Data were analyzed by a two- and three-way ANOVA, followed by Duncan's post hoc tests when appropriated. F values are presented in the text only the p value associated with it was <0.05. Significance was considered when $p<0.05$.

3. Results

Diet had no effect on body weight gain (Fig. 1). Two-way ANOVA (2 diets × 7 weight determinations) revealed no

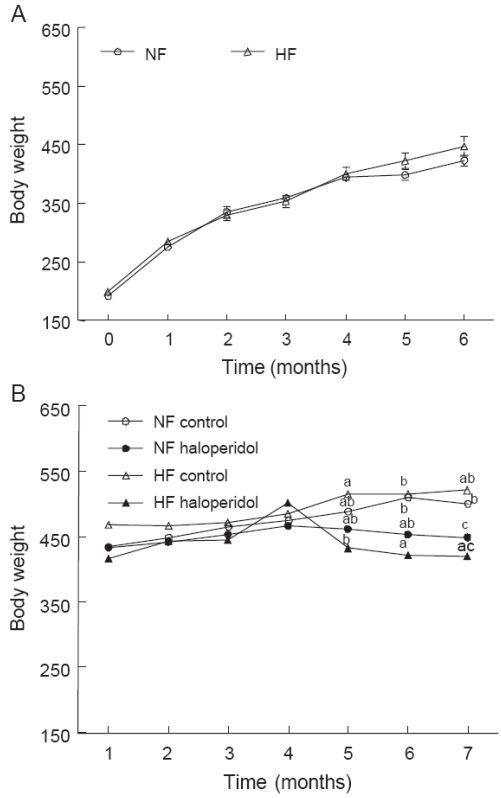

Fig. 1. A) Body weight in rats fed normo fat (NF) and high fat (HF) diets for 6 months. B) Body weight in rats receiving diets and haloperidol treatment. The symbols indicates a significant difference (detected by Duncan's multiple range test) between the groups into same month ($p<0.05$).

significant effects. Haloperidol treatment caused a significant reduction in body weight of rats in both dietary groups. However, rats from HF diet started to loss body weight before of the animals from NF diet. This was evidenced by a significant interaction between body weight and haloperidol treatment with $F(6, 150)=8.50$ and $p<0.001$.

Ingestion of the HF for 6 months caused an increase in the facial twitching frequency, when compared to rats fed with the diet containing normal fat (NF) content (Fig. 2; $p<0.01$). Main effect of haloperidol ($F(1,28)=25$).

Haloperidol caused a marked increase on VCM. However, the effect of haloperidol varied depending on the dietary treatment. In fact, rats on HF diet treated with haloperidol displayed an increase in VCM from the 3rd to the 5th month of treatment, when compared to animals from NF diet. This was evidenced by a significant third order interaction (diet × haloperidol × months) with $F(6,138)=6.33$ and $p<0.001$.

Haloperidol caused a marked increase on FT. However, the effect of haloperidol varied depending on the dietary treatment. In fact, rats on HF diet treated with haloperidol displayed an increase in FT from the 4th to the 6th month of treatment, when compared to animals from NF diet. This was evidenced by a significant interaction between haloperidol × months with $F(1,26)=74.56$ and $p<0.001$ (Fig. 3).

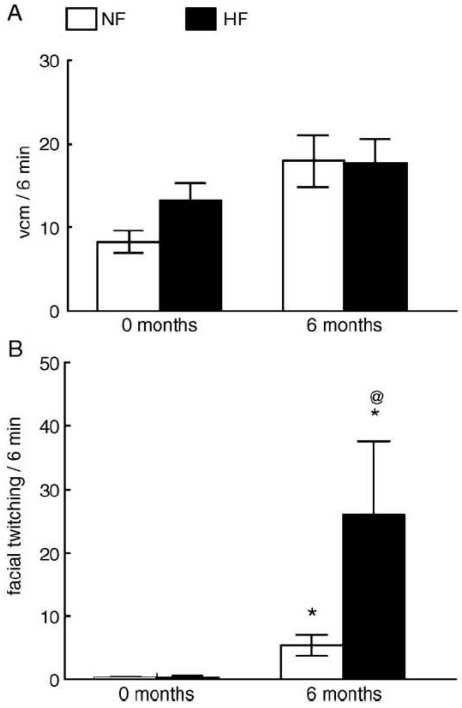

Fig. 2. Effects of the diet on orofacial dyskinesia. Vacuous chewing movements (A) and facial twitching (B) frequency in 6 min in the beginning of treatment (0 months) and after 6 months of treatment with the NF and HF diet. The values are indicated as mean ± S.E.M. @Indicates a significant difference between the groups ($p<0.05$) and *indicates a significant difference into the same diet in relation to the beginning of treatment by ANOVA.

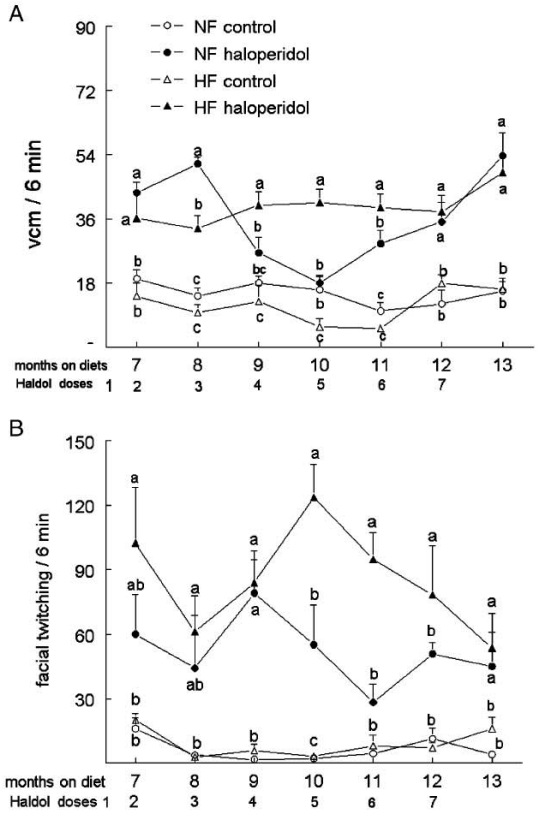

Fig. 3. Effects of haloperidol (1 mg/kg/day) or vehicle (vegetable oil) long-term administration on vacuous chewing movements (A) and facial twitching (B) frequency concomitant of treatment with NF and HF diet. Values are express as means. Symbols indicates a significant difference between means of groups ($p<0.05$) in the same behavioral session. Two-way ANOVA following by Duncan's tests.

Two-way ANOVA of cortical TBARS levels revealed a significant main effect of diet ($F(1,26)=7.73$ and $p<0.01$), indicating that HF increased oxidative stress in this region. In fact, the levels of TBARS in HF group (575.8 ± 40.2) was significantly higher than that of NF group (442.3 ± 13.2). However, post hoc comparisons by Duncan's multiple range test indicated a significant difference only between rats treated with haloperidol. Two-way ANOVA of striatal TBARS levels revealed a significant interaction of diet and haloperidol ($F(1,26)=6.6$ and $p<0.05$), indicating that HF associated with haloperidol administration increased oxidative stress in this region (Fig. 4).

Post hoc comparisons by Duncan's multiple range test indicated a significant difference in the group HF treated haloperidol than others groups. Two-way ANOVA of subcortical TBARS levels revealed a significant interaction of diet and haloperidol ($F(1,26)=8.94$ and $p<0.01$), indicating that HF ingestion associated with haloperidol administration increased oxidative stress in this region of the brain. Two-way ANOVA of TBARS levels of the

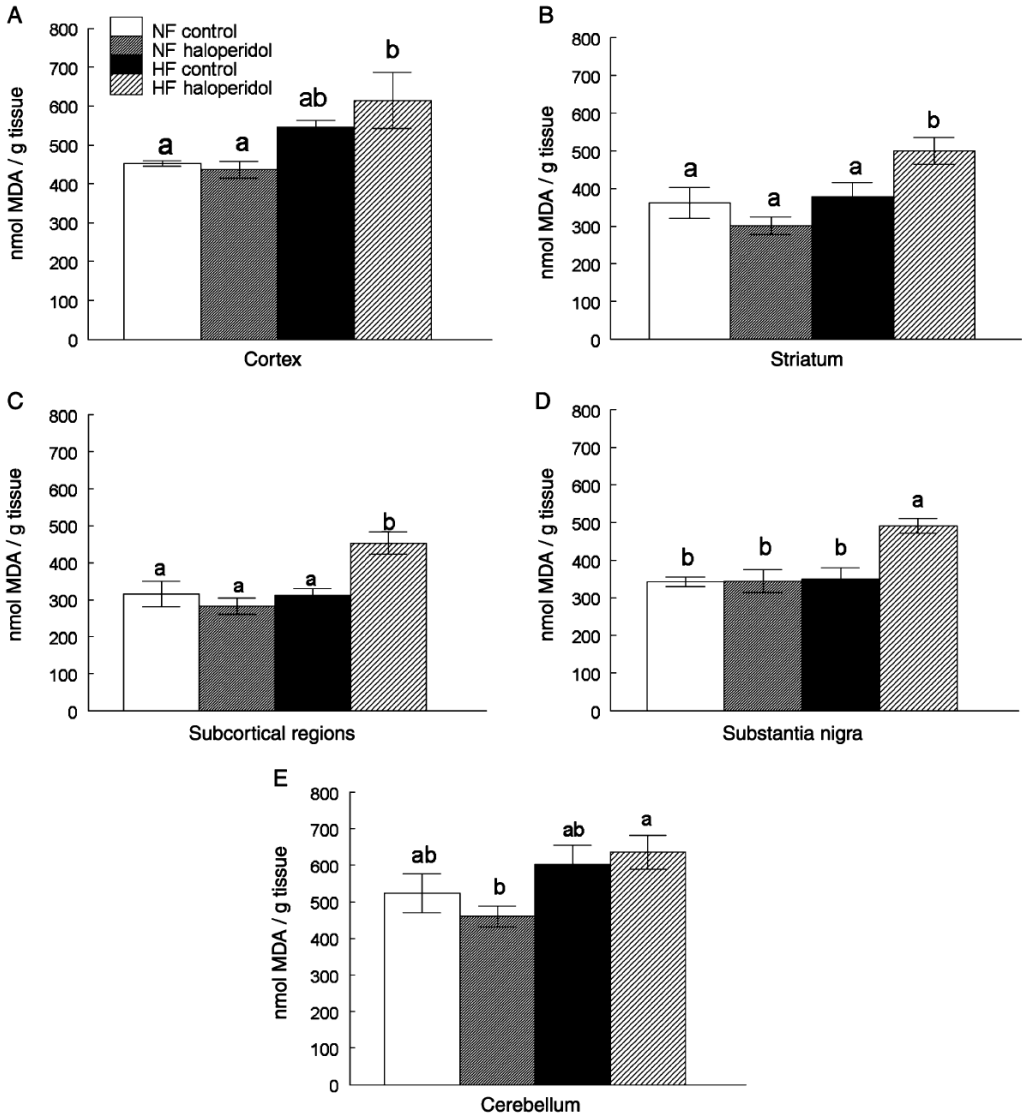

Fig. 4. Thiobarbituric acid-reactive species (TBARS) concentrations in cerebral cortex (A), striatum (B), subcortical parts (C), region of substantia nigra (D) and cerebellum (E) in rats after 13 months in a NF or HF diet and after treatment with haloperidol for 7 months. Values are means±S.E.M. Symbols represent significant differences between the groups ($p<0.05$). Two-way ANOVA followed by Duncan's multiple range tests.

region containing the substantia nigra revealed a significant interaction of diet and haloperidol ($F(1,26)=9.72$ and $p<0.01$), indicating that HF increased oxidative stress in this region. Two-way ANOVA of TBARS levels of cerebellum revealed a significant main effect of diet ($F(1,26)=3.27$ and $p<0.01$), indicating that HF increased oxidative stress in this region of brain. In fact, TBARS levels in cerebellum of rats fed the HF (608.4±33.6) were significantly higher than that detected in cerebellum of rats raised on NF (493.3±31.7). However, post hoc comparisons by Duncan's multiple range test indicated a significant difference only between rats treated with haloperidol.

4. Discussion

The results of the present study indicate that the high fat diet caused an increase in the incidence of OD in rats. However, this effect was transitory and disappeared one month latter. Additionally, we observed that a concomitant ingestion of the high fat diet with haloperidol administration

resulted in an increase in OD in rats. This effect was also transitory and disappeared when the treatment with haloperidol continued. For the case of VCM, the disappearance resulted from an increase in the OD of rats maintained in the normal diet. For the case of facial twitching, the disappearance was a consequence of a more complex change in OD in both groups. One factor that could contribute to modify the level of FT is the reduction in food intake after prolonged haloperidol administration. In fact, the haloperidol effects are complicated by the fact that the treatments caused a relative loss in body weight which was most exaggerated in the haloperidol plus high fat diet group. The uncontrolled effect of bodyweight loss could in part explain some of the variations listed above. This hypothesis, although tentative, is in accordance with expanding literature data indicating that food restriction reduces the production of oxidative stress in mammals (Armeni et al., 2003) and can also release neurotrophic factors (Mattson, 2000). These results indicate that the two behavioral measures did not necessarily reflect the same pathophysiological effect of neuroleptics and indicate that they can be independently modulated by exogenous factors, including aging and food ingestion. In line with this, in a previous study we observed that ebselen (Burger et al., 2003), an antioxidant agent, affected in different ways these behavioral measures in rats exposed to reserpine.

Literature data indicates that exposure to haloperidol causes an increase in cerebral oxidative stress (Andreasen and Jorgensen, 2000; Casey, 1995; Lohr, 1991; Clow et al., 1980; Slivka and Cohen, 1985; Tse et al., 1976; Abílio et al., 2002, 2003) that may be causally linked to an increase in orofacial dyskinesia after neuroleptic treatment. The results of the present investigation indicated that long-term consumption of the high fat diet caused an increase in oxidative stress in cerebral cortex and cerebellum, as indicated by a significant effect of diet regardless of the haloperidol treatment. Of particular importance for OD, haloperidol caused an increase in TBARS production in the high fat diet group specifically in the regions of the brain that are thought to be involved in the genesis of tardive dyskinesia (Lohr et al., 2003; Tsai and Ikonomidou, 1995), i.e., striatum and the region containing the substantia nigra. However, the increase in TBARS production in these regions cannot exclusively account for the increase in the OD, because there were no significant differences in the OD parameters between the two dietary groups treated with haloperidol in the end of the observation period.

Taken together the results of the present investigation indicate that high fat diets ingestion for a long period can have some transitory behavioral effects on rats. Furthermore, here we demonstrated for the first time that simultaneous ingestion of high fat diet and chronic haloperidol administration caused transitory exacerbation of orofacial dyskinesia in rats, however the animal model cannot to reflect the same effects in humans. Although literature data indicate that neuroleptic-induced orofacial dyskinesia is associated with oxidative stress, here we are unable to establish such correlation, because haloperidol increased the brain oxidative stress only in rats maintained on a high fat diet and the incidence of OD was similar between the high fat and normal fat diets groups. One explanation to these finds may reside on an anticipation of oxidative stress in high fat diet fed rats treated with haloperidol that is previous to development of OD in rats. This is agreement with Andreassen et al. (1998) and Calvent et al. (2002) where the nitropropionic acid administration can potentiate the orofacial dyskinesia of rats. The disappearance of differences between NF and HF diet groups may be a consequence of a complex interaction with other factors that affect OD in rodents, particularly the age of the animals (Kane and Smith, 1982; Woerner et al., 1991; Yassa and Jeste, 1992) or others compensatory mechanisms such as neurotransmission plasticity that could follow the neuronal consequences of oxidative stress and could also be influenced by aging.

5. Conclusion

In conclusion, the results of the present investigation demonstrated that high fat diet ingestion can enhance the OD produced by a typical neuroleptic used for the treatment of schizophrenia. It is known that schizophrenic patients eat more fat than the general population (Brown et al., 1999); however, there are no data in the literature indicating that the incidence of TD is more frequent in those schizophrenic patients eating diets with high content of fat.

Although it is still premature to extrapolate the relevance of our findings to man, we realize that epidemiological studies should be carried out to determine a possible increase in the incidence of TD in patients fed with more fatty diets. However, we must emphasize that the animal model used here did not replicate the situation found in humans. In fact, the chronic use of haloperidol and others neuroleptics are frequently associated with obesity in schizophrenic patients and in our rat model haloperidol cause loss of weight.

In spite of this, haloperidol-treated rats showed OD, indicating that in rats obesity is not a mandatory factor for the development of OD.

Acknowledgments

The financial support by FAPERGS, CAPES, CNPq and Cristália-SP (who donated the haloperidol decanoate) is gratefully acknowledged.

References

Abílio VC, Vera JAR, Ferreira LSM, Duarte CRM, Carvalho RC, Grassl CC, et al. Effects of melatonin on orofacial movements in rats. Psychopharmacology 2002;161:340–7.

Abílio VC, Araújo CC, Bergamo M, Calvente PR, D'Almeida V, Ribeiro R, et al. Vitamin E attenuates reserpine-induced oral dyskinesia and striatal oxidized glutathione/reduced glutathione ratio (GSSG/GSH) enhancement in rats. Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry 2003;2: 7109–14.

Abílio VC, Silva RH, Carvalho RC, Grassl C, Calzavara MB, Registro S, et al. Important role of striatal catalase in aging- and reserpine-induced oral dyskinesia. Neuropharmacology 2004;47:263–72.

Adler LA, Peselow E, Rotrosen J, Duncam E, Lee M, Rosenthal BA, et al. Vitamine E treatment of tardive dyskinesia. Am J Psychiatry 1993;150: 1405–7.

Andreasen OA, Jorgensen HA. Neurotoxicity associated with neuroleptic-induced oral dyskinesias in rats Implications for tardive dyskinesia? Prog Neurobiol 2000;61:525–41.

Andreassen OA, Ferrante RJ, Beal MF, Jorgensen HA. Oral dyskinesias and striatal lesions in rats after long-term co-treatment with haloperidol and 3-nitropropionic acid. Neuroscience 1998;87:639–48.

Andreassen OA, Ferrante RJ, Aamo TO, Beal MF, Jorgensen HA. Oral dyskinesias and histopathological alterations in substantia nigra after long-term haloperidol treatment of old rats. Neuroscience 2003;122: 717–25.

Andriguetto JM. Normas e padrões de nutrição e alimentação. Curitiba, Brazil: Nutrição editora e publicitária LTDA; 1986. p. 1–3.

Armeni T, Principato G, Quiles JL, Pieri C, Bompadre S, Battino M. Mitochondrial dysfunctions during aging: vitamin E deficiency or caloric restriction—two different ways of modulating stress. J Bioenerg Biomembranes 2003;35:181–91.

Brown K, Reid A, White T, Hukin S, Jonhstone C, Glen A. Vitamin E, lipids, and lipid peroxidation products in tardive dyskinesia. Biol Psychiatry 1998;43:863–7.

Brown S, Birtwistle J, Roe L, Thompson C. The unhealthy lifestyle of people with schizophrenia. Psychol Med 1999;29:697–700.

Burger ME, Alves A, Callegari L, Athayde FR, Nogueira CW, Zeni G, et al. Ebselen attenuates reserpine-induced orofacial dyskinesia and oxidative stress in rat striatum. Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry 2003;27:135–40.

Burger ME, Fachinetto R, Calegari L, Paixão MW, Braga AL, Rocha JBT. Effects on age on orofacial dyskinesia reserpine-induced and possible protection of diphenyl–diselenide. Brain Res Bull 2004;64:339–45.

Burger ME, Fachinetto R, Alves A, Calegari L, Rocha JBT. Acute reserpine and subchronic haloperidol treatments change synaptosomal brain glutamate uptake and elicit orofacial dyskinesia in rats. Brain Res 2005;1031:202–10.

Cadet JL, Lohr JB, Jeste DV. Free radical and tardive dyskinesia. Trends Neurosci 1986;9:107–8.

Cadet JL, Lohr JB, Jeste DV. Tardive dyskinesia and schizophrenic burnout: the possible involvement of cytotoxic free radicals. In: Henn FA, DeLisi LE, editors. Handbook of schizophrenia: the neurochemistry and pharmacology of schizophrenia. Amsterdam: Elsevier; 1987. p. 425–38.

Calvent PRV, Araujo CCS, Bergamo M, Abilio VC, Almeida VD, Ribeiro RDA, et al. The mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid aggravates reserpine-induced oral dyskinesia in rats. Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry 2002;26:401–5.

Casey DE. Tardive dyskinesia: reversible and irreversible. Psychopharmacology 1985;2:88–97.

Casey DE. Tardive dyskinesia—pathophysiology. In: Bloom FE, Kupfer DJ, editors. Psychopharmacology: the fourth generation of progress. New York: Raven Press, Ltd.; 1995. p. 1497–502.

Castilho RF, Ward W, Nicholls DG. Oxidative stress, mitochondrial function, and acute glutamate excitotoxicity in cultured cerebellar granule cells. J Neurochem 1999;72:1394–401.

Choi J, Jang E, Park C, Kang J. Enhanced susceptibility to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity in high-fat diet-induced obesity. Free Radic Biol Med 2005;38:806–16.

Clow A, Theodorou A, Jenner P, Marsden CD. Cerebral dopamine function in rats following withdrawal from one year of continuous neuroleptic administration. Eur J Pharmacol 1980;63:135–44.

Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. Science 1993;262:689–95.

Crane GE. Persistent dyskinesia. Br J Psychiatry 1973;122:395–405.

Creese I, Burt D, Snyder SH. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. Science 1976;192:481–3.

Ebadi M, Srinivasan SK. Pathogenesis, prevention and treatment of neuroleptic-induced movement disorders. Pharmacol Rev 1995;47:575–604.

Egan MF, Hyde TM, Albers GW, Elkashef A, Alexander RC, Reeve A, et al. Treatment of tardive dyskinesia with vitamin E. Am J Psychiatry 1992;149:773–7.

Egan MF, Hurd Y, Ferguson J, Bachus SE, Hamid EH, Hyde TM. Pharmacological and neurochemical differences between acute and tardive vacuous chewing movements induced by haloperidol. Psychopharmacology 1999;127:337–45.

Folmer V, Soares JCM, Gabriel D, Rocha JBT. High-fat diet causes δ-aminolevulinate dehydratase inhibition and lipid peroxidation in mice (*Mus musculus*). J Nutr 2003;133:2165–70.

Gardos G, Cole JO. Neuroleptics and tardive dyskinesia in non schizophrenic patients. In: Casey DE, Cole G, editors. Tardive dyskinesia and neuroleptics: from dogma to reason. Washington, DC: American Psychiatric Press; 1986. p. 56–74.

Hagg S, Soderberg S, Ahren B, Olsson T, Mjomdal T. Leptin concentrations are increased in subjects treated with clozapine or conventional antipsychotics. J Clin Psychiatry 2001;62:843–8.

Hamid EH, Hyde TM, Baca SM, Egan MF. Failure to down regulate NMDA receptors in the striatum and nucleus accumbens associated with neuroleptic-induced dyskinesia. Brain Res 1998;796:291–5.

Haupt DW, Luber A, Maeda J, Melson AK, Schweiger JA, Newcomer JW. Plasma leptin and adiposity during antipsychotic treatment of schizophrenia. Neuropsychopharmacology 2005;30:184–91.

Henderson DC. Diabetes mellitus and other metabolic disturbances induced by atypical antipsychotic agents. Curr Diab Rep 2002;2:135–40.

Hunt JV, Dean RT, Wolff SP. Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation, glucose oxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and aging. Biochem J 1988;256:205–12.

Jeste DV, Potkin SG, Sinhá S, Feder S, Wyatt RJ. Tardive dyskinesia—reversible and persistent. Arch Gen Psychiatry 1979;36:585–90.

Kane JM, Smith JM. Tardive dyskinesia: prevalence and risk factors, 1959 to 1979. Arch Gen Psychiatry 1982;39:473–81.

Kraus T, Haack M, Schuld A, Hinze-Selch D, Kühn M, Uhr M, et al. Body weight and leptin plasma levels during treatment with antipsychotic drugs. Am J Psychiatry 1999;156:312–4.

Lohr JB. Oxygen free radicals and neuropsychiatric illness. Arch Gen Psychiatry 1991;48:1097–106.

Lohr JB, Kuczenski R, Bracha HS, Moir M, Jeste DV. Increased indices of free radical activity in the cerebrospinal fluid of patients with tardive dyskinesia. Biol Psychiatry 1990;28:535–9.

Lohr JB, Kuczenski R, Niculescu AB. Oxidative mechanisms and tardive dyskinesia. CNS Drugs 2003;17:47–62.

Mahadik PS, Evans D, Lal H. Oxidative stress and role of antioxidant and ω-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. Prog Neurol Psychiatry 2001;25:463–93.

Mattson MP. Neuroprotective signaling and the aging brain: take away my food and let me run. Brain Res 2000;886:47–53.

Melkersson KI, Hulting AL, Brismar KE. Elevated levels of insulin, leptin, and blood lipids in olanzapine-treated patients with schizophrenia or related psychoses. J Clin Psychiatry 2000;61:742–9.

Morimoto T, Yamamoto Y, Mobarakeh JI, Yanai K, Watanabe T, Yamatadoni A. Involvement of the histaminergic system in leptin-induced suppression of food intake. Physiol Behav 1999;67:679–83.

Mukherjee S, Decina P, Bocola V, Saraceni F, Scapicchio PL. Diabetes mellitus in schizophrenic patients. Compr Psychiatry 1996;37:68–73.

Naidu PS, Singh A, Kaur P, Sandhir R, Kulkarni SK. Possible mechanism of action in melatonin attenuation of haloperidol-induced orofacial dyskinesia. Pharmacol Biochem Behav 2003;74:641–8.

Naidu PS, Singh A, Kaur P, Kulkarni SK. Quercetin, a bioflavonoid, attenuates haloperidol-induced orofacial dyskinesia. Neuropharmacology 2003;44:1100–6.

Ohkawa H, Ohishi H, Yagi K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979;95:351–8.

Polydoro M, Schröder N, Lima MNM, Caldana F, Laranja D, Bromberg E, et al. Haloperidol- and clozapine-induced oxidative stress in the rat brain. Pharmacol Biochem Behav 2004;78:751–6.

Rossato JI, Ketzer LA, Centurião FB, Silva SJN, Lüdtke DS, Zeni G, et al. Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain. Neurochem Res 2002;27:297–303.

See RE, Lynch AM. Duration dependent increase in striatal glutamate following prolonged fluphenazine administration in rats. Eur J Pharmacol 1996;308:279–82.

Simpson MM, Goetz RR, Devlin MJ, Goetz SA, Walsh BT. Weight gain and antipsychotic medication: differences between antipsychotic-free and treatment periods. J Clin Psychiatry 2001;62:694–700.

Singh A, Naidu PS, Kulkarni SK. Possible antioxidant and neuroprotective mechanisms of FK-506 in attenuating haloperidol-induced orofacial dyskinesia. Eur J Pharmacol 2003;477:87–94.

Slivka A, Cohen G. Hydroxyl radical attack on dopamine. J Biol Chem 1985;260:15466–72.

Storlien LH, James DE, Burleigh KM, Crisholm DJ, Kraegen EW. Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decrease energy expenditure, and obesity in rats. Am J Physiol 1986;251:E576–83.

Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, Brown MA, Wang HQ, Huang XF, et al. Diet composition and insulin action in animal models. Br J Nutr 2000;83:S85–90.

Tsai L, Ikonomidou C. Toward an understanding of tardive dyskinesia: chronic haloperidol enhances NMDA toxicity in mouse striatum. Soc Neurosci Abstr 1995;1721:1744.

Tsai G, Goff DC, Change RW, Flood J, Bair L, Coyle JT. Markers of glutamatergic neurotransmission and oxidative stress associated with tardive dyskinesia. Am J Psychiatry 1998;155:1207–13.

Tse DCE, McCreery RL, Adams RN. Potential oxidative pathways of brain catecholamines. J Med Chem 1976;19:37–40.

Vilner BJ, Costa BR, Bowen WD. Cytotoxic effects of sigma ligands: sigma receptor-mediated alterations in cellular morphology and viability. J Neurosci 1995;15:117–34.

Walker JM, Bower WD, Walker FO, Matsumoto RR, De Costa B, Rice CK. Sigma receptors: biology and function. Pharmacol Rev 1990;42:355–402.

Warwick ZS, Schiffman SS. Role of dietary fat in calorie intake and weight gain. Neurosci Biobehav Rev 1992;16:585–96.

Woerner MG, Kane JM, Lieberman JA, Alvir J, Bergmann KJ, Borenstein M, et al. The prevalence of tardive dyskinesia. J Clin Psychopharmacol 1991;11:34–42.

Wolff SP, Dean RT. Glucose autoxidation and protein modification—the potential role autoxidative glycosylation in diabetes. Biochem J 1987;245:243–50.

Yassa R, Jeste DV. Gender differences in tardive dyskinesia: a critical review of the literature. Schizophr Bull 1992;18:701–15.

CONCLUSÕES PARCIAIS 1

A partir do primeiro trabalho podemos concluir que:

- A ingestão de dieta HL pode exacerbar parâmetros comportamentais de DO em ratos.

- A DO induzida pelo haloperidol parece não depender de estresse oxidativo, pelo menos no período observado.

3.2 – AUSÊNCIA DE EFEITO DA *V. officinalis* SOBRE DISCINESIA OROFACIAL INDUZIDA POR HALOPERIDOL EM RATOS

Artigo 2

Valeriana officinalis FAILS TO ALTER THE OROFACIAL DYSKINESIA INDUCED BY HALOPERIDOL IN RATS

FACHINETTO, R., WAGNER, C., VILLARINHO, J.G., PEREIRA, R.P., ÁVILA, D.S., BURGER, M.E., CALIXTO, J.B., ROCHA, J.B.T., FERREIRA, J.

(Submetido à Behavioral Brain Research)

Valeriana officinalis FAILS TO ALTER THE OROFACIAL DYSKINESIA INDUCED BY HALOPERIDOL IN RATS

[a]Roselei Fachinetto; [a]Caroline Wagner; [a]Jardel G. Villarinho; [a]Romaiana P. Pereira; [a]Daiana Silva de Ávila; [c]Marilise E. Burger; [b]João Batista Calixto; [a]João B.T. Rocha; [a]Juliano Ferreira.

[a]*Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil.*

[b]*Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil.*

[c]*Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.*

Corresponding author:

Dr. Juliano Ferreira

Centro de Ciências Naturais e Exatas

Programa de Pós-Graduação em

Bioquímica Toxicológica

97105-900, Santa Maria, RS, Brazil

Tel: x21-55-220-8053

Fax: x21-55-220-8978

e-mail: ferreiraj99@bol.com.br

ABSTRACT

Chronic treatment with neuroleptics can produce a serious side effect, known as tardive dyskinesia, in humans. Here, we examined the effects of *V. officinalis*, a medicinal herb widely used as calming and sleep promoting, in an animal model of orofacial dyskinesia (OD) induced by long-term treatment with haloperidol. Adult male rats were treated during 12 weeks with haloperidol (38 mg/kg, i.m., each 28 days) and with *V. officinalis* (in the drink water). Vacuous chewing movements (VCMs), locomotor activity and plus maze performance were evaluated. The haloperidol treatment produced OD in 40% of the treated rats and the concomitant treatment with *V. officinalis* did not alter either prevalence or intensity of OD. The treatment with *V. officinalis* increased the percentage of the time spent on open arm and the number of entries into open arm in the plus maze test. The treatment with haloperidol and/or *V. officinalis* decreased the locomotor activity in the open field test. We did not find any difference among the groups when oxidative stress parameters were evaluated. Haloperidol treatment significantly decreased [^{3}H]-dopamine uptake in striatal slices and *V. officinalis* was not able to prevent this effect. Taken together, our data suggest a mechanism involving the reduction of dopamine transport in the maintenance of chronic OD in rats. Furthermore, chronic treatment with *V. officinalis* seems not produce any oxidative damage to CNS, but it also seems to be devoid of action to prevent or treat OD.

Key words: tardive dyskinesia, orofacial dyskinesia, dopamine uptake, haloperidol, *V. officinalis*, oxidative stress, medicinal plant.

INTRODUCTION

Neuroleptic drugs are used in the treatment of severe psychiatric disorders, especially schizophrenia. Haloperidol is a neuroleptic classified as classical or typical that is widely used in the treatment of schizophrenic patients. Its pharmacological action consists in to block dopamine D_2 receptors (Creese et al, 1976). However, it develops, as side effect, tardive dyskinesia (TD) in a considerable proportion of the patients under treatment (Kane and Smith, 1982). The mean of prevalence of TD is 20–25% in subjects receiving classical neuroleptic treatment, and the rate increases significantly with age (Kane and Smith, 1982; Woerner et al., 1991; Yassa and Jeste, 1992).

TD is characterized by involuntary and abnormal movements of the orofacial region, and sometimes, trunk and members musculature that can appear during treatment with neuroleptic drugs or after its withdrawal (Kane, 1995). The main clinical problem is that TD is irreversible in the majority of the cases (Crane, 1973; Jeste et al, 1979; Casey, 1985). Besides some hypotheses have been postulated to explain this syndrome, the mechanisms responsible to TD development remain unclear. Some authors point to an involvement of dopaminergic system, since the early onset of schizophrenia involves dopaminergic pathways (Klawans and Rubovits, 1972; Burt et al, 1977; Rubinstein et al, 1990; Andreassen and Jorgensen, 2000). Another hypothesis suggests that free radicals may play an important role in TD development (Cadet et al., 1986, 1987; Lohr et al., 1990; 2003). In fact, there are many studies demonstrating the participation of oxidative stress in orofacial dyskinesia (OD) in rats (Abílio et al, 2004; Andreassen et al,

2003; Naidu et al, 2003; Burger et al, 2005a,b; Faria et al, 2005) that seems to be linked to dopamine metabolism (Casey, 1985; Lohr et al, 1991; Lohr et al, 2003).

Another important hypothesis involving the gabaergic neurotransmission has been proposed (Fibiger and Lloyd, 1984). Gunne et al, 1984 reported a decrease in the glutamate decarboxylase (GAD) activity and in the levels of γ-aminobutiric acid (GABA) in substantia nigra, medial globus pallidus and subthalamic nucleus of monkeys with dyskinetic symptoms induced by neuroleptics. Furthermore, recent data from literature have demonstrated that GABA-mimetic drugs can provide a protective role on OD induced by reserpine and haloperidol in rats (Kaneda et al, 1992; Gao et al, 1994; Raghavendra et al, 2001; Araujo et al, 2005). Importantly, in humans the concomitant treatment of neuroleptics with GABA-mimetic drugs can attenuate the extrapyramidal movements in some cases (Tamminga et al, 1979; 1983; Morselli et al, 1985; reviewed in Tamminga et al, 1989; Soares et al, 2004).

Valerian root (*Valeriana officinalis L*., Valerianaceae) has been used for centuries as a calming and sleep promoting herb (McCabe, 2002; Lustberg and Reynolds, 2000; Morazzoni and Bombardell, 1995) and is among the most widely used medicinal herbs (Fugh-Berman and Cott, 1999). Its mechanism of action seems to include agonist effects at $GABA_A$ receptor (Ortiz et al, 1999) and potentiation of GABAergic transmission via both GABA release and inhibition of GABA reuptake (Santos et al, 1994; Ortiz et al, 1999; Mennini et al, 1993). Thus, the aim of the present study was to investigate the possible action of the *V. officinalis*, a medicinal plant used to treat insomnia, on a chronic model of OD induced by long-term treatment with haloperidol.