



# TRATAMENTO CRÔNICO COM METILFENIDATO PROMOVE DIFERENTES ESTADOS OXIDATIVOS EM ESTRUTURAS ENCEFÁLICAS DE RATOS JOVENS

Felipe Schmitz e Angela T. S. Wyse (orientadora)

Laboratório de Neuroproteção e Doenças Metabólicas, Departamento de Bioquímica, ICBS/UFRGS, RS - Brasil.

## INTRODUÇÃO

Metilfenidato (MFD, Ritalina®), é um psicoestimulante amplamente usado para o tratamento do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (Swanson & Volkow, 2002). TDAH é um transtorno neurocomportamental complexo que afeta crianças em idade escolar e frequentemente persiste até a idade adulta (Chase et al., 2007). Apesar do MFD ser seguro e eficiente no tratamento dos sintomas do TDAH, uma preocupação crescente deve-se ao aumento da frequência de prescrição, especialmente entre pré-escolares (Zito, et al., 2000). Além disso, tem sido mostrado que o MFD pode promover alterações neuroquímicas e comportamentais.

Espécies reativas são substâncias químicas produzidas normalmente em processos de oxidação biológica e podem desempenhar papel benéfico e deletério. Benéfico quando atuam na ativação de células imunes para combater microrganismos invasores e na regulação da função de algumas proteínas. Deletério, uma vez que um desequilíbrio entre a geração de espécies reativas e a capacidade antioxidante do organismo pode promover danos a biomoléculas, tais como lipídios, proteínas e DNA (Valko et al. 2006). Sob condições fisiológicas as espécies reativas são mantidos em equilíbrio, devido, em grande parte, a capacidade de neutralização do sistema de defesa antioxidante enzimático, que inclui a enzima superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx). No entanto, se a produção de espécies reativas exceder a capacidade de eliminação por uma redução das defesas e/ou aumento na produção de espécies reativas, ocorre um desequilíbrio denominado estresse oxidativo. As consequências do estresse oxidativo incluem: adaptação (se não for muito severo), lesão celular (que envolve danos a biomoléculas do organismo), ou morte celular por necrose ou apoptose, em estresse oxidativo grave (Halliwell e Gutteridge 2007).

Uma vez que há uma grande preocupação com o aumento nas taxas de prescrição de MFD nos últimos anos, especialmente em crianças, uma vez que o sistema nervoso central ainda não está completamente desenvolvido e a causa das alterações comportamentais e neuroquímicas relacionadas ao uso prolongado de MFD ainda não são totalmente compreendidas. Nosso objetivo foi investigar o possível envolvimento dos radicais livres sobre essas alterações por meio da determinação de alguns parâmetros de estresse oxidativo, a saber (DCF formado e níveis de nitrito), defesas antioxidantes (SOD, CAT, GPx) e dano a lipídios (TBARS) e proteínas (TNB) em cerebelo, estriado, hipocampo e córtex pré-frontal de ratos jovens submetidos ao tratamento crônico com MFD.

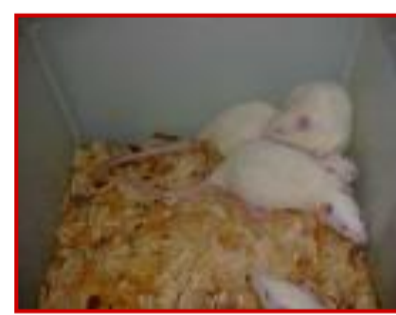
## MATERIAL E MÉTODOS

### Tratamento crônico

Ratos Wistar

**Controles**  
(NaCl 0,9%)

**MPH**  
(2 mg/Kg)



15<sup>o</sup> ao 45<sup>o</sup> dia de idade  
- uma vez ao dia - i.p.

2 h após a última injeção

Decapitação

Cerebelo, estriado, hipocampo e córtex pré-frontal foram dissecados

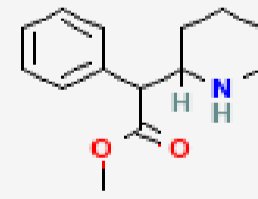


Figura A - Estrutura química do metilfenidato.

**DCFH-DA**  
(LeBel et al., 1990)

**NITRITO**  
(Ignarro et al., 1993)

**SOD**  
(Marklund, 1985)

**CAT**  
(Aebi, 1984)

**GPx**  
(Wendel, 1981)

**TBARS**  
(Ohkawa et al., 1979)

**TNB**  
(Aksenov e Markesbery, 2001)

□ **Determinação protéica:** (Lowry et al., 1951).

**Análise Estatística:** Os dados foram avaliados através do teste t de Student. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando  $p < 0,05$ .

Apoio financeiro:



## RESULTADOS

### DCF e Nitrito

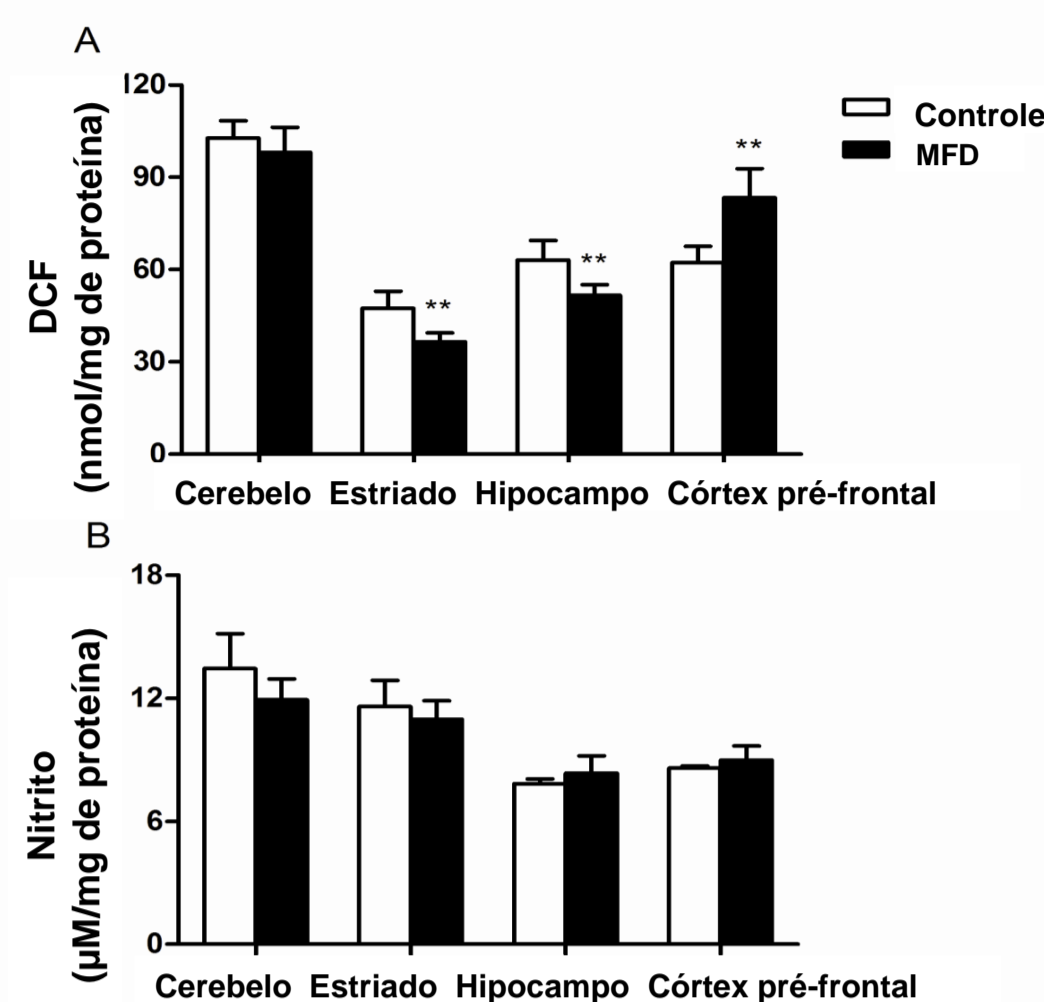


Figura 1. Efeito da administração crônica de metilfenidato sobre os níveis de radicais livres (DCF formado) (A) e nitrito (B) no cerebelo estriado, hipocampo e córtex pré-frontal de ratos jovens. Os resultados são expressos em média ± D.P. para 5 ou 6 animais em cada grupo. Diferente de controle, \*\* $p < 0,01$  (teste t de Student). MFD - metilfenidato.

### DEFESAS ANTIOXIDANTES

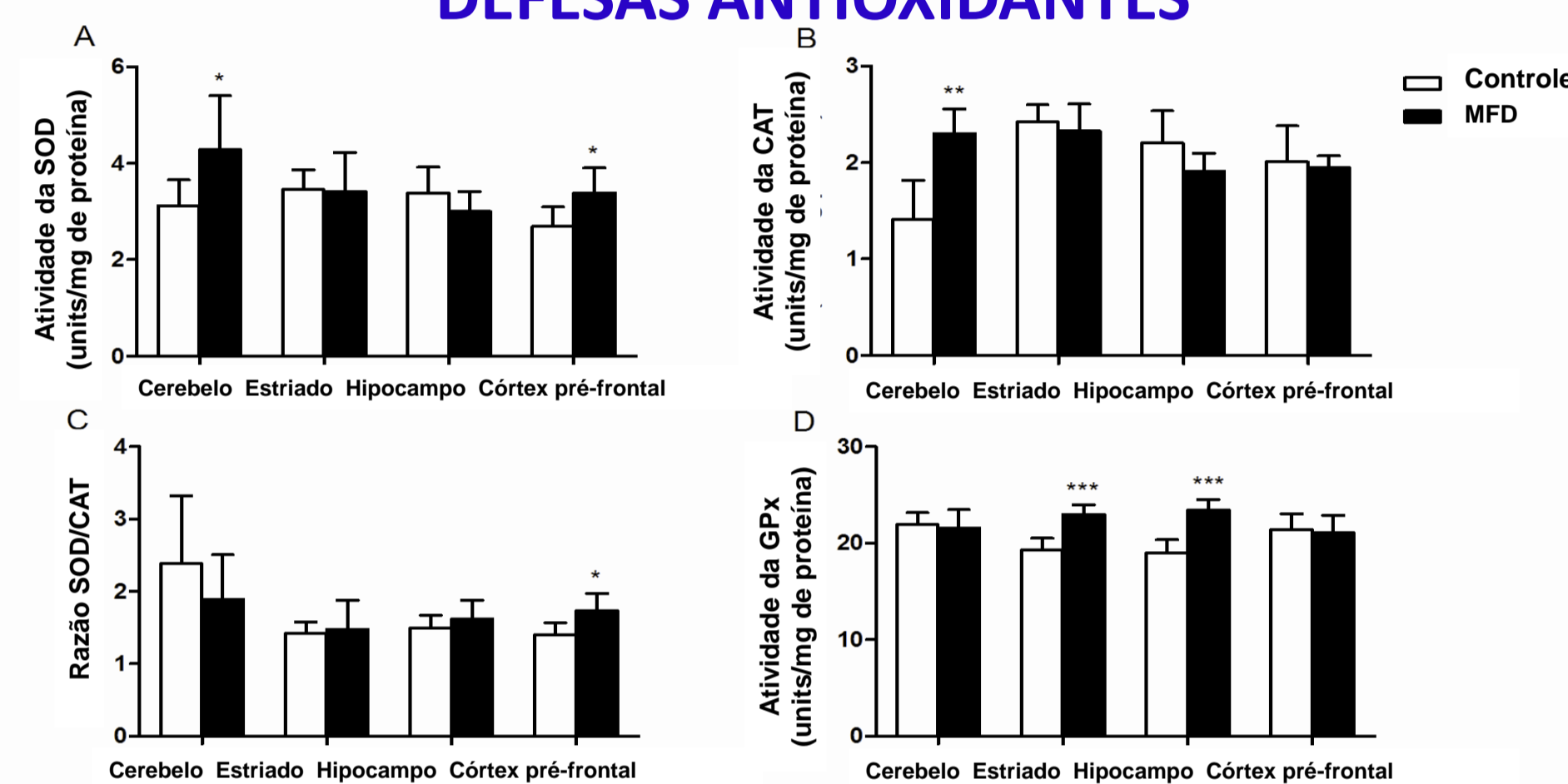


Figura 2. Efeito da administração crônica de metilfenidato sobre a atividade da superóxido dismutase (A), a atividade da catalase (B), razão SOD/CAT (C) e atividade da glutatona peroxidase (D) no cerebelo, estriado, hipocampo e córtex pré-frontal de ratos jovens. Os resultados são expressos em média ± D.P. para 6 ou 7 animais em cada grupo. Diferente de controle, \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*  $p < 0,05$  (teste t de Student). MFD - metilfenidato.

### TBARS e TNB

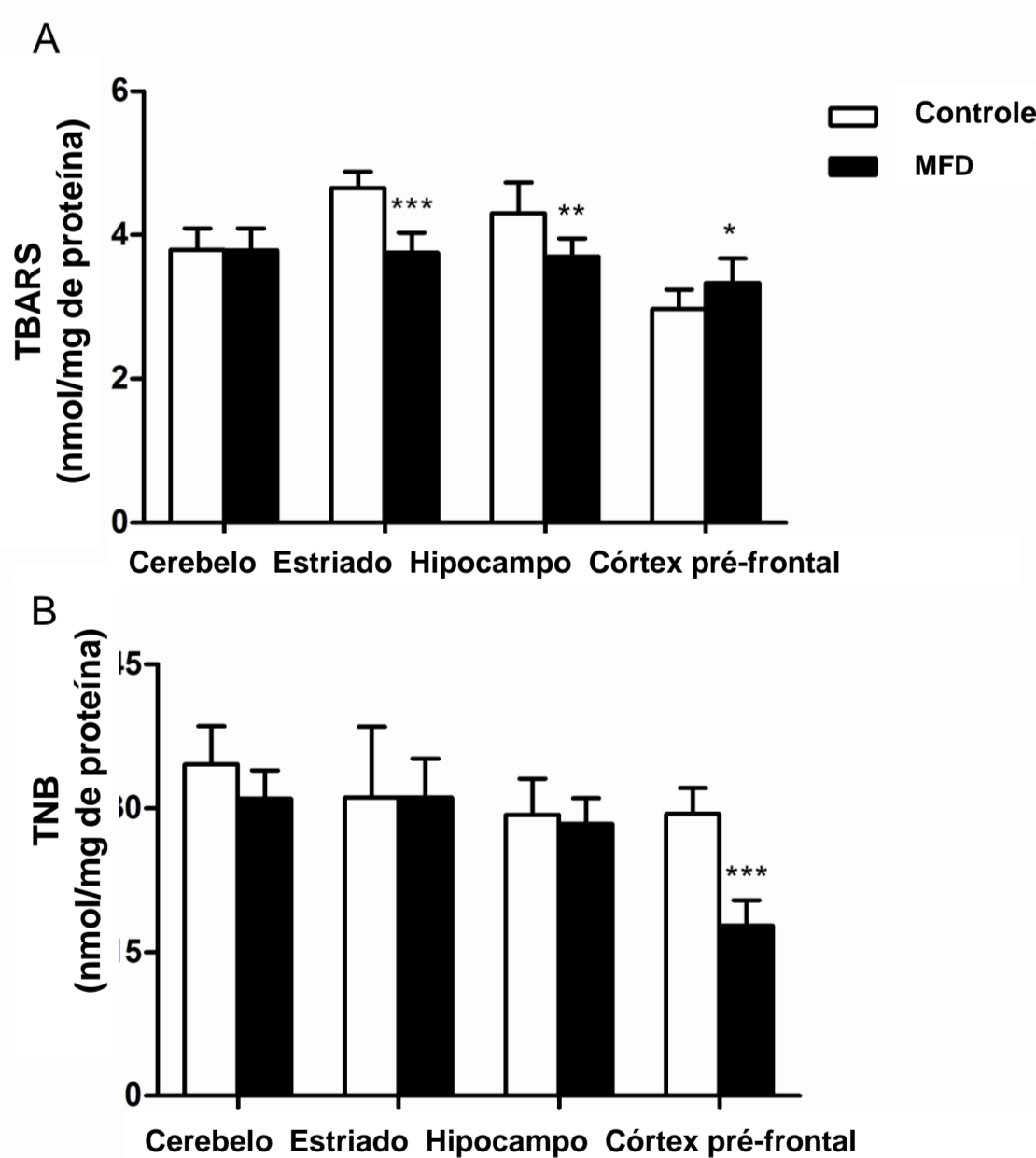


Figura 3. Efeito da administração crônica de metilfenidato sobre os níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (A) e TNB (B) no cerebelo, estriado, hipocampo e córtex pré-frontal de ratos jovens. Os resultados são expressos em média ± D.P. para 5-7 animais em cada grupo. Diferente de controle, \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*  $p < 0,05$  (teste t de Student). MFD - metilfenidato.

## CONCLUSÃO

**MFD**  
**Administração crônica**

Tomados em conjunto, nossos resultados, mostram que o MFD promove diferentes efeitos oxidativos de acordo com a região encefálica analisada. Nós sugerimos que o estriado e hipocampo apresentaram uma resposta antioxidante adaptativa aos efeitos oxidativos promovidos pelo MFD. Entretanto, no córtex pré-frontal o estresse oxidativo foi promovido pelo MFD, devido provavelmente à imaturidade dessa região cerebral, uma vez que sua completa mielinização ocorre mais tardiamente em relação às outras estruturas. Em suma, nossos achados sugerem que o estresse oxidativo pode estar envolvido, pelo menos em parte, com o desenvolvimento das alterações neuroquímicas e comportamentais relacionadas ao uso prolongado de MFD.