

# EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIOXIDANTE DE LA OLANZAPINA EN COMBINACIÓN CON N ACETILCISTEÍNA EN UN MODELO DE ESQUIZOFRENIA INDUCIDO POR MK-801 EN RATÓN

Lamas-Aguilar Reyna<sup>1</sup> | Pérez-Neri Iván<sup>1</sup>  | Ríos Camilo<sup>1,2</sup>  | Mata-Bermúdez Alfonso<sup>1</sup>  | Martínez Erick<sup>1</sup> Manning Norman<sup>2</sup> | Díaz-Ruiz Araceli<sup>1</sup>  

1. Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez. Ciudad de México, México.
2. Laboratorio de Neurofarmacología Molecular, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Ciudad de México, México.

## Correspondencia

Dr. Araceli Díaz-Ruiz. Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez. Av. Insurgentes Sur No. 3877, Ciudad de México 14269, México.

✉ [adiaz@innn.edu.mx](mailto:adiaz@innn.edu.mx)

## Resumen

**Introducción:** La esquizofrenia es una condición crónica que afecta a 1% de la población. Una de las principales teorías sobre su etiología señala que la hipofunción en los receptores de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA) induce la pérdida del equilibrio entre la producción de especies oxidantes generadas en el metabolismo celular y los sistemas de defensa antioxidante, lo que genera un estado de estrés oxidante. Se ha propuesto a la N-acetilcisteína (NAC) como un agente adyuvante para potencializar la eficacia de antipsicóticos atípicos como la olanzapina (OLZ), mejorando los procesos de oxidación propios de la enfermedad. **Métodos:** Se utilizaron 30 ratones divididos en cinco grupos experimentales, a los cuales se administró MK-801 (un antagonista de NMDA) como modelo de esquizofrenia. Se evaluó la participación del estrés oxidante al medir la peroxidación lipídica y la concentración de glutatión reducido a nivel de la corteza frontal. Resultados: La administración de MK-801 produjo aumento en la peroxidación lipídica y disminución en la concentración de glutatión reducido a nivel de la corteza frontal. Tanto los tratamientos de OLZ y NAC, administrados solos o en combinación, disminuyeron la peroxidación lipídica y aumentaron el glutatión reducido en la corteza frontal. **Discusión:** Estos datos sugieren que el tratamiento con OLZ y NAC, administradas solas o en combinación, regulan el daño oxidante propio de la enfermedad y podrían ser una opción para pacientes con psicosis crónica o con poca respuesta a los esquemas actuales de tratamiento. Sin embargo, se requieren más estudios para demostrar su eficacia y seguridad.

**Palabras clave:** modelo de esquizofrenia, MK-801, olanzapina, N-acetilcisteína, lipoperoxidación, glutatión reducido

## Antecedentes

La esquizofrenia es una condición crónica que afecta a 1 % de la población a nivel mundial, es decir, hasta 1 de cada 300 personas la padece.<sup>1</sup> Algunos reportes señalan que la tasa de incidencia de esta enfermedad se ha mantenido estable a lo largo del tiempo entre las distintas poblaciones, lo cual podría sugerir que afecta a los individuos de modo similar.<sup>2</sup> Sin embargo, durante la última década se ha observado que existe una variabilidad respecto a la incidencia y la prevalencia de esta condición.<sup>3</sup> En este sentido, se han identificado factores que pueden aumentar el riesgo de desarrollar esquizofrenia, como son la genética y los antecedentes de complicaciones perinatales que alteren el adecuado desarrollo neurológico durante el periodo gestacional.<sup>4</sup>

Debido a que la sintomatología inicia por lo general en la adultez temprana, la esquizofrenia representa una carga económica y social significativa.<sup>4</sup> Esta condición se considera uno de los trastornos psiquiátricos más graves, principalmente por las altas tasas de mortalidad de quienes la padecen; se estima que los pacientes con esquizofrenia tienen una esperanza de vida hasta 20 años menor que la población general.<sup>5,6,7</sup> Como síndrome clínico, la esquizofrenia se caracteriza por una amplia gama de signos y síntomas que se presentan de manera distinta en cada paciente. Se consideran síntomas positivos la presencia de alucinaciones, por lo general auditivas o visuales, e ideas delirantes, así como las alteraciones en el lenguaje y el comportamiento. Estos síntomas suelen ser los primeros en identificarse y el motivo por el cual se busca atención médica.<sup>4</sup>



Existen otros síntomas, conocidos como negativos, que se manifiestan como pérdida de la motivación, del interés y retraimiento social, y suelen asociarse con un mal funcionamiento y disminución de la calidad de vida del paciente. Por lo general, estos síntomas presentan mala respuesta a los esquemas actuales de tratamiento y contribuyen a que exista un incremento en el riesgo de padecer enfermedades crónico degenerativas, como enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus.<sup>5,6,7</sup> Finalmente, los síntomas cognitivos constituyen alteraciones en la atención, la memoria de trabajo y las funciones ejecutivas.<sup>4</sup>

Con respecto a la etiología de esta condición, se sugiere que existe una hipofunción en los receptores de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA), teoría sustentada principalmente por la evidencia en modelos animales, según los cuales, al administrar de manera aguda y crónica un antagonista de los receptores NMDA como el MK-801 (dizocilpina), se observan características conductuales que reproducen los signos de este padecimiento.<sup>8,9</sup> Dentro de la fisiopatología de la esquizofrenia se han localizado áreas cerebrales fuertemente involucradas, como la corteza prefrontal (PFCx), responsable de procesos cognitivos complejos por medio de la interconexión de áreas corticales sensoriales y motoras y de estructuras subcorticales.<sup>10,11,12</sup> La PFCx está formada principalmente por neuronas glutamatérgicas piramidales (75 a 80% del total de las células neuronales) e interneuronas gabaérgicas.<sup>7</sup> Por otro lado, se ha reportado que el estrés oxidante juega un papel significativo en la fisiopatología de distintas enfermedades psiquiátricas, como la esquizofrenia y el trastorno afectivo bipolar.<sup>13,14</sup> Este proceso origina alteraciones funcionales que pueden contribuir al desarrollo de una mayor propensión a las recaídas, una menor respuesta al tratamiento y un incremento en el decline funcional y cognitivo.<sup>15</sup> El estrés oxidante se observa cuando existe un desbalance entre la producción de radicales libres (RL) y la capacidad de las defensas antioxidantes para contrarrestarlos. El exceso de RL produce alteraciones en la estructura molecular de los componentes celulares, provocando daño en proteínas, lípidos y el DNA.<sup>16,17,18</sup> El daño por RL a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares se denomina lipoperoxidación (LP). Existen defensas y moléculas antioxidantes como el glutatión reducido (GSH) —un tripéptido no protéico compuesto por los aminoácidos glutamato, cisteína y glicina<sup>21,16,17</sup>— que contribuyen al balance redox de la célula.<sup>19,20</sup>

Los fármacos antipsicóticos constituyen el tratamiento central para la esquizofrenia; su mecanismo de acción antipsicótico se debe a la regulación de los receptores D2 de dopamina

a nivel estriatal.<sup>4,22,23</sup> Es importante destacar que, pese a la disponibilidad de diversos fármacos, se ha reportado que entre el 20 y 30 % de los pacientes presentan falta de respuesta al tratamiento,<sup>24,25</sup> por lo que el desarrollo de alternativas que resulten seguras y eficaces continúa siendo un reto.

La olanzapina (OLZ) es un fármaco antipsicótico atípico de segunda generación que posee un mejor perfil de tolerabilidad en comparación con antipsicóticos típicos como el haloperidol. La OLZ causa menos efectos extrapiramidales y menor efecto de sedación e hiperprolactinemia, no solo en dosis antipsicóticas moderadas sino también en dosis mayores. Además, se ha reportado una mejoría superior de los síntomas negativos con su uso en comparación con los antipsicóticos típicos.<sup>26,27</sup> En un inicio, este fármaco fue aprobado para el tratamiento de pacientes con esquizofrenia y, posteriormente, para pacientes con trastorno afectivo bipolar y depresión resistente al tratamiento.<sup>28</sup> Sin embargo, su uso como agente de primera línea se ve limitado en pacientes con alguna condición comórbida que aumente el riesgo metabólico, debido a que no solo se asocia de manera consistente con ganancia de peso, si no que implica un alto riesgo cardiovascular al incrementar de manera importante los niveles de triglicéridos en ayunas y la resistencia a la insulina, lo que lleva al aumento en los niveles de glucosa en la sangre.<sup>29,26</sup> De acuerdo con estudios realizados en modelos animales con MK-801, los antipsicóticos atípicos han mostrado ser superiores a los antipsicóticos típicos en la reversión del déficit cognitivo inducido por el bloqueo del receptor NMDA, ya que generan una mejoría en el aprendizaje espacial, el aprendizaje de reversión y la memoria de reconocimiento.<sup>30,31,32</sup> Específicamente, se observó que la OLZ revirtió de manera parcial dichos déficits cognitivos, así como la disminución de la expresión de las subunidades GluN1 y GluN2B fosforilado del receptor NMDA inducida por MK-801.<sup>33,34,35</sup> Por otra parte, en un modelo *in vitro* realizado con células hipotalámicas de roedores, el uso de la OLZ se asoció con incremento del estrés oxidante. Debido a esto, una terapia combinada con un antioxidante podría representar una buena opción de tratamiento.<sup>36</sup>

La N-acetilcisteína (NAC) es un mucolítico aprobado clínicamente que, al ser un precursor del glutatión, puede atravesar la barrera hematoencefálica, y actúa como una molécula antioxidante disminuyendo los niveles de RL y restableciendo la depleción de GSH.<sup>17,37,38,39</sup> Se ha demostrado que tiene un papel importante en distintos trastornos psiquiátricos, ya que interviene en la modulación de procesos como la neuro-inflamación, el estrés oxidante y la

regulación de los sistemas de neurotransmisión de glutamato y dopamina.<sup>17,14,15,40,41</sup> Por dicha evidencia y su buen perfil de seguridad, se ha considerado a la NAC como un agente adyuvante que potencializa la eficacia de antipsicóticos atípicos como la OLZ, y regula los procesos de oxidación y muerte celular tanto de la propia enfermedad como los relacionados con el uso prolongado de dosis altas de OLZ. Consecuentemente, el tratamiento combinado constituye una opción viable para pacientes con esquizofrenia o psicosis asociadas, en particular, aquellos con un curso crónico y poca respuesta a los actuales esquemas de tratamiento.<sup>17,42,43</sup> Con base en esta información, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antioxidante de la terapia sola o en combinación (OLZ + NAC) en un modelo de esquizofrenia inducido por MK-801 en ratón.

## Material y métodos

### Animales

Se utilizaron 30 ratones albinos de la cepa CD1, machos adultos de 25 a 30 g, donados por el bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, los cuales se mantuvieron en condiciones estándares de bioterio, con ciclos de luz-oscuridad 12:12, una temperatura de 22°C y acceso libre al agua y al alimento. Todos los procedimientos para el manejo de los animales fueron realizados de acuerdo con las guías regulatorias para el cuidado y uso de animales de laboratorio según la NOM-062-ZOO-1999. Asimismo, el protocolo fue registrado en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suarez con el número 38/20.

### Diseño experimental y tratamiento farmacológico

Los animales fueron divididos en 5 grupos experimentales con las siguientes características:

- Sano: animales intactos,
- MK-801/Veh: se les administró tratamiento con solución salina al 0.9% (i. p.) cada 12 horas durante 14 días previos a la administración de MK-801 (dizocilpina) (0.25 mg/kg, i. p.), que es un antagonista de los receptores NMDA para inducir el modelo de esquizofrenia siguiendo la metodología de Aquino-Miranda et al.,<sup>8</sup>
- MK-801/OLZ: animales tratados con olanzapina (4 mg/kg, i. p.) cada 12 horas en dosis de 0.25 mg/kg (i.p.), según lo reportado por Reddy, et al.,<sup>35</sup> durante 14 días previos a la administración de MK-801, para inducir efectos adversos por efecto de la OLZ, de acuerdo con lo reportado por Ng et al.,<sup>44</sup>
- MK-801/NAC: ratones tratados con N-acetilcisteína (80 mg/kg, i. p.) cada 24 horas durante 14 días previos a la administración de MK-801 (0.25 mg/kg, i. p.),

- MK-801/OLAZ+NAC: animales que recibieron el tratamiento con la combinación de olanzapina (4 mg/kg, i. p.) cada 12 horas y NAC (80 mg/kg, i. p.) cada 24 horas, durante 14 días previos a la administración de MK-801 (0.25 mg/kg, i. p.).<sup>44</sup>

### Determinación de los niveles de glucosa sérica

Dado que se ha reportado que el tratamiento con OLZ puede desarrollar resistencia a la insulina,<sup>26</sup> en el día catorce se evaluaron los niveles de la glucosa sérica en todos los animales al concluir la administración de los tratamientos, tres horas después de la administración del MK-801. Se usó un glucómetro Accu-check de la marca Roche.

### Ensayo de lipoperoxidación

Se obtuvo la corteza frontal de los ratones para medir los productos finales fluorescentes de la LP mediante la técnica descrita por Triggs y Willmore<sup>45</sup> y modificada por Diaz-Ruiz et al.<sup>46</sup> La corteza frontal fue homogeneizada en 3 mL de solución salina (NaCl al 0,9%), posteriormente, se separó en alícuotas de 1 mL, a las cuales se agregó 4 mL de una mezcla de cloroformo-metanol (2: 1, v / v). Después de agitar, la mezcla se mantuvo en hielo durante 30 minutos para permitir la separación de las fases. Finalmente, se midió la fluorescencia de la fase clorofórmica en un espectrofotómetro de luminiscencia Perkin-Elmer LS50B a 370 nm de excitación y 430 nm de emisión. La sensibilidad del espectrofotómetro se ajustó a 150 unidades de fluorescencia con una solución estándar de quinina (0.1 g / mL). Los resultados se expresaron como unidades internacionales de fluorescencia por gramo de tejido fresco.

### Determinación de la concentración de glutatión reducido

Tres horas después de la administración de MK-801, los animales fueron sacrificados por decapitación (previa anestesia con pentobarbital sódico) y se realizó la disección de la corteza frontal. El estándar de GSH se preparó en fosfato de sodio 0.1 M y un buffer de EDTA 5 mM (pH 8) y se mantuvo en hielo hasta su uso. La solución de o-ftalaldehído (OPA) se preparó en metanol absoluto de grado reactivo justo antes de su empleo. Las muestras se homogenizaron en 3.75 mL de buffer EDTA-fosfato (pH 8.0) más 1 mL de HPO<sub>3</sub> (25 %). Los homogeneizados se centrifugaron a 3,000 x g durante 15 minutos, los sobrenadantes fueron separados en alícuotas de 500 µL y se les adicionaron 4.5 mL de buffer de fosfato más 100 µL de o-ftalaldehído. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos y fueron medidas en un espectrofotómetro de fluorescencia Perkin-Elmer LS50B a 350 nm de excitación y 420 nm de emisión.<sup>47</sup>

### Análisis estadístico

Se obtuvieron los valores promedio  $\pm$  error estándar. La estimación del tamaño de la muestra para este estudio experimental aleatorizado y controlado se obtuvo por medio de la siguiente fórmula:

$$n=2 \left[ \frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta}) \sigma}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$$

En esta fórmula,  $n$  es el número de sujetos para cada grupo de tratamiento,  $\mu_1 - \mu_2$  es la diferencia detectable entre la media de los dos grupos,  $\sigma$  es la desviación estándar común de cada grupo, y  $Z_{\alpha}$  y  $Z_{\beta}$  son los valores que incluyen alfa en las dos colas y beta en la cola inferior de la distribución normal estándar, de acuerdo con lo descrito por Greenberg y colaboradores en 1998.  $\sigma^2$ ,  $\mu_1$  y  $\mu_2$  se estimaron con datos de un ensayo piloto.

En todos los casos se realizó un análisis exploratorio de los datos para determinar si existía una distribución normal, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y homogeneidad de varianzas, usando la prueba de Levene. Una vez determinado esto, se emplearon pruebas estadísticas paramétricas o no paramétricas según las suposiciones de cada análisis. En este sentido, se realizó una prueba ANOVA de una vía seguida de la prueba *post hoc* de Dunnett; la significancia estadística fue establecida con  $p < 0.05$ , utilizando el software SPSS 20.0.

## Resultados

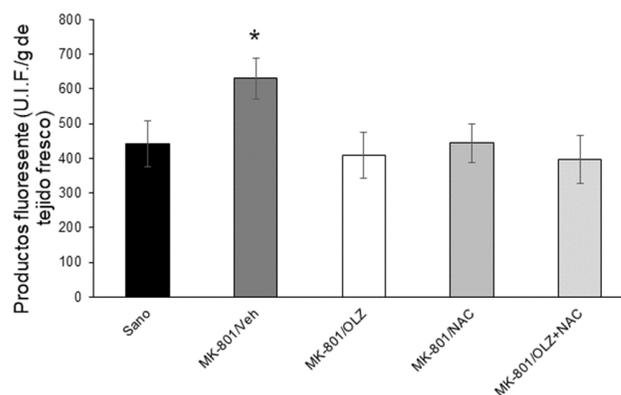
### Niveles de glucosa sérica

El valor basal de glucosa sérica fue de  $128.50 \pm 6.29$  (mg/dL) y  $131.20 \pm 12.62$  en el caso del grupo con MK-801 sin tratamiento. Con respecto a los grupos con MK-801 y tratamientos OLZ, NAC y OLZ+NAC, los valores fueron de  $153.60 \pm 17.39$ ,  $128.60 \pm 13.48$  y  $146.60 \pm 24.47$ , respectivamente. Se observó una tendencia al aumento solo en el grupo de ratones que recibió tratamiento únicamente con olanzapina, así como una tendencia a la baja en los ratones que recibieron la combinación de OLZ+NAC, sin registrarse diferencias estadísticamente significativas.

### Niveles de lipoperoxidación

En la **Figura 1** se muestran los resultados del análisis de los niveles de LP evaluados en la corteza frontal, 14 días después de la administración de los tratamientos y 3 h después de la inyección del MK-801. El nivel basal de productos finales de la LP en los animales sanos fue de  $441.52 \pm 66.53$ , y de

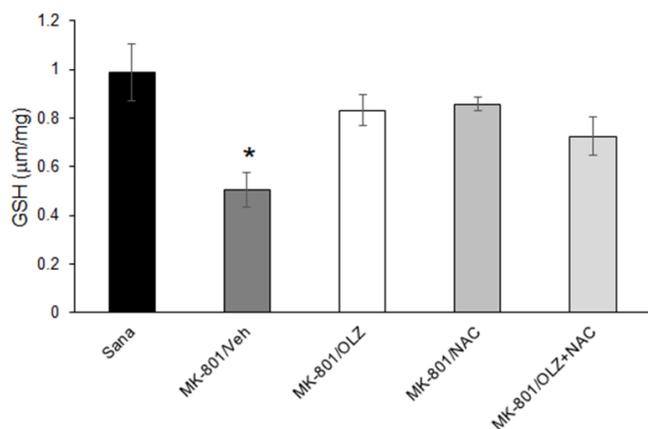
$630.50 \pm 58.68$  en los ratones con MK-801 tratados con vehículo, observándose un incremento de 42%, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. En todos los grupos tratados con OLZ, NAC y su combinación (OLZ+NAC) y MK-801 se muestra una disminución estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) de la LP, del 35.22, 29.55 y 51.43%, respectivamente, en comparación con el grupo control (MK-801/Veh). Los valores incluidos son el promedio  $\pm$  error estándar y están expresados en unidades internacionales de fluorescencia por gramo de tejido fresco.



**Figura 1.** Gráfica en la que se muestran los resultados de los niveles de lipoperoxidación evaluados en la corteza frontal. Los valores son el promedio  $\pm$  E.E. de 5 a 6 animales por grupo y están expresados en unidades internacionales de fluorescencia (U.I.F.) por gramo de tejido fresco. Sano: animales intactos; MK-801/Veh: animales con MK801 y vehículo; MK-801/OLZ: ratones con MK-801 y OLZ en dosis de 4 mg/Kg (i.p.) administradas cada 12 horas durante 14 días; MK-801/NAC: ratones con MK-801 y NAC en dosis de 80 mg/kg (i.p.) administradas cada 24 horas durante 14 días; MK-801+ OLZ/NAC: animales con MK-801 y con ambos tratamientos en las dosis antes mencionadas. ANOVA de una vía seguida de la prueba de Dunnett \*  $p < 0.05$ .

### Niveles de glutatión reducido

Los niveles de GSH fueron evaluados en la corteza frontal tres horas después de la administración de MK-801. Los resultados se muestran en la **Figura 2**. El nivel basal de GSH en los animales sanos fue de  $0.99 \pm 0.12$  (mm/mg), mientras que en los ratones con MK-801 tratados con vehículo fue de  $0.50 \pm 0.07$ ; se observa una disminución de 49.5%, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. En todos los grupos tratados con OLZ, NAC y su combinación (OLZ+NAC) y MK-801 observamos incrementos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) de los niveles de GSH, de 66, 72 y 46%, respectivamente, en comparación con el grupo control (MK-801/Veh).



**Figura 2.** Gráfica en la que se muestran los resultados de los niveles de glutatión reducido (GSH) evaluados en la corteza frontal. Los valores son el promedio  $\pm$  E.E. de 5 a 6 animales por grupo y están expresados en micro moles por miligramos. Sano: animales intactos; MK-801/Veh: animales con MK-801 y vehículo; MK-801/OLZ: ratones con MK-801 y olanzapina en dosis de 4 mg/Kg (i.p.) administradas cada 12 horas durante 14 días; MK-801/NAC: ratones con MK-801 y NAC en dosis de 80 mg/kg (i.p.) administradas cada 24 horas por 14 días; MK-801/OLA+NAC: animales con MK-801 y ambos tratamientos en las dosis antes mencionadas. ANOVA de una vía seguida de la prueba de Dunnett \*  $p < 0.05$ .

## Discusión

La hipofunción en los receptores de glutamato NMDA constituye una de las principales teorías sobre la etiopatogenia de la esquizofrenia. La hipofunción en estos receptores se asocia con alteraciones en la memoria, cognición y plasticidad neuronal, y con alteraciones en la liberación de glutamato en estructuras neuronales específicas, como el hipocampo y la corteza frontal.<sup>48</sup> Con base en esto, en este estudio se utilizó el modelo de administración aguda de MK-801 en ratones según la metodología reportada por Aquino-Miranda et al.,<sup>8</sup> ya que se trata de un modelo estandarizado y reproducible que causa una hipofunción glutamatérgica, estrés oxidativo y muerte celular, tal como se observa en la esquizofrenia.<sup>48</sup>

Reportamos un incremento de la lipoperoxidación en el grupo con MK-801 que fue tratado con vehículo, demostrando que el MK-801 incrementa el estrés oxidante y el daño a las membranas celulares. Estos hallazgos concuerdan con lo reportado en el estudio de Ozyurt et al.,<sup>49</sup> en el cual la administración del MK-801 por vía intraperitoneal en ratas incrementó el estrés oxidante en la corteza frontal, observándose un aumento de la lipoperoxidación.

Asimismo, nuestros hallazgos demostraron que el tratamiento con NAC disminuye la lipoperoxidación después de la administración de MK-801. Este efecto es apoyado por los resultados del estudio de Turkmen et al.,<sup>50</sup> en el que probaron el efecto antioxidante de la NAC después de la administración de MK-801 en testículo de ratones, observando que el tratamiento con NAC aumentó la actividad de las defensas antioxidantes y disminuyó el estrés oxidante inducido por el MK-801. Por otro lado, debe considerarse que la NAC administrada en altas dosis puede ser pro oxidante, por lo que las dosis elegidas para nuestro modelo fueron establecidas de acuerdo a los ensayos realizados por Smaga et al.,<sup>51</sup> en cuyo estudio se administró NAC en dosis de 50 y 100 mg/kg vía intra peritoneal en ratas Wistar, tanto de manera aguda como crónica, durante 10 días. Los resultados demostraron que ambas dosis tienen efecto antioxidante, ya que incrementaron la eficacia de los mecanismos de defensa antioxidante en la corteza prefrontal sin alterar el estado antioxidante endógeno del cerebro de los animales que recibieron de manera crónica o aguda las dosis de NAC y de aquellos que no fueron sometidos a estrés oxidante. Nuestros hallazgos coinciden con dichos resultados, puesto que se observó que la dosis de 80 mg/Kg disminuye la lipoperoxidación en comparación con el grupo control no tratado (Mk-801/Veh).

Es importante destacar que la mayoría de los estudios realizados con NAC han sido en animales, sin embargo, recientemente ha sido probada en más de 20 ensayos clínicos como tratamiento adyuvante en distintos padecimientos neuropsiquiátricos. Es el caso del estudio realizado por Nucifora et al.<sup>52</sup> en pacientes con esquizofrenia y trastorno afectivo bipolar, en el cual se reportó una disminución notable en los niveles séricos de GSH en los pacientes al ser comparados con los controles, además se observó una asociación entre la disminución de estos niveles y la magnitud de los síntomas psicóticos. Por otro lado, se han reportado disminuciones de hasta 27% ( $p < 0.05$ ) del GSH total en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con esquizofrenia sin tratamiento farmacológico en comparación con los controles.<sup>53</sup> En esta misma línea se encuentra un ensayo clínico aleatorizado doble ciego y controlado con placebo en pacientes con esquizofrenia tratados con antipsicóticos convencionales, que recibieron 1200 mg de NAC como tratamiento adyuvante. El estudio reportó que los pacientes tratados mostraron una mejoría significativa en la escala PANSS tanto para síntomas positivos como negativos, así como en el rendimiento cognitivo, en áreas como atención, memoria de trabajo y de corto plazo, funcionamiento ejecutivo y velocidad de procesamiento.<sup>54</sup>

Estos hallazgos son acordes con los resultados de nuestro estudio, ya que la administración de MK-801 en los ratones que no recibieron tratamiento con antipsicótico, antioxidante, o la combinación, generó una disminución estadísticamente significativa del glutatión reducido en la corteza frontal, lo que sugiere un incremento del estrés oxidante y posible daño celular. Por lo tanto, el tratamiento con OLZ y con NAC, administrados solos o en combinación, reduce los niveles de lipoperoxidación e incrementa los niveles de GSH, regulando posiblemente el daño oxidante propio de esta enfermedad. Lo anterior indica que la administración de NAC podría considerarse un tratamiento adyuvante, principalmente en pacientes con un curso crónico. De igual modo, los resultados de este protocolo de investigación apoyan la teoría existente relacionada al papel del estrés oxidante y la apoptosis neuronal en enfermedades psiquiátricas como la esquizofrenia. Nuestros resultados reforzarían también la posible modificación de los esquemas actuales de tratamiento, sobre todo en pacientes con un curso crónico de la enfermedad y con mala respuesta a dichos esquemas.

### Conclusiones

Dados los hallazgos del presente estudio podemos concluir que el MK-801 incrementa los niveles de lipoperoxidación y disminuye los niveles de GSH en la corteza frontal. Asimismo, los tratamientos con OLZ en dosis de 4 mg/kg y con NAC en dosis de 80 mg/kg, administrados solos o en combinación, revierten estos efectos, es decir, son eficaces para disminuir el estrés oxidante en la corteza frontal del ratón.

### Fuente de Financiamiento

Los hallazgos de este trabajo forman parte del protocolo de investigación registrado en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suarez con el número 38/20.

### Conflictos de interés

Los autores del presente trabajo declaramos que no existen conflictos de interés.

### Contribución de autores

Todos los autores han contribuido al diseño del estudio, la aprobación del comité de ética y la redacción, revisión crítica y versión final del manuscrito. RLA: redacción del manuscrito, estandarización del modelo de esquizofrenia en ratón; IPN: revisión del manuscrito, asesoría para la estandarización

de los métodos bioquímicos; CR: concepción y diseño del estudio, análisis estadísticos; AMB, EM y NM: administración del tratamiento, toma de muestra, estandarización de los métodos bioquímicos; ADR: redacción del manuscrito, asesoría para el análisis estadístico, concepción y diseño del estudio.

### Referencias

1. Charlson FJ, Ferrari AJ, Santomauro DF, Diminic S, Stockings E, Scott JG, et al. Global epidemiology and burden of schizophrenia: findings from the Global Burden of Disease Study 2016. *Schizophr Bull.* 2018;44(6):1195-203. doi: [10.1093/schbul/sby058](https://doi.org/10.1093/schbul/sby058).
2. Jablensky, A. Epidemiology of schizophrenia: the Global Burden of Disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2000;250:274-85. doi: [10.1007/s004060070002](https://doi.org/10.1007/s004060070002)
3. McGrath J, Saha S, Chant D, Welham J. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol Rev.* 2008;30(1):67-76. doi: [10.1093/epirev/mxn001](https://doi.org/10.1093/epirev/mxn001)
4. McCutcheon RA, Marques TR, Howes OD. Schizophrenia—an overview. *JAMA Psychiatry.* 2020;77(2):201-10. doi: [10.1001/jamapsychiatry.2019.3360](https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.3360)
5. Laursen TM, Nordentoft M, Mortensen PB. Excess early mortality in schizophrenia. *Annu Rev Clin Psychol.* 2014;10(1):425-48. doi: [10.1146/annurev-clinpsy-032813-153657](https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-032813-153657)
6. Hjorthøj C, Stürup AE, McGrath JJ, Nordentoft M. Years of potential life lost and life expectancy in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Psychiatry.* 2017; 4(4):295-301. doi: [10.1016/S2215-0366\(17\)30078-0](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(17)30078-0).
7. Charlson FJ, Baxter AJ, Dua T, Degenhardt L, Whiteford HA, Vos T. Excess mortality from mental, neurological and substance use disorders in the Global Burden of Disease Study 2010. *Epidemiol Psychiatr Sci.* abril de 2015;24(2):121-40. doi: [10.1596/978-1-4648-0426-7\\_ch3](https://doi.org/10.1596/978-1-4648-0426-7_ch3)
8. Aquino-Miranda G, Rivera-Ramírez N, Márquez-Gómez R, Escamilla-Sánchez J, González-Pantoja R, Ramos-Languren L-E, et al. Histamine H3 receptor activation reduces the impairment in prepulse inhibition (PPI) of the acoustic startle response and Akt phosphorylation induced by MK-801 (dizocilpine), antagonist at N-Methyl-d-Aspartate (NMDA) receptors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2019;94:109653. doi: [10.1016/j.pnpbp.2019.109653](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.109653)
9. Nakazawa K, Sapkota K. The origin of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Pharmacol Ther.* 2020;205:107426. doi: [10.1016/j.pharmthera.2019.107426](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107426)
10. Slifstein M, van de Giessen E, Van Snellenberg J, Thompson JL, Narendran R, Gil R, et al. Deficits in prefrontal cortical and extrastriatal dopamine release in schizophrenia: a positron emission tomographic functional magnetic resonance imaging study. *JAMA Psychiatry.* 2015;72(4):316-24. doi: [10.1001/](https://doi.org/10.1001/)

- [jamapsychiatry.2014.2414](#)
11. Miller EK, Cohen JD. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24:167-202. doi: [11.1146/annurev.neuro.24.1.167](#)
  12. Hoffman P. The meaning of 'life' and other abstract words: Insights from neuropsychology. *J Neuropsychol.* 2016;10(2):317-43. doi: [10.1111/jnp.12065](#)
  13. Wood SJ, Yücel M, Pantelis C, Berk M. Neurobiology of schizophrenia spectrum disorders: the role of oxidative stress. 2009;38(5):6.
  14. Robertson OD, Coronado NG, Sethi R, Berk M, Dodd S. Putative neuroprotective pharmacotherapies to target the staged progression of mental illness. *Early Interv Psychiatry.* 2019;13(5):1032-49. doi: [10.1111/eip.12775](#)
  15. Moylan S, Berk M, Dean OM, Samuni Y, Williams LJ, O'Neil A, et al. Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much stress? *Neurosci Biobehav Rev.* 2014;45:46-62. doi: [10.1016/j.neubiorev.2014.05.007](#)
  16. Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. *Drugs Aging.* 2001;18(9):685-716. doi: [10.2165/00002512-200118090-00004](#)
  17. Bavarsad Shahripour R, Harrigan MR, Alexandrov AV. N-acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: mechanisms of action and therapeutic opportunities. *Brain Behav.* 2014;4(2):108-22. doi: [10.1002/brb3.208](#)
  18. Andrezza AC, Frey BN, Valvassori SS, Zanotto C, Gomes KM, Comim CM, et al. DNA damage in rats after treatment with methylphenidate. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007;31(6):1282-8. doi: [10.1016/j.pnpbp.2007.05.012](#)
  19. Su L-J, Zhang J-H, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D, et al. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:5080843. doi: [10.1155/2019/5080843](#)
  20. Que X, Hung M-Y, Yeang C, Gonen A, Prohaska TA, Sun X, et al. Oxidized phospholipids are proinflammatory and proatherogenic in hypercholesterolemic mice. *Nature.* 2018; 558(7709):301-6. doi: [10.1038/s41586-018-0198-8](#)
  21. Berk M, Ng F, Dean O, Dodd S, Bush AI. Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. *Trends Pharmacol Sci.* 2008;29(7):346-51. doi: [10.1016/j.tips.2008.05.001](#)
  22. Creese I, Burt DR, Snyder SH. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science.* 1976; 192(4238):481-3. doi: [10.1126/science.3854](#)
  23. Kaar SJ, Natesan S, McCutcheon R, Howes OD. Antipsychotics: Mechanisms underlying clinical response and side-effects and novel treatment approaches based on pathophysiology. *Neuropharmacology.* 2020;172:107704. doi: [10.1016/j.neuropharm.2019.107704](#)
  24. Vaquero-Baez M, Díaz-Ruiz A, Tristán-López L, Aviña-Cervantes C, Torner C, Ramírez-Bermúdez J, et al. Clozapine and desmethylclozapine: correlation with neutrophils and leucocytes counting in Mexican patients with schizophrenia. *BMC Psychiatry.* 2019;19(1):295. doi: [10.1186/s12888-019-2286-1](#)
  25. Lowe P, Krivoy A, Porffy L, Henriksdottir E, Eromona W, Shergill SS. When the drugs don't work: treatment-resistant schizophrenia, serotonin and serendipity. *Ther Adv Psychopharmacol.* 2018;8(1):63-70. doi: [10.1177/2045125317737003](#)
  26. Komossa K, Rummel-Kluge C, Hunger H, Schmid F, Schwarz S, Duggan L, et al. Olanzapine versus other atypical antipsychotics for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(3): CD006654. doi: [10.1002/14651858](#)
  27. Fulton B, Goa KL. Olanzapine: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in the management of schizophrenia and related psychoses. *Drugs.* 1997;53(2):281-98. doi: [10.2165/00003495-199753020-00007](#)
  28. Barbosa L, Bernardo M. Utilización de olanzapina en el tratamiento de la esquizofrenia y el trastorno bipolar. *Psiquiatria Biológica.* 2016;23(1):4-22.
  29. Atmaca M, Kuloglu M, Ustundag B. Serum leptin and triglyceride levels in patients on treatment with atypical antipsychotics. *J Clin Psychiatry.* 2003;64(5):598-604. doi: [10.4088/jcp.v64n0516](#)
  30. Abdul-Monim Z, Reynolds GP, Neill JC. The effect of atypical and classical antipsychotics on sub-chronic PCP-induced cognitive deficits in a reversal-learning paradigm. *Behav Brain Res.* 2006;169(2):263-73. doi: [10.1016/j.bbr.2006.01.019](#)
  31. Goetghebuer P, Dias R. Comparison of haloperidol, risperidone, sertindole, and modafinil to reverse an attentional set-shifting impairment following subchronic PCP administration in the rat—a back translational study. *Psychopharmacology (Berl).* 2009;202(1-3):287-93. doi: [10.1007/s00213-008-1132-9](#)
  32. Song JC, Seo MK, Park SW, Lee JG, Kim YH. Differential effects of olanzapine and haloperidol on MK-801-induced memory impairment in mice. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2016;14(3):279-85. doi: [10.9758/cpn.2016.14.3.279](#)
  33. Liu X, Li J, Guo C, Wang H, Sun Y, Wang H, et al. Olanzapine reverses MK-801-induced cognitive deficits and region-specific alterations of NMDA receptor subunits. *Front Behav Neurosci.* 2018;11:260. doi: [10.3389/fnbeh.2017.00260](#)
  34. Park SW, Lee CH, Cho HY, Seo MK, Lee JG, Lee BJ, et al. Effects of antipsychotic drugs on the expression of synaptic proteins and dendritic outgrowth in hippocampal neuronal cultures. *Synapse NYN.* 2013;67(5):224-34. doi: [10.1002/syn.21634](#)
  35. Reddy NR, Krishnamurthy S. Repeated olanzapine treatment mitigates PTSD like symptoms in rats with changes in cell signaling factors. *Brain Res Bull.* 2018;140:365-77. doi: [10.1016/j.brainresbull.2018.06.003](#)
  36. Boz Z, Hu M, Yu Y, Huang XF. N-acetylcysteine prevents olanzapine-induced oxidative stress in mHypA-59 hypothalamic neurons. *Sci Rep.* 2020;10:19185. doi: [10.1038/s41598-020-75356-3](#)
  37. Scalley RD, Conner CS. Acetaminophen poisoning: a case report

- of the use of acetylcysteine. *Am J Hosp Pharm.* 1978;35(8):964-7.
38. Dodd S, Dean O, Copolov DL, Malhi GS, Berk M. N-acetylcysteine for antioxidant therapy: pharmacology and clinical utility. *Expert Opin Biol Ther.* 2008;8(12):1955-62. doi: [10.1517/14728220802517901](https://doi.org/10.1517/14728220802517901)
  39. Rossell SL, Francis PS, Galletly C, Harris A, Siskind D, Berk M, et al. N -acetylcysteine (NAC) in schizophrenia resistant to clozapine: a double-blind randomised placebo controlled trial targeting negative symptoms. *BMC Psychiatry.* 2016;16(1):1-9. doi: [10.1186/s12888-016-1030-3](https://doi.org/10.1186/s12888-016-1030-3)
  40. Deepmala, Slattery J, Kumar N, Delhey L, Berk M, Dean O, et al. Clinical trials of N-acetylcysteine in psychiatry and neurology: A systematic review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015;55:294-321. doi: [10.1016/j.neubiorev.2015.04.015](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.04.015)
  41. Kerssick C, Willoughby D. The antioxidant role of glutathione and N-Acetyl-Cysteine supplements and exercise-induced oxidative stress. *J Int Soc Sports Nutr.* 2005; 2(2):38. doi: [10.1186/1550-2783-2-2-38](https://doi.org/10.1186/1550-2783-2-2-38)
  42. Dean O, Giorlando F, Berk M. N-acetylcysteine in psychiatry: current therapeutic evidence and potential mechanisms of action. *J Psychiatry Neurosci.* 2011; 36(2):78-86. doi: [10.1503/jpn.100057](https://doi.org/10.1503/jpn.100057)
  43. Quintavalle C, Donnarumma E, Fiore D, Briguori C, Condorelli G. Therapeutic strategies to prevent contrast-induced acute kidney injury. *Curr Opin Cardiol.* 2013; 28(6):676-82. doi: [10.1097/HCO.0b013e3283653f41](https://doi.org/10.1097/HCO.0b013e3283653f41)
  44. Ng W, Kennar R, Uetrecht J. Effect of clozapine and olanzapine on neutrophil kinetics: Implications for drug-induced agranulocytosis. *Chem Res Toxicol.* 2014;27(7):1104-8. doi: [10.1021/tx500183x](https://doi.org/10.1021/tx500183x)
  45. Triggs WJ, Willmore LJ. In vivo lipid peroxidation in rat brain following intracortical Fe<sup>2+</sup> injection. *J Neurochem.* 1984;42(4):976-80. doi: [10.1111/j.1471-4159.1984.tb12699.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1984.tb12699.x)
  46. Diaz-Ruiz A, Rios C, Duarte I, Correa D, Guizar-Sahagun G, Grijalva I, et al. Cyclosporin-A inhibits lipid peroxidation after spinal cord injury in rats. *Neurosci Lett.* 1999;266(1):61-4. doi: [10.1016/s0304-3940\(99\)00255-4](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(99)00255-4)
  47. Diaz-Ruiz A, Alcaraz-Zubeldia M, Maldonado V, Salgado-Ceballos H, Mendez-Armenta M, Rios C. Differential time-course of the increase of antioxidant thiol-defenses in the acute phase after spinal cord injury in rats. *Neurosci Lett.* 2009;452(1):56-9. doi: [10.1016/j.neulet.2009.01.020](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.01.020)
  48. Wąsik A, Białoń M, Jantas D, Żarnowska M. The impact of the combined administration of 1MeTIQ and MK-801 on cell viability, oxidative stress markers, and glutamate release in the rat hippocampus. *Neurotox Res.* 2021;39(6):1747-61. doi: [10.1007/s12640-021-00428-9](https://doi.org/10.1007/s12640-021-00428-9)
  49. Ozyurt B, Ozyurt H, Akpolat N, Erdogan H, Sarsilmaz M. Oxidative stress in prefrontal cortex of rat exposed to MK-801 and protective effects of CAPE. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007;31(4):832-8. doi: [10.1016/j.pnpbp.2007.01.029](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.01.029)
  50. Turkmen R, Akosman MS, Demirel HH. Protective effect of N-acetylcysteine on MK-801-induced testicular oxidative stress in mice. *Biomed Pharmacother.* 2019;109:1988-93. doi: [10.1016/j.biopha.2018.09.139](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.139)
  51. Smaga I, Pomierny B, Krzyżanowska W, Pomierny-Chamięło L, Miszkiewicz J, Niedzielska E, et al. N-acetylcysteine possesses antidepressant-like activity through reduction of oxidative stress: Behavioral and biochemical analyses in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012;39(2):280-7. doi: [10.1016/j.pnpbp.2012.06.018](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.06.018)
  52. Nucifora LG, Tanaka T, Hayes LN, Kim M, Lee BJ, Matsuda T, et al. Reduction of plasma glutathione in psychosis associated with schizophrenia and bipolar disorder in translational psychiatry. *Transl Psychiatry.* 2017;7(8):e1215. doi: [10.1038/tp.2017.178](https://doi.org/10.1038/tp.2017.178)
  53. Do KQ, Trabesinger AH, Kirsten-Krüger M, Lauer CJ, Dydak U, Hell D, et al. Schizophrenia: glutathione deficit in cerebrospinal fluid and prefrontal cortex in vivo. *Eur J Neurosci.* 2000;12(10):3721-8. doi: [10.1046/j.1460-9568.2000.00229.x](https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00229.x)
  54. Dean OM, Mancuso SG, Bush AI, Copolov D, Do KQ, Cuénod M, et al. Benefits of adjunctive N-acetylcysteine in a sub-group of clozapine-treated individuals diagnosed with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2015;230(3):982-3 doi: [10.1016/j.psychres.2015.10.037](https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.10.037)