

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCELA PEREIRA

**Avaliação do potencial efeito antipsicótico
da miricitrina em modelos animais**

CURITIBA

2011

MARCELA PEREIRA

**Avaliação do potencial efeito antipsicótico
da miricitrina em modelos animais**

Dissertação apresentada como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Farmacologia, pelo curso de Pós-graduação em Farmacologia do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Roberto Andreatini

CURITIBA

2011



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia



PARECER

A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado "Avaliação do potencial efeito antipsicótico da miricitrina em modelos animais", de autoria da pós-graduanda **MARCELA PEREIRA**, sob orientação do Prof. Dr. Roberto Andreatini e composta pelos professores: Prof. Dr. Roberto Andreatini (UFPR); Prof^a. Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda (UFPR); Prof. Dr. Marcelo Machado Ferro (UEPG). De acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a pós-graduanda foi APROVADA. Para a devida publicação o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas pelo seu orientador. Em Curitiba, 25 de janeiro de 2011.

Prof. Dr. Roberto Andreatini (UFPR)

Prof^a. Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda (UFPR)

Prof. Dr. Marcelo Machado Ferro (UEPG)

Esta dissertação foi realizada no Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Farmacologia – Universidade Federal do Paraná, com apoio financeiro da CAPES, Fundação Araucária e CNPq.

Y dijo Dios a Salomón: Por cuanto hubo esto en tu corazón, y no pediste riquezas, bienes o gloria, ni la vida de los que te quieren mal, ni pediste muchos días, sino que has pedido para ti sabiduría y ciencia para gobernar a mi pueblo, sobre el cual te he puesto por rey, sabiduría y ciencia te son dadas; y también te daré riquezas, bienes y gloria, como nunca tuvieron los reyes que han sido antes de ti, ni tendrán los que vengan después de ti.

(2 Cr 1:11-12)

Agradecimentos

A Deus, a quem eu sempre busquei conforto nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Raul e Nice, pela excelente formação, por toda dedicação, por terem me ensinado todos os valores e principalmente por sempre me apoiarem em minhas decisões. Amo vocês demais!

Ao meu único irmão, Felipe, você é ótimo, tenho muito orgulho por ser sua irmã. Amo você!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Roberto Andreatini, muitíssimo obrigada pelo incentivo, compreensão, confiança e dedicação. Muito obrigada também por todas as oportunidades que você tornou real durante todo o período em que trabalhei em seu laboratório. Novamente, muito obrigada!

A UFPR (Universidade Federal do Paraná), pela oportunidade e apoio para concluir mais esta etapa da minha vida. Bem como ao professor Moacir Pizolatti por ceder ao nosso grupo de pesquisa a miricitrina para os testes. Também aos professores da pós-graduação em Farmacologia pelo apoio e ensinamentos.

Aos amigos de laboratório que vou lembrar por toda minha vida, Diego, Néia, Bruno, Isadora, Léa, Lucélia, Mariza, Suelen, Etiele, Jú, Ana e Stéfane. Obrigada pelo apoio e amizade!

Aos meus queridos, Dane, Dani, Juliano, Lari, Jú, Pandora, Rafa, Vinni, Carlão, Patrick, Lucas, Lú, Lari, Talita, Gisele, Gus, Elfo pelos momentos de descontração, apoio e amizade.

As funcionárias do departamento Silvia e Lindacir e aos funcionários da universidade pelo apoio e suporte.

A Capes pelo apoio financeiro.

Muito obrigado a todos!

Resumo

A miricitrina é um flavonóide extraído de plantas do gênero *Pouteira*, este flavonóide apresenta atividade inibitória sobre a PKC (proteína quinase C) e o NO (óxido nítrico). Estudos anteriores mostraram uma possível atuação da miricitrina no SNC (sistema nervoso central) ao se observar uma ação ansiolítica. Substâncias inibidoras da síntese de NO já foram testadas e se mostraram efetivas em modelos animais de depressão e sintomas psicóticos; por sua vez, inibidores de PKC foram testados em mania e se mostraram efetivos nos modelos animais e na clínica, tanto no tratamento da mania quando na diminuição de intensidade de quadros psicóticos nos pacientes. O presente estudo então teve por objetivo avaliar o efeito da miricitrina em modelos de sintomas positivos da psicose (teste de estereotipia, climbing e teste da pata) e avaliar a capacidade da substância de provocar efeitos extrapiramidais (teste da pata e teste de catatonía). Para controle positivo nos testes foi utilizada a olanzapina e para avaliação do mecanismo de ação envolvido no padrão de resposta da miricitrina, foram utilizados o 7-NI (7-nitroindazol), um inibidor da síntese de NO, e o tamoxifeno, um inibidor de PKC. Ainda no intuito de avaliar a participação nitrinérgica na via, foi também utilizada a L-arginina, uma substância precursora da síntese de NO. A miricitrina se mostrou efetiva como agente com potencial antipsicótico nos testes para sintomas positivos da psicose e não apresentou efeito extrapiramidal *per se*, em doses que não alteraram a atividade locomotora dos animais. Foi observado que tanto a PKC quanto o NO estão envolvidos em tal padrão de ação da miricitrina, indicando então um sinergismo das vias para obtenção do efeito máximo do flavonóide.

Palavras-chave: miricitrina, PKC, NO, antipsicótico

Abstract

Myricitrin is a flavonoid extracted from plants of the genus *Pouteria*, which flavonoid has an inhibitory activity on PKC (protein kinase C) and NO (nitric oxide). Previous studies have shown a possible action of myricitrin in the CNS (central nervous system) since it's observed an anxiolytic action. Substances that inhibit NO synthesis have been observed to be effective in animal models of depression and psychotic symptoms; in turn, PKC inhibitors were effective in animal models of manic states and in clinical practice in the treatment of mania. Furthermore, they improve psychosis symptomatology in manic patients. This study aimed to evaluate the effect of myricitrin in models of positive symptoms of psychosis (stereotypy, climbing and paw test) and evaluate the capacity of the substance to cause extrapyramidal side effects (paw test and catalepsy). The atypical antipsychotic olanzapine was used as positive control. In order to evaluate the mechanism of action of myricitrin, we used 7-NI (7-nitroindazole) an inhibitor of NO synthesis, and tamoxifen, an inhibitor of PKC. Furthermore, to evaluate the participation of nitrinergic system, it was also used L-arginine, which is a precursor of NO synthesis. The myricitrin was found to be a potential antipsychotic agent in tests for positive symptoms of psychosis and it had no extrapyramidal side effect *per se*. These data was obtained at doses that did not alter locomotor activity of animals. It was observed in the tests that both, PKC and NO are probably involved in the pattern of action of myricitrin, indicating a synergism of ways to obtain the maximum effect of the flavonoid.

Keywords: myricitrin, PKC, NO, antipsychotic

Lista de figuras e tabelas

FIGURAS:

Figura 1: Diagrama esquemático da interação de fatores genéticos na suscetibilidade de quadro psicótico.....	14
Figura 2: Via de síntese da dopamina.....	18
Figura 3: Vias de segundos mensageiros ativados por receptores dopaminérgicos.	19
Figura 4: Vias dopaminérgicas e áreas do cérebro envolvidas.....	21
Figura 5: Síntese do óxido nítrico a partir da L-arginina.....	23
Figura 6: Sistema de estimulação e inibição dopaminérgica via glutamato e GABA.	27
Figura 7: Similaridade química das estruturas fenotiazínicas com efeito antipsicótico.....	30
Figura 8: Estrutura básica de um tioxanteno.....	30
Figura 9: Compostos base que posteriormente deram origem ao haloperidol.....	31
Figura 10: Estrutura química do flavonóide miricitrina.....	39
Figura 11: Estrutura do teste da pata.....	44
Figura 12: Aparato para análise de estereotipia e climbing.....	47
Figura 13: Plataforma para avaliação do comportamento de catatonia.....	49
Figura 14: Caixa de movimentação espontânea.....	50
Figura 15: Efeito da miricitrina no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina	53
Figura 16: Efeito da olanzapina no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina	53

Figura 17: Efeito da miricitrina no comportamento de climbing induzido por apomorfina	54
Figura 18: Efeito da olanzapina no comportamento de climbing induzido por apomorfina	55
Figura 19: Efeito da miricitrina e da olanzapina na catatonia induzido por haloperidol	56
Figura 20: Efeito do haloperidol ou salina no tempo de retirada das patas (dianteiras, TRPD, e traseiras, TRPT) no teste da pata.....	57
Figura 21: Efeito da olanzapina ou salina no tempo de retirada das patas (dianteiras, TRPD, e traseiras, TRPT) no teste da pata.	57
Figura 22: Efeito da miricitrina ou salina no tempo de retirada das patas (dianteiras, TRPD, e traseiras, TRPT) no teste da pata.....	58
Figura 23: Efeito do 7-NI no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina	59
Figura 24: Efeito da tamoxifeno no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina	59
Figura 25: Efeito do 7-NI no comportamento de climbing induzido por apomorfina	60
Figura 26: Efeito da tamoxifeno no comportamento de climbing induzido por apomorfina	60
Figura 27: Efeito do tamoxifeno, 7-NI ou salina no tempo de retirada das patas (dianteiras e traseiras) no teste da pata.....	61
Figura 28: Efeito da L-arginina na inibição da atividade do 7-NI no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina.....	62
Figura 29: Efeito da L-arginina na inibição do efeito da miricitrina no comportamento de estereotipia	63
Figura 30: Efeito da L-arginina na inibição da atividade do 7-NI no comportamento de climbing induzido por apomorfina.....	64

Figura 31: Efeito da L-arginina na inibição da atividade da miricitrina no comportamento de climbing induzido por apomorfina.....64

TABELAS:

Tabela 1: Escala de avaliação de estereotipia em camundongos.....48

Tabela 2: Escala de avaliação de climbing em camundongos.....48

Tabela 3: Efeito da miricitrina sobre a atividade locomotora.....65

Lista de abreviaturas

5-HT - Serotonina

7-NI - 7-nitroindazole

AC – Adenilato ciclase

AMP - Adenosina Monofosfato

AMPA - α -amino-5-metil-4-isoxalona propionato.

AMPc - Adenosina 3'-5'-monofosfato cíclico

ATP – Adenosina trifosfato

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro

Ca²⁺ - Cálcio.

CaMKII - Quinase dependente de cálcio/calmodulina do tipo II.

COMT – Catecol-A-metil-transferase

DA – Dopamina

DAG – Diacilglicerol

DNA - Ácido Desoxirribonucléico.

GABA - ácido gama-aminobutírico

GAP-43 - Proteína Associada ao Crescimento de 43 KDa.

Glu – glutamato

GMPc – Guanosina monofosfato cíclico

HPLC - High-performance liquid chromatography

IP – Via intra-peritoneal

IP₃ – inositol trifosfato

L-arg – L-arginina

MAO – Monoamino oxidase

MARKS - Myristoylated alanine-rich C kinase substrate

Mir – Miricitrina

NADPH - Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fostato-hidrogênio

NMDA_R - Receptor N-Metil-D-Aspartato.

NMDA - N-Metil-D-Aspartato.

nREM – sono não REM ou sincronizado

nNOS – Óxido nítrico sintase neuronal

NO – Óxido Nítrico

NOS - Óxido Nítrico Sintase.

O₂⁻ - Ânion Superóxido.
ONOO⁻ - Peroxinitrito.
PCL – Fosfolipase C
PI3-K - Fosfoinositol 3 quinase ou Proteína Quinase dependente de IP3.
PIP₂ – Fosfatidilinositol
PKA - Proteína Quinase dependente de AMPc.
PKC - Proteína Quinase dependente de Cálcio.
PKG - Proteína Quinase dependente de GMPc.
PLC – Fosfolipase C
PP_{2A} - Proteína Fosfatase 2A.
PPI – Teste de inibição pré-pulso
mRNA – RNA (ácido ribonucléico) mensageiro
REM - do inglês, rapid eyes movement, ou sono desincronizado.
SC – Via subcutânea
SEP – Sintomas extrapiramidais
SNC – Sistema Nervoso Central
SNPc – Substância negra pars compacta
TAB – Transtorno Afetivo Bipolar
VTA - Área tegmental ventral

Sumário

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Características do quadro psicótico.....	02
1.2. Doenças relacionadas a sintomas psicóticos.....	05
1.2.1. Grupo 1: psicose como característica diagnóstica.....	05
1.2.1.1. Esquizofrenia.....	05
1.2.2. Grupo 2: psicose não é característica diagnóstica.....	07
1.2.2.1. Transtorno de humor bipolar.....	08
1.3. Fatores genéticos e outros fatores de risco para o desenvolvimento de psicoses ou doenças associadas a ela.....	11
1.4. Neurobiologia do desenvolvimento da psicose.....	17
1.4.2. Via dopaminérgica	17
1.4.2.1. Relação entre óxido nítrico e dopamina.....	21
1.4.3. Relação PKC e psicose.....	24
1.4.4. Via Glutamatérgica.....	26
1.5. Tratamento:.....	28
1.5.1 Antipsicóticos típicos.....	29
1.5.2 Antipsicóticos atípicos.....	33
1.6. Modelos animais para estudo de fármacos antipsicóticos.....	35
1.7. Miricitrina.....	39
2 OBJETIVOS.....	42
2.1 Objetivos gerais.....	42
2.2 Objetivos específicos.....	42
3 JUSTIFICATIVA	42
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1 Ratos.....	43
4.1.1 Animais.....	43
4.1.2 Drogas e tratamentos.....	43
4.1.3 Teste comportamental.....	44
4.1.3.1 Teste da pata.....	44

4.2 Camundongos.....	45
4.2.1 Animais.....	45
4.2.2 Drogas e tratamentos.....	45
4.2.3 Teste comportamental.....	46
4.2.3.1 Teste de Estereotipia.....	46
4.2.3.2 Teste de Climbing.....	48
4.2.3.3 Teste de catatonia.....	49
4.2.3.4 Teste de atividade locomotora.....	49
4.2.4 Análise de mecanismo de ação.....	50
4.2.4.1 Avaliação comportamental da participação da PKC na ação antipsicótica da miricitrina.....	50
4.2.4.2 Avaliação comportamental da participação do NO na ação antipsicótica da miricitrina.....	50
4.3 Análise estatística.....	51
5 RESULTADOS.....	52
5.1 Primeira bateria de testes: atividade antipsicótica da miricitrina.....	52
5.1.1 Teste de estereotipia.....	52
5.1.2 Teste de climbing.....	54
5.1.3 Teste de catatonia.....	55
5.1.4 Teste da pata.....	56
5.2 Segunda bateria de testes: mecanismo de ação envolvido no efeito antipsicótico da miricitrina.....	58
5.2.1 Teste de estereotipia.....	58
5.2.2 Teste de climbing.....	60
5.2.1 Teste da pata.....	61
5.3 Terceira bateria de testes: reversão da atividade antipsicótica por bloqueio na atividade sobre o óxido nítrico da miricitrina.....	61
5.3.1 Teste de estereotipia.....	61
5.3.2 Teste de climbing.....	63
5.4 Avaliação da atividade locomotora.....	65
6 DISCUSSÃO.....	66
7 CONCLUSÕES.....	72
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1. Introdução

A psicose é um transtorno ainda não caracterizado com exatidão em termos de mecanismos fisiológicos (Marenco e Weinberger, 2000), porém é um quadro comum em várias patologias e tem por principal característica a perda da noção do que é real e uma falta de harmonia entre pensamentos e afetividades. Um paciente psicótico então, seria aquele que não consegue discernir o que é real do que é imaginário, tendo os mais variados tipos de prejuízos sociais e pessoais por tal fuga da realidade, além de outros problemas que normalmente acompanham o quadro psicótico, como diminuição cognitiva e falta de prazer ou anedonia. Esta perda de noção do real seria devido a perda da capacidade de interpretar os fatos como eles realmente o são, dando novas interpretações tanto a fatos do passado quanto a fatos do presente, sejam estes fatos corriqueiros ou relevantes. Esta nova interpretação levaria a um comportamento delirante decorrente de uma exacerbação de resposta a algo na verdade irrelevante ou resposta inapropriada aos fatos (Loebel *et.al.*, 1992; Häfner e Van der Heiden, 2003).

Acredita-se hoje em dia que a psicose seja decorrente de uma convergência de fatores, a saber: fatores biológicos, ou seja, alterações anatômicas ou fisiológicas no cérebro seriam as responsáveis pelo desenvolvimento do quadro psicótico; fatores psicológicos, onde a personalidade do indivíduo seria um fator predisponente no desenvolvimento de respostas psicóticas frente aos acontecimentos da vida do paciente; e por último, fatores sociais, onde a pressão social levaria ao desenvolvimento de tal patologia. Acredita-se também que existam fatores genéticos que estariam relacionados a uma maior pré-disposição para o desenvolvimento da psicose, ou seja, existiriam personalidades chamadas pré-morbidas que estariam relacionadas à carga genética familiar do indivíduo (Nuechterlein *et.al.*, 1994).

As doenças que podem apresentar psicose como uma das características, de acordo com os manuais diagnósticos como DSM-IV (Manual Estatístico e Diagnóstico das Doenças Mentais, 4ª edição) e CID10 (Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde, 10ª edição), são divididas em dois grupos, no primeiro a psicose seria tida como característica fundamental da doença, no segundo grupo a psicose pode ou não estar presente no quadro patológico do indivíduo. Assim sendo, teríamos no primeiro grupo doenças como a esquizofrenia, o

transtorno psicótico induzido por substância, o transtorno esquizofreniforme, o transtorno esquizoafetivo, o transtorno delirante, o transtorno esquizofrênico breve, o transtorno psicótico compartilhado e transtorno devido a condição médica (Greil *et.al.*, 1997; Lapensee, 1992; Migliorini e Lazzarin, 1993; Rubin, 1997; Howard, 1994; Kendler, 1982). No segundo grupo se encontrariam patologias como o transtorno bipolar (sendo que neste caso tanto durante a fase maníaca quanto durante a depressiva pode ocorrer uma fase de surto psicótico), a demência de Alzheimer e o transtorno cognitivo (Gonzalez-Pinto *et al.*, 2003; Sato *et al.*, 1992).

As bases biológicas mais aceitas em relação ao desenvolvimento de tal patologia estariam relacionadas a alterações nos níveis de neurotransmissores, principalmente dopamina e glutamato, sendo que os fármacos que são hoje utilizados no tratamento de tal patologia têm por principal característica o bloqueio dos receptores de dopamina do tipo D₂ (Sedvall e Farde, 1995, Carlsson *et.al.*, 2001). Em se tratando das alterações glutamatérgicas, acredita-se que o aumento da atividade de tal neurotransmissor levaria a efeitos tóxicos no cérebro que estariam relacionados ao desenvolvimento de psicoses (Bachus, 1996; Benes *et.al.*, 1992; Novick *et al.*, 2009). Os antipsicóticos são os fármacos utilizados para o tratamento da psicose (Kane *et.al.*, 1983; Kane *et.al.*, 1985), Dentre estes fármacos se encontram duas classes, os chamados de primeira geração ou antipsicóticos típicos, que têm por característica a inibição da liberação de dopamina por agirem em receptores D₂ dopaminérgicos, e os chamados de segunda geração ou atípicos (Kapur *et.al.*, 1996), que são um grupo heterogêneo de fármacos cuja característica comum é a atuação em receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos (Möller, 2003, Kapur e Seeman, 2001).

1.1. Características do quadro psicótico:

A psicose é uma síndrome que se caracteriza por um conjunto de sintomas que são divididos em sintomas positivos e negativos (Andreasen, 1982; Crow, 1985). A psicose pode ser do tipo paranóide, desorganizada e/ou excitada ou ainda depressiva (catatônica) (DSM-IV), sendo que em cada uma destas haverá uma maior ou menor preponderância de algum sintoma específico. Porém, basicamente a caracterização da psicose se dá pela ocorrência de dois sintomas tidos como base, em suas três subdivisões, que são delírios e alucinações (DSM-IV).

Dentre os sintomas positivos podemos citar alucinação, delírios, discurso desorganizado e descontrole comportamental (Pull, 2005; Addington e Addington, 1993; Andreasen e Olsen, 1982). O comportamento delirante pode ser definido como uma crença em uma idéia falsa, irracional ou sem lógica, em geral os pacientes apresentam este tipo de comportamento em relação a fatos persecutórios (são os mais comuns, os pacientes acham que estão sendo perseguidos ou que seus atos estão sendo controlados por alguém), de grandiosidade (acha ser uma personalidade extraordinária, alguém famoso ou importante), religiosos (comportamento exacerbado na vivência de uma fé) ou ainda sensoriais (sensação de que o corpo esta sendo controlado por uma força externa). A alucinação por sua vez seria caracterizada por uma resposta a estímulos sensoriais que na verdade são inexistentes, sejam eles de origem auditiva (60 a 70% dos casos), visual (10% dos casos), gustativa ou tátil; é diferente de ilusão porque no caso desta é um estímulo externo realmente existente, mas mal interpretado ou percebido (Maina *et. al.*, 2001). O discurso desorganizado presente entre os sintomas positivos da psicose seria caracterizado por falas ilógicas e desconexas, demonstrando uma incapacidade de organizar o pensamento em seqüência lógica. Por último, o descontrole comportamental seria uma ciclagem entre comportamentos agitados, catatônicos (estado de imobilidade ou falta de resposta) ou desorganizados, ou seja, a resposta comportamental do individuo ao ambiente se torna inadequada e, portanto comprometida neste tipo de patologia, ocorre neste caso uma diminuição da capacidade do individuo para a realização de atividades cotidianas como cozinhar, trabalhar e cuidar da higiene pessoal, por isso as doenças que apresentam psicose como característica são tidas como tão incapacitantes (Murray e Lopez, 1997).

Em relação aos sintomas negativos (Hwu, *et.al.*, 1995) poderiam ser citados alogia, achatamento emocional, anedonia, diminuição de auto-estima e apatia, além de dano cognitivo (alguns autores consideram este um sintoma separado que somente se sobrepõe aos ditos sintomas negativos). A alogia é uma espécie de “esgotamento” de pensamentos, caracterizado por uma fala pobre de conteúdo, podendo esta ter uma base repetitiva ou abstrata e com isso dificultar o entendimento. O achatamento emocional por sua vez é uma característica bem comum nos pacientes psicóticos e é definido por uma demonstração inadequada de afeto ou embotamento, ou seja, o paciente tem dificuldade de demonstrar o que está

sentindo, sendo que com isso este não apresenta emocionalidade a vários fatos cotidianos; seria uma apatia ao meio que o rodeia. A anedonia, por outro lado, é a falta de prazer: atividades antes tidas como prazerosas perdem sua característica reforçadora, ou seja, se tornam vazias de sentido para o paciente (Möller *et al.*, 2002; Andreasen e Olsen, 1982). Em relação aos distúrbios cognitivos, estes são basicamente caracterizados por dificuldades de aprendizado, QI, memória, linguagem, funções executivas e atenção e de fala, além de distúrbios de pensamento e uso estranho da linguagem, sendo que as vezes a descontinuidade entre as idéias pode ser tão extrema que o discurso do paciente pode tornar-se incoerente e ilógico. Esta dificuldade no discurso parece estar associada ao fato dos pacientes tenderem a relacionar mais as palavras entre si pela sonoridade que pelo significado destas (Fioravanti *et al.*, 2005; Hawkins *et al.*, 2004; Niendam *et al.*, 2006; Monteiro e Louzã, 2007). A maioria dos indivíduos com esquizofrenia experimenta um declínio cognitivo (40 a 60%) no início da doença, que está associada com disfunção do córtex pré-frontal dorsolateral, o que pode diminuir o desempenho do indivíduo para algumas tarefas. Em geral, os déficits cognitivos se manifestam antes da ocorrência da primeira fase ativa e parecem aumentar ao longo da evolução da doença (Sharma e Antonova, 2003; Green, 1996; Addington e Addington, 1999; Adad *et al.*, 2000).

Em relação às divisões dos tipos de psicose, de acordo com o DSM-IV, pode-se dizer que na psicose paranóide, a característica principal seriam as projeções paranóides (preocupações com crenças delirantes), hostilidade e expansividade grandiosa (o paciente tem pensamentos de grandeza, acha ser um super herói ou personalidade importante); por sua vez, na psicose desorganizada-excitada, as características preponderantes seriam desorganização conceitual, desorientação e excitação, o discurso se torna exacerbado, fala alto e apresenta respostas incoerentes ou irrelevantes, acompanhadas de fugas constantes do assunto, repetições de frases e uso de neologismos; por último, na psicose depressiva, o paciente apresenta retardo de discurso e pensamento, apatia, autopunição ansiosa e culpa (o paciente se culpa por problemas e tem comportamentos depreciativos, além de idéias suicidas).

1.2. Doenças relacionadas a sintomas psicóticos:

1.2.1. Grupo 1: Doenças em que a psicose é característica diagnóstica:

Dentre os transtornos psicóticos que apresentam a psicose como característica definidora, o mais relevante para o presente trabalho é a esquizofrenia, que será, portanto, descrita com mais detalhes. É importante, porém, lembrar que neste grupo de transtornos se encontram o transtorno esquizofreniforme (bem semelhante à esquizofrenia, porém de duração mais curta, de no máximo seis meses, sendo que quanto mais rápida for à remissão dos sintomas, melhor o prognóstico) (Kendler e Walsh, 1995), o transtorno esquizoafetivo (caracterizado pela união de sintomas típicos da esquizofrenia e do transtorno bipolar, sendo então este considerado a união dos dois, tendo prognóstico melhor que o da esquizofrenia e pior que a do transtorno bipolar) (Winokur *et.al.*, 1985; Harrow *et.al.*, 2000), o transtorno por uso de substâncias (tipo de comportamento psicótico decorrente dos efeitos tóxicos de substâncias de abuso como maconha e cocaína, por exemplo) (Mueser *et al.*, 1990b; Regier *et al.*, 1990), o transtorno decorrente de condição médica (alucinações ou delírios proeminentes, presumivelmente decorrentes dos efeitos fisiológicos diretos de uma condição médica geral) (Jeste e McClure, 1997), o transtorno devido a condição associada (quando o paciente acaba desenvolvendo comportamento tipo psicótico pela convivência com portador do transtorno, o que ocorre geralmente entre familiares), o transtorno psicótico breve (também bem semelhante ao esquizofrênico, tendo porém duração ainda menor que o esquizofreniforme, durando entre um dia e no máximo um mês, havendo remissão completa de caso após este período, não apresentando sintomas residuais) (Migliorini e Lazzarin, 1993) e o transtorno delirante (que é dividido em vários subgrupos, porém todos apresentando como característica fundamental a crença em fatos irreais) (Eastham e Jasten, 1997; Manschreck e Petri, 1978).

1.2.1.1. Esquizofrenia:

O primeiro pesquisador a sistematizar os sintomas que posteriormente estariam relacionados à esquizofrenia foi o alemão Emil Kraepelin, que a denominava de *dementia praecox*. Posteriormente, em 1911, o suíço Eugen Bleuler

redefiniu e renomeou a doença para esquizofrenia (que significa mente fendida). Pela definição do DSM-IV, a esquizofrenia é um transtorno que dura no mínimo seis meses, podendo porém durar toda a vida, e que apresenta pelo menos um mês de sintomas de fase ativa (grupo de sintomas tanto positivos como negativos relacionados ao quadro psicótico). Estudos mostram que a fase prodrômica da doença (fase em que já ocorrem algumas alterações de comportamento no paciente que podem ser tomados como indicativo de patologia, porém sem manifestações clínicas consistentes) é de em média 2 a 5 anos e que a fase entre o primeiro sintoma psicótico e o início do tratamento (ou do tratamento efetivo, entenda-se medicação correta) pode levar até dois anos (Beiser *et al.*, 1993; Häfner *et al.*, 1993; Loebel *et al.*, 1992). Esta demora no início do tratamento dos sintomas está relacionada com uma maior chance de reincidência do quadro psicótico, bem como uma pior resposta ao tratamento (Johnstone *et al.*, 1996).

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico que acomete aproximadamente 1% da população mundial, sendo que em parentes de primeiro grau de portadores da doença, esta proporção sobe para 10% (Almeida *et al.*, 1992; Regier *et al.*, 1988; Caetano, 1982; Babigian, 1975). Geralmente se manifesta na adolescência ou início da idade adulta. As causas são variadas, sendo considerada de herança multifatorial, ou seja, um grupo de causas leva ao desenvolvimento do quadro esquizofrênico, a saber, mudanças químicas e estruturais no cérebro e fatores genéticos, sendo que, origem viral e trauma encefálico também são considerados possíveis fatores causais (Nuechterlein *et al.*, 1994). Vários estudos demonstram que fatores sociais e genéticos agem de forma conjunta no estabelecimento da doença. Estudos epidemiológicos que analisaram a incidência de esquizofrenia em gêmeos monozigóticos (material genético idêntico) e dizigóticos (compartilham a metade do material genético) mostraram que a incidência de esquizofrenia em gêmeos monozigóticos é de 50% e de 10 a 15% em gêmeos dizigóticos (a mesma dos parentes de primeiro grau), contra apenas 1% na população geral (Gottesman, 1991, 1993).

Estudos têm mostrado uma maior morbidade e um início mais precoce da esquizofrenia em homens, porém em termos de proporção, não há diferença significativa entre homens e mulheres (Häfner e Van der Heiden, 2003). De acordo com alguns trabalhos, a doença costuma se manifestar no sexo masculino entre 18-25 anos; já em mulheres a média de idade para início dos sintomas seria entre 25-

35 anos. Associa-se essa diferença entre os sexos a dois possíveis fatores, mais rápida maturação cerebral no sexo feminino que do masculino, o que evitaria traumas e alterações estruturais durante o período intra-uterino; e uma capacidade protetora do estrogênio, que retardaria o início de manifestações de sintomas da patologia (Häffner *et.al.*, 1998; Seeman, 1981, 1982). Häfner e colaboradores (1991) mostraram, em um estudo feito com ratas, a importância do estradiol no desenvolvimento cerebral, pois este apresenta correlação negativa com o número de receptores D₂ expressos no cérebro, ou seja, diminui a expressão de D₂. Os estudos de Seeman e Lang (1990) e de Riecher-Rossler e colaboradores (1994) corroboram os achados de Häfner e também acrescentam a informação de que o estradiol estaria relacionado a uma melhor resposta aos antipsicóticos, o que pode ser correlacionado à pior resposta masculina ao tratamento e também ao curso mais grave da esquizofrenia em homens.

Em relação a quadros associados, tem-se demonstrado que é muito comum a existência de comorbidades entre pacientes esquizofrênicos, tais como abuso de substância (Regier *et.al.*, 1990), comportamento suicida (Siris, 2001), HIV, hepatite e diabetes (Goff *et. al.*, 2005).

1.2.2. Grupo 2: Doenças em que a psicose não é característica diagnóstica:

Neste grupo se encontram patologias como o transtorno bipolar, a doença de Alzheimer e o transtorno cognitivo. Por causa da relação entre esquizofrenia e transtorno bipolar, este será tratado em tópico à parte, uma vez que apresentam correlação entre fatores genéticos e influência ambiental, além da existência de transtorno diretamente relacionado à união das duas patologias, o transtorno esquizoafetivo, já mencionado anteriormente (Winokur *et.al.*, 1985; Harrow *et.al.*, 2000). Em relação à existência de quadro psicótico em patologias como Alzheimer e transtorno cognitivo, esta é secundária ao quadro, sendo caracterizada principalmente por quadros de alucinação e delírio (Lyketsos *et al.*, 2000; 2002), sendo a alucinação o quadro mais freqüente em ambas as patologias. Em pacientes acometidos de Alzheimer, as alucinações são principalmente relacionados a perseguição ou abandono (Tariot *et.al.*, 1995). A alucinação também é predominante nos pacientes com transtorno cognitivo, sendo, porém, menos freqüente nos pacientes com transtorno cognitivo que nos portadores de Alzheimer.

1.2.2.1. Transtorno de humor bipolar:

O Transtorno Afetivo Bipolar (TAB), é caracterizado por oscilações ou mudanças cíclicas de humor. Estas mudanças vão desde oscilações mais ou menos normais (alterações de humor, porém não muito exacerbadas), como as que ocorrem nos períodos subsindrômicos e eutímicos da doença, até mudanças patológicas acentuadas (fase aguda da doença) (Judd *et. al.*, 2002). O antigo nome, psicose maníaco-depressiva, foi abandonado porque os pacientes que apresentam transtorno de humor bipolar não necessariamente apresentarão sintomas psicóticos. Na verdade este transtorno se caracteriza por uma perturbação afetiva e não psicótica, sendo então por isso renomeado e classificado junto com transtornos como depressão e distímia nos manuais diagnósticos como CID10 e DSM-IV. O paciente bipolar, porém, em momentos de surto mais acentuado, seja este depressivo ou maníaco, poderá apresentar quadro psicótico: depressão psicótica, mais comum em pacientes com depressão maior; e surto psicótico durante a fase de mania (Lima *et. al.*, 2005; González-Pinto *et. al.*, 1998; Rosen *et. al.*, 1983; McGlashan, 1988).

A alternância de estados depressivos com maníacos é a tônica desta patologia; porém sub-estados e estados mistos também podem ocorrer, bem como estados de eutímia, que se caracteriza por um período de remissão de sintomas (Lima *et.al.*,2005; Belmaker, 2004). De acordo com os manuais diagnósticos como o DSM-IV e o CID-10, o transtorno de humor bipolar pode ser subdividido em: Transtorno bipolar do tipo I (apresenta fase de depressão, seguida de fase de eutímia e precedida por fase de mania) e tipo II (onde ao invés de fase de mania ocorre uma fase de hipomania). A diferenciação básica entre os quadros de mania e hipomania se dá pela intensidade dos sintomas, sendo que, os sintomas da hipomania são similares aos da mania, sendo porém menos acentuados, ou seja, mais amenos. Outra diferença básica é que somente pacientes bipolares do tipo I podem apresentar, em algum momento, quadro psicótico, ou seja, este é ausente na hipomania (Belmaker, 2004; Veita *et.al.*, 1997; Coryell *et.al.*, 1984; Simpsons *et.al.*, 1993). Estes episódios teriam um período de duração entre 4 e 13 meses, sendo o episódio depressivo é sempre maior que o episódio maníaco/hipomaníaco (DSM-IV). Existe ainda uma terceira classificação, a ciclotímia, onde o paciente apresenta

quadro de depressão e hipomania, porém de forma mais branda, não se encaixando no diagnóstico de bipolar do tipo II (Moreno e Moreno, 2002; Akskal e Pinto, 1999). Antipsicóticos são algumas vezes utilizados juntamente com os estabilizadores de humor no intuito de tratar a fase maníaca do transtorno de humor bipolar. Eles são utilizados como tratamento inicial para controle dos sintomas maníacos, até que os estabilizadores de humor comecem a ter efeito, ou no intuito de tratar quadros de mania mais severos, como quadros maníacos com presença de alucinações e ilusões. O tratamento com antipsicóticos é interrompido tão logo o paciente apresente um quadro mais controlado, mantendo-se então somente os estabilizadores de humor (Moreno *et.al.*, 2005).

O TAB acomete 1 a 3% da população, estando associado a um alto nível de prejuízo social e pessoal (Weissman *et.al.*, 1996; Müller-Oerlinghausen *et.al.*, 2002). Estudos epidemiológicos (como o “National Comorbidity Survey”, nos Estados Unidos) indicam que o transtorno bipolar é relativamente freqüente (prevalência de 1% para o tipo I, e de 1,1% para o tipo II). A idade média de início dos quadros bipolares situa-se logo após os 20 anos, embora alguns casos se iniciem ainda na adolescência e outros possam começar mais tardiamente (após os 50 anos) (American Psychiatric Association, 1994; Gitlin *et.al.*, 1995), sendo que as mulheres apresentam início da doença relativamente mais tardio que homens (Leibenluft, 1997; Robb *et al.*, 1998) . O período entre a manifestação dos primeiros sintomas e a procura por tratamento chega a ser de até dez anos, principalmente pelo fato de que os pacientes normalmente só procuram ajuda médica, quando ocorre o primeiro episódio maníaco (Leverich e Post, 2006). Os episódios maníacos costumam ter início súbito, com rápida progressão dos sintomas; freqüentemete os primeiros episódios ocorrem associados a estressores psicossociais, porém, com a evolução da doença, os episódios podem se tornar mais freqüentes, e os intervalos livres podem se encurtar. Para algumas mulheres, o primeiro episódio maníaco pode acontecer no período puerperal. Não existe diferença entre os sexos em relação à taxa de incidência da doença (Goodwin, 1990; Weissman *et al.*, 1991), porém estudos mostram uma maior incidência de manifestações de mania em homens (1,8%) que em mulheres (1,7%); de acordo com estes estudos, as mulheres teriam uma maior tendência a apresentarem quadros de depressão e desenvolverem ciclagem rápida, ou seja, no mínimo quatro episódios no período de um ano (Akiskal *et al.*, 1998; Hantouche *et al.*, 1998; Koukopoulos, 1999; Angst e Marneros, 2001).

Estudos mostram também uma grande correlação genética, uma vez que esta taxa de concordância (ambos apresentam a patologia) em gêmeos univitelinos é de 34,5% a 48%, taxa esta três vezes maior que a de gêmeos dizigóticos (McGuffin *et.al.*, 2003; Berstelsen *et.al.*, 1977). Além disto outros estudos observaram uma taxa de 10 a 20% de aumento na estimativa populacional normal em termos de parentes de portadores do transtorno (Merikangas *et.al.*, 2002; Gershon *et.al.*, 1982).

De acordo com o trabalho de Dunayevich e Keck (2000), pelo menos 50% dos pacientes bipolares apresentou, em algum momento, um quadro de psicose, sendo mais ou menos severa dependendo da intensidade do quadro de mania. Estudos correlacionam o início precoce da doença com a intensidade dos quadros de mania (McElroy *et.al.*, 1996; Carlson e Goodwin, 1973), sendo que outros estudos relatam que 48% dos pacientes em fase maníaca terão ao menos um episódio de quadro de delírio (principalmente de grandiosidade), 19% terão problemas com compreensão e verbalização de idéias e 15% terão quadro de alucinação (Goodwin e Jamison, 1990; Dunayevich e Keck, 2000).

Muitos estudos têm mostrado que o desenvolvimento do transtorno de humor bipolar está intimamente relacionado a fatores tanto ambientais quando genéticos, além de alterações hormonais e na homeostase de monoaminas (Yatham *et.al.*, 2005). Entre algumas alterações associadas ao TAB, encontramos alterações em relação à massa cerebral, conformação e quantidade de neurônios (Elkis *et.al.*, 1995; Dupont *et.al.*, 1995), alterações no sistema monoaminérgico (Heninger *et.al.*, 1996; Berman *et.al.*, 1997; Farvolden *et.al.*, 2003) e grande quantidade de alterações genéticas, como alteração na enzima COMT – catecol-A-metil-transferase (Craddock *et.al.*, 2001; Shifman *et.al.*, 2004), no BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) (Nakata *et.al.*, 2003; Green *et.al.*, 2006) e na neuroregulina-1 (Green *et.al.*, 2005), somente para citar alguns exemplos.

O TAB é uma doença de grande impacto na vida do paciente, de sua família e sociedade, causando prejuízos freqüentemente irreparáveis em vários setores da vida do indivíduo, como nas finanças, saúde, reputação, além do sofrimento psicológico (Lopes e Murray, 1998; Yatham, 2005). Algumas das comorbidades associadas ao transtorno de humor bipolar são suicídio (Colom *et.al.*, 2006, Muller-Oerlinghausen *et al.*, 2002; Tondo *et al.*, 2003; Baldessarini *et al.*, 2003), distúrbios alimentares (Shisslak *et al.*, 1991; Mury *et al.*, 1995), ansiedade (Masser e Cloninger, 1990; Regier *et.al.*, 1998), pânico (Bellodi *et.al.*, 1993; Andrews e Slade,

2002), agorafobia (Bienvenu *et.al.*, 2006; Andrews e Slade, 2002) e fobia social (Lampe *et.al.*, 2003; Merikangas e Angst, 1995).

1.3. Fatores genéticos e outros fatores de risco para o desenvolvimento de psicoses ou doenças associadas a ela:

Existem correlações entre o desenvolvimento da esquizofrenia e do transtorno de humor bipolar, ou seja, entre duas doenças que envolvem a psicose como característica, seja esta característica fundamental do quadro, ou uma característica secundária.

Estudos demonstram que tanto a esquizofrenia quanto o TAB não são conseqüentes de alterações em um único gene, sendo provavelmente relacionados a um fator recessivo, causado pela não disjunção cromossômica durante a meiose, um dos cromossomos alvo de estudo é o 18q21 (cromossomo 18, braço longo, área 21), onde existem 21 genes, que mostrou-se mutado em pacientes portadores de esquizofrenia, transtorno de humor bipolar e transtorno esquizoafetivo (Escamilla *et.al.*, 2001; Walss-Bass *et.al.*, 2005). Estudos mostram que por um desequilíbrio de ligação nesta região ocorreriam os sintomas psicóticos como alucinação, delírio, desorganização comportamental e de fala. Um estudo posterior feito por Dae Lee e colaboradores (2007) demonstrou, através de genotipagem e expressão de RNAm (feito em cérebros de pacientes bipolares e esquizofrênicos post-mortem), uma possível associação entre a enzima málica (malato oxiredutase) tipo 2 e o desenvolvimento de sintomas psicóticos; sendo que a enzima málica apresenta importante função no cérebro, por estar envolvida no metabolismo energético e de glucose bem como com a síntese de GABA e glutamato (Hassel, 2001). Outra alteração em nível gênico foi mostrado pelo trabalho de Ozawa (1998) e pelo trabalho de Beal e colaboradores (1997), onde eles mostram alterações em nível mitocondrial levando a alterações na produção de ATP, bem como na homeostase de cálcio intracelular (relacionado com o ciclo do óxido nítrico e com a ativação da cadeia do fosfato de inositol e diacilglicerol, que se relacionam com a ativação de PKC), sendo uma característica de quadros neuropatológicos como Alzheimer, Parkinson e transtorno bipolar, transtornos estes em que em algum estágio podem apresentar um quadro do tipo psicótico. Estes trabalhos corroboram os dados de Fusegi e colaboradores (1992) que mostram que pacientes acometidos da síndrome

de MELAS (encefalopatia mitocondrial, acidose láctica e episódio de derrame) podem apresentar comportamento do tipo psicótico. Associa-se esta suscetibilidade de existência de alteração de função mitocondrial nestes pacientes a um alto nível de mutação no DNA mitocondrial quando comparado ao DNA nuclear, pois a mitocôndria apresenta DNA próprio e menos capaz de evitar processos mutacionais (Ozawa, 1998).

Alguns genes candidatos a estarem envolvidos com o desenvolvimento da esquizofrenia e do TAB, de acordo com estudos recentes, são DTNBP1 ou disbindina-1, o NRG1 ou neuroregulina-1 e polimorfismo da COMT (Harrison *et al.*, 2005; Kirov *et al.*, 2004; Stefansson *et al.*, 2002; Craddock *et al.*, 2001; Shifman *et al.*, 2004).

O DTNBP1 ou disbindina-1, localizado na região 6p24-22, codifica a proteína disbidina, que se liga à α e β distrobrevina, as quais são componentes do complexo de proteínas associadas à distrofina, complexo este relacionado com a plasticidade sináptica e transdução do sinal. Alteração neste complexo pode afetar a homeostase do sistema glutamatérgico, sendo que estudos de expressão gênica de indivíduos esquizofrênicos mostraram diminuição de disbidina no córtex pré-frontal. Em relação ao transtorno bipolar, associam-se as alterações vistas nesta proteína com uma maior predisposição de desenvolver, em algum momento, quadro de psicose (Reybould *et al.*, 2005) (Fig.1).

O segundo gene, codificador da proteína NRG1 ou neuroregulina-1, localiza-se na região 8p21-22. A NRG-1 é uma importante proteína por interagir com receptores de membrana de neurônios e células gliais, o que leva a dimerização de receptores, fosforilação de tirosina e ativação de vias de sinalização, alterações no gene que a codifica estariam relacionadas à alteração de neurodesenvolvimento e neurotransmissão (Stefansson *et al.*, 2002; Tosato *et al.*, 2001; Green *et al.*, 2005) (Fig.1).

Uma outra associação que foi vista foi entre o BDNF (cujo gene está localizado no cromossomo 11q13) e a manifestação de quadros psicóticos, sejam estes em pacientes esquizofrênicos ou bipolares. O BDNF é a principal neurotrofina do cérebro, sendo sintetizada pela glia e neurônios e sendo a neurotrofina mais abundantemente distribuída pelo SNC (Shimizu *et al.*, 2003; Gama *et al.*, 2008), este tem por função modular crescimento e maturação sináptica e, portanto estando envolvido com a memória e plasticidade neuronal. Assim, a alteração do BDNF

poderia acarretar em má formação de árvores dendríticas, diminuição da plasticidade neuronal e prejuízos cognitivos e de memória (Egan *et.al.*, 2003; Neves-Pereira *et.al.*, 2002).

Em um estudo feito por Coyle e Duman (2003) foram demonstradas alterações genéticas relacionadas ao transportador de serotonina (5-HTT_R). Isto levaria a uma menor recaptação deste neurotransmissor e conseqüente desbalanço na homeostase não somente de serotonina, mas também da dopamina no cérebro de pacientes bipolares, uma vez que a serotonina e a dopamina apresentam um balanço de liberação entre si (o que será melhor discutido na sessão de neurobiologia da doença). Neste mesmo trabalho foi ainda demonstrada uma alteração relacionada à enzima MAO (monoamino oxidase A), enzima encontrada no interior das células ligada a superfície da mitocôndria e relacionada à metabolização de monoaminas (Shih, 1991; Thorpe *et al.*, 1987). Trabalho este posteriormente corroborado pelos achados de Craddock e Forty (2006).

Por último, foi mostrado um polimorfismo da COMT (cujo gene está localizado no cromossomo 22q11), que está relacionada ao metabolismo da dopamina em pacientes esquizofrênicos e bipolares (uma menor atividade desta enzima resultaria numa maior disponibilidade de dopamina, o que se sabe estar relacionada a quadros psicóticos), estudos mostram que as alterações mais observadas em pacientes esquizofrênicos quanto a esta enzima é a substituição de uma valina na seqüência da enzima o que a deixa menos estável e mais passível de degradação (Sanders *et.al.*, 2005; Weinberger *et.al.*, 2001; Shifman *et.al.*, 2004; Egan *et.al.*, 2001). Outros genes já relacionados à esquizofrenia foram DLX1 (Kromkamp *et.al.*, 2003) e semaforina 3a (Eastwood *et.al.*, 2003) relacionados à neurotransmissão e migração de axônios, respectivamente, e DISC-1 (translocação entre cromossomo 1 e 11, encontrada em uma família escocesa em que havia grande freqüência de doenças que apresentavam fase psicótica, como depressão, mania e esquizofrenia, e a proteína codificada por este gene é relacionada ao crescimento axonal e crescimento celular) (St Clair *et.al.*, 1990) (Fig.1).

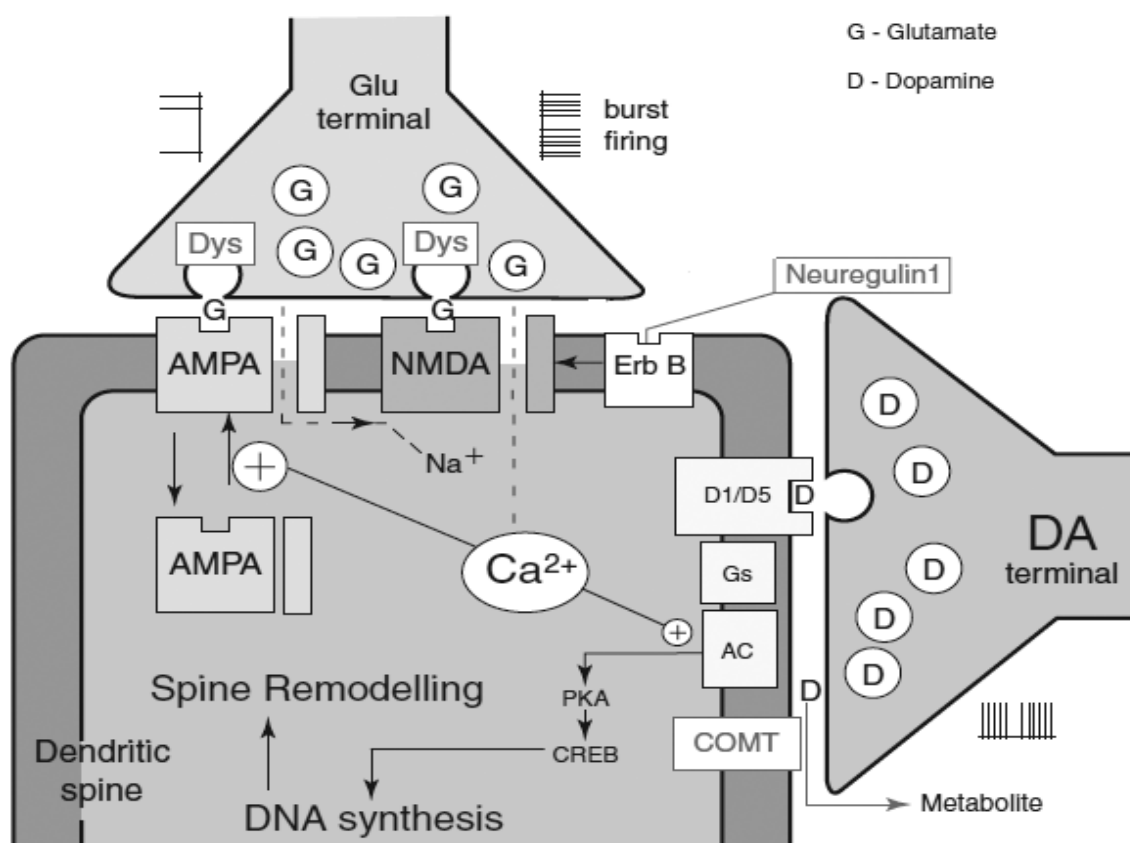


Fig.1 – Diagrama esquemático da interação de fatores genéticos na suscetibilidade de quadro psicótico (genes envolvidos em vermelho) em relação à desregulação dos receptores dopaminérgicos e glutamatérgicos. Neuregulina 1 ativa o receptor ErbB que leva a internalização de receptores NMDA; Disbidina (Dys) está relacionada a liberação de glutamato nos terminais pré-sinápticos; COMT está envolvida no metabolismo de dopamina (Fonte: adaptado de Morrison e Murray (2005)).

Em relação as alterações bioquímicas e anatômicas, estudos têm observado várias correlações entre alterações anatômicas como alargamento dos ventrículos e dos sulcos cerebrais e presença de TAB, sendo que estas duas alterações também estão presentes em pacientes esquizofrênicos (Elkis *et.al.*, 1995; Dupont *et.al.*, 1995). Também tem sido demonstrado diminuição do córtex pré-frontal, principalmente na população de neurônios GABAérgicos (Weinberger, 1987; Beasley *et.al.*, 2002), além de alterações mais específicas de pacientes bipolares, como aumento de áreas relacionadas ao humor como a amígdala e estriado (Hajek *et.al.*, 2005 Strakowski *et.al.*, 2005). Outra alteração bastante citada na literatura é quanto a fatores estressores externos, como ausência de suporte familiar, entre outras situações estressoras, e desencadeamento dos sintomas do TAB ou ainda virada de quadro, sendo esta virada principalmente para quadro de mania (Ambelas,

1979; Bonner, 1930; Bidzinska, 1948; Hammem *et.al.*, 1992). Fatores estressantes também são citados como ponto desencadeador de surto psicótico em pacientes esquizofrênicos (Weinberger, 1987; Dunn, 1988; Selten e Cantor-Graae, 2005). Alterações na sinalização do fator de crescimento de fibroblastos (FGF) bem como de seu receptor (FGF_{R1}) tem sido associado às alterações no neurodesenvolvimento e funcionamento cerebral observado em doenças como esquizofrenia e transtorno bipolar. Alterações do FGF e FGF_{R1} alteram a distribuição e plasticidade de neurônios dopaminérgicos, que por sua vez acabam por afetar outras populações de neurônios, como os serotoninérgicos (Gaughram *et.al.*, 2006; Grothe e Timmer, 2007). Alguns estudos genéticos mostraram uma associação entre variação na taxa de expressão do gene e de seu polimorfismo, como uma maior suscetibilidade a manifestações psiquiátricas que envolvem psicose (Terwisscha van Scheltinga *et.al.*, 2009; O'Donovan *et.al.*, 2009).

Outros estudos observaram ainda uma correlação entre complicações obstétricas e alterações psiquiátricas. Acredita-se que, infecções pré-natais e neurodesenvolvimento anormal, compõem alguns dos fatores ambientais predisponentes ao desenvolvimento da esquizofrenia e do transtorno bipolar, sendo as complicações obstétricas o fator mais comumente relacionado a estas patologias, em se tratando de fatores ambientais. A ocorrência de complicações obstétricas, principalmente hipóxia e isquemia durante a fase pré e perinatal podem levar a alterações como: aumento no tamanho dos ventrículos laterais, bem como do terceiro ventrículo, o que sabidamente é presente em uma taxa considerável dos pacientes esquizofrênicos e bipolares (Suddath *et.al.*, 1989; Lawrie e Abukmeil, 1998; Elkis *et.al.*, 1995; Dupont *et.al.*, 1995). Outras complicações obstétricas incluem nascimento prematuro, baixo peso após o nascimento e privação nutricional durante a gestação.

Estudos têm mostrado que existe uma correlação positiva entre a incidência de doenças virais durante a gestação e propensão ao desenvolvimento de esquizofrenia e outras doenças psiquiátricas na prole (Smith *et.al.*, 2007; Meyer *et.al.*, 2005). Esta associação não se dá por influência do vírus em si, mas sim pela alteração do ambiente fetal pela resposta da mãe à infecção, como por exemplo, o aumento de citocinas (o que então pode também ser correlacionado com gestações no período do inverno e propensão maior ao desenvolvimento de patologias psiquiátricas, uma vez que neste período do ano a exposição a vírus, como o da

influenza, é maior). No trabalho de Meyer e colaboradores (2005), os autores citam que esta influência infecciosa no desenvolvimento de doenças psiquiátricas seria crítica no terceiro trimestre de gravidez. Shi e colaboradores (2003) chegaram às mesmas conclusões, após observação de proles de animais cujas mães foram infectadas com vírus da influenza humana durante a gestação.

Por último, mas não menos importante, é necessário citar que em todas as patologias acima citadas (e também em algumas outras doenças psiquiátricas) ocorre uma alteração acentuada no ciclo de sono e vigília dos pacientes, seja este distúrbio a insônia ou a hipersonia (Benca *et.al.*, 1992; Ford *et.al.*, 1989). No quadro de depressão, por exemplo, é comum o paciente apresentar um despertar precoce (acordando horas antes do necessário) ou quadro de insônia inicial (dificuldade de iniciar o sono) (Guerra *et.al.*, 2004). Por sua vez, em quadros de mania, como já relatado em vários estudos, ocorre diminuição do tempo total de sono, sendo que o paciente relata uma menor necessidade de tempo de sono na maioria dos casos, embora outros tantos pacientes relatem insônia durante esta fase (Wooten *et.al.*, 1999). Por sua vez, na esquizofrenia, ocorrem grandes períodos de vigília em decorrência da agitação durante a fase de surto psicótico, como relatado por vários pacientes. Estudos mostram que os quadros de insônia parecem ter uma correlação com os surtos, sendo que tais quadros parecem preceder o próximo episódio de surto psicótico assim como o início de insônia em bipolares pode ser tomada como preditiva de uma virada maníaca nos pacientes (Benson *et.al.*, 2000). No caso dos pacientes bipolares, a maioria dos estudos correlaciona as alterações de sono com uma diminuição dos estágios 3 e 4 do sono nREM (sono de ondas lentas, no qual ocorrem os estágios 3 e 4 de sono, que são os estágios mais profundos, ou fase delta) (Benca *et.al.*, 1992; Wooten *et.al.*, 1999). Em esquizofrênicos, por sua vez, foram documentadas alterações durante o sono REM (fase do sono em que ocorrem os sonhos e que se caracteriza por um padrão específico de ondas cerebrais, ondas de baixa amplitude e alta frequência, além de movimento rápido dos olhos, daí a sigla REM, do inglês rapid eyes movement, e atonia muscular). As alterações observadas nos esquizofrênicos foram referentes a um aumento do sono REM, tanto em quantidade quanto em duração, e uma diminuição do tempo de sono nREM em minutos (Benca *et.al.*, 1992; Benson *et.al.*, 2000), sendo que antipsicóticos atípicos, como a olanzapina e a risperidona têm a característica de aumentar o tempo de sono nREM (Taylor, *et.al.*, 1991; Tandon *et.al.*, 1992). Para concluir, estudos como o

do grupo de Keshavan e colaboradores (1990) mencionam uma relação inversa entre o tamanho dos ventrículos cerebrais [cujo aumento já foi bem documentado em pacientes esquizofrênicos (van Kammen *et.al.*,1988)] e a quantidade e manutenção de sono nREM, além do agravamento dos sintomas negativos em pacientes esquizofrênicos.

1.4. Neurobiologia do desenvolvimento da psicose:

No presente trabalho serão discutidas agora as vias relacionadas a quadros de psicose, tanto referentes à esquizofrenia quanto a fase maníaca durante o TAB. Postula-se que haja um forte envolvimento das vias dopaminérgicas, serotoninérgicas e glutamatérgicas nas alterações cerebrais que ocorrem em ambas as patologias (Abi-Dargham *et.al.*, 1998; Farde, 1997; Deakin *et.al.*, 1989; Olney e Farben, 1995).

1.4.1. Via dopaminérgica:

A mais antiga teoria sobre alteração em neurotransmissores no quadro de psicose foi feita com a dopamina (van Rossum, 1966), porém esta relação ainda não é totalmente fundamentada por existirem poucos estudos diretos sobre os receptores dopaminérgicos e/ou neurotransmissor (Carlsson e Carlsson, 2006). A relação entre dopamina e psicose se baseia principalmente nos achados com antipsicóticos de primeira geração que têm por mecanismo de ação base a inibição dos receptores dopaminérgicos (van Rossum, 1966; Creese *et. al.*, 1976; Seeman *et al.*, 1975), sendo também suportada no fato de que substâncias que estimulam o sistema dopaminérgico, como a anfetamina e a cocaína, podem levar a quadros de psicose (Volkow *et.al.*, 1999; Childress e O'Brien, 2000).

A dopamina constitui cerca de 50% do conteúdo de catecolaminas cerebrais (norepinefrina, epinefrina e dopamina), estando envolvida em processos motivacionais, cognitivos, motores, ingestão de alimentos e secreções neuroendócrinas dependendo da via cerebral em questão, sendo que esta se encontra relacionada principalmente a regiões do mesencéfalo, substância negra, estriado, amígdala e diencéfalo (hipotálamo) (Kandel *et al.*, 2003; Missale *et.al.*, 1998). A dopamina faz parte do grupo das catecolaminas que são caracterizadas por

possuírem um grupo amina ligado a um anel benzênico com dois grupos hidroxil adjacentes, sendo que esta ainda apresenta uma cadeia lateral de etilamina ou de um derivado desta. A DA é sintetizada no cérebro, a partir do aminoácido tirosina, que é convertido em L-DOPA (L-1,3-diidroxifenilalanina) pela tirosina hidroxilase (TH), sendo que a L-DOPA é posteriormente descarboxilada e se torna a dopamina, através da ação da DOPA descarboxilase (Feldman *et.al.*, 1997). Esta dopamina então ficará armazenada em vesículas e será liberada na fenda sináptica somente após ativação do neurônio pré-sináptico, se ligando após a sua liberação a um receptor do tipo metabotrópico, ou seja, dependente de proteína G (Fig.2).

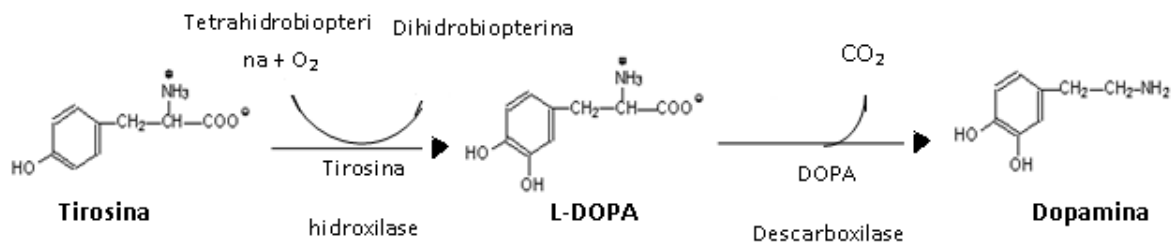


Fig.2 – Via de síntese da dopamina (Fonte: montada a partir de informações do livro Goodman e Gilman).

O processo de ativação de receptores pela dopamina ocorre através da ativação de duas famílias diferentes de receptores, a família D1 (receptores D1 e D5) e D2 (receptores D2, D3 e D4), sendo que tais receptores apresentam sete domínios transmembrana e são ligados a proteína G para ativação de sua cascata molecular (Girault e Greengard, 2011). A família D1 está relacionada à ativação de cascata do AMPc (adenosina monofosfato cíclico), ativação da via do fosfolipase C (com subsequente ativação de PKC) e com isso aumento dos Ca^{2+} intracelular pela via do IP3 (Missale *et.al.*, 1998). A família D2, por sua vez, está relacionados à inibição do AMPc e influxo de K^+ (o que hiperpolariza o neurônio e daí dificulta a geração do potencial de ação), sendo que neste grupo ainda existem os receptores D2 pré-sinápticos relacionados ao feed-back negativo da liberação de dopamina (Fig.3). Estas duas vias diferentes, inibição ou ativação de AMPc se dá pela ativação de diferentes proteínas G, a inibitória (G_i) e a excitatória (G_s), respectivamente (Gilman, 1995; Ma *et.al.*, 2010). Com aumento do AMPc, cujo precursor é o ATP (Sibley e Monsma, 1992; Herve *et.al.*, 1993; Missale *et.al.*, 1998, Goodman *et.al.*, 2006), teremos a ativação da proteína quinase A (PKA) e estimulação do sistema

dopaminérgico, que por sua vez, poderá modular a ação do sistema glutamatérgico (Raman et.al., 1996; Wang et.al., 1991, 1993; Missale et.al., 1998; Goodman et.al., 2006).

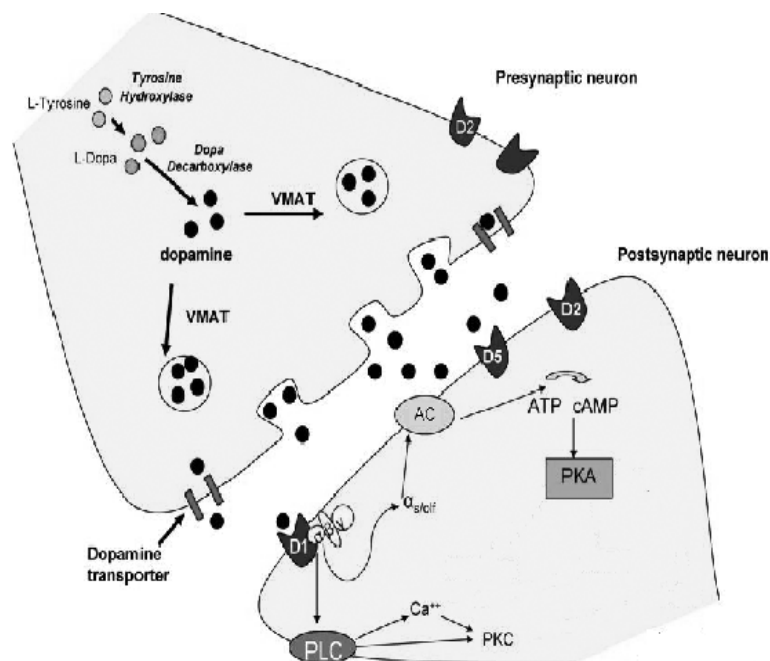


Fig.3: Ativação ou inibição do AMPc pelos receptores dopaminérgicos. Ao ser ativado um receptor da família D₂ ocorre a ativação da proteína G do tipo G_i e inibição do AMPc, o contrário ocorre quando se estimula um receptor da família D₁, que irá ativar a proteína G do tipo G_s e com isso estimular AMPc, que por sua vez estimulará a PKA, ou estimulará PCL, que por sua vez ativará PKC (adaptado de Knab, 2010).

Como já foi mencionado, estudos demonstram uma alteração nos níveis dopaminérgicos em pacientes esquizofrênicos, sendo observado o aumento de dopamina na via mesolímbica e a diminuição desta na via mesocortical (Stahl, 2002; Seeman et.al.,1993). Estudos também relacionam a alteração nos níveis de dopamina em pacientes bipolares, sendo que estes apresentam quantidades elevadas de DA na fase maníaca (sendo esta alteração principalmente quando ocorre quadro psicótico) e diminuição da DA na fase depressiva (Manki et.al., 1996; Diehl e Gershon, 1992; Willner, 1995).

As vias dopaminérgicas são classicamente divididas em quadro vias principais (Fig.4). A via mesolímbica tem projeções que saem da VTA (área tegmental ventral do mesencéfalo, área A10) para os axônios terminais das áreas límbicas cerebrais, sendo que suas fibras convergem para o feixe prosencefálico medial, indo para o bulbo olfatório, hipocampo, núcleo septal lateral, núcleo accumbens, núcleo do leito da estria terminal e complexo amigdalóide. Por esta via estar relacionada ao comportamento emocional, acredita-se que sua super-estimulação esteja envolvida

na sintomatologia positiva da psicose, pois o excesso de dopamina levaria a uma hiperestimulação dopaminérgica e quadros de alucinação e delírio. Estudos usando isótopo marcado de dopamina mostraram que existe uma hiper-sensibilidade de receptores D₂ na área mesolímbica na maioria dos pacientes esquizofrênicos, o que corrobora a teoria da hiper-estimulação dopaminérgica nesta área (Abi-Dargham *et.al.*, 2000). Posteriormente, foi mostrado também que os pacientes que apresentavam esta hiper-sensibilidade, após tratamento com antipsicótico apresentavam melhora significativa nos sintomas positivos da psicose, melhora esta bem mais marcante que a encontrada em pacientes onde não ocorria hiper-sensibilidade do receptor. Além disso, acredita-se que uma alteração na via serotoninérgica que interage com esta via levaria a incapacidade do paciente psicótico de conter seus estímulos (Domesick, 1988; Mongenson *et.al.*, 1988; Thierry *et.al.*, 1988).

Por sua vez, a via mesocortical projetada da VTA (área A10) para o córtex cerebral, principalmente para o córtex pré-frontal, envolvido em funções cognitivas como atenção, motivação, planejamento, e comportamento social. Acredita-se que esta via está relacionada aos sintomas negativos da esquizofrenia (como embotamento emocional e comprometimento cognitivo), sendo que tais sintomas então, seriam decorrentes de uma hipoatividade da via ou perda de neurônios (por hiper-funcionamento do sistema glutamatérgico) (Berman, 1968; Deutch, 1988). A relação entre a área cortical e os sintomas negativos foi feita pela primeira vez no trabalho de Davis e colaboradores (1991) e se baseia na observação da similaridade comportamental entre pacientes esquizofrênicos e pessoas com lesão do lobo frontal e conseqüente diminuição dopaminérgica na área. Acredita-se que a hipofuncionalidade desta via leve a uma hiper-expressão de receptores D₁ de dopamina (que são os predominantes nesta área) como uma medida compensatória à falta de dopamina na área, medida esta insuficiente para compensar a falta do neurotransmissor (Weinberger, 1987; Abi-Dargham *et.al.*, 2002).

Outra via é a nigroestriatal, que projeta da substância negra pars compacta (SNPc, área A9) para os gânglios da base (p.e. estriado) e está envolvida com o controle motor. Assim sendo a alteração do funcionamento desta via levam a um comprometimento motor, fato que se observa como efeito colateral de muitos fármacos antipsicóticos (Domesick, 1988; Mogenson *et.al.*, 1988; Thierry *et.al.*, 1988). Por último, a via tuberoinfundibular (área A12) é constituída de neurônios com

o corpo celular no hipotálamo e cujos axônios terminam na eminência média da hipófise e está relacionada com a liberação de hormônios desta glândula, como por exemplo a prolactina. A alteração desta via também é relacionada com efeitos colaterais de fármacos antipsicóticos como a galactorréia (produção de leite), e amenorréia (pausa da menstruação), além de distúrbios sexuais.

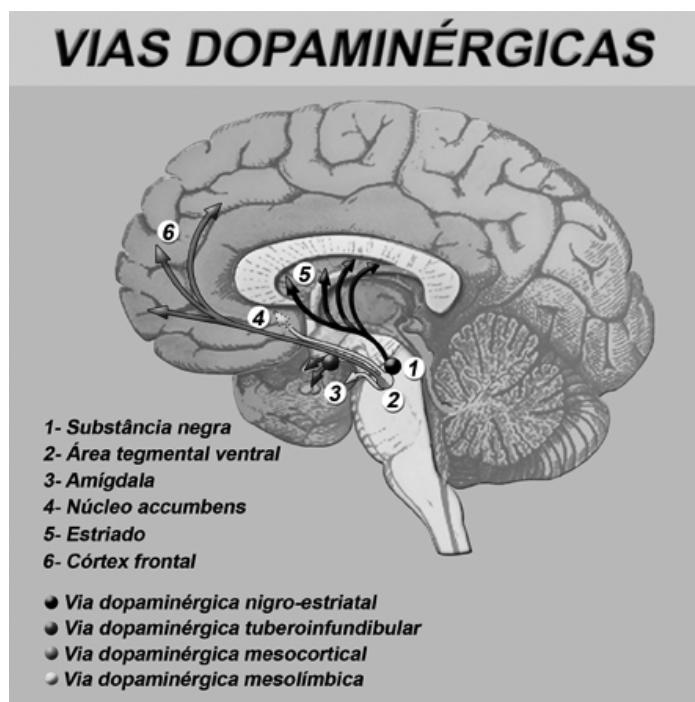


Fig 4. Vias dopaminérgicas e áreas do cérebro envolvidas (Fonte: USP – curso neurotransmissão).

1.4.1.1. Relação entre óxido nítrico e dopamina:

O óxido nítrico (NO) é uma molécula gasosa simples, presente no ar atmosférico em pequenas quantidades. Como apresenta em sua constituição um elétron livre, ou seja, é um radical livre, se torna tóxico e altamente reativo. A meia vida do NO é curta, cerca de 10 segundos, devido a sua instabilidade elétrica e em consequência, ele apresenta oxidação rápida, se tornando nitrito quando diluído (Green *et.al.*, 1981). Os primeiros pesquisadores a identificar a atividade do NO foram Furchgott e Zawadzki (1980), que identificaram sua atividade de relaxante de vasos sanguíneos em tecidos periférico. Posteriormente se verificou a existência do NO também em tecido cerebral (Snyder e Bredt, 1992). A população de neurônios que apresentam um componente nitrinérgico, ou seja, os neurônios que apresentam a nNOS (óxido nítrico sintase neuronal), é relativamente pequena quando

comparada a outras populações: cerca de somente 1%; porém pela alta concentração de ramificações desses neurônios eles conseguem suprir toda a necessidade de NO no SNC .

O óxido nítrico é um gás que apresenta uma função dupla no SNC: ele é um neurotransmissor atípico (ou seja, ele não apresenta o padrão típico de neurotransmissor, não sendo armazenado em vesículas e sendo sintetizado rapidamente nos neurônios de acordo com a demanda no sistema) e, por ser um gás, ele se difunde atravessando a membrana da célula precursora e assim atingindo os mais variados alvos e também atua como neuromodulador de outros neurotransmissores, como por exemplo, a dopamina (Bredt *et.al.*, 1991; Brenman e Bredt, 1996). Entre as atividades do óxido nítrico podem ser citadas a ativação do GMPc e com isso a ativação de proteína quinase e conseqüente fosforização de proteínas. Além desta atividade, o óxido nítrico também pode ser relacionado a modulação de neurotransmissores, como a dopamina, por exemplo, uma vez que ele atua inibindo a recaptação desta e aumentando o tempo de permanência da dopamina na fenda sináptica o que resulta em um maior tempo de atividade desta. Além destas atividades já citadas o óxido nítrico também tem sido relacionado ao estresse oxidativo e uma atividade neurotóxica no SNC (Salum *et.al.*, 2008; Calabrese *et.al.*, 2007; Barreto e Correia, 2005).

A síntese do óxido nítrico é dependente da ativação dos receptores NMDA (N-Metil-D-Aspartato), e por isso há uma correlação entre ativação do sistema glutamatérgico e a dopamina, uma vez que esta tem sua atividade modulada por óxido nítrico. O processo de síntese se dá através do aumento de cálcio intracelular que é dependente do influxo de cálcio após a abertura dos canais do receptor NMDA (Gally *et.al.*, 1990); para a ativação do receptor NMDA é necessária primeiramente a estimulação do receptor glutamatérgico AMPA (ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxalona propionato) que produz uma despolarização da membrana graças ao influxo de sódio; a ocorrência desta despolarização concomitantemente à ligação do glutamato e da glicina ao receptor NMDA, permite que o magnésio saia do poro do canal NMDA e assim ocorra sua abertura (Pláteník *et.al.*, 2000; MacDermott *et.al.*, 1986). Embora existam várias outras vias que possibilitariam o aumento do cálcio intracelular, somente a via dependente do receptor NMDA é efetiva para ativação da enzima nNOS, uma vez que esta se encontra ligada fisicamente ao receptor através da proteína PSD-95 (Brenman *et.al.*, 1996). Após o influxo de cálcio, este se liga à

calmodulina formando o complexo cálcio-calmodulina quinase II (CaMKII) que irá ativar a nNOS (hemoproteína da família do citocromo P-450 like). A ativação do nNOS leva a transformação de L-arginina em óxido nítrico e L-citrulina (Fig.5). A L-arginina é um aminoácido semi-essencial produzido no organismo, porém em quantidade insuficiente para todas necessidades e a sua síntese se dá a partir da citrulina nos túbulos renais (Snyder e Bredt, 1992). A via clássica de síntese do NO se inicia com a conversão de L-arginina em N^G-hidroxi-L-arginina pela ação do NADPH (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fostato-hidrogênio) e cálcio e posterior transformação da N^G-hidroxi-L-arginina em óxido nítrico e L-citrulina pelo NADPH e O₂ (Palmer *et.al.*, 1987).

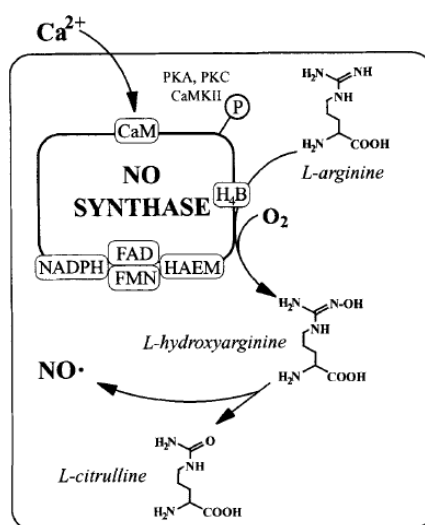


Fig.5 . Síntese do óxido nítrico a partir da L-arginina. Ativação da nNOS e produção de NO e citrulina a partir da L-arginina com substrato energético de NADPH (Fonte: Garthwaite (1993)).

Os efeitos citotóxicos do NO são decorrentes de sua capacidade de promover nitração de diferentes substâncias, como lipídios de membrana, proteínas, açúcares e DNA (Radi *et.al.*, 1991a e b; Beckman *et.al.*, 1990; Castro *et.al.*, 1994), levando a desestabilização da estrutura e posterior degradação. Além disso, o NO também reage com o superóxido (O₂⁻), formando espécies mais reativas deste, o peroxinitrito (ONOO⁻), relacionado com a morte celular induzida por NO e espécies nitrosil-metálicas, decorrentes da ação do NO em proteínas que contêm metais de transição, como a hemoglobina e a citocromo oxidase (McCleverty, 1979; Dawson *et.al.*, 1993).

Vários estudos têm corroborado a modulação da liberação e da recaptação tanto de dopamina quanto de glutamato pelo NO, sendo estes dois neurotransmissores comprovadamente envolvidos com a neuropatologia da psicose. Portanto o NO se torna um alvo promissor para o estudo de novos fármacos com atividade antipsicótica (Kiss e

Vizi, 2001; West, Galloway e Grace, 2002; Rocchitta *et.al.*, 2005). De fato, vários estudos de atividade antipsicótica em modelos animais têm sido feitos com substâncias que inibem a atividade da nNOS, como por exemplo o 7-NI (inibidor específico) e o L-NAME (inibidor inespecífico) e os resultados vêm corroborando com uma possível atividade antipsicótica através da inibição do NO (Wiley, 1998; West *et.al.*, 2002; Salum *et.al.*, 2008; Issy *et.al.*, 2009; Geyer e Ellembroek, 2003). Outros trabalhos também corroboram a teoria do envolvimento do NO em quadros de psicose, pois alguns estudos post-mortem revelaram alteração na população de neurônios com componente nitrinérgico em cérebros de esquizofrênicos, mostrando nestes a existência de uma hiperfuncionalidade na via mesolímbica e uma hipofuncionalidade na mesocortical, o que explicaria os sintomas positivos e negativos do quadro de psicose (Akbarian *et.al.*, 1993; Garcia-Rill *et.al.*, 1995).

1.4.2. Relação PKC e psicose:

A proteína quinase C (PKC) é na verdade um grupo de enzimas que apresentam em comum a ativação dependente de cálcio e fosfolipídios e se encontram em grande quantidade no cérebro, tendo por função neste a regulação da excitabilidade neuronal, liberação de neurotransmissores, expressão gênica e plasticidade sináptica (Nishizuka 1986, 1988). A ativação de PKC pode aumentar a liberação de neurotransmissores por mecanismos como o aumento na atividade dos canais de Ca^{2+} , a inibição dos canais de K^+ , alterações na maquinária de exocitose, aumento no pool de vesículas prontas, ou aumentando a sensibilidade ao Ca^{2+} da maquinária de liberação (Giordano *et.al.*, 2005; Jung *et.al.*, 2005). Particularmente em relação à liberação de glutamato, além da atividade de PKC e PKA aumentarem a liberação deste, também atuam inibindo as vias GABAérgicas inibitórias, aumentando assim a atividade glutamatérgica (Sigel, 1995). Esse grupo de enzimas desempenha um papel importante na homeostase de receptores de monoaminas ($\alpha 1$, 5-HT_{2A} e 2C), colinérgicos (M₁, M₃ e M₅), para vasopressina e substância P. Além desta atividade na homeostase destes sistemas, estudos também têm mostrando uma relação entre a PKC e a produção do NO, uma vez receptores que NMDA podem ser modulados através de fosforilação/defosforilação por enzimas como a PKC (Gerber *et.al.*, 1989; Chen e Huang, 1992), a PKA (Raman *et.al.*, 1996)

e a CaMKII (Omkumar *et.al.*, 1996). Estas quinases então atuam fosforilando o NMDA_R e aumentam sua atividade e conseqüentemente a produção de NO.

A ativação da PKC é dependente de proteína G (excitatória do tipo Gq). A ativação da Gq fará com que a PLC (fosfolipase C) clive PIP₂ (fosfatidilinositol) em IP₃ (inositol trifosfato) e DAG (diacilglicerol), que por sua vez irão respectivamente aumentar o cálcio intracelular e ativar a PKC. A ativação da PKC por DAG aumentará sua afinidade Ca²⁺ e pelos fosfolípidos de membrana (Berridge *et.al.*, 1982) e fará com que esta se transloque do citosol para a membrana (Weiss *et.al.*, 1989). Outras duas vias possíveis de ativação da PKC são por proteínas tirosina-quinase e por IP3-K (fosfoinositol 3 quinase), que está relacionada com a clivagem e formação de PIP₂ a partir do mio-inositol (Serova *et.al.*, 2006). A família das PKCs é um grande grupo de proteínas cuja estrutura é relacionada, mas que apresentam porém padrão de efeito enzimático bem distinto. As PKCs são divididas em três grupos: convencionais (cPKC: α, βI, βII e γ), novas (nPKC: δ, ε, η e θ) e atípicas (aPKC: λ e ζ) (Hahn e Friedman, 1999), entre estes subtipos sempre haverá quatro regiões conservadas (C1-C4) e cinco regiões variáveis (V1-V5) e é na região conservada C1 que haverá a ligação do DAG para ativação da proteína e o ancoramento desta na membrana.

Estudos têm mostrado alteração na PKC nos pacientes bipolares, sendo observado, em plaquetas, um aumento da translocação desta do citosol para a membrana (Hanh *et.al.* 2005). Além disso, em estudos post-mortem de pacientes bipolares, foi observado um aumento da PKC ativa na área do córtex frontal (Wang e Friedman 1996). Interessante notar que substâncias psicoestimulantes, que podem levar a um quadro de mania em pessoas susceptíveis, apresentam como um dos alvos de ação a ativação da PKC. Nos estudos feitos sobre com pacientes bipolares na fase maníaca e aumento de PKC, foi observada a diminuição desta após tratamento com estabilizadores de humor (Hanh *et.al.* 2005).

Estudos mostram que fármacos estabilizadores de humor, como o lítio e o valproato, atuam nos subtipos α e ε da PKC, inativando-os. Embora estes atuem em sítios diferentes, o padrão de ação destes estabilizadores parece ser, ao menos em parte, devido a diminuição da ativação da PKC, tendo sido ainda demonstrada uma ação destes fármacos nos substratos de formação da PKC, como, por exemplo, a MARKS (Myristoylated alanine-rich C kinase substrate) (Hahn e Friedman, 1999;

Manji e Lenox, 1999; Manji e Chen, 2002; Watson e Lenox, 1996). Uma ação nestes subtipos da enzima também foi observada em um estudo feito com o haloperidol (fármaco antipsicótico), tornando então possível uma correlação entre a modulação da PKC e melhora de pacientes com quadro de psicose (Manji *et.al.*, 1996). Por último, um novo fármaco introduzido no mercado, o tamoxifeno, cuja atividade no quadro de mania do transtorno bipolar foi documentada tanto em modelos animais quanto em humanos (Sabione *et.al.*, 2008; Yildiz *et.al.*, 2008), apresenta como mecanismo de ação a diminuição da atividade da PKC. O tamoxifeno também se mostrou útil no controle dos sintomas psicóticos em pacientes bipolares (Kulkarni *et.al.*, 2006; Yildiz *et.al.*, 2008), corroborando a teoria de que a PKC pode ter atividade sobre o quadro de psicose.

1.4.3. Via glutamatérgica:

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do SNC, estando envolvido no desenvolvimento e sobrevivência neuronal; em funções cerebrais vinculadas à aprendizagem e memória; sendo também relacionado a mediação de comunicação intercelular, plasticidade, crescimento e diferenciação neuronal (Izquierdo 1989; Meldrum, 2000; Aarts e Tymianski, 2003). Os receptores glutamatérgicos podem ser de dois tipos, os metabotrópicos (famílias I a III) e os ionotrópicos (chamados de ativação rápida, que são os receptores NMDA, AMPA e Kainato). Os receptores metabotrópicos são dependentes de proteína G, após sua ativação eles irão ativar mecanismos de segundo mensageiros, a saber AMPc (tipo II e III) ou PCL (tipo I), dependendo do subtipo de receptor metabotrópico ativado (Swanson *et.al.*, 2005; Ahmadian *et.al.*, 2004).

Uma das funções do sistema glutamatérgico seria o controle da liberação de dopamina, mas na verdade o que ocorreria seria uma co-modulação entre os dois sistemas. De acordo com esta proposta as projeções que saem da VTA teriam a liberação de neurotransmissor estimulada por atividade glutamatérgica e inibida por atividade GABAérgica (Jentsch e Roth, 1999), sendo que em indivíduos normais, esses dois sistemas de controle são equilibrados, ou seja, um é capaz de inibir o outro (Fig.6). Em pacientes psicóticos ocorreria uma hipo-atividade do glutamato e hiper-atividade GABAérgica na via mesolímbica e o oposto na via mesocortical, sendo que estes achados foram corroborados com achados de estudos post-mortem

de expressão de mRNA (Lewis *et.al.*, 2005; Harrison *et.al.*, 2003). Ao mesmo tempo em que os neurônios dopaminérgicos são controlados pela atividade dos receptores NMDA (que estariam relacionados à atividade glutamatérgica e a estimulação de produção e liberação de NO) estes seriam modulados pela atividade da dopamina, uma vez que a estimulação de receptores D₂ inibiria a atividade dos receptores NMDA e a estimulação de D₁ teria o efeito oposto (Cepeda e Levine, 1998; Abi-Dargham e Laruelle, 2005). Ainda nesta linha de co-modulação de dopamina-glutamato (ou glutamato-dopamina), pesquisadores como Jentsch e Roth (1999) postulam que as alterações dopaminérgicas que ocorrem na psicose são na verdade uma conseqüência de uma alteração base, que é a glutamatérgica, surgindo assim a hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. Esta teoria glutamatérgica é corroborada por estudos de pesquisadores como Javitt e Zukin (1991), Krystal e colaboradores (1994) e Lahti e colaboradores (1995), que relacionam o uso de antagonistas do receptor NMDA, como o PCP e a quetamina, e a indução de sintomas psicóticos tanto negativos quanto positivos.

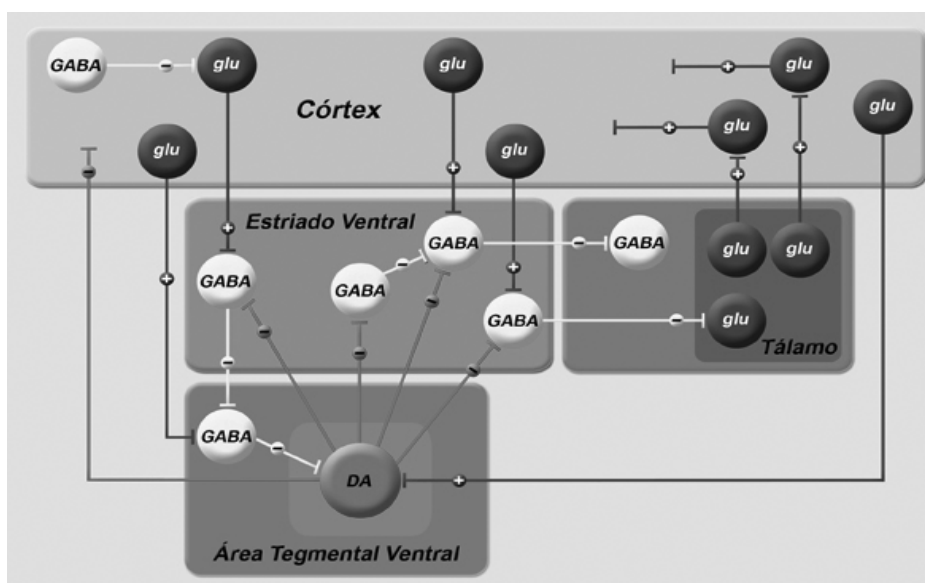


Fig. 6 – Sistema de estimulação e inibição dopaminérgica via glutamato e GABA. Projeções glutamatérgicas corticais (excitatórias) ativam as vias dopaminérgicas na área tegmental ventral. A dopamina atua inibindo o estriado ventral e este o tálamo, estrutura que transmite as informações sensoriais para o córtex. Se um excesso da transmissão tálamo-cortical ocorrer, devido à diminuição da atividade glutamatérgica e aumento da função dopaminérgica (desinibição da via dopaminérgica mesolímbica), sintomas positivos podem aparecer. (Sinal + indica sinapses excitatórias e sinal – sinapses inibitórias. DA- dopamina; glu- glutamato e GABA- ácido gama-aminobutírico.) (Fonte: USP – curso neurotransmissão)

Por último é importante também citar a atividade excitotóxica do glutamato, que é decorrente do influxo excessivo de íons sódio e cálcio na célula pós-sináptica e conseqüente dano a sua função, levando à morte celular (Lynch *et.al.*, 2002; Waring *et.al.*, 2005). A morte celular nesse caso é decorrente, principalmente, do influxo excessivo de cálcio em conseqüência da estimulação glutamatérgica excessiva dos receptores NMDA; com o influxo exacerbado de cálcio há sobrecarga dos mecanismos reguladores de íons na célula, como os desempenhados pela mitocôndria, que mantém a concentração de cálcio intracelular baixa. A conseqüência desta desregulação é uma ativação de diversos processos dependentes de cálcio, como o aumento da atividade de proteases, lipases, fosfatases e endonucleases que medeiam a morte celular (Arundine *et.al.*, 2003; Hynd *et.al.*, 2004). A toxicidade glutamatérgica tem sido diretamente relacionada a uma maior expressão de PKC ϵ no cérebro e de acordo com os estudos de Jung e colaboradores (2005), a inibição desta isoforma da PKC levaria a uma neuroproteção da excitotoxicidade mediada por estimulação exagerada por glutamato.

1.5. Tratamento:

A história da utilização de antipsicóticos na clínica teve início em 1952 (Delay *et.al.*, 1952), com a introdução do primeiro antipsicótico, a clorpromazina (AMPLICTIL, LARGACTIL), pelo médico francês Henri Laborit. Foi com este marco da história da psiquiatria que houve uma revolução no tratamento dos pacientes que apresentavam quadro psicótico agudo (*Esquizofrenia, Fase Maníaca do transtorno bipolar e Psicoses Orgânicas*) e em decorrência deste, até este momento, eram obrigados a viver nos chamados hospícios, longe do convívio familiar e social. A partir deste momento, vários outros fármacos foram testados, seu potencial terapêutico estabelecido e em pouco mais de duas décadas já se encontravam no mercado dezenas de fármacos para o tratamento dos quadros de psicose. Porém, ao mesmo tempo em que se aumentavam o número de novos fármacos, os tratamentos começam a mostrar seus efeitos colaterais, tanto os de curto quanto de longo prazo, o que inviabilizava muitos dos fármacos tidos como candidatos ao uso clínico para tratamento da psicose (Novick *et.al.*, 2009; Fleischhacker, 1995). Este quadro ocorre até hoje e nos encontramos em uma situação onde, apesar dos muitos fármacos existentes, em decorrência dos efeitos colaterais ou da não

responsividade do paciente ao tratamento, se torna necessária a constante pesquisa em busca de fármacos mais efetivos e que apresentem efeitos adversos mais brandos.

A busca por novos agentes antipsicóticos se deu principalmente na pesquisa de substâncias que fossem capazes de diminuir os sintomas positivos da psicose, tratar os efeitos negativos e que apresentassem a menor quantidade possível de efeitos colaterais, como o SEP (Fleischhacker, 1995). A primeira substância que apresentava este perfil, foi a clozapina, sintetizada pela primeira vez em 1958, porém só comercializada a partir da década de 70 (Meyer e Simpsom, 1997), sendo o mérito de tal descoberta de John Kane, responsável pela introdução da clozapina na clínica. Posteriormente, na década de noventa, vários agentes antipsicóticos atípicos foram colocados em mercado (Lieberman, 1993). Entretanto os antipsicóticos atípicos também apresentam efeitos adversos significativos como distúrbios metabólicos importantes, o que faz limitado o seu emprego.

1.5.1 Antipsicóticos típicos:

Os representantes da classe de antipsicóticos típicos são fármacos como o haloperidol, clorpromazina, flufenazina, tioridazina, flupentixol e loxapina (Goodman *et.al.*, 2006). Estes antipsicóticos clássicos têm por representantes substâncias como fenotiazinas (clorpromazina, flufenazina, pefenazina, tioridazina e trifluoropenazina), butirofenonas (haloperidol) e tioxantenos (tioxeno).

O primeiro antipsicótico utilizado, a clorpromazina, atua bloqueando os receptores pós-sinápticos dopaminérgicos no cérebro, sendo que em maior ou menor grau, todos os antipsicóticos típicos atuam bloqueando os receptores dopaminérgicos nas quatro vias dopaminérgicas existentes (nigro-estriatal, túbero-infundibular, mesolímbica e mesocortical). Seus efeitos extrapiramidais são vinculados à via nigro-estriatal; a elevação da prolactina e outros efeitos neuroendócrinos à sua ação na via *túbero-infundibular*, e efeitos antipsicóticos e eventuais efeitos adversos cognitivos ao bloqueio *mesolímbico* e *mesocortical*, respectivamente (Wise, 2004).

As *fenotiazinas*, das quais a clorpromazina foi o protótipo, têm uma estrutura com três anéis na qual a cadeia lateral ligada ao N do anel tiazina (médio) explica as variações entre os compostos e a sua estrutura básica, que imita a estrutura química da dopamina, permitindo sua ação nos receptores dopaminérgicos (Fig.7). Em

termos farmacológicos, o pico plasmático destes fármacos se dá em média entre 2 e 4 horas após a administração e o tempo de meia vida dos fármacos fenotiazínicos é bastante variável, sendo entre 16 e 78 horas; elas sofrem forte metabolismo hepático, o que faz com que sejam necessárias grandes doses quando administrado via oral (Frota, 2003; Buschmann *et.al.*, 2007).

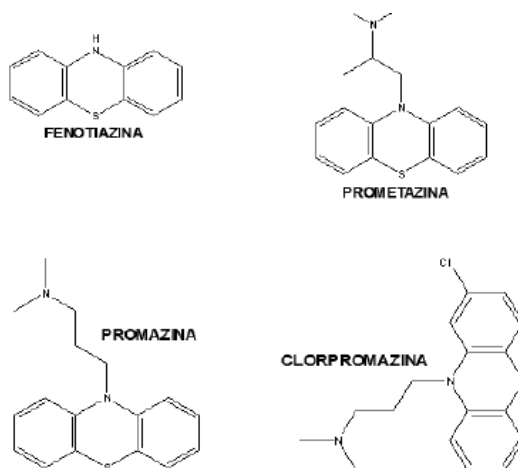


Fig. 7: Similaridade química das estruturas fenotiazínicas com efeito antipsicótico (Fonte: Frota (2003)).

Em relação aos compostos tioxantenos, estes apresentam grande similaridade com as fenotiazinas, sendo a diferença básica é a substituição do anel fenotiazínico por um anel tioxantênico (Fig.8). Apresentam metabolismo hepático e meia-vida entre 10 e 20 horas e pico plasmático de aproximadamente 210 minutos. A introdução destes compostos e os estudos de sua capacidade antipsicótica se deu pelos estudos da equipe de Povl Viggo Petersen na Dinamarca na década de 60 (Frota, 2003; Buschmann *et.al.*, 2007; Goodman *et.al.*, 2006). Como no caso das fenotiazinas, somente os isômeros de conformação *cis* dos tioxantenos apresentam atividade antipsicótica, pois somente estes conseguem se ligar ao receptor dopaminérgico e assim produzir ação (Carlsson *et.al.*, 1976).

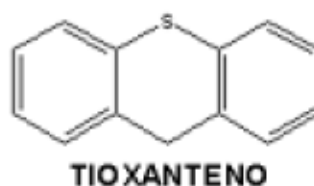


Fig.8 – Estrutura básica de um tioxanteno (Fonte: Frota (2003)).

Em relação às butirofenonas, o principal representante é o haloperidol, um dos fármacos mais usados no mundo para o tratamento dos sintomas psicóticos, e que apresenta ação sobre os receptores dopaminérgicos até 50 vezes mais intensa que a clorpromazina (Buschmann *et.al.*, 2007). As butirofenonas não apresentam relação estrutural com os outros dois representantes dos antipsicóticos tricíclicos, porém, apesar de tal diferença, estes também apresentam atividade antipsicótica. O processo de síntese destes compostos foram chefiadas pelo pesquisador Paul Jansen, que observou que substâncias sintetizadas em seu laboratório apresentaram efeito depressor do sistema nervoso central. A substância base desta pesquisa foi o descongestionante das vias aéreas conhecido como isopramina, cuja estrutura foi sendo alterada até chegar à composição do haloperidol (Fig.9).

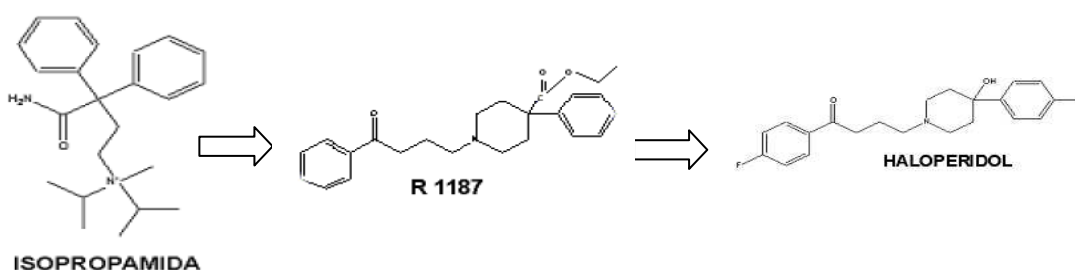


Fig.9 – Composto base que originou a primeira butirofenona, o composto R1187, que posteriormente deu origem ao haloperidol (Fonte: adaptado de Frota (2003)).

As butirofenonas apresentam meia vida de aproximadamente 18 horas, tendo boa absorção por via oral, com biodisponibilidade de cerca de 70% e alta taxa de ligação à proteínas plasmáticas (Buschmann *et.al.*, 2007; Goodman *et.al.*, 2006); o pico plasmático destas se dá em torno de 4 a 6 horas quando administrado via oral e de 30 minutos quando aplicado via intramuscular.

A ação dos antipsicóticos típicos é determinada principalmente por sua ação sobre os receptores dopaminérgicos do tipo D₂, entretanto, estes também apresentam, em menor grau, uma ação anticolinérgica, que é responsável por alguns dos efeitos colaterais (Stahl, 2002). Dentre os efeitos do bloqueio colinérgico muscarínico, temos turvação da visão, aumento da pressão intra-ocular, boca e olhos secos, constipação e retenção urinária; também pode ocorrer efeito antagonista nos receptores adrenérgicos α₁, promovendo sonolência, tontura e diminuição da pressão arterial (Kaplan, Sadock e Grebb, 1997). Detalhe interessante é que quanto maior a atividade muscarínica do antipsicótico, menos ele provoca

SEP, e quando menor o efeitos anticolinérgicos, mais ele provocará SEP.

O efeito dos antipsicóticos no sistema dopaminérgico é dependente da dose empregada. Tal efeito poder ser tanto pré quanto pós sináptico, mas é o pós sináptico o determinante da ação antipsicótica, porém em doses elevadas tais fármacos podem acabar por atuar em receptores pré-sinápticos também. O efeito antipsicótico é decorrente do bloqueio dopaminérgico na via mesolímbica, esse bloqueio tem o efeito de reduzir a hiperatividade em tal via, que é considerada a causadora dos sintomas positivos da psicose (Gama *et.al.*, 2003).

O maior problema dos antipsicóticos típicos é que eles exercem seu efeito de bloqueio dopaminérgico em todas as vias dopaminérgicas. O bloqueio na via mesocortical, por exemplo, leva a uma piora dos sintomas negativos da psicose, como um aumento no embotamento emocional e nos déficits cognitivos (Stahl, 2002).

Por sua vez, o bloqueio da via túbero-infundibular leva a quadros como galactorréia e amenorréia (por aumento da prolactina plasmática), por diminuir a atividade dopaminérgica que por sua vez controla a atividade de liberação de hormônios pela hipófise (Kane, 2001). E a ação anti-histamínica, nos receptores H₁, destes fármacos leva ao ganho de peso (Goodman *et.al.*, 2006).

Por último, a inibição dopaminérgica da via nigroestriatal, via envolvida no controle motor, leva a perturbações motoras e um quadro de efeitos similares aos observados pela depleção de dopamina na doença de Parkinson, ou seja, desenvolvimento de efeitos extrapiramidais efeito conhecido como parkinsonismo induzido por droga (Burt *et.al.*, 1977; Frederico *et.al.*, 2008). Quando o bloqueio dopaminérgico na via nigroestriatal se prolonga por muito tempo, pode levar ao desenvolvimento da discinesia tardia, que é um distúrbio de movimento hiperkinético; no quadro de discinesia tardia, o paciente apresenta movimentos faciais e da língua, como mastigação constante, protrusão da língua, caretas, assim como movimentos dos membros, que podem parecer rápidos, abruptos ou coreiformes. Acredita-se que a discinesia tardia é decorrente da longa inibição dopaminérgica nesta via, que acaba levando a uma hipersensibilidade dos receptores dopaminérgicos, que ficarão supra-regulados, talvez na tentativa de superar o bloqueio induzido pelo fármaco (Stahl, 2002). Outros efeitos colaterais são a acatisia (que é uma síndrome caracterizada por um quadro de ansiedade, uma incapacidade de relaxar, o paciente fica se movimentando de um lado para outro,

apresentando uma necessidade de constante movimento) (Goodman *et.al.*, 2006; Frederico *et.al.*, 2008), e a distonia aguda (caracterizada por espasmos involuntários dos músculos, principalmente em troncos e membros e levando o paciente a adotar posturas bizarras) (Kang *et.al.* 1988).

1.5.2 Antipsicóticos atípicos:

Os antipsicóticos tidos como atípicos que apresentam maior utilização hoje em dia são a clozapina, a risperidona, a olanzapina, a quetiapina e a ziprasidona, porém existem outros agentes que são considerados como apresentando um padrão de atividade atípico, como o sertindol, a asenapina e paliperidona (Elkis e Louzã, 2007). Estes fármacos apresentam como vantagem a não apresentação de efeitos motores (efeitos extrapiramidais, a menos que em doses muito altas), além de demonstraram maior eficácia no tratamento dos sintomas negativos, dos distúrbios cognitivos e dos sintomas depressivos, ou seja, apresentam um maior espectro de ação que os antipsicóticos de primeira geração ou típicos (Möller, 2000). Porém, apresentam outros efeitos colaterais como o ganho de peso, distúrbio de metabolismo de lipídios e de utilização de glicose, além de, no caso da clozapina, haver o risco do desenvolvimento de agranulocitose, e em consequência de tal risco, a necessidade de acompanhamento hematológico constante (Bushe e Holt, 2004).

Os atípicos apresentam um padrão diferenciado de ação em relação aos antipsicóticos típicos, que se deve ao fato de os antipsicóticos atípicos agirem tanto em receptores dopaminérgicos quanto serotoninérgicos, (D_2 e $5-HT_2$, especificamente). É sabido que estes receptores apresentam uma relação de modulação, ou seja, a liberação de dopamina é mediada em parte pela ação da serotonina e vice-versa (Meltzer *et.al.*, 2003). Neste padrão de modulação, o aumento da serotonina levaria a uma diminuição da liberação de dopamina, sendo que esta modulação se deve ao fato da presença de receptores serotoninérgicos inibitórios tanto no corpo celulares quanto nos axônios dopaminérgicos terminais (Stahl, 2002). Outra teoria existente é a de que os fármacos atípicos teriam uma menor especificidade pelos receptores D_2 , quanto comparado aos típicos, ocorrendo então uma mais rápida dissociação destes e, com isso, quando menor a quantidade de receptores na área, menor seria o efeito do antagonismo dopaminérgico nesta área (Kapur e Seeman, 2000; 2001). Um fator importante de se ressaltar é que, o

grupo de antipsicóticos atípicos apresenta, além destas características citadas acima, uma gama de outras ações, ou seja, o que os define enquanto grupo é a presença de ação sobre os receptores D_2 e $5-HT_{2A}$, porém estas não são suas únicas ações. Exemplos de outros alvos destes fármacos são os receptores histamínicos H_1 (em que a clozapina, olanzapina, quetiapina, zotepina e loxapina agem), adrenérgicos α_1 (em que a clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina e ziprazidona agem) e α_2 (em que clozapina, risipiridona e quetiapina agem) que são alvos da maioria desses fármacos e outros receptores mais específicos em que apenas alguns deles como o dopaminérgico D_1 e D_4 (em que somente clozapina e olanzapina atuam) (Stahl, 2002).

A importante característica de não causar efeitos extrapiramidais destas substâncias se deve ao fato delas atuarem de maneira seletiva nas quatro vias dopaminérgicas, o que ocorreria em consequência do padrão de concentração de receptores serotoninérgicos versus dopaminérgicos em cada via. Assim, na via mesolímbica, onde ocorre uma maior concentração de receptores dopaminérgicos que serotoninérgicos, haverá inibição da liberação de dopamina, porque o antipsicótico se ligará preferencialmente a receptores dopaminérgicos. Em consequência disto, haverá uma maior liberação de serotonina, que por si só atuará na inibição da liberação de dopamina, mas que porém não é suficiente para reverter a liberação de DA por si só; mas a ligação do fármaco ao receptor D_2 em si, por este ser um antagonista competitivo do tipo reversível, é eficiente no bloqueio da hiperatividade dopaminérgica e controle dos sintomas positivos (Agid *et.al.*, 2008; Stahl, 2002; Meltzer, 1991).

Em relação às vias mesocortical, nigroestriatal e túbero-infundibular por sua vez, como nestas ocorre uma maior expressão de receptores serotoninérgicos, o bloqueio seria oposto, ou seja, haveria mais bloqueio serotoninérgico que dopaminérgico. Assim a serotonina não agiria inibindo a liberação de dopamina e em soma haveria uma ocupação bem menor dos receptores dopaminérgicos pelo fármaco, assim sendo, haveria restabelecimento da concentração normal de dopamina nestas áreas (Stahl, 2002; Goodman *et.al.*, 2006; Agid *et.al.*, 2008). O aumento da dopamina na via mesocortical seria o responsável pela melhora dos sintomas negativos da esquizofrenia. Além disto, na via nigroestriatal não haveriam os sintomas colaterais relacionados com o controle motor (como acatisia e discinesia tardia, por exemplo), e na via túbero-infundibular, haveria restabelecimento do

controle dopaminérgico sobre a liberação da prolactina e em consequência o paciente não apresentaria quadros como galactorrêia e amenorréia (Stahl, 2002; Burns, 2001; Goodman *et.al.*, 2006).

O primeiro antipsicótico atípico a ser lançado no mercado foi a clozapina, ela foi lançada em 1960 e a sua utilização foi grandemente difundida, até que em 1970, por causa das relativamente altas taxas de morte em decorrência de seu uso, estudos realizados estabeleceram o que com o uso desta há risco de desenvolvimento da agranulocitose (patologia sangüínea que se caracteriza por redução ou ausência de leucócitos granulados, a saber, neutrófilos, basófilos e eosinófilos, o que conseqüentemente leva a uma maior suscetibilidade de quadro infeccioso), o que é um fatal. Porém este fármaco não foi tirado do mercado e a observação desua maior eficácia em pacientes esquizofrênicos refratários aos outros antipsicóticos, reavivou o interesse pela clozapina. A clozapina é o antipsicótico com o perfil farmacológico mais complexo e a opção mais viável para os pacientes refratários a outros fármacos, que para seu uso devem ter hemogramas monitorados semanalmente (Buchanan, 1995; Haddad e Sharma, 2007). Posteriormente a este fármaco, outros foram lançados com o mesmo padrão atípico de atuação, que embora não tão efetivos quando a clozapina (mesmo a olanzapina, cuja estrutura química é relacionada à da clozapina), não apresentam o risco de desenvolvimento de quadro de agranulocitose.

1.6. Modelos animais para estudo de fármacos antipsicóticos:

Apesar de todos os progressos que a ciência tem alcançado para o estudo do cérebro humano em funcionamento, utilizando ferramentas como a ressonância magnética, por exemplo, e outros métodos de imagiamento cerebral, ainda estamos muito aquém de conseguirmos com tais técnicas compreender os processos de funcionamento cerebral e as alterações que levam as patologias. Doenças psiquiátricas atingem uma parcela considerável da população e trazem aos afetados grande perda na qualidade de vida e na capacidade de interação social (Kessler *et.al.*,2005), então se torna necessário a criação de métodos alternativos e eficazes para melhor tentar entender os mecanismos fisiológicos e moleculares que permeiam tais patologias (Markou *et.al.*,2009).

Infelizmente os modelos animais utilizados hoje em dia tropeçam em

problemas como baixa validade preditiva e capacidade de extrapolação para humanos (Markou *et.al.*,2009). Os modelos existentes hoje conseguem fazer uma avaliação inicial da ação das substâncias com possível atividade antipsicótica, estabelecendo através da comparação com o padrão exibido por drogas antipsicóticas clinicamente eficazes, se a nova substância terá potencial para atuar tanto nos sintomas positivos quanto negativos da psicose. Além disso, existem testes capazes de estabelecer se a substância em questão levará ou não a precipitação de efeitos extrapiramidais. Os modelos podem ser empregados no intuito de avaliar tanto a atividade do sistema dopaminérgico quando glutamatérgico, bastando para isso alterar o sistema que será estimulado para levar a alteração comportamental que mimetize algum comportamento típico de psicose (Salgado *et.al.*, 2006; Porsolt *et.al.*, 2010).

Primeiramente abordando dos sintomas positivos da esquizofrenia, conseguir reproduzir comportamentos como alucinações e delírios em modelos animais seria impossível, portanto para a avaliação dos sintomas positivos o que normalmente se utiliza são modelos de agitação motora, típica em quadro de psicose (Geyer e Ellenbroek, 2003). Os modelos mais utilizados para indicativo de ação de droga em sintoma positivo são os de estereotipia e hiperlocomoção, sendo que ambas podem ser estimuladas por agonistas dopaminérgicos como a anfetamina e a apomorfina, variando para tanto somente a dose, pois para a estimulação de estereotipia é necessária uma dose maior da substância. Substâncias que apresentem um padrão de atividade antipsicótica irão inibir o comportamento estereotipado (decorrente da superestimulação de receptores D₂ no estriado) ou a hiperlocomoção (estimulada pela ativação de receptor D₂ no núcleo accumbens) (Costall *et.al.*, 1982). A resposta que será obtida será somente relacionável à capacidade do fármaco de reverter a estimulação dopaminérgica. Outro teste também utilizado para avaliação de sintomas positivos é o de climbing induzido por apomorfina, onde se avalia a hiperatividade manifestada por ato constante de escalada do animal; assim sendo, o bloqueio do climbing seria tido como indicativo de atividade antipsicótica de substância. Tem sido proposto que, qualquer substância com ação antipsicótica seria capaz de inibir a hiperlocomoção, porém aquelas com um padrão de ação similar à dos antipsicóticos típicos seriam mais ativas no teste de estereotipia do que as com padrão de resposta similar à dos antipsicóticos atípicos, pois os antipsicóticos típicos apresentam efeito não seletivo sobre as vias dopaminérgicas e

portanto mais perceptível que os atípicos que terão uma maior atuação somente de bloqueio dopaminérgico no sistema mesolímbico (O'Neill e Shaw, 1999; Leite *et.al.*, 2008). Estudos também têm empregado o bloqueio glutamatérgico de receptores do tipo NMDA para mimetizar a hiperatividade que ocorre em quadros de psicose. Os resultados do bloqueio dos receptores NMDA com substâncias como quetamina e dizocilpina (Coyle *et.al.*, 2003) são similares aos observados com os agonistas dopaminérgicos, sendo a diferença básica entre eles, que no bloqueio de NMDA a resposta é mais consistente com antipsicóticos atípicos (como a olanzapina e a clozapina) que com os antipsicóticos clássicos (Leite *et.al.*, 2008). É interessante notar que testes de hiperlocomoção induzida por anfetamina também são utilizados como modelo para delineamento de atividade antimaniáca de substâncias e que substâncias que apresentam como mecanismo de ação a inibição da atividade da PKC, como o lítio, o valproato e o tamoxifeno se mostram capazes de reverter a hiperlocomoção (Geyer e Ellembroek, 2003; Sabione *et.al.*, 2008). Outro teste capaz de avaliar uma possível ação típica ou atípica de antipsicóticos é o teste da pata. Neste teste, a atividade antipsicótica é mensurada pela capacidade do fármaco em produzir uma rigidez muscular das patas do animal: quando aplicado o antipsicótico típico a rigidez se dá em grau similar nas patas traseiras e dianteiras, em contrapartida em antipsicóticos atípicos o efeito, observado com a aplicação de baixas doses da substância, se dá apenas nas patas traseiras (Ellenbroek e Cools 1988). Já no teste de catatonía avalia o potencial da droga em induzir sintomas extrapiramidais (SEP). Neste teste, a avaliação comportamental é feita no âmbito de analisar a capacidade do fármaco em causar um enrijecimento das patas do animal inibindo assim seu comportamento normal, ou seja, o animal perde a capacidade normal de movimentação e fica catatônico, apresentando dificuldade em alterar a posição em que é colocado (Pires *et.al.*, 1996; Bardin *et.al.*, 2006). Antipsicóticos típicos produzem tal comportamento, enquanto os atípicos não produzem catatonía ou necessitam de uma dose muito elevada para apresentar tal efeito.

Em relação aos sintomas negativos, alguns testes são empregados tanto para demonstrar as alterações no aprendizado (relacionados com a capacidade cognitiva) quando para demonstrar a perda do prazer e o desajuste em relação ao comportamento social (anedonia e embotamento social, respectivamente). Em relação à anedonia, que é caracterizada pela perda do prazer, o teste melhor estabelecido é o de preferência de sacarose; a sacarose é normalmente apetitosa

aos animais, que preferem líquidos doces em relação à água. No comportamento anedônico o animal não apresentará esta preferência, o que é similar a falta de interesse em atividades antes tidas como prazerosas em pacientes esquizofrênicos, sendo que o tratamento com antipsicóticos, tanto típicos quanto atípicos, reverte a anedonia induzida por estresse brando (Orsetti *et.al.*, 2007). Interessante é que este teste também é utilizado como modelo de depressão, uma vez que fármacos antidepressivos também apresentam a capacidade de reverter a anedonia induzida por estresse brando (Willner *et.al.*, 1992). Em relação ao prejuízo no comportamento social, caracterizado por apatia ou incapacidade de demonstrar o que sente em relação às pessoas, a apatia é que pode ser replicável em modelos animais. O modelo que avalia a apatia é relacionado a esta em relação à uma situação de estresse, sendo, para tanto, utilizado o teste de nado forçado, onde é mensurado o tempo de imobilidade do animal como resposta apática à situação estressante (Porsolt *et.al.*, 1977). A administração prévia de antagonistas glutamatérgicos aumenta o tempo de imobilidade dos animais (Corbett *et.al.*, 1999) e antipsicóticos conseguem reverter este comportamento (Nagai *et.al.*, 2003). Mais uma vez é interessante que o teste de nado forçado (com imobilidade induzida por estresse brando, neste caso e não por antagonista glutamatérgico) também é utilizado para avaliação de perfil antidepressivo de fármacos, uma vez que substâncias como a imipramina (antidepressivo já estabelecido em mercado) são eficazes em diminuir o tempo de imobilidade no teste (Yamada e Sugimoto, 2001). O teste de inibição de pré-pulso também é utilizado para a avaliação de sintomas negativos da esquizofrenia (Del Bel e Guimarães, 2000; Wiley, 1998; Salum *et.al.*, 2008; Issy *et.al.*, 2009; Geyer e Ellembroek, 2003). Neste teste é avaliada a capacidade do animal em diferenciar estímulos externos que são e que não são relevantes. Este filtro do que é ou não relevante em termo de informações se mostrou afetado em pacientes esquizofrênicos e tem por consequência uma inadequação de adaptação ao ambiente. Demonstrou-se neste teste que fármacos com padrão antipsicótico, bem como aqueles que apresentam por mecanismo de ação a inibição da síntese de NO são eficientes na reversão do prejuízo no PPI induzido por drogas agonistas dopaminérgicas ou antagonistas NMDA.

Para terminar, os testes empregados para avaliar o déficit cognitivo são os testes como o labirinto aquático (Morris, 1981; D'Hooge e Deyn, 2001), teste de reconhecimento social ou de objetos, onde o animal deverá reconhecer um objeto ou

grupo após segunda exposição a estes (Grayson *et.al.*,2007; Castagné *et.al.*, 2009), sendo que o quadro de déficit é induzido por antagonistas de NMDA e revertidos por antipsicóticos, principalmente os atípicos (Depoortère *et.al.*, 2005; Didriksen *et.al.*, 2007).

Assim sendo, existem vários testes em modelos animais que conseguem mimetizar as mais variadas facetas do quadro de psicose e com isso avalia o potencial de novas substâncias para o seu tratamento.

1.7 Miricitrina:

Uma nova substância que tem se apresentado como possível novo psicofármaco é a miricitrina. A miricitrina é um flavonóide, do sub-grupo flavonol, extraído de várias plantas do gênero Pouteria, da *Manilkara zapota* e da *Eugenia uniflora*, popularmente conhecida como pitangueira (Ma *et.al.*, 2003, 2004). Os flavonóides são da família das γ -benzopironas e ocorrem em várias plantas como vegetais e frutas ao redor de todo o mundo, sendo que estes compostos são metabólitos secundários que apresentam dois anéis aromáticos (Ramelet, 2000; Harborne, 1989). É demonstrada uma ampla variedade de efeitos dos flavonóides, sendo que estes compostos apresentam uma grande variação ao redor da estrutura básica de difenilpropanona (C6-C3-C6). As principais atividades destes flavonóides são relacionadas a efeitos antioxidantes, anti-nociceptivo, anti-inflamatórios e anti-oncogênicos (Birt *et.al.*, 2001; Edenharder e Grünhage, 2003; Meotti *et.al.*, 2006, 2008; Middleton *et.al.*, 2000); por outro lado, a ação deste flavonóide no SNC somente é remetida a uma possível atividade ansiolítica (Fernandez *et.al.*, 2009).

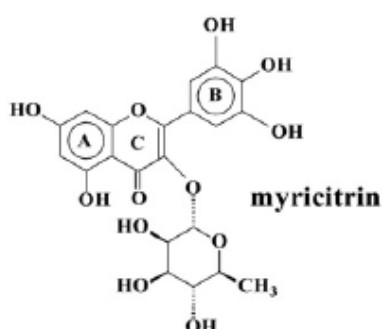


Fig.10 – Estrutura química do flavonóide miricitrina (Fonte: Meotti (2008)).

Dentro dos mecanismos de ação estabelecidos para este flavonóide, foram demonstradas sua capacidade de atuação sobre o NO, nNOS, PKC, IP₃-K e NFκB (Meotti *et.al.*, 2006; Agullo *et.al.*, 1997; Gamet-Payrastre *et.al.*, 1999).

Em relação a sua atividade sobre o NO, este se dá em relação a uma inibição da síntese deste, por atuar diretamente na cascata que leva a sua síntese ao modular a atividade da nNOs. Estudos pré-clínicos tem correlacionado a inibição de NO com efeitos tipo antipsicóticos. Nestes estudos, o 7-NI e o L-NOARG (inibidores do NO específico e inespecífico respectivamente), apresentariam efeito tipo antipsicótico em testes como a estereotipia induzida por agentes dopaminérgicos e no prejuízo do PPI induzido por agonistas dopaminérgicos (Fujiyama e Masukos, 1996; Del Bel e Guimarães, 2000; West *et.al.*, 2002; Pires *et.al.*, 2003). Por sua vez, também foi demonstrado que os inibidores de NO por si só podem levar a um quadro de catatonia ou aumentar a resposta de catalepsia frente à pré-tratamento com haloperidol (Del Bel *et.al.*, 2005). Neste estudo, mostrou-se que o pré-tratamento com L-arginina reverte o quadro de catatonia, indicando que o NO está envolvido neste efeito (Salum *et.al.*, 2008; Narkevich *et.al.*, 2005; Marras *et.al.*, 1995; Del Bel *et.al.*, 2005). É interessante notar que estudos pré-clínicos têm associado a neurotransmissão nitinérgica com a neurobiologia da depressão e têm indicado que inibidores da via NO (p.ex. inibidores na NO sintase) apresentam efeito antidepressivo em modelos animais (Jefferys e Funder, 1996; Joca e Guimarães, 2006; Joca *et.al.*, 2007; Zhou *et.al.*, 2007). Assim sendo, pela via de modulação do NO, a miricitrina teria uma possível atividade tanto antipsicótica quando antidepressiva.

Por sua vez em relação à atividade sobre a PKC, observou-se que a miricitrina age inibindo a fosforilação desta e conseqüentemente sua ativação e translocação para o citosol (Meotti *et.al.*, 2006). A atividade da miricitrina se dá principalmente sobre os subtipos ε e α da PKC, que são os dois subtipos modulados pela atividade dos estabilizadores de humor, lítio e valproato, e também pela clozapina (Meotti *et.al.*, 2006; Manji *et.al.*, 1996). Sendo que, a inibição da PKC tem sido associada à melhora dos episódios maníacos como relatado em trabalhos clínicos e também no controle da fase psicótica durante a mania (Zarate *et.al.*, 2007; Yildiz *et.al.*, 2008). A inibição da atividade da PKC pela miricitrina se dá por duas vias possíveis: inibição da ativação desta e de sua posterior translocação; e inibição da atividade da IP₃-K, que indiretamente está envolvida na cascata de ativação da

PKC, uma vez que a IP_3 -K é crucial para a transformação do inositol em PIP_2 , substrato para a formação de IP_3 e DAG (Agullo *et.al.*, 1997).

Considerando que os efeitos colaterais dos atuais antipsicóticos limitam o seu emprego e diminuem a aderência ao tratamento e que ainda existam pacientes refratários, torna-se então necessária a busca de novos agentes antipsicóticos mais efetivos e que atinjam uma quantidade maior de pacientes. Nesse intuito a miricitrina se torna uma substância interessante, uma vez que tem ação sobre três alvos potências de efeitos antipsicóticos.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da miricitrina em modelos animais para pesquisa de drogas antipsicóticas e para avaliação de efeito extrapiramidal. Adicionalmente, foi avaliada a participação da inibição do NO e da PKC neste efeito.

2. Objetivos

2.1 Objetivos gerais:

- ◆ Avaliação do potencial efeito antipsicótico da miricitrina;
- ◆ Avaliação da participação da inibição da PKC e do NO no mecanismo de ação da miricitrina;

2.2. Objetivos específicos:

- ◆ Na primeira etapa do trabalho o objetivo foi validar os modelos animais para pesquisa de novas drogas antipsicóticas.
- ◆ Posteriormente buscou-se avaliar a ação antipsicótica da miricitrina, utilizando os modelos experimentais validados: estereotipia e climbing induzida por apomorfina, catatonia e teste da pata, bem como avaliação motora para verificar se os resultados obtidos não são decorrentes de alteração motora;
- ◆ Avaliar a participação da inibição da PKC e do NO nos resultados obtidos nos testes acima citados;

3. Justificativa

O transtorno bipolar e a esquizofrenia são patologias que afetam milhões de pessoas e ainda não se sabe com precisão quais são os fatores responsáveis pelas patologias acima referidas. A compreensão desses fatores e a pesquisa de novas substâncias úteis em seu tratamento podem fornecer subsídios para uma melhor abordagem terapêutica.

Considerando que a miricitrina é um inibidor do NO e da PKC e que estas ações têm sido associadas a um potencial efeito antipsicótico, a miricitrina pode ser uma nova droga antipsicótica que não atua diretamente nos receptores D₂. Caso esta hipótese seja confirmada, a miricitrina pode ser o primeiro fármaco de uma nova classe de drogas antipsicóticas.

Materiais e métodos:

O desenho experimental contou com a utilização de ratos e camundongos. Portanto, este desenho encontra-se separado em duas partes, conforme o animal utilizado no teste.

4.1. Ratos:

4.1.1. Animais:

Foram utilizados ratos Wistar machos, entre 250-350g, provenientes do biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, mantidos, em grupos, em caixas de polipropileno (até 5 animais em caixas de 41 x 34 x 16 cm) em condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), com ciclo claro-escuro de 12h (luzes ligadas às 7:00 h e desligadas às 19:00 h), com comida e água à vontade.

4.1.2. Drogas e tratamentos:

- Haloperidol - 0,5 e 1.0 mg/kg (Jansen, Brasil): foi dissolvido em água destilada e administrada por via intraperitoneal (ip), em volume constante de 1 ml/kg de peso corporal.
- Olanzapina - 1,0; 5,0 e 10,0 mg/kg (Eli Lilly, Brasil): foi dissolvido em água destilada, e administrado por via ip, em volume constante de 1 ml/kg de peso corporal.
- Miricitrina – 10,0 e 30,0 mg/kg (fornecida pelo Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti, UFSC, extraída com grau de pureza de 98%, testado por análise em HPLC): foi dissolvida em Tween 80 e salina, e administrada por via ip, em volume constante de 1 ml/kg de peso corporal.
- Tamoxifeno: 1,0 mg/kg: foi dissolvida em salina, administrada por via ip, em volume constante de 10 ml/kg de peso corporal (Einat *et.al.*, 2007).
- 7-nitroindazole (7-NI) – 6,0 mg/kg: dissolvido em óleo de milho (dissolve-se a concentração da droga e mantém a solução no gelo até o momento da aplicação), administrado por via ip, em volume constante de 1 ml/kg de peso corporal. (Tadaiesky *et.al.*, 2006).

As doses propostas foram baseadas em dados da literatura (miricitrina: Meotti *et.al.*, 2006; haloperidol e olanzapina: Bardin *et.al.*, 2006; tamoxifeno: Einat *et.al.*, 2007; 7-NI: Laursen *et.al.*, 1986).

4.1.3. Modelos Comportamentais:

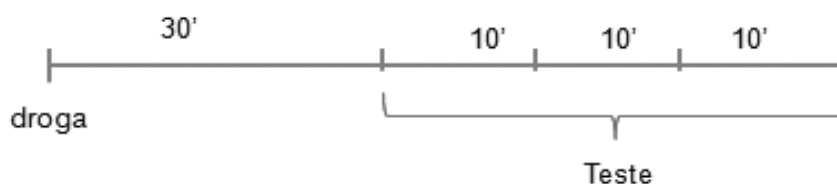
4.1.3.1. Teste da pata

As drogas foram administradas da seguinte forma:

- Haloperidol ou veículo: uma hora antes do teste;
- Olanzapina, miricitrina, tamoxifeno, 7-NI ou veículo: 30 minutos antes do teste;

Primeiramente os animais foram habituados na sala de teste por trinta minutos. Após completo este tempo, os animais receberam as drogas de teste, segundos tempos. Cada animal foi testado conforme o protocolo estabelecido para o teste da pata.

Neste teste o animal passa por três avaliações do tempo de latência de retirada da pata, sendo que cada uma das avaliações apresenta um intervalo de 10 minutos entre si. A execução do teste se dá da seguinte maneira: o animal é pego gentilmente pelo dorso e colocado sobre uma plataforma de acrílico (30x30cm), que conta com quatro furos para as patas (2 furos de 40mm para as patas dianteiras e 2 de 50mm para as patas traseiras), o tempo mínimo de latência para que o animal tire uma das patas do furo é de um segundo sempre (pois é difícil avaliar corretamente o início exato do teste, portanto foi padronizado este segundo inicial) e o tempo máximo é sempre de 30 segundos. Após este o animal é retirado da plataforma (fig.11). o protocolo de administração de drogas e do teste segue o esquema abaixo:



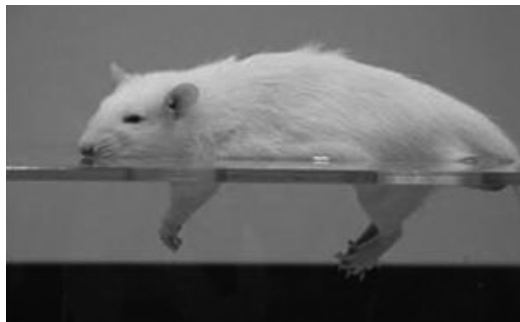


Fig.11: Estrutura do teste da pata.

O teste se baseia da seguinte premissa: antipsicóticos típicos (p.ex. haloperidol) aumentam a latência das patas dianteiras e traseiras na mesma intensidade, enquanto os antipsicóticos atípicos (p.ex. olanzapina) são mais potentes na ação sobre as patas traseiras (Ellenbroek *et.al.*, 1996; Geyer e Ellenbroek, 2003). Assim sendo, o teste possibilita diferenciar entre ação típica e atípica de um antipsicótico ao se registrar a latência para que o rato retire uma das patas dianteiras dos furos (TRPD) e uma das patas traseiras (TRPT). Esta latência de retirada da pata é baseada na média dos três testes consecutivos que são feitos.

4.2. Camundongos:

4.2.1. Animais:

Foram utilizados camundongos Swiss machos, pesando entre 30-40g, provenientes do biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, agrupados em caixas de propileno em condições controladas de temperatura ($21 \pm 1^\circ\text{C}$), com ciclo claro-escuro de 12h (luzes ligadas às 7:00 h e desligadas às 19:00 h), com comida e água à vontade.

4.2.2. Drogas e tratamentos:

- Miricitrina - 5,0; 10,0 e 30,0 mg/kg: foi dissolvida em Tween 80 e salina, e administrada por via subcutânea (sc), em volume constante de 10 ml/kg de peso corporal.

- Haloperidol - 0,25 e 1,00 mg/kg: por via sc, foi administrada uma hora antes da administração de miricitrina; tendo sido utilizada como controle positivo no teste de catatonía, em volume constante de 10 ml/kg de peso corporal.
- Apomorfina - 1,0 mg/kg: administrada por via ip, utilizada para indução de estereotípia e climbing, em volume constante de 10 ml/kg de peso corporal (Owolabi *et.al.*, 2008).
- Olanzapina – 10,0 mg/kg (Eli Lilly, Brasil): dissolvido em água destilada, e administrado por via sc, sendo empregada como controle positivo para os testes de catatonía, climbing e estereotípia, em volume constante de 10 ml/kg de peso corporal.
- 7-nitroindazole (7-NI) – 3,0 e 6,0 mg/kg: dissolvido em óleo de milho (dissolve-se a concentração da droga e mantém a solução no gelo até o momento da aplicação) e administrado via icv em volume constante de 2 µl sítio específico, método de mão livre (Laursen *et.al.*, 1986; Baretta *et.al.*, 2001, Cervo *et.al.*,1997).
- L-arginina – dissolvida em salina (Jesse *et.al.*, 2008), a concentração utilizada nos testes foi de 200mg/kg, via ip, a determinação da concentração foi baseada em experimentos do tipo curva dose-resposta feitos em nosso laboratório para este trabalho.
- Tamoxifeno – 1,0 mg/kg: foi dissolvida em salina, administrada por via sc, em volume constante de 10 ml/kg de peso corporal (Sabione *et.al.*, 2008).

As doses propostas foram baseadas em estudos anteriores em nosso laboratório (anfetamina e tamoxifeno: Sabioni *et.al.*, 2008) e em dados da literatura (miricitrina: Meotti *et.al.*, 2006; apomorfina Owolabi *et.al.*, 2008; 7-NI Laursen *et.al.*, 1986) ou em curvas dose-resposta feitas em nosso laboratório para determinar as doses ideais (L-arginina e haloperidol).

4.2.3. Modelos comportamentais:

4.2.3.1. Teste de Estereotípia:

Os animais foram aclimatados por trinta minutos nas gaiolas de teste (30x15x19cm) (fig.12) e posteriormente tratados com miricitrina (5 e 10mg/kg),

olanzapina (10mg/kg) ou veículo. Após 30 minutos da administração das drogas acima referidas, os animais receberam administração de apomorfina (1,0 mg/kg). A apomorfina é uma droga que tem como mecanismo de ação o agonismo de receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 . A dose empregada (1 mg/kg) pode ser considerada alta e, portanto, a ação seria predominantemente pós-sináptica (Marcais *et.al.*, 1978). O bloqueio do comportamento estereotipado é o indicativo de ação antipsicótica (Porsolt *et.al.*, 1993, 2010; Geyer e Ellembroek, 2003).

O comportamento estereotipado foi avaliado 10 minutos após a administração da apomorfina, sendo empregadas nove avaliações ao todo, cada uma com intervalo de 10 minutos entre si, num total de 90 minutos de duração de teste. A determinação do tempo total de teste se baseou em um estudo piloto feito em nosso laboratório, com o objetivo de determinar o tempo de ação da apomorfina em camundongos para este modelo de teste comportamental.



Fig.12: Aparato para análise de estereotipia e climbing. Três imagens com camundongos em teste e uma da gaiola com um rato, somente para facilitar compreensão das dimensões da gaiola.

O comportamento estereotipado foi avaliado conforme escala de Setler e colaboradores (1976), adaptada para camundongos (Chinen *et.al.*, 2006) (tab.1) e a administração de drogas foi feita segundo esquema abaixo.



Tabela 1: Escala de avaliação de estereotipia em camundongos:

Nível de estereotipia	Comportamento
0	Animal parado.
1	Animal normal e em movimento, não apresentando comportamento estereotipado.
2	Animal levemente estereotipado, com comportamento de lambr grades e cheirar estereotipado.
3	Animal estereotipado, mas ainda se movimentado. Comportamento de lambr e morder grades.
4	Animal completamente estereotipado e parado. Comportamento de lambr e morder grades.

4.2.3.2. Teste de climbing

Os animais foram aclimatados por trinta minutos nas gaiolas de teste (30X15X19 cm) e posteriormente tratados com miricitrina, olanzapina ou veículo, nas concentrações acima referidas (as mesmas utilizadas no teste de estereotipia). Após um intervalo de 30 minutos da administração das drogas, os animais receberam administração de apomorfina (1,0 mg/kg).

O comportamento de climbing foi avaliado 10 minutos após a administração da apomorfina, esta avaliação foi feita a cada dez minutos num total de 90 minutos, ou seja, 9 avaliações, igual ao teste de estereotipia.

O comportamento de climbing foi avaliado conforme escala de Protais para camundongos (Protais *et.al.* 1976; Costal e Naylor, 1978; Bardin *et.al.*, 2006). Sendo que a capacidade antipsicótica da droga foi avaliada pela capacidade desta inibir o comportamento de climbing (tab.2), o protocolo de administração de drogas e tempo de teste é o mesmo do acima citado para o teste de estereotipia

Tabela 2: Escala de avaliação de climbing em camundongos:

Climbing	Comportamento
0	Animal com quatro patas no piso da gaiola.
1	Animal com duas patas dianteiras com patas na grade (na parede da gaiola).
2	Animal com as quatro patas na grade (na parede da gaiola, escalando).

4.2.3.3. Teste de catatonia:

O animal foi habituado à sala de teste por trinta minutos. Após este período ele recebeu haloperidol (0,25 e 1,00 mg/kg) ou veículo (uma hora antes do teste). Os animais que receberam haloperidol ou veículo foram posteriormente divididos em quatro grupos distintos que receberam miricitrina (10,0 ou 30,0 mg/kg), olanzapina (10mg/kg) ou veículo (trinta minutos antes do teste).

O animal é colocado gentilmente em uma plataforma, com as duas patas dianteiras apoiadas em uma barra de 4cm de altura e 0,4cm de diâmetro e as patas traseiras na base da plataforma, o tempo de imobilidade nesta posição é então medido, sendo que o tempo máximo é de trinta segundos (fig.13). O comportamento de catatonia é baseado no tempo em que o animal fica imóvel na barra de teste. São feitos três testes e a análise se dá pela somatória do tempo de imobilidade destes, o intervalo entre testes é de um minuto (Bardin *et.al.* 2006; Chinen e Frussa-Filho, 1999; Pires *et.al.*, 2005), o protocolo de teste e administração de drogas foi seguido conforme esquema abaixo:

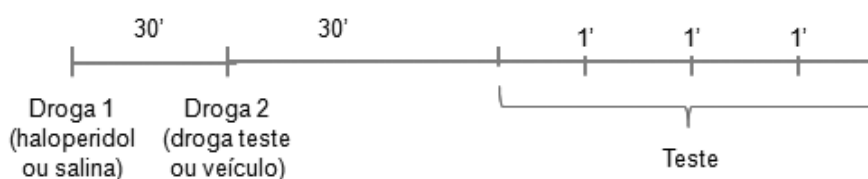


Fig.13. Plataforma para avaliação do comportamento de catatonia.

4.2.3.4. Teste de atividade locomotora:

A atividade locomotora dos animais foi medida em uma caixa de madeira (40x20x26 cm) (fig.14), com chão de tela de arame, equipada com três sensores fotoelétricos em seu interior (10 cm de distancia entre cada sensor) (Camarini *et.al.*,

1995). Os animais foram habituados à sala de experimentação e após meia hora, o tratamento foi feito, e trinta minutos após, os camundongos foram testados individualmente nas caixas de movimentação. As drogas utilizadas foram: miricitrina (10,0 e 30,0 mg), tamoxifeno (1,0 mg/kg), 7-NI (3,0 e 6,0 mg/kg) e salina. O tempo de exposição do animal a caixa de locomoção é de 20 minutos (Gould *et.al.*, 2001; 2006; Sabioni *et.al.*, 2007).

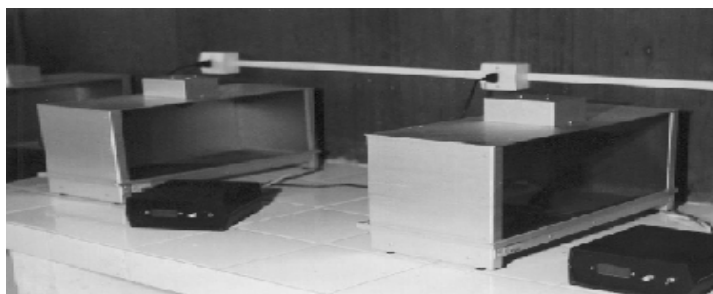


Fig.14. Caixa de movimentação espontânea.

4.2.4. Análises de mecanismo de ação:

4.2.4.1. Avaliação comportamental da participação da PKC na ação antipsicótica da miricitrina:

Utilizou-se o tamoxifeno (1mg/kg), como inibidor da PKC, nos modelos de estereotipia e de climbing induzidos por apomorfina e no teste da pata (já mencionados anteriormente). O objetivo foi avaliar se o tamoxifeno apresenta um padrão de resposta semelhante ao da miricitrina (Einat *et.al.*, 2007; Sabione *et.al.*, 2008).

4.2.4.2. Avaliação comportamental da participação do NO na ação antipsicótica da miricitrina:

Na avaliação da participação da inibição do NO no efeito da miricitrina utilizamos duas estratégias: a determinação do padrão de efeito do 7-NI (inibidor da nNOS) nos modelos discutidos anteriormente e a reversão do efeito da miricitrina na estereotipia e climbing induzidos pela apomorfina pelo pré-tratamento com L-arginina, (precursor da síntese de NO) (Klamer *et.al.*, 2004). Nesta última abordagem, o 7-NI

foi empregado como controle ativo na reversão pela L-arginina. Resumidamente, os animais foram pré-tratados com L-arginina (200mg/kg, dose determinada em estudo piloto), dez minutos antes da administração da miricitrina, 7-NI ou veículo e trinta minutos depois (40 minutos depois da administração da L-arginina) os animais receberam a apomorfina (1mg/kg) e foram submetidos a avaliação de estereotipia e climbing.

4.3. Análise Estatística:

Os dados foram analisados pela ANOVA de Kruskal-Wallis (seguido do teste de Dunn, para o teste da pata), ANOVA de uma via (atividade locomotora, e score total de climbing e de esterotipia) ou duas vias (análise de escores ponto a ponto, entenda em intervalos de 10 minutos, da estereotipia e catatonia), seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas.

O nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi considerado estatisticamente significativo em todos os dados analisados.

5. Resultados:

Os testes foram feitos em três baterias, sendo que em um primeiro momento buscou-se estabelecer o possível perfil antipsicótico da miricitrina, tendo nesta bateria como controle positivo a olanzapina. Numa segunda bateria buscou-se avaliar qual a via de atuação da miricitrina para sua atividade antipsicótica, utilizamos drogas que atuassem somente em uma das duas primeiras vias, a saber, tamoxifeno (inibidor de PKC) e 7-NI (inibidor de NO). Por último, em uma terceira fase, buscou-se a reversão da atividade antipsicótica influenciada por óxido nítrico, usamos a L-arginina. Os resultados então serão apresentados divididos em três baterias, como foram feitas as seqüências de teste.

5.1. Primeira bateria de testes: atividade antipsicótica da miricitrina

5.1.1. Teste de estereotipia:

No teste de estereotipia para avaliação de possível efeito antipsicótico da miricitrina, usando as doses de 5 e 10 mg/kg, o teste ANOVA indicou diferenças significativas para o fator tratamento [$F_{5,48}=125,69$; $p<0.0001$], para fator tempo [$F_{8,376}=34,94$; $p<0.0001$] e para a interação entre o tratamento e o tempo [$F_{40,376}=10,59$; $p<0.001$]. O teste post-hoc mostrou diferença significativa do grupo tratado com salina em relação ao tratado com miricitrina na dose de 10 mg/kg, assim é possível dizer que a miricitrina na dose mais alta conseguiu reverter a estereotipia causada pela apomorfina (Fig.15 e 16).

Estereotipia - Miricitrina

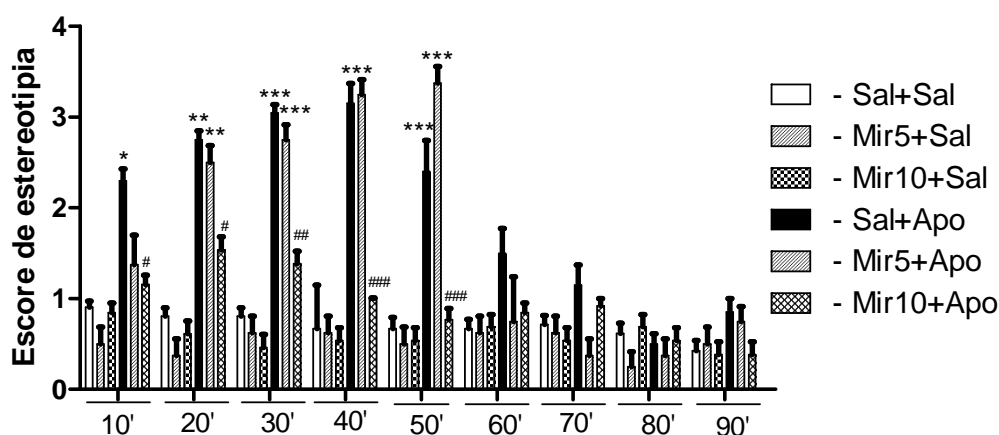


Fig.15. Efeito da miricitrina (5,0 e 10,0 mg/kg) no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). n=8-10; [*-comparado ao controle – salina+salina; salina+miricitrina 5,0 mg ou salina+miricitrina 10,0 mg); # -comparado ao grupo – apomorfina+salina). *P<0,05 **P<0,01 e ***P<0.001].

No teste de estereotipia também foi feita a avaliação de uma droga cuja atividade antipsicótica já fosse conhecida, a olanzapina, no intuito de validar o modelo. A ANOVA indicou diferenças significativas para o fator tratamento [$F_{3,22}=244,84$; $p<0.001$], para o fator tempo [$F_{8,176}=7,90$; $p<0.001$] e para a interação entre o tratamento e o tempo [$F_{24,176}=5,08$; $p<0.001$]. O teste post-hoc mostrou diferença significativa do grupo tratado com salina em relação ao tratado com olanzapina na dose de 10mg/kg, do minuto 10 ao 60, corroborando a validade do modelo ⁵² para detectar efeito antipsicótico de uma droga (Fig.16).

Estereotipia - Olanzapina

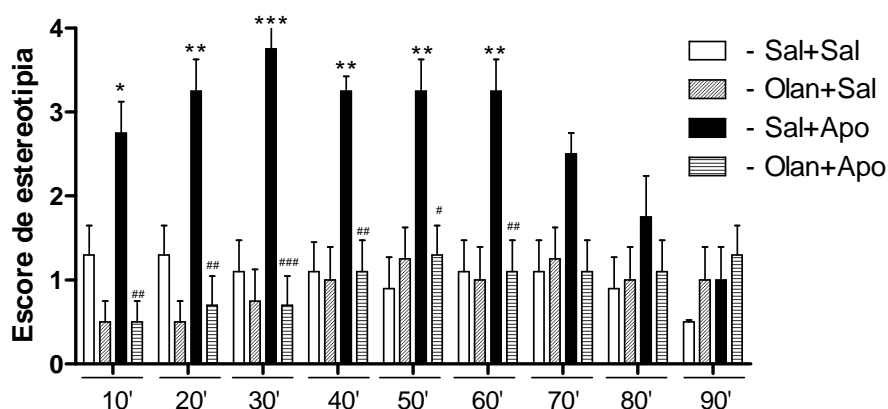


Fig.16. Efeito da olanzapina (10,0 mg/kg) no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). n=6-7; [*-comparado ao controle – salina+salina ou salina+olanzapina); # -comparado ao grupo – apomorfina+salina). *P<0,05 **P<0,01 e ***P<0.001].

5.1.2. Teste de climbing:

O teste de climbing foi feito com intuito de avaliar a capacidade da miricitrina (5 e 10 mg/kg) em inibir o climbing estimulado pela apomorfina. A ANOVA indicou diferenças significativas para o fator tratamento [$F_{5,46}=3,14$; $p<0,02$]. O teste post-hoc mostrou diferença significativa do grupo tratado com salina+apomorfina em relação ao tratado com miricitrina+apomorfina em ambas as doses, sendo possível dizer que a miricitrina conseguiu reverter o climbing induzido pela apomorfina (Fig.17)

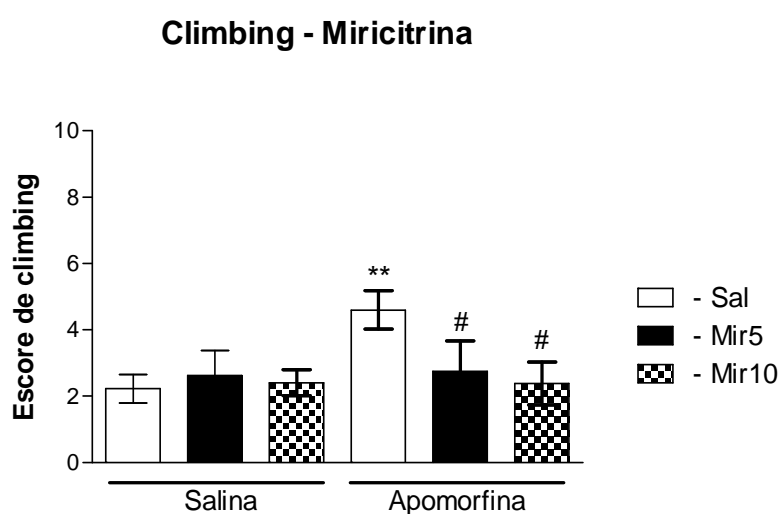


Fig.17. Efeito da miricitrina (5,0 e 10,0 mg/kg) no comportamento de climbing induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). $n=8-13$; [*-comparado ao controle – salina+salina, salina+miricitrina 5,0 mg ou salina+miricitrina 10,0 mg); # - comparado ao grupo – apomorfina+salina). * $P<0,05$ ** $P<0,01$].

No teste de climbing a olanzapina também foi utilizada como controle positivo na tentativa de reverter o climbing estimulado pela apomorfina. A ANOVA indicou diferenças significativas para o fator tratamento [$F_{3,14}=18,60$; $p<0,001$]. O teste post-hoc mostrou diferença significativa do grupo tratado com salina+apomorfina em relação ao tratado com olanzapina+apomorfina na dose de 10mg/kg, mostrando assim a inibição do climbing (Fig.18).

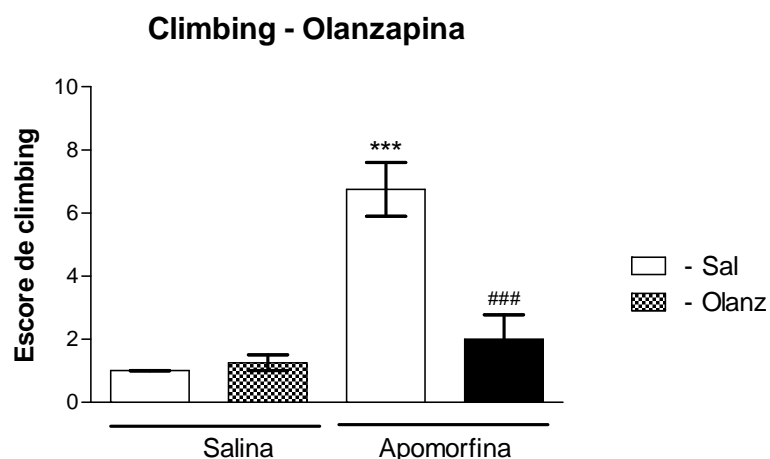


Fig.18. Efeito da olanzapina (10,0 mg/kg) no comportamento de climbing induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). n=7 [(*-comparado ao controle – salina+salina ou salina+olanzapina); # - comparado ao grupo – apomorfina+salina). ***P<0.001].

5.1.3. Teste de catatonia:

No teste de catatonia, o intuito foi avaliar se a miricitrina (5 e 10mg/kg) apresentaria ou não um efeito potencializador dos efeitos extra-piramidais provocados pelo haloperidol e também avaliar se ela por si só apresentava algum efeito extra-piramidal. A ANOVA indicou diferenças significativas para o fator haloperidol pré-tratamento [$F_{2,96}=108.43$; $p<0.001$] mas não para o fator tratamento [$F_{3,96}= 2.50$; NS] ou para a interação entre o tratamento e o tempo [$F_{6,96}= 1.04$; NS]. O teste post-hoc mostrou diferença significativa entre os três grupos (todos $p<0.001$), indicando um efeito dose dependente do haloperidol (Fig.19).

Adicionalmente analisamos por ANOVA de uma via o efeito da administração isolada das drogas (grupo salina+droga) e não observamos diferenças entre os grupos [$F_{3,32}= 1.00$; NS], indicando que a miricitrina e a olanzapina não induziram catalepsia nas doses testadas.

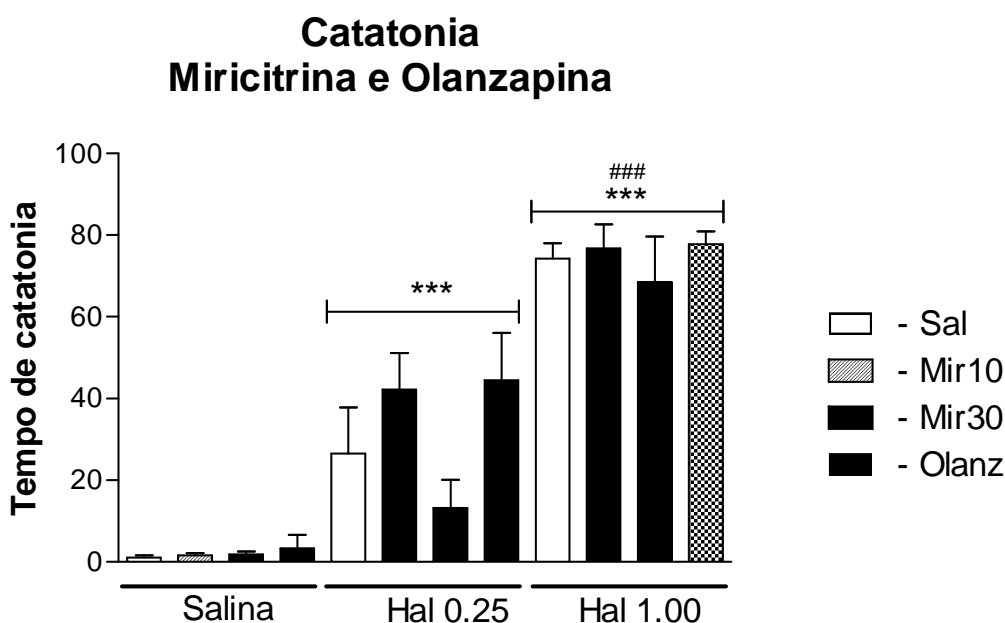


Fig.19. Efeito da miricitrina (10,0 e 30,0 mg/kg) e da olanzapina (10,0 mg/kg) na catatonía induzido por haloperidol (0,25 e 1,00 mg/kg).n=9-10; [*-comparado ao controle – salina+salina; #-comparado grupo salina+haloperidol 0,25). ***P<0.001].

5.1.4. Teste da pata:

O objetivo do teste da pata é avaliar o potencial efeito antipsicótico discernindo entre o padrão comum aos antipsicóticos típicos o padrão dos atípicos. Essa diferenciação se dá pela droga causar hipertonia somente nas patas traseiras (atípico) ou também nas dianteiras (típico). Nesta fase foram testadas a miricitrina em duas doses (10,0 e 30,0 mg/kg), bem como os controles positivos. Os resultados obtidos foram conforme o esperado e o que se encontra na literatura. O haloperidol (0,5 e 1,0mg/kg), sendo um antipsicótico típico causou uma hipertonia nas patas traseiras e dianteiras (TRPD: $H(2,18)= 7.12$, $p<0.05$; TRPT: $H(2,18)= 12.49$, $p<0.01$) nas mesmas doses; a olanzapina (1, 5 e 10mg/kg) obedecendo o que se espera de

padrão de antipsicótico atípico, levou a uma hipertonia somente das patas traseiras (TRPD: $H(2,18)= 3.00$, NS; TRPT: $H(3, 20)= 15.80$, $p<0.001$), também apresentado padrão dose-dependente. A miricitrina por sua vez, mostrou um perfil de antipsicótico do tipo atípico, levando a uma hipertonia somente das patas traseiras, sendo que tal efeito mostrou ser dose dependente (TRPD: $H(2,29)= 0.00$, NS; TRPT: $H(2,29)= 16.01$, $p<0.001$) (Fig.20, 21 e 22).

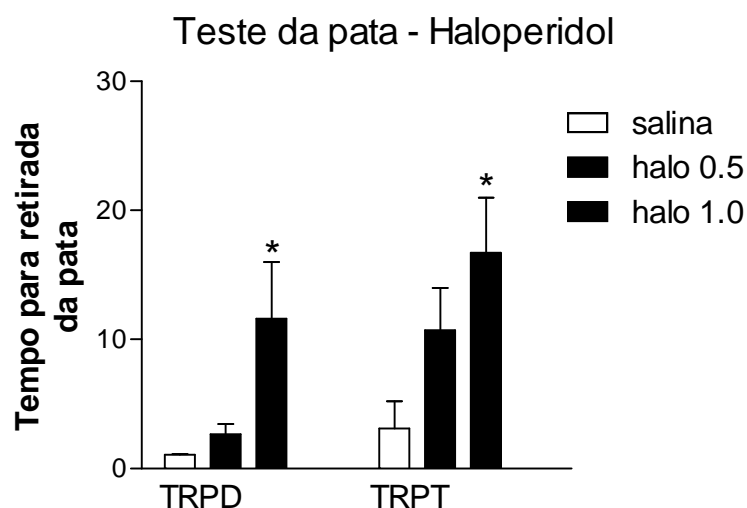


Fig.20. Efeito do haloperidol (0,5 e 1,0 mg/kg) ou salina no tempo de retirada das patas (dianteiras, TRPD, e traseiras, TRPT) no teste da pata. Dados representam média±SEM; n=7-10 por grupo. * $p<0.05$ ** $p<0.01$ e *** $p<0.001$ comparado com salina;

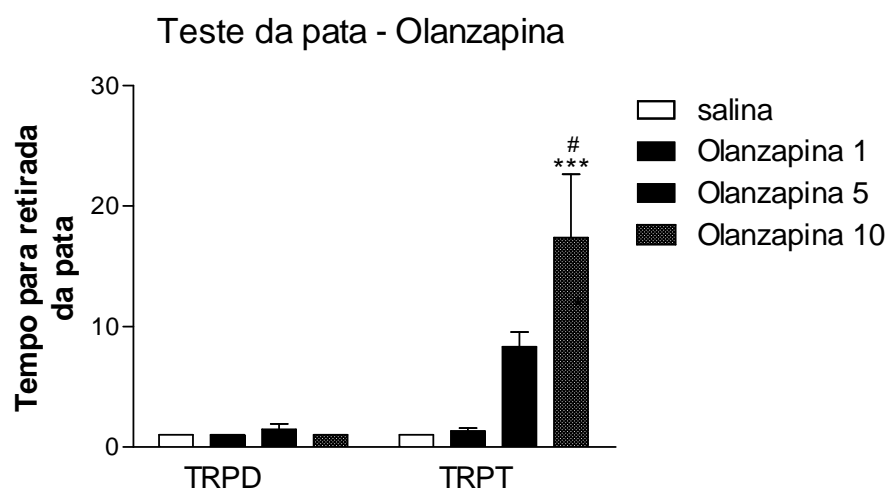


Fig.21. Efeito da olanzapina (1,0; 5,0 e 10,0 mg/kg) ou salina no tempo de retirada das patas (dianteiras, TRPD, e traseiras, TRPT) no teste da pata. Dados representam média±SEM; n=7-10 por grupo. * $p<0.05$ e *** $p<0.001$ comparado com salina (*) ou dose diferente da substancia (#);

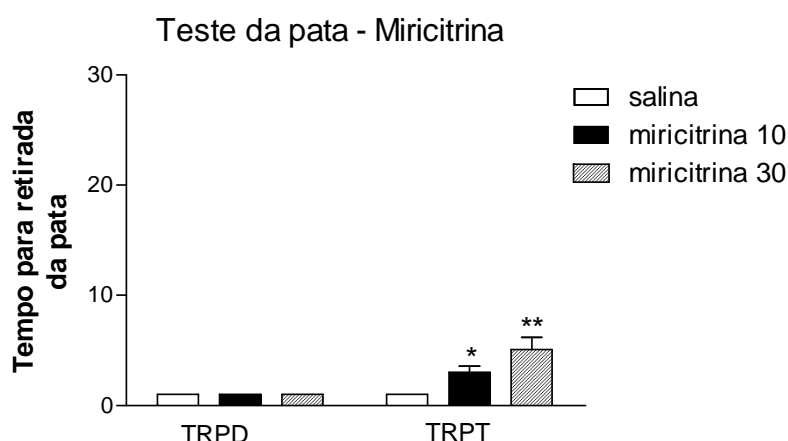


Fig.22. Efeito da miricitrina (10,0 e 30,0 mg/kg) ou salina no tempo de retirada das patas (dianteiras, TRPD, e traseiras, TRPT) no teste da pata. Dados representam média±SEM; n=7-10 por grupo. *p<0.05 e **p<0.01. comparado com salina;

5.2. Segunda bateria de testes: via envolvida na atividade antipsicótica da miricitrina:

5.2.1. Teste de estereotipia:

Neste teste foi buscado discernir qual o mecanismo de ação que estaria envolvido na capacidade da miricitrina em inibir o comportamento de estereotipia induzido por apomorfina. Como a miricitrina atua em duas vias, inibindo óxido nítrico e PKC, foram escolhidas duas substâncias que atuem em apenas uma destas vias, a saber, o 7-NI e o tamoxifeno. O 7-NI (inibidor de NO sintase neuronal) foi utilizado nas doses de 3,0 e 6,0 mg/kg, sendo aplicado por via icv. Os dados obtidos pela análise estatística mostraram que a capacidade desta substância em inibir a estereotipia induzida por apomorfina é do tipo dose-dependente, uma vez que somente na maior dose (6mg/kg) teve efeito, entre os minutos 30 e 60: fator tratamento [$F_{5,33}=62,09$; $p<0.001$], fator tempo [$F_{8,264}=41,87$; $p<0.001$] e fator interação entre o tratamento e o tempo de experimento [$F_{40,264}=11,15$; $p<0.001$] (Fig.23).

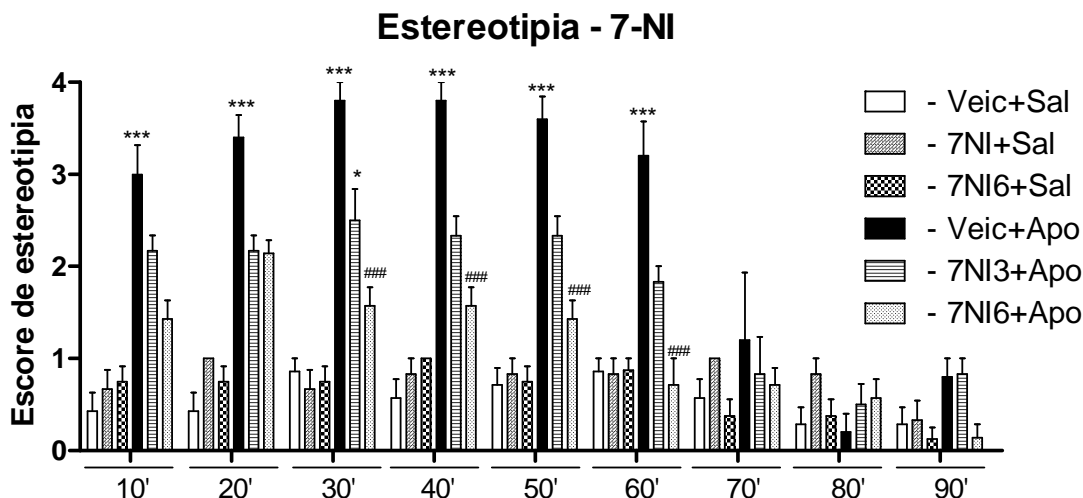


Fig.23 Efeito do 7-NI (3,0 e 6,0 mg/kg) no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). n=6-8; [*-comparado ao controle – salina+veículo, salina+7-NI 3mg ou salina+7NI 6mg); # - comparado ao grupo– apomorfina+salina). ***P<0.001].

Por sua vez o teste de estereotipia com o tamoxifeno (1,0 mg/kg), que é uma droga inibidora de PKC, também se mostrou efetivo na capacidade de inibir a estereotipia por apomorfina, dos minutos 20 a 50. A ANOVA indicou efeito do tratamento [$F_{3,32}=118.00$; $p<0.001$], o tempo [$F_{8,256}=28.06$; $p<0.001$] e quando comparada a interação entre tratamento e tempo [$F_{24,256}=11,15$; $p<0.001$] (Fig.24).

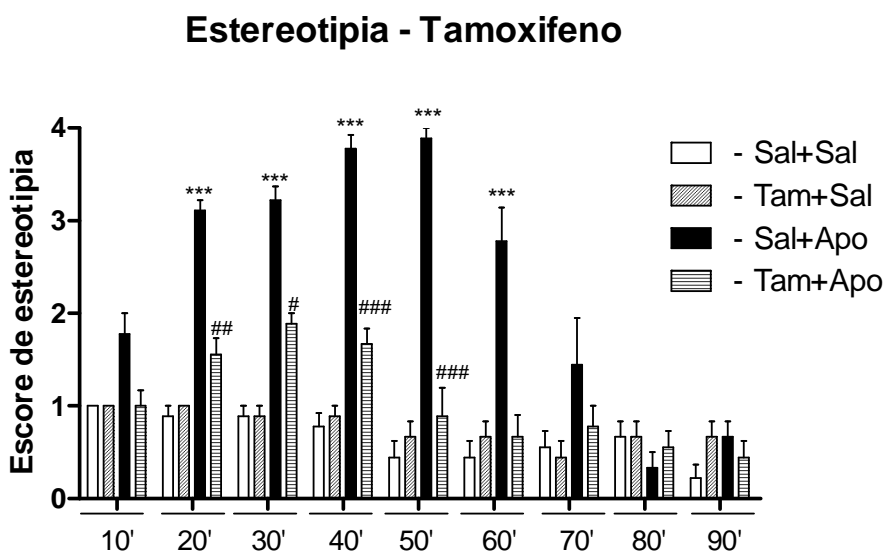


Fig.24. Efeito da tamoxifeno (1,0 mg/kg) no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). n=9; [*-comparado ao controle – salina+salina ou salina+tamoxifeno); # -comparado ao grupo– apomorfina+salina). *P<0,05 **P<0,01 e ***P<0.001].

5.2.2. Teste de climbing:

Também em relação à atividade de climbing foram testadas as substâncias 7-NI (3,0 e 6,0 mg/kg) e tamoxifeno (1,0 mg/kg). O 7-NI foi capaz de inibir a atividade de climbing somente na maior dose (6mg/kg) [$F_{5,33}=2,62$; $p<0.05$], indicando um efeito dose-dependente (Fig.25).

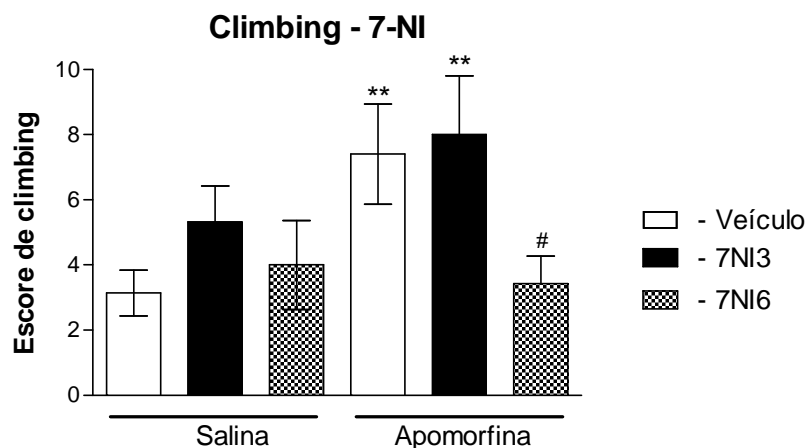


Fig.25. Efeito do 7-NI (3,0 e 6,0 mg/kg) no comportamento de climbing induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). $n=6-8$; [*-comparado ao controle – salina+substância (veículo, 7-NI 3,0 mg ou 6,0 mg) (p.e. salina+salina versus apomorfina+salina); # -comparado ao grupo – apomorfina+salina). * $P<0,05$ e ** $P<0,01$].

Em relação ao tamoxifeno (1mg/kg) foi observada uma efetividade em reverter a atividade de climbing induzida por apomorfina [$F_{3,32}=3,63802$; $p<0,01$] (Fig.26).

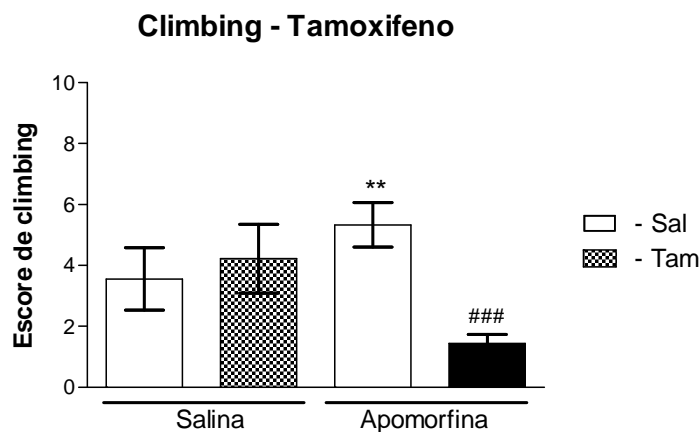


Fig.26. Efeito da tamoxifeno (1,0 mg/kg) no comportamento de climbing induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). $n=9$; [*-comparado ao controle – salina+salina ou salina+tamoxifeno); # -comparado ao grupo – apomorfina+salina). ** $P<0,01$ e *** $P<0.001$].

5.2.3. Teste da pata:

A última parte desta bateria de experimentos para avaliação do mecanismo de ação da miricitrina envolvido em sua atividade antipsicótica foi o teste da pata. As drogas utilizadas neste teste foram novamente o tamoxifeno e o 7-NI, porém difere aqui o fato de que o 7-NI foi usado somente na maior dose (6,0 mg/kg) e foi administrado via intraperitoneal.

Neste teste somente o 7-NI apresentou capacidade de causar prejuízo no tempo de retirada das patas dos animais, sendo que o padrão apresentado foi do tipo atípico [TRPD: $H(2, N=21)=0,00$; NS; TRPT: $H(2, N=21)=14,092$ $p < 0.001$]. O tamoxifeno por sua vez não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle, o qual recebeu salina (Fig.27).

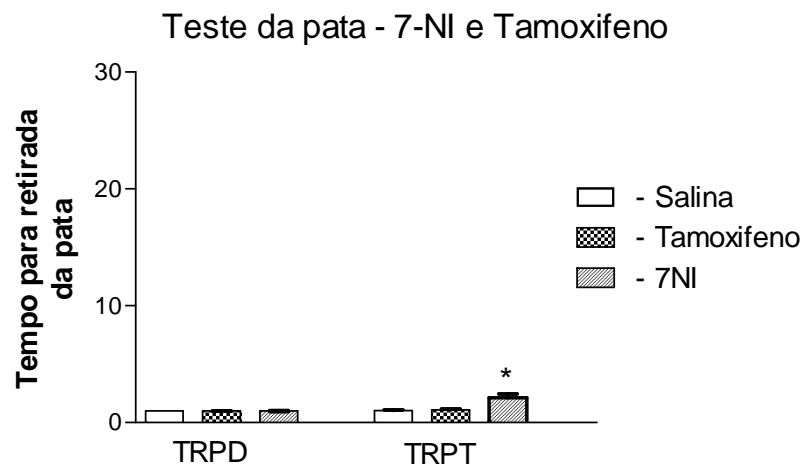


Fig.27. Efeito do tamoxifeno (1,0 mg/kg), 7-NI (6,0 mg/kg) ou salina no tempo de retirada das patas (dianteiras, TRPD, e traseiras, TRPT) no teste da pata. Dados representam média±SEM; n=7-10 por grupo. * $p < 0.05$ comparado com salina;

5.3. Terceira bateria de testes:

5.3.1. Teste de estereotipia:

Uma vez sugerida a participação da via nitrinergica na ação antipsicótica da miricitrina, o próximo passo foi avaliar a capacidade de uma droga de reverter a atividade do 7-NI e da miricitrina nos testes de estereotipia e climbing. Para esta bateria de testes, a droga escolhida foi a L-arginina, e a dose de 7-NI utilizada foi a

mais efetiva (6mg/kg) nos testes acima citados. A princípio, foi necessário se estabelecer uma curva dose-resposta para a L-arginina, ou seja, estabelecer a menor dose que conseguiria inibir a atividade do 7-NI nos testes de estereotipia e climbing, para posteriormente avaliar a sua capacidade de inibir a atividade da miricitrina. As análises dos dados obtidos mostraram que a dose mais efetiva em obter tais resultados foi a de 200 mg/kg de L-arginina [$F_{15,80} = 26,38$; $p < 0.001$] (Fig.28).

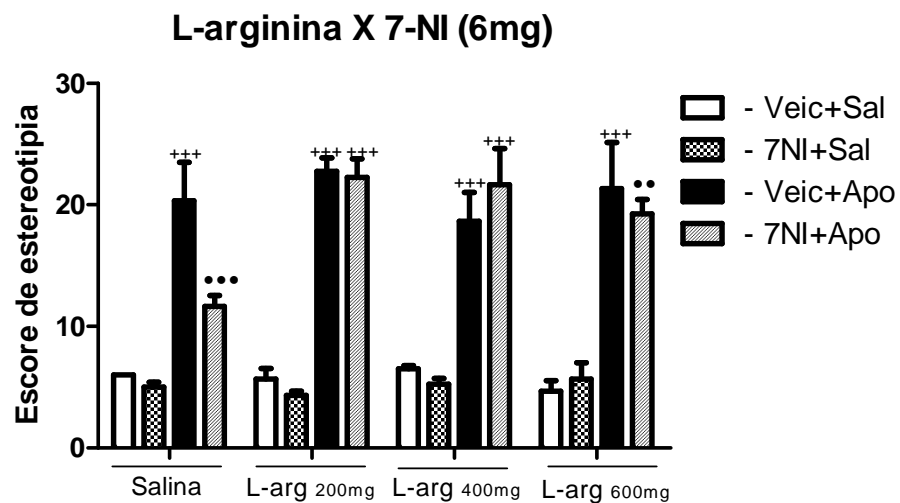


Fig.28. Efeito da L-arginina (200,0; 400,0 e 600,0 mg/kg) na inibição da atividade do 7-NI (6,0 mg/kg) no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). $n=7$; [⁺-comparado com substância (salina ou L-arginina 200,0; 400,0 ou 600,0 mg)+substância (veículo ou 7-NI)+salina (p.e. Veículo+Salina+Salina versus Veículo+Salina+apomorfina); *-comparado com substância (Salina, L-arginina 200,0; 400,0 ou 600,0 mg)+substância(veículo ou 7-NI)+apomorfina;. ** $P < 0,01$ e *** $P < 0.001$].

Considerando que estes resultados valiram a estratégia da administração de L-arginina para reversão de efeitos de inibidores da nNOS, em um segundo momento, foi avaliada a capacidade da L-arginina de inibir a atividade da miricitrina neste teste. A dose de miricitrina escolhida para este teste foi a de 10mg/kg (que foi a com melhor resultado no teste reversão da estereotipia por miricitrina, da primeira bateria de testes). Os dados obtidos mostraram que a L-arginina na dose de 200,0 mg/kg foi capaz de inibir a atividade da miricitrina de maneira somente parcial [$F_{7,44} = 110,44$; $p < 0.001$] mostrando assim, mais uma vez, que não somente o sistema nitrinérgico, mas também um não-nitrinérgico (talvez relacionado a PKC) está em envolvido na atividade antipsicótica da miricitrina (Fig.29).

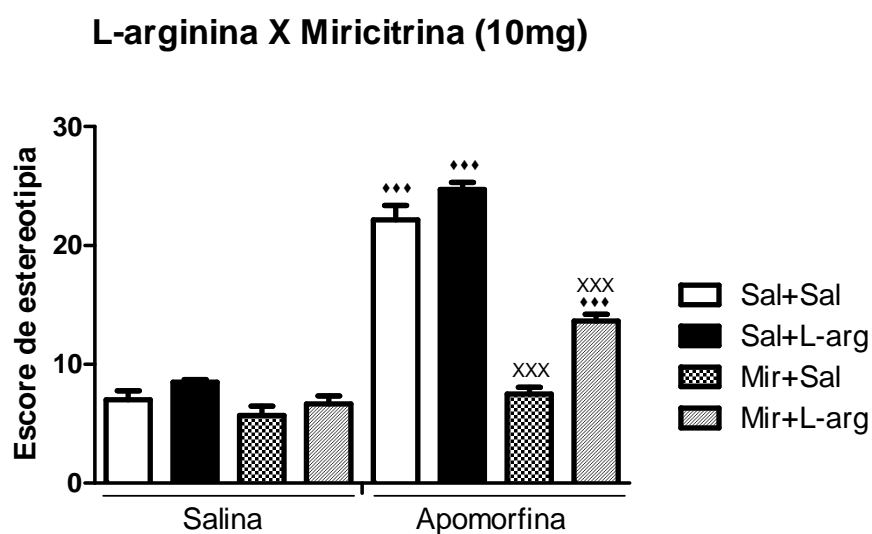


Fig.29. Efeito da L-arginina (200,0 mg/kg) na inibição do efeito da miricitrina no comportamento de estereotipia induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). n=9; [*-comparado com Substância (salina ou L-arginina)+substância (Salina ou miricitrina)+salina (p.e. Salina+Salina+Salina versus Salina+Salina+apomorfina); ^X-comparado com substância (Salina, L-arginina)+substância(veículo ou miricitrina)+apomorfina; ***P<0.001].

5.3.2. Teste de climbing:

O segundo e último teste nesta bateria foi a capacidade da L-arginina em reverter a atividade do 7-NI (6mg/kg) e da miricitrina (10mg/kg) de reverter o climbing induzido pela apomorfina. Neste teste foi possível observar a capacidade da L-arginina de inibir a atividade do 7-NI de maneira estatisticamente significativa [$F_{15,95} = 3,625$; $p < 0,001$] (Fig.30).

Climbing - L-arginina e 7-NI

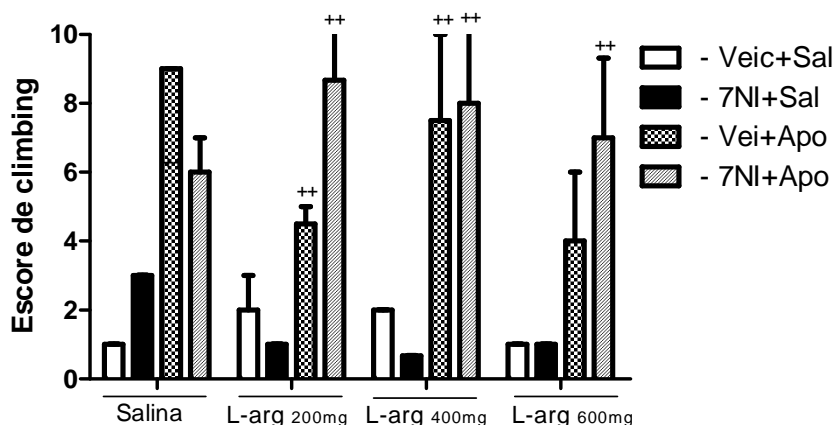


Fig.30. Efeito da L-arginina (200,0; 400,0 e 600,0 mg/kg) na inibição da atividade do 7-NI (6,0 mg/kg) no comportamento de climbing induzido por apomorfina (1,0 mg/kg). N=7 [[†]-comparado com substância (L-arginina 200,0; 400,0 ou 600,0 mg)+substância (veículo ou 7-NI)+salina (p.e. Veículo+Salina+Salina versus Veículo+Salina+apomorfina); * -comparado com substância (Salina, L-arginina 200,0; 400,0 ou 600,0 mg)+substância(veículo ou 7-NI)+apomorfina;. **P<0,01].

Também se avaliou a atividade da L-arginina sobre o bloqueio da miricitrina no comportamento de climbing induzido por apomorfina. Os dados nos mostram que a L-arginina no presente teste não foi capaz de reverter de maneira estatisticamente significativa a atividade da miricitrina [$F_{7,44} = 2,6525$; $p < 0,02$] e que esta *per se* foi capaz de induzir climbing (Fig.31).

Climbing L-arginina e Miricitrina

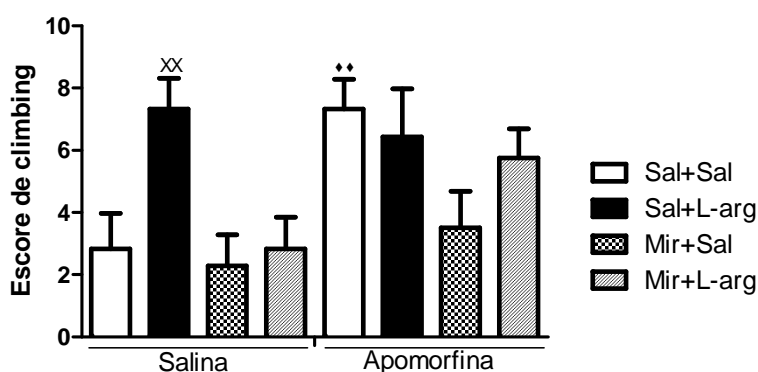


Fig.31. Efeito da L-arginina (200,0 mg/kg) na inibição da atividade da miricitrina (10,0 mg/kg) no comportamento de climbing induzido por apomorfina (1mg/kg). N=9 [[†]-comparado com Substância (salina ou L-arginina)+substância (Salina ou miricitrina)+salina (p.e. Salina+Salina+Salina versus Salina+Salina+apomorfina); ^{XX}-comparado com substância (Salina, L-arginina)+substância(veículo ou miricitrina)+apomorfina; *P<0,05 **P<0,01 e ***P<0.001].

5.4. Avaliação da atividade locomotora dos animais:

Por último foi avaliada a capacidade locomotora destes animais, isto porque, as respostas obtidas nestes testes poderiam estar ocorrendo simplesmente por alteração motora do animal em decorrência do tratamento com a miricitrina. Para tanto um teste de atividade locomotora foi conduzido e este teste nos mostrou que não existe diferença estatisticamente significativa [$F_{4,42}=1,23$; NS] entre as duas doses de miricitrina utilizada (10 e 30mg/kg) e o veículo.

Tratamento	Ativ. Locomotora (média±SEM)
Salina	88,1±8,84
Miricitrina 10mg/kg	75,3±6,43
Miricitrina 30mg/kg	71,8±6,84
7-NI	88,7±10,84
Tamoxifeno	93,8±13,84

Tabela 3 – Efeito da miricitrina sobre a atividade locomotora. (n=8-10/grupo).

Discussão:

Os testes utilizados no presente trabalho foram modelos e testes animais para sintomas positivos presentes na esquizofrenia, bem como testes animais que avaliam a capacidade de uma dada substância em causar efeitos extrapiramidais (Geyer e Ellenbroek, 2003; Pires *et.al.*, 1996; Bardin *et.al.*, 2006). Nos testes foi avaliada a substância miricitrina que, como já mencionado, apresenta atividade inibitória sobre a PKC (tanto pela via da IP3 quinase quando por ação direta sobre PKC) e o óxido nítrico (por depleção de cálcio intracelular e por agir diretamente em nNOS) (Meotti *et.al.*, 2006; Agullo *et.al.*, 1997; Gamet-Payrastre *et.al.*, 1999). A miricitrina se mostrou efetiva em relação a uma possível atividade antipsicótica, sendo que ao se testar substâncias específicas para a inibição de PKC e de NO também obtivemos resultados positivos quanto à ação antipsicótica; assim sendo, é possível dizer que atividade antipsicótica apresentada pela miricitrina pode ser decorrente da atividade e do sinergismo de seus dois mecanismos de ação. Além disso, nossos dados corroboram dados obtidos por Meotti e colaboradores (2006) quanto à ação nitrinérgica proposta para o flavonóide miricitrina.

Os testes empregados são amplamente utilizados para a avaliação de substâncias antipsicóticas, tendo sido validados farmacologicamente, sendo possível confiar em sua capacidade preditiva na avaliação de atividade antipsicótica para modelos animais (Chinen et al., 2006; Protais et al., 1976; Marcais et al., 1978; Pires et al., 1996; Bardin et al., 2006; Ellenbroek e Cools, 1988; Cools et al., 1995; Ellenbroek et al., 1996; Ellenbroek et al., 2001; Camarini et al., 1995), além disso, os resultados obtidos com a olanzapina corroboram a validade dos procedimentos em nosso laboratório. Como já mencionado anteriormente, a validação e criação de modelos animais eficazes no estudo de patologias psiquiátricas é bastante complicado uma vez que não somos capazes de mimetizar muitas das características típicas da patologia relacionadas a alguns comportamentos tipicamente humanos, como por exemplo, a fala desconexa ou pobre, presente em pacientes psicóticos e que é um dos sintomas negativos da doença. Assim sendo, é possível concluir que a descoberta de substâncias que atuem no tratamento de sintomas negativos se torna uma tarefa mais complexa que a descoberta daquelas que atuam nos sintomas positivos, uma vez que carecemos de mais modelos animais validados para tal avaliação (Lipska e Weinberger, 2000; Marcotte *et al.*,

2001).

No teste de estereotipia a miricitrina apresentou uma boa capacidade de reverter a estereotipia induzida por apomorfina, sendo que este efeito se mostrou dose dependente, uma vez que somente a dose de 10mg/kg foi efetiva em reverter a estereotipia. O modelo de indução da estereotipia por apomorfina e sua abolição decorrente do tratamento com drogas antipsicóticas foi validado por Setler e posteriormente adaptado para camundongos (Chinen *et al.*, 2006). De acordo com este teste, drogas capazes de diminuir a quantidade da dopamina liberada na fenda sináptica, seriam capazes de reverter a atividade estereotipada, uma vez que tal atividade é decorrente da atividade agonista dopaminérgica da apomorfina no estriado (Costall *et.al.*, 1982), como foi observado com nosso controle positivo, a olanzapina. A hiperatividade dopaminérgica na via mesocortical, como já mencionado, leva a um comportamento desorganizado e/ou agitado no paciente, sendo assim, a mimetização do comportamento estereotipado apresentaria boa validade como modelo de sintoma positivo da esquizofrenia (Pull, 2005; Andreasen e Olsen, 1982). Posteriormente, na tentativa de avaliar o mecanismo de ação envolvido em tal reversão de atividade estereotipada, foram escolhidas duas drogas, o 7-nitroindazol (7-NI), que tem por mecanismo de ação a diminuição do NO cerebral através da inibição da nNOS (Wiley, 1998; Salum *et al.*, 2008; Issy *et al.*, 2009) e o tamoxifeno, que além de sua atividade antiestrogênica apresenta atividade de inibição da PKC, sobre os mesmos dois subtipos específicos em que atuam a miricitrina (Meotti *et.al.*, 2006; Sabione *et.al.*, 2008). Os resultados observados foram de que as duas substâncias apresentaram atividade antipsicótica no presente teste, sendo que para ambas o bloqueio da estereotipia foi total. Conclui-se então, a partir de tais resultados, que substâncias que apresentam atividade inibitória da PKC, além da atividade antimaníaca, que já foi explorada e comprovada, poderiam ser bons candidatos para fármacos antipsicóticos (Hanh *et.al.* 2005; Sabione *et.al.*, 2008). É importante citar que tal atividade no controle da psicose já havia sido sugerido, em pacientes maníacos, pelos trabalhos de Kulkarni e colaboradores (2006) e Yildiz e colaboradores (2008). Em relação à inibição do NO e atividade antipsicótica, o 7-NI mostrou uma inibição da estereotipia dose dependente, sendo efetiva somente na maior dose. Existem muitos trabalhos que corroboram este dado, sendo que estes trabalhos foram realizados em modelos animais tanto para sintomas positivos quanto negativos da esquizofrenia (Wiley, 1998; West *et al.*,

2002; Issy et al., 2009), o que revela um bom espectro de envolvimento do NO no quadro de psicose. Este fato já era esperado, uma vez que o NO tem um papel importante nos mecanismos de liberação e recaptação da dopamina (Fujiyama e Masukos, 1996; Del Bel e Guimarães, 2000). Nosso dado é corroborado pelo trabalho de Abekawa e colaboradores (1997) que demonstrou a reversão da estereotipia induzida por anfetamina com a utilização de L-NAME, um inibidor não específico da síntese de NO. A última avaliação feita no teste de estereotipia foi a reversão da atividade do 7-NI e da miricitrina através do pré-tratamento com L-arginina. Neste teste foi primeiramente estabelecida a menor concentração de L-arginina capaz de reverter totalmente a atividade do 7-NI, em sua maior dose (6mg/kg), que foi a efetiva no bloqueio da estereotipia. A necessidade do estabelecimento desta dose decorreram do fato de que não foi encontrada na literatura indicação de dose empregada em teste de estereotipia para camundongos Swiss. Sendo que as doses observadas em trabalhos com outras linhagens de camundongos e outros tipos de teste, variavam entre 250 e 750mg/kg (Jesse *et.al.*, 2008; Savegnago *et.al.*, 2008). Testamos as doses de 200, 400 e 600mg/kg e a dose escolhida para os testes posteriores foi a de 200mg/kg, uma vez que as três conseguiram reverter a atividade do 7NI e a utilização da menor dose se torna a mais viável tanto pela economia de droga quanto por evitar os efeitos indesejáveis como queda de pressão nos animais (Flora Filho e Zilberstein, 2000). Isto parece ter ocorrido com a maior dose, uma vez que neste grupo os animais apresentaram uma queda na locomoção, (embora não significativa). Posteriormente foi avaliada atividade da L-arginina na reversão da atividade antipsicótica da miricitrina e os dados obtidos mostraram apenas uma reversão parcial de atividade da miricitrina. Isto nos leva a concluir que a via da NO está envolvida no efeito antipsicótico da miricitrina, porém não seria o único mecanismo de ação.

Outro teste feito para a avaliação de sintoma positivo da esquizofrenia foi o modelo de climbing. Este teste seguiu o protocolo estabelecido por Protais e colaboradores (1976) e considerando que o protocolo e o aparato de teste são bem similares ao de estereotipia, decidimos pela realização simultânea dos testes, uma vez que ambos são de fácil realização e com isso seriam economizados droga, tempo e animais experimentais. Os dados obtidos revelaram novamente uma atividade tipo antipsicótica da miricitrina, sendo que no presente teste ambas as doses foram efetivas na reversão da atividade de climbing. A olanzapina, como

controle positivo, se mostrou efetiva (Bardin *et.al.*, 2006), indicando a validade do procedimento. Também neste teste, o padrão se repetiu para as drogas que atuam especificamente nas vias do NO (somente na dose mais alta) e da PKC, ou seja, ambas apresentam atividade tipo antipsicótica no teste de climbing. Este dado está de acordo com os achados de outros pesquisadores quando ao envolvimento do NO e da PKC no controle da psicose (Dwivedi e Pandey, 1999; Yildiz et al., 2008; Wiley, 1998; West et al., 2002). Além disto, este dado da inibição do climbing por ação de substâncias inibidoras da síntese de NO está relacionado e corrobora os resultados obtidos por Kim e colaboradores (1999), que relacionam a inibição dos receptores NMDA como um mecanismo que indiretamente irá diminuir a atividade de climbing, pois, como se sabe, os receptores glutamatérgicos do tipo NMDA estão intimamente relacionados com a síntese do óxido nítrico. Já os dados indicando uma possível atividade tipo antipsicótica do tamoxifeno no teste de climbing corroboram seu envolvimento como via de mecanismo de ação de drogas antipsicóticas como, por exemplo, o haloperidol e a sulpiridina (Giambalvo, 1988). Por último, mais uma vez foi observado que a inibição da atividade do 7NI pelo pré-tratamento com L-arginina é total, enquanto a inibição da miricitrina é apenas parcial. Novamente, os dados indicam que possivelmente mais de um mecanismos de ação esteja envolvido na atividade antipsicótica da miricitrina. Após a realização destes dois testes foi estabelecida como dose mínima de utilização de miricitrina para os testes posteriores, a concentração de 10mg/kg, uma vez que esta foi efetiva na reversão dos efeitos da administração de apomorfina nos dois testes iniciais de efeito antipsicótico.

O último teste realizado para verificar uma possível atividade antipsicótica foi o teste da pata, um teste interessante não somente por apresentar um padrão de diferenciação entre antipsicóticos típicos e atípicos, mas também por não haver neste teste indução de comportamento por uso de outra substância, e assim sendo, este teste evita uma possível interação entre substância e apresentação de resultados não confiáveis (Ellenbroek e Cools, 1988; Geyer e Ellenbroek, 2003). O haloperidol e a olanzapina foram utilizados, respectivamente, como controle para padrão de atividade de antipsicótico típico e atípico (Ellenbroek *et.al.*, 1987; Colls *et.al.*, 1995). Neste teste a miricitrina apresentou um padrão de atividade do tipo atípico, uma vez que esta somente foi efetiva em causar retenção de pata traseira, o mesmo sendo observado com a olanzapina. Estes dados poderiam ser tomados

como um indicativo de uma potencial atividade antipsicótica do tipo atípico da miricitrina, carecendo, porém para tal afirmação da realização de testes específicos para sintomas negativos da psicose, como por exemplo, o teste de pré-pulso (Issy *et.al.*, 2009). Na tentativa de avaliar uma possível alteração em tal padrão de resposta foi utilizada uma dose 3 vezes maior de miricitrina (30mg/kg), que também não apresentou efeito no tempo de retirada das patas dianteiras, indicando seu baixo potencial para efeitos extrapiramidais. Em relação ao 7NI e ao tamoxifeno, neste teste somente o primeiro apresentou efeito. Esta variação pode ser decorrente da necessidade de utilização de uma maior dose de tamoxifeno para obtenção deste efeito em ratos, ou ainda, uma consequência da diferença da taxa de velocidade metabólica entre as duas espécies, uma vez que, para alguns fármacos a metabolização é mais rápida em camundongos que em ratos, como é um exemplo, a androstenediona (Martignone *et.al.*, 2006) e em consequência da forma ativa do tamoxifeno ser a forma metabolizada, que é conhecida como N-desmetil-tamoxifeno. Quanto a atividade da substância inibidora da síntese do óxido nítrico, o 7NI, a resposta corrobora mais uma vez a idéia de envolvimento do NO no efeito antipsicótico de fármacos (Starr e Starr, 1995; Issy *et al.*, 2009). Entretanto, o efeito foi relativamente pequeno quando comparado com outras substâncias como a olanzapina, a miricitrina e o haloperidol; esta resposta diminuída pode ser decorrente de uma absorção mais lenta da substância ou de uma dose baixa para utilização em ratos, uma vez que neste teste a mudança da metodologia tanto quanto à espécie empregada quanto à via de administração. O teste da pata também é utilizado no intuito de avaliar um possível efeito extrapiramidal de drogas, uma vez que dentre as drogas já testadas neste protocolo experimental, drogas típicas apresentam alteração no tempo de retração de pata dianteira na mesma dose que alteram a retirada de pata traseira (Ellenbroek e Cools, 1988). Este resultado da miricitrina no teste da pata nos levou à realização do teste de catatonía no intuito de verificar a baixa tendência de produção de efeito extrapiramidal da miricitrina.

No teste de catatonía, teste amplamente utilizado para avaliar efeitos extrapiramidais de substâncias (Ellenbroek and Cools, 1988; Cools *et al.*, 1995; Ellenbroek *et al.*, 1996; Ellenbroek *et al.*, 2001), foi observado que a miricitrina *per se*, bem como a olanzapina, não apresentam tendência de desenvolvimento de efeitos extrapiramidais, ao contrário do haloperidol, antipsicótico típico. Este dado reforça o relativamente baixo potencial da miricitrina em induzir sintomas

estrapiramidais em doses que apresentam efeito tipo antipsicótico. Por último, é importante resaltar que todos estes testes foram feitos com doses das substâncias testadas que não alteravam a atividade locomotora, podendo então se dizer que o efeito observado era resultante da atividade da substância *per se* e não decorrente de uma diminuição da capacidade do animal de se locomover.

Em suma, a miricitrina mostrou apresentar atividade do tipo antipsicótica nos testes de estereotipia, climbing e teste da pata e não apresentou efeito extrapiramidal *per se*. Os resultados obtidos relacionam tal atividade com a participação do NO e de uma outra via (talvez a PKC) para obtenção do efeito tipo antipsicótico da miricitrina.

6. Conclusões:

A presente substância, a miricitrina, mostrou um bom efeito nos modelos para avaliação de drogas antipsicóticas (sintomas positivos), sem induzir, agudamente, efeitos extrapiramidais. Assim sendo, pode-se dizer que tal substância é um bom alvo farmacológico para o tratamento de doenças que apresentem psicose, seja esta uma característica fundamental de quadro psiquiátrico, como no caso da esquizofrenia, seja esta um possível sintoma secundário, como no caso do transtorno bipolar. É possível concluir que nossos dados corroboram com trabalhos de outros pesquisadores que relacionam a capacidade de fármacos de modularem a atividade da PKC e óxido nítrico e uma ação terapêutica em quadros de mania e de psicose, assim sendo, podemos concluir que a inibição da PKC e NO podem ser alvos úteis para a pesquisa de novas drogas antipsicóticas. Por último, é interessante comentar que, baseado na atividade apresentada nos testes que realizamos, a miricitrina pode ser a primeira droga de uma nova classe de fármacos antipsicóticos que não atuem diretamente no receptor D₂.

Referências bibliográficas

- Aarts, M.M., Tymianski, M. Novel treatment of excitotoxicity: targeted disruption of intracellular signaling from glutamate receptors. **Biochem. Pharmacol.** 66:877-886, 2003.
- Abekawa, T., Ohmori, T., Koyoma, T., Effect of NO Synthesis inhibition on striatal dopamine release and stereotyped behavior induced by a single administration of methamphetamine. **Prog. Neuropsychopharmacol. & Biol. Psychiatry.** 21:831-838, 1997.
- Abi-Dargham, A., Gil, R., Krystal, J., Baldwin, R. M., Seibyl, J. P., Bowers, M., van Dyck, C. H., Charney, D. S., Innis, R. B., & Laruelle, M. Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: Confirmation in a second cohort. **Am. J. Psychiatry,** 155:761-767, 1998.
- Abi-Dargham, A., Rodenhiser, J., Printz, D., Zea-Ponce, Y., Gil, R., Kegeles, L.S., Weiss, R., Cooper, T.B., Mann, J.J., Van Heertum, R.L., Gorman, J.M., Laruelle, M. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. **Proc.Nat. Acad. Sciences USA** 97,8104–8109, 2000.
- Abi-Dargham, A., Mawlawi, O., Lombardo, I., Gil, R., Martinez, D., Huang, Y., Hwang, D.R., Keilp, J., Kochan, L., VanHeertum, R.,Gorman, J.M., Laruelle,M. Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia. **J. Neuroscience** 22:3708–3719, 2002.
- Abi-Dargham, A., Laruelle, M. Mechanisms of action of second generation antipsychotic drugs in schizophrenia: insights from brain imaging studies. **Eur. Psychiatry.** 20:15-27, 2005.
- Adad, M.A., Castro, R., Mattos, P. Aspectos neuropsicológicos da esquizofrenia. **Rev. Bras. Psiquiatria** 22(1):31-34, 2000.
- Addington, J., Addington, D. Premorbid functioning, cognitive functioning, symptoms and outcome in schizophrenia. **J. Psychiatry Neurosci.** 18:18, 1993.
- Addington, J., Addington, D. Neurocognitive and social functioning in schizophrenia. **Schizophrenia Bull.** 25(1):173-182, 1999.
- Agid, O., Kapur, S., Remington, G. Emerging drugs for schizophrenia. **Expert Opin. Emerging Drugs.** 13(3) 479-495, 2008.
- Agullo, G., Gamet-Payraastre, L., Manenti, S., Viala, C., Rémésy, C., Chap, H., Payraastre, B. Relationship between flavonoid structure and inhibition of phosphatidylinositol-3 kinase: a comparison with tyrosine kinase and protein kinase C inhibition. **Biochem. Pharmacol.** 53,1649–1657, 1997.
- Ahmadian, G., Ju, W., Liu, L., Wyszysky, M., Lee, S.H., Duhah, A.W., Taghibiglou, C. Wang, Y., Lu, J., Wong, T.P., Sheng, M. Wang, Y.T. Tyrosine phosphorylation of GluR2 is required for insulin-stimulated AMPA receptor endocytosis and LTD. **EMBO Journal.** 10;23,1040-1050, 2004.
- Akbadian, S., Bunney, W. E., Potkin, S. G., Wigal, S. B., Hagman, J. O., & Jones, E. G. Altered distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-diaphorase cells in frontal lobe of schizophrenics implies disturbance of cortical development. **Arch. Gen. Psychiatry.** 50,169-177, 1993.
- Akiskal, H., Pinto, O. The Evoking Bipolar Spectrum: Prototypes I, II, III and IV. **Psych. Clin. of North America,** 22(3):517-534, 1999.
- Akiskal, H.S.; Hantouche, E.G. - Gender, temperament, and the clinical picture in dysphoric mixed mania: findings from a French national study (EPIMAN). **J. Affect Disord.** 50 (2-3):175-186, 1998.
- Almeida, N.F., Mari, J.J., Coutinho, E.S.F., França, J.F., Fernandes, J.G., Andreoli, S.B. Estudo multicêntrico de morbidade psiquiátrica em áreas urbanas brasileiras (Brasília, São Paulo, Porto Alegre). **Rer. ABPAPAL;** 16:93-104, 1992.
- Ambelas, A. Psychologically stressful events in the precipitation of manic episodes. **Brit. J. Psychiatry,** 135,15–21, 1979.
- American Psychiatric Association. Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder. **Am. J. Psychiatry.** 151:1–36, 1994.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edn, text revision. Washington, DC: **American Psychiatric Association Press.** 2000.

- Andreasen, N.C., Olsen, S. Negative versus positive schizophrenia. Definition and validation. **Arch. Gen. Psychiatry** 39(7):789-794, 1982.
- Andrews, G, Slade, T. Agoraphobia without a history of panic disorder may be part of the panic disorder syndrome. **J. Nervous Mental Dis.** 190:624–630, 2002.
- Angst, J.; Marneros, A. Bipolarity from ancient to modern times: conception, birth and rebirth. **J. Affect Disord.** 67(13):3-19, 2001.
- Arundine, M., Tymianski, M. Molecular Mechanisms of Calcium-dependent neurodegeneration in Excitotoxicity. **Cell Calcium.** 34:325-337, 2003.
- Babigian, H.M. Schizophrenia: epidemiology. In: Freedman AM, Kaplan HI, Sadock BJ, eds. **Compr. Textbook of Psychiatry.** Baltimore: Williams & Wilkins, 1975.
- Bachus, S.E., Kleinman, J.E. The neuropathology of schizophrenia. **J. Clin. Psychiatry** 57-72, 1996.
- Baldessarini, R.J., Tondao, L., Hennen, J. Lithium treatment and suicide risk in major affective disorders: update and new findings. **J. Clin. Psychiatry.** 64(5):44–52, 2003.
- Bardin, L., Kleven, M.S., Barret-Grévoz, C., Depoortère, R., Newman-Tancredi, A. Antipsychotic-like vs cataleptogenic actions in mice of novel antipsychotics having D2 antagonist and 5-HT1A agonist properties. **Neuropsychopharmacology.** 31(9):1869-1879, 2006.
- Baretta, I.P., Assreuy, J., De Lima, T.C. Nitric oxide involvement in the anxiogenic-like effect of substance P. **Behav. Brain Res.** 121(12):199-205, 2001.
- Barreto, R.L., Correia, C.R.D. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Quim. Nova,** 28(6);1046-1054, 2005.
- Beal, M.F., Howell, N., Bodis-Wollner, I. **Mitochondria and Free Radicals in Neurodegenerative Diseases.** New York: Wiley Liss, 1997.
- Beasley, C.L., Zhang, Z.L., Patten, I., Reynolds, J.P., Selective deficits in prefrontal cortical GABAergic neurons in schizophrenia defined by presence of calcium-binding proteins. **Biological Psychiatry.** 52:708-715, 2002.
- Beckman, J.S., Beckman, T.W., Chen, J., Marshall, P.A., Freeman, B.A. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 87(4),1620-1624, 1990.
- Beiser, M., Erickson, D., Fleming, J.A. Iacono, W.G. - Establishing the onset of psychotic illness. **Am. J. Psychiatry.** 150:1349-1354, 1993.
- Bellodi, L., Battaglia, M., Diaferia, G. Lifetime prevalence of depression and family history of patients with panic disorder and social phobia. **Eur. Psychiatry.** 8:147–152, 1993.
- Belmaker, R.H. Medical progress: Bipolar Disorder. **New England J. Med.** 351:476-486, 2004.
- Benca, R.M., Obermayer, W.H., Thisted, R.A., Gillin, J.C. Sleep and psychiatric disorders: a meta-analysis. **Arch. Gen. Psychiatric.** 49:651-658, 1992.
- Benes, F.M., Sorensen, I., Vincent, S.L., Bird, E.D., Sathi, M. Increased density of glutamate-immunoreactive vertical processes in superficial laminae in cingulate cortex of schizophrenic brain. **Cereb. Cortex** 2:50-53, 1992.
- Benson, K.L., Zarcone Jr. V.P. Schizophrenia. In: Krieger M.H., Roth, T., Dement, W.C., editors. **Princ. & Pract. of Sleep Med.** 3 ed. Philadelphia: WB Saunders; p.1159-1167, 2000.
- Berman, A.L. The brainstem of the rat. In: **A Cytoarchitectonic atlas with stereotaxic Coordinates,** University of Wisconsin Press, Madison., 1968.
- Berman, R.M., Narasimhan, M., Charney, D.S. Treatment-refractory depression: definitions and characteristics. **Depress. Anxiety.** 5:154-164, 1997.
- Berridge, M.J., Downes, C.P., Hanley, M.R. Lithium amplifies agonist-dependent phosphatidylinositol responses in brain and salivary glands. **Biochem. J.** 206:587-595, 1982.
- Berstelsen, A., Harvald, B., Hauge, M. A Danish twin study of manic-depressive disorders. **Br. J. Psychiatry.** 130:330–351, 1977.
- Bidzinska, E.J. Stress factors in affective diseases. **Brit. J. Psychiatry,** 144,161–166, 1984.
- Bienvenu, O.J., Onyike, C.U., Stein, M.B. Agoraphobia in adults: incidence and longitudinal

- relationship with panic. **Br. J. Psychiatry.** 188:432–438, 2006.
- Birt, D.F., Hendrich, S., Wang, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacol. Ther.** 90:157–177; 2001.
- Bonner, C. A. Psychogenic factors as causative agents in manic–depressive psychosis. In W. A. White, T. K. Davis, & A. M. Frantz (Eds.), **Manic depressive psychosis: An investigation of the most recent advances.** New York, NY: Williams and Watkins, 1930.
- Bredt, D.S., Hwang, P.M., Glatt, C.E., Lowenstein, C., Reed, R.R., Snyder, S.H. Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. **Nature.** 351(6329),714-718, 1991.
- Brenman, J.E., Bredt, D.S. Nitric oxide signaling in the nervous system. **Methods Enzymol.** 269,119-129, 1996.
- Brenman, J.E., Chao, D.S., Gee, S.H., Mcgee, A.W., Craven, S.E., Santillano, D.R., Wu, Z., Huang, F., Xia, H., Peters, M.F., Froehner, S.C., Bredt, D.S. Interaction of nitric oxide synthase with the postsynaptic density protein PSD-95 and alpha1-syntrophin mediated by PDZ domains. **Cell.** 84(5),757-767, 1996.
- Buchanan, R.W. Clozapine: efficacy and safety. **Schizophrenia Bull.** 21(4):579-591, 1995.
- Burns, M.J. The pharmacology and toxicology of atypical antipsychotic agents. **Clin. Toxicol.** 39(1):1-14, 2001.
- Burt, D.R., Creese, I., Snyder, S.H. Antischizophrenic drugs: chronic treatment elevates dopamine receptor binding in brain. **Science.** 196(4287):326-328, 1977.
- Buschmann, H., Díaz, J.L., Holenz, J., Párraga, A., Torrens, A., Vela, J.M. **Antidepressant, antipsychotics, anxiolytics: from chemistry and Pharmacology to Clinical Application.** Vol.1. Wiley-VCH. 2007.
- Bushe, C., Holt, R. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in patients with schizophrenia. **Br. J. Psychiatry.** 184(47):67-71, 2004.
- Caetano, R. Adimisiones de primer ingreso a los servicios psiquiátricos en Brasil, 1960-1974. **Bol. Ofic. Sanitaria Panamer;** 92(2):103-117. 1982.
- Calabrese, V., Mancuse, C., Calvani, M., Rizzarelli, E., Butterfield, D.A. Stella, A.M.G. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. **Nature Rev. Neuroscience.** 8:766-775, 2007.
- Camarini, R., Andreatini, R., Monteiro, M.G. Prolonged treatment with carbamazepine increases the stimulatory effects of ethanol in mice. **Alcohol.** 12(4):305-308, 1995.
- Carlson, G.A., Goodwin, F.K. The stages of mania: a longitudinal analysis of the manic episode. **Arch. Gen. Psychiatry** 28,221–228, 1973.
- Carlsson C, Dencker SJ, Grimby G, Haggendal J, Johnsson G. Hemodynamic effects of thiothixene and chlorpromazine in schizophrenic patients at rest and during exercise. **Int. J. Clin. Pharmacol. Biopharm.** 13(4):262-268, 1976.
- Carlsson, A., Waters, N., Holm-Waters, S. Interactions between monoamines glutamate, and GABA in schizophrenia: New evidence. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 41,237–260, 2001.
- Carlsson, A., Carlsson, M.L. A dopaminergic deficit hypothesis of schizophrenia: the path to discovery. **Dialogues in Clinical Neuroscience** 8,137–142, 2006.
- Castagné, V., Moser, P.C., Porsolt, R.D. Preclinical behavioral models for predicting antipsychotic activity. **Adv. Pharmacol.** 57:381–418, 2009.
- Castro, L., Rodriguez, M., Radi, R. Aconitase is readily inactivated by peroxy nitrite, but not by its precursor, nitric oxide. **J. Biol. Chem.** 269(47),29409-29415, 1994.
- Cepeda, C., Levine, M.S. Dopamine and N-methyl-D-aspartate receptor interactions in the neostriatum. **Dev Neurosci.** 20:1-18, 1998.
- Cervo, L., Mukherjee, S., Bertaglia, A., Samanin, R. Protein kinases A and C are involved in the mechanisms underlying consolidation of cocaine place conditioning. **Brain Research,** 775,30-36, 1997.
- Chen, L., Huang, L. Y. Protein kinase C reduces Mg²⁺ block of NMDA receptor channels as a mechanism of modulation. **Nature.** 356,521-523. 1992.
- Childress, A.R., O'Brien, C.P. Dopamine receptor partial agonists could address the duality of cocaine craving. **Trends Pharmacol. Sci.** 21,6–9, 2000.

- Chinen, C.C., Frussa-Filho, R. Conditioning to injection procedures and repeated testing increase SCH23390-induced catalepsy in mice. **Neuropsychop.** 21(5):670-678, 1999.
- Chinen, C.C., Faria, R.R., Frussa-Filho, R. Characterization of rapid-onset type of behavioral sensitization to amphetamine in mice: role of drug-environment conditioning. **Neuropsychopharmacology.** 31:151–159, 2006.
- Colom, F., Vieta, E., Daban, C., Pacchiarotti, I., Sanchez-Moreno, J. Clinical and therapeutic implications of predominant polarity in bipolar disorder. **J. Affect Disord.** 93:13–17, 2006.
- Cools, A.R., Prinssen, E.E.M., Ellenbroek, B.A. The olfactory tubercle as a site of action of neuroleptics with an atypical profile in the paw test: effect of risperidone, prothipendyl, ORG 5222, sertindole and olanzapine. **Psychopharmacol.** 119:428-439, 1995.
- Corbett, R., Zhou, L., Sorensen, S.M. e Mondadori, C. Animal models of negative symptoms: M100907 antagonizes PCP-induced immobility in a forced swim test in mice. **Neuropsychopharmacol.** 21:S211–S218, 1999.
- Coryell, W., Endicott, J., Reich, T., Andreasen, N., Keller, M. A family study of bipolar II disorder. **Br. J. Psychiatry;** 145:49-54, 1984.
- Costall, B., Naylor, R.J. Differential actions of typical and atypical neuroleptic agents on 2 behavioral-effects of apomorphine in mouse. **Brit. J. Pharmacol.** 63(2),381-382, 1978.
- Costall, B., Eniojukan, J.F., Naylor, R.J. Spontaneous climbing behaviour of mice, its measurement and dopaminergic involvement. **Eur. J. Pharmacol.** 85(2); 125-132, 1982.
- Coyle, J.T., Duman, R.S. Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. **Neuron.** 38(2):157-160; 2003.
- Coyle, J.T., Tsai, G., Goff, D. Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia. **Ann. N.Y. Acad. Sci.** 1003:318–327, 2003.
- Craddock, N., Dave, S., Greening, J. Association Studies of Bipolar Disorder. **Bipolar Disorders.** 3:284–298, 2001.
- Craddock, N., Forty, L. Genetics of affective (mood) disorders. **Eur. J. Hum. Gen.** 14(6)660-668, 2006.
- Creese, I., Burt, D.R., Snyder, S.H. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. **Science.** 192:481–483, 1976.
- Crow, T.J. - The two syndrome concept: origins and current status. **Schizophrenia Bull.** 11:471-486, 1985.
- D'Hooge, R., Deyn, P.P. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. **Brain Res. Rev.** 36:60–90, 2001.
- Dae Lee, B., Walss-Bass, C., Thompson, P.M., Dassori, A., Montero, P.A., Medina, R., Contreras, S., Armas, R., Ramirez, M., Pereira, M., Salazar, R., Leach, R.J., Quezada, P., Raventos, H., Escamilla, M. Malic enzyme 2 and susceptibility to psychosis and mania. **Psychiatry Res.** 150:1–11, 2007.
- Davis, K.L., Kahn, R.S., Ko, G., Davidson, M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. **Am. J. Psychiatry.** 148:1474–1486, 1991.
- Dawson, V.L., Dawson. T.M., Uhl. G.R., Snyder. S.H. Human immunodeficiency virus type 1 coat protein neurotoxicity mediated by nitric oxide in primary cortical cultures. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 90(8),3256-3259, 1993.
- Deakin, J.F., Slater, P., Simpson, M.D., Gilchrist, A.C., Skan, W.J., Royston, M.C. Frontal cortical and left temporal glutamatergic dysfunction in schizophrenia. **J. Neurochem.** 52:1781-1786, 1989.
- Del Bel, E.A., Guimarães, F.S. Sub-chronic inhibition of nitric-oxide synthesis modifies haloperidol-induced catalepsy and the number of NADPH-diaphorase neurons in mice. **Psychopharmacol.** 147,356–366, 2000.
- Del Bel, E.A., Guimarães, F.S., Bermudez-Echeverry, M., Gomes, M.Z. Schiaveto-de-Souza, A., Padovan-Neto, F.E. Role of nitric oxide on motor behaviour. **Cell. Mol. Neurobiol.** 25,371–392, 2005.
- Delay, J., Deniker, P., Harl, J.M. Utilisation en thérapeutique psychiatrique d'une phénothiazine d'action centrale élective. **Ann. Méd. Psychol;** 110(2),112-117, 1952.
- Depoortère, R., Dargazanli, G., Estenne-Bouhtou, G., Coste, A., Lanneau, C., Desvignes, C., Poncelet, M., Heaulme, M., Santucci, V., Decobert, M. Neurochemical,

- electrophysiological and pharmacological profiles of the selective inhibitor of the glycine transporter-1 SSR504734, a potential new type of antipsychotic. **Neuropsychopharmacology**. 30:1963–1985, 2005.
- Deutch, A.Y., Goldstein, M., Baldino JR., F. Roth, R.H. In Kalivas, P.W.; NEMEROFF, C.B. The Mesocorticolimbic Dopamine System. **Ann. N.Y. Acad. Sciences**, 537:27-50, 1988.
- Didriksen, M., Skarsfeldt, T., Arnt, J. Reversal of PCP-induced learning and memory deficits in the Morris' water maze by sertindole and other antipsychotics. **Psychopharmacology (Berl)** 193:225–233, 2007.
- Diehl, D., Gershon, S. The role of dopamine in mood disorders. **Compr. Psychiatr.** 2:115–120, 1992.
- Domesick, V.B. Neuroanatomical organization of dopamine neurons in the ventral tegmental area. In: Kalivas, P.W. & Nemeroff, C.B. The Mesocorticolimbic Dopamine System. **Ann. N.Y. Acad. Sciences**, 537:10-26, 1988.
- Dunayevich, E., Keck, P.E. Prevalence and description of psychotic features in bipolar mania. **Curr. Psychiatry Rep.** 2,286–290, 2000.
- Dunayevich, E., Keck, P.E.. Prevalence and description of psychotic features in bipolar mania. **Curr. Psychiatry Rep.** 2,286–290, 2000.
- Dunn, A.J., Stress-related activation of cerebral dopaminergic systems. In P.W. Kalivas and C.B. Nemeroff (Eds.), The Mesocorticolimbic Dopamine System. **N.Y. Acad. Sciences**. 537:138-147, 1988.
- Dupont, R.M., Jernigan, T.L., Heindel, W. Magnetic resonance imaging and mood disorders. Localisation of white matter and other subcortical abnormalities. **Arch. Gen. Psychiatry**. 52:747–755, 1995.
- Dwivedi, Y., Pandey, G.N. Effects of Treatment with Haloperidol, Chlorpromazine, and Clozapine on Protein Kinase C (PKC) and Phosphoinositide-Specific Phospholipase C (PI-PLC) Activity and on mRNA and Protein Expression of PKC and PLC Isozymes in Rat Brain. **J. Pharmacol. Exp. Ther** 291(2),688–704, 1999.
- Eastham, J.H., Jeste, D.V. Treatment of schizophrenia and delusional disorder in the elderly. **Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.** 247:209, 1997.
- Eastwood, S.L., Law, A.J., Everall, I.P., Harrison, P.J. The axonal chemorepellant semaphorin 3A is increased in the cerebellum in schizophrenia and may contribute to its synaptic pathology. **Mol. Psychiatry**. 8:148–155, 2003.
- Edenharder, R., Grünhage, D. Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in Salmonella typhimurium TA102. **Mutat. Res.** 540:1–18, 2003.
- Egan, M.F., Goldberg, T.E., Kolachana, B.S., Callicott, J.H., Mazzanti, C.M., Straub, R.E. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 98:6917–6922, 2001.
- Egan, M.F., Kojima, M., Callicott, J.H. The BDNF Val66-Met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. **Cell**. 112:257–269, 2003.
- Einat, H., Yuan, P., Szabo, S.T., Dogra, S., Manji, H.K. Protein Kinase C Inhibition by Tamoxifen Antagonizes Manic-Like Behavior in Rats: Implications for the Development of Novel Therapeutics for Bipolar Disorder. **Neuropsychobiol.** 55:123–131. 2007.
- Elkis, H., Friedman, L., Wise, A., Meltzer, H.Y. Meta-analyses of studies of ventricular enlargement and cortical sulcal prominence in mood disorders. **Arch. Gen. Psychiatry**. 52:735–746, 1995.
- Ellenbroek, B.A., Peeters, B.W., Honig, W.M., Cools, A.R. The paw test: a behavioural paradigm for differentiating between classical and atypical neuroleptic drugs. **Psychopharmacol.** 93,343-348, 1987.
- Ellenbroek, B., Cools, A.R. The paw test: An animal model for neuroleptic drugs which fulfils the criteria for pharmacological isomorphism. **Life Sciences**. 42(12):1205-1213, 1988.
- Ellenbroek, B.A., Lubbers, L.J., Cools, A.R. Activity of "seroquel" (ICI 204,636) in animal models for atypical properties of antipsychotics: a comparison with clozapine. **Neuropsychopharmacology**.; 15(4): 406-416, 1996.

- Ellenbroek, B.A., Jean-Franc, G.O., Bruhwyler, J., Cools, A.R. Effects of JL13, a pyridobenzoxazepine with potential atypical antipsychotic activity, in animal models for schizophrenia. **J. Phar. Exp. Ther.** 298(1),386–391, 2001.
- Escamilla, M.A., McInnes, L.A., Service, S.K., Spesny, M., Reus, V.I., Molina, J., Gallegos, A., Fournier, E., Batki, S., Neylan, T., Matthews, C., Vinogradov, S., Roche, E., Tyler, D.J., Shimayoshi, N., Mendez, R., Ramirez, R., Ramirez, M., Araya, C., Araya, X., Leon, P.E., Sandkuijl, L.A., Freimer, N.B. Genome screening for linkage disequilibrium in a Costa Rican sample of patients with bipolar-I disorder: a follow-up study on chromosome 18. **Am. J. Med. Genetics.** 105(2),207–213, 2001.
- Farde L. Brain imaging of schizophrenia – the dopamine hypothesis. **Schizophrenia Res.** 28:157-162, 1997.
- Farvolden, P., Kennedy, S.H., Lam, R.W. Recent developments in the psychobiology and pharmacotherapy of depression: optimising existing treatments and novel approaches for the future. **Expert Opin. Investig Drugs.** 12:65-86, 2003.
- Feldman, R.S., Meyer, J.S., Quenzer, L.F. **Catecholamines, Principles of neuropsychopharmacology.** Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc, 277–344, 1997.
- Fernandez, S.P., Nguyen, M., Yow, T.T., Chu, C., Johnston, G.A.R., Hanra, J.R., Chebib, M. The flavonoid glycosides, myricitrin, gossypin and narigin exert anxiolytic action in mice. **Neurochem. Res.** 34(10),1867-1875, 2009.
- Fioravanti, M., Carlone, O., Vitale, B., Cinti, M.E., Clare, L. - A meta-analysis of cognitive deficits in adults with a diagnosis of schizophrenia. **Neuropsychology Rev.** 15(2):73-95, 2005.
- Fleischhacker, W.W. New drugs for the treatment of schizophrenic patients. **Acta Psychiatr. Scand.** 388:24–30, 1995.
- Flora-Filho, R., Zilberstein, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Rev. Ass. Med. Brasil.** 46(3):265-271, 2000.
- Ford, D.E., Kamerow, D.B. Epidemiologic study of sleep disturbance and psychiatric disorders: an opportunity for prevention? **JAMA.** 262:1479-1484, 1989.
- Frederico, W.A., Oga, S., Pequeno, M.R.L., Taniguchi, S.F. Efeitos extrapiramidais como consequência de tratamento com neurolépticos. **Einstein.** 6(1):51-55, 2008.
- Frota, L.H. **Cinqüenta anos de medicamentos antipsicóticos em psiquiatria.** Colégio Pedro II. RJ. 2003.
- Fujiyama, F., Masukos, S. Association of dopaminergic terminals and neurons releasing nitric oxide in the rat striatum: an electron microscopic study using NADPH-diaphorase histochemistry and tyrosine hydroxylase immunohistochemistry. **Brain Res. Bull.** 40,121–127, 1996.
- Furchgott, R.F., Zawadzki, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature.** 288(5789),373-376, 1980.
- Fusegi, M., Gomibuti, T., Mizusawa, H., Iwamoto, H. A case report of MELAS; on various psychiatric symptoms as acute exogenous reaction type (in Japanese). **Seishin Igaku Clin. Psychiatry.** 34:703–710, 1992.
- Gally, J.A., Montague, P.R., Reeke jr., G.N. Edelman, G. M. The NO hypothesis: possible effects of a short-lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 87,3547-3551, 1990.
- Gama, C.S., Souza, C.M., Lobato, M.I., Abreu, P.S.B. Relato do uso de Clozapina em 56 pacientes atendidos pelo programa de atenção de esquizofrenia refratária da Secretaria de Saúde e do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul. **Ver. Br. Psiquiatria.** 26(1):21-28, 2003.
- Gama, C.S., Berk, M., Andrezza, A.C., Kapczinski, F., Belmonte-de-Abreu, P. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor and thiobarbituric acid reactive substances in chronically medicated schizophrenic patients: a positive correlation. **Rev. Bras. Psiquiatr.** 30(4):337-40, 2008.
- Gamet-Payrastre, L., Manenti, S., Gratacap, M.P., Tulliez, J., Chap, H., Payrastre, B. Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. **Gen. Pharmacol.** 32:279–286,

- 1999.
- Garcia-Rill, E., Biedermann, J. A., Chambers, T., Skinner, R. D., Mrak, R. E., Husain, M., & Karson, C. N. Mesopontine neurons in schizophrenia. **Neuroscience**, 66,321- 335, 1995.
- Garthwaite, J. Nitric oxide signalling in the nervous system. **Seminars in The Neurosciences**. 5:171-180, 1993.
- Gaughran, F., Payne, J., Sedgwick, P.M., Cotter, D., Berry, M. Hippocampal FGF-2 and FGFR1 mRNA expression in major depression, schizophrenia and bipolar disorder. **Brain Res. Bull.** 70, 221–227, 2006.
- Gerber, G., Kangrga, I., Ryu, P. D., Larew, J. S., Randic, M. Multiple effects of phorbol esters in the rat spinal dorsal horn. **J. Neurosci.** 9,3606-3617, 1989.
- Gershon, E., Hamovit, J., Guroff, J. A family study of schizoaffective, bipolar I, bipolar II, unipolar, and normal control probands. **Arch. Gen. Psychiatry.** 39:1157–1167, 1982.
- Geyer, M.A., Ellenbroek, B. Animal behavior models of the mechanisms underlying antipsychotic atypicality. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.** 27(7):1071-1079, 2003.
- Gilman, A.G. Nobel Lectures. G protein and regulation of adenylyl cyclase. **Bioscience Reports.** 15:65-97, 1995.
- Gimbalvo, C.T. Protein Kinase C and Dopamine release II – Effect of dopamine action drug *in vivo*. **Biochem. Pharmacol.** 37(20):4009-4017, 1988.
- Giordano, G., Sánchez-Pérez, A.M., Montoliu, C., Berezney, R., Malyavantham, K., Costa, L.G., Calvete, J.J., Felipe, V. Activation of NMDA receptors induces protein kinase A-mediated phosphorylation and degradation of matrin 3. Blocking these effects prevents NMDA-induced neuronal death. **J. Neurochemistry.** 94,808-818, 2005.
- Girault, J.-A., Greengard, P. The Neurobiology of Dopamine Signaling. **Arch. Neurol.** 61;641-645, 2004.
- Gitlin, M.J., Swendsen, J., Heller, T.L., Hammen, C. Relapse and impairment in bipolar disorder. **Am. J. Psychiatry.** 152:1635–1640 1995.
- Goff, D.C., Cather, C., Evins, A. E. Medical morbidity and mortality in schizophrenia: Guidelines for psychiatrists. **J. Clin. Psychiatry.** 66,183-194, 2005.
- González-Pinto, A., Gutiérrez, M., Mosquera, F., Ballesteros, J., Lopez, P., Ezcurra, J., Figuerido, J.L., De León, J. First episode in bipolar disorder: misdiagnosis and psychotic symptoms. **J. Affect Disord.** 50 (1),41–44, 1998.
- Gonzalez-Pinto, A., van Os, J., Perez de Heredia, J. L., et al. Age-dependence of Schneiderian psychotic symptoms in bipolar patients. **Schizophrenia Res.** 61,157-162, 2003.
- Goodman, L.S., Gilman, A., Brunton, L., Lazo, J., Parker, K.L. **The pharmacological basis of therapeutics**. 11th ed. USA: McGraw – Hill; 2006.
- Goodwin, F.K., Jamison, K.R. Manic–Depressive Illness. **Oxf. Uni. Press**, New York, NY, 1990.
- Gottesman II. **Schizophrenia Genesis: The Origins of Madness**. NY: Freeman, 1991.
- Gottesman, I.I. Origins of schizophrenia: past as prologue. In: Plomin R, McClearn GE, eds. Nature nurture and psychology. **W., DC: Am. Psychological Ass.** 231–244, 1993.
- Gould, T.J., Keith, R.A., Bhat, R.V. Differential sensitivity to lithium's reversal of amphetamine-induced open-field in two inbred strains of mice. **Behav. Brain Res.** 118:95-105, 2001.
- Grayson, B., Idris, N.F., Neill, J.C. Atypical antipsychotics attenuate a subchronic PCP-induced cognitive deficit in the novel object recognition task in the rat. **Behav. Brain Res.** 184:31–38, 2007.
- Green, E., Raybould, R., McGregor, S., Gordon-Smith, K., Heron, J., Hyde, S. The operation of the schizophrenia susceptibility gene, Neuregulin 1 (NRG1) across traditional diagnostic boundaries to increase risk for bipolar disorder. **Arch. Gen. Psychiatry.** 62:642–648, 2005.
- Green, E.K., Raybould, R., Macgregor, S. Genetic variation at brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is associated with rapid cycling in a UK bipolar disorder case-control sample of over 3000 individuals. **Br. J. Psychiatry.** 188:21-25, 2006.

- Green, L.C., Tannenbaum, S.R., Goldmann, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**. 212:56-58, 1981.
- Green, M.F. What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? **Am. J. Psychiatry** 153:321-330, 1996.
- Greil, W., Ludwig-Mayerhofer, W., Erazo, N., Engel, R.R., Czernik, A., Giedke, H., Muller-Oerlinghausen, B., Osterheider, M., Rudolf, G.A., Sauer, H., Tegeler, J., Wetterling, T. Lithium vs. carbamazepine in the maintenance treatment of schizoaffective disorder: a randomized study. **Eur. Arc. Psychiatry & Clin. Neurosciences** 247:242, 1997.
- Grothe, C., Timmer, M. The physiological and pharmacological role of basic fibroblast growth factor in the dopaminergic nigrostriatal system. **Brain Res. Rev.** 54,80–91, 2007.
- Guerra, A.B.G., Calil, H.M., Depressão. In: Hetem LAB, Graeff F.G., editores. **Transtornos de ansiedade**. São Paulo, Atheneu. p.371-388, 2004.
- Haddad, P.M., Sharma, S.G. Adverse effects of atypical antipsychotics: differential risk and clinical implications. **CNS Drugs**. 21(11):911–936, 2007.
- Häfner, H., Behrens, S., Vry, J.D., Gattaz, W.F. Oestradiol enhances the vulnerability threshold for schizophrenia in women by an early effect on dopaminergic neurotransmission. **Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neuroscience**. 241:65-68, 1991.
- Häfner, H.; Maurer, K.; Löffler, W.; Riecher-Rössler, A. - The influence of age and sex on the onset and early course of schizophrenia. **Br. J. Psychiatry** 162: 80-86, 1993.
- Häfner, H., Heider, W., Behrens, S., Gattaz, W.F., Hambrecht, M., Löffler, W. Causes and consequences of the gender difference in age at onset of schizophrenia. **Schizophrenia Bull.** 24(2):99-113, 1998.
- Häfner, H.; Van der Heiden, W. Course and outcome of schizophrenia. In: Hirsch, S.R.; Weinberger, D.R. (eds.). Schizophrenia. **Blackwell Science, Oxford**. 101-141,2003.
- Hahn, C.G., Friedman, E. Abnormalities in protein kinase C signaling and the pathophysiology of bipolar disorder. **Bipolar disord.** 2:81-86, 1999.
- Hajek, T., Carrey, N., Alda, M. Neuroanatomical abnormalities as risk factors for bipolar disorder. **Mol. Psychiatry**. 11:125-133, 2005.
- Hammen, C., Ellicott, A., & Gitlin, M. J. Stressors and sociotropy/autonomy: A longitudinal study of their relationship to the course of bipolar disorder. **Cognitive Ther. & Res**, 16,409–418, 1992.
- Hanh CG, Umapathy, Wang HY, Koneru R, Levinson DF, Friedman E. Lithium and valproic acid treatments reduce PKC activation and receptor-G protein coupling in platelets of bipolar manic patients. **J Psychiatr Res**. 2005; 39(4): 355-63.
- Hantouche, E.G.; Akiskal H.S. Systematic clinical methodology for validating bipolar-II disorder: data in midstream from a French national multi-site study (EPIDEP). **J. Affect Disord.** 50(23):163-173, 1998.
- Harborne, J.B. **Methods in plant biochemistry, in General Procedures and Measurement of Total Phenolics** Academic Press, London, UK, pp 1- 28, 1989.
- Harrison, P.J., Law, A.J., Eastwood, S.L. Glutamate receptors and transporters in the hippocampus in schizophrenia. **Ann. N.Y. Acad. Sciences**. 1003,94–101, 2003.
- Harrison, P.J., Weinberger, D.R. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. **Mol. Psychiatry** 10,40-68, 2005.
- Harrow, M., Grossman, L. S., Herbener, E. S., & Davies, E. W. Ten-year outcome: Patients with schizoaffective disorders, schizophrenia, affective disorders and moodincongruent psychotic symptoms. **Brit. J. Psychiatry**. 177, 421_6, 2000.
- Hassel, B. Pyruvate carboxylation in neurons. **J. Neuroscience Res**. 66(5),755–762, 2001.
- Hawkins, K.A., Addington, J., Keefe, R.S., Christensen, B., Perkins, D.O., Zipurksy, R. Neuropsychological status of subjects at high risk for a first episode of psychosis. **Schizophrenia Res**. 67(23):115-112, 2004.
- Heninger, G.R., Delgado, P.L., Charney, D.S. The revised monoamine theory of depression: a modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. **Pharmacopsychiatry**. 29:2-11, 1996.
- Herve, D., Levi-Strauss, M., Marey-Semper, I., Verney, C., Tassin, J.P, Glowinski, J., Girault, J. Go, and Gs in rat basal ganglia: possible involvement of Go, in the coupling of

- dopamine D1 receptor with adenylyl cyclase. **J. Neurosci.** 13,2237-2248, 1993.
- Howard, R. Induced psychosis. **Br. J. Hosp. Med.** 51:304, 1994.
- Hwu, H.G., Tan, H., Chen, C.C., Yeh, L.L. Negative symptoms at discharge and outcome in schizophrenia. **Br. J. Psychiatry** 166:161, 1995.
- Hynd, M.R., Scott, H.L., Dodd, P.R. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. **Neurochem. Int.** 45:583-595, 2004.
- Issy, A.C., Salum, C., Del Bel, E.A. Nitric oxide modulation of methylphenidate-induced disruption of prepulse inhibition in Swiss mice. **Behav. Brain Res.** 205,475-478, 2009.
- Izquierdo, I. Pre and Postsynaptic events in long term potentiation in memory. **FASEB.** 8,1113-1139, 1989.
- Javitt, D.C., Zukin, S.R. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. **Am. J. Psychiatry** 148,1301-1308, 1991.
- Jefferys, D., Funder, J. Nitric oxide modulates retention of immobility in the forced swimming test in rats. **Eur. J. Pharmacol.** 295(2-3):131-135, 1996.
- Jentsch, J.D., Roth, R.H. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology.** 20:201-225, 1999.
- Jesse, C.R., Bortolotto, C.F., Savegnago, L., Rocha, J.B.T., Nogueira, C.W. Involvement of L-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in the antidepressant-like effect of tramadol in the rat forced swimming test. **Prog. in Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiatry.** 32,1838-1843, 2008.
- Jeste, D.V., McClure, F.S. Psychoses: Diagnosis and treatment in the elderly. **New Direct. for Mental Health Serv.** 76,53-70, 1997.
- Joca SR, Guimarães FS. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase in the rat hippocampus induces antidepressant-like effects. **Psychopharmacology (Berl).** 185(3):298-305, 2006.
- Joca, S.R., Ferreira, F.R., Guimarães, F.S. Modulation of stress consequences by hippocampal monoaminergic, glutamatergic and nitroergic neurotransmitter systems. **Stress.** 10(3):227-249, 2007.
- Johnstone, E.C., Conelly, J., Frith, C.D., Lambert, M.T., Owens, D.G. The nature of transient and partial psychoses: Findings from the Northwick Park Study Functional Psychosis Study. **Psychol. Med.** 26:361-369, 1996.
- Judd, L.L., Aksiskal, H.S., Schteller, P.J., Endicott, J., Masser, J. The long term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar disorder. **Arch. Gen. Psychiatry.** 59:530-537, 2002.
- Jung, M., Watson, D.G., Simpkins, J.W. Suppression of protein kinase C_β mediates 17β-estradiol-induced neuroprotection in an immortalized hippocampal cell line. **J. Neurochemistry.** 95:745-755, 2005.
- Kandel, E.R., SCHWARTZ, J.H., JESSEL, T.M. **Princípios da Neurociência.** 4 ed. São Paulo: Manole Ltda. 2003.
- Kane, J.M., Rifkin, A., Woerner, M.G. Low-dose neuroleptic treatment of outpatient schizophrenics. **Arch. Gen. Psychiatr.** 40,893-896, 1983.
- Kane, J.M., Rifkin, A., Woerner, M.G. High-dose versus low dose strategies in the treatment of schizophrenia. **Psychopharmacol. Bull.** 21,533-537, 1985.
- Kane, J.M. Extrapyramidal side effects are unacceptable. **Eur. Neuropsychopharmacol.** 11(4):397-403, 2001.
- Kang UJ, Burke RE, Fahn S. Tardive dystonia. **Adv. Neurol.** 50:415-429, 1988.
- Kaplan, H.I., Sadock, B.J., Grebb, J.A. **Compêndio de psiquiatria: ciências do comportamento e psiquiatria clínica.** 7ed. Porto Alegre: Artmed. 1997.
- Kapur, S., Remington, G., Jones, C. The D2 occupancy with lowdose haloperidol treatment: A PET study. **Am. J. Psychiatr.** 153, 948-950, 1996.
- Kapur, S., Seeman, P. Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D2 receptors. Implications for atypical antipsychotic action. **J. Psychiatry Neurosci.** 25(2):161-166, 2000.
- Kapur, S., Seeman, P. Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. **Am. J. Psychiatr** 158,360-369,

- 2001.
- Kendler, K.S. Demography of paranoid psychosis (delusional disorder). **Arch. Gen. Psychiatry** 39:89-90, 1982.
- Kendler, K.S., Walsh, D. Schizophreniform disorder, delusional disorder and psychotic disorder not otherwise specified: Clinical features, outcome, and familial psychopathology. **Acta Psychiatr Scand** 91:37-40, 1995.
- Keshavan, M.S., Reynolds, C.F., Kupfer, D.J. Electroencephalographic sleep in schizophrenia: a critical review. **Compr Psychiatry** 31(1):34-47, 1990.
- Kessler, R.C. Angermeyer, M., Anthony, J.C., Graaf, R., Demyttenaere, K., Gasquet, I., Girolamo, G., Gluzman, S., Gureje, O., Haro, J.M., Kawakami, N., Karam, A., Levinson, D., Mora, M.E.M., Browne, M.O., Posada-Villa, J., Stein, D.J., Tsang, C.H.A., Aguilar-Gaxiola, S., Alonso, J., Lee, S., Heeringa, S., Pennell, B.E., Berglund, P., Gruber, M.J., Petukhova, M., Chatterji, S., Üstün, T.B. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Arch. Gen. Psychiatry** 62:593–602, 2005.
- Kim, H.S., Rhee, G.S., Oh, S., Parl, W.K. NMDA receptor antagonists inhibit apomorphine-induced climbing behavior not only in intact mice but also in reserpine-treated mice. **Behav. Brain Res.** 100:135–142, 1999.
- Kirov, G., Ivanov, D., Williams, N. M., Strong evidence for association between the dystrobrevin binding protein 1 gene (DTNBP1) and schizophrenia in 488 parent-offspring trios from Bulgaria. **Biol. Psychiatry.** 55(10),971-975, 2004.
- Kiss, J.P., Vizi, E.S. Nitric oxide: a novel link between synaptic and non synaptic transmission. **Trends Neurosci** 24:211–215, 2001.
- Klamer, D., Engel, J.A., Svensson, L. The neuronal selective nitric oxide synthase inhibitor, Nomega-propyl-L-arginine, blocks the effects of phencyclidine on prepulse inhibition and locomotor activity in mice. **Eur. J. Pharm.** 503:103-107, 2004.
- Knab, A.M., Lightfoot, J.T. Does the difference between physically active and couch potato lie in the dopamine system? **Int. J. Biol. Sci.** 6:133-150, 2010.
- Koukopoulos, A. Agitated depression as a mixed state and the problem of melancholia. **Psychiatr. Clin. North Am.** 22(3):547-564, 1999.
- Kromkamp, M., Uylings, H.B.M., Smidt, M.P., Hellemons, A.J., Burbach, J.P.H., Kahn, R.S. Decreased thalamic expression of the homeobox gene DLX1 in psychosis. **Arch. Gen. Psychiatry.** 60:869–874, 2003.
- Krystal, J.H., Karper, L.P., Seibyl, J.P., Freeman, G.K., Delaney, R., Bremner, J.D., Heninger, G.R., Bowers, M.B. Jr, Charney, D.S. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. **Arch. Gen. Psychiatry.** 51:199-214, 1994.
- Kulkarni, J., Garland, K.A., Scaffidi, A., Headey, A., Anderson, R., Castella, A., Fitzgerald, P., Davis, S.R. A pilot estudy of hormone modulation as a new treatment for mania in women with bipolar affective disorder. **Psychoneuroendocrinol.** 31,543-547, 2006.
- Lahti, A.C., Koffel, B., LaPorte, D., Tamminga, C.A. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. **Neuropsychopharmacol.** 13:9-19, 1995.
- Lampe, L., Slade, T., Issakidis, C., Andrews, G. Social phobia in the Australian National Survey of Mental Health and Well-Being (NSMHWB). **Psychol. Med.** 33:637–646, 2003.
- Lapensee, M.A. A review of schizoaffective disorder, I. Current concepts. **Can. J. Psychiatry** 37:33-35, 1992.
- Laursen, E.E., Belknap, J.K. Intracerebroventricular injections in mice some methodological refinements. **J. Pharmacol. Methods.** 16:155–157, 1986.
- Lawrie, S.M., Abukmeil, S.S. Brain abnormality in schizophrenia—a systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. **Br. J. Psychiatry;** 172:110–120, 1998.
- Leibenluft, E. Issues in the treatment of women with bipolar illness. **J. Clin. Psychiatry** 58(15):5-11, 1997.
- Leite, J.V., Guimarães, F.S., Moreira, F.A. Aripiprazole, an atypical antipsychotic, prevents the motor hyperactivity induced by psychotomimetics and psychostimulants in mice. **Eur.**

- J. Pharmacol.** 578:222–227, 2008.
- Leverich, G.S., Post, R.M. Course of bipolar illness after history of childhood trauma. **Lancet.** 367(9516):1040-1042, 2006.
- Levin, E.D., Petro, A., Caldwell, D.P. Nicotine and clozapine actions on pre-pulse inhibition deficits caused by N-methyl-D-aspartate (NMDA) glutamatergic receptor blockade. **Prog. in Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiatry** 29,581–586, 2005.
- Lieberman, J.A. Understanding the mechanism of action of atypical antipsychotic drugs: a review of compounds in use and development. **Br. JPsychiatry.** 163:7–18, 1993.
- Lima, M.S., Tassi, J., Novo, I.P., Mari, J.J. Epidemiologia do transtorno bipolar. **Rev. Psiquiatr. Clín.** 32(1):15-20, 2005.
- Lipska, B. K., & Weinberger, D. R. To model a psychiatric disorder in animals: Schizophrenia as a reality test. **Neuropsychopharmacol.** 23,223-239, 2000.
- Loebel, A.D.; Lieberman, J.A.; Alvir, J.M.; mayerhoff, D.I.; Geisler, S.H.; Szymanski, S.R. Duration of psychosis and outcome in first episode schizophrenia. **Am. J. Psychiatry** 149:1183-1188, 1992.
- Lopes, A.D., Murray, C.J.L. The global burden of disease. **Nature Med.** 4:1241-1243, 1998.
- Lyketsos, C.G., Lopez, O., Jones, B. Prevalence of neuropsychiatric symptoms in dementia and mild cognitive impairment: Results from the cardiovascular health study. **J. Am. Med. Ass.** 288(12),1475-1483, 2002.
- Lyketsos, C.G., Steinberg, M., Tschanz, J.T. Mental and behavioral disturbances in dementia: Findings from the Cache County Study on Memory in Aging. **Am. J. Psychiatry.** 157(5),708-714, 2000.
- Lynch, D.R., Guttman, R.P. Excitotoxicity: perspectives based on N-methyl-D-aspartate receptor subtypes. **J. Pharmacol. & Exp. Therap.** 300,717-723, 2002.
- Ma, J., Luo, X.D., Protiva, P., Yang, H., Ma, C., Basile, M.J., Weinstein, I.B., Kennelly, E.J. Bioactive novel polyphenols from the fruit of Manilkara zapota (Sapodilla). **J. Nat. Prod.** 66:983–986, 2003.
- Ma, J., Yang, H., Basile, M.J., Kennelly, E.J. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three Pouteria species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. **J. Agric. Food Chem.** 52:5873–5878, 2004.
- Ma, X., Wang, Z., Zhang, X. Evolution of Dopamine-Related Systems: Biosynthesis, Degradation and Receptors. **J. Mol. Evol.** 71:374–384, 2010.
- MacDermott, A.B., Mayer, M.L., Westbrook, G.L, Smith, S.J., Barker J.L. NMDA-receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cords neurones. **Nature.** 321,519-522, 1986.
- Maina, G., Albert, U., Bada, A., Bogetto, F. Occurrence and clinical correlates of psychiatric co-morbidity in delusional disorder. **Eur. Psychiatry.** 16,222-228, 2001.
- Manji, H.K., Bersudsky, Y., Chen, G., Belmaker, R.H., Potter, W.Z. Modulation of Protein Kinase C Isozymes and Substrates by Lithium: The Role of Myo-inositol. **Neuropsychopharmacol.** 15(4),370-381, 1996.
- Manji, H.K., Lenox, R.H. Ziskind-Somerfeld Research Award. Protein kinase C signaling in the brain: molecular transduction of mood stabilization in the treatment of manic-depressive illness. **Biol. Psychiatry.** 46(10):1328-1351, 1999.
- Manji, H.K., Chen, G. PKC, MAP kinses and the bcl-2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers. **Mol. Psychiatry.** 7(1):46-56, 2002.
- Manki, H., Shigenobu, K., Muramatsu, T., Higuchi, S., Suzuki, E., Matsushita, S., Ono, Y., Chiba, H., Shintani, F., Nakamura, M., Yagi, G., Asai, M. Dopamine D2 , D3 and D4 receptor and transporter gene polymorphisms and mood disorders. **J. Affective Dis.** 40,7-13, 1996.
- Manschreck, T.C., Petri, M. The paranoid syndrome. **Lancet.** 22-51, 1978.
- Marcais, H., Protais, P., Costentin, J., Schawartz, J.C. A gradual score the climbing behavior elicited by apomorphine in mice. **Psychopharmacol.** 56,233-234,1978.
- Marcotte, E. R., Pearson, D. M., & Srivastava, L. K. Animal models of schizophrenia: A critical review. **J. Psychiatry & Neuroscience.** 26,395-410, 2001.
- Marenco, S.; Weinberger, D.R. - The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia:

- Following a trail of evidence from cradle to grave. **Dev. Psychopathol.** 12:501-527, 2000.
- Markou, A., Chimmulera, C., Geyer, M.A., Tricklebank, M. & Steckler, T. Removing obstacles in neuroscience drug discovery: the future path for animal models. **Neuropsychopharmacol.** 34,74–89; 2009.
- Marras, R.A., Martins, A.P., Del Bel, E.A., Guimarães, F.S. L-NOARG, an inhibitor of nitric oxide synthase, induces catalepsy in mice, **Neuroreport.** 7,158–160, 1995.
- Martignone, M., Grothuis, G., Kanter, R. Comparison of mouse and rat cytochrome P450 mediated metabolism in liver and intestine. **Drug Metab. & Disp.** 34:1047-1054, 2006.
- Maser JD, Cloninger CR. **Comorbidity of Mood and Anxiety Disorders.** Washington, DC: Academic Press; 1990.
- Mc Glashan, T.H. Adolescent versus adult onset of mania. **Am. J. Psychiatry** 145,221–223, 1988.
- McCleverty, J.A.; **Chem. Rev.** p.79-53, 1979.
- McElroy, S.L., Keck Jr., P.E., Strakowski, S.M. Mania, psychosis, and antipsychotics. **J. Clin. Psychiatry.** 57(3),14–26, 1996.
- McElroy, S.L., Pope, H.G.Jr., Keck, P.E.Jr. Valproate. In: Sadock BJ, Sadock VA, editors. Kaplan & Sadock's **Comprehensive textbook of psychiatry**, 7^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 2289-2299, c2000.
- Mcglashan, T.H., Fenton, W.S. Subtype progression and pathophysiologic deterioration in early schizophrenia. **Schizophrenia Bull.** 19:71-84, 1993.
- McGuffin, P., Rijdsdijk, F., Andrew, M. The heritability of bipolar affective disorder and the genetic relationship to unipolar depression. **Arch. Gen. Psychiatry.** 60:497–502, 2003.
- Meldrum, B.S. Glutamate as a Neurotransmitter in the Brain: Review of Physiology and Pathology. **J. Nutr.** 130:1007-1015, 2000.
- Meltzer, H.Y. The mechanism of action of novel antipsychotic drugs. **Schizophrenia Bull.** 17(2):263–287, 1991.
- Meltzer, H.Y., Li, Z., Kaneda, Y., Ichikawa, J. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.** 27:1159-1172, 2003.
- Meotti, F.C., Luiz, A.P., Pizzolatti, M.G., Kassuya, C.A., Calixto, J.B., Santos, A.R. Analysis of the antinociceptive effect of the flavonoid myricitrin: evidence for a role of the L-arginine-nitric oxide and protein kinase C pathways. **J. Pharmacol. Exp. Ther.;** 316(2):789-796, 2006.
- Meotti, F.C., Senthilmohan, R., Harwood, D.T., Missau, F.C., Pizzolatti, M.G., Kettle, A.J. Myricitrin as a substrate and inhibitor of myeloperoxidase: Implications for the pharmacological effects of flavonoids. **Free Radical Biol. & Med.** 44:109–120, 2008.
- Merikangas, K.R., Angst, J. Comorbidity and social phobia—evidence from clinical, epidemiologic, and genetic-studies. **Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.** 244(5):297–303, 1995.
- Merikangas, K.R., Chakravarti, A., Moldin, S.O. Future of genetics of mood disorders research. **Biol. Psychiatry.** 52:457–477. 2002.
- Meyer, J.M., Simpson, G.M. From chlorpromazine to olanzapine: a brief history of antipsychotics. **Psychiatr. Serv.** 48:1137–1139, 1997.
- Meyer, U., Feldon, J., Schedlowsky, M., Yee, B.K. Towards an immuno-precipitated neurodevelopmental animal model of schizophrenia. **Neurosci. & Biobehav. Rev.** 29(6):913-947, 2005.
- Middleton Jr., E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacol. Rev.** 52:673–751; 2000.
- Migliorini, G., Lazzarin, E. Acute psychosis: Clinical contribution. **Minerva Psychiatr.** 34:23-31, 1993.
- Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiological Rev.** 78,189-225, 1998.
- Mogenson, G.J.; Yang, C.R.; Yim, C.Y. Influence of dopamine on limbic inputs to the nucleus accumbens. In: Kalivas, P.W. & Nemeroff, C.B. The Mesocorticolimbic Dopamine System.

- Ann. N.Y. Acad. Sciences**, 86-100, 1988.
- Möller, H.J. Definition, psychopharmacological basis and clinical evaluation of novel/atypical neuroleptics: Methodological issues and clinical consequences. **World J. Biol. Psychiatry** 1:75-91, 2000.
- Möller, H.J.; Bottlender, R.; Gross, A.; Hoff, P.; Wittmann, J.; Wegner, U. et al. - The Kraepelinian dichotomy: Preliminary results of a 15-year follow-up study on functional psychoses: Focus on negative symptoms. **Schizophr. Res.** 56:87-94, 2002.
- Möller, H.J. - Management of the negative symptoms of schizophrenia. New treatment options. **CNS Drugs** 17(11):793-823, 2003.
- Monteiro, L.C.; Louzã, M.R. Alterações cognitivas na esquizofrenia: conseqüências funcionais e abordagens terapêuticas. **Rev. Psiq. Clín.** 34(2):179-183, 2007
- Moreno, R.A., Moreno, D.H. **Transtorno Bipolar do Humor**. Editorial Lemos. 11-61, 2002.
- Moreno, R.A., Moreno, D.H., Ratzke, R. Diagnóstico, tratamento e prevenção da mania e da hipomania no transtorno bipolar. **Rev. Psiq. Clín.** 32(1):39-48, 2005.
- Morris, R.G.M. Spatial localization does not require the presence of local cues, **Learn. Motiv.** 12:239-260, 1981.
- Morrison, P.D., Murray, R.M. Schizophrenia. **Curr. Biology** 15:24-29, 2007.
- Müller-Oerlinghause, B., Berthofer, A., Bauer, M. Bipolar disorder. **Lancet.** 359:241-247, 2002.
- Mueser, K. T., Yarnold, P. R., Levinson, D. F., Prevalence of substance abuse in schizophrenia: Demographic and clinical correlates. **Schizophrenia Bull**, 16,31-56, 1990.
- Murray, C.J., Lopez, A.D. Global mortality, disability and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. **Lancet.** 17(349):1436-1442, 1997.
- Mury, M., Verdoux, H., Bourgeois, M. Comorbidity of bipolar and eating disorders. Epidemiologic and therapeutic aspects. **Encephale.** 21,545-553, 1995.
- Nagai, T., Noda, Y., Une, T., Furukawa, K., Furukawa, H., Kan, Q.M. e Nabeshima, T. Effect of AD-5423 on animal models of schizophrenia: phencyclidine-induced behavioral changes in mice. **Neuroreport** 14:269-272, 2003.
- Nakata, K., Ujike, H., Sakai, A., Uchida, N., Nomura, A., Imamura, T., Katsu, T., Tanaka, Y., Hamamura, T., Kuroda, S. Association study of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene with bipolar disorder. **Neuroscience Letters.** 337:17-20, 2003.
- Narkevich, V.B., Mikoyan, V.D., Bashkatova, V.G. Modulating Role of NO in Haloperidol-Induced Catalepsy. **Bull. Exp. Bio. & Med.**, 139(3):307-309, 2005.
- Neves-Pereira, M., Mundo, E., Muglia, P. The brain-derived neurotrophic factor gene confers susceptibility to bipolar disorder: evidence from a family-based association study. **Am. J. Hum. Genet.** 71:651-655, 2002.
- Niendam, T.A., Bearden, C.E., Johnson, J.K., McKinley, M., Loewy, R., O'Brien, M. Neurocognitive performance and functional disability in the psychosis prodrome. **Schizophrenia Res.** 84:100-111, 2006.
- Nishizuka, Y. Studies and perspectives of protein kinase C. **Science.** 233:305-312, 1986.
- Nishizuka, Y. The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation. **Nature.** 334:661-665, 1988.
- Novick, D., Haro, J.M., Perrin, E., Suarez, D., Teixeira, J.M. Tolerability of outpatient antipsychotic treatment: 36-month results from the European Schizophrenia Outpatient Health Outcomes (SOHO) study. **Eur. Neuropsychopharmacol.** 19,542-550, 2009.
- Nuechterlein, K.H.; Dawson, M.E.; Ventura, J.; Gitlin, M.; Subotnik, K.L.; Snyder, K.S - The vulnerability/stress model of schizophrenic relapse. **Acta Psychiatr. Scand.** 382:58-64, 1994.
- O'Donovan, M.C., Norton, N., Williams, H., Peirce, T., Moskvina, V., Nikolov, I., Hamshere, M., Carroll, L., Georgieva, L., Dwyer, S., Holmans, P., Marchini, J.L., Spencer, C.C., Howie, B., Leung, H.T., Giegling, I., Hartmann, A.M., Moller, H.J., Morris, D.W., Shi, Y., Feng, G., Hoffmann, P., Propping, P., Vasilescu, C., Maier, W., Rietschel, M., Zammit, S., Schumacher, J., Quinn, E.M., Schulze, T.G., Iwata, N., Ikeda, M., Darvasi, A., Shifman, S., He, L., Duan, J., Sanders, A.R., Levinson, D.F., Adolfsson, R., Osby, U., Terenius, L., Jonsson, E.G., Cichon, S., Nothen, M.M., Gill, M., Corvin, A.P., Rujescu, D., Gejman,

- P.V., Kirov, G., Craddock, N., Williams, N.M., Owen, M.J. Analysis of 10 independent samples provides evidence for association between schizophrenia and a SNP flanking fibroblast growth factor receptor 2. **Mol. Psychiatry** 14,30–36, 2009.
- O'Neill, M.F. e Shaw, G. Comparison of dopamine receptor antagonists on hyperlocomotion induced by cocaine, amphetamine, MK-801 and the dopamine D1 agonist C-APB in mice. **Psychopharmacology (Berl)** 145:237–250, 1999.
- Olney, J.W., Farber, N.B. NMDA antagonists as neurotherapeutic drugs, psychotogens, neurotoxins, and research tools for studying schizophrenia. **Neuropsychopharmacol.** 13:335-345, 1995.
- Omkumar, R. V., Kiely, M. J., Rosenstein, A. J., Min, K. T., Kennedy, M. B. Identification of a phosphorylation site for calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in the NR2B subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor. **J. Biol. Chem.** 271,31670-31678, 1996.
- Orsetti, M., Canonico, P.L., Dellarole, A., Colella, L., Di Brisco, F., e Ghi, P. Quetiapine prevents anhedonia induced by acute or chronic stress. **Neuropsychopharmacol.** 32:1783–1790, 2007.
- Owolabi, A.R., Akanmu, M.A., Ukponmwan, O.E. Functional reactivity of the dopaminergic system following acute and chronic ketamine treatments. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.** 378:117-124, 2008.
- Ozawa T. Mitochondrial DNA mutations and age. **Ann. NY Acad. Sci.** 854:128–154, 1998.
- Palmer, R.M., Ferrige, A.G., Moncada, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature.** 327(6122),524-526, 1987.
- Pires, J.G.P., Silva, S.R., Futuro-Neto, H.A. Effects of losartan on neuroleptic-induced catalepsy in mice. **Br. J. Med. Biolog. Res.** 8(29),1045-1047, 1996.
- Pires, J.G.P., Costa, P.G., Saraiva, F.P., Bonikovski, V., Futuro-Neto, H.A. Gender-related differences in the effects of nitric oxide donors on neuroleptic-induced catalepsy in mice. **Br. J. Med. Biolog. Res.** 36,239-245, 2003.
- Pires, J.G., Bonikovski, V., Futuro-Neto, H.A. Acute effects of selective serotonin reuptake inhibitors on neuroleptic-induced catalepsy in mice. **Braz J Med Biol Res.** 38(12):1867-1872, 2005.
- Pláteník, J., Kuramoto, N., Yoneda, Y. Molecular mechanisms associated with long-term consolidation of the NMDA signals. **Life Sci.** 67,335-364, 2000.
- Porsolt, R.D., Pichon, M.L., Jalfre, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature.** 266;730-732, 1977.
- Porsolt, R.D., McArthur, R.A., Lenègre, A. Psychotropic screening procedures. In: **Methods Behav. Pharmacol.** F. van Haren (Ed.) Elsevier. 23-51, 1993.
- Porsolt, R.D., Moser, P.C., Castagné, V. Behavioral Indices in Antipsychotic Drug Discovery. **JPET** 333:632–638, 2010.
- Protais, P., Costentin, J., Schwartz, J.C. Climbing behaviour induced by apomorphine in mice: a simple test for the study of dopamine receptors in Striatum. **Psychopharmacol.** 50,1-6, 1976.
- Pull, C. Diagnóstico da esquizofrenia: uma revisão. In M. Maj & N. Sartorius (Orgs.), **Esquizofrenia** (pp. 13-70). Porto Alegre: Artmed 2005.
- Radi, R., Beckman, J.S., Bush, K.M., Freeman, B.A. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. **J. Biol. Chem.** 266(7):4244-4250, 1991a.
- Radi, R., Beckman, J.S., Bush, K.M., Freeman, B.A. Peroxynitrite induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. **Arch. Biochem. Biophys.** 288(2),481-487, 1991b.
- Raman, I.M., Tong, G., Jahr, C.E. β -Adrenergic regulation of synaptic NMDA receptors by cAMP-dependent protein kinase. **Neuron** 16:415–421, 1996.
- Ramelet, A.A. Pharmacologic aspects of a phlebotropic drug in CVI-associated edema. **Angiology** 51:19–23, 2000.
- Raybould, R., Green, E.K., MacGregor, S., Gordon-Smith, K., Heron, J., Hyde, S. Bipolar disorder and polymorphisms in the dysbindin (dystrobrevin binding protein 1) gene (DTNBP1). **Biol, Psychiatry.** 57:696–701, 2005.

- Regier, D.A., Boyd, J.H., Burke, J.D.Jr, Rae, D.S., Myers, J.K., Kramer, M. One-month prevalence of mental disorders in the United States. Based on five epidemiologic catchment area sites. **Arch. Gen. Psychiatry.** 45:977-986, 1988.
- Regier, D. A., Farmer, M. E., Rae, D. S.. Comorbidity of mental disorder with alcohol and other drug abuse: Results from the epidemiological catchment area (ECA) study. **J. Am. Med. Ass.** 264,2511-2518, 1990.
- Regier, D.A., Rae, D.S., Narrow, W.E. Prevalence of anxiety disorders and their comorbidity with mood and addictive disorders. **Br. J. Psychiatry.** 173:24–28, 1998.
- Riecher-Rossler, A., Häfner, H., Stumbaum, M., Maurer, K., Schmidt, R. Can estradiol modulate schizophrenic symptomatology? **Schizophrenia Bull.** 20:203-214, 1994.
- Robb, J.C.; Young, L.T.; Joffe, R.T. - Gender differences in patients with bipolar disorder influence outcome in the medical outcomes survey (SF-20) subscale scores. **J. Affect Disord.** 49:180-193, 1998.
- Rocchitta, G., Migheli, R., Mura, M. P., Grella, G., Esposito, G., Marchetti, B., Miele, E., Desole, M. S., Miele, M., & Serra, P. A. Signaling pathways in the nitric oxide and ironinduced dopamine release in the striatum of freely moving rats: Role of extracellular Ca²⁺ and L-type Ca²⁺ channels. **Brain Research**, 1047,18-29, 2005.
- Rosen, L.N., Rosenthal, N.E., Van Dusen, P.H., Dunner, D.L., Fieve, R.R. Age at onset and number of psychotic symptoms in bipolar I and schizoaffective disorder. **Am. J. Psychiatry** 140,1523–1524, 1983.
- Rubin, P. Neurobiological findings in first admission patients with schizophrenia or schizophreniform disorder. **Danish Med. Bull.** 44:1-14, 1997.
- Sabioni, P., Baretta, I.P., Ninomiya, E.M., Gustafson, L., Rodrigues, A.L., Andreatini, R. The antimanic-like effect of tamoxifen: Behavioural comparison with other PKC-inhibiting and antiestrogenic drugs. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.** 32(8):1927-1931, 2008.
- Salgado, J.V., Hetem, L.A., Sandner, G. Modelos experimentais de esquizofrenia – uma revisão. **Rev Bras Psiquiatr.** 28(2):135-41, 2006.
- Salum, C., Raisman-Vozari, R., Michel, P.P., Zanardo-Gomes, M., Mitkovski, M., Ferrario, J.E. Modulation of dopamine uptake by nitric oxide in cultured mesencephalic neurons, **Brain Res.** 1198,27–33, 2008.
- Sanders, A.R., Rusu, I., Duan, J. Haplotypic association spanning the 22q11.21 genes COMT and ARVCF with schizophrenia. **Mol. Psychiatry.** 10:353–365, 2005.
- Sato, M., Numachi, Y., & Hamamura, T. Relapse of paranoid psychotic state in methamphetamine model of schizophrenia. **Schizophrenia Bull.** 18,115-122, 1992.
- Savegnago, L., Jesse, C.R., Pinto, L.G., Rocha, J.B.T., Barancelli, D.A., Nogueira, C.W., Zeni, G. Diphenyl diselenide exerts antidepressant-like and anxiolytic-like effects in mice: Involvement of L-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway in its antidepressant-like action. **Pharmacol. Bioch. & Behav.** 88,418–426, 2008.
- Sedvall, G. Farde, L. - Chemical brain anatomy in schizophrenia. **Lancet** 346(8977):743-749, 1995.
- Seeman, P., Chau-Wong, M., Tedesco, J., Wong, K. Brain receptors for antipsychotic drugs and dopamine: direct binding assays. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 72(11):4376–4380, 1975.
- Seeman, M.V. Gender and the onset of schizophrenia: neurohumoral influences. **Psychiatric J. Univ. Ottawa.** 6(1):36-138, 1981.
- Seeman, M.V. Gender differences in schizophrenia. **Can. J. Psychiatry.** 27:107-112, 1982.
- Seeman, M.V., Lang, M. The role of estrogens in schizophrenia gender differences. **Schizophrenia Bull.** 16:185-194, 1990.
- Seeman, P., Guan, H., Van Tol, H. Dopamine D4 receptors elevated in schizophrenia. **Nature.** 365:441-445, 1993.
- Selten, J.P., Cantor-Graae, E. Social defeat: risk factor for schizophrenia? **Brit. J. Psychiatry.** 187:101-102, 2005.
- Serova, M., Ghoul, A., Benhadji, K.A. Preclinical and clinical development of novel agents that target the protein kinase C family. **Semin. Oncol.** 33(4):466-478, 2006.

- Setler, P., Sarau, H., Mckenzie, G. Differential attenuation of some effects of haloperidol in rats given scopolamine. **Eur J Pharmacol** 39:117–126, 1976.
- Sharma, T. Antonova, L. - Cognitive function in schizophrenia deficits: functional consequences and future treatment. **Psychiatric Clin. North Am.** 26:25-40, 2003.
- Shi, L., Fatemi, S.H., Sidwell, R.W., Patterson, P.H. Maternal influenza infection causes marked behavioral and pharmacological changes in the offspring. **J. Neuroscience: The Official J. Society for Neuroscience.** 23(1),297-302, 2003.
- Shifman, S., Bronstein, M., Sternfeld, M. COMT: a common susceptibility gene in bipolar disorder and schizophrenia. **Am. J. Med. Genet.** 128:61–64, 2004.
- Shih, J.C. Molecular basis of human MAO A and B. **Neuropsychopharmacol.** 4(1):1-7, 1991.
- Shimizu, E., Hashimoto, K., Okamura, N., Koike, K., Komatsu, N., Komakiri, C., Nakazato, M., Watanabe, H., Shinda, N., Okada, S., Iyo, M. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. **Biol. Psychiatry.** 54(1):70-75, 2003.
- Shisslak, C.M., Perse, T., Crago, M., Coexistence of bulimia nervosa and mania: a literature review and case report. **Compr. Psychiatry** 32,181–184, 1991.
- Sibley, D. R., and Monsma, F. J., Jr. The molecular biology of dopamine receptors. **Trends Pharmacol. Sci.** 13,61-68, 1992.
- Sigel, E. Functional modulation of ligand-gated GABAA and NMDA receptor channels by phosphorylation. **J. Recept Signal Transduct Res.** 15:325-332, 1995.
- Simpson, S.G., Folstein, S.E., Meyers, D.A., McMahon, F.J., Brusco, D.M., De Paulo, J.R.Jr. Bipolar II: the most common bipolar phenotype? **Am. J. Psychiatry.** 150:901-903, 1993.
- Siris, S.G. Suicide and schizophrenia. **J. Psychopharmacol.** 15(2):127-135, 2001.
- Smith, S.E., Li J., Garbett K, Mirnics K, Patterson PH, Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6. **J Neuroscience: The Official J. Society for Neuroscience.** 27(40),10695-10702, 2007.
- Snyder, S.H., Bredt, D.S. Biological role of nitric oxide. **Science Am.** 266:68-77, 1992.
- St Clair, D., Blackwood, D., Muir, W., Baillie, D., Hubbard, A., Wright, A. Association within a family of a balanced autosomal translocation with major mental illness. **Lancet.** 336:13–16, 1990.
- Stahl, S.M. **Psicofarmacologia. Bases Neurocientíficas e Aplicações práticas.** 2° Ed. Medsi. Pp357-449 2002.
- Starr, M.S., Starr, B.S. Do NMDA receptor-mediated changes in motor behaviour involve nitric oxide? **Eur. J. Pharmacol.** 272, 211–217, 1995.
- Stefansson, H., Sigurdsson, E., Steinthorsdottir, V. Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. **Am. J. Human Genetics,** 71(4),877-892, 2002.
- Strakowvki, S.M., DelBello, M.P., Adler, C.M. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neurimaging findings. **Mol. Psychiatry.** 10:105-116, 2005.
- Suddath, R.L., Casanova, M.F., Goldberg, T.E. Temporal lobe pathology in schizophrenia: a quantitative magnetic resonance imaging study. **Am. J. Psychiatry.** 146:464-472, 1989.
- Swanson, C.J., Bures, M., Johnson, M.P., Linden, A., Monn, J.A., Schoepp, D.D. Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. **Nat. Rev. Drug. Discov.** 4:131-144, 2005.
- Tadaiesky, M. T., Andreatini, R., Vital, M.A.B.F. Different effects of 7-nitroindazole in reserpine-induced hypolocomotion in two strains of mice. **Eur. J. Phar.,** 535,199-207, 2006.
- Tandon, R., Shipley, J.E., Taylor, S., Greden, J.F., Eiser, A., DeQuardo, J., Goodson, J. Electroencephalographic sleep abnormalities in schizophrenia: relationship to positive/negative symptoms and prior neuroleptic treatment. **Arch. Gen. Psychiatry.** 49(3):185-194, 1992.
- Tariot, P. N., Mack, J. L., Patterson, M. B. The behavior rating scale for dementia of the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease. **Am. J. Psychiatry.** 152(9):1349-1357, 1995.
- Taylor, S.F., Tandon, R., Shipley, J.E., Eiser, A.S. Effect of neuroleptic treatment on

- polysomnographic measures in schizophrenia. **Biol. Psychiatry**. 30(9):904-912, 1991.
- Terwisscha van Scheltinga, A.F., Bakker, S.C., Kahn, R.S. Fibroblast growth factors in schizophrenia. **Schizophrenia Bull.** 331–333, 2009.
- Thierry, A.M.; Mantz, J.; Milla, C.; Glowinski, J. Influence of the mesocortical prefrontal dopamine neurons on their target cells. In: Kalivas, P.W. & Nemeroff, C.B. The Mesocorticolimbic Dopamine System. **Ann. N.Y. Acad. Sciences**, 101-111, 1988.
- Thorpe, L.W., Westlund, K.N., Kochersperger, L.M., Abell, C.W., Denney, R.M. Immunocytochemical localization of monoamine oxidases A and B in human peripheral tissues and brain. **J. Histochem. Cytochem.** 35(1):23-32, 1987.
- Tondo, I., Isacson, G., Baldessarini, R. Suicidal behaviour in BPD: risk and prevention. **CNS Drugs**. 17:491–511, 2003.
- Tosato, S., Dazzan, P., Collier, D. Association between the neuregulin 1 gene and schizophrenia: a systematic review. **Schizophrenia Bull.** 31:613–617, 2005.
- USP: www.inec-usp.org/cursos/cursoV/neurotransmissao.htm
- Van Kammen, D.P., Van Kammen, W.B., Peters, J., Goetz, K., Neylan, T. Decreased slow-wave sleep and enlarged lateral ventricles in schizophrenia. **Neuropsychopharmacol.** 1(4):265-271, 1988.
- Van Rossum, J.M. The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. **Arch. Internat. Pharmacodynamie & Therapie** 160,492–494, 1996.
- Veita, E., Gastó, C., Otero, A., Nieto, E., Vallejo, J. Differential features between Bipolar I and Bipolar II Disorder. **Comprehensive Psychiatry**. 38(2):98-101, 1997.
- Volkow, N.D., Wang, G.J., Fowler, J.S., Logan, J., Gatley, S.J., Wong, C., Hitzemann, R., Pappas, N.R. Reinforcing effects of stimulants in humans are associated with increases in brain dopamine and occupancy of D2 receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 291,409–415, 1999.
- Walss-Bass, C., Escamilla, M.A., Raventos, H., Montero, A.P., Armas, R., Dassori, A., Contreras, S., Liu, W., Medina, R., Balderas, T.G., Levinson, D., Pereira, R., Pereira, M., Atmella, I., Nesmith, L., Leach, R., Almasy, L.. Evidence of genetic overlap of schizophrenia and bipolar disorder: linkage disequilibrium analysis of chromosome 18 in the Costa Rican population. **Am. J. Med. Genetics & Neuropsychiatric Genetics** 139(1),54–60, 2005.
- Wang, H.Y., Friedman, E. Enhanced protein kinase C activity and translocation in bipolar affective disorder brains. **Biol. Psychiatry**. 40:568–575, 1996.
- Wang, L.Y., Salter, M.W., MacDonald, J.F. Regulation of kainate receptors by cAMP-dependent protein kinase and phosphatases. **Science** 253:1132–1135, 1991.
- Wang, L.Y., Taverna, F.A., Huang, X.P., MacDonald, J.F., Hampson, D.R. Phosphorylation and modulation of a kainate receptor (GluR6) by cAMP-dependent protein kinase. **Science**. 259:1173–1175, 1993.
- Waring, P. Redox Active calcium ion channels and cell death. **Arch. Biochemistry & Biophysics**. 434:33-42, 2005.
- Watson, D.G., Lenox, R.H. Chronic lithium-induced downregulation of MARCKS in immortalized hippocampal cells: Potentiation by muscarinic receptor activation. **J Neurochem** 67:767–777, 1996.
- Weinberger, D.R. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. **Arch. Gen. Psychiatry** 44,660–669, 1987.
- Weinberger, D.R., Egan, M.F., Bertolino, A. Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. **Biol. Psychiatry**. 50,825–844, 2001.
- Weiss, S., Ellis, J., Hendley, D.D., Lenox, R.H. Translocation and activation of protein kinase C in striatal neurons in primary culture: Relationship to phorbol dibutyrate actions on the inositol phosphate generating system and neurotransmitter release. **J. Neurochem.** 52:530-536, 1989.
- Weissman, M.M., Bruce, M.L. **Affective disorders. Psychiatric disorders in America: the epidemiologic catchment area study.** R.D. In: Robins L.N. (editor). Nova York: Free Press, pp. 53-80, 1991.

- Weissman, M.M., Bland, R.C., Canino, G.J., Faravelli, C., Greenwald, S., Hwu, H.G., Joyce, P.R., Karan, E.G., Lee, C.K., Lellouch, J., Lepine, J.P., Newman, S.C., Rubio-Stipec, M., Wells, J.E., Wickramarate, P.J., Withchen, H., Yeh, E.K. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. **J. Am. Med. Ass.** 276:293-299, 1996.
- West, A.R., Galloway, M.P., Grace, A.A. Regulation of striatal dopamine neurotransmission by nitric oxide: Effector pathways and signaling mechanisms. **Synapse.** 44,227-245, 2002.
- Wiley, J.L. Nitric oxide synthase inhibitors attenuate phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition, **Neuropsychopharmacol.** 19,86–94, 1998.
- Willner, P., Muscat, R., Papp, M. Chronic mild stress-induced anhedonia: A realistic animal model of depression. **Neuroscience & Behav. Rev.** 16(4):525-534, 1992.
- Willner, P. Dopaminergic mechanisms in depression and mania. In Bloom F, Kupfer D, editors. **Psychopharmacol. the Fourth Generation of Progress.** New York: Raven Press. 921–931, 1995.
- Winokur, G., Scharfetter, C., & Angst, J. A family study of psychotic symptomatology in schizophrenia, schizoaffective disorder, unipolar depression, and bipolar disorder. **Eur. Arch. Psychiatry & Neurological Sciences,** 234,295-298, 1985.
- Wise, R.A. Dopamine, learning and motivation. **Nat. Rev. Neurosci.** 5:483–494, 2004.
- Wooten, V.D., Buysse, D.J. Sleep and psychiatric disorders. In: Crockrovert S., editor. **Sleep disorders medicine: basic science, technical considerations and clinical aspects.** 2.ed. Boston. Butterworth-Heinemann. p.573-586, 1999.
- Yamada, J., Sugimoto, Y. Effects of 5-HT₂ receptor antagonists on the anti-immobility effects of imipramine in the forced swimming test with mice. **Eur. J. Pharmacol.** 427(3):221-225, 2001.
- Yatham, L.N., Kennedy, S.H., O'Donovan, C., Parickh, S., MacQueen, G., McIntyre, R., Shama, V., Silverstone, P., Alda, M., Baruch, P., Beaulieu, S., Daigneault, A., Milev, R., Young, L.T., Ravindran, A., Schaffer, A., Connolly, M., Gorman, C.P. Canadian network for mood and anxiety treatments (CANMAT) guidelines for the management of patients with bipolar disorder: consensus and controversies. **Bipolar Disorder.** 7:5-69, 2005.
- Yildiz, A., Guleryuz, S., Ankerst, D.P., Ongur, D., Renshaw, P.F. Protein kinase C inhibition in the treatment of mania. A double blind, placebo-controlled trial of tamoxifen. **Arch. Gen. Psychiatry.** 65(3),255-263, 2008.
- Zarate, C.A. Jr., Singh, J.B., Carlson, F.J., Quiroz, J., Jolkovsky, L., Luckenbaugh, D.A., Manji, H.K. Efficacy of a protein kinase C inhibitor (tamoxifen) in the treatment of acute mania: a pilot study. **Bipolar Disord.** 9,561-570, 2007.
- Zhou, Q.G., Hu, Y., Hua, Y., Hu, M., Luo, C.X., Han, X., Zhu, X.J., Wang, B., Xu, J.S., Zhu, D.Y. Neuronal nitric oxide synthase contributes to chronic stress-induced depression by suppressing hippocampal neurogenesis. **J. Neurochem.** 103(5):1843-54, 2007.