

**DENISE APARECIDA GIANOTI TONELLI**

**PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS DE SÓDIO VOLTAGEM-DEPENDENTES NO  
EFEITO TIPO ANTIMANÍACO DA FENITOÍNA E DA CARBAMAZEPINA NA  
HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR METILFENIDATO**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia.**

**Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini**

**CURITIBA  
2012**

Tonelli, Denise Aparecida Gianoti

Participação dos canais de sódio voltagem-dependentes no efeito tipo antimaníaco da fenitoína e da carbamazepina na hiperlocomoção induzida por metilfenidato / Denise Aparecida Gianoti Tonelli. – Curitiba, 2012.

49 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Orientador: Roberto Andreatini

1. Transtorno bipolar. 2. Fenitoína. 3. Carbamazepina I. Andreatini, Roberto. II. Título.

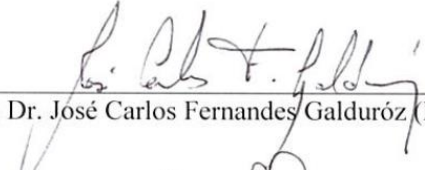
CDD 616.895



1 **ATA DO JULGAMENTO DA 79ª DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

2 Ao vigésimo dia do mês de agosto do ano de dois mil e doze, às treze horas e trinta  
3 minutos, no Auditório do Departamento de Fisiologia do Setor de Ciências Biológicas da  
4 Universidade Federal do Paraná, reuniu-se a Comissão Examinadora da Dissertação de  
5 Mestrado de autoria da pós-graduanda em Farmacologia **DENISE APARECIDA**  
6 **GIANOTI TONELLI** intitulada: “PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS DE SÓDIO  
7 VOLTAGEM – DEPENDENTES NO EFEITO TIPO ANTIMANÍACO DA FENITOÍNA  
8 E DA CARBAMAZEPINA NA HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR  
9 METILFENIDATO.”, sob orientação do Prof. Dr. Roberto Andreatini e composta pelos  
10 professores: Prof. Dr. Roberto Andreatini (Presidente - Farmacologia - UFPR); Prof. Dr.  
11 José Carlos Fernandes Galduróz (Psicobiologia – UNIFESP) e Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida  
12 Barbato Frazão Vital (Farmacologia - UFPR). A Banca Examinadora iniciou os trabalhos.  
13 A candidata teve quarenta e cinco minutos para expor oralmente seu trabalho, sendo em  
14 seguida arguida durante trinta minutos por cada um dos membros da Banca, e tendo trinta  
15 minutos para responder a cada uma das arguições. No final a Comissão Examinadora  
16 emitiu o seguinte parecer: APROVADA. De acordo com o Regimento  
17 Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a pós-graduanda foi aprovada.  
18 Para a publicação o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas  
19 pelo seu orientador. Nada mais havendo a tratar, o Presidente deu por encerrada a sessão,  
20 da qual foi lavrada a presente ata, que será assinada pelo Presidente e pelos demais  
21 Membros da Banca Examinadora, em Curitiba, 20 de agosto de 2012.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Roberto Andreatini (Presidente - Farmacologia - UFPR)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. José Carlos Fernandes Galduróz (Psicobiologia - UNIFESP)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida Barbato Frazão Vital (Farmacologia - UFPR)



## PARECER

A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado “PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS DE SÓDIO VOLTAGEM – DEPENDENTES NO EFEITO TIPO ANTIMANÍACO DA FENITOÍNA E DA CARBAMAZEPINA NA HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR METILFENIDATO.”, de autoria da pós-graduanda **DENISE APARECIDA GIANOTI TONELLI**, sob orientação do Prof. Dr. Roberto Andreatini e composta pelos professores: Prof. Dr. Roberto Andreatini (Presidente - Farmacologia - UFPR); Prof. Dr. José Carlos Fernandes Galduróz (Psicobiologia – UNIFESP) e Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Aparecida Barbato Frazão Vital (Farmacologia - UFPR), reuniu-se e, 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, 20 de agosto de 2012.

Prof. Dr. Roberto Andreatini (Presidente - Farmacologia - UFPR)

Prof. Dr. José Carlos Fernandes Galduróz (Psicobiologia - UNIFESP)

Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida Barbato Frazão Vital (Farmacologia - UFPR)

Dedico este trabalho aos meus pais, ao meu esposo, aos meus filhos e, sobretudo aos meus pacientes que são um incentivo constante para o meu aprendizado.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Delc e Jovenir, por terem sempre me incentivado a estudar e pelo grande esforço que fizeram, para que eu pudesse me formar médica.

Ao meu esposo Hélio, pela sua ajuda, paciência e amor.

Aos meus filhos Arthur e Henrique, pela compreensão do tempo que abdicaram da minha presença.

Ao meu orientador Roberto Andreatini, por toda colaboração, conduzindo-me para que eu pudesse alcançar meu objetivo.

Aos meus colegas Marcela Pereira, Bruno Martynhak, Isadora Siba e Diego Correia por toda ajuda durante o meu mestrado. Ao estudante Matheus Soler, por sua participação.

À farmacêutica Sílvia Cordazzo, por ter facilitado o meu trabalho no preparo das drogas.

À Guisela, uma amiga sempre presente.

A todos que de alguma forma contribuíram para que eu realizasse este trabalho.

O segredo da existência não consiste somente em viver, mas em saber para que  
se vive.

*Fiódor Dostoiévski*

## RESUMO

Alguns anticonvulsivantes como o valproato e a carbamazepina são efetivos no tratamento da fase maníaca do transtorno afetivo bipolar e embora possuam algumas diferenças farmacológicas, todos compartilham de um efeito comum que é o bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependentes. A fenitoína também promove tal efeito e recentemente foi demonstrado que ela reduziu o tempo de imobilidade dos camundongos submetidos ao teste de natação forçada, efeito este que é bloqueado pela veratrina, um alcalóide que produz a abertura dos canais de sódio voltagem-dependentes. Sendo assim, o objetivo do nosso estudo foi verificar se a fenitoína poderia bloquear a hiperlocomoção induzida por metilfenidato, que é um modelo animal utilizado para detecção de drogas antimaníacas. Também realizamos um pré-tratamento com veratrina para avaliar o papel dos canais de sódio voltagem-dependentes no efeito da fenitoína neste modelo. Considerando que alguns estabilizadores de humor podem alterar a expressão do Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo (BDNF) no hipocampo, realizamos administração crônica por 21 dias de fenitoína, carbamazepina e veículo e dosamos os níveis hipocampais do BDNF e de seus receptores TrkB e TrkB fosforilado (pTrkB), sua forma ativada. A carbamazepina foi usada como controle positivo devido ao seu já bem estabelecido efeito antimaníaco em pacientes bipolares. O Metilfenidato (5 mg/Kg, s.c.) induziu um aumento na locomoção no teste de campo aberto e a fenitoína (5-10 mg/Kg i.p.) e a carbamazepina (20 mg/Kg i.p.) bloquearam este efeito. O pré-tratamento com a veratrina (0,4 mg/Kg, s.c.) reverteu os efeitos da fenitoína (10 mg/Kg i.p.) e da carbamazepina (20 mg/Kg i.p.). Fenitoína (1-50 mg/Kg i.p.) e carbamazepina (10-20 mg/Kg i.p.) isoladamente não alteraram a atividade locomotora espontânea em teste de campo aberto. A administração repetida em camundongos (21 dias i.p.) de carbamazepina (20 mg/Kg) e fenitoína (10 mg/Kg) não alterou o nível do BDNF hipocampal, mas a expressão dos receptores TrkB fosforilado aumentou em ambos os tratamentos. Estes resultados indicam que a fenitoína e a carbamazepina apresentam efeito tipo antimaníaco no modelo de hiperlocomoção

induzida por psicoestimulantes e que os canais de sódio voltagem-dependentes exercem um importante papel nestas propriedades. Além do mais, a administração repetida de ambas as drogas promoveu a mesma influência sobre o sistema BDNF-TrkB. Concluindo, a fenitoína pode ser uma droga com potencial efeito antimaníaco.

**Palavras-chave:** Transtorno Afetivo Bipolar, fenitoína, carbamazepina, metilfenidato, veratrina, BDNF, TrkB.

## ABSTRACT

The anticonvulsants valproate and carbamazepine are effective antimanic drugs that, despite some pharmacological differences, share a common effect: the blockade of voltage-gated sodium channels. Phenytoin also exhibits such an effect and was recently shown to reduce immobility time in mice exposed to the forced swim test, an effect that was blocked by veratrine, an opener of voltage-gated sodium channels. Thus, the objective of the present study was to verify whether phenytoin modifies hyperlocomotion induced by methylphenidate, an animal model useful for screening antimanic-like drugs, and also evaluate the effect of veratrine pretreatment on the effect of phenytoin in this model. Additionally, considering that mood stabilizers change brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in the hippocampus, the effects of chronic phenytoin on hippocampal BDNF and BDNF receptor TrkB levels were also evaluated. Carbamazepine was used as a positive control because of its well-known clinical antimanic effect. Methylphenidate (5 mg/kg, s.c.) increased open-field locomotion, and phenytoin (5-10 mg/kg, i.p.) and carbamazepine (20 mg/kg, i.p.) blocked this effect. Veratrine (0.4 mg/kg, s.c.) pretreatment reversed the effects of phenytoin (10 mg/kg, i.p.) and carbamazepine (20 mg/kg, i.p.). Phenytoin (1-50 mg/kg, i.p.) and carbamazepine (10-20 mg/kg i.p.) alone did not change spontaneous locomotor activity. Repeated, 21-day administration of carbamazepine (20 mg/kg, i.p.) and phenytoin (10 mg/kg, i.p.) did not affect hippocampal BDNF protein levels in mice, but phosphorylated TrkB (pTrkB) receptor levels were increased by both treatments. These results indicate that phenytoin and carbamazepine display antimanic-like effects in a psychostimulant-induced hyperlocomotion model, and voltage-gated sodium channels appear to play an important role in these effects. Furthermore, repeated administration of both drugs exerted similar effects on the BDNF-TrkB system. In conclusion, phenytoin may have potential antimanic effect.

**Key-words:** bipolar disorder, carbamazepine, methylphenidate, veratrine, BDNF, TrkB.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Efeitos da administração aguda da fenitoína e da carbamazepina sobre a hiperlocomoção induzida por metilfenidato no campo aberto .....	30
FIGURA 2	Efeito do pré-tratamento com veratrina sobre o efeito da administração aguda da fenitoína e da carbamazepina no aumento da atividade locomotora induzida por metilfenidato no campo aberto .....	31
FIGURA 3	Dosagem do nível de BDNF, TrkB e pTrkB no hipocampo após tratamento crônico de 21 dias com fenitoína, carbamazepina e veículo .....	32

## LISTA DE SIGLAS

BDNF	- Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo
CBZ	- Carbamazepina
CREB	- Proteína ligante do elemento de resposta ao AMPc
ERK1/2	- Quinase regulada por sinal extracelular
FEN	- Fenitoína
GABA	- Ácido Gama-aminobutírico
IP3	- Inositol-trifosfato
PI3K	- Fosfatidilinositol 3-quinase
MAPK	- Proteína quinase ativada por mitógeno
MFD	- Metilfenidato
mRNA	- RNA mensageiro
PKC	- Fosfolipase C
PLC $\gamma$	- Fosfolipase C Gama
SNC	- Sistema Nervoso Central
TAB	- Transtorno Afetivo Bipolar
TrkB	- Receptor de Tropomiosina relacionado a Quinase B
TrkB-FL	- Receptor de Tropomiosina relacionado a Quinase forma longa
TrkB-T1	- Receptor de Tropomiosina relacionado a Quinase forma truncada
pTrkB	- Receptor de Tropomiosina relacionado a Quinase B fosforilado

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
1.1 TRANSTORNO AFETIVO BIPOLAR .....	12
1.2 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DO TAB .....	13
1.3 LÍTIO .....	13
1.4 DROGAS ANTICONVULSIVANTES .....	14
1.5 CARBAMAZEPINA (CBZ) .....	14
1.6 VALPROATO DE SÓDIO .....	15
1.7 FENITOÍNA .....	15
1.8 MODELOS ANIMAIS DO TAB .....	18
1.9 VERATRINA E CANAIS DE SÓDIO VOLTAGEM-DEPENDENTES ....	20
1.10 BDNF, RECEPTORES TRKB E TAB .....	20
1.11 HIPÓTESE .....	21
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	23
2.1 OBJETIVO GERAL .....	23
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS .....	23
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
3.1 SUJEITOS EXPERIMENTAIS .....	24
3.2 DROGAS .....	24
3.3 METILFENIDATO INDUZINDO HIPERLOCOMOÇÃO NO TESTE DE CAMPO ABERTO .....	25
3.3.1 Atividade locomotora .....	25
3.4 DOSAGEM DE BDNF E TRKB (TOTAL E PTRKB) .....	25
3.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	27
<b>4 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	28
<b>5 RESULTADOS</b> .....	29
5.1 EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DA FENITOÍNA E DA CARBAMAZEPINA SOBRE A HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR METILFENIDATO EM CAMPO ABERTO .....	29
5.2 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO COM VERATRINA SOBRE O EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DA FENITOÍNA E DA CARBAMAZEPINA NO AUMENTO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA INDUZIDA POR METILFENIDATO NO CAMPO ABERTO .....	30
5.3 DOSAGEM DO NÍVEL HIPOCAMPAL DE BDNF, TRKB E PTRKB APÓS TRATAMENTO CRÔNICO DE 21 DIAS COM FENITOÍNA, CARBAMAZEPINA E VEÍCULO .....	31
<b>6 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÃO</b> .....	33
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	39

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 TRANSTORNO AFETIVO BIPOLAR

O transtorno afetivo bipolar (TAB) é um dos transtornos psiquiátricos mais incapacitantes, causando importante prejuízo no funcionamento ocupacional, social e familiar. O TAB é uma patologia crônica, recorrente, sendo caracterizado por alterações do humor, com apresentação de episódios depressivos, de mania, mistos e períodos de eutímia. Nos episódios depressivos podemos observar períodos de rebaixamento do humor marcados por tristeza ou incapacidade para o prazer, alterações do peso e do sono, agitação ou retardo psicomotor, fadigabilidade, sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva, diminuição da concentração, indecisão e pensamentos recorrentes sobre morte (APA, 1994). Os episódios maníacos caracterizam-se por irritabilidade ou expansividade anormal do humor, aumento da autoestima, grandiosidade, diminuição da necessidade de sono, aumento da quantidade da fala, sensação de que os pensamentos estão acelerados, distraibilidade, aumento da atividade direcionada a um objetivo, agitação psicomotora e envolvimento excessivo em atividades prazerosas que tenham alto potencial para consequências desastrosas. Nos episódios mistos características das duas fases podem estar presentes (APA, 1994).

Sua prevalência varia de 0,6% a 1,6% nos diversos estudos (LIMA *et al.*, 2005), o TAB também apresenta taxas de suicídio de cinco a dezessete vezes maiores do que a população geral (BOSTWICK; PANKRATZ, 2001).

A fisiopatologia do TAB não é totalmente conhecida, inicialmente pensava-se tratar de alterações nos sistemas das monoaminas, posteriormente avaliou-se que esta era apenas uma das alterações e que vários outros sistemas estão envolvidos, como os sistemas de sinalização intracelular e de expressão gênica (KAPCZINSKI *et al.*, 2004).

Em um estudo da Organização Mundial da Saúde foi apontado que em países desenvolvidos somente 35% dos pacientes portadores de TAB são tratados; já na América Latina e Caribe esse número cai para 15% ao passo que

na África Subsaariana infelizmente apenas 5% recebem algum tipo de tratamento (MORENO *et al.*, 2002).

## 1.2 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DO TAB

O tratamento farmacológico do TAB constitui-se de um desafio para o clínico, dada à complexidade da doença e de possíveis complicações do quadro por determinadas drogas (p.ex. virada maníaca com antidepressivos). Lítio, valproato de sódio, carbamazepina e antipsicóticos são efetivos para o tratamento dos episódios de mania aguda (VIETA; ROSA, 2007; GOODWIN; JAMISON, 2010; HIRSCHOWITZ *et al.*, 2010; CIPRIANI *et al.*, 2011). Outras dificuldades envolvem o fato de que alguns pacientes falham em responder a estes tratamentos ou apresentam muitos efeitos adversos (ganho de peso, alterações renais, entre outros), o que muitas vezes limitam o uso e dificultam a aderência ao tratamento (MCKNIGHT *et al.*, 2012; HUDEPOHL; NASRALLAH, 2012; GOODWIN; JAMISON, 2010).

## 1.3 LÍTIO

A terapêutica com lítio foi introduzida em 1949 por Cade, que relatou sua eficácia em 10 pacientes maníacos (CADE, 1949; MAJ, 2000). Estudos controlados subsequentes demonstraram alta eficácia do lítio, sendo o mesmo, considerado uma droga de primeira linha para o tratamento do TAB, tanto nos episódios de mania quanto nos de depressão, e na profilaxia (MALHI *et al.*, 2012b).

O lítio é um íon monovalente que reproduz parcialmente uma ampla variedade de efeitos de outros íons nos processos celulares (GERSHON *et al.*, 2009). Assemelha-se ao sódio nos tecidos excitáveis, sendo capaz de saturar os canais sensíveis a voltagem, que são responsáveis pela geração de um potencial de ação. Quando administrado agudamente, o lítio aumenta a renovação de noradrenalina e de serotonina no cérebro, mas tende a inibir a liberação evocada por despolarização, alterações estas que parecem regredir com a administração em longo prazo (PASQUALI *et al.*, 2010).

De fato, o lítio foi extensivamente estudado em relação a vários sistemas de neurotransmissão, na tentativa de se encontrar explicações para seu mecanismo de ação. É aceito frequentemente que o lítio atua sobre múltiplos sítios de neurotransmissão (PHIEL *et al.*, 2001). Também atua sobre vários sistemas de segundo mensageiros, inibindo a PKC e o IP3 (QUIROZ *et al.*, 2010).

#### 1.4 DROGAS ANTICONVULSIVANTES

Atualmente existe um número consistente de estudos demonstrando que alguns agentes anticonvulsivantes possuem propriedades antimaníacas e de profilaxia do TAB e que são efetivos inclusive naqueles pacientes com baixa responsividade ou intolerância ao lítio (GRUNZE, 2010; CIPRIANI *et al.*, 2011).

Estudos comprovam os efeitos antimaníacos e estabilizadores da carbamazepina (STONER *et al.*, 2007) e do valproato (MALHI, 2012a). Vários outros anticonvulsivantes foram testados, mas dentre eles apenas a carbamazepina e valproato de sódio, até o presente momento, são aprovados pelo FDA (GOODNICK, 2006) para o tratamento dos episódios de mania.

#### 1.5 CARBAMAZEPINA (CBZ)

A CBZ apresenta uma estrutura molecular tricíclica semelhante à do antidepressivo imipramina e em humanos é eficaz no controle de crises parciais simples e complexas e crises tônico-clônicas generalizadas (SPINA *et al.*, 2004).

A carbamazepina liga-se e inativa os canais de sódio voltagem-dependentes, reduzindo o influxo de sódio e os disparos repetitivos de alta frequência de potenciais de ação. Este parece ser o mecanismo de ação envolvido nas atividades anticonvulsivantes e estabilizadoras do humor da CBZ (BOWDEN *et al.*, 2006; SODERPALM, 2002).

Vários estudos clínicos tem demonstrado a eficácia da carbamazepina no controle dos episódios de mania e sua ação parece ser menos consistente no seguimento em longo prazo do TAB (BOWDEN, 2009).

## 1.6 VALPROATO DE SÓDIO

O valproato de sódio é um ácido carboxílico de estrutura molecular simples, cujas propriedades anticonvulsivantes em humanos abrangem um grande número de tipos de epilepsia sem causar muita sedação ou outros efeitos sobre o sistema nervoso central.

O valproato, de modo similar à carbamazepina, também bloqueia os canais de sódio voltagem-dependentes, além de produzir mudanças no metabolismo do GABA: inibição do catabolismo GABAérgico, aumento de sua liberação, diminuição de seu *turnover*, aumento da densidade de receptores GABA-B e aumento da responsividade ao GABA. Estas alterações respondem pelo seu efeito anticonvulsivante e estabilizador de humor (AMANN *et al.*, 2003).

Calabrese e Delucchi (1990) avaliaram a ação do valproato nos portadores de TAB em episódios de mania e mistos, e em cicladores rápidos (mais de 4 episódios ao ano). Verificaram que para estes pacientes o valproato apresentava um efeito marcante, com pouca resposta nos episódios depressivos. O valproato de sódio foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) para o tratamento de mania em 1994 (GAJWANI *et al.*, 2006) e também é aprovado na profilaxia do TAB (BOWDEN, 2009).

## 1.7 FENITOÍNA

A fenitoína foi sintetizada pela 1ª vez em 1908 por Biltz, porém sua atividade anticonvulsivante só foi descoberta em 1938 por Merritt e Putnam que estavam procurando um análogo do fenobarbital, mas que tivesse menos efeitos colaterais principalmente a sedação (MCNAMARA, 2010).

A fenitoína exerce sua ação anticonvulsivante sem causar depressão generalizada do sistema nervoso central conferindo, desta forma, um avanço clínico perante as outras drogas usadas até então para o tratamento da epilepsia, como o fenobarbital. Mesmo após a introdução de novos compostos nos dias atuais, a fenitoína ainda é uma das drogas mais utilizadas para o tratamento da epilepsia. Ela provoca sinais de excitação em doses tóxicas e um tipo de rigidez de descerebração em níveis letais (MCNAMARA, 2010).

A fenitoína é uma fraca bloqueadora dos canais de sódio voltagem-dependentes na membrana hiperpolarizada, mas sua ação inibitória está muito aumentada na despolarização sustentada e durante a atividade de alta frequência do canal. A inibição voltagem e frequência dependente é explicada pelo modelo de modulação do receptor que foi primeiramente descrito para determinar a ação das drogas anestésicas locais. De acordo com este modelo, os canais de sódio voltagem-dependentes fechados, que predominam na fase de hiperpolarização do potencial de membrana, têm baixa afinidade pela fenitoína; entretanto os canais em seu estado inativo que predominam na fase de despolarização e durante a ativação de alta frequência têm alta afinidade pela fenitoína (MANTEGAZZA *et al.*, 2010).

Outros efeitos da fenitoína incluem a diminuição da transmissão sináptica, estabilização dos gradientes iônicos neuronais via sódio-potássio ATPase e influência nos sistemas de segundos mensageiros pela inibição da fosforilação da proteína cálcio-calmodulina. (TUNNICLIFF, 1996; CHWEH *et al.*, 1986).

De fato, alguns estudos controlados sugerem que a fenitoína possa ter propriedades antimaniacas e de profilaxia. A primeira observação neste sentido foi realizada por Kalinowsky e Putnam (1943), que conduziram um estudo aberto com uma pequena amostra, verificando que a fenitoína promoveu uma redução da excitação principalmente em pacientes maníacos.

Posteriormente, Mishory *et al.* (2000) realizaram um estudo duplo cego de 5 semanas com 39 pacientes com diagnósticos de mania ou fase maníaca do transtorno esquizoafetivo. Os pacientes usaram haloperidol mais fenitoína *versus* haloperidol mais placebo. Trinta pacientes completaram 3 semanas de ensaio e 25 concluíram 5 semanas, sendo observada uma melhora na escala BPRS (*Brief Psychiatric Rating Scale*) e na CGI (*Clinical Global Impression*) para os indivíduos que usaram fenitoína e tinham diagnóstico de TAB. Portadores de transtorno esquizoafetivo não apresentaram este efeito. Esta pesquisa apresenta algumas limitações, como o fato de que os dois grupos usavam haloperidol (cuja ação antimaniaca é bem estabelecida), amostra de tamanho reduzido e variabilidade do diagnóstico.

O efeito profilático da fenitoína foi avaliado em outro estudo de Mishory *et al.* (2003) realizado com 27 pacientes que também tinham diagnóstico de TAB ou transtorno esquizoafetivo, conforme critérios do DSM-IV, e que apresentavam profilaxia prévia insatisfatória com lítio, valproato ou carbamazepina. Os pacientes poderiam estar em episódios tanto de mania como de depressão. Neste caso, era mantida a medicação e a ela era adicionado ou fenitoína ou placebo, conforme a randomização, sendo os sujeitos avaliados por um período de seis meses. Vinte e três pacientes completaram o estudo, sendo constatado efeito profilático significativo da fenitoína em comparação com o placebo. As limitações do estudo são o número reduzido de pacientes e o curto tempo de seguimento, em se tratando de profilaxia.

Ainda assim, estes estudos sugerem que a fenitoína possa exibir propriedades antimaniacas e de profilaxia no TAB.

Entretanto, em um estudo não comparativo, a fosfenitoína, uma pró-droga da fenitoína que é mais indicada para administração endovenosa, não apresentou melhora dos sintomas maníacos avaliados até 3 horas após a administração (APPLEBAUM *et al.*, 2003).

Em um estudo pré-clínico com fenitoína, carbamazepina e valproato (11 dias de administração), não foi observado bloqueio da hiperlocomoção induzida por quinpirole, um agonista D2/D3. Entretanto, quando os dados destas três drogas foram agrupados como um único grupo, foi detectada uma redução significativa na hiperlocomoção (SHALDUBINA *et al.*, 2002).

Nos anos 40 e 50 vários relatos citaram os efeitos benéficos da fenitoína na melhora dos sintomas depressivos e de irritabilidade em pacientes epiléticos que faziam uso desta medicação (NEMETS *et al.*, 2005). Infelizmente estudos mais recentes com este objetivo não foram realizados e, em 2005, Nemets *et al.* conduziram um ensaio duplo cego comparando fluoxetina *versus* fenitoína em pacientes com diagnóstico de depressão unipolar (n= 33). Após três dias sem medicação antidepressiva os pacientes foram randomizados para fluoxetina ou fenitoína. Vinte e oito pacientes completaram o estudo e foi observada melhora significativa dos sintomas depressivos em comparação aos sintomas iniciais tanto

para fluoxetina como para fenitoína e não houve diferenças entre os dois tratamentos até a 6ª semana de seguimento.

Em contrapartida, foi realizado outro estudo controlado com uma pequena amostra de pacientes deprimidos (n=20) e não responsivos à utilização de antidepressivos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS) (SHAPIRA *et al.*, 2006). Nestes pacientes, foi adicionado fenitoína ou placebo ao ISRS que estava sendo utilizado, mas não foi observada nenhuma melhora do quadro até a 4ª semana de tratamento.

Em estudos pré-clínicos, foi notado que a fenitoína diminui o tempo de imobilidade no teste de natação forçada e de suspensão pela cauda, sugerindo um efeito tipo antidepressivo da fenitoína (PONCELET *et al.*, 1986; BOURIN *et al.*, 2009a, 2009b). Este efeito foi revertido pela veratrina, um alcalóide que promove a abertura dos canais de sódio voltagem-dependentes, o que implica em um possível envolvimento destes canais no efeito tipo antidepressivo da fenitoína (BOURIN *et al.*, 2009a).

A veratrina também bloqueia o efeito anti-imobilidade da lamotrigina, um anticonvulsivante que age através do bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependentes, tanto em ratos como em camundongos submetidos ao teste de natação forçada (CADAGNONE *et al.*, 2007; BOURIN *et al.*, 2009a, 2009b).

Adicionalmente, outros anticonvulsivantes com capacidade de bloquear os canais de sódio, como a carbamazepina e a oxcarbazepina, também demonstraram possuir efeito tipo antidepressivo (BARROS *et al.*, 1987; JOCA *et al.*, 2000). Desta forma é possível pensar que drogas que agem bloqueando os canais de sódio são potencialmente úteis no tratamento do TAB.

## 1.8 MODELOS ANIMAIS DO TAB

O desenvolvimento de modelos animais para o estudo do TAB é desafiador, uma vez que a patologia engloba alternância de mania, depressão, eutimia e estados mistos.

Diversos modelos animais têm sido propostos para reproduzir depressão ou mania, que são as síndromes essenciais do transtorno. Contudo, à medida que

não existe um modelo que englobe todo o espectro, modelos separados de mania e depressão têm sido usados (DENCKER *et al.*, 2010). Diante destas dificuldades, existem poucos modelos animais para o estudo da mania, sendo a indução do aumento da atividade locomotora pelo uso de substâncias estimulantes do sistema nervoso central, como a anfetamina e o metilfenidato, um dos mais utilizados (MACHADO-VIEIRA *et al.*, 2004; EINAT, 2007; BARBOSA *et al.*, 2011).

Em roedores, uma administração única de anfetamina ou metilfenidato produz aumento da atividade locomotora e de reforço comportamental, enquanto doses repetidas aumentam a resposta comportamental ao longo do tempo. Este fenômeno é chamado de sensibilização comportamental e ocorre pela administração intermitente de um psicoestimulante que resulta em uma resposta comportamental progressivamente maior e mais rápida (DENCKER *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2001). Tem sido sugerido que o fenômeno de sensibilização também ocorra em humanos portadores de TAB (POST, 2010).

A validade de face é representada neste modelo pela similaridade observada no comportamento do animal e no aumento da atividade locomotora que também ocorre nos estados de mania em humanos (MACHADO-VIEIRA *et al.*, 2004; KATO *et al.*, 2007; PERRY *et al.*, 2009; HENRY *et al.*, 2010).

Tal modelo também apresenta validade preditiva, pois as alterações comportamentais induzidas por metilfenidato são inibidas por estabilizadores de humor como lítio (GOULD *et al.*, 2001; SABIONI *et al.*, 2008) carbamazepina, valproato e tamoxifeno, todas drogas bem conhecidas pelos seus efeitos antimaniacos (EINAT *et al.*, 2007; NASRALLAH *et al.*, 2006; GOODNICK, 2006; BARBOSA *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011; YILDIZ *et al.*, 2011).

A validade de constructo do modelo é estabelecida pela similaridade dos processos neurofisiológicos da mania e dos estados comportamentais induzidos por psicoestimulantes em roedores, os quais envolvem aumento da liberação de dopamina e diminuição de sua recaptação em áreas específicas do cérebro (GOODWIN; JAMISON, 2010).

## 1.9 VERATRINA E CANAIS DE SÓDIO VOLTAGEM-DEPENDENTES

A veratrina é uma toxina composta por uma mistura de alcalóides (p.ex. veratridina), extraída da planta *Schoenocaulon officinale*. Sua ação principal é sobre os canais de sódio voltagem-dependentes aonde ela se liga, promovendo a abertura destes canais. A veratrina limita a atividade dos anticonvulsivantes no teste de natação forçada, mas não dos antidepressivos (BOURIN *et al.*, 2009a; CODAGNONE *et al.*, 2007). Por exemplo, a fenitoína e a lamotrigina foram capazes de reduzir o tempo de imobilidade no teste de natação forçada, ação esta semelhante ao dos antidepressivos, sendo este efeito revertido pelo pré-tratamento com veratrina (BOURIN *et al.*, 2009a e 2009b; CODAGNONE *et al.*, 2007).

## 1.10 BDNF, RECEPTORES TRKB E TAB

O Fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) pertence à família das neurotrofinas, importante no cérebro de adultos, sendo o mesmo expresso em larga escala nas estruturas cerebrais límbicas, principalmente naquelas envolvidas com os transtornos de humor, como é o caso do hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala (COHEN-CORY *et al.*, 2010). Participa da sobrevivência neuronal e da remodelação das funções cerebrais (DUMAN, 2009). Está relacionado à plasticidade sináptica por influenciar a atividade neuronal e a morfologia (CASTRÉN; RANTAMÄKI, 2010; NAGAHARA; TUSZYNSKI, 2011).

O BDNF se liga com alta afinidade ao seu receptor tropomiosina relacionado à quinase B (TrkB), que é um receptor tipo tirosina quinase. TrkB apresenta duas isoformas: a forma longa TrkB (TrkB-FL) e a truncada TrkB (TrkB-T1) que não contém o componente tirosina quinase. TrkB-T1 pode cancelar o efeito da ativação do TrkB-FL (SAARELAINEN *et al.*, 2003). O BDNF se liga ao TrkB-FL conduzindo o receptor a dimerização e autofosforilação, ativando a cascata da tirosina quinase, através da proteína quinase mitógeno ativada (MAPK), fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) e fosfolipase C gama (PLC $\gamma$ ) (NAGAPPAN; LU, 2005).

Mudanças no BDNF e seu receptor TrkB têm sido relacionadas a

transtornos de humor, principalmente depressão (CUNHA *et al.*, 2011).

Dois estudos de metanálise mostraram que o BDNF periférico está reduzido durante os episódios de depressão e de mania (LIN, 2009; FERNANDES *et al.*, 2011). A administração crônica de antidepressivos aumenta os níveis de BDNF em pacientes deprimidos bem como em animais (DUMAN *et al.*, 1997; DUMAN; MONTEGGIA, 2006). Por exemplo, a administração repetida de antidepressivo aumenta os níveis de BDNF hipocampal em roedores (COPPELL *et al.*, 2003; CASTRÉN; RANTAMÄKI, 2010) e o recente uso de antidepressivo foi associado com o aumento dos níveis de BDNF hipocampal em pacientes com TAB (CHEN *et al.*, 2001). Adicionalmente, ratos que super expressam TrkB-T1, o qual poderia reduzir a ativação do TrkB no cérebro, foram insensíveis à ação da fluoxetina e da imipramina no teste de natação forçada (SAARELAINEN *et al.*, 2003).

Estabilizadores de humor incluindo anticonvulsivantes parecem aumentar os níveis de BDNF (LIN, 2009; FERNANDES *et al.*, 2011).

Aparentemente estes resultados são válidos tanto para os níveis séricos como para os níveis plasmáticos (FERNANDES *et al.*, 2011). Em contrapartida, Barbosa *et al.* (2010) observaram um aumento nos níveis de BDNF em pacientes bipolares na fase de mania, comparados com os controles normais. Entretanto isto foi visto de forma mais evidente naqueles pacientes com história de doença superior a 10 anos. Desta maneira, não é possível descartar os efeitos cumulativos da administração de drogas neste resultado (BARBOSA *et al.*, 2010).

Pacientes bipolares tratados com lítio ou anticonvulsivantes no momento da morte não apresentaram aumento dos níveis de BDNF hipocampal (CHEN *et al.*, 2001).

Sendo assim, a maioria, mas não todos os dados, indicam que a redução do BDNF estava associada tanto com depressão, como com mania e que os tratamentos efetivos para o TAB aumentam os níveis de BDNF.

### 1.11 HIPÓTESE

Considerando o exposto, nossa hipótese é que a fenitoína exiba um perfil tipo antimaniaco em modelos animais e no sistema BDNF-TrkB. Além disto,

haveria a participação dos canais de sódio voltagem-dependentes no modelo da hiperlocomoção induzida por metilfenidato.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito tipo antimaníaco da fenitoína em um modelo animal de mania e tentar investigar o seu possível mecanismo de ação.

### 2.2 Objetivos específicos

- a. Comparar os efeitos da administração aguda de carbamazepina, fenitoína e salina sobre a hiperlocomoção induzida por metilfenidato em camundongos Swiss.
- b. Avaliar os efeitos do pré-tratamento com veratrina sobre os efeitos da fenitoína e da carbamazepina na hiperlocomoção induzida por metilfenidato e o envolvimento dos canais de sódio voltagem dependentes neste efeito.
- c. Dosar os níveis de BDNF e seu receptor TrkB (total e fosforilado) no hipocampo dos camundongos, após administração crônica de fenitoína, carbamazepina e salina.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 SUJEITOS EXPERIMENTAIS

Foram usados camundongos machos Swiss, com aproximadamente 90 dias de idade, com peso entre 30 e 40 gramas, nascidos e criados no biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Os animais foram mantidos em grupos (10-20 camundongos/caixa), em caixas de polipropileno (41x34x16), em condições controladas de temperatura ( $22 \pm 2$  ° C), em ciclo claro-escuro de 12 horas e livre acesso à água e alimento durante todo o experimento. A umidade relativa foi em torno de 45%. Todos os experimentos foram realizados no período entre 9 horas e 12 horas. Os animais foram transferidos para sala de aclimação do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central do Departamento de Farmacologia da UFPR uma semana antes dos experimentos. No dia do experimento os animais foram aclimatados por um período de uma hora na sala de experimentos. Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética para Experimentos em Animais, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná (protocolo número 493)

#### 3.2. DROGAS E TRATAMENTO

Metilfenidato (Ritalina, Novartis, São Paulo, SP, Brasil) foi dissolvido em salina e administrado por via subcutânea (s.c.) na dose de 5mg/Kg. A solução de fenitoína comercial (Hidantal, Sanofi-Aventis, Suzano, SP, Brasil) foi diluída em água destilada e administrada por via intraperitoneal (i.p.) nas doses de 1, 5, 10, 30 e 50 mg/kg. Carbamazepina (Sigma, St. Louis, MO, USA) foi adicionada a 2 gotas de Tween 80, posteriormente diluída em água destilada e administrada i.p. nas doses de 10 e 20 mg/kg. Todas as drogas e seus veículos foram administradas em um volume constante de 10 ml/Kg. As doses das drogas foram calculadas pela forma do sal e foram baseadas em doses usadas previamente (VOIGT; MORGENSTERN, 1992; ARBAN *et al.*, 2005; BOURIN *et al.*, 2009b; DENCKER; HUSUM, 2010). A dose da veratrina (Sigma, St. Louis, MO, USA), foi

baseada em um estudo piloto que verificou que a dose da veratrina 0,4mg/Kg não alterou a hiperlocomoção induzida por metilfenidato.

### 3.3 METILFENIDATO INDUZINDO HIPERLOCOMOÇÃO NO TESTE DE CAMPO ABERTO

Psicoestimulantes como as anfetaminas e metilfenidato, aumentam a atividade locomotora no teste de campo aberto e a habilidade de uma droga em bloquear este aumento, em uma dose que não altere a atividade locomotora espontânea, é uma indicação de efeito antimaníaco (EINAT *et al.*, 2007; SABIONE *et al.*, 2008; BARBOSA *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011).

#### 3.3.1 Atividade locomotora

A atividade locomotora dos animais foi medida no teste de campo aberto que consiste de uma arena circular (diâmetro de 40 cm e altura de 28 cm) pintada de branco. A área do chão é dividida por linhas pretas sendo demarcados 25 espaços contidos em três círculos concêntricos (o círculo interno de 12 cm de diâmetro, o círculo do meio de 26 cm de diâmetro e o diâmetro do círculo mais externo de 40 cm, delimitado por toda a parede da arena). O número de espaços do círculo interno, do meio e mais externo são 1, 8 e 16 respectivamente. O nível de luminosidade no chão da arena é de 110 lux. O número de linhas cruzadas foi contado cumulativamente por um período de 5 min. Os animais foram testados no campo aberto 20 min após receberem metilfenidato ou salina. A arena do campo aberto foi limpa com uma solução de água e álcool a 10% antes de cada teste comportamental para evitar possível viés causado pelo odor ou resíduo deixado pelo animal anterior.

### 3.4 DOSAGEM DE BDNF E TRKB (TOTAL E PTRKB)

Os animais foram tratados uma vez ao dia por 21 dias consecutivos, uma vez ao dia com fenitoína 10mg/Kg i.p. ou carbamazepina 20mg/Kg i.p. ou veículo i.p. Vinte e quatro horas após a última administração, os animais foram mortos por deslocamento cervical, decapitados e o hipocampo de cada animal foi dissecado

sobre o gelo. Os hipocampos foram homogeneizados em tampão de lise (NaCl 137 mM; Tris-HCl 20 mM pH 7.6; glicerol 10%) contendo um coquetel inibidor de protease (Sigma, St. Louis, MO, USA) e após centrifugação (9000xg, 15 min), o sobrenadante foi armazenado a -80°C (ZANELATI *et al.*, 2010). Os níveis de BDNF hipocampal foram medidos por ELISA (BDNF Emax® ImmunoAssay System kit, Promega, Madison, WI, USA, # G7610) em conformidade com as instruções do fabricante. Os níveis totais de proteínas foram medidos pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976) e usados para normalizar as amostras.

Os níveis do pTrkB (Y706/707) e TrkB total foram determinados usando análise *western blotting* (SAARELAINEN *et al.* 2003). Para evitar a reatividade cruzada dos anticorpos para o receptor TrkA, as amostras foram submetidas a um protocolo de pré-lavagem. Quinhentas microgramas ( $\mu$ g) do total das proteínas presentes em cada amostra foram incubadas com 2  $\mu$ g de anticorpo contra TrkA (Santa Cruz, USA, #sc20539) por 1 hora a 4°C. Vinte  $\mu$ g de Proteína G-plus (Santa Cruz, USA, #sc20539) foram adicionadas a cada amostra e incubadas por 30 min a 4°C sob agitação. As amostras foram finalmente centrifugadas a 1000xg a 4°C por 10 min e o sobrenadante foi aplicado ao SDS-PAGE. As amostras (30  $\mu$ g das proteínas totais) foram submetidas a 8% de SDS-PAGE e transferidas para membranas de nitrocelulose. Posteriormente foram bloqueadas com leite em pó desnatado a 3% em tampão de TBST (20mM Tris-HCL;150mM NaCl; 0.05% Tween20). As membranas foram incubadas primeiro com anticorpo anti pTrkB (1:500, Cell Signaling, USA, #4621), TrkB (1:1000, Cell Signaling, USA, #4603) ou GAPDH (1:1000, Santa Cruz, USA, #sc25778) durante toda a noite, a 4°C. As membranas foram então lavadas e incubadas para o segundo anticorpo anti IgG HRP-conjugado (1:1000, Santa Cruz, USA, #sc2317), anticorpo de coelho. A detecção cromogênica da atividade do HRP foi realizada usando um Kit comercial (Perkin Elmer, USA, #NEL300001EA). As membranas foram escaneadas e analisadas usando *Image J software* (NIH, USA). A densidade óptica relativa para pTrkB ou TrkB foi normalizada por GAPDH e expressa como porcentagem do grupo controle.

### 3.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### Experimento 1:

Nos dias dos ensaios, os animais foram levados para sala de teste e permaneceram pelo período de uma hora para aclimatação. Trinta minutos antes do teste os animais foram divididos em grupos, receberam dose única de salina, ou fenitoína (1mg/Kg; 5mg/Kg; 10mg/kg; 30mg/Kg; ou 50mg/Kg), ou carbamazepina (10mg/Kg ou 20mg/Kg), todas administradas intraperitonealmente (i.p.). Após intervalo de 10 min foi administrada uma dose de metilfenidato 5mg/Kg ou salina, ambas subcutâneas (s.c.) e decorridos 20 min desta administração eles foram avaliados no teste de campo aberto por um período de 5 min.

#### Experimento 2:

Utilizando outro grupo de animais, foi realizado um experimento com veratrina 0,4mg/Kg s.c. ou veículo s.c. Após 10 min da administração de veratrina, os animais foram tratados com salina ou carbamazepina 20mg/Kg ou fenitoína 10mg/Kg (todas i.p.) e decorridos mais 10 min. foi realizada uma terceira aplicação, que consistia de metilfenidato 5mg/kg s.c. ou veículo s.c. Após 20 min desta terceira aplicação eles foram avaliados no teste de campo aberto durante 5 min.

#### Experimento 3:

Um terceiro experimento foi realizado para avaliar os níveis de BDNF hipocampal após o tratamento repetido (21 dias, 1x/dia) com fenitoína 10mg/kg ou carbamazepina 20mg/Kg ou veículo, todas i.p. Vinte e quatro horas após a última administração os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical, decapitados e seus hipocampos foram dissecados e foram processados para serem realizadas as dosagens do conteúdo de BDNF e de TrkB (total e pTrkB).

#### 4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados do campo aberto foram analisados por análise de variância (ANOVA) de uma-via (tratamento como fator), seguido pelo teste de múltiplas comparações de Duncan quando necessário. Uma vez que os dados do BDNF e TrkB não apresentaram homocedasticidade (mesmo após as transformação dos dados), eles foram analisados pelo teste estatístico não paramétrico ANOVA de Kruskal-Wallis, seguidos quando necessário pelo teste de Dunn. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Por conveniência prática e para evitar a influência dos ritmos circadianos, os animais foram randomicamente distribuídos em grupos e os experimentos foram conduzidos em diferentes dias, mas respeitando os mesmos horários (09:00 – 12:00h). Estes resultados foram combinados como um único dado por não ter ocorrido diferenças significantes entre os grupos controles (veículo+veículo) para cada dia de experimento.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DA FENITOÍNA E DA CARBAMAZEPINA SOBRE A HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR METILFENIDATO NO CAMPO ABERTO.

A ANOVA indicou um efeito significativo do tratamento sobre a locomoção ( $F_{15,123} = 8,248$ ;  $p < 0,0001$ ). O metilfenidato aumentou a locomoção nos grupos pré-tratados com veículo, fenitoína 1, 30 e 50 mg/Kg e carbamazepina 10 mg/Kg (todos  $p < 0,05$  comparado com veículo+veículo) (FIGURA 1). Em contrapartida metilfenidato não alterou a locomoção nos animais tratados com fenitoína 5 e 10 mg/Kg e carbamazepina 20 mg/Kg (todos  $p > 0,05$  comparado ao veículo+veículo).

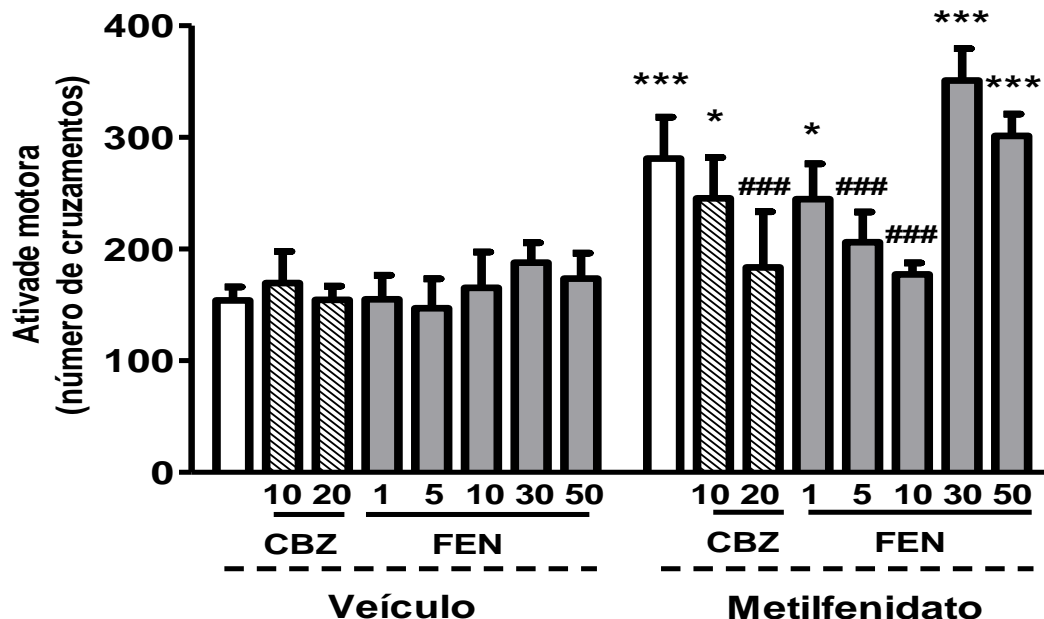


FIGURA 1. EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE FENITOÍNA – FEN (1-50 MG/KG, I.P.) OU CARBAMAZEPINA – CBZ (10-20 MG/KG, I.P.) SOBRE A HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR METILFENIDATO – MFD (5 MG/KG, S.C.) EM CAMUNDONGOS NO TESTE DE CAMPO ABERTO. OS DADOS SÃO EXPRESSOS COMO MÉDIA ± SEM ( $N = 7-9$  ANIMAIS/ GRUPO) DO NÚMERO DE LINHAS CRUZADAS DURANTE 5 MIN. \* $P < 0,05$  E \*\*\* $P < 0,001$  COMPARADO COM O GRUPO CONTROLE (VEÍCULO+VEÍCULO). ### $P < 0,001$  COMPARADO COM VEÍCULO+MFD.

5.2 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO COM VERATRINA SOBRE O EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DA FENITOÍNA E DA CARBAMAZEPINA NO AUMENTO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA INDUZIDA POR METILFENIDATO (MFD) NO CAMPO ABERTO.

A ANOVA indicou um efeito significativo sobre a locomoção total ( $F_{11,48} = 5,020$ ;  $p < 0,0001$ ). O metilfenidato aumentou a locomoção total nos grupos pré-tratados com veículo (todos  $p < 0,05$  comparado com veículo+veículo) e em todos os grupos pré-tratados com veratrina (todos  $p < 0,05$  comparados com veículo+veículo) (FIGURA 2). Já a fenitoína 10 mg/Kg e a carbamazepina 20

mg/Kg bloquearam o efeito do metilfenidato (ambos  $p > 0,05$  comparados com veículo+veículo e  $p < 0,05$  comparado com veículo+MFD).

Em ambos os experimentos, anticonvulsivantes ou veratrina sozinhos não alteraram a atividade locomotora (todos  $p > 0,05$  comparado ao controle).

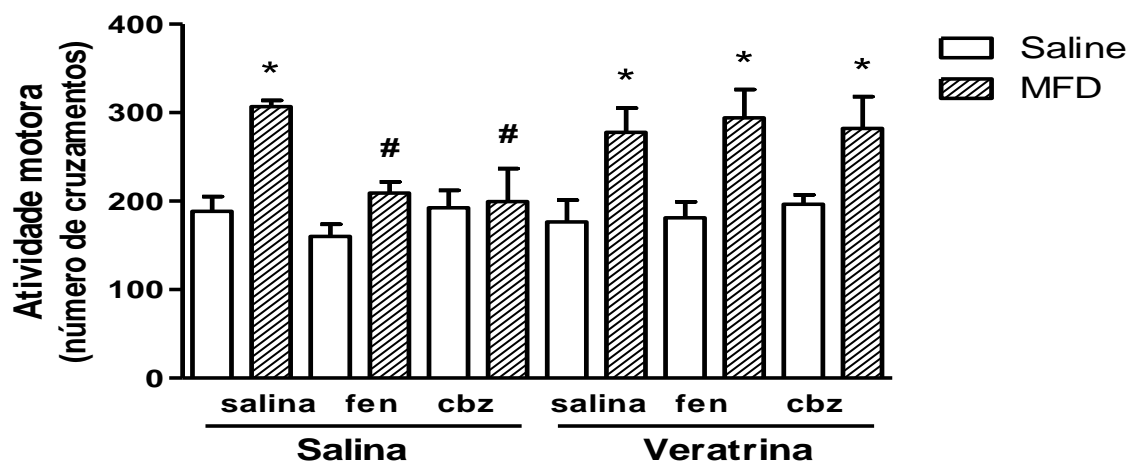


FIGURA 2. EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO COM VERATRINA (0,4 MG/KG, S.C.) SOBRE O EFEITO TIPO ANTIMANÍACO DA FENITOÍNA – FEN (10 MG/KG, I.P.) E CARBAMAZEPINA -CBZ (20 MG/KG, I.P.) NA HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR METILFENIDATO – MFD (5 MG/KG S.C.) NO TESTE DE CAMPO ABERTO, EM CAMUNDONGOS. ESTES DADOS SÃO EXPRESSOS COMO MÉDIA  $\pm$  SEM ( $N = 6-8$  ANIMAIS/ GRUPO) DO NÚMERO DE LINHAS CRUZADAS DURANTE 5 MIN. \* $P < 0,05$  COMPARADO COM O GRUPO CONTROLE (VEÍCULO+VEÍCULO). #  $P < 0,05$  COMPARADO COM VEÍCULO+MFD.

### 5.3 DOSAGEM DO NÍVEL DE BDNF, TRKB E PTRKB NO HIPOCAMPO APÓS TRATAMENTO CRÔNICO DE 21 DIAS COM FENITOÍNA, CARBAMAZEPINA E VEÍCULO.

Não foi observado efeito significativo do tratamento com fenitoína, carbamazepina e veículo sobre os níveis de BDNF [ $H(2, 40) = 1.942$ , NS; Fig. 3A] ou no nível total do TrkB [ $H(2, 18) = 1.519$ , NS; Fig. 3C] no hipocampo (FIGURA 3). Entretanto, a administração crônica de carbamazepina e fenitoína produziu um

aumentou significante no nível do pTrkB em comparação ao grupo controle [H(2, 18)= 8.484,  $p < 0,02$ ; Fig. 3B].

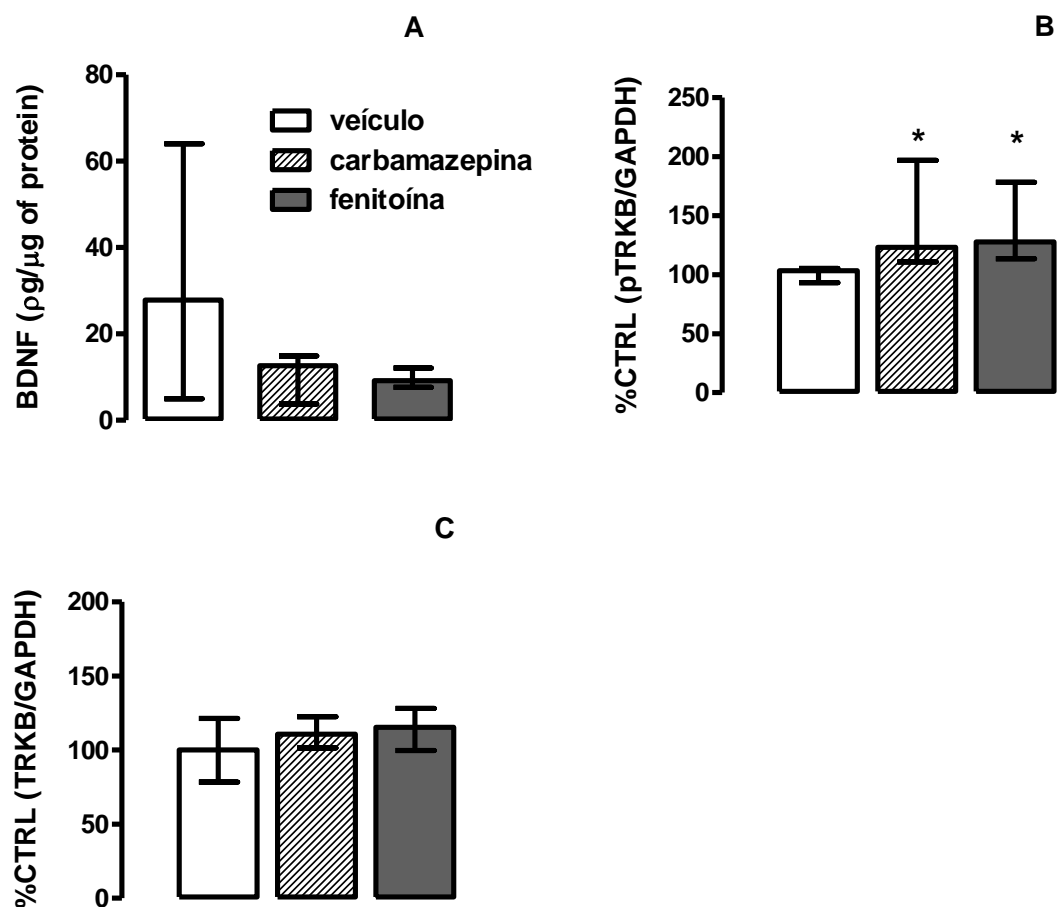


FIGURA 3 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO REPETIDA (21 DIAS) DE VEÍCULO, FENITOÍNA (10 MG/KG, I.P.) OU CARBAMAZEPINA (20 MG/KG, I.P.) NOS NÍVEIS HIPOCAMPAIS DE (A) BDNF, (B) TRKB FOSFORILADO (PTRKB), E (C) TRKB TOTAL. OS DADOS SÃO EXPRESSOS COMO MEDIANA  $\pm$  INTERVALO INTERQUARTIL (N = 7-10 ANIMAIS /GRUPO). \* $P < 0.05$  COMPARADO COM VEÍCULO.

## 6 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÃO

No presente estudo pudemos demonstrar que a administração aguda de fenitoína e carbamazepina foi capaz de bloquear a hiperlocomoção induzida por metilfenidato em um modelo animal de mania.

Estes efeitos foram observados em doses que não comprometeram a atividade locomotora espontânea, indicando que eles não foram devidos a um efeito depressor generalizado.

A fenitoína mostrou-se efetiva, nas doses de 5 mg/Kg e 10 mg/kg, sendo que as doses de 1, 30 e 50 mg/Kg não promoverem efeito sobre a hiperlocomoção. Já a carbamazepina reverteu a hiperlocomoção na dose de 20 mg/Kg e a dose de 10 mg/Kg não foi capaz de apresentar esta resposta.

Tais resultados sugerem que a fenitoína possa ter uma curva dose-resposta em forma de U, a exemplo do que acontece com outros fármacos que atuam no SNC, como é o caso já bem estabelecido da nortriptilina (ASBERG *et al.*, 1971).

Este efeito da fenitoína e da carbamazepina no modelo de hiperlocomoção induzida por psicoestimulante são similares aos observados com lítio, valproato de sódio e tamoxifeno (GOULD *et al.*, 2001; YANG *et al.*, 2001; FREY *et al.*, 2006; EINAT *et al.*, 2007; SABIONI *et al.*, 2008; DENCKER; HUSUM, 2010; BARBOSA *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011; MORETTI *et al.*, 2011) e sugerem que carbamazepina e fenitoína promovam um efeito tipo antimaníaco.

O resultado da carbamazepina, uma droga anticonvulsivante que tem demonstrado de maneira consistente um efeito clínico antimaníaco (CIPRIANI *et al.*, 2011), aumenta a validade do modelo e demonstra a sensibilidade dos experimentos realizados no presente estudo.

Adicionalmente, foi observado que a veratrina, um alcalóide que promove a abertura dos canais de sódio voltagem-dependentes, reverte o efeito da carbamazepina e da fenitoína na hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, o que é sugestivo de que os canais de sódio voltagem-dependentes apresentem um papel crucial no efeito tipo antimaníaco destas drogas. Além disso, foi demonstrado que a veratrina é capaz de bloquear o efeito tipo antidepressivo da

fenitoína, lamotrigina e topiramato no teste de natação forçada. (BOURIN *et al.*, 2009b; CODAGNONE *et al.*, 2007).

Por compartilharem de um mesmo mecanismo de ação envolvendo os canais de sódio voltagem-dependentes, drogas como a fenitoína, carbamazepina e valproato de sódio – um anticonvulsivante com propriedades antimaníacas clinicamente bem estabelecidas – é possível afirmar que o efeito antimaníaco destes fármacos esteja intimamente relacionado às suas ações sobre estes canais (BELMAKER, 2010). Embora tal “efeito de classe” possa ser questionado por alguns autores que argumentam, apropriadamente, que a lamotrigina e o topiramato, que também bloqueiam os canais de sódio voltagem-dependentes, não apresentam eficácia clínica no tratamento dos episódios de mania (ROSA *et al.*, 2009), discretas diferenças na farmacodinâmica de cada uma destas drogas podem explicar esta aparente discrepância (AHMAD *et al.* 2005). Estudos adicionais são necessários para melhor elucidação destas questões.

A observação, de que em nosso estudo os níveis de BDNF no hipocampo não foram alterados após administração crônica de fenitoína e carbamazepina, é aparentemente contraditória com grande parte das evidências disponíveis em literatura, onde se observa um aumento do nível de BDNF após tratamento crônico com estabilizadores de humor, tanto no plasma de pacientes (DE SOUZA *et al.*, 2011; FERNANDES *et al.*, 2011) como em estudos animais (FUKUMOTO *et al.*, 2001; FREY *et al.*, 2006).

A carbamazepina administrada cronicamente (30 dias) aumenta os níveis de BDNF no córtex frontal de ratos em estudo apresentado por Chang *et al.* (2009).

Em cultura de neurônios corticais, a administração de lítio por 3 dias aumenta os níveis de BDNF e do TrkB ativado (HASHIMOTO *et al.*, 2002).

Entretanto, outros estudos demonstraram que o tratamento crônico com lítio, valproato ou carbamazepina não altera ou até mesmo diminui os níveis de BDNF (RANTAMÄKI *et al.*, 2006; UMKA *et al.*, 2010; NISHINO *et al.*, no prelo; FREY *et al.*, 2006; HUANG *et al.*, 2012).

Ratos tratados por 21 dias com lítio não apresentaram alterações nos níveis

de BDNF no hipocampo ou de TrkB fosforilado (RANTAMÄKI *et al.*, 2006).

A carbamazepina administrada da sexta até a décima segunda semana pós-natal não promoveu alterações nos níveis de BDNF no hipocampo em camundongos (LAVEBRATT *et al.*, 2006).

Embora valproato e lítio reduzam a hiperlocomoção induzida por anfetamina (FREY *et al.*, 2006) e ouabaína (JORNADA *et al.*, 2010), a administração repetida de valproato de sódio aumenta os níveis de BDNF no hipocampo somente naqueles ratos tratados previamente com anfetamina e permanece inalterado nos animais tratados com veículo (FREY *et al.*, 2006; JORNADA *et al.*, 2010).

O lítio apresentou resultados mistos, aumentando (JORNADA *et al.*, 2010) ou não alterando (FREY *et al.*, 2006) o nível de BDNF no hipocampo de ratos tratados com veículo. Estes resultados também são consistentes com a observação de que em células de neuroblastoma humano tanto a carbamazepina como o lítio promovem o aumento da fosforilação do ERK1/2 e CREB, duas proteínas da via de sinalização de BDNF-TrkB; embora o efeito da carbamazepina seja independente do BDNF (MAI *et al.*, 2002).

A razão pela qual ocorrem discrepâncias nos resultados envolvendo drogas antimaníacas e o BDNF não está clara, mas possivelmente variáveis metodológicas (diferentes drogas; vias e horários para a administração, espécies/linhagens, ou o tempo que o tecido levou para ser coletado depois da última administração) podem concorrer para estas diferenças (RANTAMÄKI *et al.*, 2006). Por exemplo, o intervalo de tempo decorrido entre a última administração e o sacrifício do animal pode ser uma variável importante. Administrações repetidas de inibidores seletivos de recaptção de serotonina (ISRS) ou inibidores da monoaminoxidase (IMAO) reduzem o mRNA de BDNF após 4 horas, mas promovem aumento decorridas 24 horas (COPPELL *et al.*, 2003).

Rantamäki e cols. (2006) não observaram nenhuma alteração com tratamento crônico de lítio, quando os animais foram sacrificados 24 horas após a última administração da droga. Já Fukumoto *et al.* (2001) encontraram que o tratamento de 21 dias com lítio e a administração crônica por 14 dias com valproato aumentaram os níveis de BDNF no hipocampo. Neste mesmo estudo foi

demonstrado que o tratamento crônico por 14 dias com lítio não alterou BDNF. Estes autores também observaram que os níveis de BDNF no hipocampo são afetados pelo intervalo de tempo entre a última administração do valproato e o sacrifício dos animais: ocorre um aumento 4 horas após, mas este não é verificado depois de 24 horas.

Outra questão é que em estudos *in vivo* não é possível distinguir os níveis de BDNF intracelular e extracelular. Em cultura de células de astrocitomas humanos, o valproato aumenta a produção de BDNF e potencializa sua liberação, aumentando desta forma os níveis extracelulares, enquanto o próprio lítio reduz esta liberação, mas sem afetar os níveis intracelulares (NISHINO *et al.* no prelo).

Finalmente outra razão que possa ter concorrido para tais discrepâncias, reside no fato de ser o hipocampo uma região cerebral heterogênea, com importantes diferenças estruturais e funcionais ao longo do seu eixo dorso-ventral (LEONARDO *et al.*, 2006; FANSELOW; DONG, 2009).

Existem relatos de que a ativação do TrkB é seguida pela fosforilação de alguns resíduos intracelulares que disparam a sinalização através de vias específicas. Drogas antidepressivas dopaminérgicas aumentam a fosforilação nos resíduos duplos de tirosina 706/707 (localizados no sítio de autofosforilação), os quais são necessários para a ativação do TrkB (SAARELAINEN *et al.*, 2003). É reconhecido que a carbamazepina e a fenitoína promovem o aumento do pTrkB nestes resíduos sem produzirem nenhum efeito sobre o BDNF. Este resultado é similar ao observado com a fluoxetina, que não promove alteração no nível total de TrkB, apesar de aumentar sua fosforilação (SAARELAINEN *et al.*, 2003). Isto pode ser explicado pela transativação dos receptores TrkB, assim como faz a anandamida ou a dopamina (CASTRÉN; RANTAMÄKI, 2010). Portanto, a ação da carbamazepina e da fenitoína sobre os receptores TrkB pode ser independente do BDNF, como observado no efeito agudo dos antidepressivos (RANTAMÄKI *et al.*, 2011).

Por outro lado, Huang *et al.* (2012) observaram um aumento nos níveis séricos do TrkB em pacientes em episódio de mania, sendo que estes níveis não foram alterados mesmo após 4 semanas de tratamento com lítio ou valproato.

Ainda assim é preciso considerar que esta é uma medida periférica e que pode não corresponder ao que ocorreria em regiões específicas do cérebro, como foi relatado por Elfving *et al.* (2010). Estes pesquisadores observaram uma correlação inversa entre o aumento dos níveis séricos de BDNF e a redução de BDNF hipocampal em ratos *Flinders*-sensíveis, um modelo genético de depressão em ratos. Desta maneira, podemos considerar que a ativação da cascata BDNF-TrkB possa estar associada com os efeitos antimaníacos, embora os estabilizadores de humor possam ter diferentes mecanismos de ação.

Poucos estudos avaliaram o BDNF e/ou TrkB em tecidos cerebrais *post-mortem* de pacientes com TAB.

Thompson Ray *et al.* (2011) encontraram uma diminuição na expressão do mRNA do BDNF na área CA4 do hipocampo e mRNA de TrkB na camada II do córtex entorrinal. Entretanto, estes autores não encontraram qualquer efeito dos estabilizadores de humor em nenhuma região da formação hipocampal. Outro estudo *post-mortem* não identificou nenhuma alteração no TrkB-T1 em hipocampo (DUNHAM *et al.*, 2009). Entretanto, é necessário considerar que estes estudos não fazem nenhuma referência sobre qual episódio do TAB os sujeitos estavam no momento de sua morte.

De qualquer forma, os nossos resultados sugerem que a fenitoína induz alterações na sinalização do BDNF no hipocampo que são similares às observadas com a carbamazepina, uma droga antimaníaca clinicamente efetiva (CIPRIANI *et al.*, 2011). A aparente contradição que ocorre nos registros de aumento da atividade do sistema BDNF observados tanto com a administração de antidepressivos e estabilizadores de humor/drogas antimaníacas, usadas, respectivamente, para tratar depressão e mania (episódios opostos do transtorno bipolar), pode ser explicada pelas alterações neuroplásticas envolvidas na resolução dos diferentes episódios do TAB.

Outra possível explicação para o bloqueio pela carbamazepina e pela fenitoína da hiperlocomoção induzida por metilfenidato seria através de uma interação farmacocinética, ou seja, pela redução do nível plasmático do metilfenidato por ambos anticonvulsivantes. A fenitoína parece não interferir com

os níveis plasmáticos do metilfenidato, embora existam relatos de caso sugerindo que o metilfenidato possa inibir o metabolismo da fenitoína e, desta forma, aumentar seu nível plasmático (MARKOWITZ; PATRICK, 2001).

A implicação para o modelo usado em nosso estudo é que a dose média efetiva de fenitoína possa ser menor do que a observada, devido ao aumento das concentrações plasmáticas de fenitoína pela administração do metilfenidato, o que não invalida o bloqueio que a fenitoína promove na hiperlocomoção induzida por metilfenidato.

Em oposição, existe a sugestão de que carbamazepina poderia reduzir os níveis do metilfenidato (MARKOWITZ; PATRICK, 2001), o que contribuiria para a redução da hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Entretanto, a observação de que o efeito da carbamazepina é revertido pela administração da veratrina, juntamente do efeito antimaníaco da fenitoína (neste estudo) e valproato (BARBOSA *et al.*, 2011) drogas que também promovem o bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependentes, reforça a hipótese do efeito tipo antimaníaco da carbamazepina.

Concluindo, os nossos resultados enfatizam que a fenitoína deve ser considerada uma opção em potencial para o tratamento dos pacientes portadores de TAB. Suas vantagens incluem a possível eficácia no manejo da mania aguda e até nos episódios de depressão maior, além do seu perfil de segurança conhecido que já foi vastamente estudado no tratamento das epilepsias. Aliando-se a estas características favoráveis, o baixo custo que representa o tratamento com fenitoína deve ser considerado pelos programas de saúde mental, principalmente nos países em desenvolvimento, uma vez que os recursos disponíveis para o tratamento dos transtornos psiquiátricos se mostram escassos.

Apesar dos esforços já realizados, mais estudos de eficácia da fenitoína no tratamento do TAB devem ser realizados antes do seu uso em clínica psiquiátrica.

## REFERÊNCIAS

AHMAD, S. *et al.* Lamotrigine, carbamazepine and phenytoin differentially alter extracellular levels of 5-hydroxytryptamine, dopamine and amino acids. **Epilepsy Res.** v. 63, n. 2-3, p. 141-149, 2005.

AMANN, B.; GRUNZE, H. The evolution of antiepileptic drugs for mood stabilization and their main mechanisms of action. **Expert Rev Neurother.** v. 3, n. 1, p. 107-18, 2003.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual de diagnóstico e estatística dos transtornos mentais.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 1994..

APPLEBAUM, J., LEVINE, J., BELMAKER, R.H. Intravenous fosphenytoin in acute mania. **J Clin Psychiatry.** v. 64, n. 4, p. 408-409, 2003.

ARBAN, R *et al.* Evaluation of the effects of lamotrigine, valproate and carbamazepine in a rodent model of mania. **Behav Brain Res.** v. 158, p. 123-132, 2005.

ASBERG, M. *et al.* elationship between plasma level and therapeutic effect of nortriptyline. **Br Med J.** v. 3, n. 5770, p. :331-334, 1971.

BARBOSA, F. J. *et al.* Magnesium sulfate and sodium valproate block methylphenidate-induced hyperlocomotion, an animal model of mania. **Pharmacol Rep.** v. 63, n. 1, p. 64-70, 2011.

BARBOSA, I. G. *et al.* Increased plasma levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with long-term bipolar disorder. **Neurosci Lett.** v. 475, n. 2, p. 95-98, 2010.

BARROS, H. M.; LEITE, J. R. The effects of carbamazepine on two animal models of depression. **Psychopharmacology (Berl).** v. 92, n. 3. p. 340-342, 1987.

BELMAKER, R. H. The future of anticonvulsants in bipolar disorder. **Bipolar Disord.** v. 12, n. 1, p. 109-110; author reply 110-11. 2010.

BOSTWICK, J. M.; PANKRATZ, V. S. Affective disorders and suicide risk: a reexamination. **Am J Psychiatry.** v. 158, n. 11, p. 1934-1935, 2001.

BOURIN, M.; CHENU, F.; HASCOËT, M. The role of sodium channels in the mechanism of action of antidepressants and mood stabilizers. **Curr Drug Targets.** v. 10, n. 11, p. 1052-1060, 2009a.

BOURIN, M.; CHENU, F.; HASCOËT, M. Topiramate and phenytoin anti-immobility effect in the mice forced swimming test is reversed by veratrine: Implication for bipolar depression treatment. **Behav Brain Res.** v. 205, n. 2, p. 421-425, 2009b.

BOWDEN, C. L. Anticonvulsants in bipolar disorders: current research and practice and future directions. **Bipolar Disord.** v. 11, Suppl 2, p. 20-33, 2009.

BOWDEN, C. L.; KARREN, N. U. Anticonvulsants in bipolar disorder. **Aust N Z J Psychiatry.** v. 40, n. 5, p. 386-393, 2006.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem.** v. 72, p. 248-254, 1976.

CADE, J. F. Lithium salts in the treatment of psychotic excitement. **Med J Aust.** v. 2, n. 10, p. 349-352, 1949.

CALABRESE, J. R.; DELUCCHI, G. A. Spectrum of efficacy of valproate in 55 patients with rapid-cycling bipolar disorder. **Am J Psychiatry.** v. 147, n. 4, p. 431-434, 1990.

CASTRÉN, E.; RANTAMÄKI, T. Role of brain-derived neurotrophic factor in the etiology of depression: implications for pharmacological treatment. **CNS Drugs.** v. 24, n. 1, p. 1-7, 2010.

CHANG, Y.C.; RAPOPORT, S. I., RAO, J. S. Chronic administration of mood stabilizers upregulates BDNF and bcl-2 expression levels in rat frontal cortex. **Neurochem Res.** v. 34, n. 3, p. 536-541, 2009.

CHEN, B.; *et al.* Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. **Biol Psychiatry.** v. 50, n. 4, p. 260-265, 2001.

CHWEH, A. Y.; SWINYARD, E. A.; WOLF, H. H. Involvement of a GABAergic mechanism in the pharmacologic action of Phenytoin. **Pharmacol Biochem Behav.** v. 24, n. 5, p. 1031-1034, 1986.

CIPRIANI, A. *et al.* Comparative efficacy and acceptability of antimanic drugs in acute mania: a multiple-treatments meta-analysis. **Lancet.** v. 378, n. 9799, p. 1306-1315, 2011.

CODAGNONE, F. T. *et al.* Veratrine blocks the lamotrigine-induced swimming increase and immobility decrease in the modified forced swimming test. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** v. 31, n. 6, p. 1307-1311, 2007.

COHEN-CORY, S. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. **Dev Neurobiol.** v. 70, n. 5, p. 271-288, 2010.

COPPELL, A. L.; PEI, Q.; ZETTERSTRÖM, T. S. Bi-phasic change in BDNF gene expression following antidepressant drug treatment. **Neuropharmacology.** v. 44, n. 7, p. 903-910, 2003.

CUNHA, A. B. *et al.* Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. **Neurosci Lett.** v. 398, n. 3, p. 215-219, 2006.

DE SOUSA, R. T. *et al.* Lithium increases plasma brain-derived neurotrophic factor in acute bipolar mania: a preliminary 4-week study. **Neurosci Lett.** v. 494, n. 1, p. 54-56, 2011.

DENCKER, D.; HUSUM, H. Antimanic efficacy of retigabine in a proposed mouse model of bipolar disorder. **Behav Brain Research.** v. 207, n. 1, p. 78-83, 2010.

DUMAN, R. S. Neuronal damage and protection in the pathophysiology and treatment of psychiatric illness: stress and depression. **Dialogues Clin Neurosci.** v. 11, n. 3, p. 239-255, 2009.

DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biol Psychiatry.** v. 59, n. 12, p. 1116-1127, 2006.

DUNHAM, J. S. *et al.* Expression of hippocampal brain-derived neurotrophic factor and its receptors in Stanley consortium brains. **J Psychiatr Res.** v. 43, n. 14, p. 1175-1184, 2009.

EINAT, H. Different behaviors and different strains: Potential new ways to model bipolar disorder. **Neurosci Biobehav Rev.** v. 31, n. 6, p. 850-857, 2007.

EINAT, H. *et al.* The role of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in mood modulation. **J Neurosci.** v. 23, n. 19, p. 7311-7316, 2003.

ELFVING, B. *et al.* Inverse correlation of brain and blood BDNF levels in a genetic rat model of depression. **J Neuropsychopharmacol.** v. 13, n. 5, p. 563-572, 2010.

FANSELOW, M. S.; DONG, H. W. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? **Neuron.** v. 65, n. 1, p. 7-19, 2010.

FERNANDES, B. S. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: a systematic review and meta-regression analysis. **J Psychiatr Res.** v. 45, n. 8, p. 995-1004, 2011.

FREY, B. N. *et al.* Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. **Life Sci.** v. 79, n. 3, p. 281-286, 2006.

FUKUMOTO, T. *et al.* Chronic lithium treatment increases the expression of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain. **Psychopharmacology (Berl).** v. 158, n. 1, p. 100-106, 2001.

GAJWANI, P. *et al.* Acute treatment of mania: an update on new medications. **Curr Psychiatry Rep.** v. 8, n. 6, p. 504-509, 2006.

GERSHON, S.; CHENGAPPA, K.N.; MALHI, G.S. Lithium specificity in bipolar illness: a classic agent for the classic disorder. **Bipolar Disord.** v. 11, n. 2, p. 34-44, 2009.

GOODNICK, P. J. Anticonvulsants in the treatment of bipolar mania. **Expert Opin Pharmacother.** v. 7, n. 4, p. 401-410, 2006.

GOODWIN, F. K.; JAMISON, K. R. **Doença maníaco-depressiva:** transtorno bipolar e depressão recorrente. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 524-675.

GOULD, T. J.; KEITH, R. A.; BHAT, R. V. Differential sensitivity to lithium's reversal of amphetamine-induced open-field activity in two inbred strains of mice. **Behav Brain Res.** v. 118, n. 1, p. 95-105, 2001.

GRUNZE, H.C. Anticonvulsants in bipolar disorder. **J Mental Health.** v. 19, n. 2, p. 127-141, 2010.

HASHIMOTO, R. *et al.* Lithium induces brain-derived neurotrophic factor and activates TrkB in rodent cortical neurons: an essential step for neuroprotection against glutamate excitotoxicity. **Neuropharmacology.** v. 43, n. 7, p. 1173-1179, 2002.

HENRY, B. L. *et al.* Cross-species assessments of motor and exploratory behavior related to bipolar disorder. **Neurosci Biobehav Rev.** v. 34, n. 8, p. 1296-1306, 2010.

HIRSCHOWITZ, J. ; KOLEVZON, A.; GARAKANI, A. The pharmacological treatment of bipolar disorder: the question of modern advances. **Harv Rev Psychiatry.** v. 18, n. 5, p. 266-278, 2010.

HUANG, T. L. *et al.* Serum protein levels of brain-derived neurotrophic factor and tropomyosin-related kinase B in bipolar disorder: effects of mood stabilizers. **Neuropsychobiology.** v. 65, n. 2, p. 65-69, 2012.

HUDEPOHL, N. S.; NASRALLAH, H. A. Antipsychotic drugs. **Handbook of Clinical Neurology.** v. 106, p. 657-667, 2012.

JOCA, S.R. *et al.* The antidepressive-like effect of oxcarbazepine: possible role of dopaminergic neurotransmission. **Eur Neuropsychopharmacol.** v. 10, n. 4, p. 223-228, 2000.

JORNADA, L. K. *et al.* Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain. **J Psychiatr Res.** v. 44, n. 8, p. 506-510, 2010.

KALINOWSKY, L. B.; PUTNAM, T. J. Attempts at treatment of schizophrenia and other nonepileptic psychoses with dilantin. **Arch Neurol Psychiatry.** v. 49, n. 3, p. 414-420, 1943.

KAPCZINSKI, F.; FREY, B. N.; ZANNATTO, V. Physiopathology of bipolar disorders: what have changed in the last 10 years? **Rev Bras Psiquiatr.** v. 26, n. 3, p. 17-21, 2004.

KATO, T.; KUBOTA, M.; KASAHARA, T. Animal models of bipolar disorders. **Neurosci Biobehav Rev.** v. 31, n. 6, p. 832-842, 2007.

LAVEBRATT, C. *et al.* Carbamazepine protects against megencephaly and abnormal expression of BDNF and Nogo signaling components in the mceph/mceph mouse. **Neurobiol Dis.** v. 24, n. 2, p. 374-383, 2006.

LEONARDO, E. D. *et al.* Molecular heterogeneity along the dorsal-ventral axis of the murine hippocampal CA1 field: a microarray analysis of gene expression. **Neuroscience.** v. 137, n. 1, p. 177-186, 2006.

LIMA, M. S. *et al.* Epidemiologia do transtorno bipolar. **Rev Psiq Clin.** v. 32, n. 1, p. 15-20, 2005.

LIN, P.Y. State-dependent decrease in levels of brain-derived neurotrophic factor in bipolar disorder: a meta-analytic study. **Neurosci Lett.** v. 466, n. 3, p. 139-143, 2009.

MACHADO-VIEIRA, R.; KAPCZINSKI, F.; SOARES, J. C. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** v. 28, n. 2, p. 209-224, 2004.

MAI, L.; JOPE, R. S.; LI, X. BDNF-mediated signal transduction is modulated by GSK3beta and mood stabilizing agents. **J Neurochem.** v. 82, n. 1, p. 75-83, 2002.

MAJ, M. The impact of lithium prophylaxis on the course of bipolar disorder: a review of the research evidence. **Bipolar Disord.** v. 2, n. 2, p. 93-101, 2000.

MALHI, G. S. *et al.* Balanced efficacy, safety, and tolerability recommendations for the clinical management of bipolar disorder. **Bipolar Disord.** v. 14 Suppl 2, p. 1-21, 2012a.

MALHI, G. S. *et al.* The science and practice of lithium therapy. **Aust N Z J Psychiatry.** v. 46, n. 3, p. 192-211, 2012b.

MANTEGAZZA, M. *et al.* Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders. **Lancet Neurology.** v. 9, n. 4, p. 413-424, 2010.

MARKOWITZ, J. S.; PATRICK, K. S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic drug interactions in the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder. **Clin Pharmacokinet.** v. 40, n. 10, p. 753-772, 2001.

MCKNIGHT, R. F. *et al.* Lithium toxicity profile: a systematic review and meta-analysis. **Lancet.** v. 379, n. 9817, p. 721-728, 2012.

MCNAMARA, J. O. Pharmacotherapy of the epilepsies. In: BRUNTON, J. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K.L. (ed.). **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.** 12.ed. New York: McGraw-Hill, 2010. p. 501- 526.

MISHORY, A.; YAROLAVSKY, Y.; BELMAKER, R. H. Phenytoin as an antimanic anticonvulsant: a controlled study. **Am J Psychiatry.** v. 157, n. 3, p. 463-465, 2000.

MISHORY, A.; WINOKER, M.; BERSUDSKY, Y. Prophylactic effect of phenytoin in bipolar disorder: a controlled study. **Bipolar Disord.** v. 5, n. 6, p. 464-467, 2003.

MORENO, D. H.; SANTOS, I. S.; GUARIGLIA FILHO, J. E. F. Custo e consequências biológicas, psicossociais e econômicas. In: MORENO, R. M.; MORENO, D. H.; (ed.). **Transtorno bipolar do humor.** São Paulo: Lemos Editorial, 2002. p. 147-158.

MORETTI, M. *et al.* Tamoxifen effects on respiratory chain complexes and creatine kinase activities in an animal model of mania. **Pharmacol Biochem Behav.** v. 98, n. 2, p. 304-310, 2011.

NAGAHARA, A. H.; TUSZYNSKI, M. H. Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. **Nat Rev Drug Discov.** v. 10, n. 3, p. 209-219, 2011.

NAGAPPAN, G.; LU, B. Activity-dependent modulation of the BDNF receptor TrkB: mechanisms and implications. **Trends Neurosci.** v. 28, n. 9, p. 464-471, 2005.

NASRALLAH, H. A.; KETTER, T. A.; KALALI, A. H. Carbamazepine and valproate for the treatment of bipolar disorder: a review of the literature. **J Affect Disord.** v. 95, n. 1-3, p. 69-78, 2006.

NEMETS, B.; BERSUDSKY, Y.; BELMAKER, R. H. Controlled double-blind trial of phenytoin vs. fluoxetine in major depressive disorder. **J Clin Psychiatry.** v. 66, n. 5, p. 586-590, 2005.

NISHINO, S. *et al.* Divergent effects of lithium and sodium valproate on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) production in human astrocytoma cells at therapeutic concentrations. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** *No prelo.*

PASQUALI, L. *et al.* Intracellular pathways underlying the effects of lithium. **Behav Pharmacol.** v. 21, n. 5-6, p. 473-492, 2010.

PEREIRA, M. *et al.* Antimanic-like effect of tamoxifen is not reproduced by acute or chronic administration of medroxyprogesterone or clomiphene. **Neurosci Lett.** v. 500, n. 2, p. 95-98, 2011.

PERRY, W. *et al.* A reverse-translational study of dysfunctional exploration in psychiatric disorders: from mice to men. **Arch Gen Psychiatry.** v. 66, n. 10, p. 1072-1080, 2009.

PHIEL, C.J.; KLEIN, P.S. Molecular targets of lithium action. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.** v. 41, p. 789-813, 2001.

PONCELET, M. *et al.* Antidepressant-like effects of diphenylhydantoin in mice: involvement of alpha-adrenoceptors. **Eur J Pharmacol.** v. 120, n. 1, p. 133-135, 1986.

POST, R.M. Mechanisms of illness progression in the recurrent affective disorders. **Neurotox Res.** v. 18, n. 3-4, p. 256-271, 2010.

QUIROZ, J. A. *et al.* Novel insights into lithium's mechanism of action: neurotrophic and neuroprotective effects. **Neuropsychobiology.** v. 62, n. 1, p. 50-60, 2010.

RANTAMÄKI, T. *et al.* The effects of acute and long-term lithium treatments on trkB neurotrophin receptor activation in the mouse hippocampus and anterior cingulate cortex. **Neuropharmacology.** v. 50, n. 4, p. 421-427, 2006.

RANTAMÄKI, T. *et al.* Antidepressant drugs transactivate TrkB neurotrophin receptors in the adult rodent brain independently of BDNF and monoamine transporter blockade. **PLoS One.** v. 6, n. 6, p. e20567, 2011.

- ROSA, A. R *et al.* Is anticonvulsant treatment of mania a class effect? Data from randomized clinical trials. **CNS Neurosci Ther.** v. 17, n. 3, p. 167-177, 2011.
- SAARELAINEN, T. *et al.* Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects. **J Neurosci.** v. 23, n. 1, p. 349-357, 2003.
- SABIONI, P. *et al.* The antimanic-like effect of tamoxifen: behavioural comparison with other PKC-inhibiting and antiestrogenic drugs. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** v. 32, n. 8, p. 1927-1931, 2008.
- SHALDUBINA, A. *et al.* Preliminary evaluation of oral anticonvulsant treatment in the quinpirole model of bipolar disorder. **J Neural Transm.** v. 109, n. 3, p. 433-440, 2002.
- SHAPIRA, B. *et al.* Phenytoin as an augmentation for SSRI failures: a small controlled study. **J Affect Disord.** v. 96, n. 1-2, p. 123-126, 2006.
- SODERPALM, B. Anticonvulsants: aspects of their mechanisms of action. **Eur J Pain.** v. 6, n. A, p. 3-9, 2002.
- SPINA, E.; PERUGI, G. Antiepileptic drugs: indications other than epilepsy. **Epileptic Disorders.** v. 6, n. 2, p. 57-75, 2004.
- STONER, S. C. *et al.* Historical review of carbamazepine for the treatment of bipolar disorder. **Pharmacotherapy.** v. 27, n. 1, p. 68-88, 2007.
- THOMPSON RAY, M. *et al.* Decreased BDNF, trkB-TK+ and GAD67 mRNA expression in the hippocampus of individuals with schizophrenia and mood disorders. **J Psychiatry Neurosci.** v. 36, n. 3, p. 195-203, 2011.
- TUNNICLIFF, G. Basis of the antiseizure action of Phenytoin. **Gen Pharmacol.** v. 27, n. 7, p. 1091-1097, 1996.
- UMKA, J. *et al.* Valproic acid reduces spatial working memory and cell proliferation in the hippocampus. **Neuroscience.** v. 166, n. 1, p. 15-22, 2010.
- VIETA, E.; ROSA, A. R. Evolving trends in the long-term treatment of bipolar disorder. **World J Biol Psychiatry.** v. 8, n. 1, p. 4-11, 2007.
- VOIGT, J. P.; MORGENSTERN, E. Comparative effects of carbamazepine, phenytoin, diazepam and clonazepam on inhibitory avoidance learning in mice. **Psychopharmacology (Berl).** v. 108, n. 1-2, p. 131-135, 1992.
- YANG, P. *et al.* Effects of lithium chloride on induction and expression of methylphenidate sensitization. **Eur J Pharmacol.** v. 426, n. 1-2, p. 65-72, 2001.

YILDIZ, A. *et al.* Efficacy of antimanic treatments: meta-analysis of randomized, controlled trials. **Neuropsychopharmacol.** v. 36, n. 2, p. 375-389, 2011.

ZANELATI, T. V. *et al.* Antidepressant-like effects of cannabidiol in mice: possible involvement of 5-HT<sub>1A</sub> receptors. **Br J Pharmacol.** v. 159, n. 1, p. 122-128, 2010.