

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

EDSON ARTHUR SCHERER

***Estudo de neurotransmissores relacionados à depressão e psicose
em amostras de cérebro humano de pacientes submetidos à cirurgia
por epilepsia de lobo temporal***

Ribeirão Preto

2008

EDSON ARTHUR SCHERER

*Estudo de neurotransmissores relacionados à depressão e psicose
em amostras de cérebro humano de pacientes submetidos à cirurgia
por epilepsia de lobo temporal*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Patologia Experimental.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Eduardo Moreira.

Ribeirão Preto

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Scherer, Edson Arthur

Estudo de neurotransmissores relacionados à depressão e psicose em amostras de cérebro humano de pacientes submetidos à cirurgia por epilepsia de lobo temporal. Ribeirão Preto, 2008.

115 p.; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Patologia Experimental

Orientador: Moreira, Jorge Eduardo

1. Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa. 2. Epilepsia do lobo temporal. 3. Hipocampo. 4. Depressão. 5. Transtornos psicóticos. 6. Receptores de neurotransmissores.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Edson Arthur Scherer

Estudo de neurotransmissores relacionados à depressão e psicose em amostras de cérebro humano de pacientes submetidos à cirurgia por epilepsia de lobo temporal

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Patologia Experimental.

Aprovado em: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha querida **Zeyne**, companheira em todos os momentos. Obrigado pelo olhar, atos e cumplicidade que sempre nos uniram.

Aos nossos pequeninos, **Nikolas** e **Raissa** que mesmo sem a compreensão exata deste estudo, vibraram com as conclusões.

Aos meus pais, **Erny** e **Edy** pelos incentivos nos passos iniciais de minha carreira.

É com imenso prazer que lhes dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Esta tese é dedicada aos pacientes e seus familiares que generosamente contribuíram com o estudo.

À Profa. Dra. Zeyne Alves Pires Scherer pelo incentivo, apoio e presença na construção deste estudo.

Ao Prof. Dr. Jorge Eduardo Moreira, pela orientação, paciência, disponibilidade, incentivo e contribuições ao longo da construção desta tese.

Ao Centro de Cirurgia de Epilepsia (CIREP) do e ao banco de amostras de tecido cerebral do HC-FMRP-USP, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos G. Carlotti Jr, que proveram os dados e amostras dos pacientes.

Ao Prof. Dr. Carlos Scrideli pelas sugestões na escolha do método de *real time* PCR e por disponibilizar os equipamentos do Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Pediatria da FMRP – USP.

Aos colegas pós-graduandos Daniel L. G. Gitaí e Janaina Brusco do Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos da FMRP – USP pelo auxílio nos procedimentos de extração do mRNA.

Aos colegas pós-graduandos Agda K. B. Lucio-Eterovic e Vanessa S. S. Andrade do Departamento de Pediatria da FMRP-USP pela ajuda nos procedimentos de TacMan *real time* PCR.

Ao Centro de Métodos Quantitativos (CEMEQ) da FMRP-USP pela assessoria estatística.

Aos professores da Banca Examinadora, por suas contribuições para o aperfeiçoamento deste estudo.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente ajudaram para a concretização deste trabalho.

Obrigado!

“Depois disso o Todo podia ser finalmente visto, como sempre sonharam os cientistas da mente desde Freud, como maior que a soma das partes. O objetivo final não é usar o reducionismo apenas para separar as coisas nos seus constituintes, mas também juntá-las de novo. Temos de ser reducionistas e holistas ao mesmo tempo”

E. R. Kandel.

“Não é isso que importa, que eu tenha uma opinião diferente da do outro; mas sim, que o outro venha a encontrar o certo, a partir de si próprio, se eu contribuir um pouco para tal.”

R. Steiner.

RESUMO

SCHERER, E.A. *Estudo de neurotransmissores relacionados à depressão e psicose em amostras de cérebro humano de pacientes submetidos à cirurgia por epilepsia de lobo temporal*. 2008. 115 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

A epilepsia é um transtorno do funcionamento cerebral caracterizado por crises epiléticas recorrentes que acomete cerca de 1 a 2% da população mundial. A epilepsia do lobo temporal (ELT) é o subtipo mais prevalente. A refratariedade aos medicamentos é comum e cerca de 40 % destes pacientes apresentam transtornos psiquiátricos. Neste trabalho utilizamos o método de TacMan *real time* PCR para quantificar o mRNA de subtipos dos receptores de noradrenalina, dopamina, serotonina e substância P em hipocampos cirurgicamente removidos de pacientes com ELT para conhecer o papel destes na ELT com ou sem comorbidade psiquiátrica (depressão ou psicose). Nossa amostra foi de 48 pacientes com ELT sem (Epilepsia - 24) ou com comorbidade psicótica (Psicose - 10) ou depressiva (Depressão - 14) e 8 Controles (necrópsias). O receptor adrenérgico- α 2A (AD2A) apresentou diferença entre os grupos ($p = 0,0059$) com significância para a variável Antiepilético ($p = 0,0374$) e pós-teste significativo de maior expressão do mRNA de AD2A no grupo Epilepsia comparado com Controle e com Psicose. A ativação dos receptores α 2A no hipocampo pelos antiepiléticos pode explicar nossos achados do grupo Epilepsia comparado ao Controle, corroborando a literatura acerca do AD2A na epilepsia e em relação aos antiepiléticos. O AD2C mostrou diferença entre os grupos ($p = 0,0016$), sem significância nas variáveis de controle e significativa maior expressão do mRNA de AD2C no grupo Epilepsia comparado ao Controle e Psicose. O AD2C é encontrado em áreas que processam informações sensoriais e controlam atividades motoras e emocionais relacionadas, o que pode explicar nossos resultados. Parece ser importante na patologia relacionada à ELT e merece ser estudado. A não diferença entre Epilepsia e Depressão para AD2A e AD2C, parecem confirmar uma relação bi-direcional ou um mecanismo patogênico comum entre epilepsia e depressão, enquanto a menor expressão de AD2A e AD2C nos psicóticos parece indicar diferenças nos mecanismos adrenérgicos ligados a psicose e epilepsia. D2 mostrou diferença entre os grupos ($p = 0,0125$) com resultado significativo para a variável Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico ($p = 0,0239$), provavelmente devido a cronicidade da doença e a quantidade de episódios depressivos apresentados pelos sujeitos. Quanto maior a frequência das crises ($p = 0,0381$) maior a expressão do D2 no grupo Epilepsia e no Depressão comparados ao Controle. Estes achados sugerem a participação deste receptor na depressão comórbida na ELT; corroboram que o monitoramento dopaminérgico límbico pode ser útil para desenvolver novos antidepressivos e propõem pesquisas futuras sobre D2 em epiléticos. A participação de 5-HT2A na ELT é indicada, pois, sua maior expressão no grupo Epilepsia em relação ao Controle foi significativa ($p = 0,0273$). Quanto maior a frequência das crises epiléticas maior a expressão do 5-HT2A ($p = 0,0433$). Não encontramos resultados significativos referentes aos receptores D4, 5-HT1A, 5-HT2C e NK1. Nossos resultados mostraram a possibilidade da aplicação do TacMan *real time* PCR no estudo de receptores de neurotransmissores, sugeriu a importância dos receptores estudados na ELT e comorbidades psiquiátricas, e que outras estruturas límbicas, como a amígdala, sejam focos de investigação.

Palavras-chave: reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa; epilepsia do lobo temporal; hipocampo; depressão; transtornos psicóticos; receptores de neurotransmissores.

ABSTRACT

SCHERER, E.A. *Neurotransmitters related to depression and psychosis in human brain samples of patients submitted to surgery for temporal lobe epilepsy study*. 2008. 115 p. Doctoral Thesis – University of São Paulo at Ribeirão Preto Medicine University School, Ribeirão Preto, 2008.

Epilepsy is a mental functional disorder characterized by recurrent seizures that affect about 1 to 2% of world population. Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most prevalent subtype. The refractory to medication is common and about 40% of these patients have psychiatric disorders. This study used the TacMan real time PCR method to quantify noradrenergic, dopaminergic, serotonergic and substance P receptors subtypes mRNA expression in hippocampus surgically removed from patients with TLE to know their role in TLE with or without psychiatric commorbidity (depression or psychosis). Our sample consisted of 48 TLE patients without (Epilepsy - 24) or with psychotic (Psychosis - 10) or depressive (Depression - 14) commorbidity and 8 Controls (necropsies). The α 2A adrenergic receptor (AD2A) showed difference between groups ($p = 0.0059$) with significance for Antiepileptic Medication variable ($p = 0.0374$) and post-hoc test significantly greater AD2A mRNA expression of Epilepsy group compared with Control and Psychosis. The activation of hippocampus α 2A receptors by antiepileptic drugs can explain our findings of the Epilepsy group compared with Control, corroborating the literature about the AD2A in epilepsy and for antiepileptic drugs. The AD2C showed differences between groups ($p = 0.0016$) without significance in the variables of control and significantly greater AD2C mRNA expression of the Epilepsy group compared to Control and Psychosis. The AD2C is found in areas that process sensory information and control motor and emotional related activities, which may explain our results. It seems to be important in the pathology related to TLE and deserves to be studied. No differences between Epilepsy and Depression to AD2A and AD2C seem to confirm a bi-directional relation or a common pathogenic mechanism between epilepsy and depression, while the lowest AD2A and AD2C expression within psychotics seem suggests differences in adrenergic mechanisms linked to psychosis and epilepsy. D2 showed differences between groups ($p = 0.0125$) with significant results for the variable Subtype of Psychiatric Diagnosis ($p = 0.0239$), probably due to chronic disease and the number of depressive episodes presented by subjects. The higher the frequency of seizures ($p = 0.0381$) the higher was the D2 expression within Epilepsy group compared with Control and Depression compared to Control. These findings suggest the involvement of this receptor in TLE commorbid depression; corroborate that limbic dopaminergic monitoring may be useful in developing new antidepressants and propose future research on D2 in epileptics. The participation of 5-HT_{2A} in TLE is indicated, therefore its significant higher expression in the Epilepsy group in relation to Control ($p = 0.0273$). The higher the frequency of seizures the higher was the 5-HT_{2A} expression ($p = 0.0433$). We found no significant results for the D₄, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2C} and NK₁ receptors. Our results showed the possibility of TacMan real time PCR method application in TLE neurotransmission receptors study, suggested the importance of the studied receptors in TLE and psychiatric commorbidities and that other limbic structures, as the amygdala, should be investigation targets.

Keywords: reverse transcriptase polymerase chain reaction; epilepsy, temporal lobe; depression; psychotic disorders; hippocampus; receptors, neurotransmitter.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição dos sujeitos por grupos.....	55
Tabela 2 – Perfil social dos sujeitos estudados por grupo.....	56
Tabela 3 – Valores do <i>slope</i> e do <i>intercept</i> dos <i>primers</i>	61
Tabela 4 – Dados diagnósticos por grupo.....	67
Tabela 5 – Diagnóstico Patológico em relação ao de epilepsia e aos de subtipo psiquiátrico.....	68
Tabela 6 – Classe de medicamento em uso, até o dia anterior a cirurgia, por diagnóstico de epilepsia e por subtipo de diagnóstico psiquiátrico.....	68
Tabela 7 – Distribuição das diferentes substâncias antiepilépticas em uso pelos sujeitos.....	69
Tabela 8 - Descrição das variáveis de interesse.....	70
Tabela 9 - Resultados do modelo de ANOVA – AD2A.....	75
Tabela 10 - Comparações entre os grupos pelo pós-teste de Tukey – AD2A.....	76
Tabela 11 - Resultados do modelo de ANOVA – AD2C.....	76
Tabela 12 - Comparações entre os grupos pelo pós-teste de Tukey – AD2C.....	77
Tabela 13 - Resultados do modelo de ANOVA – D2.....	77
Tabela 14 - Comparações entre os grupos pelo pós-teste de Tukey – D2.....	78
Tabela 15 - Resultados do modelo de ANOVA – D4.....	78
Tabela 16 - Resultados do modelo de ANOVA – 5-HT2A.....	79
Tabela 17 - Comparações entre os grupos pelo pós-teste de Tukey – 5-HT2A.....	79
Tabela 18 - Resultados do modelo de ANOVA – 5-HT1A.....	80
Tabela 19 - Resultados do modelo de ANOVA – 5-HT2C.....	80
Tabela 20 - Resultados do modelo de ANOVA – NK1.....	80

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1 - Esquema do método TaqMan <i>real time</i> RT-PCR.....	59
Figura 2 – A: Curva-padrão para o gene 5-HT1A. B: Reta obtida pela curva-padrão para o gene 5-HT1A.....	62
Figura 3 - Gráfico de dispersão da variável AD2A.....	71
Figura 4 - Gráfico de dispersão da variável AD2C.....	71
Figura 5 - Gráfico de dispersão da variável D2.....	72
Figura 6 - Gráfico de dispersão da variável D4.....	72
Figura 7 - Gráfico de dispersão da variável 5-HT1A.....	73
Figura 8 - Gráfico de dispersão da variável 5-HT2A.....	73
Figura 9 - Gráfico de dispersão da variável 5-HT2C.....	74
Figura 10 - Gráfico de dispersão da variável NK1.....	74

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. Epilepsia.....	13
1.2. Epilepsia e comorbidade psiquiátrica.....	15
1.3. Anormalidades no hipocampo.....	24
1.4. Receptores adrenérgicos.....	26
1.5. Receptores dopaminérgicos.....	30
1.6. Receptores serotoninérgicos.....	37
1.7. Receptores de substância P.....	45
2. HIPÓTESE.....	50
3. OBJETIVOS.....	51
4. MATERIAL e MÉTODO.....	52
4.1. Sujeitos.....	52
4.2. Local.....	57
4.3. Procedimentos.....	57
4.3.1. Extração do RNA.....	57
4.3.2. Obtenção de cDNA.....	58
4.3.3. Oligonucleotídeos.....	58
4.3.4. Quantificação da expressão gênica.....	63
4.4. Análise estatística.....	64
4.5. Aspectos éticos.....	66
4.6. Recursos Financeiros.....	66
5. RESULTADOS.....	67
5.1. Análise Estatística.....	70
6. DISCUSSÃO.....	81
6.1. Receptores adrenérgicos.....	82
6.2. Receptores dopaminérgicos.....	85
6.3. Receptores serotoninérgicos.....	88
6.4. Receptores de substância P.....	89
6.5. Limites do estudo.....	91
7. CONCLUSÕES.....	94
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
9. APÊNDICES.....	113

1. INTRODUÇÃO

Apesar das grandes descobertas desde que os neurônios eram considerados “*condutos do fluxo do espírito*”, como descrito em 1664 por Croone (CROONE, 1966), as células nervosas individuais foram descritas somente em 1837 por Purkinje (1837), particularmente porque ele observou um tipo de neurônio encontrado no cerebelo dos mamíferos (“célula de Purkinje”) que é tão grande que pode ser dissecado a mão sob uma simples lupa.

Em 1888 Ramón y Cajal (RAMÓN Y CAJAL, 1995) propôs, pela primeira vez, a teoria neuronal que até agora forma o centro da neurociência. A hipótese da transmissão sináptica como transmissão química foi proposta 50 anos atrás (BROCK et al., 1952) e dos neurotransmissores há pouco mais de 40 anos por Julius Axelrod¹ (HERTTING; AXELROD, 1961). O descobrimento dos neurotransmissores foi um evento fundamental para o desenvolvimento da neurociência.

Na década de 70, entrevistado sobre a importância das suas descobertas, o Dr. Axelrod disse: “... teremos novas drogas para recuperar doenças mentais... fármacos para eliminar preconceitos, para suprimir a memória, para armazenar memória, para aumentar a inteligência e todas as viagens psicodélicas (desde que possamos controlá-las) serão boas viagens” (AXELROD, 1971). Embora estas predições parecessem desafiantes e até mesmo algo sarcásticas, o Dr. Axelrod teve a felicidade de ser testemunha do quanto o seu trabalho sobre o metabolismo e função dos neurotransmissores originaram a chamada “revolução silenciosa” na psiquiatria de anos recentes.

A descoberta da recaptação pelo terminal pré-sináptico produziu um novo modelo para a compreensão do metabolismo dos neurotransmissores. Os resultados de Axelrod

¹ O Dr. Axelrod foi premiado com o Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1970, juntamente com o sueco Ulf Svante von Euler e o britânico Sir Bernard Katz, pelas pesquisas nos mecanismos que regulam a formação do hormônio noradrenalina como um importante transmissor de impulsos nervosos.

(HERTTING; AXELROD, 1961) sugeriam que os estados mentais eram o fruto de uma complicada combinação de mecanismos fisiológicos e bioquímicos do cérebro, mais do que o resultado de fatores psicológicos ou ambientais. Estes descobrimentos conduziram à era dos fármacos desenhados para inibir ou estimular determinados neurotransmissores no Sistema Nervoso Central (SNC).

Os aspectos mais provocantes da pesquisa em neurociência apontam, no entanto, a compreensão das mais altas funções cognitivas. Entender a conexão entre células nervosas (sinapses), que tornam possíveis pensamentos e emoções é como começar a entender as bases físicas da consciência, dos processos mentais pelos quais percebemos, atuamos, aprendemos e lembramos.

Quando se consideram os logros intelectuais da humanidade nos últimos 3000 anos, é surpreendente que a neurociência, que representa o nosso maior legado como *Homo sapiens*, está entre as mais recentes das chamadas “*hard sciences*” (LLINÁS, 1999).

Ao olhar retrospectivamente para os avanços tecnológicos desde o começo do século XIX, parece que nossa compreensão atual do sistema nervoso foi alcançada em duas grandes etapas. A primeira derivada da aplicação dos conhecimentos da física, em particular os trabalhos sobre eletricidade que serviram de base para a descrição eletrofisiológica dos neurônios (estudos da condução nervosa). A segunda etapa do conhecimento começou com a fusão da eletrofisiologia com o novo campo da biologia molecular (KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; YUDOFKY; HALES, 2006).

O desafio agora é o de usar o conhecimento disponível nestas duas disciplinas na procura do intrincado processo da comunicação química transcelular. Frente a milhares de publicações com a sinapse como tema maior, o foco destas pesquisas está sendo colocado em regiões particulares da sinapse, localizáveis ultraestruturalmente e bioquímica e fisiologicamente mensuráveis.

A função cerebral depende do controle dos níveis ou da resultante interação dos receptores dos mais diversos neurotransmissores reconhecidos e que participam da regulação do processo de transmissão (comunicação) sináptica. Estes receptores têm sido investigados por seu potencial papel relacionado ao controle do desenvolvimento de plasticidade neuronal, ao estado de despertar, ao ciclo sono-vigília e nas mais variadas manifestações de distúrbios neuropsiquiátricos, como comportamentos de “procura de novidades”, transtorno do déficit de atenção e hiperatividade, ansiedade, depressão, distúrbio afetivo, esquizofrenia, distúrbio obsessivo compulsivo, dependência alcoólica, anorexia nervosa e recuperação após lesão cerebral traumática, doença de Parkinson, isquemia e epilepsia (TAKEDA et al., 1991; MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; ALBERTS et al., 1999; DE LA GARZA; MADRAS, 2000; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; LÓPEZ-FIGUEROA et al., 2004; TIMMONS et al., 2004; BOZZI; BORRELLI, 2006; HALES; YUDOFKY, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006).

1.1. Epilepsia

A epilepsia, dentre os distúrbios neurológicos, é um transtorno do funcionamento cerebral caracterizado por crises epilépticas recorrentes, na ausência de condições tóxico-metabólicas ou febris (ENGEL; PEDLEY, 1998; MCNAMARA, 1999; BROMFIELD; CAVAZOS; SIRVEN, 2006). É um distúrbio que acomete cerca de 1 a 2% da população mundial (ENGEL; PEDLEY, 1998; MCNAMARA, 1999; BROMFIELD; CAVAZOS; SIRVEN, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006). Quando a pessoa acometida mostra refratariedade aos tratamentos medicamentosos, ou seja, não responde favoravelmente a estes (não obtém controle das crises), esta passa a vivenciar dificuldades no convívio e inserção social, apresentando desde restrições em suas atividades de trabalho (por exemplo, operar

máquinas), lazer, estudo, além de problemas nos relacionamentos com família, amigos e sociedade. Ainda é uma doença estigmatizada. Há uma compreensão mística das crises epiléticas e indivíduos que acreditam ser doença contagiosa (ENGEL; PEDLEY, 1998; MCNAMARA, 1999; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; CARLOTTI, 2003; MARCHETTI; CREMONESE; CASTRO, 2004; BROMFIELD; CAVAZOS; SIRVEN, 2006; YUDOFISKY; HALES, 2006).

A despeito dos avanços científicos das últimas décadas pouco se sabe acerca dos mecanismos envolvidos na epilepsia (ENGEL; PEDLEY 1998; MCNAMARA, 1999; BROMFIELD; CAVAZOS; SIRVEN, 2006). Achados de estudos recentes têm apontado para alterações da função sináptica e propriedades intrínsecas dos neurônios como mecanismos subjacentes a hiperexcitabilidade nas diversas formas da epilepsia (ENGEL; PEDLEY 1998; MCNAMARA, 1999; BROMFIELD; CAVAZOS; SIRVEN, 2006). A epilepsia do lobo temporal (ELT) aparece como a com maior prevalência dentre os subtipos de epilepsias descritos (ENGEL, 2001; CARLOTTI, 2003).

Apesar da *otimização* cuidadosa do tratamento com medicamentos antiepiléticos, uma proporção considerável dos pacientes com epilepsia (cerca de 30%) continuam a sofrer crises epiléticas (SCHAUB; UEBACHS; BECK, 2007). Nestes casos é, muitas vezes, indicado o tratamento com o procedimento cirúrgico de lobectomia (CARLOTTI, 2003). Uma das explicações para o desenvolvimento desta farmacoresistência é a de que mudanças relacionadas à epilepsia nas propriedades dos alvos das drogas no sistema nervoso central resultam em insensibilidade destes alvos a tais medicamentos. Os resultados de Schaub, Uebachs e Beck (2007) em experimento com ratos mostrou que a sensibilidade a corrente de sódio dos antiepiléticos está reduzida na epilepsia crônica. A redução nesta sensibilidade é devida a diferentes mecanismos biofísicos para a carbamazepina e a difenilhidantoína (medicamentos antiepiléticos testados por estes autores). Estes pesquisadores sugeriram,

também, que a perda da sensibilidade destas drogas é menor nos neurônios de CA1 do que nos neurônios da camada granulosa do giro dentado da formação hipocampal. Portanto, de acordo com Schaub, Uebachs e Beck (2007), o mecanismo alvo para a resistência farmacológica na epilepsia seria o tipo celular e o medicamento antiepiléptico específico.

1.2. Epilepsia e comorbidade psiquiátrica

Desde a Antigüidade, a associação entre epilepsia e sintomas psiquiátricos vem sendo descrita. Até o desenvolvimento do eletroencefalograma (EEG), as crises epiléticas eram classificadas como transtornos mentais (YUDOFSKY; HALES, 2006). Chegou-se a acreditar que uma deterioração da personalidade era conseqüência inevitável da epilepsia. Hoje se sabe que isto não é verdade, mas, estima-se que cerca de 40 % destes pacientes apresentam transtornos psiquiátricos que requerem tratamento. Estes transtornos estariam associados com a presença de lesões cerebrais focais, principalmente de lobos temporais e frontais, e com crises parciais complexas (ALMEIDA; DRATCU; LARANJEIRA, 1996; ADACHI et al., 2002; GUARNIERI et al., 2004; MARCHETTI; CREMONESE; CASTRO, 2004; BEYENBURG; SCHMIDT, 2006; YUDOFSKY; HALES, 2006).

Manchanda et al. (1996) estudaram a ocorrência de morbidade psiquiátrica em 300 pacientes com epilepsia refratária ao tratamento. Com base nos critérios diagnósticos do DSM-III-R, 142 (47%) foram considerados como casos psiquiátricos. Diagnósticos de eixo I foram feitos em 88 pacientes (29,3%) pacientes, tendo sido mais comuns (10,7%) os distúrbios de ansiedade. O diagnóstico de transtornos psicóticos foi feito em 13 (4,3%) pessoas, sendo a maioria destes do grupo de pacientes com epilepsia temporal. Os transtornos de eixo II foram atribuídos a 54 (18%) dos sujeitos, com predomínio de traços dependentes e de evitação. Não houve significância nos resultados nas seguintes situações: quando

comparados com pessoas portadoras de distúrbios epilépticos generalizados e multifocais; entre os diferentes grupos de foco epiléptico nos pacientes com escores neuróticos; e nos dados relacionados à lateralidade do foco epiléptico e escores de neurose ou psicose. Dados da literatura mostram que cerca de 30 a 50% dos epilépticos tem alguma comorbidade psiquiátrica (TORTA; KELLER, 1999).

No entanto, apesar da evidência da associação e da maior incidência de psicopatologia e de transtornos epilépticos, a etiologia exata destas condições ainda não está clara. O transtorno do comportamento (psicótico, depressivo ou ansioso) pode ser evento pré-ictal, ictal ou pós-ictal (YUDOFISKY; HALES, 2006). Sintomas de distúrbios psiquiátricos pós-ictais são comuns entre pacientes com epilepsia parcial refratária e a severidade dos sintomas psiquiátricos e cognitivos interictais comumente piora durante o período pós-ictal (KANNER; SOTO; GROSS-KANNER, 2004). Há a sugestão de que existiriam eventos elétricos sub-ictais patológicos no cérebro, ocasionando manifestações comportamentais (YUDOFISKY; HALES, 2006). Outros sugerem que as crises epilépticas geram uma síndrome cerebral orgânica relacionada a processo difuso subjacente ou advinda de danos focais ativos (YUDOFISKY; HALES, 2006). Os medicamentos antiepilépticos foram, também, relacionados como possíveis fatores causais de psicopatologia, devido a sua toxicidade observada quando as pessoas eram supermedicadas. Com a disponibilidade do monitoramento dos níveis sanguíneos a frequência de ocorrência de confusão mental ou distúrbios de comportamentos associados aos medicamentos diminuiu (ADACHI et al., 2002; YUDOFISKY; HALES, 2006; SACHDEV, 2007).

Outra variável a ser considerada é o fato de que os estudos científicos são realizados, em sua maioria, em hospitais universitários, onde há a tendência de maior concentração de pacientes mais complicados. Além disso, a maioria dos estudos limita-se a relatos de casos.

Os de larga escala são geralmente feitos com populações que buscam atendimento psiquiátrico e não com amostras da comunidade.

Os quadros psicóticos em epiléticos não são infreqüentes, especialmente na ELT (SHERWIN et al., 1982; DEVINSKY; VAZQUEZ, 1993; ANDO et al., 2004; MARCHETTI; CREMONESE; CASTRO, 2004; GUARNIERI et al., 2005; YUDOFISKY; HALES, 2006). Os sintomas são referidos pelos próprios indivíduos como egodistônicos, ou seja, percebidos como se não fizessem parte deles, como algo que lhes contraria, perturba, parece estranho e imposto como uma doença física (YUDOFISKY; HALES, 2006). A maioria dos que apresentam tais sintomas aparentam estar com seu funcionamento mental intacto, especialmente entre dois episódios psicóticos. Portanto, é importante que o profissional fique atento quando seu cliente traz algum relato de experiências perceptivas alteradas que não satisfazem os critérios diagnósticos das classificações psiquiátricas utilizadas (SHERWIN et al., 1982; DEVINSKY; VAZQUEZ, 1993; ANDO et al., 2004; MARCHETTI; CREMONESE; CASTRO, 2004; YUDOFISKY; HALES, 2006).

Vários fatores de risco têm sido implicados na psicose tipo esquizofrenia em ELT, incluindo a duração da epilepsia, a epilepsia grave e intratável, a epilepsia de início precoce, a generalização secundária das crises epiléticas, certos antiepiléticos, a neuropatologia e a lobectomia do lobo temporal (SACHDEV, 1998; ANDO et al., 2004; SACHDEV, 2007). Em estudo retrospectivo de um grupo de pacientes tratados cirurgicamente por epilepsia de difícil controle, Sherwin et al. (1982), confirmaram que os portadores de lesões de lobo temporal esquerdo tem maior risco de desenvolver psicose. Em seus achados encontraram aumento de prevalência de pessoas sinistras no grupo de pacientes psicóticos. A epilepsia envolvendo o hemisfério dominante na origem do distúrbio epilético parece ser fator de risco significativo para a comorbidade psicótica. Os achados indicaram que é improvável o desenvolvimento de psicose nas epilepsias não temporais. Com base neste estudo, a prevalência de psicose em

ELT de difícil controle foi estimada em aproximadamente 10 a 15%, dentro da faixa de 4 a 27% encontradas em diferentes relatos disponíveis na literatura especializada (SHERWIN et al., 1982; DEVINSKY; VAZQUEZ, 1993; MARCHETTI; CREMONESE; CASTRO, 2004; YUDOFISKY; HALES, 2006). Outros dados referentes a risco de instalação de quadros psicóticos tipo esquizofrenia foram os do trabalho de Shaw et al. (2004) que encontraram no grupo de pacientes que se tornaram psicóticos mais anormalidades de EEG bilaterais no pré-operatório, outras patologias além da Esclerose Mesial Temporal (EMT) no lobo exsistado e uma amígdala menor no lado não operado. Os sintomas tiveram início no primeiro ano seguindo a cirurgia e não houve relação entre a atividade epiléptica pós-operatória e flutuações nos sintomas psicóticos que emergiram.

Na intenção de clarear a duração de episódios psicóticos pós-ictais e identificar fatores que influenciam esta duração, Adachi et al. (2007) acompanharam 58 pacientes (32 homens e 26 mulheres) epiléticos que exibiram 151 crises psicóticas em período de 12,8 anos. 46 destes tinham diagnóstico de ELT, 7 de epilepsia de lobo frontal, 2 de lobo occipital e 3 de multilobular ou de localização indeterminada. A maioria (aproximadamente 95%) dos episódios de psicose duraram menos de 1 mês. Algumas características pessoais dos sujeitos, como a história de psicose interictal, história familiar de psicose e funcionamento intelectual, tiveram associação com a duração dos episódios psicóticos. Sexo, idade de início da epilepsia, tipo de epilepsia, lateralidade, comorbidade psiquiátrica e EMT na RNM não foram significativos. A administração de medicamento antipsicótico alterou a duração das crises, contudo, outras variáveis relacionadas à psicose pós-ictal, como intervalo lúcido, número de crises epiléticas anteriores, uso de drogas antiepiléticas, frequência habitual das crises epiléticas, tipo de crise epilética e idade no momento das crises, não mostraram associação com a duração dos episódios.

O alto índice de cronificação das psicoses torna necessária a discussão quanto à necessidade de tratamento mais incisivo da mesma na epilepsia (MARCHETTI; CREMONESE; CASTRO, 2004). Este tratamento, de acordo com Guarnieri et al. (2004), deve ser realizado com cuidado devido à propensão dos antipsicóticos causarem crises epiléticas e o risco de interação farmacocinética com os medicamentos antiepiléticos, entre eles o aumento do metabolismo que estes causam nos antipsicóticos.

Na busca de anormalidades em regiões cerebrais específicas, Guarnieri et al. (2005) fizeram uma comparação, através de SPECT, do fluxo sanguíneo regional de 21 pacientes com psicose epilética e 23 controles. Encontraram uma tendência a aumento do fluxo sanguíneo regional do cíngulo posterior direito no grupo de psicóticos que pode estar em concordância, segundo os autores, com achados de anormalidades no cíngulo de outras pesquisas, sugerindo que esta função anormal nesta região pode estar associada com o fenômeno da psicose.

A categorização da psicose epilética em ictal, pós-ictal, interictal é alternativa clinicamente útil, no entanto, não implica em patofisiologia distinta para cada subcategoria (SACHDEV, 1998; DEVINSKY, 2003; GUARNIERI et al., 2005; SACHDEV, 2007). Estudos neuropatológicos sugerem a presença de disgenesia cortical ou lesão cerebral difusa em ambas, epilepsia e psicose, o que pode explicar a associação entre estas duas morbidades. Os neurotransmissores que de alguma forma participam na psicose epilética parecem ser o GABA, as catecolaminas, os opiáceos, a adenosina, o glutamato e o óxido nítrico (SACHDEV, 1998; SACHDEV, 2007).

Em quase todas as doenças crônicas, limitantes ou incapacitantes, há uma relação direta com humor depressivo. Por vezes, há a instalação de claros quadros de distúrbios depressivos que necessitam de tratamento específico. De acordo com a estimativa da Organização Mundial de Saúde, a depressão poderá ser a segunda maior doença em uma

perspectiva de custos mundiais com enfermidades, por volta do ano de 2020, perdendo apenas para as doenças isquêmicas do coração (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

Os distúrbios depressivos são comorbidades psiquiátricas frequentes em patologias neurológicas como esclerose múltipla, acidente vascular cerebral (AVC), demência, enxaqueca, doença de Parkinson e epilepsia. No referente à epilepsia, a depressão é a comorbidade psiquiátrica mais comum (KANNER; BALBANOV, 2002; KANNER, 2003a, 2003b; HARDEN; GOLDSTEIN, 2002; GREENLEE et al., 2003; GILLIAM et al., 2004; DUDRA-JASTRZEBSKA et al., 2007). Sua prevalência tem sido estimada entre 6 e 30% em estudos populacionais e até 50% entre pessoas seguidas em centros terciários de tratamento. O risco de suicídio tem sido estimado como sendo 10 vezes maior do que o da população em geral (KANNER, 2003b).

A apresentação clínica da depressão na epilepsia pode ser idêntica a dos pacientes não epiléticos, incluindo depressão maior, bipolar ou distímia. O não diagnóstico de depressão em epiléticos pode ser devido ao fato de nem sempre os sintomas depressivos clássicos estarem presentes nesta clientela (DUDRA-JASTRZEBSKA et al., 2007). Portanto, apresentações atípicas podem dificultar seu diagnóstico. Outro dado a ser considerado é o fato de haver uma lacuna de estudos científicos sobre o tratamento farmacológico da depressão em epiléticos, o que aponta para uma forma empírica de tratar estes casos. Ao contrário do temor clínico, a maioria dos antidepressivos é segura em pacientes com epilepsia (KANNER; BALBANOV, 2002). Os antidepressivos em doses terapêuticas podem apresentar risco de crises epiléticas e alguns, em especial em doses menores, podem mostrar efeitos antiepiléticos (mecanismo ainda desconhecido). Os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) podem causar um aumento na concentração plasmática das drogas antiepiléticas. Por outro lado, fenobarbital, fenitoína e carbamazepina estimulam a degradação catabólica dos tricíclicos e estes têm um efeito inibitório na eliminação dos

antiepilépticos (DUDRA-JASTRZEBSKA et al., 2007). Entre os tratamentos com antidepressivos em epilépticos estão indicados os medicamentos ISRS (como o citalopram) e drogas que agem em múltiplos receptores (como nefazodona e venlafaxina). Medicamentos com maior risco de crises epilépticas como bupropiona, clomipramina e maprotilina devem ser usados com cautela nestes casos (HARDEN; GOLDSTEIN, 2002).

A combinação de fatores psicossociais e neurológicos, ainda não totalmente compreendida, pode ser o motivo para que as pessoas que sofrem de epilepsia sejam consideradas como de maior risco para a instalação de quadros depressivos. A depressão interictal é uma condição subtratada, em parte devido ao consenso sobre as interações medicamentosas e o possível risco de exacerbação das crises epilépticas com os tratamentos antidepressivos (HARDEN; GOLDSTEIN, 2002). Apesar do distúrbio bipolar não ser descrito com frequência maior do que a esperada na população de epilépticos, a ocorrência de índices altos de depressão e suicídio nestes faz necessária uma maior consideração quanto ao tratamento deste grupo de pacientes de risco (KANNER, 2003b; HARDEN; GOLDSTEIN, 2002). Fatores neurológicos como o local do foco epiléptico e a lateralidade mostram relação com depressão (HARDEN; GOLDSTEIN, 2002). O surgimento de quadro depressivo pode ser induzido iatrogenicamente pelos tratamentos antiepilépticos medicamentosos, mas, é difícil determinar se tais sintomas são devidos ao medicamento ou a outros múltiplos fatores (MULA; SANDER, 2007). Barbitúricos, vigabatrina e topiramato mostram maior associação com a ocorrência de sintomas depressivos, chegando a 10% dos pacientes e até mais em pessoas suscetíveis (KANNER, 2003b; MULA; SANDER, 2007). Na maioria dos casos, a monoterapia com esquemas de titulações pequenas podem reduzir significativamente a incidência destes distúrbios de humor. Fenitoína, etosuximida, carbamazepina, oxcarbazepina, gabapentina, valproato de sódio, pregabalina e lamotrigina são associados com baixo risco de depressão (<1%) e muitas destas substâncias parecem ter efeito positivo no humor (MULA;

SANDER, 2007). Os anti-epilépticos podem afetar o humor e o comportamento negativamente por mecanismos diferentes como potencialização de neurotransmissão GABA, deficiência de folato, interações farmacodinâmicas com outros anti-epilépticos em politerapia e paradoxalmente pela normalização forçada na qual alguns pacientes obtém o súbito controle das crises com o tratamento medicamentoso anti-epiléptico (HARDEN; GOLDSTEIN, 2002; MULA; SANDER, 2007). Indivíduos com história pessoal ou familiar de depressão devem ser seguidos de perto após início de tratamento com um novo anti-epiléptico, especialmente se houver presença de anormalidade estrutural cerebral como esclerose hipocampal (MULA; SANDER, 2007).

História familiar de depressão é freqüente em pessoas com epilepsia (predisposição genética). Estudos de neuroimagem e neurofisiológicos mostram disfunção concomitante em lobo frontal e estruturas mesiais temporais em distúrbios depressivos, que ocorrem mais em pacientes com crises parciais pouco controladas (KANNER; BALBANOV, 2002; KANNER, 2003b). A história de distúrbios depressivos precedendo o início dos sintomas epiléticos é mais comum nestes pacientes do que no grupo controle (KANNER; BALBANOV, 2002). Um achado consistente em imagens de tomografia por emissão de pósitrons (PET) em depressões não epiléticas é o hipometabolismo no lobo frontal (KANNER; BALBANOV, 2002). Em estudo com 23 pacientes com ELT refratária aos tratamentos medicamentosos submetidos à lobectomia temporal, Salzberg et al. (2006) compararam 9 deles que tinham história pré-operatória de depressão com 14 outros sem depressão e, adicionalmente, 13 pacientes com depressão no período pós-operatório versus 10 que não a desenvolveram. Tanto os pacientes que tiveram depressão em qualquer período antes da cirurgia como os que a desenvolveram depois mostraram hipometabolismo na região orbitofrontal ipsilateral, área implicada na patofisiologia da depressão em não epiléticos. Apesar de ser estudo com limites, onde outras explicações merecem consideração, parece que a disfunção do córtex orbitofrontal pode ser

relevante para a expressão de depressão em pacientes com ELT antes e após lobectomia temporal. Estes dados sugerem ou uma relação bi-direcional entre estes distúrbios ou a presença de um mecanismo patogênico comum que facilita a ocorrência de um na presença do outro (KANNER; BALBANOV, 2002; KANNER, 2003b). Em acréscimo, dados de modelos animais mostram que a atividade diminuída de serotonina, noradrenalina, dopamina e GABA facilita o processo de excitação do foco epilético, piora a frequência e severidade das crises epiléticas, e pode ser revertida ou bloqueada por medicamentos antidepressivos (KANNER; BALBANOV, 2002).

A ressecção cirúrgica do foco epilético pode levar a melhora psiquiátrica, contudo, alguns pacientes podem ter complicações pós-operatórias do ponto de vista psiquiátrico (GREENLEE et al., 2003; KANNER, 2003b). De acordo com os achados de Wrench, Wilson e Bladin (2004), no pré-cirúrgico tanto pacientes com foco temporal como extratemporal tiveram histórias psiquiátricas semelhantes e índices altos de depressão. Depois da cirurgia o grupo com lesão temporal mostrou maior índice de depressão e desajustes psicossociais e a lateralidade mostrou tendência em aumentar o risco de desencadeamento de distúrbios depressivos. Pesquisadores têm realizado estudos para confirmar a relação da lateralidade do foco epilético antes e após a lobectomia temporal com a apresentação de diagnósticos de distúrbios depressivos. Kohler et al. (1999) encontrou, em uma amostra de 49 pacientes com ELT antes de serem submetidos a cirurgia, índices mais proeminentes de depressão nas pessoas com lesão a direita e em mulheres. A diferença de gênero, segundo o autor, parece refletir a maior incidência de quadros depressivos na população feminina, enquanto que os dados referentes à lateralidade contrastam com achados recentes em epilepsia, AVC e trauma que associam depressão com lesões hemisféricas esquerdas. Glosser et al. (2000) encontraram diagnóstico do eixo I do DSM-III-R em 65% dos indivíduos antes e após 6 meses do procedimento cirúrgico. Os diagnósticos mais comuns foram depressão, ansiedade e

distúrbios orgânicos de humor e personalidade. Houve tendência de maior índice de diagnósticos psiquiátricos nos pacientes com lesão direita em relação à lateralidade esquerda. No grupo como um todo, a severidade dos sintomas psiquiátricos foi menor 6 meses após a cirurgia do que antes da mesma. Quigg et al. (2003) em estudo com 107 epiléticos (53 com foco direito e 54 com esquerdo) concluíram que os pacientes que foram submetidos a ressecção direita e que apresentavam maior morbidade depressiva pré-cirúrgica estavam mais suscetíveis a desenvolver depressão clínica após a cirurgia.

1.3. Anormalidades no Hipocampo

O achado anátomo-patológico mais comum nos casos de ELT é a esclerose hipocampal. O hipocampo é uma estrutura cerebral localizada na porção medial do lobo temporal. Muitas vezes tem sido utilizada a expressão Esclerose Mesial Temporal (EMT) devido à freqüente perda neuronal de áreas próximas ao hipocampo, como o córtex entorinal e a amígdala (estruturas pertencentes à porção mesial do lobo temporal). (ENGEL; PEDLEY 1998; MCNAMARA, 1999; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; ENGEL, 2001; CARLOTTI, 2003; BROMFIELD; CAVAZOS; SIRVEN, 2006).

Por sua vez, Mathern et al. (2002) realizaram um estudo sobre o dano neuronal no hipocampo em 572 pacientes com ELT, comparado-os com 73 sujeitos com crises epiléticas e patologia extra-temporal, para saber se a esclerose hipocampal e a perda neuronal são causa ou conseqüência das crises epiléticas. Concluíram que a esclerose hipocampal parece ser uma patologia adquirida e que a perda neuronal, em sua maioria, ocorre com uma lesão precipitante inicial. Portanto, segundo os autores, a perda neuronal do hipocampo pode ser a conseqüência de crises epiléticas límbicas repetidas ao longo de 30 anos ou mais e pouco provavelmente seria a causa da esclerose hipocampal, a menos que também haja uma lesão

precipitante inicial. Acrescido a isto, em análise retrospectiva, De Lanerolle et al. (2003), observaram que os hipocampos de pessoas com ELT podem ser divididos em diversos grupos com base na patofisiologia, em especial relacionando a ocorrência ou não de esclerose e a região do hipocampo com perda neuronal associada. Este fato pode ser mecanismo de refratariedade da ELT e ser preditivo de sua resposta ao tratamento cirúrgico.

Uma revisão sistemática de publicações do período de 1992 a 2006 de trabalhos realizados com RNM com objetivo de melhor compreender as correlações de vulnerabilidade neurobiológica à psicose mostrou redução de volume no hipocampo. (FUSAR-POLIA et al., 2007). Em outro artigo Gur et al. (2007) analisaram os resultados de pesquisas de diferentes métodos de neuroimagem e encontraram a redução de volume do hipocampo em pacientes psicóticos. Na psicose esquizofrênica foram demonstradas associações entre dificuldades de memória e sintomas psicóticos positivos e o tamanho do hipocampo, do giro temporal superior e do lobo temporal como um todo (GUR et al., 2007).

Pacientes com depressão podem apresentar anormalidades estruturais e morfológicas no hipocampo (BANASR; DUMAN, 2007). Vollmert et al. (2004) em artigo de revisão sobre estudos com imagens funcionais realizados com pacientes deprimidos encontraram achados consistentes com alterações morfológicas no gânglio basal, córtex frontal e sistema límbico, envolvendo o hipocampo e a amígdala. Um estudo de RNM comparando 27 pacientes portadores de distúrbio depressivo maior com 42 controles normais encontrou diferenças na forma do hipocampo e não em seu volume nos sujeitos deprimidos (POSENER et al., 2003). Na pesquisa de Briellmann, Hopwood e Jackson (2007) com 34 pacientes com ELT por esclerose hipocampal os autores não encontraram relação desta lesão do hipocampo com a presença de depressão, mas, a relativa preservação da amígdala contralateral mostrou associação com esta doença.

Avanços recentes na biologia celular e molecular trazem a promessa de tratamentos mais eficazes para as diferentes formas de psicopatologia humana. Ao atingir alvos moleculares específicos dentro dos neurônios, estas abordagens possibilitam meios precisos, poderosos e efetivos de influenciar a função cerebral. Embora o cérebro adulto tenha sido considerado como refratário a regeneração e neurogênese, pesquisas recentes revelaram que o hipocampo e o bulbo olfatório continuam a gerar novos neurônios durante toda a vida do ser humano. Isto tem um significado enorme se considerarmos as perdas neuronais acompanhadas por situações de trauma, doenças degenerativas e mesmo a idade (JACOBS; VAN PRAAG; GAGE, 2000; SANTARELLI et al., 2003).

Pesquisas experimentais e clínicas (neuroimagem) têm focado o estudo da transmissão sináptica, especialmente dos receptores pré e pós-sinápticos dos neurotransmissores cerebrais. Entre os objetivos destes estudos estão o melhor entendimento da neuropatologia relacionada aos distintos receptores, sua distribuição em diferentes regiões no cérebro e a conseqüente possibilidade do desenvolvimento de medicamentos para tratar os transtornos epilépticos e psiquiátricos. Entre os neurotransmissores relacionados à epilepsia e aos distúrbios psicóticos e depressivos encontramos os adrenérgicos, os dopaminérgicos, os serotoninérgicos e os da substância P.

1.4. Receptores adrenérgicos

Os receptores adrenérgicos que medeiam ações da adrenalina e noradrenalina podem ser encontrados periféricamente e centralmente. No sistema nervoso central humano e de ratos, são encontrados no hipocampo, contudo em regiões diferentes, o que sugere cautela em extrapolar os resultados acerca destes receptores em ratos para humanos (SZOT et al., 2004; SZOT et al., 2005). O receptor adrenérgico α_2C , em camundongos, é encontrado em regiões

cerebrais envolvidas no processo de informações sensoriais e no controle de atividades motoras e emocionais relacionadas, como os núcleos acumbens, caudado e putamen, tubérculo olfatório, septo lateral, hipocampo, amígdala e os córtex frontal e somatosensório (HOLMBERG; FAGELHOLM; SCHEININ, 2003).

A noradrenalina tem sido relacionada ao controle do desenvolvimento da plasticidade, ao estado de despertar e ao ciclo sono-vigília. O funcionamento noradrenérgico alterado tem sido implicado em distúrbios como transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), depressão, ansiedade e recuperação após lesão cerebral traumática (TIMMONS et al., 2004).

A hipótese monoaminérgica, baseada no mecanismo de ação dos antidepressivos tricíclicos e dos inibidores da mono-amino-oxidase (IMAOs), postulava que a depleção de noradrenalina na fenda sináptica seria o substrato biológico da depressão (SCHILDKRAUT, 1965; KALIA, 2005; HALES; YUDOFKY, 2006). Certos componentes do sistema noradrenérgico parecem estar envolvidos com excitação e medo, enquanto outros, em conjunto com componentes mesolímbicos dopaminérgicos, com motivação e prazer. Assim, a ansiedade e a perda de prazer características da melancolia e da depressão atípica podem estar relacionadas à desregulação do sistema noradrenérgico. (SCHILDKRAUT, 1965; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; KALIA, 2005; HALES; YUDOFKY, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006).

O receptor adrenérgico $\alpha 2A$ está desregulado em distúrbio depressivo maior, onde os pacientes têm maior densidade de receptor $\alpha 2A$ que os controles normais (GURGUIS et al., 1999). Achados obtidos com uma substância ligante agonista seletiva a proteínas G em cérebros de pessoas com depressão que cometeram suicídio comparados com controles sem depressão sugerem o envolvimento dos receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos na patogênese do distúrbio de humor (GONZÁLES-MAESO et al., 2002).

Estudos com psicofármacos têm possibilitado, também, alguns achados relevantes acerca do funcionamento dos receptores de neurotransmissores cerebrais. O lento início do efeito das drogas antidepressivas parece refletir o tempo requerido para o desenvolvimento de mudanças adaptativas com a dessensibilização dos autoreceptores pré-sinápticos controlando a liberação de neurotransmissores. Pesquisa com o antidepressivo reboxetina, inibidor seletivo da recaptação de noradrenalina, por exemplo, indicou que o tratamento crônico aumenta marcadamente o efeito da reboxetina na noradrenalina extracelular no hipocampo dorsal de ratos e que este efeito pode ser secundário a dessensibilização dos α_2 -adrenoreceptores hipocámpais (PARINI et al., 2005).

O sistema adrenérgico tem papel importante na esquizofrenia. Antagonistas dos receptores adrenérgicos α_1A e α_2A têm sido relacionados a efeito antipsicótico. (BOLONNA et al., 2000). Com base em observações clínicas de pacientes psicóticos durante tratamento com drogas bloqueadoras adrenérgicas foi postulado que as atividades de dois sistemas, bloqueio beta-adrenérgico e bloqueio alfa-adrenérgico, estão balanceadas. A psicose pode acontecer quando a atividade plena de ambos está muito alta ou muito baixa, ou quando o balanceamento está afetado (BLUM; ATSMON, 1976).

O bloqueio do receptor α_1 -adrenérgico central tem sido relacionado ao efeito antipsicótico atípico do medicamento clozapina (WADENBERG et al., 2000). Wadenberg et al. (2000) estudaram o efeito do bloqueio combinado de um α_1 -adrenoceptor (prazosin) e de um receptor dopaminérgico D2 (racoplide) em ratos. Observaram, nestes, o desempenho da resposta de evitação condicionada como índice de atividade antipsicótica e a indução de catalepsia como teste de efeito colateral extrapiramidal. Foi sugerido que na presença de baixa ocupação dos receptores D2, o bloqueio α_1 -adrenérgico adicional pode aumentar a eficácia antipsicótica e, por isso, aumentar a janela terapêutica relacionada ao parkinsonismo.

A noradrenalina tem, também, participação na epilepsia. Tem sido sugerido que ela tem propriedades pró e antiepilépticas. Rutecki (1995) estudou os efeitos de agonistas e antagonistas seletivos adrenérgicos em descarga epiléptica de ocorrência espontânea, produzida por picrotoquina (um convulsivante que prejudica a inibição GABA_A-mediada) ou pela elevação do potássio extracelular, em fatias da região CA3 de hipocampus de ratos. Os resultados confirmaram que a ativação de receptores β -adrenérgicos aumenta o índice de descargas epileptiformes e a ativação de receptores α -adrenérgicos lentificou o índice de descargas epileptiformes. Em estudo da atividade epileptiforme do receptor adrenérgico no hipocampo, Jurgens et al. (2005) concluíram que, sob condições de inibição GABAérgica prejudicada, os efeitos excitatórios e inibitórios da noradrenalina na atividade epileptiforme no hipocampo são mediadas pelas vias β e α 2A, respectivamente. De acordo com seus resultados, o efeito antiepiléptico de ativação do receptor α 2A no hipocampo não depende do sistema GABAérgico.

O sistema alfa-adrenérgico está envolvido no mecanismo de ação da substância antiepiléptica difenilhidantoína. Poncelet et al. (1984) demonstraram que o prazosin, um bloqueador de receptores alfa-adrenérgicos pós-sinápticos, antagonizou a atividade antiepiléptica em 3 modelos animais de crises epilépticas. Em estudo com o prazosin em ratos (PONCELET et al., 1986) foi relatado que este agente reverte o efeito exercido pela difenilhidantoína em testes que são preditivos de atividade antidepressiva nestes animais: ptose induzida por reserpina e imobilidade que são causados por situações aversivas e inescapáveis. Os mecanismos noradrenérgicos têm explicado, também, os efeitos antiepilépticos e psicotrópicos da carbamazepina (POST et al., 1985). O déficit adrenérgico comum a epilepsia e depressão é confirmado pela eficácia dos antiepilépticos no manejo de distúrbios de humor, enquanto algumas evidências sugerem que os antidepressivos têm efeitos antiepilépticos (GIORGI et al., 2004). A estimulação dos receptores α 2A-pós-sinápticos é

responsável pelo efeito antiepiléptico, possivelmente pela supressão da liberação de neurotransmissores excitatórios em regiões como o hipocampo, córtex e amígdala (SZOT et al., 2004). Um estudo em ratos de modelo de dor inflamatória indicou que os efeitos anti-hiperalgésicos da carbamazepina e oxcarbazepina são, pelo menos em parte, mediados pela ativação de receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos (VUCKOVIC et al., 2006).

Fischer e Müller (1988) realizaram pesquisa sobre a influência de várias substâncias modulando a atividade dos sistemas neurotransmissores centrais noradrenérgicos, serotoninérgicos e dopaminérgicos na efetividade antiepiléptica de fenobarbital, feintoína e carbamazepina em camundongos com o teste de crises epilépticas induzidas por eletrochoque máximo. Os resultados mostraram que o sistema noradrenérgico pode ter um papel predominante na modulação da eficiência dos medicamentos antiepilépticos testados. A estimulação farmacológica com diferentes drogas simpatomiméticas (como metanfetamina, maprotilina, tranilcipromina, yoimbina) aumentou a atividade antiepiléptica significativamente. A supressão do sistema noradrenérgico (com, por exemplo, 6-hidroxi-dopamina, fenoxibenzamina) reduziu a atividade antiepiléptica. A manipulação do sistema serotoninérgico não foi tão pronunciada. Contudo, substâncias como a serotonina, clomipramina, citalopram, zimelidina, mostraram, também, efeitos antiepilépticos aditivos. O sistema dopaminérgico pareceu não exercer influência significativa neste sentido. Estes achados confirmaram que o sistema noradrenérgico pode ter um papel marcante, via função inibitória da noradrenalina no SNC, na supressão da atividade epiléptica e revela, também, aspectos interessantes para uma possível co-medicação em distúrbios epilépticos.

1.5. Receptores dopaminérgicos

Os receptores de dopamina foram divididos historicamente em dois subtipos principais, chamados D1 e D2 (NIZNIK; VAN TOL, 1992; MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; HALES; YUDOFKY, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). São diferentes quanto a sua ligação às proteínas G, distribuição no SNC e farmacologicamente. Atualmente, técnicas modernas de biologia molecular permitiram o reconhecimento da existência de 5 receptores de dopamina, descritos como subfamílias dos receptores do grupo D1 (D1 e D5) e do grupo D2 (D2, D3 e D4) (NIZNIK; VAN TOL, 1992; MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; HALES; YUDOFKY, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). A definição desses dois grupos está baseada na ligação com os mecanismos de transdução. Os pertencentes ao grupo D1 estimulam a enzima adenilato ciclase e aumentam o nível intracelular de AMP cíclico enquanto os do grupo D2 inibem essa enzima e diminuem o AMP cíclico intracelular (NIZNIK; VAN TOL, 1992; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007).

A síntese de dopamina é feita por neurônios do tronco cerebral que se projetam por diferentes vias (via meso-límbico-cortical - da área tegmental ventral para o núcleo acúmbens; via túbero-infundibular; e a via que se projeta da substância negra para o estriado dorsal - “sistema extrapiramidal”) (MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; HALES; YUDOFKY, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). Acerca da distribuição destes receptores, um estudo de atualização mostrou que D1 e D2 são amplamente expressos em vários sistemas neurais, D3 e D4 parecem estar concentrados no sistema límbico e D5 tem uma distribuição limitada e incomum (MEADOR-WOODRUFF, 1994). Pesquisa *post-mortem* da distribuição da família dos receptores dopaminérgicos D2 com ligantes específicos em tecido cerebral humano permitiu inferir que a distribuição de D2 é maior no putamen, caudado e núcleo accumbens,

de D3 no núcleo accumbens e de D4 em áreas corticais e hipocampo (LAHTI; ROBERTS; TAMMINGA, 1995). O uso de ligante seletivo de D4 em cérebros humanos *post-mortem* mostrou alta afinidade em algumas regiões, incluindo o hipocampo, o hipotálamo, o tálamo dorsal e medial, o córtex entorinal, o córtex préfrontal e o núcleo septal lateral (MATSUMOTO et al., 1995; PRIMUS et al., 1997; KHAN et. al., 1998; LAHTI et al., 1998; STEFANIS et al., 1998; DE LA GARZA; MADRAS, 2000).

O entendimento sobre o substrato neuroquímico e neuroanatômico de diferentes distúrbios mentais é facilitado pela distinta distribuição de cada um dos receptores de dopamina no cérebro. Isto permite, também, uma compreensão acerca dos efeitos terapêuticos e colaterais observados com os medicamentos dopaminérgicos e prôve elementos para desenvolver novas drogas com ação no sistema dopaminérgico (KEYSER, 1993). A subfamília de receptores D2 (D2, D3 e D4), por exemplo, tem expressão no sistema límbico e está associada à esquizofrenia (MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; HALES; YUDOFKY, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007).

A esquizofrenia passou a ser mais bem compreendida com a introdução dos antipsicóticos em meados da década de 50 (HALES; YUDOFKY, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). Estes medicamentos são antagonistas pós-sinápticos de dopamina, sendo que os tradicionais (típicos, “neurolépticos”) agem, principalmente, no receptor D2 (MULCRONE; KERWIN, 1996; MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; HALES; YUDOFKY, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). Este achado constituiu a base da teoria dopaminérgica da esquizofrenia, segundo a qual os sintomas positivos (delírios e alucinações) parecem decorrer de uma atividade excessiva de dopamina em receptores D2 no núcleo acúmbens, enquanto os sintomas negativos (embotamento afetivo e déficits cognitivos) seriam decorrentes de uma

redução na ativação de receptores dopaminérgicos no córtex pré-frontal (MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). Um antipsicótico ideal deveria, portanto, reduzir a atividade dopaminérgica no núcleo acúmbens, atenuando os sintomas positivos, e intensificá-la no córtex pré-frontal, atenuando os sintomas negativos (MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). No entanto, estes medicamentos ao antagonizarem a via do “sistema extrapiramidal”, acabam induzindo efeitos colaterais extrapiramidais (“síndrome Parkinsoniana” - alterações motoras como bradicinesia e acatisia) e ao antagonizarem a via dopaminérgica túbero-infundibular podem provocar hiperprolactinemia e galactorréia, dentre outras alterações endócrinas (HALES; YUDOFISKY, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007).

Um fato histórico curioso sobre as substâncias antipsicóticas é o da crença que houve entre os profissionais médicos de que a presença de efeitos colaterais extrapiramidais fosse um pré-requisito para a atividade terapêutica destes fármacos. Esta crença fez com que o primeiro antipsicótico de segunda geração ou atípico Clozapina fosse visto com ceticismo, uma vez que ele não induzia efeitos extrapiramidais (MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). O principal critério para que um antipsicótico seja considerado atípico é uma diferença significativa entre as doses necessárias para induzir efeitos antipsicóticos e efeitos extrapiramidais (HALES; YUDOFISKY, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). Outros critérios de interesse são a eficácia sobre os sintomas negativos e a propensão do composto de induzir galactorréia, ganho de peso e outras alterações metabólicas. Antipsicóticos de segunda geração tem maior bloqueio de D3 e D4 e antagonismo de 5-HT2A e 5-HT2C (inibem as atividades dopaminérgicas mesolímbica e nigroestriatal) (HALES; YUDOFISKY, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). A maior expressão do mRNA do receptor D4 inclui o córtex frontal, o mesencéfalo, a medula e a amígdala (CARLSSON et al., 2000; HALES; YUDOFISKY, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). Estudo *post-mortem* de expressão do mRNA de D4 em córtex frontal de nove controles e oito esquizofrênicos com o método de

RT-PCR, não encontrou, por outro lado, diferenças significativas na referida expressão do mRNA entre os dois grupos (MULCRONE; KERWIN, 1996).

O controle dos níveis ou da resultante interação dos receptores de dopamina é essencial para a função cerebral. A dopamina tem sido responsabilizada por produzir efeitos tanto protetores quanto tóxicos nos neurônios, embora ainda seja pouco claro se estes efeitos são receptor-dependentes e, se o são, qual receptor de dopamina pode estar envolvido (BOZZI; BORRELLI, 2006). O receptor D4 de dopamina tem sido investigado por seu potencial papel em distúrbios neuropsiquiátricos, comportamentos de “procura de novidades” e efeitos produzidos por alguns psicoestimulantes (DE LA GARZA; MADRAS, 2000). O D2 pode ser neuroprotetor em doenças como Parkinson, isquemia e epilepsia. O papel ainda não elucidado dos receptores D2 na morte e duração neuronal pode ser central para entender os mecanismos subjacentes a algumas neuropatologias (BOZZI; BORRELLI, 2006).

Os pacientes com ELT podem apresentar psicose tipo esquizofrenia. O neurotransmissor dopamina está relacionado, de alguma forma, aos quadros epiléticos e aos psicóticos. Os antagonistas da dopamina são antipsicóticos e ligeiramente epileptogênicos, enquanto os seus agonistas são psicoticogênicos e ligeiramente antiepiléticos (YUDOFISKY; HALES, 2006). Para investigar o mecanismo biológico da psicose epilética Ando et al. (2004) examinaram alterações do sistema dopaminérgico central no modelo de ELT induzida por kainato em ratos adultos. Concluíram que a hipersensibilidade do sistema dopaminérgico desenvolve-se na fase crônica do modelo de ELT induzida por kainato, o que pode ser responsável pelo mecanismo da psicose epilética.

Diferentes estudos com cobaias têm sido realizados com o objetivo de entender o papel antiepilético dos neurotransmissores monoaminérgicos. Freitas et al. (2005) investigaram as densidades de receptores muscarínicos, dopaminérgicos e serotoninérgicos em hipocampo e estriado de ratos *Wistar* depois de *status epilepticus* induzido por

pilocarpina. Seus resultados permitiram sugerir que mudanças na constante de dissociação podem ser responsáveis pelo *status epilepticus* induzido pela pilocarpina ao alterar a afinidade de neurotransmissores como a acetilcolina, a dopamina e a serotonina.

Pesquisa de Clinckers et al. (2004) buscou avaliar a atividade antiepiléptica da dopamina e da serotonina extracelulares com o acesso concomitante das possíveis interações mútuas destas monoaminas. Foram avaliados os efeitos antiepilépticos das concentrações de dopamina e serotonina aplicadas intrahipocampalmente contra crises epiléticas induzidas por pilocarpina em ratos conscientes (movendo-se livremente). Os ratos foram protegidos das crises epiléticas límbicas pela perfusão dos transmissores dopaminérgicos e serotoninérgicos enquanto suas concentrações variaram, respectivamente, entre 70-400% e 80-350% de aumento comparado com os níveis basais. A co-perfusão com bloqueadores D2 ou de 5-HT1A aboliram claramente todos os efeitos antiepilépticos. O bloqueio simultâneo de D2 e 5-HT1A ou concentrações altas (> 900% de aumento de 5-HT e > 1000% de aumento de DA) agravou significativamente as crises epiléticas induzidas pela pilocarpina. Efeitos pró-epilépticos tardios foram associados com aumentos significativos do glutamato extracelular e aumento mútuo nas monoaminas extracelulares. Os resultados sugeriram que, dentro de certo nível de concentração, dopamina e serotonina contribuem independentemente para a prevenção da epileptogênese hipocampal via, respectivamente, ativação de receptores D2 e 5-HT1A.

Com base nos achados do estudo acima, Clinckers et al. (2005a) realizaram experimento com perfusão de glutamato e monoaminas. Com a perfusão isolada de glutamato não houve crises epiléticas. Mediante a perfusão simultânea de monoaminas e glutamato antes da injeção de pilocarpina houve a produção de crises epiléticas, ou seja, o efeito antiepiléptico das monoaminas foi perdido. Por sua vez, a perfusão de glutamato após a infusão da pilocarpina não afetou o efeito de proteção antiepiléptico das monoaminas.

Portanto, o aumento isolado do glutamato extracelular não induz crises epiléticas, mas, ele pode modular o efeito antiepilético exercido pelas monoaminas (dopamina e serotonina) hipocampais.

Em outra pesquisa, Clinckers et al. (2005b) utilizaram a microdiálise como método para investigar como a oxacarbazepina e seu metabólito ativo 10,11-dihidro-10-hidroxicarbamazepina promovem a liberação de monoaminas hipocampais. As concentrações limiares de oxacarbazepina e seu metabólito ativo foram associadas com 140% e 205% de aumento na dopamina hipocampal e 288% e 176% de aumento na concentração de serotonina. A co-perfusão de antagonista dos receptores D2 e 5-HT1A aboliu todos os efeitos antiepiléticos. A conclusão foi de que a oxacarbazepina e seu metabólito ativo exercem importante efeito promotor das monoaminas e os efeitos nos níveis da serotonina e da dopamina são propostos como marcadores para a atividade antiepilética destes compostos.

Werhahn et al. (2006) quantificaram a densidade de receptores de dopamina D2 e D3 em 7 pacientes com ELT e 9 controles com PET utilizando um ligante específico para tais receptores. Observaram redução no lobo temporal epileptogênico de todos os pacientes, nas áreas ao redor da zona de início da crise epilética no pólo e lateral do lobo temporal, quando comparados com o grupo controle. Segundo os autores, isto indica que os receptores D2/D3 podem ter um papel específico na patofisiologia da EMT.

Por outro lado, dois sintomas essenciais da depressão, a anedonia e a desmotivação, têm o envolvimento dos sistemas dopaminérgicos mesocorticais e mesolímbicos (FRIEDMAN et al., 2007). A letargia e a fadiga, incluindo não somente o retardo motor, mas, a falha e a lentidão da memória, atenção e concentração são sugeridas por Nutt et al. (2006) como áreas de interesse para pesquisas relacionadas aos receptores dopaminérgicos na depressão e seu tratamento. Os achados de Friedman et al. (2007) em ratos *Flinder sensitive*

line indicaram que o monitoramento da dinâmica dopaminérgica límbica pode ser útil no desenvolvimento de futuras drogas antidepressivas.

Muitos dos antidepressivos em uso atualmente são descendentes do inibidor da monoamino oxidase iproniazida e do agente tricíclico imipramina. Ambos foram desenvolvidos para outras indicações, tendo sido sua ação como antidepressivos determinada ao acaso. A elucidação do seu mecanismo de ação nos leva a teoria monoaminérgica da depressão. Nas últimas décadas, os estudos para clarear o papel dos neurotransmissores dopamina, norepinefrina e serotonina na depressão incluiu estudos em animais, biológicos e *post-mortem* em humanos, inferências a partir das ações dos antidepressivos, pesquisas de estímulo ou redução; e, mais recentemente, estudos de imagem cerebral. Há algumas evidências do efeito antidepressivo dos agentes dopaminérgicos e evidências claras do efeito dos agentes serotoninérgicos e noradrenérgicos (NUTT, 2006).

1.6. Receptores serotoninérgicos

A serotonina tem sido relacionada a vários distúrbios psiquiátricos além da esquizofrenia, como a depressão, o distúrbio bipolar, o transtorno de ansiedade generalizada, o transtorno do pânico, a dependência de álcool, a anorexia nervosa e o transtorno obsessivo-compulsivo (CARLSSON et al., 2000; HALES; YUDOFSKY, 2006; YUDOFSKY; HALES, 2006). É um dos neurotransmissores que influencia o balanço excitatório/inibitório cortical e subcortical e participa em vários processos fisiológicos e patológicos do cérebro, incluindo a epilepsia (SULLIVAN et al., 2004; JAMALI et al., 2006). Os receptores de serotonina encontrados nos seres humanos, até o momento, incluem: 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D, 5-HT1E, 5-HT1F, 5-HT2A, 5-HT2B, 5-HT2C, 5-HT3, 5-HT4, 5-HT5, 5-HT6, e 5-HT7

(MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; YUDOFISKY; HALES, 2006).

Anormalidades específicas de receptores de serotonina nos distúrbios neurológicos e psiquiátricos têm sido intensivamente estudadas, contudo, uma falta de consenso nas pesquisas tem trazido dificuldades em estabelecer uma conclusão definitiva (MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; AGHAJANIAN; MAREK, 2000; CARLSSON et al., 2000; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; LÓPEZ-FIGUEROA et al., 2004; PUCADYIL; KALIPATNAPU; CHATTOPADHYAY, 2005; JAMALI et al., 2006). Desta forma, os receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C} são considerados como possivelmente relacionados aos quadros depressivos (MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; HALES; YUDOFISKY, 2006; YUDOFISKY; HALES, 2006). O receptor 5-HT_{1A} mostra presença diminuída em pacientes com ELT e o papel do 5-HT_{2A} na epilepsia tem sido fortemente considerado (SULLIVAN et al., 2004; JAMALI et al., 2006).

A distribuição de 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C} em cérebro humano *post-mortem* foi estudada por histoquímica de hibridização *in situ*. Neste, o 5-HT_{1A} estava presente em todas as áreas do hipocampo (células granulares do giro dentado e piramidais do corno de Ammon) e em certos núcleos da amígdala, dentre outras regiões; o 5-HT_{2A} foi observado em níveis intermediários na formação hipocampal (células piramidais de CA1 e do corno de Ammon) e com predomínio na amígdala; e o 5-HT_{2C} teve o hipocampo e o hipotálamo como os principais locais de expressão. Foi sugerido, portanto, que estes receptores podem estar envolvidos na regulação de diferentes funções do hipocampo (BURNET; EASTWOOD; HARRISON, 1995; PASQUALETTI et al., 1996; DWIVEDI; PANDEY, 1998; MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; PASQUALETTI et al., 1999; JAMALI et al., 2006).

A ativação dos receptores serotoninérgicos, encontrados em alta densidade no córtex temporal e hipocampo, exerce efeito antiepiléptico em vários modelos experimentais

(TOCZEK et al., 2003). Em geral, agentes que elevam os níveis extracelulares de serotonina, como o 5-hidroxitriptofano e os bloqueadores de recaptação da serotonina, inibem as crises epiléticas focais e generalizadas. Foi, também, demonstrado que alguns antiepiléticos aumentam a concentração de serotonina extracelular. O papel de, pelo menos, 5-HT1A, 5-HT2C, 5-HT3 e 5-HT7 na epileptogênese tem sido descrito (BAGDY et al., 2007).

O 5-HT1A é o receptor de serotonina mais extensivamente estudado, o qual mostra disponibilidade menor em pessoas com ELT comparado com sujeitos normais. Esta diferença está correlacionada ao grau de epileptogenicidade de áreas corticais exploradas por registros intracerebrais e não reflete somente mudanças patológicas ou perda neuronal no foco epilético (MERLET et al., 2004; PUCADYIL; KALIPATNAPU; CHATTOPADHYAY, 2005; JAMALI et al., 2006). Pesquisadores (TOCZEK et al., 2003; SAVIC et al., 2004; ITO et al., 2007) utilizando RNM e PET em pacientes com ELT demonstraram consistentemente que o potencial ligante do receptor 5-HT1A estava reduzido no hipocampo epileptogênico, amígdala e outras regiões como o cíngulo anterior, insular, córtex temporal lateral ipsilaterais ao foco e hipocampo, amígdala e núcleo da rafe contralaterais, comparados ao controle. Reduções no potencial ligante de 5-HT1A nas áreas insulares e cingulares sugerem um mecanismo pelo qual podem aparecer sintomas afetivos na ELT.

Giovacchini et al. (2005) utilizaram PET com um antagonista do receptor 5-HT1A corrigido para o efeito de volume parcial devido a atrofia estrutural e confirmaram as reduções significativas do potencial ligante deste receptor dos estudos anteriores. Os pesquisadores avaliaram, também, sintomas psiquiátricos baseados na Escala de Inventário de Depressão de Beck e concluíram que a redução do potencial ligante do receptor 5-HT1A no hipocampo ipsilateral pode contribuir para os sintomas depressivos. Em outros estudos sobre ligantes para visualizar o 5-HT1A no cérebro foi possível concluir que este receptor está envolvido na modulação da emoção e, portanto, implicado na patogênese de distúrbios de

ansiedade, depressão, humor, alimentar, comportamento alucinatório e esquizofrenia (ITO; HALLDIN; FARDE, 1999; PASSCHIER; WAARDE, 2001).

Estudo de Theodore et al. (2007) obteve evidências de que o potencial ligante de 5-HT_{1A} pode estar relacionado a incidência aumentada de depressão em pacientes com epilepsia. Sugere que a epilepsia e a depressão podem ter processo patofisiológico comum. Os achados sugeriram que a depressão pode contribuir na redução da neurotransmissão serotoninérgica no foco epiléptico hipocampal. Neste estudo, o lado do foco, a presença de EMT e o gênero do paciente não influenciaram os resultados significativamente.

O possível papel do receptor 5-HT_{2A} na epilepsia tem sido firmemente considerado. Este receptor pode ser um importante alvo para drogas anti-epilépticas, já que o ácido valpróico leva ao aumento de sua atividade (SULLIVAN et al., 2004). Níveis diminuídos de 5-HT_{2A} na zona epiléptica podem levar a diminuição da atividade de drogas antiepilépticas e, por isso, este receptor pode ter participação na fármacoresistência classicamente associada à ELT (JAMALI et al., 2006).

O receptor 5-HT_{2C} tem sido implicado na epilepsia. O achado recente de que um agonista dos receptores 5-HT_{2B/2C} tem efeito antiepiléptico provocou o interesse na investigação do subtipo de receptor serotoninérgico 5-HT_{2C} como possível alvo para o tratamento da epilepsia (ISAAC, 2005).

Um interessante tema de investigação é o suicídio em pacientes psiquiátricos e sua associação com disfunção serotoninérgica central. Esta é uma preocupação especial considerando que os níveis de suicídio e de tentativas de suicídio são elevados em pessoas com ELT (JONES et al., 2003; MANN, 2003; MAZZA et al., 2004). Mann (2003) reportou regulação para cima de receptores pós-sinápticos de serotonina 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A} no córtex pré-frontal de vítimas de suicídio, o que pode ser uma resposta compensatória para a baixa atividade dos neurônios serotoninérgicos. No caso do 5-HT_{2A} esta regulação para cima

envolve aumento da expressão do mRNA. No mesmo sentido, Hrdina et al. (1993) comprovaram que a densidade do receptor 5-HT₂ está significativamente aumentada no córtex pré-frontal e amígdala *post-mortem* de pacientes depressivos e suicidas comparado com controles. Com relação ao receptor 5-HT_{2C} Pandey et al. (2006) comparando a distribuição regional deste receptor em cérebros *post-mortem* de suicidas e controles sugeriram que eles estão ricamente distribuídos por todo o cérebro com níveis maiores no plexo coróide e que anormalidades na expressão protéica do receptor no córtex pré-frontal podem estar associadas ao suicídio.

Trabalhos prévios têm demonstrado como tratamentos antidepressivos podem alterar diferentemente alguns sistemas neurotransmissores em varias áreas cerebrais. Inibidores seletivos da recaptação de serotonina são as drogas antidepressivas mais frequentemente prescritas, por não terem efeitos colaterais severos e serem bem tolerados. Eles bloqueiam rapidamente a recaptação de serotonina, embora o início de sua ação terapêutica requeira semanas de tratamento, como resultado de mecanismos adaptativos pré e pós-sinápticos secundários a inibição da recaptação. O bloqueio dos receptores 5-HT_{2A} parece aumentar o efeito clínico destes antidepressivos. Seu bloqueio pode afetar a função dos circuitos pré-frontais subcorticais, um efeito que provavelmente é a base dos efeitos benéficos da adição de drogas antipsicóticas atípicas, que são antagonistas 5-HT_{2A}, aos antidepressivos no tratamento de pacientes resistentes (CELADA et al., 2004).

McMahon et al. (2006) em estudo com pacientes portadores de distúrbio depressivo maior que foram tratados com o antidepressivo citalopram, detectaram associação significativa e reproduzível entre a resposta ao tratamento e um marcador para 5-HT_{2A} que é regulado para baixo pelo citalopram. Junto com achados neurobiológicos anteriores, este dado genético acaba compelindo para um papel chave do 5-HT_{2A} no mecanismo da ação antidepressiva (MCMAHON et al., 2006). Outro estudo indica que receptores 5-HT_{2A}

aumentados pode estar associado com a patofisiologia do distúrbio bipolar. Tratamento com lítio promove aumento da densidade dos receptores 5-HT_{2A}. Não é claro se este aumento causado pelo lítio é associado com o mecanismo de ação terapêutico e se o aumento do mesmo receptor em pacientes bipolares ou esquizoafetivos ou em suicidas bipolares ou esquizoafetivos, é um traço ou um marcador fixo (PANDEY et al., 2003).

O receptor 5-HT_{2C} tem sido relacionado a diferentes distúrbios neurológicos e psiquiátricos, entre eles, epilepsia, esclerose lateral amiotrófica, enxaqueca, disfunção erétil, obesidade, ansiedade, distúrbio obsessivo-compulsivo, depressão e esquizofrenia. Tem recebido, portanto, atenção considerável como alvo para a descoberta de novos medicamentos. Outros fatores ou enzimas, além da adenosina deaminase agindo no RNA (ADAR) que devem controlar ou influenciar a pré edição de mRNA dos receptores 5-HT_{2C} e de Glutamato em neurônios nativos, variam entre indivíduos e podem ser prognóstico de doença psiquiátrica (SERGEEVA; AMBERGER; HAAS, 2007). Efeitos inibitórios significativos da estimulação do receptor 5-HT_{2C} têm sido observados nos feixes dopaminérgicos límbicos e estriatais, o que pode contribuir para os efeitos da manipulação experimental deste receptor na resposta a drogas psicoestimulantes, antipsicóticas atípicas e antidepressivas (GIORGETTI; TECOTT, 2004). Em uma revisão do WAY-163909, um novo agonista seletivo do receptor 5-HT_{2C}, foi descoberto que o mesmo apresenta forte efeito dose-dependente em modelos animais de obesidade, comportamento do tipo psicótico ou depressão (DUNLOP et al., 2006).

A edição do mRNA do receptor 5-HT_{2C} pela provável alteração da deaminase durante um estado patológico na depressão tem sido relatada, recentemente, como participante na patogênese da doença depressiva (THODA; NOMURA; NOMURA, 2006). A regulação para baixo de longo prazo dos receptores 5-HT_{2C} está associada com suas interações com algumas drogas inibidoras da recaptação de serotonina e pode levar a desinibição do sistema

dopaminérgico mesolímbico, que pode ser parcialmente responsável por sua ação antidepressiva. Contudo, evidência atual não permite definição completa das funções e propriedades do receptor 5-HT_{2C} (SERRETTI; ARTIOLI; DE TRONCHI, 2004).

Até o momento, os distúrbios psicóticos são geralmente aceitos como sendo oligogênicos, ou seja, determinados por dois ou três genes maiores (GOLIMBET et al., 2001). Alguns dos assim chamados genes com efeito pequeno podem, também, estar envolvidos com a expressão do caráter quantitativamente variável que predispõe a doença ou em sua patogênese. Receptores 5-HT_{2A}, entre estes, são considerados como os que têm o papel principal no desenvolvimento da psicose. O número de receptores 5-HT_{2A} está diminuído na região pré-frontal de cérebros *post-mortem* de pacientes esquizofrênicos (VERHOEFF et al., 2000; GOLIMBET et al., 2001). Em estudo de neuroimagem com pacientes esquizofrênicos Verhoeff et al. (2000) não encontraram, no entanto, diferenças entre pacientes com esquizofrenia e controles normais quanto ao potencial ligante de 5-HT_{2A}.

Tem sido demonstrado que os receptores 5-HT_{2A} se ligam a algumas drogas antipsicóticas que retardam o desenvolvimento de sintomas negativos em esquizofrênicos (GOLIMBET et al., 2001). O interesse pelo papel da serotonina na ação de drogas antipsicóticas é baseado principalmente no fato de que antipsicóticos como clozapina, olanzapina, quetiapina, sertindole e ziprasidona são potentes antagonistas do receptor 5-HT_{2A} e relativamente fracos antagonistas D₂ (HALES; YUDOFKY, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). Estes agentes antipsicóticos atípicos compartilham baixos efeitos colaterais extrapiramidais em doses clinicamente efetivas, possivelmente maior eficácia para reduzir sintomas negativos, um efeito superior na função cognitiva e maior habilidade para tratar sintomas de humor em pacientes com esquizofrenia ou distúrbios afetivos do que os antipsicóticos típicos. Eles variam em suas afinidades para outros receptores serotoninérgicos, bem como para dopaminérgicos, muscarínicos, adrenérgicos e histaminérgicos, alguns, ou

todos os quais podem contribuir por suas diferenças nos perfis de eficácia e efeitos colaterais (MELTZER, 1999; HALES; YUDOFKY, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007).

Os receptores 5-HT1A e 5-HT2C são outros fortes candidatos para contribuir na ação antipsicótica dos medicamentos e no perfil baixo de efeitos colaterais extrapiramidais (MELTZER et al., 2003; HALES; YUDOFKY, 2006; MOREIRA; GUIMARÃES, 2007). Os receptores 5-HT6 e 5-HT7 podem, também, ser de alguma importância (MELTZER et al., 2003). A estimulação do receptor 5-HT1A parece produzir os mesmos efeitos que o antagonismo do 5-HT2A enquanto o antagonismo do 5-HT2C parece diminuir algumas das ações do antagonismo do 5-HT2A. Os receptores 5-HT1A e 5-HT2A localizados em neurônios piramidais glutamatérgicos no córtex e hipocampo, 5-HT2A nos corpos celulares de neurônios dopaminérgicos no tegmento ventral e substância negra e interneurônios gabaérgicos no córtex e hipocampo, e 5-HT1A no núcleo da rafe são provavelmente importantes sítios de ação dos agentes antipsicóticos atípicos. Portanto, o futuro desenvolvimento de drogas antipsicóticas pode incluir múltiplos subtipos de receptores de serotonina como alvos (MELTZER, 1999; MELTZER et al., 2003).

Estudo comparou as quantidades de mRNA dos receptores 5-HT1A e 5-HT2A por hibridização histoquímica *in situ* e densidades locais ligantes (autoradiografia com radio ligantes aos receptores) em várias regiões neocorticais e hipocámpais de esquizofrênicos e sujeitos controle (BURNET; EASTWOOD; HARRISON, 1996). Nos esquizofrênicos as densidades locais ligantes do receptor 5-HT1A estavam aumentadas no córtex pré-frontal dorsolateral e no giro do cíngulo anterior, mas estes aumentos não foram acompanhados de qualquer mudança nas quantidades de mRNA deste receptor. Nenhuma diferença foi encontrada com o grupo controle no giro temporal superior, córtex estriado ou hipocampo. As densidades locais ligantes do receptor 5-HT2A estavam diminuídas no córtex pré-frontal dorsolateral, giro parahipocámpal e giro do cíngulo de esquizofrênicos, mas não no giro

temporal superior ou córtex estriado. O mRNA do receptor 5-HT2A estava reduzido no córtex pré-frontal dorsolateral, temporal superior, cíngulo anterior e estriado, mas não no giro parahipocampal nas amostras de esquizofrenia.

LÓPEZ-FIGUEROA et al. (2004) utilizando hibridização *in situ* quantificaram níveis de mRNA dos receptores 5-HT1A, 5-HT1B, e 5-HT2A no hipocampo e de 5-HT1A e 5-HT2A no córtex pré-frontal dorsolateral de sujeitos com historia de depressão maior, distúrbio bipolar, esquizofrenia e um grupo controle de comparação, sendo 15 sujeitos por grupo. Encontraram uma diminuição significativa no mRNA de 5-HT1A dos sujeitos com depressão maior e no mRNA de 5-HT2A dos sujeitos com distúrbio bipolar no córtex pré-frontal dorsolateral; um significativo decréscimo no mRNA de 5-HT1A no hipocampo dos pacientes com depressão maior; um nível aumentado de mRNA de 5-HT1B e uma diminuição significativa no mRNA de 5-HT2A na formação hipocampal dos sujeitos com distúrbio bipolar e esquizofrenia. Estas alterações nos cérebros dos sujeitos com distúrbio de humor e esquizofrenia contribuem para a hipótese da desregulação do sistema serotoninérgico nestes distúrbios psiquiátricos.

1.7. Receptores de substância P

Outro neuropeptídeo que tem recebido atenção nos estudos de ansiedade e depressão é a substância P. Trata-se de um peptídeo da família das taquiquininas. A substância P é relativamente seletiva aos receptores de neurokinina-1 (NK1), que são expressos em áreas cerebrais relacionadas ao stress, ao medo, a respostas afetivas (córtex frontal, hipotálamo, amígdala e hipocampo) e recebem inervação monoaminérgica convergente (TAKEDA et al., 1991; TAKAHASHI et al., 1992; KRAMER et al., 1998; RUPNIAK, 2002; HERPFER; LIEB, 2005; MCLEAN, 2005; HALES; YUDOFKY, 2006; YUDOFKY; HALES, 2006).

Ela facilita a atividade epiléptica das células principais no hipocampo. O tratamento com um antagonista do receptor NK1 mostrou propriedade inibidora de crises epiléticas induzidas com uma substância ácida em ratos e parece ter protegido a morte neuronal que seria esperada como consequência do uso deste ácido (ZACHRISSON; LINDEFORS; BRENE, 1998). Wasterlain et al. (2000) comprovaram que a auto-sustentação de *status epilepticus* em ratos é realçada pela substância P e seus agonistas e bloqueada pelos seus antagonistas, o que pode contribuir, segundo os autores, com a modulação da excitabilidade hipocampal durante as crises epiléticas. No entanto, de forma paradoxal, em alguns modelos animais a ativação do seu receptor expresso nos interneurônios foi referida como protetora contra crises epiléticas. Portanto, estas células parecem ter um papel importante na gênese e regulação das crises epiléticas.

Tóth et al. (2007) fizeram um estudo das características de entrada sináptica, morfológicas, número e distribuição dos interneurônios hipocampais que expressam o receptor da substância P em 28 sujeitos submetidos a cirurgia por ELT e 8 hipocampos controle. Nos hipocampos epiléticos houve alterações morfológicas destas células com aumento da arborização dendrítica, nas regiões com esclerose seu número estava diminuído e houve aumento da relação simétrica da entrada sináptica nestas células. Estes achados, de acordo com os autores, podem sugerir um funcionamento alterado e eficácia realçada do sistema da substância P no hipocampo epilético humano. Sendo assim, sugerem estes pesquisadores, a substância P pode provar ser um novo alvo para a farmacoterapia da epilepsia.

Antagonistas do receptor NK1 parecem ter utilidade no tratamento da depressão. Em estudos pré-clínicos, os antagonistas da substância P são bem tolerados e não induzem sedação ou prejuízo motor (TAKEDA et al., 1991; TAKAHASHI et al., 1992; KRAMER et al., 1998). Resultados da pesquisa de Caberlotto et al. (2003) da localização anatômica dos

receptores NK-1 mostraram haver uma forte associação destes receptores com sistemas neuronais relevantes para a regulação do humor: locus coeruleus, estriado ventral, córtex visual, hipocampo e núcleos amigdalóides. Stockmeier et al. (2002) mediram o receptor NK-1 de 23 sujeitos (12 com depressão maior e 11 controles normais) em áreas citoarquiteticamente definidas do córtex orbitofrontal. Os pacientes com depressão mostraram diminuição na ligação aos receptores NK-1 em todas as áreas estudadas.

Pesquisas em animais têm demonstrado que a substância P e seu receptor NK1 podem ser alvos para novas terapias ansiolíticas e antidepressivas. Van Der Hart et al. (2004) investigaram o efeito de um antagonista do receptor NK1 e do antidepressivo tricíclico clomipramina no paradigma de stress psicossocial crônico em um pequeno animal semelhante ao camundongo (*tree shrews*). Os resultados sugeriram que, apesar das diferenças de perfil farmacológico, o antagonista NK1 tem eficácia neurobiológica comparável ao de antidepressivos tricíclicos como a clomipramina. O sistema do receptor NK1 da substância P tem papel regulador na modulação do comportamento afetivo e seus efeitos são mediados, pelo menos em parte, via sistema serotoninérgico (SANTARELLI et al., 2002). Em animais de laboratório, segundo Blier et al. (2004), os antagonistas da NK1 atenuam a responsividade dos neurônios serotoninérgicos e noradrenérgicos aos agonistas de seus autoreceptores, como é o caso de alguns antidepressivos de uso clínico. O antagonismo de receptores NK1 de longo prazo em ratos aumenta a transmissão serotoninérgica no hipocampo, uma propriedade comum a todos os tratamentos antidepressivos testados. Camundongos que tiveram o receptor NK1 deletado de seu código genético têm, também, um aumento na mesma taxa.

Em seres humanos encontramos o trabalho de Bondy et al. (2003) que realizaram uma análise dos níveis séricos da substância P em 23 pacientes com depressão maior e 33 controles saudáveis antes (linha de base) e depois de 2 a 4 semanas de tratamento antidepressivo. Observaram que os níveis séricos de substância P estão aumentados em uma proporção dos

pacientes com depressão maior comparados ao grupo controle, o que pode, assim, indicar um subgrupo do distúrbio nos quais o neuropeptídeo tem um papel chave. Alguns pacientes deprimidos (37%) exibiram uma diminuição de 15 a 50 % da substância P depois do tratamento, achado este que pode ser correlacionado a uma melhor resposta a droga. Estudos futuros são necessários para clarificar se o decréscimo da substância P nos que responderam ao tratamento pode ser atribuído a uma classe específica de drogas. Kramer et al. (1998) em estudo placebo-controlado com pacientes com depressão moderada a severa observaram efeitos antidepressivos consistentes do antagonista MK-869 da substância P.

Em trabalho de revisão da literatura sobre o envolvimento da substância P em distúrbios mentais, especialmente esquizofrenia Takeuchi et al. (1988) concluíram que, como a via nigroestriatal é uma das principais vias da substância P no cérebro, a administração de drogas antipsicóticas diminui sua concentração na substância negra. Alguns estudos *postmortem* de esquizofrênicos, segundo estes autores, mostraram concentração elevada da substância P em algumas regiões cerebrais o que é indicador de que ela pode estar envolvida na patofisiologia da esquizofrenia. Uma pesquisa com a droga *esquizofrenicomimética phencyclidine* (PCP) que avaliou o conteúdo de substância P no cérebro de ratos com o método de enzima-imunoensaio encontrou redução da substância P na região frontal causada pelo uso de haloperidol (SHIRAYAMA et al., 2000). De acordo com estes pesquisadores a substância P pode estar envolvida em certos sintomas de resistência neuroléptica ao PCP, à psicose por PCP ou à esquizofrenia. Tooney, Crawter e Chahl (2001) utilizaram um anticorpo específico contra a NK1 e encontraram imunoreatividade aumentada no córtex pré-frontal de esquizofrênicos, o que traz implicações para a patofisiologia e tratamento deste distúrbio.

Neste trabalho estudamos a expressão do mRNA de subtipos de receptores para os neurotransmissores adrenérgicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos e de substância P em

amostras de hipocampos de pacientes com ou sem história de diagnósticos de distúrbios depressivos ou psicóticos submetidos a tratamento cirúrgico para ELT.

2. HIPÓTESE

Em pacientes com epilepsia de lobo temporal (ELT) com ou sem história de diagnóstico associado a distúrbio depressivo ou psicótico pode haver diferenças na quantificação da expressão do mRNA para subtipos de receptores dos neurotransmissores de noradrenalina, dopamina, serotonina e substância P.

3. OBJETIVOS

Quantificar o mRNA de subtipos dos receptores de noradrenalina, dopamina, serotonina e substância P em hipocampos de pacientes com ELT através de *real-time* PCR (quantitativo).

Conhecer o papel dos receptores de noradrenalina, dopamina, serotonina e substância P na ELT com ou sem comorbidade psiquiátrica de distúrbios depressivos ou psicóticos.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. Sujeitos

Um total de 48 pessoas com ELT resistentes a tratamentos farmacológicos e submetidos ao tratamento cirúrgico no Centro de Cirurgia de Epilepsia (CIREP) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP-USP) foram incluídos como sujeitos nesta pesquisa. A seleção dos pacientes foi feita mediante pesquisa do banco de dados do CIREP e consulta de seus prontuários medico-hospitalares. Todos os indivíduos inscritos no CIREP são submetidos a um protocolo de avaliação pré-cirúrgico (CARLOTTI, 2003; GUARNIERI et al., 2005) que inclui monitoramento por vídeo-eletroencefalograma (vídeo-EEG), ressonância nuclear magnética (RNM), tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT), avaliação neuropsicológica, psiquiátrica e social. A avaliação psiquiátrica de distúrbios comórbidos é baseada nos critérios do DSM-IV (“Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition”) da Associação Psiquiátrica Americana (APA).

Os pacientes foram submetidos ao procedimento cirúrgico de lobectomia anterior (padrão ou individualizada) ou de amigdalohipocampectomia seletiva, descritas a seguir (CARLOTTI, 2003). Na lobectomia padrão há diferença nos limites posteriores em relação ao lado operado, qual seja, de 5 a 6 cm da ponta do lobo temporal medido ao longo do giro temporal médio na ressecção de hemisfério não dominante, e de 4 a 4,5 cm da ponta do lobo temporal quando de hemisfério dominante. O comprometimento da visão e da fala foi evitado com o respeito dos parâmetros anatômicos. A diferença entre a lobectomia padrão e a individualizada reside no fato de que nesta a ressecção posterior do córtex e do hipocampo

devem ser baseadas em dados da atividade elétrica pré ou intracirúrgicas, enquanto que na primeira não há necessidade de monitorização intraoperatória. O procedimento de amigdalohipocampectomia seletiva, indicado quando há evidência de que a origem das descargas epileptiformes é exclusiva das estruturas mesiais temporais, é realizada através de acesso transcortical ou transventricular pelo giro temporal médio ou sulco circular na fissura silviana, respectivamente, preservando o neocórtex. O hipocampo teve sua aracnóide preservada e cerca de 3 cm de seu eixo maior foi excisado cirurgicamente. Uma amostra deste tecido foi enviada para análise anátomo-patológica. O material colhido para o presente estudo foi imediatamente retirado da porção mais posterior do hipocampo, congelado e armazenado em nitrogênio líquido a -80°C em um banco de amostras de tecido cerebral do HC-FMRP-USP (HCRP 7645/1999, aprovado em 17/08/2005, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos Gilberto Carlotti Jr) até seu uso. A autorização para utilização do material deste banco de amostras para estudos, sob forma de pesquisas científicas, consta de termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos sujeitos doadores (APÊNDICE A).

Como grupo controle utilizamos 8 hipocampos removidos durante autópsias de pacientes não epiléticos realizadas no serviço de Patologia do HC-FMRP-USP. Este material foi retirado com intervalo de tempo *post-mortem* inferior a 8 horas e imediatamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado a -80°C no Laboratório de Estrutura Sináptica do Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP até sua posterior utilização nesta pesquisa. A autorização para utilização do material destas necropsias para estudos, sob forma de pesquisas científicas, consta de termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos familiares dos sujeitos doadores (APÊNDICE B).

Estes hipocampos foram provenientes de necrópsias de pessoas sem diagnósticos ou antecedentes pessoais de epilepsia, psicose, depressão ou outros distúrbios psiquiátricos. Os

diagnósticos patológicos necropsiais de cada um destes e os medicamentos que estavam em uso por ocasião dos óbitos foram: **paciente 1** - pneumonia bilateral, em uso de antibióticos; **paciente 2** - pulmão de choque, pneumonia, em uso de antibióticos; **paciente 3** - recidiva de câncer de esôfago, broncopneumonia aspirativa, em uso de antibióticos, vasodilatador coronariano, inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA) e anti-adesivo plaquetário; **paciente 4** - edema agudo de pulmão, cardiopatia chagásica, em uso de β -bloqueador adrenérgico, IECA e diurético (hidroclorotiazida); **paciente 5** - choque cardiogênico, hipertensão arterial sistêmica, broncopneumonia, em uso de antibióticos, β -bloqueador adrenérgico e IECA; **paciente 6** - trombose de artéria mesentérica, em uso de β -bloqueador adrenérgico e IECA; **paciente 7** - broncopneumonia, em uso de antibióticos; e **paciente 8** - broncopneumonia, em uso de antibióticos. Nenhuma destas pessoas apresentava história recente ou passada de distúrbio psiquiátrico de humor e/ou psicótico. No que se refere, portanto, ao uso de medicamentos que poderiam causar interferência no nosso estudo, apenas os controles 4, 5 e 6 estavam em uso de β -bloqueadores adrenérgicos.

O total de 56 sujeitos do nosso estudo foi distribuído em quatro grupos: **Controle** (8 hipocampos de necropsias); **Epilepsia** (24 hipocampos de ressecções cirúrgicas de ELT); **Psicose** (10 hipocampos de ressecções cirúrgicas de ELT com história de psicose); e **Depressão** (14 hipocampos de ressecções cirúrgicas de ELT com história de depressão). O número de amostras por grupo e suas frequências percentuais são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos sujeitos por grupos

Grupos	n	%
Controle	8	14,3
Epilepsia	24	42,9
Psicose	10	17,9
Depressão	14	25,0
Total	56	100,0

Conforme esclarecido, o diagnóstico psiquiátrico foi feito com base nos critérios diagnósticos do DSM-IV (APA). Os sujeitos foram incluídos nestes grupos ao atenderem o critério de presença de diagnóstico de um destes distúrbios no momento em que foram submetidos ao procedimento cirúrgico para tratar sua epilepsia ou se tiveram história de episódios no decorrer da vida. Estes indivíduos foram divididos, no nosso estudo, em subcategorias que denominamos de subtipo psiquiátrico. No que se refere ao diagnóstico de psicose 5 tinham história de episódios psicóticos pós-ictais e 5 de interictais (total de 10). Dos pacientes com depressão 11 atenderam aos critérios de episódio depressivo maior (separados neste estudo em 9 com história passada e 2 com episódio atual, no momento da cirurgia) e 3 de distúrbio depressivo maior recorrente.

Na Tabela 2 mostramos o perfil social dos sujeitos estudados por grupo.

Tabela 2 – Perfil social dos sujeitos estudados por grupo

Variável \ Grupo	Controle		Epilepsia		Psicose		Depressão		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Idade (anos)										
Média		52		36		43		38		
Desvio		21		9		9		10		
Padrão										
Mínima		23		18		33		19		
Máxima		82		52		62		58		
Gênero										
Masculino	3	37,5	13	54,2	5	50,0	4	28,6	25	44,6
Feminino	5	62,5	11	45,8	5	50,0	10	71,4	31	55,4
Total	8	100,0	24	100,0	10	100,0	14	100,0	56	100,0
Cor										
Branca	6	75,0	19	79,2	10	100,0	13	92,9	48	85,7
Negra	2	25,0	5	20,8	0	0,0	1	7,1	8	14,3
Total	8	100,0	24	100,0	10	100,0	14	100,0	56	100,0
Profissão										
Inativo	1	12,5	9	37,5	4	40,0	3	21,4	17	30,4
Básico	6	75,0	10	41,7	4	40,0	7	50,0	27	48,2
Médio	0	0,0	2	8,3	1	10,0	2	14,3	5	8,9
Superior	1	12,5	1	4,2	0	0,0	1	7,1	3	5,4
Aposentado	0	0,0	2	8,3	1	10,0	1	7,1	4	7,1
Total	8	100,0	24	100,0	10	100,0	14	100,0	56	100,0
Estado Civil										
Solteiro	3	37,5	7	29,2	4	40,0	7	50,0	21	37,5
Casado	3	37,5	15	62,5	6	60,0	6	42,9	30	53,6
Separado	1	12,5	2	8,3	0	0,0	0	0,0	3	5,4
Viúvo	1	12,5	0	0,0	0	0,0	1	7,1	2	3,6
Total	8	100,0	24	100,0	10	100,0	14	100,0	56	100,0
Religião										
Sem religião	0	0,0	0	0,0	1	10,0	1	7,1	2	3,6
Católico	5	62,5	17	70,8	6	60,0	9	64,4	37	66,1
Pentecostal	3	37,5	7	29,2	1	10,0	3	21,4	14	25,0
Protestante	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	7,1	1	1,8
Espírita	0	0,0	0	0,0	2	20,0	0	0,0	2	3,6
Total	8	100,0	24	100,0	10	100,0	14	100,0	56	100,0
Escolaridade										
Analfabeto	1	12,5	0	0,0	1	10,0	0	0,0	2	3,6
Básico	5	62,5	11	45,8	6	60,0	4	28,6	26	46,4
Fundamental	1	12,5	5	20,8	0	0,0	3	21,4	9	16,1
Médio	0	0,0	6	25,1	3	30,0	4	28,6	13	23,2
Superior	1	12,5	2	8,3	0	0,0	3	21,4	6	10,7
Total	8	100,0	24	100,0	10	100,0	14	100,0	56	100,0

O presente estudo configurou-se, portanto, como retrospectivo, no qual a amostra dependeu da disponibilidade de pacientes com as condições desejadas e aliadas a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Não foi possível, também, proceder ao pareamento prévio da população estudada.

4.2. Local

Os procedimentos de extração do RNA e armazenagem do material obtido nas necrópsias foi feito no Laboratório de Estrutura Sináptica do Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

A obtenção do cDNA, testes dos oligonucleotídeos e a quantificação relativa da expressão dos mRNA foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

4.3. Procedimentos

4.3.1. Extração do RNA

As amostras congeladas de tecido hipocampal foram homogeneizadas, sem descongelamento prévio, em 1mL do reagente TRIZOL (Gibco BRL Life Technologies, USA) e processadas segundo as especificações do protocolo do fabricante. Fase de separação: foram adicionados 200µL de clorofórmio para cada 1 mL de TRIZOL utilizado; após agitação por 15 segundos, os tubos foram centrifugados a 12.000 rpm por 15 minutos à 4°C; a fase aquosa foi coletada e transferida para um novo tubo. Fase de precipitação: adicionados ao

tubo 500µL de álcool isopropílico e mantido à -20°C por 18 horas; centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos à 4°C com precipitação do “pellet” no fundo do tubo. Fase de lavagem: foi desprezado o sobrenadante e o “pellet” foi lavado com 1mL de etanol 75%; centrifugação à 7.500 rpm por 5 minutos à 4°C; desprezo do sobrenadante, secagem do “pellet” em vácuo. Fase de ressuspensão do RNA: o “pellet” foi diluído em 50µL de água tratada com DEPC. A integridade do RNA foi, então, confirmada com eletroforese em gel de agarose.

4.3.2. Obtenção de cDNA

Os cDNAs utilizados neste trabalho foram obtidos utilizando-se o kit *High Capacity*® (*Applied Biosystems*, CA, USA) seguindo-se as instruções do fabricante. A concentração inicial de RNA utilizada foi de 1 µg.

4.3.3. Oligonucleotídeos

A introdução da tecnologia de *real-time* PCR no campo do diagnóstico molecular simplificou, sem dúvida, a quantificação de ácidos nucleicos. Grandes quantidades de dados podem ser geradas dentro de curto prazo. Apesar disto, o sucesso da aplicação do *real-time* PCR depende de um entendimento claro dos problemas práticos (quantidade e qualidade do mRNA, obtenção do cDNA com método que empregue número menor de reações para evitar manuseio e risco de contaminação do material, uso de método padronizado de PCR, uso de controles internos – *housekeeping* - para normalização, a obtenção de curvas padrão com diluições seriadas para testar a eficiência do PCR, desenho do *primer* e tamanho do *amplicon*, disponibilidade de equipamento apropriado) e cuidadosos desenho experimental (tipo de estudo – diagnóstico clínico, análise de mutação, clonagem ou expressão; obtenção da

amostra; pareamento). A aplicação e a validação permanecem, assim, essenciais para a medida quantitativa acurada da transcrição obtida no procedimento e pela precisão e reprodutibilidade do *real-time* PCR (BUSTIN, 2000; 2002).

Para o nosso trabalho resolvemos optar pelo método TaqMan *real time* RT-PCR que apresenta vantagem sobre o método SYBR Green pelo fato das sondas serem desenhadas e previamente testadas pelo fabricante.

A seguir apresentamos esquema do método TaqMan *real time* RT-PCR (Figura 1).

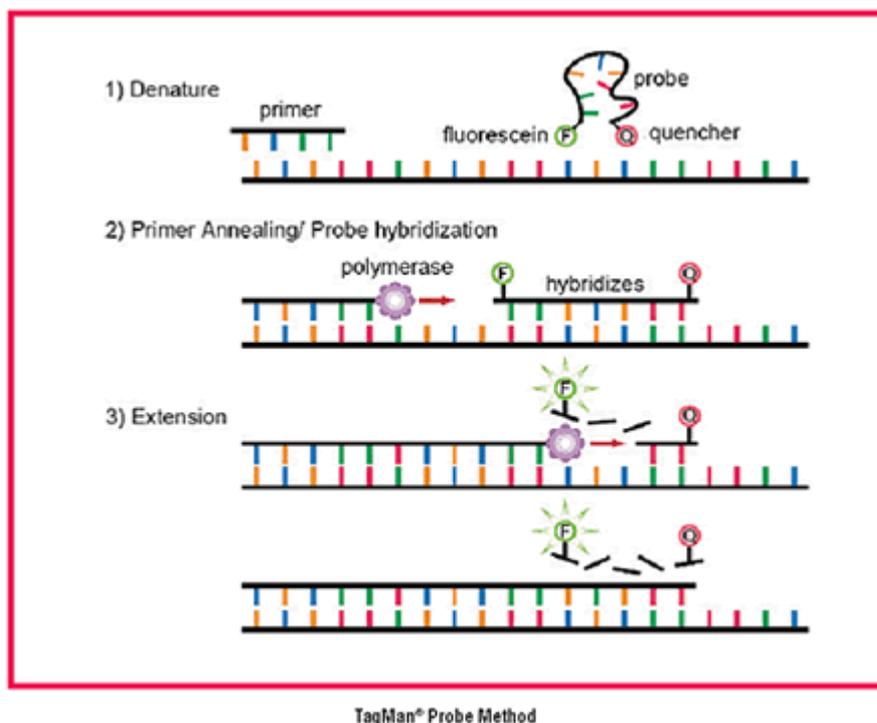


Figura 1 - Esquema do método TaqMan *real time* RT-PCR. 1) Desnaturação da fita dupla do DNA, separando-a em fitas simples. A desnaturação é necessária porque o DNA nas etapas seguintes irá aderir à membrana e irá parear com a sonda. A técnica de TaqMan envolve duas sondas repórter que hibridizam especificamente para um dos dois alelos. Uma extremidade de cada sonda está rotulada com um marcador fluorescente. Uma molécula extinga é unida a outra extremidade da sonda. 2) Durante a reação de PCR a atividade inerente a 5'-nuclease da PCR polimerase separa a sonda repórter que hibridiza perfeitamente ao DNA genômico. 3) Esta separação libera o marcador fluorescente e o separa da molécula extinga, tornando a fluorescência detectável.

Copyright 2006, TAKARA MIRUS BIO INC. (www.takarabiousa.com/html/PCR_RT-PCR_INTRO.html)

Os oligonucleotídeos utilizados neste trabalho foram obtidos da companhia *Applied Biosystems* (CA, USA), juntamente com as respectivas sondas TaqMan[®] marcadas. Para os genes alvos: receptor adrenérgico- α 2A (**AD2A** - ID Hs00265081_s1), receptor adrenérgico- α 2C (**AD2C** - ID Hs01896125_s1), receptor dopaminérgico D2 (**D2** - ID Hs00241436_m1), receptor dopaminérgico D4 (**D4** - ID Hs00609526_m1), receptor serotoninérgico 1A (**5-HT1A** - ID Hs00265014_s1), receptor serotoninérgico 2A (**5-HT2A** - ID Hs00167241_m1), receptor serotoninérgico 2C (**5-HT2C** - ID Hs00168365_m1) e receptor da substância P (neurokinina-1 – **NK1** - ID Hs00185530_m1) foi utilizada a sonda MGB com repórter FAM. O controle endógeno (*housekeeping*) utilizado foi o gene hipoxantina fosforibosiltransferase (**HPRT** - ID 4310890E), também obtido da companhia *Applied Biosystems* (CA, USA) sendo utilizado para a detecção do mesmo o repórter VIC/ TAMRA.

Um normalizador é necessário para a interpretação das medidas quantitativas de expressão dos mRNA em amostras de tecidos no sentido de corrigir dados da expressão para diferenças no consumo celular e qualidade do RNA entre as amostras. Em muitas pesquisas um controle endógeno (*housekeeping*) único é utilizado para tal. O gene hipoxantina fosforibosiltransferase (HPRT) é expresso estruturalmente em baixos níveis na maioria dos tecidos, mas, em níveis maiores no cérebro. Parece que diferentes interações de fatores ligantes de DNA com o elemento regulador têm um papel crucial nesta expressão preferencial cerebral do gene HPRT. O HPRT mostrou ser um dos melhores genes e alternativa econômica para ser utilizado como controle endógeno em diferentes estudos de comparações entre diversos controles endógenos (RINCÓN-LIMAS et al., 1995; JIRALERSPONG; PATEL, 1996; VANDESOMPELE et al., 2002; KOK et al., 2005).

Para testar a eficiência dos *primers*, foram feitas curvas padrão com pelo menos 3 diluições amplificadas com eficiência superior a 95%. As diluições seriadas forneceram uma curva de calibração com informações sobre a fluorescência total emitida *versus* o ciclo da

PCR. Por meio das curvas de calibração de cada gene em estudo, foi fornecida pelo aparelho de *real time* PCR uma curva padrão representada por uma relação linear entre ciclo da PCR a partir do qual a quantidade de fluorescência torna-se significativamente detectável (C_t) *versus* o logaritmo da quantidade de cDNA sugerida manualmente.

A partir das curvas-padrão obtidas para cada gene estudado, foram matematicamente estimados os valores do *slope* e do *intercept*. O *slope* (m) da curva padrão descreve a eficiência do PCR, e é definido pela equação $C_t = m (\log Q) + c$, onde C_t é o ciclo limiar (representando o número do ciclo da PCR no qual a fluorescência foi detectável sobre um limiar arbitrário), Q é o número da cópia inicial e c é o *intercept* no eixo y . Somente foram consideradas curvas-padrão satisfatórias para referência aquelas com *slope* entre 3,1 e 3,9. Em todos os nossos *primers* o *slope* da curva padrão ficou perto de 3,3 (Tabela 3), indicando máxima eficiência de amplificação PCR.

Tabela 3 – Valores do *slope* e do *intercept* dos *primers*

PRIMER	<i>slope</i>	<i>intercept</i>
AD2A	3,39	29,9
AD2C	3,49	26,5
D2	3,55	29,0
D4	3,67	28,1
5-HT1A	3,59	23,0
5-HT2A	3,77	24,7
5-HT2C	3,81	25,4
NK1	3,63	28,7
HPRT	3,69	24,6

A figura 2, a seguir, mostra a curva padrão construída para o gene 5-HT1A que serve como exemplo das curvas obtidas para os demais genes estudados.

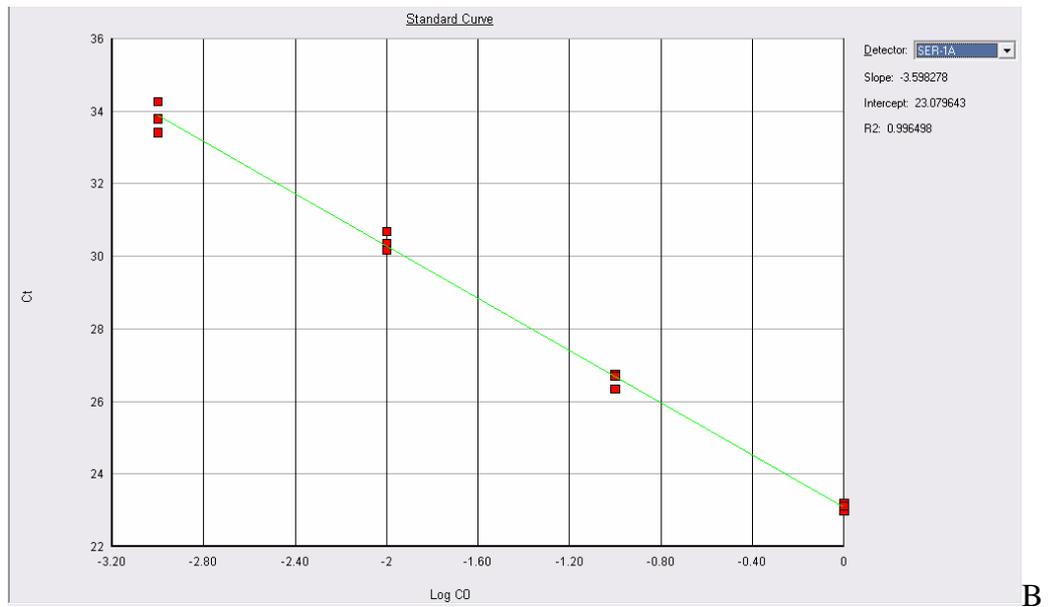
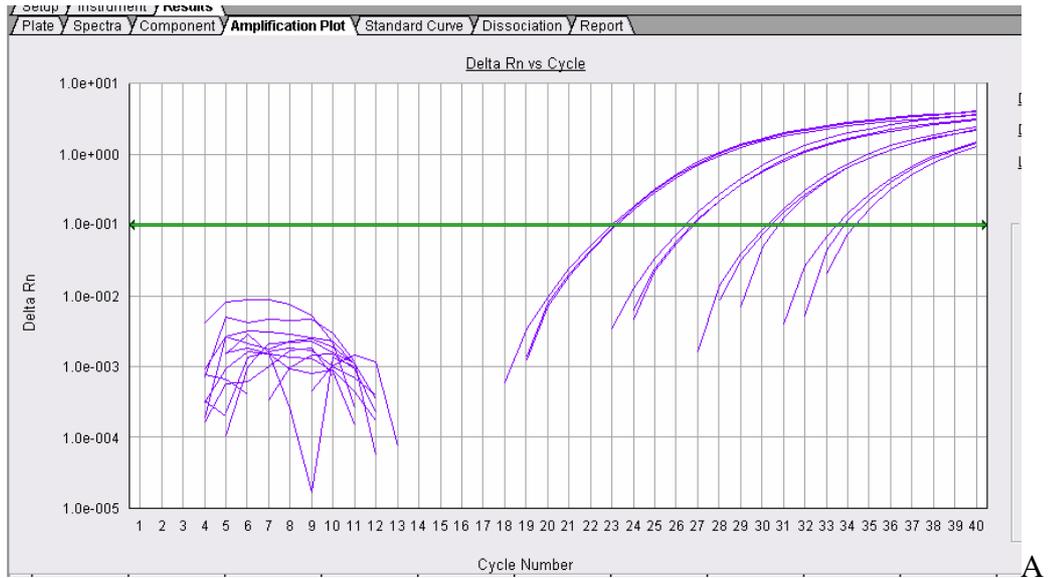


Figura 2 – A: Curva-padrão para o gene 5-HT1A. B: Retra obtida pela curva-padrão para o gene 5-HT1A. Curva e retra fornecidas pelo aparelho ABI 7500 *Real-Time PCR System* (Applied Biosystems, CA, USA).

4.3.4. Quantificação da expressão dos mRNA

A quantificação da expressão do mRNA foi realizada a partir da análise da técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real, quantitativa (RQ-PCR), em equipamento ABI PRISM™ 7500 *Sequence Detection Systems* (Applied Biosystems, CA, USA). A amplificação foi realizada de acordo com as instruções do fabricante em um volume final de 20µL de reação. A reação continha 10µL do Master Mix, 1µL de sonda e 9µL de cDNA (a partir de uma diluição de cDNA de 1:50 em água). Os parâmetros utilizados na reação de RQ-PCR foram: desnaturação inicial a 95°C por 10 minutos, seguidos por desnaturação 15 segundos a 95°C e pareamento a 60°C por 1 minuto por 40 ciclos.

O método de análise dos dados foi a quantificação relativa, calculado através de um controle endógeno (hipoxantina fosforibosiltransferase - HPRT) e um calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle). As diferenças nas quantidades de cDNA de cada reação, ou seja, o nível de expressão dos mRNA para cada amostra, foram normalizadas em relação ao nível de expressão do gene HPRT (controle endógeno). Esta normalização foi obtida através da divisão dos valores obtidos para cada gene por aquele obtido para o gene HPRT (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001; APPLIED BIOSYSTEMS, 1997; SCRIDELI et al., 2003). Para todas as amostras experimentais, a quantidade limiar e determinada da curva padrão foi dividida pela quantidade limiar do calibrador. Assim, o calibrador tornou-se a amostra “1 x” e todas as outras quantidades são expressas como uma diferença relativa de *n*-vezes do calibrador (SCRIDELI et al., 2003).

4.4. Análise estatística

Seguindo as diretrizes propostas para análises estatísticas, iniciamos pelo exame dos dados disponíveis com a análise exploratória dos mesmos. A análise exploratória de dados emprega uma variedade de técnicas gráficas e quantitativas, visando maximizar a obtenção de informações ocultas na sua estrutura, descoberta de variáveis importantes nas suas tendências e variação, detecção de comportamentos anômalos do fenômeno, teste da validade das hipóteses assumidas e escolha de modelos e determinação de número *otimizado* de variáveis. Os *softwares* atualmente disponíveis possibilitam que esta técnica constitua-se em uma ferramenta para descobrir quais tendências, relações e padrões poderiam estar ocultos em uma coleção de dados analisados. Depois deste procedimento, decidimos sobre qual técnica aplicar para equacionar o problema e procuramos a equação que melhor os representasse e interpretasse.

Assim, na análise estatística dos dados colhidos comparamos os grupos **Controle**, **Epilepsia**, **Psicose** e **Depressão** nas variáveis de interesse representadas pelos receptores adrenérgicos (**AD2A** e **AD2C**), dopaminérgicos (**D2** e **D4**), serotoninérgicos (**5-HT1A**, **5-HT2A** e **5-HT2C**) e de substância P (**NK1**). Estas foram controladas pelas seguintes variáveis de controle selecionadas a partir das informações obtidas na revisão da literatura: **Diagnóstico Patológico (ou Lateralidade)** (SHERWIN et al., 1982; KOHLER et al., 1999; GLOSSER et al., 2000; HARDEN; GOLDSTEIN, 2002; QUIGG et al., 2003; WRENCH; WILSON; BLADIN, 2004), **Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico** (SACHDEV, 1998; ADACHI et al., 2007; SACHDEV, 2007), **Droga Antiepiléptica** (ADACHI et al., 2002; HARDEN; GOLDSTEIN, 2002; KANNER, 2003b; YUDOFKY; HALES, 2006; MULA; SANDER, 2007; SACHDEV, 2007), **Frequência das Crises** (KANNER; BALBANOV, 2002; MARCHETTI; CREMONESE; CASTRO, 2004), **Tempo de epilepsia** (ANDO et al., 2004),

Diagnóstico de RNM (HARDEN; GOLDSTEIN, 2002; SHAW et al., 2004) e **Hemisfério Dominante** (SHERWIN et al., 1982).

Para atingir o objetivo proposto foi utilizado um modelo de ANOVA (nível de significância considerado se $p < 0,05$; MONTGOMERY, 2000; PAGANO; GAVREAU, 2004), dado por:

$$y_{ij} = \eta + \beta_j + \delta + \varphi + \gamma + \tau + \zeta + \pi + \mu + \varepsilon_{ij},$$

em que y_{ij} é a observação da variável resposta em questão, para o i -ésimo indivíduo, no j -ésimo grupo; η é o intercepto; β_j é o efeito do i -ésimo grupo; δ é o efeito médio do Diagnóstico Patológico (ou Lateralidade); φ é o efeito médio do Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico; γ é o efeito médio da Droga Antiepiléptica; τ é efeito médio do Tempo de Epilepsia; ζ é o efeito das Frequências das Crises; π é o efeito do Diagnóstico de RNM; μ é o efeito do Hemisfério Dominante e ε_{ij} é o erro associado com suposição de ter uma distribuição $N(0, \sigma^2)$.

Neste modelo de ANOVA o teste foi feito com atenção no resíduo, compreendido como a diferença entre o valor real e o que foi predito (ajustado) pelo modelo. Desta forma, o teste não foi feito na variável resposta e, conseqüentemente, os testes de normalidade e de homogeneidade de variância não foram necessários. Para atender os pressupostos residuais foram utilizadas transformações logarítmicas que representaram uma mudança na escala, preservando a magnitude dos dados (MONTGOMERY, 2000; PAGANO; GAVREAU, 2004).

Quando verificadas possíveis diferenças entre os grupos, o pós-teste de Tukey (nível de significância considerado se $p < 0,05$) foi aplicado. Utilizou-se o procedimento PROC

GLM do software SAS 9.0 na análise (MONTGOMERY, 2000; SAS Institute Inc., 2002; PAGANO; GAVREAU, 2004).

4.5. Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMRP-USP, em sua 216^a Reunião Ordinária realizada em 05/12/2005, e enquadrado na categoria APROVADO, de acordo com o Processo HCRP nº 15174/2005 (APÊNDICE C).

4.6. Recursos financeiros

Os recursos financeiros foram disponibilizados do projeto FAPESP do orientador desta tese, Prof. Dr. Jorge Eduardo Moreira, intitulado “Preservação da ultra-estrutura sináptica mantendo a qualidade antigênica para imunolocalização de receptores pós-sinápticos e mecanoproteínas” (FAPESP 2003/03953-7).

5. Resultados

Os dados diagnósticos por grupo são apresentados na tabela (Tabela 4) seguinte.

Tabela 4 – Dados diagnósticos por grupo

Variável	Grupo		Epilepsia		Psicose		Depressão		Total	
Tempo de Epilepsia (anos)										
Média			27		31		27			
Desvio Padrão			9		14		15			
Mínimo			9		11		5			
Máximo			44		58		52			
			n	%	n	%	n	%	n	%
Tipo de crises										
CPS			22	91,6	8	80,0	12	85,7	42	87,4
CPC			1	4,2	1	10,0	0	0,0	2	4,2
CPSim com Generalização			1	4,2	1	10,0	0	0,0	2	4,2
CPSim+CPC			0	0,0	0	0,0	2	14,3	2	4,2
Total			24	100,0	10	100,0	14	100,0	48	100,0
Frequência das Crises										
Sem crises			0	0,0	0	0,0	1	7,1	1	2,1
Diária			2	8,4	2	20,0	4	28,6	8	16,7
Semanal			11	45,8	3	30,0	4	28,6	18	37,5
Quinzenal			4	16,6	0	0,0	0	0,0	4	8,3
Mensal			6	25,0	5	50,0	5	35,7	16	33,3
> Mensal			1	4,2	0	0,0	0	0,0	1	2,1
Total			24	100,0	10	100,0	14	100,0	48	100,0
Hemisfério Dominante										
Sim			9	37,4	2	20,0	3	21,4	14	29,2
Não			6	25,0	1	10,0	4	28,6	11	22,9
Rebaixamento Cognitivo										
Difuso			7	29,2	4	40,0	3	21,4	14	29,2
Cognitivo Normal			2	8,4	3	30,0	4	28,6	9	18,8
Total			24	100,0	10	100,0	14	100,0	48	100,0
Dominância Motora										
Destro			22	91,6	9	90,0	12	85,8	43	89,6
Sinistromano			2	8,4	1	10,0	1	7,1	4	8,3
Ambidestro			0	0,0	0	0,0	1	7,1	1	2,1
Total			24	100,0	10	100,0	14	100,0	48	100,0
Diagnóstico de RNM										
EMTE			11	45,8	7	70,0	7	50,0	25	52,1
EMTD			11	45,8	3	30,0	7	50,0	21	43,7
EMTB			2	8,4	0	0,0	0	0,0	2	4,2
Total			24	100,0	10	100,0	14	100,0	48	100,0
Diagnóstico de SPECT										
Sem exame			12	50,0	4	40,0	6	42,9	22	45,8
Aumento Esquerdo			4	16,6	5	50,0	3	21,4	12	25,0
Aumento Direito			7	29,2	1	10,0	3	21,4	11	22,9
Aumento Bilateral			1	4,2	0	0,0	2	14,3	3	6,3
Total			24	100,0	10	100,0	14	100,0	48	100,0
Diagnóstico Patológico										
EHE			12	50,0	7	70,0	7	50,0	26	54,2
EHD			12	50,0	3	30,0	7	50,0	22	45,8
Total			24	100,0	10	100,0	14	100,0	48	100,0

RNM: EMTE (esclerose mesial temporal esquerda); EMTD (direita); EMTB (bilateral). Diagnóstico Patológico: EHE (esclerose hipocampal esquerda); EHD (direita). Tipo de crises: CPS (crises parciais sintomáticas); CPC (crises parciais complexas); CPSim com Generalização (crises parciais simples com generalização).

A distribuição dos diagnósticos patológicos em relação ao de epilepsia e aos de subtipo psiquiátrico foram as apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Diagnóstico Patológico em relação ao de epilepsia e aos de subtipo psiquiátrico

PATO \ PQU	Epilepsia		Psicose				Depressão					
			Pós-ictal		Interictal		Passado		Atual		Recorrente	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
EHE	12	50,0	4	40,0	3	30,0	4	28,6	1	7,1	1	7,1
EHD	12	50,0	1	10,0	2	20,0	5	35,7	1	7,1	2	14,3
Total	24	100,0	5	50,0	5	50,0	9	64,3	2	14,3	3	21,4

PATO (Diagnóstico Patológico): EHE - Esclerose Hipocampal Esquerda; EHD - Esclerose Hipocampal Direita. PQU (Subtipo psiquiátrico): psicose pós-ictal; psicose interictal; episódio depressivo maior passado; episódio depressivo maior atual; distúrbio depressivo maior recorrente.

No grupo controle não houve diferenças entre os sujeitos (intragrupais) na quantificação da expressão dos mRNA dos receptores estudados, apesar de 3 destes pacientes estarem usando medicamentos (bloqueadores adrenérgicos) por ocasião do óbito.

Os tipos de medicamentos em uso até o dia anterior a cirurgia, estão representados na tabela (Tabela 6) a seguir.

Tabela 6 – Classe de medicamento em uso, até o dia anterior a cirurgia, por diagnóstico de epilepsia e por subtipo de diagnóstico psiquiátrico

Medicamento \ Grupo	Epilepsia		Psicose				Depressão					
			Pós-ictal		Interictal		Passado		Atual		Recorrente	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Droga Antiepiléptica	24	100,0	5	100,0	4	80,0	9	100,0	2	100,0	3	100,0
Benzodiazepínico	20	83,3	5	100,0	5	100,0	5	55,5	1	50,0	3	100,0
Antipsicótico	0	0,0	1	20,0	2	40,0	0	0,0	0	0,0	1	33,3
Antidepressivo	0	0,0	0	0,0	1	20,0	0	0,0	2	100,0	0	0,0

Quando submetida ao tratamento cirúrgico a quase totalidade dos pacientes estava em uso de medicamento antiepiléptico. Apenas 1 paciente com psicose interictal associada a epilepsia não fazia tratamento com medicamento antiepiléptico. Quanto aos benzodiazepínicos, 39 dos sujeitos vinham em uso, enquanto que 4 do grupo de epilepsia, 4 com história de depressão no passado e 1 com episódio depressivo atual não estavam ingerindo esta classe de substância. Apenas 4 pacientes usavam antipsicótico: 1 com historia

de psicose pós-ictal, 2 com interictal (portanto, 3 de um total de 10 com diagnóstico de psicose) e 1 com depressão recorrente. Estavam em uso de antidepressivos 3 pacientes, sendo 1 do subgrupo com psicose interictal e dois com história de episódio depressivo atual (portanto, 2 de um total de 14 com diagnósticos de depressão).

A distribuição das diferentes substâncias antiepilépticas em uso pelos sujeitos do estudo é mostrada na tabela (Tabela 7) seguinte.

Tabela 7 – Distribuição das diferentes substâncias antiepilépticas em uso pelos sujeitos

Medicamento	Grupo		Epilepsia				Psicose				Depressão			
	n	%	Pós-ictal		Interictal		Passado		Atual		Recorrente			
Nenhum	0	0,0	0	0,0	1	20,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0		
CBZ	19	79,2	2	40,0	3	30,0	3	33,4	1	50,0	2	66,6		
DFH	4	16,6	2	40,0	1	20,0	1	11,1	0	0,0	1	33,4		
FNB	0	0,0	1	20,0	0	0	1	11,1	0	0,0	0	0,0		
CBZ e DFH	1	4,2	0	0,0	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0,0		
DFH e FNB	0	0,0	0	0,0	0	0	0	0,0	1	50,0	0	0,0		
CBZ e FNB	0	0,0	0	0,0	0	0	2	22,2	0	0,0	0	0,0		
CBZ e LAM	0	0,0	0	0,0	0	0	1	11,1	0	0,0	0	0,0		
CBZ e TOP	0	0,0	0	0,0	0	0	1	11,1	0	0,0	0	0,0		
Total	24	100,0	5	100,0	5	100,0	9	100,0	2	100,0	3	100,0		

CBZ – Carbamazepina; DFH – Difenilhidantoína; FNB – Fenobarbital; LAM – Lamotrigina; TOP – Topiramato.

A carbamazepina (CBZ) isolada ou em associação a outra droga antiepiléptica foi o medicamento mais utilizado pelos pacientes do estudo: 30 estavam em uso de CBZ em monoterapia e 5 em associações com outros antiepilépticos (2 com fenobarbital, 1 com difenilhidantoína, 1 com lamotrigina e 1 com topiramato). A difenilhidantoína (DFH), vem em seguida, com 9 esquemas de monoterapia e 2 combinadas (1 com CBZ e 1 com fenobarbital). O fenobarbital (FNB) foi tratamento isolado em dois pacientes e em associação em 3 (2 com CBZ e 1 com DFH). Os demais medicamentos antiepilépticos que 2 dos sujeitos usavam usando até a cirurgia, lamotrigina (LAM) e topiramato (TOP), estavam associados a CBZ.

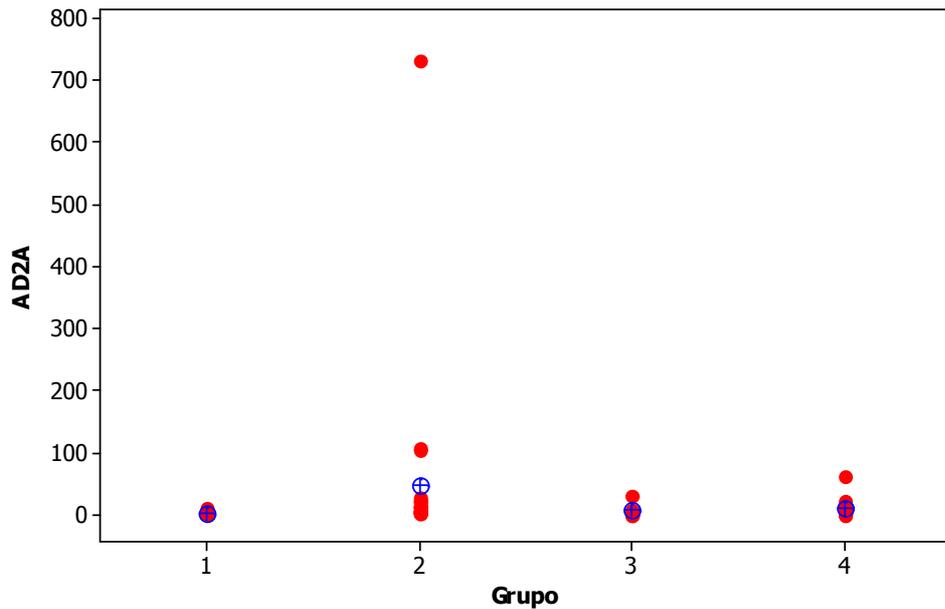
5.1. Análise Estatística

Apresentamos a seguir a análise exploratória com a descrição das variáveis de interesse na Tabela 8 e os gráficos de dispersão destas (Figuras 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10).

Tabela 8 - Descrição das variáveis de interesse

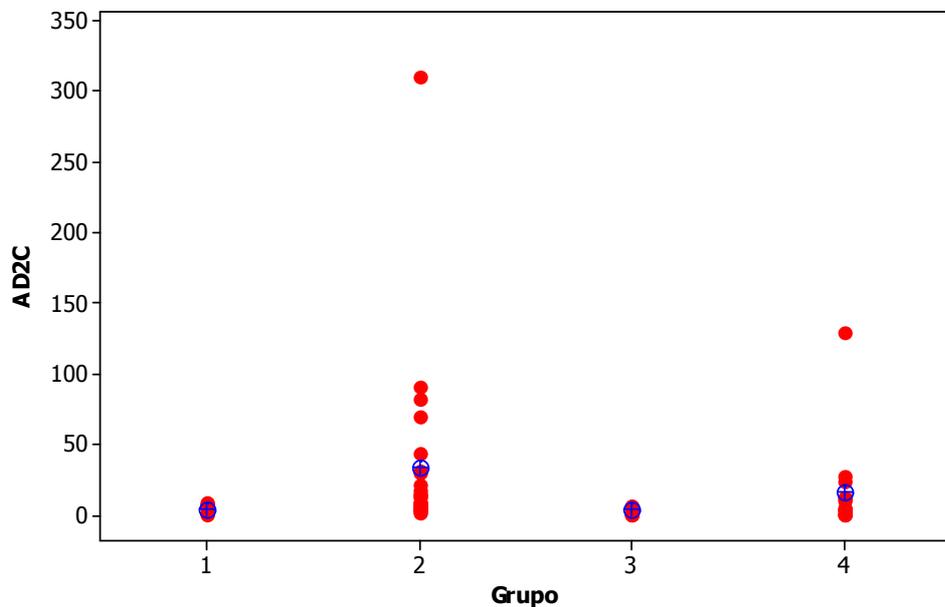
Variável ¹	Grupo ²	Média	Desvio Padrão	Coef. de Variação	1º Quartil	Mediana	3º Quartil
AD2A	1	2,29	3,00	130,86	0,85	1,16	2,49
	2	48,10	148,30	308,62	3,40	10,60	22,50
	3	6,09	8,98	147,28	0,11	4,24	6,10
	4	10,60	16,14	152,24	0,86	4,60	15,16
AD2C	1	4,24	3,62	85,21	0,99	3,30	8,00
	2	33,50	64,20	191,50	4,80	10,70	31,30
	3	3,48	2,69	77,17	0,60	4,27	5,76
	4	16,58	33,48	201,97	0,94	4,46	15,07
D2	1	1,50	0,42	28,16	1,15	1,40	1,79
	2	4,33	3,82	88,24	2,02	2,54	5,27
	3	2,70	1,37	50,84	1,73	2,20	4,19
	4	6,97	10,03	143,93	1,93	3,39	7,99
D4	1	1,16	0,84	72,95	0,36	0,91	2,10
	2	6,62	8,81	133,05	1,02	3,51	9,27
	3	5,56	11,23	202,15	0,49	1,52	5,05
	4	3,57	7,13	199,43	0,50	1,47	3,23
5-HT1A	1	1,19	0,84	70,23	0,28	1,21	1,88
	2	2,53	3,80	150,13	0,54	1,02	2,93
	3	0,69	0,74	107,58	0,22	0,37	1,01
	4	1,98	1,94	98,07	0,69	1,14	3,03
5-HT2A	1	1,66	0,38	22,65	1,42	1,67	1,96
	2	3,37	4,05	120,20	1,19	1,79	3,54
	3	1,49	1,00	66,92	0,76	1,13	2,35
	4	3,80	3,02	79,48	1,73	2,42	6,03
5-HT2C	1	2,85	2,03	71,37	0,47	3,38	4,56
	2	1,21	1,09	90,36	0,50	0,94	1,47
	3	0,90	0,68	75,49	0,42	0,63	1,40
	4	1,74	1,67	96,04	0,82	1,00	2,20
NK1	1	1,15	0,78	67,57	0,57	1,04	1,73
	2	2,15	2,27	105,87	0,64	1,13	3,23
	3	1,44	0,99	68,57	0,76	1,13	2,11
	4	3,27	3,05	93,10	1,14	1,94	4,94

1. Variável: AD2A - receptor adrenérgico- α 2A; AD2C - receptor adrenérgico- α 2C; D2 - receptor dopaminérgico; D4 - receptor dopaminérgico 4; 5-HT1A - receptor serotoninérgico 1A; 5-HT2A - receptor serotoninérgico 2A; 5-HT2C - receptor serotoninérgico 2C; NK1 - receptor da substância P (neurokinina-1). Grupo: 1 - Controle; 2 - Epilepsia; 3 - Psicose; 4 - Depressão.



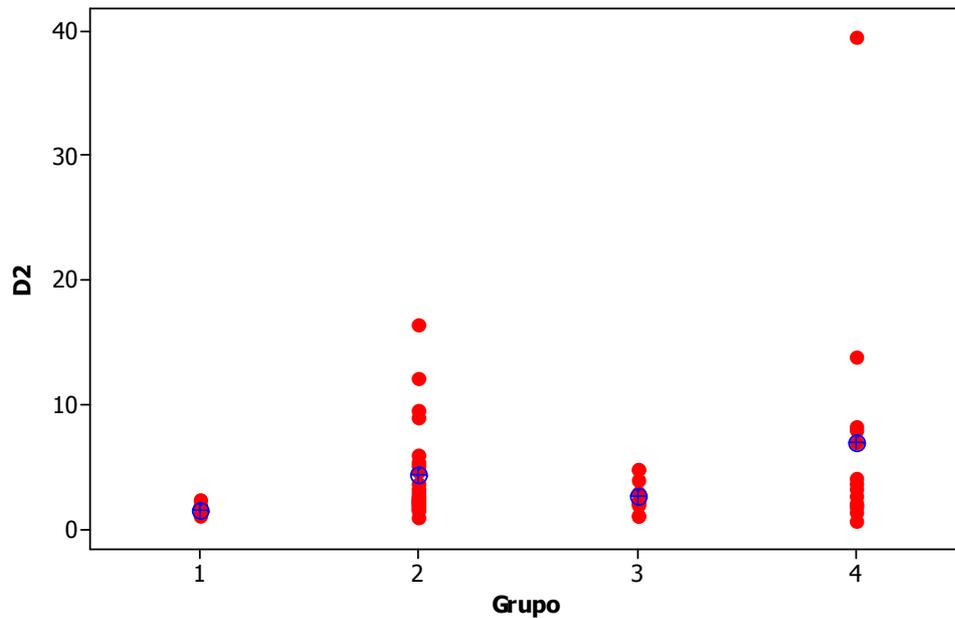
Grupo: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão. **AD2A** - receptor adrenérgico- α 2A: resultado da quantificação relativa calculada em relação ao controle endógeno (HPRT) e ao calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle), dado como uma diferença relativa de expressão do mRNA de n -vezes do calibrador para cada amostra (valor sem unidade de medida).

Figura 3 - Gráfico de dispersão da variável AD2A



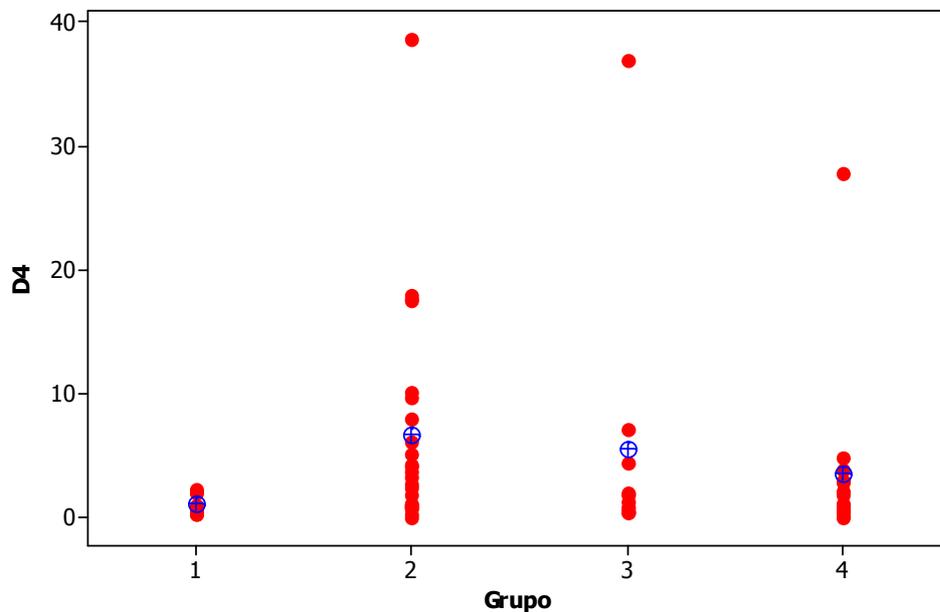
Grupo: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão. **AD2C** - receptor adrenérgico- α 2C: resultado da quantificação relativa calculada em relação ao controle endógeno (HPRT) e ao calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle), dado como uma diferença relativa de expressão do mRNA de n -vezes do calibrador para cada amostra (valor sem unidade de medida).

Figura 4 - Gráfico de dispersão da variável AD2C



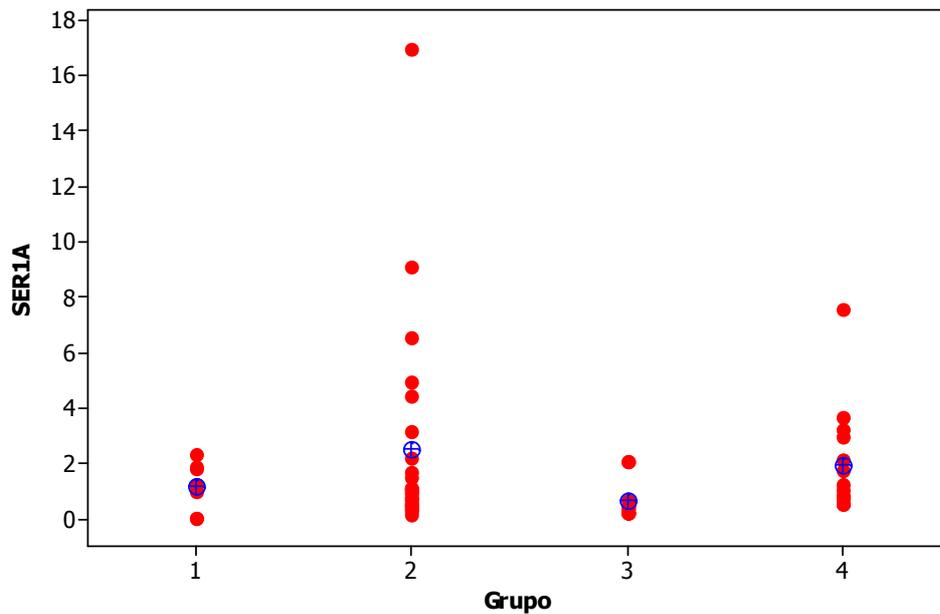
Grupo: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão. **D2** - receptor dopaminérgico D2: resultado da quantificação relativa calculada em relação ao controle endógeno (HPRT) e ao calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle), dado como uma diferença relativa de expressão do mRNA de n -vezes do calibrador para cada amostra (valor sem unidade de medida).

Figura 5 - Gráfico de dispersão da variável D2



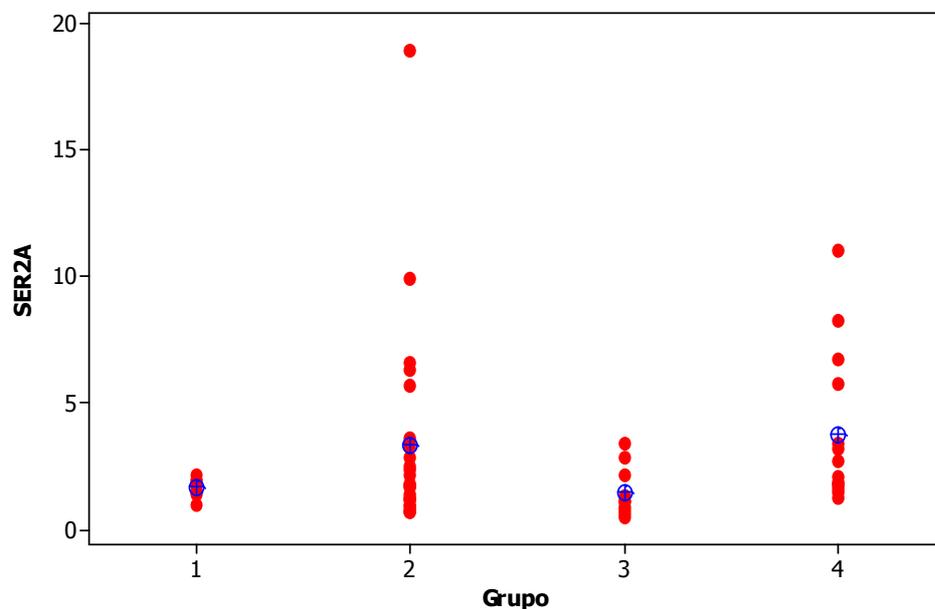
Grupo: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão. **D4** - receptor dopaminérgico D4: resultado da quantificação relativa calculada em relação ao controle endógeno (HPRT) e ao calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle), dado como uma diferença relativa de expressão do mRNA de n -vezes do calibrador para cada amostra (valor sem unidade de medida).

Figura 6 - Gráfico de dispersão da variável D4



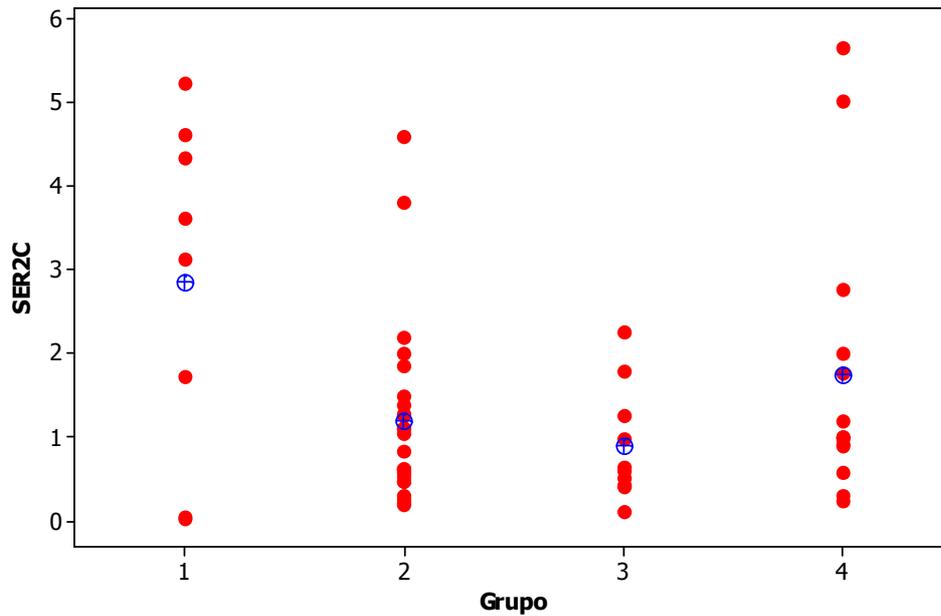
Grupo: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão. **SER1A** - receptor serotoninérgico 1A: resultado da quantificação relativa calculada em relação ao controle endógeno (HPRT) e ao calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle), dado como uma diferença relativa de expressão do mRNA de n -vezes do calibrador para cada amostra (valor sem unidade de medida).

Figura 7 - Gráfico de dispersão da variável 5-HT1A



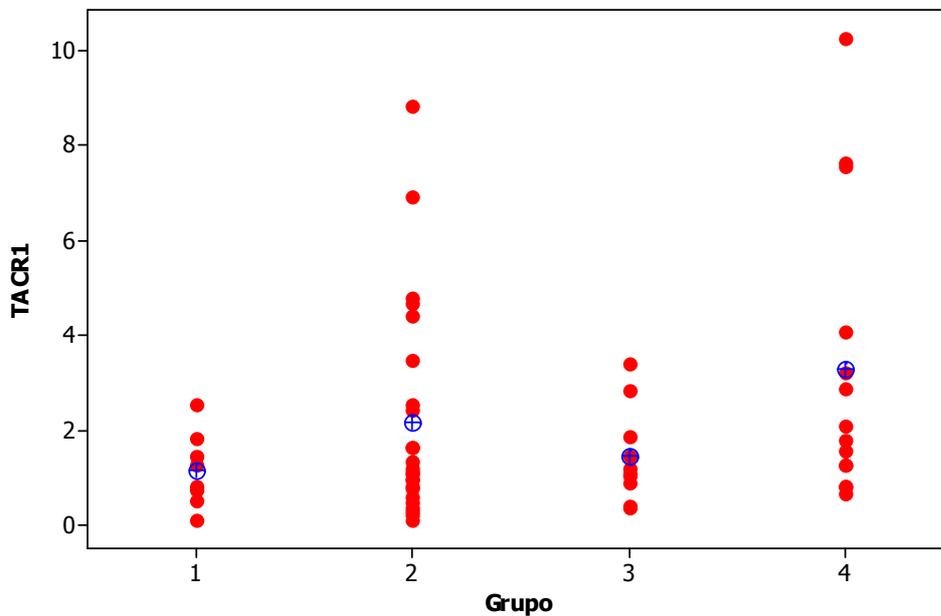
Grupo: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão. **SER2A** - receptor serotoninérgico 2A: resultado da quantificação relativa calculada em relação ao controle endógeno (HPRT) e ao calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle), dado como uma diferença relativa de expressão do mRNA de n -vezes do calibrador para cada amostra (valor sem unidade de medida).

Figura 8 - Gráfico de dispersão da variável 5-HT2A



Grupo: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão. **SER2C** - receptor serotoninérgico 2C: resultado da quantificação relativa calculada em relação ao controle endógeno (HPRT) e ao calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle), dado como uma diferença relativa de expressão do mRNA de *n*-vezes do calibrador para cada amostra (valor sem unidade de medida).

Figura 9 - Gráfico de dispersão da variável 5-HT2C



Grupo: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão. **TACR1** - receptor da substância P (neurokinina-1 – NK1): resultado da quantificação relativa calculada em relação ao controle endógeno (HPRT) e ao calibrador (hipocampo de necropsia não utilizado como controle), dado como uma diferença relativa de expressão do mRNA de *n*-vezes do calibrador para cada amostra (valor sem unidade de medida).

Figura 10 - Gráfico de dispersão da variável NK1

Como podemos perceber na Tabela 8 e nos gráficos de dispersão das variáveis de interesse (Figuras 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10), os valores da quantificação da expressão dos mRNA dos receptores que estudamos mostraram uma distribuição com *outliers*. Um *outlier* é caracterizado pela sua relação de distanciamento com as restantes observações que fazem parte da amostra e pode ser designado, também, por observação "anormal", contaminante, estranha, extrema ou aberrante. No nosso estudo estes resultados foram repetidos e, quando confirmados, mantidos por corresponderem a dados de diferentes amostras (sujeitos) quanto a expressão de mRNA dos receptores estudados. Diante desta análise inicial foi, então, proposto e aplicado o modelo de ANOVA descrito no método, seguido pelo pós-teste de Tukey nas situações em que foram verificadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os grupos. Estes resultados estão apresentados em tabelas para cada variável de interesse controlada pelas variáveis de controle.

Os achados da expressão do mRNA referentes ao receptor adrenérgico- α 2A (AD2A) submetidos ao modelo de ANOVA proposto mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0059$) com a variável de controle Droga Antiepiléptica tendo resultado significativo ($p = 0,0374$), conforme Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados do modelo de ANOVA – AD2A

Fonte de Variação	Valor de F	p-valor
Grupo	5.00	0.0059
Diagnóstico Patológico	0.10	0.7528
Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico	0.28	0.8363
Droga Antiepiléptica	2.90	0.0374
Frequência das Crises	1.42	0.2435
Tempo de epilepsia	0.00	0.9749
Diagnóstico de RNM	0.86	0.4319
Hemisfério Dominante	1.04	0.3885

Ao aplicarmos o pós-teste de Tukey para os achados da expressão do mRNA referentes ao receptor AD2A, encontramos diferença estatisticamente significativa de maior expressão do AD2A no grupo Epilepsia comparado com o grupo Controle e de maior expressão do mesmo receptor no grupo Epilepsia comparado ao grupo Psicose (Tabela 10).

Tabela 10 - Comparações entre os grupos pelo pós-teste de Tukey – AD2A

Comparações	Diferença entre médias	Intervalo de Confiança 95%		Significância
1 - 2	-1.9745	-3.7072	-0.2419	***
1 - 3	-0.1679	-2.1811	1.8452	
1 - 4	-1.0087	-2.9158	0.8984	
2 - 3	1.8066	0.2092	3.4040	***
2 - 4	0.9658	-0.4957	2.4273	
3 - 4	-0.8408	-2.6259	0.9443	

Grupos: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão.

Para os resultados da expressão do mRNA referentes ao receptor adrenérgico- α 2C (AD2C) submetidos ao modelo de ANOVA proposto houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0016$) sem resultado significativo, no entanto, para as variáveis de controle estudadas, conforme possível visualizar na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados do modelo de ANOVA – AD2C

Fonte de Variação	Valor de F	p-valor
Grupo	6.33	0.0016
Diagnóstico Patológico	0.09	0.7662
Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico	0.18	0.9076
Droga Antiepiléptica	1.05	0.3982
Frequência das Crises	1.14	0.3597
Tempo de epilepsia	0.26	0.6129
Diagnóstico de RNM	1.16	0.3252
Hemisfério Dominante	2.39	0.0860

O pós-teste de Tukey para os resultados da expressão do mRNA referentes ao receptor AD2C mostrou diferença estatisticamente significativa na maior expressão do mRNA do grupo Epilepsia em comparação com o grupo Controle e com o grupo Psicose (Tabela 12).

Tabela 12 - Comparações entre os grupos pelo pós-teste de Tukey – AD2C

Comparações	Diferença entre médias	Intervalo de Confiança 95%		Significância
1 - 2	-1.8653	-3.1951	-0.5356	***
1 - 3	-0.2498	-1.9256	1.4259	
1 - 4	-0.9021	-2.3649	0.5606	
2 - 3	1.6155	0.1732	3.0578	***
2 - 4	0.9632	-0.2248	2.1513	
3 - 4	-0.6523	-2.2180	0.9135	

Grupos: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão.

A análise de ANOVA, segundo o modelo utilizado neste estudo, dos dados da expressão do mRNA referentes ao receptor dopaminérgico D2 evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0125$) com resultado significativo para as variáveis de controle Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico ($p = 0,0239$) e Frequência das Crises ($p = 0,0381$) (Tabela 13).

Tabela 13 - Resultados do modelo de ANOVA – D2

Fonte de Variação	Valor de F	p-valor
Grupo	4.22	0.0125
Diagnóstico Patológico	0.48	0.4915
Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico	3.58	0.0239
Droga Antiepiléptica	0.79	0.5398
Frequência das Crises	2.69	0.0381
Tempo de epilepsia	1.59	0.2166
Diagnóstico de RNM	0.43	0.6555
Hemisfério Dominante	0.26	0.8565

No pós-teste de Tukey referente ao receptor D2 encontramos diferença estatisticamente significativa entre a maior expressão do grupo de pacientes com Epilepsia

comparado com o grupo Controle e a maior expressão do grupo de pacientes com Depressão comparado com o grupo Controle (Tabela 14).

Tabela 14 - Comparações entre os grupos pelo pós-teste de Tukey – D2

Comparações	Diferença entre médias	Intervalo de Confiança 95%		Significância
1 - 2	-0.9879	-1.7988	-0.1770	***
1 - 3	-0.4956	-1.3635	0.3723	
1 - 4	-0.8124	-1.5594	-0.0654	***
2 - 3	0.4923	-0.2653	1.2499	
2 - 4	0.1755	-0.4398	0.7908	
3 - 4	-0.3168	-1.0055	0.3718	

Grupos: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão.

Na análise pelo modelo de ANOVA proposto dos achados da expressão do mRNA referentes ao receptor dopaminérgico D4 não houve evidência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0501$) (Tabela 15). Neste caso, o pós-teste de Tukey não foi aplicado.

Tabela 15 - Resultados do modelo de ANOVA – D4

Fonte de Variação	Valor de F	p-valor
Grupo	2.91	0.0501
Diagnóstico Patológico	0.04	0.8353
Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico	0.38	0.7660
Droga Antiepiléptica	1.62	0.1951
Frequência das Crises	1.39	0.2536
Tempo de epilepsia	0.18	0.6726
Diagnóstico de RNM	1.33	0.2785
Hemisfério Dominante	0.79	0.5101

A análise pelo modelo de ANOVA proposto dos achados da expressão do mRNA referentes ao receptor serotoninérgico 2A (5-HT_{2A}) mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0273$) com a variável de controle Frequência das Crises tendo resultado significativo ($p = 0,0433$), conforme Tabela 16.

Tabela 16 - Resultados do modelo de ANOVA – 5-HT2A

Fonte de Variação	Valor de F	p-valor
Grupo	3.46	0.0273
Diagnóstico Patológico	0.01	0.9310
Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico	0.53	0.6668
Droga Antiepiléptica	0.89	0.4831
Frequência das Crises	2.60	0.0433
Tempo de epilepsia	0.08	0.7789
Diagnóstico de RNM	0.35	0.7053
Hemisfério Dominante	1.53	0.2243

Ao aplicarmos o pós-teste de Tukey para os achados da expressão do mRNA referentes ao receptor 5-HT2A, encontramos diferença estatisticamente significativa entre a maior expressão no grupo de pacientes com Epilepsia comparado com o grupo Controle (Tabela 17).

Tabela 17 - Comparações entre os grupos pelo pós-teste de Tukey – 5-HT2A

Comparações	Diferença entre médias	Intervalo de Confiança 95%		Significância
1 - 2	-0.8757	-1.6579	-0.0935	***
1 - 3	-0.2684	-1.1645	0.6278	
1 - 4	-0.5811	-1.2922	0.1299	
2 - 3	0.6073	-0.2300	1.4446	
2 - 4	0.2946	-0.3408	0.9299	
3 - 4	-0.3128	-1.0840	0.4585	

Grupos: 1 – Controle; 2 – Epilepsia; 3 – Psicose; 4 – Depressão.

Os achados da expressão do mRNA referentes aos receptores serotoninérgicos 1A e 2C (5-HT1A e 5-HT2C) e de substância P (NK1) submetidos a análise pelo modelo de ANOVA proposto não mostraram evidência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0980$; $p = 0.7142$; e $p = 0.1664$; respectivamente), conforme apresentado nas Tabela 18, 19, 20. Para estas variáveis o pós-teste de Tukey não foi aplicado.

Tabela 18 - Resultados do modelo de ANOVA – 5-HT1A

Fonte de Variação	Valor de F	p-valor
Grupo	2.28	0.0980
Diagnóstico Patológico	0.17	0.6853
Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico	0.41	0.7462
Droga Antiepiléptica	0.73	0.5806
Frequência das Crises	0.57	0.7248
Tempo de epilepsia	0.01	0.9280
Diagnóstico de RNM	0.08	0.9263
Hemisfério Dominante	0.79	0.5068

Tabela 19 - Resultados do modelo de ANOVA – 5-HT2C

Fonte de Variação	Valor de F	p-valor
Grupo	0.46	0.7142
Diagnóstico Patológico	0.00	0.9983
Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico	0.10	0.9590
Droga Antiepiléptica	0.74	0.5692
Frequência das Crises	0.85	0.5246
Tempo de epilepsia	0.04	0.8402
Diagnóstico de RNM	0.01	0.9885
Hemisfério Dominante	0.33	0.8054

Tabela 20 - Resultados do modelo de ANOVA – NK1

Fonte de Variação	Valor de F	p-valor
Grupo	1.80	0.1664
Diagnóstico Patológico	1.50	0.2293
Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico	0.27	0.8494
Droga Antiepiléptica	1.20	0.3277
Frequência das Crises	0.80	0.5610
Tempo de epilepsia	0.84	0.3655
Diagnóstico de RNM	0.03	0.9737
Hemisfério Dominante	0.99	0.4088

6. DISCUSSÃO

O tratamento cirúrgico de pacientes com ELT resistentes ao tratamento clínico proporciona material para a realização de estudos científicos com esta população. Os benefícios dos progressos científicos alcançados com pesquisas na epilepsia podem ser úteis, também, para outros distúrbios do sistema nervoso central. A presente tese de doutorado figura como uma das possibilidades de utilização do tecido cerebral ressecado em lobectomia por ELT refratária, na qual procuramos averiguar as possíveis diferenças de expressão do mRNA de receptores relacionados à epilepsia, psicose e depressão em pessoas com ELT com e sem tais comorbidades.

Neste trabalho utilizamos, portanto, o método TacMan *real time* PCR para quantificar de forma relativa a expressão do mRNA de subtipos dos receptores de dopamina, serotonina, noradrenalina e substância P em hipocampos cirurgicamente removidos de pacientes com ELT com ou sem comorbidade psicótica ou depressiva. O hipocampo tem papel importante na patogênese da ELT, depressão e esquizofrenia (MIGUEL; RAUCH; LECKMAN, 1998; MELTZER, 1999; KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000; HOYER; HANNON; GRAEME, 2002; LÓPEZ-FIGUEROA et al., 2004;). A maioria dos estudos moleculares acerca dos receptores de dopamina, serotonina, noradrenalina e substância P no cérebro humano foi, contudo, realizada com amostras de tecido *post-mortem* (LAHTI; ROBERTS; TAMMINGA, 1995; MATSUMOTO et al., 1995; PRIMUS et al., 1997; KHAN et al., 1998; LAHTI et al., 1998; STEFANIS et al., 1998; DE LA GARZA; MADRAS, 2000; JAMALI et al., 2006; NUTT, 2006). Assim, o uso de amostras cirurgicamente removidas em cirurgias como a da ELT provê uma oportunidade única para estudar tecido do sistema nervoso central humano não tumoral e não proveniente de necrópsia (JAMALI et al., 2006).

Cabe ressaltar que embora seja sabido que a esclerose hipocampal, que frequentemente ocorre na ELT e que foi o diagnóstico patológico de todos os nossos sujeitos, pode prejudicar a identificação de defeitos mais sutis no nível molecular, todas as nossas amostras demonstraram valores de expressão para o mRNA dos diferentes subtipos de receptores de neurotransmissores estudados, possibilitando que as diferenças entre esta expressão fosse analisada.

Os achados referentes às variáveis de controle Diagnóstico Patológico (ou Lateralidade), Tempo de epilepsia, Diagnóstico de RNM e Hemisfério Dominante não apresentaram resultados significativos para a quantificação relativa da expressão do mRNA dos receptores pesquisados. As demais variáveis de controle (Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico, Droga Antiepiléptica e Frequência das Crises) mostraram significância para os resultados da quantificação relativa da expressão de mRNA de alguns dos receptores que estudamos.

A seguir apresentamos a discussão acerca das diferenças encontradas na quantificação relativa da expressão dos mRNA nos diferentes grupos, controlados pelas variáveis de controle, em separado para cada tipo de receptor estudado.

6.1. Receptores adrenérgicos

Os achados da expressão do mRNA referentes ao receptor adrenérgico- α 2A (AD2A) mostraram diferença significativa entre os grupos ($p = 0,0059$ - Tabela 9) com resultado significativo para a variável de controle Droga Antiepiléptica ($p = 0,0374$ - Tabela 9). No pós-teste de Tukey (Tabela 10) encontramos diferença estatisticamente significativa de maior expressão do AD2A no grupo Epilepsia comparado com o grupo Controle e de maior expressão do mesmo receptor no grupo Epilepsia comparado ao grupo Psicose.

As diferenças significativas referentes à variável de controle Droga Antiepiléptica foram, provavelmente, influenciadas pelas substâncias antiepilépticas em uso pelos pacientes, em especial a carbamazepina (CBZ) responsável pela monoterapia de 30 (62,5%) pacientes dentre os 48 estudados, sendo 19 (79,2%) do grupo Epilepsia, 6 (42,8%) do grupo Depressão e 5 (50,0%) do grupo Psicose. Foi, também, utilizada em associação com difenilhidantoína, fenobarbital, lamotrigina ou topiramato em outros 5 pacientes, sendo 1 (4,2%) do grupo Epilepsia e 4 (28,5%) do grupo Depressão (Tabela 7).

As substâncias antiepilépticas produzem seu efeito ativando os receptores α -adrenérgicos (PONCELET et al., 1984; POST et al., 1985; PONCELET et al., 1986; FISCHER; MÜLLER, 1988; RUTECKI, 1995; VUCKOVIC et al., 2006), entre os quais os α 2A no hipocampo (SZOT et al., 2004; JURGENS et al., 2005). Entre os medicamentos antiepilépticos nos quais o sistema noradrenérgico pode ter um papel predominante na modulação de sua eficiência encontramos o fenobarbital, a feintoína e a carbamazepina (PONCELET et al., 1984; POST et al., 1985; PONCELET et al., 1986; FISCHER; MÜLLER, 1988; VUCKOVIC et al., 2006). Portanto, a ativação dos receptores α 2A no hipocampo pelas substâncias antiepilépticas pode explicar nossos achados de maior expressão do mRNA de AD2A dos pacientes do grupo Epilepsia comparados ao grupo Controle.

Quanto ao receptor adrenérgico- α 2C (AD2C), os resultados mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,0016$ – Tabela 11), mas, não mostraram significância estatística para as variáveis de controle. O pós-teste de Tukey (Tabela 12) mostrou significância estatística na maior expressão do mRNA do grupo Epilepsia em comparação com o grupo Controle e com o grupo Psicose.

A localização do receptor adrenérgico- α 2C em áreas cerebrais envolvidas no processo de informações sensoriais e no controle de atividades motoras e emocionais relacionadas pode explicar nossos resultados de maior expressão do mRNA do mesmo nas amostras de

hipocampos de pacientes com ELT sem comorbidade psiquiátrica quando comparados com o grupo de hipocampos de necrópsias e de pacientes com psicose associada. Portanto, podemos sugerir que este receptor parece ser de importância nos mecanismos patológicos relacionados à ELT e que merece ser melhor estudado (HOLMBERG; FAGELHOLM; SCHEININ, 2003; SZOT et al., 2005)

As diferenças de expressão do mRNA dos receptores AD2A e AD2C pode ter sido menor no grupo Psicose comparado ao grupo Epilepsia, devido aos mecanismos adrenérgicos relacionados aos quadros psicóticos. A observação de pacientes psicóticos em tratamento com bloqueadores adrenérgicos permitiu que Blum e Atsmon (1976) concluíssem que a psicose pode acontecer quando a atividade plena do sistema α -adrenérgico e β -adrenérgico está muito alta ou muito baixa, ou quando o balanceamento está afetado. Substâncias antagonistas dos receptores $\alpha1A$ e $\alpha2A$ têm efeito antipsicótico (BOLONNA et al., 2000). Estudo de Adachi et al. (2007) com 58 pacientes epiléticos mostrou que o uso de medicamentos antipsicóticos alterou a duração das crises epiléticas, mas, não foi verificada associação com variáveis como a frequência das crises e o uso de drogas antiepiléticas. Dos pacientes do grupo Psicose, no nosso estudo, apenas 3 (30,0%) estavam em tratamento antipsicótico, os 3 com o medicamento Haloperidol, uma butirofenona que bloqueia receptores α -adrenérgicos. Os resultados do nosso estudo parecem indicar, portanto, que os mecanismos adrenérgicos ligados a psicose são diferentes dos relacionados aos da epilepsia.

Os pacientes com distúrbio depressivo maior têm maior densidade de receptor $\alpha2A$ -adrenérgico que controles normais (GURGUIS et al., 1999). Esta diferença, entre o grupo Depressão e Controle não foi, contudo, significativa no nosso estudo. Não houve, também, diferença estatisticamente significativa quando comparadas as expressões do AD2A e do AD2C entre os grupos Epilepsia e Depressão. Uma possível explicação para este achado pode ser a semelhança entre a depressão e a epilepsia no que diz respeito ao déficit comum

noradrenérgico, confirmado pela eficácia das drogas antiepilépticas no manejo de distúrbios afetivos, incluindo episódios depressivos (GONZÁLES-MAESO et al., 2002; GIORGI et al., 2004; MULA; SANDER, 2007).

Portanto, nossos resultados das análises da expressão do mRNA dos receptores adrenérgicos $\alpha 2A$ e $\alpha 2C$, onde não houve diferença significativa entre os grupos Epilepsia e Depressão, parecem estar em concordância com o que foi sugerido na literatura sobre uma possível relação bi-direcional entre epilepsia e depressão ou a presença de um mecanismo patogênico comum que poderia facilitar a ocorrência de um na presença do outro (KANNER; BALBANOV, 2002; KANNER, 2003b).

6.2. Receptores dopaminérgicos

No que se refere à expressão do mRNA do receptor dopaminérgico D4 não encontramos diferença estatisticamente significativa entre os grupos por nós estudados (Tabela 15).

Na análise dos dados da expressão do mRNA do receptor D2 evidenciamos diferença significativa entre os grupos ($p = 0,0125$ - Tabela 13) com resultado significativo para as variáveis de controle Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico ($p = 0,0239$ - Tabela 13) e Frequência das Crises ($p = 0,0381$ - Tabela 13). O pós-teste de Tukey (Tabela 14) mostrou significância estatística na maior expressão do mRNA de D2 no grupo Epilepsia comparado com o grupo Controle e na maior expressão do mRNA de D2 no grupo Depressão comparado com o grupo Controle.

A participação do receptor D2 na patofisiologia da ELT sugerida em outros estudos (CLINCKERS et al., 2004; CLINCKERS et al., 2005a; CLINCKERS et al., 2005b; BOZZI; BORRELLI, 2006; WERHAHN et al. 2006) pode ter influenciado os resultados de maior

expressão do mRNA do receptor D2 que encontramos no grupo Epilepsia comparado ao Controle e permitem sugerir pesquisas futuras sobre este receptor, com amostras maiores, em pessoas com ELT.

Nossos achados em relação à maior expressão do mRNA do receptor D2 em amostras hipocâmpais do grupo Depressão comparado ao grupo Controle sugerem uma possível participação deste receptor nos quadros depressivos comórbidos em indivíduos com ELT. Dois sintomas essenciais da depressão, a anedonia e a desmotivação, têm o envolvimento dos sistemas dopaminérgicos mesocorticais e mesolímbicos (FRIEDMAN et al., 2007). Nutt et al. (2006) sugerem o estudo da letargia e da fadiga, incluindo não somente o retardo motor, mas, a falha e a lentidão da memória, atenção e concentração, como áreas de interesse relacionadas aos receptores dopaminérgicos na depressão e seu tratamento. De acordo com Nutt (2006) há algumas evidências do efeito antidepressivo dos agentes dopaminérgicos e evidências claras do efeito dos agentes serotoninérgicos e noradrenérgicos. Desta forma, os nossos resultados podem corroborar a hipótese do estudo de Friedman et al. (2007) de que o monitoramento da dinâmica dopaminérgica límbica pode ser útil para o desenvolvimento de novas substâncias antidepressivas.

Não houve diferenças nas comparações entre os grupos Epilepsia e Depressão quanto a expressão dos mRNA dos receptores dopaminérgicos pesquisados. Este achado parece indicar que o papel dos receptores de dopamina na epilepsia e na depressão pode ser devido a um mecanismo patológico comum ou uma relação bi-direcional entre estes distúrbios (KANNER; BALBANOV, 2002; KANNER, 2003b). Estudos em animais mostram que a atividade diminuída de dopamina, entre outros neurotransmissores, facilita o processo de excitação do foco epiléptico, piora a frequência e severidade das crises epiléticas e pode ser revertida ou bloqueada por medicamentos antidepressivos (KANNER; BALBANOV, 2002).

As diferenças relacionadas à variável de controle Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico (Tabela 14) de maior expressão do mRNA de D2 no grupo Depressão em comparação ao grupo Controle parecem ter sido conseqüentes a maior expressão do mRNA de D2 no subgrupo de sujeitos com diagnóstico de distúrbio depressivo maior recorrente em relação aos com diagnóstico de episódio depressivo maior passado e destes em relação aos com episódio depressivo maior atual. Parece, pois, que as diferenças dentro do subgrupo de pacientes com depressão foi devida a cronicidade da doença e a quantidade de episódios depressivos apresentados pelos sujeitos.

Quanto maior a frequência das crises epiléticas, ou seja, diárias ou semanais, maior a expressão do D2 nos sujeitos do grupo Epilepsia em comparação com o Controle e do grupo Depressão em relação ao Controle. Uma possibilidade de explicação para o nosso achado é encontrada em estudos em modelos animais onde foi visto que a frequência e severidade das crises epiléticas podem ser pioradas em conseqüência da atividade diminuída de dopamina, serotonina, noradrenalina, e GABA, a qual pode, por sua vez, ser revertida ou bloqueada por medicamentos antidepressivos (KANNER; BALBANOV, 2002).

Estes achados nos levam a refletir acerca do que poderia explicá-los a partir da observação de um psiquiatra clínico. Uma maior frequência de crises é, provavelmente, acompanhada de maior sofrimento do paciente acometido. As pessoas que sofrem de depressão tendem a manter a capacidade perceptiva e de contato com a realidade e, muitas vezes, podem vir a intensificar seus sintomas depressivos se acontecerem alterações no ambiente que as cerca ou em suas capacidades, incluindo piora ou aparecimento de outras doenças (comorbidades). Os pacientes psicóticos, por sua vez, tendem a ter prejuízos em sua capacidade de percepção ou mesmo de contato com a realidade, chegando a estados de total alienação sobre si mesmos e sobre a realidade que os cerca. Desta forma, podemos levantar como provável hipótese para explicar a não diferença encontrada no que se refere à variável

freqüência das crises na expressão do mRNA de D2 entre o grupo Psicose em comparação com o grupo Controle, a provável limitação imposta pela doença sobre a capacidade perceptiva e de contato com sua própria realidade, ou seja, a sua provável menor vivência dos sofrimentos. Os pacientes dos grupos Epilepsia e Depressão, por outro lado, por possivelmente não apresentarem alterações nas capacidades mencionadas, sofrem com o aumento de freqüência das crises epiléticas o que poderia ser refletido nos resultados da expressão do mRNA de D2 nestes grupos.

6.3. Receptores serotoninérgicos

Na nossa pesquisa, não encontramos evidência de diferença significativa entre os grupos de pacientes com ELT com ou sem comorbidade psiquiátrica (Epilepsia, Psicose e Depressão) e os controles necropsiais (Controle) na quantificação da expressão do mRNA dos receptores 5-HT1A ($p = 0,0980$ - Tabela 18) e 5-HT2C ($p = 0.7142$ - Tabela 19).

Os resultados da nossa pesquisa acerca da expressão de mRNA dos receptores serotoninérgicos 5-HT1A e 5-HT2C sem diferenças entre os grupos estudados, podem ser compreendidos pelos achados de literatura que implicam estes receptores em uma variedade de distúrbios, inclusive a epilepsia, a depressão e a psicose. No que se refere ao receptor 5-HT1A, estudos de neuroimagem obtiveram evidências de que o potencial ligante de 5-HT1A pode estar relacionado a incidência aumentada de depressão em pacientes com epilepsia (TOCZEK et al., 2003; SAVIC et al., 2004; GIOVACCHINI et al., 2005; ITO et al., 2007; THEODORE et al., 2007). Os achados destes autores sugeriram que a depressão pode contribuir na redução da neurotransmissão serotoninérgica no foco epilético hipocampal. A epilepsia e a depressão podem, portanto, ter processo patofisiológico comum quanto ao receptor 5-HT1A (THEODORE et al., 2007). Este receptor está envolvido na modulação da

emoção e, portanto, implicado na patogênese de distúrbios de ansiedade, depressão, humor, alimentar, comportamento alucinatório e esquizofrenia (ITO; HALLDIN; FARDE, 1999; MELTZER, 1999; PASSCHIER; WAARDE, 2001; MELTZER et al., 2003). O receptor 5-HT_{2C} tem sido implicado em uma variedade de condições, inclusive na epilepsia, esclerose lateral amiotrófica, enxaqueca, disfunção erétil, obesidade, ansiedade, distúrbio obsessivo-compulsivo, depressão e esquizofrenia (MELTZER, 1999; MELTZER et al., 2003; GIORGETTI; TECOTT, 2004; ISAAC, 2005; DUNLOP et al., 2006; THODA; NOMURA; NOMURA, 2006; BAGDY et al., 2007; SERGEEVA; AMBERGER; HAAS, 2007).

Nossos resultados indicam a participação dos receptores de serotonina 5-HT_{2A} nos quadros de ELT, visto que sua expressão mostrou diferença significativa, com $p = 0,0273$ (Tabela 16), sendo maior a expressão do mRNA de 5-HT_{2A} no grupo Epilepsia em comparação ao grupo Controle (Tabela 17). A variável de controle Frequência das Crises mostrou resultado significativo ($p = 0,0433$ - Tabela 16), ou seja, quanto maior foi a frequência das crises epiléticas (diárias ou semanais), maior foi a expressão do mRNA do 5-HT_{2A}. Estes achados corroboram o que encontramos na literatura acerca do receptor 5-HT_{2A} e seu papel na epilepsia. A diminuição em seus níveis na zona epilética pode diminuir a atividade de medicamentos antiepiléticos, o que confirma sua possível participação na resistência farmacológica associada à ELT e confirma o 5-HT_{2A} como importante alvo para o tratamento da epilepsia (SULLIVAN et al., 2004; JAMALI et al., 2006).

6.4. Receptores de substância P

Os achados do presente trabalho acerca da expressão do mRNA do receptor de substância P (NK1) em pacientes com ELT com ou sem comorbidade psiquiátrica (grupos

Epilepsia, Psicose e Depressão) e grupo Controle não mostraram evidência de diferença significativa entre os grupos ($p = 0.1664$ - Tabela 20).

Estudos com a substância P mostraram que a mesma parece facilitar a atividade epiléptica no hipocampo (ZACHRISSON; LINDEFORS; BRENE, 1998; TÓTH et al., 2007). Antagonistas do receptor NK1 mostraram propriedades antiepiléticas (ZACHRISSON; LINDEFORS; BRENE, 1998; WASTERLAIN et al., 2000). Pesquisas têm demonstrado o papel potencial da substância P na esquizofrenia mostrando aumento de concentração ou de imunoreatividade da mesma em áreas como o córtex pré-frontal de pacientes esquizofrênicos (TAKEUCHI et al., 1988; SHIRAYAMA et al., 2000; TOONEY; CRAWTER; CHAHL, 2001). A relação da substância P com os distúrbios depressivos tem sido demonstrada, desde a resposta antidepressiva de antagonistas da mesma, a localização anatômica dos receptores NK1 em áreas cerebrais relevantes na regulação do humor (locus coeruleus, estriado ventral, córtex visual, hipocampo e núcleos amigdalóides), até a sua participação na mediação do sistema serotoninérgico aumentando a transmissão serotoninérgica no hipocampo, uma propriedade comum aos tratamentos antidepressivos (SANTARELLI et al., 2002; BLIER et al., 2004). Este perfil da substância P na epilepsia, na depressão e na esquizofrenia pode ser a justificativa para não termos encontrado diferenças entre os grupos estudados quanto a expressão do mRNA do receptor NK1, o que sugere semelhanças ou mesmo menor participação do NK1 na patofisiologia dos distúrbios estudados.

6.5. Limites do estudo

Nesta parte do trabalho apresentamos nossa avaliação crítica sobre as limitações do método que utilizamos e indicações de como estas poderiam ser solucionadas.

A primeira consideração a ser feita diz respeito aos limites de um estudo retrospectivo. Na nossa pesquisa o número de sujeitos dependeu da disponibilidade de amostras de hipocampos armazenadas no banco de amostras de tecido cerebral do HC-FMRP-USP de pacientes com as condições desejadas, aliadas a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Este procedimento acabou nos impossibilitando de fazer o pareamento prévio da população estudada.

Outro aspecto a ser considerado refere-se à identificação de tipos celulares. O método que escolhemos, *real time* PCR, permite a detecção de mRNA extraídos de tecidos, mas não permite observar a distribuição dos transcritos ou DNA em um tipo de população celular ou em áreas de tecidos adultos ou em desenvolvimento. Uma alternativa poderia ser a utilização de um *punch* para a retirada do material de regiões (núcleos) específicas do hipocampo. O *punch* é um instrumento cirúrgico de corte, especialmente projetado para a realização de colheita de material que consta de um cabo ou empunhadura e de um tubo cilíndrico que termina em superfície cortante. Desta forma, a borda do *punch* é circular com diferentes variações de diâmetro.

A reação de hibridização *in situ* (ISH) poderia ser, também, uma opção neste sentido, pois, permite localizar com precisão no tecido, parafinado ou congelado, um gene específico ou seus transcritos. A visualização do padrão de expressão de um gene é interessante para a análise da sua função, e mesmo como marcador da diferenciação celular ou do estímulo fisiológico recebido pelas células.

Outra opção poderia ser a técnica de imunohistoquímica (IHQ), cujo mecanismo básico é o reconhecimento do antígeno (moléculas teciduais) por um anticorpo associado a diversos tipos de processos de visualização. Atualmente há disponibilidade de grande número de anticorpos para uso em tecidos fixados em formol e incluídos em blocos parafina, permitindo o estudo de blocos arquivados por longos períodos. O uso simultâneo da reação de ISH com a IHQ, por sua vez, ampliou o campo de aplicação da reação de hibridização *in situ*, uma vez que torna possível identificar dois diferentes mRNA ou um gene e seu produto. Portanto, a visualização da distribuição dos receptores dos neurotransmissores estudados poderia ser feita mediante microscopia de luz mediante imunofluorescência.

A microscopia eletrônica com técnica de *imunogold* (imunocitoquímica com ouro coloidal) seria outra técnica que poderia ser empregada no intuito de permitir a identificação e visualização das sinapses neuronais e da distribuição dos receptores de interesse do nosso estudo, possibilitando localizá-los como estruturas pré ou pós-sinápticas. Para esta técnica, no entanto, seria necessária a utilização de tecido fresco e rapidamente congelado e processado.

O controle endógeno que escolhemos, o HPRT, expresso em níveis baixos em todos os tecidos, incluindo as células da glia, é expresso em níveis maiores nos neurônios do cérebro humano (RINCÓN-LIMAS et al., 1995). No entanto, a perda neuronal na ELT pode ser compensada por reposição glial, ou seja, a expressão do HPRT pode ter acontecido em função de sua presença em células gliais que compensaram possíveis perdas neuronais nas amostras estudadas. Apesar disto, resolvemos optar pelo HPRT como controle endógeno único com base em resultados de estudos de comparações entre diversos controles endógenos (VANDESOMPELE et al., 2002; KOK et al., 2005).

Outras estruturas cerebrais do sistema límbico, além do hipocampo, constituem-se como possibilidades para novas pesquisas. Entre estas, a amígdala que, de acordo com a literatura, tem papel na manifestação de respostas afetivas, apresenta expressão de receptores

de adrenalina, dopamina, serotonina e substancia P, e que é, também, parcialmente ressecada nas cirurgias de ELT.

O uso simultâneo de recursos de neuroimagem com ligantes específicos para os diferentes receptores estudados poderia ter acrescentado informações interessantes acerca de sua distribuição no hipocampo e mesmo em outras estruturas cerebrais dos sujeitos da pesquisa que podem estar, também, implicadas na ELT e comorbidades estudadas. No entanto, como o estudo foi retrospectivo, este procedimento não foi possível.

7. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados sugerem que a quantificação relativa do mRNA dos receptores adrenérgicos, serotoninérgicos e dopaminérgicos, mediante o método TacMan *real time* PCR, em pacientes com ELT com ou sem história comórbida de distúrbios psiquiátricos pode ser um importante foco para a melhor compreensão do papel destes receptores na epilepsia e nos transtornos psiquiátricos associados.

A substância P, segundo dados da literatura, parece ter papel na epilepsia, na depressão e na esquizofrenia. A expressão do mRNA de seu receptor no nosso estudo não evidenciou diferenças significativas entre os grupos pesquisados, sugerindo semelhanças ou mesmo menor participação do NK1 na patofisiologia dos distúrbios estudados.

As variáveis de controle que mostraram resultados significativos em alguns dos nossos achados foram: uso de Droga Antiepiléptica – maior expressão do mRNA de AD2A dos pacientes do grupo Epilepsia comparados ao grupo Controle e ao grupo Psicose, possivelmente devido a ativação dos receptores α 2A no hipocampo pelas substâncias antiepilépticas e possíveis mecanismos adrenérgicos diferentes relacionados a psicose e a epilepsia; Subtipo de Diagnóstico Psiquiátrico - maior expressão do mRNA de D2 no grupo Depressão em comparação ao grupo Controle parecem ter sido conseqüentes cronicidade da doença e a quantidade de episódios depressivos apresentados pelos sujeitos; Frequência das Crises - quanto maior foi a frequência das crises, maior foi a expressão do mRNA do receptor dopaminérgico D2 nos sujeitos do grupo Epilepsia em comparação com o Controle e do grupo Depressão em relação ao Controle; e quanto maior foi a frequência das crises, maior foi a expressão do mRNA do receptor serotoninérgico 5-HT2A entre os sujeitos do grupo Epilepsia comparados ao grupo Controle.

As demais variáveis de controle: Diagnóstico Patológico (ou Lateralidade), Tempo de epilepsia, Diagnóstico de RNM e Hemisfério Dominante não apresentaram resultados significativos para a quantificação relativa da expressão do mRNA dos receptores pesquisados.

Para futuros trabalhos científicos com amostras de diferentes estruturas cerebrais do sistema límbico humano, entre as quais o hipocampo e a amígdala, provenientes de tratamento cirúrgico de ELT sugerimos que as mesmas sejam feitas de forma prospectiva para possibilitar a utilização de diferentes métodos e técnicas de forma complementar. Desta forma, propomos o estudo específico das regiões das estruturas de interesse com a utilização de um *punch* para a retirada do material; a realização de estudos com TacMan *real time* PCR para quantificação relativa de mRNA de receptores adrenérgicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos e de substância P; a associação da técnica de imunohistoquímica (IHQ), de hibridização *in situ* (ISH) e ou de microscopia eletrônica com *imunogold* para identificar, visualizar e localizar a distribuição destes diferentes receptores.

E, no sentido de complementar e integrar os achados moleculares, estruturais e ultra-estruturais, sugerimos a utilização de recursos de neuroimagem com ligantes específicos para os diferentes receptores estudados na mesma amostra para obter informações acerca da distribuição destes receptores nas estruturas cerebrais em estudo e demais que possam estar, também, implicadas na ELT e comorbidades estudadas

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ADACHI, N.; MATSUURA, M.; HARA, T.; OANA, Y.; OKUBO, Y.; KATO, M.; ONUMA, T. Psychosis and epilepsy: are interictal and postictal psychosis distinct clinical entities? **Epilepsia**, v. 43, p. 1574-82, 2002.

ADACHI, N.; ITO, M.; KANEMOTO, K.; AKANUMA, N.; OKAZAKI, M.; ISHIDA, S.; SEKIMOTO, M.; KATO, M.; KAWASAKI, J.; TADOKORO, Y.; OSHIMA, T.; ONUMA, T. Duration of postictal psychotic episodes. **Epilepsia**, v. 48, n. 8, p. 1531-7, 2007 Aug.

AGHAJANIAN, G. K.; MAREK G. J. Serotonin model of schizophrenia: emerging role of glutamate mechanisms. **Brain Research Reviews**, Netherlands, v. 31, p. 302-312, 2000.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos da Biologia Celular**: uma introdução à biologia molecular da célula. Porto Alegre: Artmed, 1999.

ALMEIDA, O. P.; DRATCU, L.; LARANJEIRA, R. **Manual de Psiquiatria**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

ANDO, N.; MORIMOTO, K.; WATANABE, T.; NINOMIYA, T.; SUWAKI, H. Enhancement of central dopaminergic activity in the kainate model of temporal lobe epilepsy: implication for the mechanism of epileptic psychosis. **Neuropsychopharmacology**: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, v. 29, 1251-58, 2004.

APPLIED BIOSYSTEMS, **ABI PRISM 7700 Sequence Detection System** - User Bulletin No. 2. Foster City: Applied Biosystems, 1997 (updated 10/2001).

AXELROD, J. **Nobel Lectures, Physiology or Medicine 1963-1970**. Amsterdam: Elsevier Publishing, 1971.

BAGDY, G.; KECSKEMETI, V.; RIBA, P.; JAKUS, R. Serotonin and epilepsy. **Journal of Neurochemistry**, v. 100, p. 857-73, 2007.

* De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BANASR, M. DUMAN, R. S. Regulation of neurogenesis and gliogenesis by stress and antidepressant treatment. **CNS & Neurological Disorders Drug Targets**, v. 6, n. 5, p. 311-20, 2007.

BEYENBURG, S.; SCHMIDT, D. Epilepsiepatienten mit angst erkrankungen: erkennen und behandeln. **Nervenarzt**, v. 76, p. 1077-1091, 2005.

BLIER, P.; GOBBI, G.; HADDJERI, N.; SANTARELLI, L. M. D.; MATHEW, G.; HEN, R. Impact of substance P receptor antagonism on the serotonin and norepinephrine systems: relevance to the antidepressant/anxiolytic response. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v. 29, n. 3, p. 208-18, 2004.

BLUM, I.; ATSMON, A. The possible role of beta-adrenergic and alpha-adrenergic antagonist sensitive systems in the brain in the mechanism of psychosis. **Medical Hypotheses**, v. 2, n. 3, p. 104-6, 1976 May-Jun.

BOLONNA, A. A.; ARRANZ, M. J.; MUNRO, J.; OSBORNE, S.; PETOUNI, M.; MARTINEZ, M. KERWIN, R. W. No influence of adrenergic receptor polymorphisms on schizophrenia and antipsychotic response. **Neuroscience Letters**, v. 280, n. 1 p. 65-8, 2000 Feb.

BONDY, B.; BAGHAI, T. C.; MINOV, C.; SCHÜLE, C.; SCHWARZ, M. J.; ZWANZGER, P.; RUPPRECHT, R.; MÖLLER, H. J. Substance P Serum Levels Are Increased in Major Depression: Preliminary Results. **Biological Psychiatry**, v. 53, p. 538-42, 2003.

BOZZI, Y.; BORRELLI, E. Dopamine in neurotoxicity and neuroprotection: what do D2 receptors have to do with it? **Trends in Neurosciences**, v. 29, n. 3, 2006 March.

BRIELLMANN, R. S.; HOPWOOD, M. J.; JACKSON, G. D. Major depression in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: clinical and imaging correlates. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 78, p.1226-30, 2007.

BROCK, L. G.; COOMBS, J.S.; ECCLES, J.C. The recording of potentials from motoneurons with an intracellular electrode. **The Journal of Physiology**, v. 117, p. 431-460, 1952.

BROMFIELD, E. B.; CAVAZOS, J. E.; SIRVEN, J. I. **An introduction to epilepsy**. Bethesda: American Epilepsy Society, 2006. Disponível em : < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=epilepsy>>. Acesso em: 17 jun. 2007.

BURNET, P. W. J.; EASTWOOD, S. L.; HARRISON, P. J. The distribution of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor mRNA in human brain. **Brain Research**, v. 676, p. 157-68, 1995.

BURNET, P. W. J.; EASTWOOD, S. L.; HARRISON, P. J. 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor mRNAs and binding site densities are differentially altered in schizophrenia. **Neuropsychopharmacology**: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, v. 15, p. 442-55, 1996.

BUSTIN, S. A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 25, p. 169-193, 2000.

BUSTIN, S. A. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 29, p. 23-39, 2002.

CABERLOTTO, L.; HURD, Y. L.; MURDOCK, P.; WAHLIN, J. P.; MELOTTO, S.; CORSI, M.; CARLETTI, R. Neurokinin 1 receptor and relative abundance of the short and long isoforms in the human brain. **The European Journal of Neuroscience**, v. 17, n. 9, p. 1736-46, 2003 May.

CARLOTTI, C. G. Papel da monitorização com eletrodos de forame oval na investigação da epilepsia mesial do lobo temporal. 2004. 88 f. Tese (Livre-docência em Ciências da Saúde) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

CARLSSON A.; WATERS, N.; WATERS, S.; CARLSSON M. L. Network interactions in schizophrenia — therapeutic implications. **Brain Research Reviews**, v. 31, p. 342-349, 2000.

CELADA, P.; PUIG, M. V.; AMARGÓS-BOSCH, M.; ADELL, A.; ARTIGAS, F. The therapeutic role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in depression. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 29, n. 4, p. 252- 265, 2004.

CLINCKERS, R.; SMOLDERS, I.; MEURS, A.; EBINGER, G.; MICHOTTE, Y. Anticonvulsant action of hippocampal dopamine and serotonin is independently mediated by D₂ and 5-HT_{1A} receptors. **Journal of Neurochemistry**, v. 89, p. 834-43, 2004.

CLINCKERS, R.; GHEUENS, S.; SMOLDERS, I.; MEURS, A.; EBINGER, G.; MICHOTTE, Y. In vivo modulatory action of extracellular glutamate on the anticonvulsant effect of hippocampal dopamine and serotonin. **Epilepsia**, v. 46, n. 6, p. 828-36, 2005a.

CLINCKERS, R.; SMOLDERS, I.; MEURS, A.; EBINGER, G.; MICHOTTE, Y. Hippocampal dopamine and serotonin elevations as pharmacodynamic markers for the anticonvulsant efficacy of oxcarbazepine and 10,11-dihydro-10-hydroxycarbamazepine. **Neuroscience Letters**, v. 390, p. 48–53, 2005b.

CROONE, W. De ratione motus musculorum, 1664. Tradução Leonard G. Wilson. In: FULTON, J.F.; WILSON, L.G. **Selected readings in the History of Fisiology**, 2nd ed. Charles C Thomas, Springfield, 1966. p.207-211.

DE KEYSER, J. Subtypes and localization of dopamine receptors in human brain. **Neurochemistry International**, v. 22, n. 2, p. 83-93, 1993 Feb.

DE LA GARZA, R.; MADRAS, B. K. [3H]PNU-101958, a D4 dopamine receptor probe, accumulates in prefrontal cortex and hippocampus of non-human primate brain. **Synapse**, v. 37, p. 232–244, 2000.

DE LANEROLLE, N. C.; KIM, J. H.; WILLIAMSON, A.; SPENCER, S. S.; ZAVERI, H. P.; EID, T.; SPENCER, D. D. A Retrospective Analysis of Hippocampal Pathology in Human Temporal Lobe Epilepsy: Evidence for Distinctive Patient Subcategories. **Epilepsia**, v. 44, n. 5, p.677–687, 2003.

DEVINSKY, O.; VAZQUEZ, B. Behavioral changes associated with epilepsy. **Neurologic Clinics**, v. 11, p. 127–149, 1993.

DEVINSKY, O. Psychiatric comorbidity in patients with epilepsy: implications for diagnosis and treatment. **Epilepsy & Behavior**, v. 4, S2– S10, 2003.

DUDRA-JASTRZEBSKA, M.; ANDRES-MACH, M. M.; LUSZCZKI, J. J.; CZUCZWAR, S. J. Mood disorders in patients with epilepsy. **Pharmacological Reports: PR**, v. 59, p. 369-378, 2007.

DUNLOP, J.; MARQUIS, K.L.; LIM, H.K.; LEUNG, L.; KAO, J.; CHEESMAN, C.; ROSENZWEIG-LIPSON, S. Pharmacological profile of the 5-HT(2C) receptor agonist WAY-163909; therapeutic potential in multiple indications. **CNS Drug Reviews**, v. 12, p. 167-77, 2006.

DWIVEDI, Y.; PANDEY, G. N. Quantitation of 5HT2A receptor mRNA in human postmortem brain using competitive RT-PCR. **Neuroreport**, v. 9, n. 17, p. 3761-5, 1998 Dec.

ENGEL, J.; PEDLEY, T. A. (Eds.). **Epilepsy: A Comprehensive Textbook**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998.

ENGEL, J. Jr. Mesial temporal lobe epilepsy: what have we learned? **The Neuroscientist** : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry, v. 7, n. 4, p. 340-52, 2001.

FISCHER, W.; MÜLLER, M. Pharmacological modulation of central monoaminergic systems and influence on the anticonvulsant effectiveness of standard antiepileptics in maximal electroshock seizure. **Biomedica Biochimica Acta**, v. 47, n. 7, p. 631-45, 1988.

FREITAS, R. M.; AGUIAR, L. M.V.; VASCONCELOS, S. M.M.; SOUSA, F. C.F.; VIANA, G. S.B.; FONTELES, M. M.F. Modifications in muscarinic, dopaminergic and serotonergic receptors concentrations in the hippocampus and striatum of epileptic rats. **Life Sciences**, v. 78, p. 253–8, 2005.

FRIEDMAN, A.; DERI, I.; FRIEDMAN, Y.; DREMEOV, E.; GOUTKIN, S.; KRAVCHINSKY, E.; MINTZ, M.; LEVI, D.; OVERSTREET, D. H.; YADID, G. Decoding of dopaminergic mesolimbic activity and depressive behavior. **Journal of Molecular Neuroscience**: MN, v. 32, n. 1, p. 72-9, 2007.

FUSAR-POLIA, P.; PEREZ, J.; BROOME, M.; BORGWARDT, S.; PLACENTINO, A.; CAVERZASI, E.; CORTESI, M.; VEGGIOTTI, P.; POLITI, P.; BARALE, F.; MCGUIRE, P. Neurofunctional correlates of vulnerability to psychosis: a systematic review and meta-analysis. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 31, p. 465–484, 2007.

GILLIAM, F.; SANTOS, J.; VALLE, V.; KARTER, J.; BROWN, K.; HECIMOVIC, H. Depression in epilepsy: ignoring clinical expression of neuronal network dysfunction? **Epilepsia**, 45, p. 28-33, 2004.

GIORGETTI, M.; TECOTT, L. H. Contributions of 5-HT(2C) receptors to multiple actions of central serotonin systems. **European Journal of Pharmacology**, v. 488, p. 1-9, 2004.

GIORGI, F. S.; PIZZANELLI, C.; BIAGIONI, F.; MURRI, L.; FORNAI, F. The role of norepinephrine in epilepsy: from the bench to the bedside. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 28, p. 507–524, 2004.

GIOVACCHINI, G.; TOCZEK, M. T.; BONWETSCH, R.; BAGIC, A.; LANG, L.; FRASER, C.; REEVES-TYER, P.; HERSCOVITCH, P.; ECKELMAN, W. C.; CARSON, R. E.; THEODORE, W. H. 5-HT1A receptors are reduced in temporal lobe epilepsy after partial-volume correction. **Journal of Nuclear Medicine**: official publication, Society of Nuclear Medicine, v. 46, p. 1128-35, 2005.

GLOSSER, G.; ZWIL, A. S.; GLOSSER, D. S.; O'CONNOR, M. J.; SPERLING, M. R. Psychiatric aspects of temporal lobe epilepsy before and after anterior temporal lobectomy. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 68, p. 53–58, 2000.

GOLIMBET, V. E.; ALFIMOVA, M. V.; MANANDYAN, K. K.; MITUSHINA, N. G.; ABRAMOVA, L. I.; KALEDA, V. G.; OLEICHIK, I. V.; YUROV, Y. B.; TRUBNIKOV, V. I. Serotonin Type 2a (5-HTR2A) Receptor Gene Polymorphism and Personality Traits in Patients with Major Psychoses. **Russian Journal of Genetics**, v. 37, p. 436–439, 2001.

GONZÁLEZ-MAESO, J.; RODRIGUEZ-PUERTAS, R.; MEANA, J. J.; GARCIA-SEVILLA, J. A.; GUIMON, J. Neurotransmitter receptor-mediated activation of G-proteins in brains of suicide victims with mood disorders: selective supersensitivity of alpha(2A)-adrenoceptors. **Molecular Psychiatry**, v. 7, n. 7, p. 755-67, 2002.

GREENLEE, B. A.; FERRELL, R. B.; KAUFFMAN, C. I.; McALLISTER, T. W. Complex partial seizures and depression. **Current Psychiatry Reports**, v. 5, n. 5, p. 410-6, 2003 Oct.

GROUBET, R.; PALLET, V.; DELAGE, B.; REDONNET, A.; HIGUERET, P.; CASSAND, P. Hyperlipidic diets induce early alterations of the vitamin A signalling pathway in rat colonic mucosa. **Endocrine Regulations**, v. 37, n. 3, p. 137-44, 2003.

GUARNIERI, R.; HALLAK, J. E.; WALZ, R.; VELASCO, T. R.; ALEXANDRE JR, V.; TERRA-BUSTAMANTE, V. C.; WICHERT-ANA, L.; SAKAMOTO, A. C. Pharmacological treatment of psychosis in epilepsy. **Epilepsia**, v. 26, n. 1, p. 57-61, 2004 Mar.

GUARNIERI, R.; WICHERT-ANA, L.; HALLAK, J. E.C.; VELASCO, T. R.; WALZ, R.; KATO, M.; ALEXANDRE JR., V.; TERRA-BUSTAMANTE, V. C.; BIANCHIN, M. M.; ZUARDI, A. W.; DEAKIN, J. F.W.; SAKAMOTO, A. C. Interictal SPECT in patients with mesial temporal lobe epilepsy and psychosis: a case-control study. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v.138, p. 75– 84, 2005.

GUR, R. E.; KESHAVAN, M. S.; LAWRIE, S. M. Deconstructing psychosis with human brain imaging. **Schizophrenia Bulletin**, v. 33, n. 4, p. 921–931, 2007.

GURGUIS, G. N. M.; VO, S. P.; GRIFFITH, J. M.; RUSH, A. J. Platelet alpha -adrenoceptor function in major depression: G coupling, effects of imipramine and relationship to treatment outcome. **Psychiatry Research**, v. 89, p. 73-95,1999.

HALES, R. E.; YUDOFKY, S. C. **Tratado de psiquiatria clinica**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

HARDEN, C. L.; GOLDSTEIN, M. A. Mood disorders in patients with epilepsy: epidemiology and management. **CNS Drugs**, v. 16, n. 5, p. 291-302, 2002.

HERPFER, I.; LIEB, K. Substance P receptor antagonists in psychiatry: rationale for development and therapeutic potential. **CNS Drugs**, v. 19, p. 275-93, 2005.

HERTTING, G.; AXELROD, J. Fate of tritiated noradrenaline at the sympathetic nerve-endings. *Nature*, v. 192, p. 172-173, 1961.

HOLMBERG M.; FAGERHOLM, V.; SCHEININ, M. Regional distribution of α_2C -adrenoceptors in brain and spinal cord of control mice and transgenic mice overexpressing the α_2c -subtype: an autoradiographic study with [³h]rx821002 and [³h]rauwolscine. **Neuroscience**, v. 117, p. 875–98, 2003.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; GRAEME R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 71, p. 533-554, 2002.

HRDINA, P. D.; DEMETER, E.; VU, T. B.; SOTONYI, P.; PALKOVITS, M. 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in brain of antidepressant-free suicide victims/depressives: increase in 5-HT₂ sites in cortex and amygdala. **Brain Research**, v. 614, n. 1-2, p. 37-44, 1993 Jun.

ISAAC, M. Serotonergic 5-HT_{2C} receptors as a potential therapeutic target for the design antiepileptic drugs. **Current topics in Medicinal Chemistry**, v. 5, p. 59-67, 2005.

ITO, H.; HALLDIN, C.; FARDE, L. Localization of 5-HT_{1A} receptors in the living human brain using [carbonyl-¹¹C]WAY-100635: PET with anatomic standardization technique. **Journal of Nuclear Medicine**: official publication, Society of Nuclear Medicine, v. 40, n. 1, p. 102-9, 1999 Jan.

ITO, S.; SUHARAB, T.; ITO, H.; YASUNO, F.; ICHIMIYA, T.; TAKANO, A.; MAEHARA, T.; MATSUURA, M.; OKUBO Y. Changes in central 5-HT_{1A} receptor binding in mesial temporal epilepsy measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY100635. **Epilepsy Research**, v. 73, p. 111-8, 2007.

JACOBS, B. L.; VAN PRAAG, H.; GAGE, F. H. Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. **Molecular Psychiatry**, v. 5, p. 262–269, 2000.

JAMALI, S.; BARTOLOMEI, F.; ROBAGLIA-SCHLUPP, A.; MASSACRIER, A.; PERAGUT, J.; RÉGIS, J.; DUFOUR, H.; RAVID, R.; ROLL, P.; PEREIRA, S.; ROYER, B.;

ROECKEL-TREVISIOL, N.; FONTAINE, M.; GUYE, M.; BOUCRAUT, J.; CHAUVEL, P.; CAU, P.; SZEPETOWSKI, P. Large-scale expression study of human mesial temporal lobe epilepsy: evidence for dysregulation of the neurotransmission and complement systems in the entorhinal cortex. **Brain**, v.129, p. 625–641, 2006.

JIRALERSPONG, S.; PATEL, P. I. Regulation of the hypoxanthine phosphoribosyltransferase gene: in vitro and in vivo approaches. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 212, n. 2, p. 116-27, 1996 Jun.

JONES, J. E.; HERMANN, B. P.; BARRY, J. J.; GILLIAM, F. G.; KANNER, A. M.; MEADOR, K. J. Rates and risk factors for suicide, suicidal ideation, and suicide attempts in chronic epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 4, p. 31-8, 2003 Oct. Supplement 3.

JURGENS, C. W. D.; BOESE, S. J.; KING, J. D.; PYLE, S. J.; PORTER, J. E.; DOZE, V. A. Adrenergic receptor modulation of hippocampal CA3 network activity. **Epilepsy Research**, v. 66, p. 117–28, 2005.

KALIA, M. Neurobiological basis of depression: an update. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 54, p. 24-7, 2005. Supplement 1.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. **Principles of Neural Science**. United States: McGraw-Hill, 2000.

KANNER, A. M.; BALBANOV, A. Depression and epilepsy: how closely related are they? **Neurology**, v. 58, n. 8, p. 27-39, 2002 Apr. Supplement 5.

KANNER, A. M. Depression in epilepsy: a frequently neglected multifaceted disorder. **Epilepsy & Behavior**, v. 4, p. 11–19, 2003a. Supplement.

KANNER, A. M. Depression in epilepsy: prevalence, clinical semiology, pathogenic mechanisms, and treatment. **Biological Psychiatry**, v. 54, p. 388–398, 2003b.

KANNER, A. M.; SOTO, A.; GROSS-KANNER, H. Prevalence and clinical characteristics of postictal psychiatric symptoms in partial epilepsy. **Neurology**, v.62, n. 5, p. 708-13, 2004 Mar.

KHAN, Z. U.; GUTIÉRREZ, A.; MARTÍN, R.; PEÑAFIEL, A.; RIVERA, A.; DE LA CALLE, A. Differential regional and cellular distribution of dopamine D2-like receptors: an

immunocytochemical study of subtype-specific antibodies in rat and human brain. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 402, p. 353–371, 1998.

KOHLER, C.; NORSTRAND, J. A.; BALTUCH, G.; O'CONNOR, M. J.; GUR, R. E.; FRENCH, J. A.; SPERLING, M. R. Depression in temporal lobe epilepsy before epilepsy surgery. **Epilepsia**, v. 40, n. 3, p. 336-40, 1999 Mar.

KOK, J. B.; ROELOFS, R. W.; GIESENDORF, B. A.; PENNING, J. L.; WAAS, E. T.; FEUTH, T.; SWINKELS, D. W.; SPAN, P. N. Normalization of gene expression measurements in tumor tissues: comparison of 13 endogenous control genes. **Laboratory Investigation**; a journal of technical methods and pathology, v. 85, p. 154–159, 2005.

KRAMER, S.; CUTLER, N.; FEIGNER, J.; SHRIVASTAVA, R.; CARMAN, J.; SRAMEK, J. J.; REINES, S. A.; LIU, G.; SNAVELY, D.; WYATT-KNOWLES, E.; HALE, J. J.; MILLS, S. G.; MACCOSS, M.; SWAIN, C. J.; HARRISON, T.; HILL, R. G.; HEFTI, F.; SCOLNICK, E. M.; CASCIERI, M. A.; CHICCHI, G. G.; SADOWSKI, S.; WILLIAMS, A. R.; HEWSON, L.; SMITH, D.; CARLSON, E. J.; HARGREAVES, R. J.; RUPNIAK, N. M. J. Distinct Mechanism for Antidepressant Activity by Blockade of Central Substance P Receptors. **Science**, v. 281, n. 5383, p. 1640–5, 1998 Sep.

LAHTI, R. A.; ROBERTS, R. C.; TAMMINGA, C. A. D2-family receptor distribution in human postmortem tissue: an autoradiographic study. **Neuroreport**, v. 6, n. 18, p. 2505-12, 1995 Dec.

LAHTI, R. A.; ROBERTS, R. C.; COCHRANE, E. V.; PRIMUS, R. J.; GALLAGER, D. W.; CONLEY, R. R.; TAMMINGA, C. A. Direct determination of dopamine D4 receptors in normal and schizophrenic postmortem brain tissue: a [3H]NGD-94-1 study. **Molecular Psychiatry**, v. 3, n. 6, p. 528-33, 1998 Nov.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method. **Methods**, v. 25, p. 402–8, 2001.

LLINÁS R. R. **The Squid Giant Synapse**. New York: Oxford University Press, 1999.

LÓPEZ-FIGUEROA, A. L.; NORTON, C. S.; LÓPEZ-FIGUEROA, M. O.; ARMELLINI-DODEL, D.; BURKE, S.; AKIL, H.; LÓPEZ, J. F.; WATSON, S. J. Serotonin 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and 5-HT_{2A} Receptor mRNA expression in subjects with major depression, bipolar disorder, and schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 55, p. 225–233, 2004.

MANCHANDA, R.; SCHAEFER, B.; McLACHLAN, R. S.; BLUME, W. T.; WIEBE, S.; GIRVIN, J. P.; PARENT, A.; DERRY, P. A. Psychiatric disorders in candidates for surgery

for epilepsy. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v.61, n. 1, p. 82-9, 1996 Jul.

MANN, J. J. Neurobiology of suicidal behaviour. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 4, p. 819–28, 2003.

MARCHETTI, R. L.; CREMONESE, E; CASTRO, A. P. W. Psicoses e epilepsia. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 10, n. 4, p. 35-40, 2004. Supplement 2.

MATHERN, G. W.; ADELSON, P. D.; CAHAN, L. D.; LEITE, J. P. Hippocampal neuron damage in human epilepsy: Meyer's hypothesis revisited. **Progress in Brain Research**, v. 135, p. 237-51, 2002.

MATSUMOTO, M.; HIDAKA, K.; TADA, S.; TASAKI, Y.; YAMAGUCHI, T. Full-length cDNA cloning and distribution of human dopamine D4 receptor. **Molecular Brain Research**, v. 29, p. 157-162, 1995.

MAZZA, M.; ORSUCCI, F.; DE RISIO, S.; BRIA, P.; MAZZA, S. Epilepsy and depression: risk factors for suicide? **La Clinica Terapeutica**, v. 10, p. 425-7, 2004.

McLEAN, S. Do substance P and the NK₁ receptor have a role in depression and anxiety? **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, p. 1529-47, 2005.

McMAHON, F. J.; BUERVENICH, S.; CHARNEY, D.; LIPSKY, R.; RUSH, A. J.; WILSON, A. F.; SORANT, A. J. M.; PAPANICOLAOU, G. J.; LAJE, G.; FAVA, M.; TRIVEDI, M. H.; WISNIEWSKI, S. R.; MANJI, H. Variation in the Gene Encoding the Serotonin 2A Receptor Is Associated with Outcome of Antidepressant Treatment. **American Journal of Human Genetics**, v. 78, p. 804- 814, 2006.

McNAMARA, J. O. Emerging insights into the genesis of epilepsy. **Nature**, v. 24, n. 399, p. A15-22, 1999. Supplement 6738.

MEADOR-WOODRUFF, J. H. Update on dopamine receptors. **Annals of Clinical Psychiatry**: official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists, v. 6, n. 2, p. 79-90, 1994 Jun.

MELTZER, H. Y. The Role of Serotonin in Antipsychotic Drug Action. **Neuropsychopharmacology**: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, v. 21, p. 106–115, 1999. Supplement.

MELTZER, H. Y.; LI, Z.; KANEDA, Y.; ICHIKAWA, J. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 27, p. 1159-72, 2003.

MERLET, I.; OSTROWSKY, K.; COSTES, N.; RYVLIN, P.; ISNARD, J.; FAILLENOT, I.; LAVENNE, F.; DUFOURNEL, D.; LE BARS, D.; MAUGUIERE, F. 5-HT_{1A} receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [18F]MPPF-PET study. **Brain**, 127:900-913, 2004.

MIGUEL, E. C.; RAUCH, S. L.; LECKMAN, J. F. **Neuropsiquiatria dos Gânglios da Base**. São Paulo: Lemos Editorial, 1998. (The Psychiatric Clinics of North America).

MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**, 5^a edição, Nova Iorque: John Wiley & Sons Inc., 2000.

MOREIRA, F. A.; GUIMARÃES, F. S. Mecanismos de ação dos antipsicóticos: hipóteses dopaminérgicas. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 40, n. 1, p. 63-71, jan./mar. 2007.

MULA, M.; SANDER, J. W. Negative effects of antiepileptic drugs on mood in patients with epilepsy. **Drug Safety: an international journal of medical toxicology and drug experience**, v. 30, n. 7, p. 555-67, 2007.

MULCRONE, J.; KERWIN, R.W. No difference in the expression of the D4 gene in post-mortem frontal cortex from controls and schizophrenics. **Neuroscience Letters**, v. 219, p. 163-6, 1996.

NIZNIK, H. B.; VAN TOL, H. H. M. Dopamine receptor genes: new tools for molecular psychiatry. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, Vol. 17, No. 4, 158-80, 1992.

NUTT, D. J. The role of dopamine and norepinephrine in depression and antidepressant treatment. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 67, p. 3-8, 2006. Supplement 6.

NUTT, D. J.; BALDWIN, D. M.; CLAYTON, A. H.; ELGIE, R.; LECRUBIER, Y.; MONTEJO, A. L.; PAPAKOSTAS, G. I.; SOUERY, D.; TRIVEDI, M. H.; TYLEE, A. The role of dopamine and norepinephrine in depression and antidepressant treatment - consensus statement and research needs. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 67, p. 46-9, 2006. Supplement 6.

PAGANO, M., GAVREAU, K. **Princípios de Bioestatística**, 2^a edição, São Paulo: Pioneira Thomsom Learning, 2004.

PANDEY, G. N.; PANDEY, S. C.; REN, X.; DWIVEDI, Y.; AND JANICAK, P. G. Serotonin receptors in platelets of bipolar and schizoaffective patients: effect of lithium treatment. **Psychopharmacology**, v. 170, p. 115–23, 2003.

PANDEY, G. N.; DWIVEDI, Y.; REN, X.; RIZAVI, H. S.; FALUDI, G.; SAROSI, A.; PALKOVITS, M. Regional distribution and relative abundance of serotonin(2c) receptors in human brain: effect of suicide. **Neurochemical Research**, v. 31, n. 2, p. 167-76, 2006 Feb.

PARINI, S.; RENOLDI, G.; BATTAGLIA, A.; INVERNIZZI, R. W. Chronic reboxetine desensitizes terminal but not somatodendritic α 2-adrenoceptors controlling noradrenaline release in the rat dorsal hippocampus. **Neuropsychopharmacology**: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, v. 30, p. 1048–55, 2005.

PASQUALETTI, M.; NARDI, I.; LADINSKY, H.; MARAZZITI, D.; CASSANO, G. B. Comparative anatomical distribution of serotonin 1A, 1D alpha and 2A receptor mRNAs in human brain postmortem. **Brain Research. Molecular Brain Research**, v. 39, n. 1-2, p. 223-33, 1996 Jul.

PASQUALETTI, M.; ORI, M.; CASTAGNA, M.; MARAZZITI, D.; CASSANO, G. B.; NARDI, I. Distribution and cellular localization of the serotonin type 2c receptor messenger RNA in human brain. **Neuroscience**, v. 92, p. 601–611, 1999.

PASSCHIER, J.; VAN WAARDE, A. Visualisation of serotonin-1A (5-HT1A) receptors in the central nervous system. **European Journal of Nuclear Medicine**, v. 28, n. 1, p. 113-29, 2001 Jan.

PONCELET, M.; ETIENNE, S.; DOARE, L.; SIMON, P. Anticonvulsant activity of diphenylhydantoin: pharmacological evidence for an alpha-adrenergic mechanism of action. **Journal de Pharmacologie**, v. 15, n. 4, p. 427-32, 1984 Oct-Dec.

PONCELET, M.; BROCHET, D.; CHERMAT, R.; SIMON, P. Antidepressant-like effects of diphenylhydantoin in mice: involvement of α -adrenoceptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 120, p. 133-5, 1986.

POSENER, J. A.; WANG, L.; PRICE, J. L.; GADO, M. H.; PROVINCE, M. A.; MILLER, M. I.; BABB, C. M.; CSERNANSKY, J. G. High-dimensional mapping of the hippocampus in depression. **American Journal of Psychiatry**, v. 160, p. 83–89, 2003.

POST, R. M.; RUBINOW, D. R.; UHDE, T. W.; BALLENGER, J. C.; LAKE, C. R.; LINNOILA, M.; JIMERSON, D. C.; REUS, V. Effects of carbamazepine on noradrenergic mechanisms in affectively ill patients. **Psychopharmacology**, v. 87, n. 1, p. 59-63, 1985.

PRIMUS, R. J.; THURKAUF, A.; XU, J.; YEVICH, E.; MCINERNEY, S.; SHAW, K.; TALLMAN J. F.; GALLAGER, D. W. II. Localization and characterization of dopamine D4 binding sites in rat and human brain by use of the novel, D4 receptor-selective ligand [3H]NGD 94-1. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 282, p. 1020–1027, 1997.

PUCADYIL, T. J.; KALIPATNAPU, S.; CHATTOPADHYAY, A. The serotonin1A receptor: a representative member of the serotonin receptor family. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 25, p. 553 -80, 2005.

PURKINJE, J. E. Neueste untersuchungen aus der nerven- und hirnanatomie. In: STERNBERG, K.; KROMBHOLTZ, J. V. (Eds.). **Bericht über die versammlung deutscher naturforscher und aertze in Prag im september 1837**. Prague, 1837. p. 177-180.

QUIGG, M.; BROSHEK, D. K.; HEIDAL-SCHILTZ, S.; MAEDGEN, J. W.; BERTRAM III, E. H. Depression in intractable partial epilepsy varies by laterality of focus and surgery. **Epilepsia**, v. 44, n. 3, p. 419-424, 2003.

RAMÓN y CAJAL, S. Revista trimestral de histología normal y patológica, 1888; In: RAMÓN y CAJAL, S. **Histology of the nervous system of man and vertebrates**. Tradução SWANSON, N.; SWANSON, L. W. New York: Oxford University Press, 1995. p. xxiv-xxv.

RINCÓN-LIMAS, D. E.; AMAYA-MANZANARES, F.; NIÑO-ROSALES, M. L.; YU, Y.; YANG, T. P.; PATEL, P. I. Ubiquitous and neuronal DNA-binding proteins interact with a negative regulatory element of the human hypoxanthine phosphoribosyltransferase gene. **Molecular and Cellular Biology**, v. 15, n. 12, p. 6561–6571, 1995 Dec.

RUPNIAK, N. M. J. New insights into the antidepressant actions of substance P (NK₁ receptor) antagonists. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 80, p. 489-94, 2002.

RUTECKI, P. A. Noradrenergic modulation of epileptiform activity in the hippocampus. **Epilepsy Research**, v. 20, p. 125-136, 1995.

SACHDEV, P. Schizophrenia-Like psychosis and epilepsy: the status of the association. **The American Journal of Psychiatry**, v. 155, p. 325–336, 1998.

SACHDEV, P. Alternating and postictal psychoses: review and a unifying hypothesis. **Schizophrenia Bulletin**, v. 33, p. 1029–37, 2007 July.

SANTARELLI, L.; GOBBI, G.; BLIER, P.; HEN, R. Behavioral and physiologic effects of genetic or pharmacologic inactivation of the substance P receptor (NK1). **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 63, p. 11-7, 2002. Supplement 11.

SANTARELLI, L.; SAXE, M.; GROSS, C.; SURGET, A.; BATTAGLIA, F.; DULAWA, S.; WEISSTAUB, N.; LEE, J.; DUMAN, R.; ARANCIO, O.; BELZUNG, C.; HEN, R. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. **Science**, v. 301, p. 805-9, 2003.

SALZBERG, M.; TAHER, T.; DAVIE, M.; CARNE, R.; HICKS, R. J.; COOK, M.; MURPHY, M.; VINTON, A.; O'BRIEN, T. J. Depression in temporal lobe epilepsy surgery patients: an FDG-PET study. **Epilepsia**, v. 47, n. 12, p. 2125–2130, 2006.

SAS Institute Inc., **SAS/STAT®** user's guide. Version 9. Cary: SAS Institute Inc., 2002.

SAVIC, I.; LINDSTRÖM, P.; GULYÁS, B.; HALLDIN, C.; ANDRÉE, B.; FARDE, L. Limbic reductions of 5-HT_{1A} receptor binding in human temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v. 62, p. 1343-51, 2004.

SCHAUB, C.; UEBACHS, M.; BECK, H. Diminished response of CA1 neurons to antiepileptic drugs in chronic epilepsy. **Epilepsia**, v. 48, n.7, p.1339–1350, 2007.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American Journal of Psychiatry**, v. 122, p. 509-20, 1965.

SCRIDELI, C. A.; CAZZANIGA, G.; FAZIO, G.; PIROLA, L.; CALLEGARO, A.; BASSAN, R.; RAMBALDI, A.; LO NIGRO, L.; BASSO, G.; MASERA, G.; BIONDI, A. Gene expression profile unravels significant differences between childhood and adult Ph+ acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia** : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, v. 17, p. 2234-7, 2003.

SERGEEVA, O. A.; AMBERGER, B. T.; HAAS, H. L. Editing of AMPA and serotonin 2C receptors in individual central neurons, controlling wakefulness. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 27, n. 5, p. 669-80, 2007 Aug.

SERRETTI, A.; ARTIOLI, P.; DE TRONCHI, D. The 5-HT_{2C} receptor as a target for mood disorders. **Expert opinion on therapeutic targets**, v. 8, p. 15-23, 2004.

SHAW, P.; MELLERS, J.; HENDERSON, M.; POLKEY, C.; DAVID, A. S.; TOONE, B. K. Schizophrenia-like psychosis arising de novo following a temporal lobectomy: timing and risk factors. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 75, p. 1003–1008, 2004.

SHERWIN, I.; PERON-MAGNAN, P.; BANCAUD, J.; BONIS, A.; TALAIRACH, J. Prevalence of psychosis in epilepsy as a function of the laterality of the epileptogenic lesion. **Archives of Neurology**, v. 39, n. 10, p. 621-5, 1982 Oct.

SHIRAYAMA, Y.; MITSUSHIO, H.; TAKAHASHI, K.; NISHIKAWA, T. Differential effects of haloperidol on phencyclidine-induced reduction in substance P contents in rat brain regions. **Synapse**, v. 35, n. 4, p. 292-9, 2000.

STEFANIS, N.C.; BRESNICK, J. N.; KERWIN, R. W.; SCHOFIELD, W. N.; McALLISTER, G. Elevation of D4 dopamine receptor mRNA in postmortem schizophrenic brain. **Brain Research. Molecular Brain Research**, v. 53, n. 1-2, p. 112-9, 1998 Jan.

STOCKMEIER, C. A.; SHI, X.; KONICK, L.; OVERHOLSER, J. C.; JURJUS, G.; MELTZER, H. Y.; FRIEDMAN, L.; BLIER, P.; RAJKOWSKA, G. Neurokinin-1 receptors are decreased in major depressive disorder. **Neuroreport**, v. 13, n. 9, p. 1223-7, 2002 Jul.

SULLIVAN, N.R.; BURKE, T.; SIAFAKA-KAPADAI, A.; JAVORS, M.; HENSLER, J.G. Effect of valproic acid on serotonin-2A receptor signaling in C6 glioma cells. **Journal of Neurochemistry**, v. 90, p. 1269-75, 2004.

SZOT, P.; LESTER, M.; LAUGHLIN, M. L.; PALMITER, R. D.; LILES, L. C.; WEINSHENKER, D. The anticonvulsant and proconvulsant effects of α_2 -adrenoreceptor agonists are mediated by distinct populations of α_2 -adrenoreceptors. *Neuroscience*, v. 126, p. 795-803, 2004.

SZOT, P.; WHITE, S. S.; GREENUP, J. L.; LEVERENZ, J. B.; PESKIND, E. R.; RASKIND M. A. α_1 -Adrenoreceptor in human hippocampus: binding and receptor subtype mRNA expression. **Molecular Brain Research**, v. 139, p. 367 - 71, 2005.

TAKAHASHI, K.; TANAKA, A.; HARA, M.; NAKANISHI, S. The primary structure and gene organization of human substance P and neuromedin K receptors. **European Journal of Biochemistry**, v. 204, n. 3, p. 1025-33, 1992 Mar.

TAKEDA, Y.; CHOU, K. B.; TAKEDA, J.; SACHAIS, B. S.; KRAUSE, J. E. Molecular cloning, structural characterization and functional expression of the human substance P receptor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 179, n. 3, p. 1232-40, 1991 Sep.

TAKEUCHI, K.; UEMATSU, M.; OFUJI, M.; MORIKIYO, M.; KAIYA, H. Substance P involved in mental disorders. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 12, p. S157-64, 1988, Supplement.

THEODORE, W. H.; HASLER, G.; GIOVACCHINI, G.; KELLEY, K.; REEVES-TYER, P.; HERSCOVITCH, P.; DREVETS, W. Reduced Hippocampal 5HT1A PET Receptor Binding and Depression in Temporal Lobe Epilepsy. **Epilepsia**, v. 48, n. 8, p. 1526–30, 2007.

TIMMONS, S.D.; GEISERT, E.; STEWART, A.E.; LORENZON, N.M.; FOEHRING, R.C. α 2-Adrenergic receptor-mediated modulation of calcium current in neocortical pyramidal neurons. **Brain Research**, v. 1014, p. 184–96, 2004.

TOCZEK, M. T.; CARSON, R. E.; LANG, L.; MA, Y.; SPANAKI, M. V.; DER, M. G.; FAZILAT, S.; KOPYLEV, L.; HERSCOVITCH, P.; ECKELMAN, W. C.; THEODORE, W. H. PET imaging of 5-HT1A receptor binding in patients with temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v. 60, n. 5, p. 749-56, 2003 Mar.

TOHDA, M.; NOMURA, M.; NOMURA, Y. Molecular pathopharmacology of 5-HT2C receptors and the RNA editing in the brain. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 100, p. 427 – 432, 2006.

TOONEY, P. A.; CRAWTER, V. C.; CHAHL, L. A. Increased tachykinin NK(1) receptor immunoreactivity in the prefrontal cortex in schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 49, n. 6, p. 523-7, 2001.

TORTA, R.; KELLER, R. Behavioral, psychotic, and anxiety disorders in epilepsy: etiology, clinical features, and therapeutic implications. **Epilepsia**, v. 40, p. 2–20, 1999. Supplement 10.

TÓTH, K.; WITTNER, L.; URBÁN, Z.; DOYLE, W. K.; BUZSÁKI, G.; SHIGEMOTO, R.; FREUND, T. F.; MAGLÓCZK, Z. Y. Morphology and synaptic input of substance P receptor-immunoreactive interneurons in control and epileptic human hippocampus. **Neuroscience**, v. 144, p. 495–508, 2007.

VAN DER HART, M. G. C.; CZÉH, B.; BIURRUN, G.; MICHAELIS, T.; WATANABE, T.; NATT, O.; FRAHM, J.; FUCHS, E. Substance P receptor antagonist and clomipramine prevent stress-induced alterations in cerebral metabolites, cytogenesis in the dentate gyrus and hippocampal volume. **Molecular Psychiatry**, v. 7, p. 933–941, 2002.

VANDESOMPELE, J.; DE PRETER, K.; PATTYN, F.; POPPE, B.; VAN ROY, N.; DE PAEPE, A.; SPELEMAN, F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**, v. 3, n.7, p. 0034.1–0034.11, 2002.

VERHOEFF, N. P. L.G.; MEYER, J. H.; KECOJEVIC, A. HUSSEY, D.; LEWIS, R.; TAUSCHER, J.; ZIPURSKY, R. B.; KAPUR, S. A voxel-by-voxel analysis of w18Fsetoperone PET data shows no substantial serotonin 5-HT receptor 2A changes in schizophrenia. **Psychiatry Research: Neuroimaging Section**, v. 99, p. 123-135, 2000.

VOLLMERT, C.; TOST, H.; BRASSEN, S.; JATZKO, A.; BRAUS, D. F. Depression und moderne bildgebung. **Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie**, v. 72, n. 8, p. 435-5, 2004.

VUCKOVIC, S. M.; TOMIC, M. A.; STEPANOVIC-PETROVIC, R. M.; UGRESIC, N.; PROSTRAN, M. S.; BOSKOVIC, B. The effects of α_2 -adrenoceptor agents on anti-hyperalgesic effects of carbamazepine and oxcarbazepine in a rat model of inflammatory pain. **Pain**, v. 125, p. 10–19, 2006.

WADENBERG, M.-L.; HERTEL, P.; FERNHOLM, R.; BLAKEMAN, K. H.; AHLENIUS, S.; SVENSSON, T. H. Enhancement of antipsychotic-like effects by combined treatment with the α_1 -adrenoceptor antagonist prazosin and the dopamine D2 receptor antagonist raclopride in rats. **Journal of Neural Transmission**, v. 107, p. 1229-1238, 2000.

WASTERLAIN, C. G.; LIU, H.; MAZARATI, A. M.; BALDWIN, R. A.; SHIRASAKA, Y.; KATSUMORI, H.; THOMPSON, K. W.; SANKAR, R.; PEREIRA DE VASCONCELOS, A.; NEHLIG, A. Self-sustaining status epilepticus: a condition maintained by potentiation of glutamate receptors and by plastic changes in substance P and other peptide neuromodulators. **Epilepsia**, v. 41, p. 134-43, 2000. Supplement 6.

WERHAHN, K. J.; LANDVOGT, C.; KLIMPE, S.; BUCHHOLZ, H.; YAKUSHEV, I.; SIESSMEIER, T.; MÜLLER-FORELL, W.; PIEL, M.; RÖSCH, F.; GLASER, M.; SCHRECKENBERGER, M.; BARTENSTEIN, P. Decreased dopamine D2/D3-receptor binding in temporal lobe epilepsy: an [18F]Fallypride PET study. **Epilepsia**, v. 47, n. 8, p. 1392–1396, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The global burden of disease** – a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries and risk factors, in 1990 and projected to 2020. Murray, C. J. L.; Lopez, A. D. (Eds.) Geneva: World Health Organization, 1996.

WRENCH, J.; WILSON, S. J.; BLADIN, P. F. Mood disturbance before and after epilepsy surgery: a comparison of temporal and extratemporal resections. **Epilepsia**, v. 45, n. 5, p. 534-543, 2004.

YUDOFISKY, S. C.; HALES, R. E. **Neuropsiquiatria e neurociências na prática clínica**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

ZACHRISSON, O.; LINDEFORS, N.; BRENE, S. A tachykinin NK receptor antagonist, CP-122,721-1, attenuates kainic 1 acid-induced seizure activity. **Brain research. Molecular Brain Research**, v. 60, p. 291–295, 1998.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
"CAMPUS" DE RIBEIRÃO PRETO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Av. Bandeirantes, nº 3900 - Ribeirão Preto - SP
 CEP 14049-900 - Telefone: (16) 3602 3013
 Fax (16) 3633-1786

Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos

APÊNDICE A

Ribeirão Preto, 04 de novembro de 2005.

Ilmo. Prof. Dr. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
 Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas
 Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
 Universidade de São Paulo

Vimos por meio desta solicitar a dispensa de preenchimento de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido referente ao projeto de pesquisa intitulado **Estudo de neurotransmissores relacionados à depressão e psicose em amostras de cérebro humano de pacientes submetidos à cirurgia por epilepsia de lobo temporal**, visto que o material que será utilizado neste estudo já dispõe do referido termo assinado pelos doadores. A fonte do material será o **Banco de Amostras de Tecido Cerebral do Laboratório de Investigação em Epilepsia** (HCRP 9370/2003, coordenado pelo Prof. Dr. João Pereira Leite) e o **Banco de Amostras de Tecido Cerebral (córtex, amígdala e hipocampo) ressecado durante cirurgia de epilepsia e de tecido tumoral cerebral** (HCRP 7645/1999, aprovado em 17/08/2005, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos Gilberto Carlotti Jr).

Sem mais para o momento,

EDSON ARTHUR SCHERER
 Pesquisador
 Aluno de doutorado em Patologia Experimental
 FMRP - USP

Prof. Dr. JORGE EDUARDO MOREIRA
 Orientador
 Departamento de Biologia Celular e Molecular e
 Bioagentes Patogênicos
 FMRP – USP

Prof. Dr. JOÃO PEREIRA LEITE
 Departamento de Neurologia, Psiquiatria e
 Psicologia Médica – FMRP – USP
 Coordenador do Banco de Amostras de Tecido
 Cerebral do Laboratório de Investigação em
 Epilepsia (HCRP 9370/2003)

Prof. Dr. CARLOS GILBERTO CARLOTTI Jr
 Departamento de Cirurgia e Anatomia – FMRP – USP
 Coordenador do Banco de Amostras de Tecido Cerebral
 (córtex, amígdala e hipocampo) ressecado durante
 cirurgia de epilepsia e de tecido tumoral cerebral (HCRP
 7645/1999, aprovado em 17/08/2005).

APÊNDICE B

Termo de Consentimento Pós-Informação

Prezado(a) Sr(a):

Estamos desenvolvendo a pesquisa “Estudo de neurotransmissores relacionados à depressão e psicose em amostras de cérebro humano de pacientes submetidos à cirurgia por epilepsia de lobo temporal”.

Esta pesquisa está sendo desenvolvida para revelar as possíveis alterações da expressão gênica dos receptores dos neurotransmissores adrenérgicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos e da substância P (relacionados à depressão e psicose) em fragmentos de hipocampus retirados de pessoas submetidas ao tratamento cirúrgico para epilepsia de lobo temporal. Pretendemos obter um maior conhecimento acerca da epilepsia e dos distúrbios psicóticos e depressivos associados, colaborando com seu diagnóstico e tratamento. Para que possamos ter um parâmetro de comparação com os resultados que obtivermos com estas amostras, necessitamos de fragmentos de hipocampus de pessoas que não tenham tido epilepsia, psicose e depressão ao longo de suas vidas. Este grupo de pessoas será denominado de grupo controle.

Durante as necropsias são retirados fragmentos de vários tecidos do corpo humano utilizados em exames anátomo-patológicos para o estabelecimento de um diagnóstico definitivo da causa *mortis* e das possíveis doenças associadas presentes na pessoa.

Assim, gostaríamos de contar com sua autorização para, no momento da necropsia de seu familiar, remover um fragmento do hipocampo do mesmo, pois, este constituirá uma das amostras do grupo controle desta pesquisa. A obtenção deste fragmento não interferirá nos procedimentos de necropsia. Ele será identificado com código formado por números e letras e, portanto, a privacidade e identidade de seu familiar serão preservadas. A eventual publicação dos resultados, incluindo os achados referentes aos doadores, será feita mantendo o anonimato de todos os pacientes envolvidos.

Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____, _____ anos, RG. nº _____
 _____ estou ciente das informações sobre a pesquisa na qual será utilizado um
 fragmento do hipocampo do meu familiar
 _____, por ocasião de sua necropsia.

Estou ciente de que a minha concordância em permitir a retirada deste material do meu familiar, quando de sua necropsia, não me causará nenhum dano, risco ou ônus. Serão mantidos o sigilo e anonimato das informações referentes a mim e ao meu familiar. Fui esclarecido, também, de que não terei quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os resultados decorrentes desta pesquisa. A qualquer momento da realização da pesquisa, caso não seja mais de meu interesse, poderei recusar a participação na mesma, sem prejuízo à minha pessoa.

Concordei, portanto, voluntariamente em autorizar a remoção, durante a necropsia do meu familiar, do material necessário a este estudo, cujos resultados poderão ser publicados e/ou apresentados com objetivo científico.

Assinatura: _____

Data: _____

Pesquisador responsável: _____

Dr Edson Arthur Scherer

Telefone para contato: (16) 3602-2430



CEP. 14048-900
RIBEIRÃO PRETO - S.P.
BRASIL

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE
FONE: 602-1000 - FAX (016) 633-1144

Ribeirão Preto, 08 de dezembro de 2005

Ofício nº 3447/2005
CEP/SPC

Prezado Senhor:

O trabalho intitulado **“ESTUDO DE NEUROTRANSMISSORES RELACIONADOS À DEPRESSÃO E PSICOSE EM AMOSTRAS DE CÉREBRO HUMANO DE PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA POR EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 216ª Reunião Ordinária realizada em 05/12/2005, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, de acordo com o Processo HCRP nº 15174/2005.

Aproveito a oportunidade para apresentar a Vossa Senhoria protestos de estima e consideração.

PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
do HCFMRP-USP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
EDSON ARTHUR SCHERER
PROF. DR. JORGE EDUARDO MOREIRA(Orientador)
Depto. de Biologia Celular e Molecular e
Bioagentes Patogênicos -FMRP-USP
Em mãos