

### 3.

## Aspectos das Vias de Neurotransmissão

### 3.1.

#### Vias Glutamatérgicas

A Figura 2 mostra as vias glutamatérgicas no cérebro de forma clara. O glutamato é o principal neurotransmissor com atividade excitatória no SNC (Watkins, 2000) dos mamíferos, e, mesmo em quantidades pequenas, pode desencadear potenciais de ação. Uma das rotas glutamatérgicas mais longa tem a sua origem no córtex, e os seus axônios descem até fazerem ramificações na ponte e tronco cerebral, excitando assim neurônios motores atuantes numa variedade de músculos.

No tronco cerebral, esses axônios, por sua vez, seguem em direção à medula espinhal, podendo excitar neurônios motores ao longo de cada nível da espinhal dorsal, gerando, conseqüentemente, contração muscular. Outra rota é igualmente importante no controle do comportamento motor, tendo os seus corpos celulares origem também no córtex e projetando-se para o neocórtex.

Uma rota excitatória importante também se localiza entre o córtex e o tálamo. Nela, os neurônios excitam-se uns aos outros, ficando este circuito ativo enquanto uma atividade motora contínua estiver sendo executada. A excitação neuronal em questão deve parar para que a atividade pare e seja iniciada uma nova ação. De grande relevância é o fato de o hipocampo utilizar uma rota de glutamato, no qual os axônios projetam-se através do fórnix para chegar ao corpo mamilar. Um grande número de neurônios de glutamato têm corpos celulares no tronco cerebral (já mencionado acima) com projeções indo em direção ao cerebelo e envolvidos na coordenação motora, sendo que os axônios mais longos trocam informações entre os hemisférios (atravessam o corpo caloso) e entre os vários lobos de cada hemisfério.

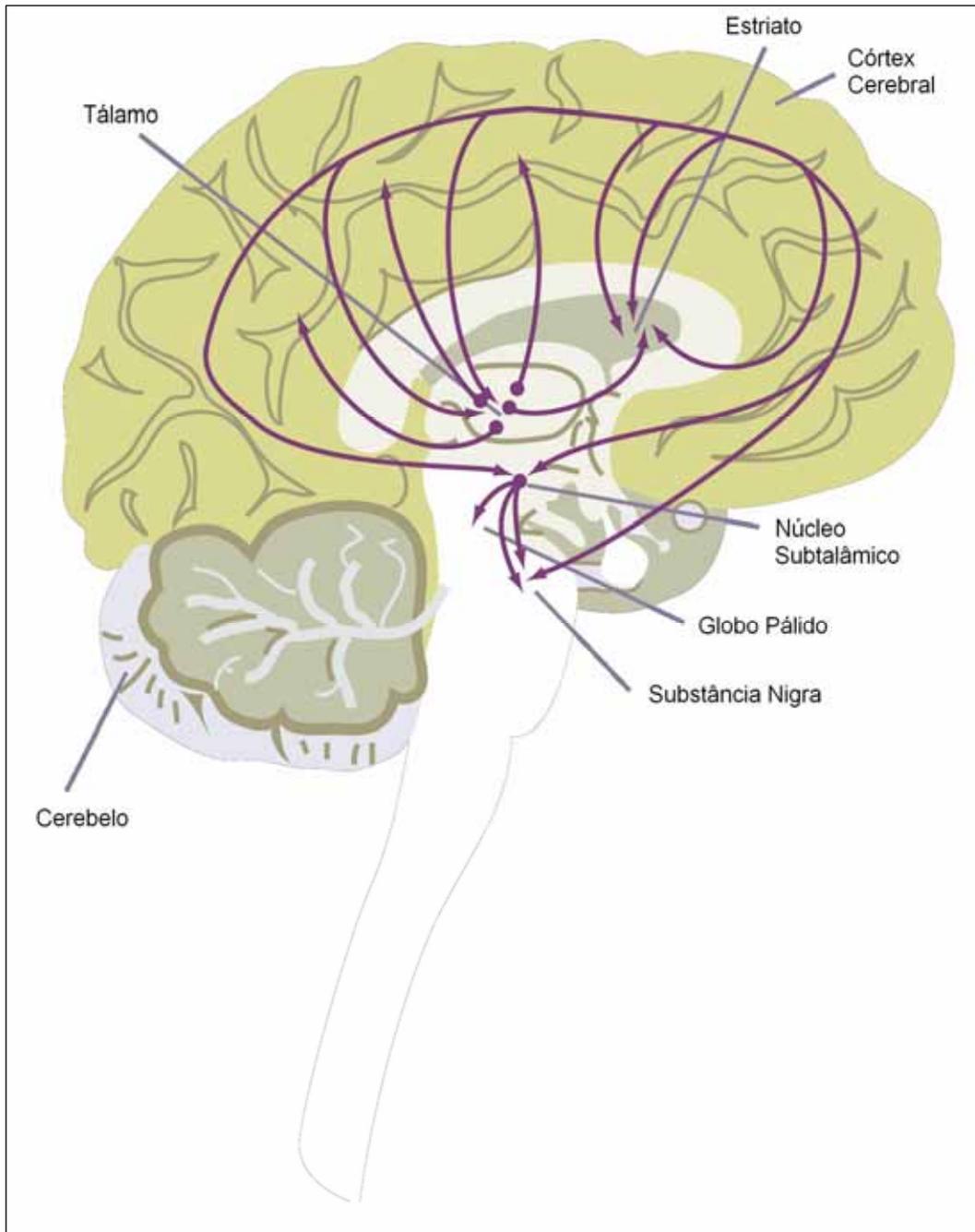


Figura 2. Vias Glutamatérgicas no cérebro

### 3.2.

#### Receptores Glutamatérgicos

Os receptores de glutamato participam de forma vital na mediação da sinapse excitatória. Este processo é a forma pela qual as células neuronais (neurônios) se comunicam entre si. Um pulso elétrico em uma célula causa um influxo de cálcio e, conseqüentemente, a saída de neurotransmissores (ex: glutamato). O neurotransmissor se difunde na fenda sináptica e estimula (ou inibe) a próxima célula que interage com as proteínas receptoras. A estrutura especializada que faz esta função vital é a sinapse; e de fato é dentro da sinapse que os receptores glutamatérgicos são geralmente encontrados. Segundo Bittencourt, Carobrez, Zamprogno, Tufik e Schenberg (2004), a MCP, por sua vez, é rica em glutamato, aspartato e receptores específicos. Leva-se em consideração que a matéria cinzenta periaquedutal dorsolateral (MCPDL) apresenta a maior densidade destes receptores incluindo o *ácido* N-metil-D-Aspartato (NMDA).

Entre os receptores glutamatérgicos existem representantes tanto da superfamília de receptores iGLU quanto de receptores mGLU. Existem três classes ionotrópicas subdivididas em três grupos baseados na farmacologia e estrutura similar ( NMDA, Cainato e AMPA) e os receptores metabotrópicos (ACPD e L-AP4).

O receptor NMDA é um importante receptor ionotrópico. No caso o cálcio flui através do canal e, conseqüentemente, ativa uma série de enzimas neuronais. Contudo, uma série de ações deve ser estabelecida antes que o canal abra e permita o cálcio de entrar: 1) Ligação do neurotransmissor glutamato; 2) Ligação de glicina; 3) Despolarização da membrana pós-sináptica. Leva-se em consideração que tanto o neurotransmissor de NMDA quanto a glicina devem se ligar simultaneamente aos receptores de NMDA. Os três fatores acima citados provocam então uma mudança na conformação alostérica do receptor, diminuindo a afinidade pelo magnésio que é deslocado, permitindo o fluxo de íons através do canal iônico. Leva-se em consideração que a ativação dos receptores NMDA é voltagem dependente e desencadeia influxo de Cálcio que aumenta a intensidade e prolonga a duração da despolarização neuronal pós-sináptica.

Clements (1987) mostrou que a MCP contém neurônios glutamatérgicos distribuídos heterogeneamente e que a maioria de suas células estão localizadas na MCPV e MCPD. De grande importância também foram os estudos topográficos do NMDA na MCP indicando que áreas como a matéria cinzenta periaquedutal ventro lateral (MCPVL), por exemplo, tem menores níveis deste neurotransmissor (Albin *et al.*, 1990., Gundlach 1991 ) se comparado com outras áreas, como, por exemplo, a MCPD, área de estudo de nosso presente trabalho.

A distinção entre os receptores ionotrópicos AMPA e Cainato é difícil e ainda não muito bem elucidada; os mesmos se localizam em regiões telencefálicas, mas verificou-se que ambos estão envolvidos na neurotransmissão excitatória rápida. Quando ativados, estes receptores induzem a uma despolarização rápida do neurônio pós-sináptico que tem a duração somente de alguns milissegundos.

O glutamato também se liga a receptores de natureza metabotrópica como já mencionado. Os receptores metabotrópicos têm a sua ação mediada por proteína G e como consequência acabam por inibir a adenil ciclase. Os receptores metabotrópicos ativam também certas enzimas que acabam por desativar os canais de cálcio ativados por voltagem no neurônio, desativando-os. Conseqüentemente, a liberação de neurotransmissores glutamatérgicos cessa e, conseqüentemente, ocorre uma diminuição na excitabilidade neuronal. Sendo assim, os receptores metabotrópicos realizam o oposto dos receptores de AMPA e Cainato. Pode-se encontrar também receptores metabotrópicos na pré-sinapse onde também têm o papel de diminuir a liberação de glutamato e com isso regular a excitabilidade.

### 3.3.

#### **Farmacologia dos Neurônios Glutamatérgicos**

De fato as ações excitatórias do glutamato são conhecidas desde os anos 50 ( Hayashi , 1952; Curtis, Phillis e Watkins, 1959 ); experimentos que foram realizados ao longo dos anos têm comprovado o envolvimento com o desenvolvimento neural. Os neurônios glutamatérgicos de fato estão espalhados por todo o SNC e já demonstraram estar envolvidos em vários processos cerebrais, incluindo, por exemplo, aprendizagem, neurodegeneração aguda (Swan e Meldrum, 1990), neurodegeneração crônica ( Hndy, Scott e Dodd, 2004 ),

transtornos de ansiedade (Meldrum, 2000) e depressão ( Meldrum, 2000; Ottersen, Storm-Mathisen, 2000 ).

O glutamato atua no cérebro influenciando também na liberação de outros neurotransmissores, como, por exemplo, as monoaminas e o GABA. Evidências do envolvimento da MCPD no efeito de determinados compostos foram obtidas em um estudo no qual ocorreram microinjeções de um antagonista do sítio receptor de glicina na MCPD. Este antagonista, por sua vez, aboliu os efeitos ansiogênicos do pentilenotetrazol injetado intraperitonealmente. Contudo, as microinjeções de glicina na MCPD acabaram por reduzir os efeitos ansiolíticos do diazepam injetado via sistêmica, mostrando assim que a atividade excitatória do receptor glutamatérgico na MCPD poderia influenciar no efeito ansiolítico dos benzodiazepínicos.

Existem vários agonistas e antagonistas para os diferentes sítios de ligação no receptor NMDA. Alguns sítios são de fato importantes para entendimento tanto da esquizofrenia em humanos quanto dos comportamentos defensivos em ratos.

### **3.4.**

#### **Vias Gabaérgicas**

A Figura 3. mostra as vias gabaérgicas no cérebro de forma clara. O ácido aminobutírico (GABA) é o principal neurotransmissor com atividade inibitória no SNC em vertebrados. O sistema gabaérgico está envolto em várias funções fisiológicas, alterações neurológicas e psiquiátricas.

As rotas do GABA são de fato longas e complexas, dentro do cérebro. Algo importante a se mencionar é que o hipocampo é uma estrutura rica em neurônios gabaérgicos ( Kalluef e Nutt, 2006; Banks, White e Pearce, 2000). Sendo assim, devemos mencionar que a atuação já consagrada do hipocampo, no processo da memória, e da mesma, na ansiedade e depressão, faz com que pensemos em uma correlação entre a patogenia da ansiedade e depressão com o funcionamento gabaérgico ligado à memória no hipocampo (Kalluef e Nutt,2006). Devemos mencionar também que as mudanças cerebrais modificam o metabolismo e a morfologia associados à depressão maior encontrada na amígdala, estrutura rica em conexões gabaérgicas e associada à ansiedade. A

amígdala, por sua vez, está envolvida também no armazenamento das memórias aversivas (Kalluef e Nutt, 2006; Drevets, 1999; Sheline, 2003).

De fato, existe uma quantidade enorme de pequenos neurônios (interneurônios) espalhados ao longo do córtex com a função de inibição neuronal, mantendo assim um controle melhor do nível de excitação neuronal. O córtex pré-frontal, tradicionalmente ligado à memória e funções cognitivas superiores, também está envolvido no circuito de ansiedade, e, através de certos testes que simulavam várias desordens ansiogênicas, verificou-se a excitação desta área cerebral (Davidson, 2002).

Uma via gabaérgica importante começa no neocórtex, terminando no globo pálido interno. Os axônios desta área fazem sinapses com outros corpos celulares gabaérgicos no próprio globo pálido interno que se projetam para o tálamo. Temos também projeções gabaérgicas que saem do neocórtex indo em direção ao globo pálido externo, núcleo subtalâmico e substância negra reticulada. Da substância negra reticulada, as vias gabaérgicas vão para três áreas principais que seriam o colículo superior (importantes para movimentos oculares), núcleo pedunculopontino (ajuda no controle parcial dos músculos do tronco) e tálamo (ligado à circuitaria motora). Leva-se em consideração que a substância negra reticulada tem a função de liberar neurotransmissores GABA para as áreas citadas acima, inibindo seus neurônios.

Uma área de extrema importância também e rica em conexões gabaérgicas (Kalluef e Nutt, 2006; Bueno *et al.*, 2005) é o mesencéfalo medial. Sugere-se que o mesmo esteja envolvido na patogênese dos transtornos de ansiedade e depressão (Kalluef e Nutt, 2006; Brandão *et al.*, 2003; Graeff *et al.*, 1993).

De fato, é relevante mencionar que a MCP é também rica em conexões que envolvem neurônios gabaérgicos (Reichling e Basbaum, 1990; Reichling, 1991; Williams e Beitz 1990). Em adição, podemos dizer também que a própria MCP contém receptores de GABA e BZD (Mennini e Gobbi, 1990) e que o envolvimento das vias gabaérgicas na MCP com relação à ansiedade e ao comportamento de fuga já foi demonstrado em estudos comportamentais com animais em laboratório (Gomita *et al.*, 1991).

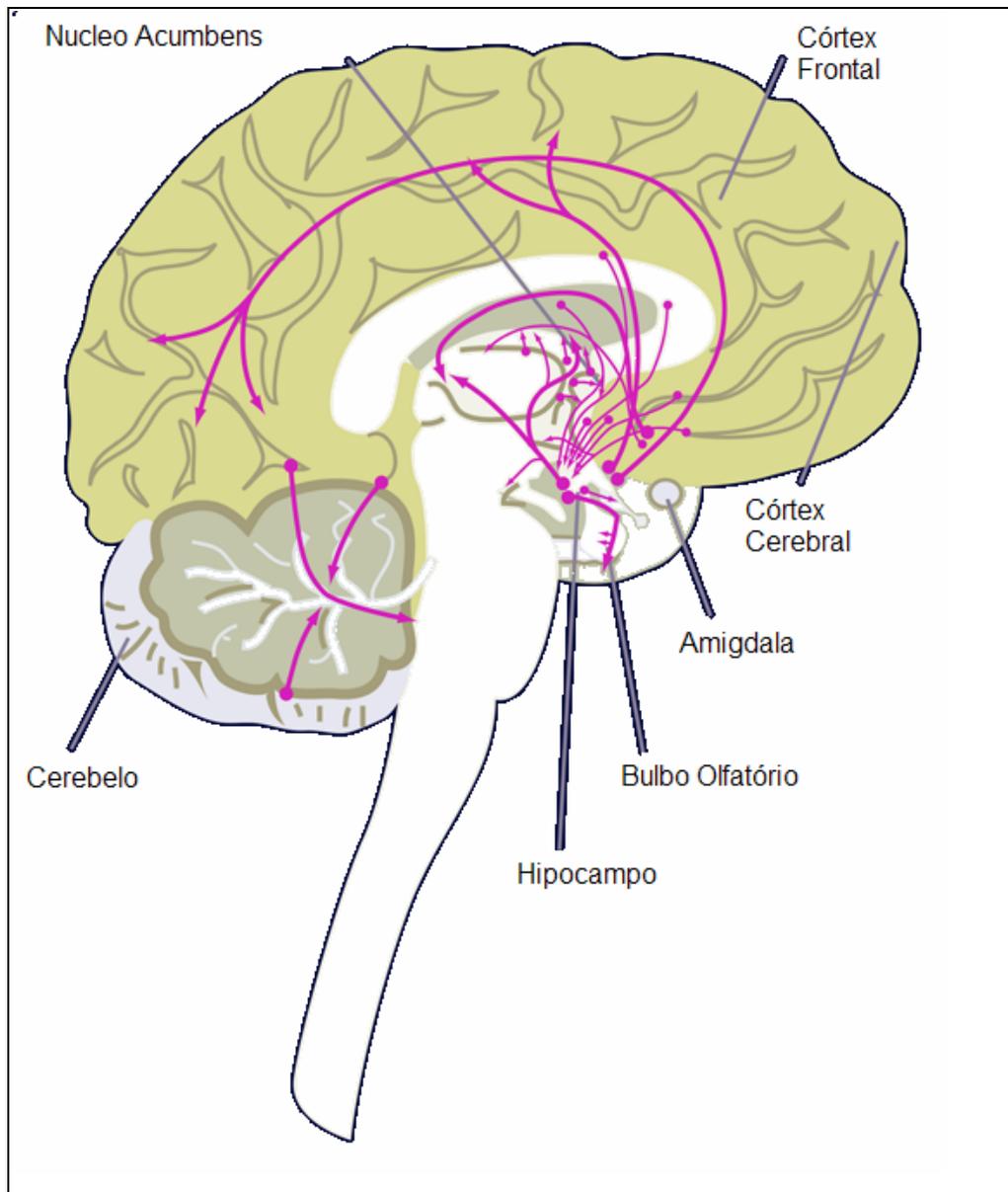


Figura 3. Vias Gabaérgicas no cérebro

### 3.5.

#### Receptores Gabaérgicos

Nos vertebrados, os receptores GABA são encontrados primeiramente nas membranas de células nervosas e, de forma eficaz, estão praticamente espalhados por todos os neurônios do SNC. Contudo, os receptores gabaérgicos não estão exclusivamente associados com neurônios. Eles se expressam também nos astrócitos. Por sua vez, os receptores gabaérgicos aparentam estar envolvidos na regulação dos canais de cloro. Leva-se em consideração que os receptores de GABA também são encontrados fora do SNC em neurônios relacionados ao sistema nervoso autônomo.

Nos vertebrados existem dois tipos de receptores de GABA: receptores ionotrópicos GABA-A (canal permeável de íon cloro  $Cl^-$ ) e receptores metabotrópicos GABA-B (acoplado a proteína G que regula a atividade dos canais de potássio e cálcio).

No início, esses receptores foram subdivididos nesses dois grupos tendo por base evidências farmacológicas. Entretanto, a separação funcional se estendeu para os mecanismos de segundo mensageiro, diferença na localização destes subtipos de receptores no SNC dos mamíferos e sua composição molecular. Soma-se o fato de que ambos os subtipos de receptores têm localizações pré e pós-sinápticas e participam de forma independente na transmissão sináptica.

Acredita-se que este mesmo neurotransmissor esteja envolvido na mediação ansiolítica, sedativa, anticonvulsivante e de relaxamento muscular. O receptor GABA-A pertence a uma grande família de canais iônicos ativados por neurotransmissor que apresenta uma similaridade estrutural com outras proteínas receptoras, como o receptor colinérgico nicotínico. Esses mesmos receptores ionotrópicos são complexos protéicos formados por 5 unidades que podem pertencer a 8 subclasses diferentes. Sua ativação resulta em um aumento do tempo médio de abertura do canal de cloro. A entrada desse ânion através do canal leva a uma hiperpolarização do neurônio pós-sináptico diminuindo a possibilidade de disparo.

Na estrutura do receptor GABA-A identificam-se também vários sítios de união para diferentes compostos que podem modular sua atividade. A picrotoxina e o t-butilbiciclofosforotionato (TBPS) são agentes convulsivantes que

compartilham um sítio de ação em um canal do receptor GABA-A. São antagonistas não competitivos que atuam bloqueando o canal de cloro, provocando uma diminuição do tempo de abertura.

Os receptores GABA-B metabotrópicos, como mencionado acima, estão presentes em quantidades pequenas no SNC; e de forma diferente dos receptores GABA-A ionotrópicos que estão associados a um canal de cloro, os receptores GABA-B estão ligados aos canais de cálcio (diminuição de sua condutância) e potássio (abertura destes canais) via segundo mensageiro além de inibir a adenil ciclase. A ação inibitória (hiperpolarização) dos receptores GABA-B parece estar mediada pelo aumento na condutância do potássio ou no decréscimo da condutância do cálcio. De fato, é importante ressaltar que os mesmos não são modulados por barbitúricos e nem por benzodiazepínicos. Estudos farmacológicos demonstraram que o bloqueio dos receptores GABA-B não produziram mudanças comportamentais relevantes como as observadas com a administração de antagonistas do receptor GABA-A. Acrescenta-se o fato de que o receptor GABA-B tem a função de atenuar a liberação da acetilcolina, amina biogênica, aminoácidos excitatórios, o próprio GABA, além de outras substâncias. Leva-se em conta que tanto os receptores GABA-B quanto o GABA-A demonstraram que estão envolvidos na regulação de vários mecanismos normais e patológicos do cérebro, que incluem sono, memória, epilepsia, além de outras funções (Kalueff e Nutt, 2006; Kalueff e Nutt, 1996; Kalueff., 2007; Leung e Xue, 2003; Vaiva *et al.*, 2004).

### 3.6.

#### **Farmacologia dos Neurônios Gabaérgicos**

De fato, as drogas podem influenciar as funções gabaérgicas interagindo de forma diferente, tanto em sítios pré como pós-sinápticos.

As drogas podem influenciar eventos pré-sinápticos que ocorrem assim como a quantidade de GABA que faz interação com os receptores pós-sinápticos gabaérgicos. Na maioria dos casos, os efeitos das drogas pré-sinápticas não envolvem interação com receptores gabaérgicos.

Estudos sobre a ação das drogas nos sítios pré-sinápticos envolvem o efeito inibitório sobre as enzimas envolvidas na síntese do GABA, em sua degradação e na recaptação neuronal do próprio GABA.

Uma ênfase é dada nos estudos da interação das drogas com os receptores gabaérgicos. Este tipo de droga pode ser classificada em duas categorias gerais: Antagonistas de GABA e Agonistas de GABA.

A ação do GABA em seu complexo pode ser feita por antagonistas de GABA de maneira direta através da competição com o GABA pelos seus receptores ou de forma indireta através da modificação do seu receptor. Os dois antagonistas clássicos são a bicuculina e a picrotoxina que atua por meios diferentes. A bicuculina por exemplo, atua como uma antagonista direto de GABA direto no receptor, enquanto a picrotoxina atua como um antagonista não competitivo de GABA junto com o pentilenotetrazol pelo fato de ambos bloquearem os canais de cloreto.

Estudos neuroquímicos indicaram que os BZDs acentuam a ação do GABA em nível pós-sináptico. Como sabemos, o receptor de GABA está acoplado a um canal de cloreto associado a um receptor benzodiazepínico.

Num estado conformacional de baixa afinidade, o receptor de GABA está liberado e o canal de cloreto fechado. A membrana celular é normalmente impermeável aos íons de cloreto. Quando os canais de cloreto se abrem, os íons de cloreto flutuam para dentro da célula. A combinação do GABA com o seu receptor acaba por resultar na abertura dos canais de cloreto e, conseqüentemente, a entrada dos íons, tendo assim uma hiperpolarização da membrana pós-sináptica. A ação farmacológica do BZDs seria exatamente de induzir uma alteração na macromolécula receptora, fazendo um aumento na afinidade dos receptores do tipo GABA-A pelo neurotransmissor e, conseqüentemente, facilitando a ação gabaérgica.

### **3.7.**

#### **Sistema GABA-Benzodiazepínico**

A importância do papel do GABA na ansiedade é sustentado fortemente pelo fato da eficácia dos benzodiazepínicos na diminuição da ansiedade, inclusive no TAG.

De fato, estudos anteriores demonstraram a presença de receptores BZDs no SNC corroborando com a hipótese de que existiriam substâncias endógenas que atuariam diretamente sobre eles, fazendo uma regulação nos estados de ansiedade normais e patológicos. Pesquisas feitas sugeriram também candidatos a ligantes naturais dos receptores BZDs isolando-os nos cérebros de mamíferos, inclusive no de humanos (Graeff, 1997b).

Os receptores BZDs e o GABA estão distribuídos de forma ampla pelo SNC exercendo influência em vários sistemas neuronais diferentes. Torna-se relevante então delimitar-se quais sistemas neuronais GABA-BZD participariam na regulação da ansiedade. Por exemplo, no caso de um efeito ansiolítico, as evidências apontam para a amígdala. Sugere-se que o sistema GABA-BZD da amígdala regule a ansiedade e a memória emocional (Graeff, 1997a ; Davis, 1997; Tomaz *et al.*, 1993).

A amígdala por sua vez parece estar relacionada com o medo condicionado e, na patologia, com o TAG, que é por sua vez suscetível aos medicamentos BZDs (Davis, 1997; Viana *et al.*, 1997). Enquanto que a MCPD estaria envolvida no medo incondicionado e no transtorno de pânico. Essa região possui um número bem menor de receptores BZDs quando comparada a amígdala. Sugere-se então que a MCPD possa ser uma área de ação de compostos BZDs potentes e eficazes no transtorno de pânico quando aplicado em doses elevadas e por períodos prolongados (Graeff, 1997a ; Graeff *et al.*, 1993; Russo *et al.*, 1993).

Em razão da observação dos dados de resposta clínica medicamentosa aos BZDs, vários grupos de pesquisa estudam de forma cuidadosa, anormalidades nos receptores BZDs em sujeitos com diagnóstico de transtorno de pânico (Goddard e Charney, 1997). Dados complementares de alguns pesquisadores levaram os mesmos a formular hipóteses de que haja uma disfunção dos receptores GABA em pacientes com transtorno de ansiedade, embora não exista nenhuma prova direta desta correlação. De fato o antagonista BZD, flumazenil, causa ataques de pânico severos em pacientes com transtorno de pânico mostrando um exemplo de como poderia ser dar esta disfunção (Kaplan *et al.*, 1994).

Outras evidências sugerem que os receptores BZDs periféricos também estejam implicados nos demais transtornos de ansiedade podendo ter grande chance de envolvimento na regulação da resposta de estresse.