

2.

Aspectos Históricos

2.1.

Glutamato

Altas concentrações de glutamato no cérebro foram observadas na década de 30 gerando especulações sobre a importância do papel neurofisiológico deste aminoácido, e acabando por gerar uma série de pesquisas ao longo da década de 40.

A ação do glutamato no cérebro, nesta época foi considerada em termos metabólicos dada a associação do aminoácido com o ciclo de Krebs.

Há 56 anos (Weil-Malherbe, 1950), levantou-se a suspeita sobre a importância do glutamato nas funções cerebrais. Em adição, foi considerado naquela época a possibilidade do glutamato ser capaz de debelar com a coma hipoglicêmica, de ter efeitos anticonvulsivantes contra a epilepsia de *petit mal* além de ter a capacidade de desenvolver a cognição em caso de déficits mentais. Entretanto, tais considerações foram refutadas por estudos envolvendo mecanismos adrenérgicos (Weil-Malherbe, 1950; Waelsch, 1962).

A sugestão que o glutamato poderia ser de fato um transmissor sináptico no cérebro foi feita primeiramente por Hayashi, que se baseou na sua descoberta de 1954 (Hayashi, 1954 e 1956), para levantar esta hipótese. Com o desenvolvimento de novas técnicas começou a se investigar melhor a função de substâncias no sistema nervoso central (SNC) chegando-se a conclusão que dois neurotransmissores principais do sistema nervoso periférico, acetilcolina e noradrenalina, deveriam ter um papel menor de ação no SNC (Crossland, 1957).

No final da década de 50 (Curtis, Phillis e Watkins, 1959 e 1960), verificou-se que o glutamato tinha a capacidade de despolarizar e excitar neurônios individuais na medula espinhal de gatos, consequentemente, levantou-se a hipótese do mesmo ser de fato o principal neurotransmissor excitatório no SNC. Contudo, esta hipótese acabou sendo negada em alguns aspectos e por

vários argumentos teóricos (Curtis, Phillis e Watkins, 1960; Curtis, 1965), sendo a ação do glutamato como transmissor excitatório aceita apenas 20 anos depois.

Os principais avanços no entendimento do glutamato e suas funções ocorreu ao longo da década de 80 (Watkins, 1988), sendo que as conclusões mais importantes sobre os mecanismos de ação deste neurotransmissor foram postulados exatamente nesta época e divididos em três afirmativas: 1) O glutamato é predominantemente o neurotransmissor excitatório principal do SNC dos mamíferos; 2) medeia suas ações através de múltiplos receptores; 3) O mal funcionamento do glutamato na mediação da sinapse excitatória está provavelmente envolvido em certas desordens. Por consequência, os receptores de glutamato são alvos apropriados para intervenções terapêuticas em certas desordens (Watkins, 1988; Krogsgaard-Larsen, Hansen, 1992). Ainda na década de 80 verificou-se também que certos receptores de glutamato no cérebro mediavam mudanças bioquímicas que não foram susceptíveis a antagonistas de receptores NMDA e não-NMDA. Entretanto, essa dicotomia foi resolvida no início da década de 90 através de técnicas de biologia molecular que acabou por identificar duas famílias de receptores de glutamato: os ionotrópicos (iGLU) e os metabotrópicos (mGLU).

Devemos salientar que o desenvolvimento rápido de um aparato farmacológico assim como o avanço em técnicas de biologia molecular possibilitou o entendimento funcional de vários subtipos de receptores de glutamato e seus diferentes papéis na atividade sináptica(Collingridge e Watkins, 1994; Schoepp e Monn, 1999). Estudos mais recentes viabilizaram inclusive a identificação de subtipos iGLU e mGLU que participam numa gama de processos sinápticos incluindo a plasticidade sináptica (Jeffrey, Watkins e David E. Jane, 2006).

2.2.

GABA

Sintetizado em 1883, por muito tempo se achou que o GABA era produto do metabolismo de micróbios e plantas. Contudo, não antes de 1950, os investigadores identificaram o GABA como um constituinte normal do SNC de mamíferos. Leva-se em consideração o fato de que nenhum tecido dos mamíferos,

com exceção da retina, contenha mais do que um mero traço deste neurotransmissor.

O GABA foi identificado primeiramente como transmissor para a inibição de uma junção neuromuscular da perna de uma lagosta e desde a sua descoberta há 57 anos, diversas observações bioquímicas e neurofisiológicas foram feitas sobre o GABA no cérebro e suas vias de ação. Por se tratar de uma substância com uma presença rica no cérebro, levantou-se logo a hipótese de a mesma ter algum efeito fisiológico específico importante nas funções do SNC. Muita evidência acumulou-se ao longo dos anos, fundamentando que a função do GABA como principal neurotransmissor inibitório do cérebro também teria implicações na etiologia de transtornos neurológicos e psiquiátricos.

Como outros neurotransmissores, tanto o GABA quanto a sua enzima ácido glutâmico descarboxilase (GAD) têm uma distribuição não uniforme no cérebro. O GABA, por sua vez, foi descrito por Roberts e Awpara no início da década de 50 através de estudos eletrofisiológicos em neurônios que continham a enzima GAD, e somente depois de duas décadas que o mesmo foi classificado como neurotransmissor, por possuir os cinco critérios clássicos para se considerar uma substância, como neurotransmissor. Deve-se ressaltar que existem outras substâncias envolvidas na transmissão neuronal que seriam os neuromoduladores com a capacidade de influenciar a excitabilidade das células nervosas, apesar dos mesmos serem produzidos em locais não sinápticos. Os neuromoduladores foram descobertos por Florey em 1967. Florey acabou por identificar tanto o dióxido de carbono quanto a amônia como tendo proveniência de neurônios ativos ou da glia. Já os neuromediadores tinham, por sua vez, a função de ajudar na obtenção da resposta pós-sináptica ao transmissor.

2.3.

Pentilenotetrazol

O termo analéptico tem a sua origem no grego analeptikos significando a palavra “restaurativo”. Este termo, por sua vez, pode ser encontrado até hoje em dicionários atuais. Contudo, Wax (1997) relata que a literatura caracteriza os analépticos como convulsivantes. De fato, dando uma dose suficiente, os analépticos acabam por precipitar convulsões generalizadas. Os analépticos

trabalham através de uma série de mecanismos, incluindo o bloqueio de neurotransmissores inibitórios (picrotoxina, estricnina) e aumentando a excitação (cocaína). O primeiro analéptico sintético criado foi o pentilenotetrazol (cardiazol, metrazol) em 1924. Historicamente, o pentilenotetrazol (PTZ) teve algumas utilizações terapêuticas; foi utilizado inicialmente como estimulante cardíaco e empregado como estimulante do SNC, no tratamento de overdose depressiva (sendo considerado menos efetivo que a picrotoxina e a estricnina).

Especulações sobre a relação entre esquizofrenia e epilepsia permearam as pesquisas científicas ao longo da história por muito tempo. McCrae (2006) relata que o psiquiatra Gyula Nyiro observou em 1929 que epiléticos com traços psicóticos tornavam-se lúcidos em períodos de freqüentes espasmos; em 1930 Max Muller relatou dois casos de melhora na esquizofrenia após espasmos epiléticos.

McCrae (2006) relata que o polonês neurofisiologista e neuropsiquiatra Manfred Sakel utilizava a insulina para o tratamento de adictos de morfina. Sakel ficou intrigado ao observar pacientes que entravam em coma hipoglicêmica (excesso natural ou artificial de insulina), que anteriormente tinham alguma perturbação mental e ao final da sua recuperação tornavam-se tranquilos. Sakel considerou que, induzindo a pessoa ao coma por meio da insulina, poderia ser um tratamento eficaz para pacientes com vários tipos de psicoses, particularmente a esquizofrenia. O mesmo obteve resultados surpreendentes e apoio para propagar a sua técnica. Em pouco tempo, ele criou aquilo que seria conhecido como a "Técnica de Sakel". A descoberta de Sakel foi um método fisiológico prático e efetivo para combater a mais debilitante e cruel das desordens psiquiátricas. A comunicação oficial desta técnica foi feita em setembro de 1933, e foi entusiasticamente recebida. Até então, nenhum tratamento biológico para esquizofrenia estava disponível. Este achado tornou-se uma das contribuições mais importantes feitas pela psiquiatria desde então.

Em 1933, no mesmo ano em que Sakel anunciou oficialmente seus resultados com a terapia por coma insulínico, o jovem psiquiatra Húngaro Ladislaus Von Meduna do Instituto de Pesquisa do Cérebro em Budapeste, após observar em autopsias diferenças neurológicas entre epiléticos e esquizofrênicos, postulou a teoria do antagonismo biológico destas condições. Em 1934, Meduna teve a idéia de induzir espasmos, utilizando um agente analéptico. Ele tinha a

proposta de que um espasmo epilético induzido artificialmente poderia curar a esquizofrenia. Meduna, então, acabou escolhendo a cânfora, um dos maiores agentes terapêuticos do séc. XIX, que, além de ter funções analgésicas, era um estimulante também. Contudo, tanto a composição quanto a velocidade de ação do óleo canforado foram inconsistentes, não atingindo os resultados esperados. O mesmo utilizou-se de outras drogas, injetando-as também intramuscularmente e continuando a obter resultados insatisfatórios. Dentre as drogas utilizadas, Meduna procurou na época uma que era produzida pela Knoll, com o nome comercial de cardiazol. O objetivo de Meduna se concretizou quando o mesmo utilizou injeções intravenosas de cardiazol em pacientes esquizofrênicos, obtendo resultados satisfatórios no tratamento deste tipo de desordem psiquiátrica. O mesmo comunicou seus dados à comunidade psiquiátrica em 1937 em Münsingen na Suíça, para discutir a terapia por choque pioneiramente iniciada por Sakel.

Conseqüentemente, dois terrenos sólidos para o tratamento da esquizofrenia foram criados em relação à terapia por choque fisiológico: o daqueles que defendiam a terapia insulínica e o daqueles que eram a favor das convulsões induzidas por cardiazol. O cardiazol era mais barato, mais fácil de usar e mais propenso a induzir convulsões. O coma por insulina requeria cinco a nove horas de hospitalização e um seguimento mais trabalhoso. Contudo, ela era facilmente controlada e terminada com injeções de adrenalina e glicose, se necessário. Por sua vez, o cardiazol era mais forte e mais difícil de controlar. A terapia por insulina causava poucos efeitos colaterais, enquanto que as convulsões por cardiazol eram às vezes tão severas que causavam fraturas espinhais. Contudo, em testes controlados, o cardiazol pareceu ser menos eficiente do que a insulina no tratamento da esquizofrenia, particularmente na doença crônica. Ele foi mais efetivo em tratar as psicoses afetivas, tais como o transtorno bipolar e depressão psicótica.

Meduna imigrou para Chicago(EUA) em 1939, e de lá ele continuou suas pesquisas sobre convulsões por cardiazol. Com o passar do tempo, a comunidade científica reconheceu que a teoria da incompatibilidade biológica entre convulsões e esquizofrenia não era verdadeira, mas que as convulsões provocadas artificialmente tiveram o seu valor para a psiquiatria. Devido à aparência de muitos métodos para tratar doenças mentais, incluindo neurolépticos e terapia

eletroconvulsiva (criada pelo neurologista italiano Ugo Cerletti), o cardiazol foi gradualmente descontinuado no final dos anos 40 e não mais utilizado. Atualmente, o mesmo é utilizado em estudos com animais de laboratório, envolvendo modelos de ansiedade.

Deve-se levar em consideração que os mecanismos moleculares por onde o pentilenotetrazol produz atividade convulsivante ainda não foram definidos (Ramanjaneyulu e Ticku, 1984). Em adição, as convulsões eliciadas pelo PTZ são diferentes das ocasionadas pela estriçnina, mas similares às produzidas pela picrotoxina (Woodbury, 1980). Sabe-se, entretanto, que os receptores GABA-A possuem uma variedade de sítios de ação alostéricos (Huang, Bell-Horner, Dibas, Covey, Drewe e Dillon, 2001) por onde diferentes tipos de drogas podem atuar. Estudos anteriores mostraram que o PTZ inibe canais ativados pelo GABA (Macdonald e Barker, 1978) e sugeriu-se, no início, que o mesmo atuaria no sítio de ação dos benzodiazepínicos dos receptores GABA-A. Entretanto, estudos posteriores sobre os possíveis sítios de ações do PTZ sugeriram que o mesmo atue no sítio de ação da picrotoxina, um convulsivante que impede a abertura do canal de cloreto ao se combinar com ele, diminuindo a inibição promovida pelo GABA e ocorrendo assim um aumento na excitabilidade no SNC.

2.4.

Benzodiazepínicos

O descobridor dos benzodiazepínicos (BZDs) foi o químico Leo Henryk Sternbach que trabalhava para a empresa farmacêutica Hoffmann-La Roche. Sternbach obteve o seu diploma pela universidade de Krakow e trabalhou para La Roche na Basiléia, localizada na Suíça.

Com o advento da segunda grande guerra, Sternbach acabou fugindo em 1941 para os EUA, escapando dos nazistas. O mesmo prosseguiu o seu trabalho com drogas, continuando a trabalhar para a La Roche em Nutley, Nova Jersey. Sternbach por sua vez sintetizou os primeiros BZDs em meados da década de 50. A denominação que estas drogas receberam foi pelo fato de sua estrutura consistir de um anel de benzeno fundido com um de sete membros de 1,4-diazepina.

Como ocorre com muitas descobertas científicas relevantes, no desenvolvimento do primeiro BZD houve a criação acidental de um elemento, o

clordiazepóxido, sintetizado por acaso, quando se percebeu que a estrutura originalmente atribuída à molécula havia mudado de maneira inesperada durante o processo de síntese (Sternbach, 1979).

No final da década de 50, uma série de estudos com animais de laboratório foi realizado. O farmacologista norte-americano L. Randall, baseando-se nos estudos de Leo Henryk Sternbach, mostrou que o clordiazepóxido, um derivado dos compostos 1,4-benzodiazepínicos, apresentava nos animais um padrão de ação comportamental distinto da clorpromazina, podendo, em algumas situações, ser distinguido até de seus análogos (fenobarbital e meprobamato).

O clordiazepóxido tinha a capacidade de amansar animais bravios (ex: macacos extremamente agressivos), aliado a outros efeitos (anticolúlsivo além de baixa toxicidade) que o mesmo tinha no comportamento animal (Randall *et al.*, 1960).

L. Randall em virtude dos resultados obtidos na fase de experimentação pré-clínica em animais acabou sugerindo que o clordiazepóxido começasse a ser testado em humanos. O pesquisador alegava que essa droga tinha o potencial para servir como tratamento farmacológico em humanos, o que logo se confirmou nos numerosos ensaios clínicos.

As primeiras experiências clínicas que foram realizadas com pacientes esquizofrênicos acabaram por demonstrar que embora o clordiazepóxido não tivesse uma função antipsicótica, o mesmo acabou por reduzir de maneira significativa a ansiedade.

Em um estudo posterior com pacientes na época diagnosticados com neurose de angústia, e que hoje seriam diagnosticados como portadores do transtorno de ansiedade generalizada, obteve-se a comprovação que o clordiazepóxido era eficaz e que ele “possibilita o tratamento bem-sucedido de pacientes (com estados de ansiedade e tensão), muitos dos quais, até então, tinham-se mostrado refratários a todas as outras modalidades de tratamento” (Tobin *et al.*, 1960).

Após exaustivas avaliações clínicas o clordiazepóxido foi lançado em 1960 na clínica, apenas trinta meses depois de terem sido feitas as primeiras observações dos efeitos farmacológicos (relativa seletividade de efeitos, baixa toxicidade e menor capacidade para gerar dependência), os mesmos representaram um avanço considerável no tratamento farmacológico dos transtornos de

ansiedade, recebendo, conseqüentemente, a denominação de drogas ansiolíticas, nome adotado atualmente para a designação dos tranqüilizantes menores. Era o início do que foi chamado naquela década de “a revolução dos benzodiazepínicos”.

Ao logo dos primeiros quinze anos que se seguiram ao lançamento dos BZDs, ninguém sabia realmente como os mesmos funcionavam. Evidências indiretas da época relatavam por exemplo a interação dos BZDs com neurotransmissões colinérgicas, dopaminérgicas e serotoninérgicas. “Essas noções conflitantes de pouco serviram para estabelecer uma teoria simples, ampla e não-ambígua sobre os mecanismos de ação dessas drogas” (Doble, 1998).

Contudo, apesar de sua ampla difusão, apenas na década de 70 surgiu uma melhor compreensão do mecanismo de ação dos benzodiazepínicos. Em uma série de experiências sofisticadas conduzida por pesquisadores da Hoffman-La Roche na Básiileia, eles conseguiram por suas vez demonstrar que os BZDs atuariam para ampliar a transmissão gabaérgica (Polc *et al.*, 1974). Nos anos seguintes através de um esforço considerável nas pesquisas demonstrou-se que a potencialização das respostas do GABA pelo benzodiazepínico podia ser observada em todo o SNC (Haefely, 1978).

Através de uma série de estudos realizados com animais acabou-se por identificar um papel para o sistema gabaérgico, tanto na expressão quanto no aprendizado da ansiedade (Kalueff, 1997).

Hoje em dia continua a ser desenvolvido um volume considerável de atividades de pesquisa na área de atuação dos BZDs, nos seus mecanismos de ação, na forma e função do sistema gabaérgico. Esperamos que estes estudos resultem em novas descobertas de drogas que atuem no tratamento da ansiedade e de distúrbios relacionados, através da modulação do sistema gabaérgico tanto pelo receptor do BZD quanto por alguma outra parte do complexo receptor de GABA.