

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE

**INFLUÊNCIA DO TOPIRAMATO NA CONSOLIDAÇÃO E EXTINÇÃO
DA MEMÓRIA EM MODELO ANIMAL**

MYRIAM FORTES PERRENOUD

Orientador: Prof. Dr. Iván Izquierdo
Co-orientador: Prof. Dr. Martín Cammarota

Tese de Doutorado submetida ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Setembro de 2008
Porto Alegre, RS

P455i

Perrenoud, Myriam Fortes.

Influência do topiramato na consolidação e extinção da memória em modelo animal / Myriam Fortes Perrenoud ; orient. Iván Izquierdo, co-orient. Martín Cammarota. Porto Alegre: PUCRS, 2008.

78 f.: gráf. il. tab.

Tese(Doutorado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Neurociências.

1. Memória. 2. Transtornos da Memória. 3. Topiramato. 4. Estudos de Casos e Controles. 5. Receptores de AMPA. 6. Receptores de Ácido Caínico. 7. Receptores de GABA. 7. Ratos Wistar. I. Izquierdo, Iván. II. Cammarota, Martín. III. Título.

CDD 616.8

NLM WM 173.7

Bibliotecária Responsável:
Sabrina Caimi Silva da Costa
CRB10/1606

Dedicatória

*As minhas amadas filhas que são a luz para
que eu siga os caminhos com perseverança.*

Agradecimentos

Agradeço aos meu orientador Prof. Dr. Iván Izquierdo pela oportunidade de participar de tão importante equipe de trabalho e por ter me orientado com sabedoria.

Ao Prof. Dr. Martín Cammarota pela orientação com firmeza e competência que me fez amadurecer um pouco mais.

Ao Dr. Pedro do Prado-Lima, pelo incentivo e colaboração durante o percurso.

Aos colegas do laboratório de pesquisa, em particular a Juliana Bonini e Gabriela Cardoso pelo apoio amigo.

Ao Dr. Edson Figueira dos Santos pela compreensão durante o estudo.

A minha equipe do laboratório de Patologia Clínica, pela paciência no período de construção final da tese, e em particular ao secretário Vinícius pelo apoio.

A minha filha Gabriela pelo carinho e compreensão em vários momentos do trabalho.

Agradeço, por fim, ao nosso reitor, Irmão Joaquim Clotet, pelo modelo de mestre, através da orientação do caminho a seguir e apoio na viabilização do estudo.

Sumário

Memória	13
Consolidação da memória.....	19
Modulação da memória.....	27
Memória traumática.....	28
Evocação da memória.....	30
Extinção da memória.....	32
Topiramato	35
Mecanismos de ação do Topiramato	38
Objetivos	41
Geral	41
Específicos.....	41
Materiais e métodos	42
Amostra.....	42
Esquiva inibitória	43
Análise estatística	45
Aspecto ético.....	45
Hipóteses referentes à consolidação da memória.....	46
Hipótese 1: Administração de TOP, em dose única, imediatamente após o estresse, inibe a consolidação da memória traumática de longa duração.	46
Hipótese 2: A administração de TOP, em dose única, 3 horas após o estresse, inibe a consolidação da memória traumática de longa duração.....	46
Hipóteses referentes à extinção da memória	47
Hipótese 3: A administração de TOP por 14 dias consecutivos após o choque, facilita a extinção da memória aversiva.....	47
Hipótese 4: A administração de TOP somente no período de extinção da memória, facilita o processo de extinção do estresse traumático.	48
Hipótese 5: Teste de controle do efeito direto do TOP na extinção da memória. .	48
Resultados	50
Discussão.....	57
Conclusão	67
Referências	69

Lista de figuras

Figura 1 - Papel dos receptores AMPA na LTP.....	21
Figura 2 - Sinapse glutamatérgica na formação da memória.....	25
Figura 3 - Eventos moleculares na formação da memória de longa duração.....	26
Figura 4 - Mediana e amplitude interquartílica por grupo no treinamento.....	50
Figura 5 - TOP administrado imediatamente após o choque.....	51
Figura 6 - TOP administrado 3 horas após o choque.....	52
Figura 7 - Tempos medianos da latência de descida da plataforma.....	53
Figura 8 - TOP administrado por 14 dias antes da extinção da memória.....	54
Figura 9 - TOP administrado por 5 dias durante a extinção da memória.....	55
Figura 10 - Tempos medianos de latência de descida da plataforma.....	56

Lista de tabelas

Tabela 1- Receptores glutamatérgicos ionotópicos.....	20
Tabela 2- Principais mecanismos de ação do TOP.....	40

Lista de abreviaturas

5HT	Receptor serotoninérgico
Ach	Acetilcolina
ACTH	Hormônio adreno corticotrópico
AMPA	3-amino-5-hidroxi-4-metil-isoxalpropionato
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
BLA	Complexo basolateral da amígdala
BZD	Benzodiazepínicos
CAMKII	Cálcio calmodulina quinase II
CO	Monóxido de Carbono
CREB	Fator de transcrição nuclear
CRH	Hormônio Corticotrófico
DAG	Diacil glicerol
D1 e D5	Receptores dopaminérgicos
ERKs	Quinases reguladas por sinal extracelular
GABA	Ácido Gama Amino Butírico
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
GTP	Guanosina trifosfato
HPA	Hipotálamo-pituitária-adrenal
JNKs	Quinases c-jun com terminal amino
KA	Cainato
LTP	Potenciação de Longa Duração
MAPK	Proteína-quinase ativada por mitógenos
mGluRs	Receptores metabotrópicos
NMDA	N-metil D-aspartato
NO	Óxido nítrico
GAP43	Proteína 43 associada ao crescimento

PKC	Proteína quinase dependente de cálcio
SNC	Sistema nervoso central
TOP	Topiramato
GluRs	Receptores glutamatérgicos
PKA	Proteína quinase A
BDNF	Fator neurotífico
PKG	Proteína quinase G
CPFvm	Córtex pré-frontal ventromedial
CPFdl	Córtex pré-frontal dorsolateral
Cl ⁻	Cloretos
CCA	Córtex cingulado anterior
RNAm	Ácido ribonucléico mensageiro

Resumo

Introdução: A memória é aquisição, consolidação e evocação de informações. Envolve sempre um componente emocional, que se acrescenta às informações de índole cognitiva. Quando a memória é consequência de uma situação estressante e traumática, envolve emoções dessa índole e se estabelece através da amígdala e do hipocampo, sendo mais resistentes à extinção e ao esquecimento. A ansiedade e o estresse influenciam a fase inicial da consolidação da memória, através de várias vias modulatórias, cujo efeito se incorpora ao restante do conteúdo de cada memória. No caso de estresse particularmente intenso, há tendência à evocação reiterada da memória traumática, provocando uma esquiva persistente a qualquer estímulo que seja associado à mesma.

O TOP é um medicamento eficaz na epilepsia, que tem entre seus efeitos colaterais, que são concentração dependente, a diminuição da memória de trabalho e da fluência verbal, provocando confusão e torpor.

Materiais, métodos e hipóteses avaliadas: Foi avaliada a ação do TOP (10mg/kg) na consolidação e extinção da memória de longa duração em 84 ratos Wistar, divididos em 6 grupos caso e um grupo controle. A ação do TOP sobre a consolidação foi avaliada por sua administração imediatamente após, ou 3 horas após o treino. Na avaliação da extinção, o TOP foi administrado por 14 dias antes, ou 5 dias durante a extinção. Em todos os experimentos os animais iniciaram os testes 15 dias após o treino.

O treino consistiu em medir o tempo de latência para descer da plataforma no paradigma de esquiva inibitória, momento em que receberam um choque de 1 mA por 2 segundos. A ação do TOP sobre a consolidação e extinção foi avaliada em testes repetidos, sem o choque, em que se mediu a latência de descida da plataforma nos tempos T1 a T5 e no teste final T6, 48 horas após. Foi realizada tam-

bém uma contra prova para avaliar se havia ação direta do TOP na perda da memória quando administrado por 5 dias sem passar pelo procedimento de extinção.

Resultados: O TOP administrado pós-treino interferiu com a consolidação da memória. O resultado foi mais eficaz quando administrado 3 h após o treino. O TOP não induziu a extinção da memória quando administrado antes da extinção por 14 dias, porém a facilitou quando administrado por 5 dias durante a mesma. O TOP administrado por uma semana, sem passar pelo procedimento de extinção, não provocou a perda da memória.

Sugestão: O TOP talvez possa ser um medicamento que auxilie pacientes com estresse pós-traumático, assim como aqueles considerados “borderline”, que apresentam um comportamento autodestrutivo relacionado a traumas na infância.

Abstract

Introduction: Memory is the acquisition, consolidation and evocation of information. It always involves an emotional component, which is added to the information of a cognitive nature. When a memory is the consequence of a particularly stressful and traumatic situation, it involves emotions of that nature and is established through the amygdala and hippocampus and is more resistant to extinction and to be forgotten. Anxiety and stress influence the initial phase of the consolidation of memory through several modulatory paths, the effect of which is incorporated within the rest of the content of each memory. In the case of particularly intense stress, there is tendency for the evocation of the traumatic memory to be reiterated, causing persistent avoidance of any stimulus associated with it.

TOP is an efficacious medicine in the treatment of epilepsy, which has among its side effects, which are concentration dependent, a reduction in working memory and verbal fluency, leading to confusion and numbness.

Materials, methods and assessed hypotheses: The action of TOP (10mg/kg) in the consolidation and extinction of long-term memory was assessed in 84 Wistar rats divided into 6 experimental groups and one control group. The action of TOP on consolidation was assessed by administering it immediately following, or three hours after the training. In order to assess extinction, TOP was administered for 14 days before, or 5 days during the extinction. In all the experiments, the animals initiated tests 15 days after the training.

The training consisted of measuring the latency time taken to descend from the platform, in an inhibitory avoidance paradigm, when they received a 1 mA shock for 2 seconds. The action of TOP in consolidation and extinction was assessed in repeated tests, without shock, in which the latency of the descent from the platform was measured at the times T1 to T5 and in the final test T6, 48 hours after.

A counter-test was also carried out in order to assess whether there was a direct effect of TOP in the loss of memory when administered for 5 days without there occurring an extinction procedure.

Results: When administered post-training, TOP interfered with the consolidation of memory. The result was more efficient when it was administered 3 h after training. TOP failed to induce memory extinction when administered when administered for 14 days prior to extinction, though it facilitated extinction when administered for 5 days during extinction. When TOP was administered for a week and there was no extinction procedure, it did not provoke memory loss.

Suggestion: TOP may be of use in the treatment of patients with post-traumatic stress, as well as those considered borderline that exhibit self-destructive behavior related to childhood trauma.

Memória

Memória é aquisição, formação, conservação e evocação de informações. Os estudos neurobiológicos sobre a memória têm origem no início do século XX, quando Ramón y Cajal postulou como base da mesma, a modificação das sinapses pelo uso, e Pavlov (Pavlov, 1926) descrevia os reflexos condicionados e sua extinção (Izquierdo, 2002). A sua aquisição é também denominada de aprendizagem. A memória é medida pela sua evocação, denominada também de recordação ou recuperação; só lembramos o que foi registrado e aprendido. Existe um processo de tradução entre a realidade das experiências e a formação da memória correspondente, assim como outro processo também de tradução entre esta e sua evocação (Izquierdo e cols., 1998; Izquierdo, 2002).

A consolidação da memória é um processo que demora de 3 a 6 horas quando a memória adquirida passa da forma lábil para estável, presumivelmente por remodelações sinápticas (Izquierdo e Medina, 1997; Izquierdo e cols., 2006).

Na região CA1 do hipocampo, os estudos que determinaram a seqüência de mecanismos bioquímicos moleculares para a potenciação de longo tempo (LTP) são considerados como a base de demonstração da consolidação da memória nesta região (Izquierdo e cols., 2006; Vianna e cols., 2000). Existem diferenças no mecanismo da LTP de acordo com a região em que se estabelece. As duas tarefas em que a LTP em CA1 foi inequivocamente determinada como base da memória, é justamente a esQUIVA inibitória (Izquierdo e cols., 2006; Whitlock e

cols., 2006) e o piscar condicionado (Gruart e cols., 2006), que são duas tarefas aversivas. A primeira corresponde ao ato habitual de refrear um comportamento para evitar uma consequência ruim (não atravessar a rua sem olhar) e a segunda é o motivo de porque piscamos quando enfrentamos um possível obstáculo ou um sopro de vento perto dos olhos.

A consolidação das tarefas aversivas mencionadas acima, e talvez de outras, requer também a participação paralela do núcleo basolateral da amígdala (BLA) (Cammarota e cols., 2008). Isto seguramente é a base da incorporação da informação emocional às memórias, mencionada mais adiante (Izquierdo, 1984, 2002). A prova dessa incorporação é o fato bem conhecido de que o aspecto cognitivo das memórias é mais bem lembrado quando estamos novamente numa situação emocional e portanto, neurohumoral (Izquierdo, 1984), semelhante ou vinculada aquela na qual foi gravada essa memória. Assim, recordamos melhor como fugir ou lutar quando nos encontramos numa situação de medo do que em uma situação de fome, por exemplo (Izquierdo, 1984, 2002).

As memórias são classificadas de acordo com sua duração (curta, longa) ou de acordo com seu conteúdo (declarativa ou procedural) (Izquierdo, 2002).

No que se refere ao tempo de duração, a memória de trabalho é a de menor tempo, pois dura de segundos até 3 minutos. Na sua formação participa a atividade elétrica dos neurônios do córtex pré-frontal, que irá interagir com o córtex entorrinal, parietal superior, cíngulo anterior e com o hipocampo (Izquierdo e cols., 1998, 2002; Lee e Kesner, 2003).

Este tipo de memória irá verificar a informação chegada até nós e buscar, através do córtex entorrinal, a sua associação com outros eventos já armazenados. Através dessa interação, pode-se determinar se uma dada informação é nova e convém guardá-la, ou se já existe e deve ou pode ser evocada (Izquierdo, 1984; Izquierdo e cols., 2006).

Posteriormente à memória de trabalho, entra em operação a memória de curta duração. Entende-se por essa denominação um processo que leva 3 a 6 h, com a participação de mecanismos bioquímicos específicos no hipocampo e no córtex entorrinal (Izquierdo e cols., 1998, 1999). A memória de curta duração é processada em forma paralela à consolidação da memória de longa duração e pode ser suprimida por numerosas drogas administradas nas estruturas mencionadas (Izquierdo e cols., 1998, 1999, 2006), sem afetar a memória de longa duração. A memória de curta duração tem o papel de conservar as informações enquanto seu armazenamento definitivo não foi feito; é a que se utiliza para manter diálogos ou outras interações com o meio ou, em geral, para operar na realidade enquanto os dados definitivos da mesma ainda não foram guardados, se é que eventualmente o serão (Izquierdo e cols., 1998).

A administração de drogas pré-treino pode afetar a consolidação de longa duração, mas também a memória imediata ou a de curta duração (Izquierdo, 2000; Izquierdo e cols., 2006, 2007). Por isso, para se estudar os efeitos de drogas ou outras variáveis, especificamente sobre a consolidação, prefere-se a utilização de tratamentos após o treino (após a aquisição) (McGaugh, 2000, 2004).

As memórias de procedimentos são memórias de capacidades ou habilidades motoras ou sensoriais. Este tipo de memória é, em geral, implícita, pois é adquirida de uma forma quase automática e depende das vias perceptivas e reflexas, assim como do núcleo caudato e do cerebelo. Como não percebemos como as adquirimos, tornam-se hábitos (Izquierdo 1998, 2002). De fato, a palavra “hábito” pode ser usada como sinônimo de memória de procedimentos ou procedural.

As memórias declarativas, explícitas e de longa duração, levam tempo para serem consolidadas e dependem do sistema do lobo temporal. Este é o tipo de memória que está mais conhecida na sua bioquímica e anatomia.

As principais estruturas nervosas responsáveis por este tipo de memória são o hipocampo, o núcleo basolateral da amígdala (BLA)(Cammarota e cols., 2008) e o córtex entorrinal que atuam associados entre si, e se comunicam com outras áreas como o córtex cingulado e o córtex parietal. As principais zonas moduladoras deste tipo de memória são o núcleo BLA, que se localiza no lobo temporal e recebe influência dos corticóides e da adrenalina, liberados na glândula supra-renal pelo estresse e emoção em excesso, das regiões cerebrais vinculadas com a análise de, e as respostas ao, estado de ânimo, alerta, ansiedade e emoções que liberam dopamina, noradrenalina, serotonina e acetilcolina (Izquierdo e cols., 1997, 1999; Graeff, 2003).

O hipocampo registra eventos, conhecimentos, pessoas, conceitos, idéias, etc. Para que estas informações possam ser convertidas em memória pelo hipocampo, devem passar pela subárea CA1, após escalas no córtex entorrinal, giro denteado e subárea CA3. A subárea CA1 projeta, por sua vez, para o subículo, e

este para o córtex entorrinal. Este córtex recebe fibras de, e emite fibras para, todas as demais regiões do córtex. Diversos estudos correlacionaram lesões no hipocampo ou de suas conexões extrínsecas, com o prejuízo em tarefas de memória espacial (Izquierdo e Medina, 1997; Muir, 2001). O hipocampo pode armazenar a memória de longo prazo durante horas ou dias, transferindo-a gradativamente para regiões específicas do córtex cerebral. Suas conexões via córtex entorrinal possibilitam a comparação entre as condições de uma experiência atual com outras similares mais antigas, permitindo assim que se escolha a recordação ou o comportamento a seguir. Com dano parcial no hipocampo, são produzidos vários graus de amnésia e, quando totalmente destruído, nada mais é gravado e pouco pode ser recordado (Bevilaqua e cols., 1997; Izquierdo e Medina, 1997; Izquierdo e cols., 1997, 1998).

O núcleo da região BLA processa muitas memórias, particularmente as de índole emotiva e/ou aversiva, paralelamente ao hipocampo (Phelps e cols., 2004; Izquierdo e cols., 2006; Cammarota e cols., 2008). Depois de muitas dúvidas acerca de se o núcleo BLA tem um papel só modulatório (McGaugh, 2004) ou cognitivo-emocional (Phelps e cols., 2004), as evidências pendem para este último (Cammarota e cols., 2008).

O córtex perirrinal, localizado em área vizinha ao entorrinal, parece também ter um papel importante na memória espacial assim como em outros tipos de memória (Izquierdo e cols., 1998, 2006). Ele se conecta diretamente ao hipocampo ou via córtex entorrinal. Suas interações funcionais parecem ser fundamentais

para o processo mnemônico que conta com a integração da informação espacial com o objeto (Muir e Bilkey, 2001).

Consolidação da memória

Após a aquisição da memória, momento em que são realizados registros das informações em arquivos, a consolidação é o mecanismo que vai processar o armazenamento da informação através do tempo (Izquierdo e cols., 1999; Izquierdo, 2002).

A esquia inibitória é o paradigma que melhor propicia a avaliação dos mecanismos moleculares que são responsáveis pela consolidação da memória e, o glutamato, é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso que participa da consolidação da memória de longa duração (Izquierdo e Medina, 1997; Izquierdo e cols., 2006).

No mecanismo de consolidação da memória é necessário a ativação de receptores do glutamato na região CA1 do hipocampo, na região basolateral da amígdala, no córtex medial e no córtex entorrinal (Izquierdo e cols., 2006; Izquierdo e Medina, 1997), seguido por uma seqüência de eventos moleculares, os quais, no hipocampo, apresentam dois picos de ativação, seguidos de várias rotas de sinalização e fatores de transcrição, com expressão de genes e síntese de proteínas (Izquierdo e Medina, 1997; Bernabeu e cols., 1997; Izquierdo e cols., 2006; Klann e Sweatt, 2008; Alberini, 2008).

No hipocampo, os eventos bioquímicos após a primeira exposição a um estímulo, demonstrado no modelo do paradigma de esquia inibitória, são a ativação de dois tipos de receptores glutamatérgicos (GluRs), os receptores ionotrópicos

(iGluRs) (Tabela 1) e os receptores metabotrópicos (mGluRs). Existem três tipos de receptores ionotrópicos: aqueles em que a ação do glutamato pode ser mimetizada pelo N-metil D-aspartato (NMDA), aqueles em que pode sê-lo pelo 3-amino-5-hidroxi-4-metil-isoxalpropionato (AMPA), e aqueles em que o melhor mimético é o Cainato (KA) (Izquierdo e cols.,1997; 2006; Bevilaqua e cols., 2005a; Alberini, 2008; Hall e Goosh, 2008). Até hoje, poucos estudos separaram os receptores AMPA e KA devido apresentarem muitas características farmacológicas em comum.

Receptor	Características
AMPA	Canal selectivo para Na ⁺ e K ⁺ e Ca ⁺² .
NMDA	Canal selectivo para Ca ⁺² , Na ⁺ e K ⁺ . Em repouso bloqueado pelo Mg ⁺² . Glicina necessária para a sua ativação pelo Glu
Cainato	Canal selectivo para Na ⁺ e K ⁺ .

Tabela 1- Receptores glutamatérgicos ionotrópicos e suas características principais

O glutamato liberado pelo terminal pré-sináptico, se liga a receptores AMPA e NMDA. A despolarização inicial provocada pelo receptor AMPA, reverte o bloqueio exercido em repouso pelo íon Magnésio (Mg⁺²) no receptor NMDA, possibilitando a sua ativação pelo glutamato. Esta ativação resultará na entrada de Ca⁺² e Na⁺ pelo receptor NMDA (Izquierdo e Medina,1997; Izquierdo, 2002).

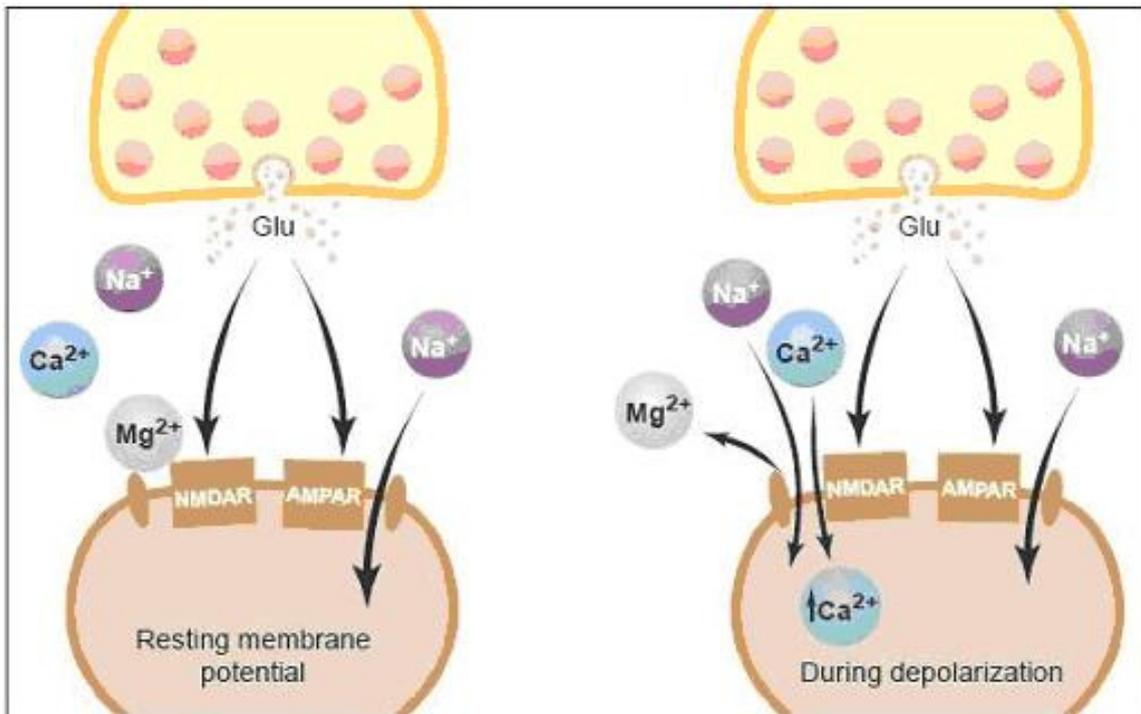


Figura 1- Papel dos receptores AMPA na LTP. Demonstração do gatilho inicial realizado pelos receptores AMPA responsável pela indução da LTP através do desbloqueio do Mg²⁺ nos receptores NMDA (Malenka e Nicoll, 1999).

Nos primeiros minutos, o aumento do Ca²⁺ citoplasmático resultará na ativação da cascata de uma proteína quinase dependente de cálcio e da calmodulina (CAMKII) que irá mediar a fosforilação dos receptores AMPA aumentando a sua sensibilidade e condutância, com um aumento na ligação de AMPA na região CA1, possibilitando a manutenção da LTP ou de memórias (Cammarota e cols., 1996, 2000, 2002). A atividade do receptor AMPA permanece elevada por horas, em CA1, após um treino de esquila inibitória (Cammarota e cols., 1996,1998). A CAMKII media a fosforilação de uma grande quantidade de proteínas na plasticidade sináptica, incluindo os receptores ionotópicos glutamatérgicos e o fator de

transcrição constitutivo CREB (em inglês, cAMP [AMPc]-response-element-binding protein) entre outros, agindo em sítios diferentes aos da proteína quinase A (PKA)(Cammarota e cols., 1998, 2000; Izquierdo e Medina,1997; Soderling, 2000; Izquierdo e cols., 2006, 2008). A ação da proteína quinase A é dependente da sua ligação com o adenosilmonofosfato cíclico (AMPc), sendo mediadora da fosforilação de CREB cuja ativação é crucial para a manutenção da LTP e da memória de longa duração (Bernabeu e cols., 1997; Izquierdo e Medina, 1997).

O aumento do cálcio intracelular irá ativar também, o aumento de várias isoformas da proteína quinase dependente de cálcio (PKC)(Bonini e cols., 2005) e coincide com a fosforilação do substrato pré-sináptico associado à proteína 43 (P43) que está envolvida na mobilização do glutamato das vesículas sinápticas da membrana pré-sináptica, fundamental para a formação da memória e para a geração de LTP (Izquierdo e Medina,1997; Izquierdo e cols., 2006).

Um evento importante que ocorre na consolidação da memória é a ativação de uma via de transdução de sinal, conhecida como a via da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) (Cammarota e cols., 2000). Existem três diferentes famílias das MAPKs, as quinases reguladas por sinal extracelular (ERKs), as quinases c - jun com terminal amino (JNKs) e as MAPKp38. Elas são importantes proteínas sinalizadoras ativadas pelos neurotransmissores e por vários fatores de crescimento (Cammarota e cols., 2008).

A ERK é utilizada em todas as regiões cerebrais em que a plasticidade sináptica ocorre e a sua ativação é requerida para a formação de novas memórias. Se um inibidor da ERK for administrado, por exemplo, no núcleo BLA ou no hip-

campo, haverá um bloqueio na formação das memórias relacionadas a estas estruturas (Camarota e cols., 2000, 2005b, 2008; Igaz e cols., 2006).

A inibição hipocampal da JNK provoca um aumento na memória de curta duração e um bloqueio na de longa duração (Bevilaqua e cols., 2007).

Em relação a MAPKp38, sabe-se que a indução da LTP pelo fator neurotífico BDNF leva a ativação da MAPKp38 e que um aumento da resposta mediada pelo receptor AMPA é acompanhado por uma inativação desta quinase (Camarota e cols., 2007b).

Os receptores metabotrópicos têm a sua ação mediada pela proteína G e como consequência inibem a adenilato ciclase. Os receptores metabotrópicos ativam certas enzimas que desativam os canais de cálcio ativados por voltagem no neurônio, que com isso são desativados. Como consequência, a liberação de neurotransmissores glutamatérgicos é interrompida e ocorre uma diminuição na excitabilidade neuronal. Sendo assim, os receptores metabotrópicos realizam o oposto dos receptores de AMPA e Cainato (Izquierdo e Medina, 1997).

A liberação e a ação de mensageiros retrógrados na consolidação da memória são de grande importância. O óxido nítrico (NO), o monóxido de carbono (CO) e o guanosil monofosfato (GMPc) juntamente com a proteína quinases G (PKG), podem induzir a LTP na região Ca1 do hipocampo. Evidências indicam que a cascata GMPc/PKG é importante cedo e por muito tempo na plasticidade da memória (Izquierdo e Medina, 1997). Quando liberados pela célula pós-sináptica, aumentam a liberação pré-sináptica de glutamato. Eles são importantes mensageiros intercelulares no sistema nervoso central e, por isso, são considerados

possíveis mensageiros retroativos na LTP (Izquierdo e Medina, 1997; Izquierdo e cols., 1999).

Em torno de 12 horas após a aquisição da memória, o fator neurotrófico BDNF é fundamental na região CA1 do hipocampo para a persistência das memórias consolidadas poucas horas antes nesse lugar. Mesmo com a injeção de inibidores da síntese protéica em CA1, a liberação endógena e local de BDNF ou sua administração exógena em CA1, permite que essas memórias persistam por várias semanas; sem BDNF a persistência é de no máximo 2 dias (Bekinschtein e cols., 2007, 2008).

A maior parte dos componentes da memória de trabalho desaparecem em segundos, os da memória de curto prazo não se mantêm além de poucas horas, a não ser que ao mesmo tempo tenha sido construída a memória de longa duração (Izquierdo e cols., 1998; Izquierdo, 2002).

A participação do córtex pré-frontal ventromedial (CPFvm) e do córtex pré-frontal dorsolateral (CPFdl) na memória de longa duração, ocorre através dos receptores AMPA, GABA e dopaminérgicos D1 nestas regiões (Izquierdo e cols., 2007).

A codificação, isto é, o procedimento de armazenar uma nova informação, envolve a aquisição e a consolidação. Na aquisição as informações são registradas em arquivos sensoriais e estágios de análise sensorial, enquanto que a consolidação cria uma intensa representação da informação através do tempo, tendo como resultado o armazenamento, que irá criar um registro permanente (Gazzaniga e cols., 2006).

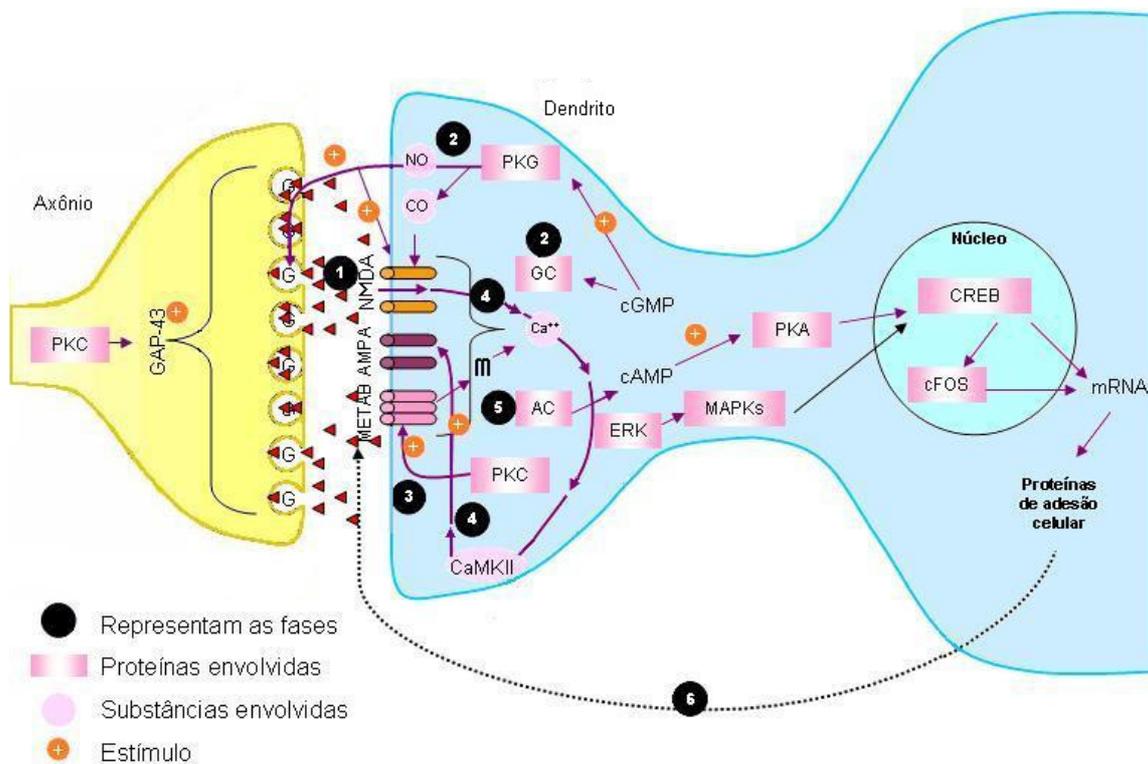


Figura 2- Sinapse glutamatérgica. Demonstração das principais etapas da sinapse glutamatérgica, com as proteínas e sistemas a ela vinculados (adaptado de Izquierdo, 2002).

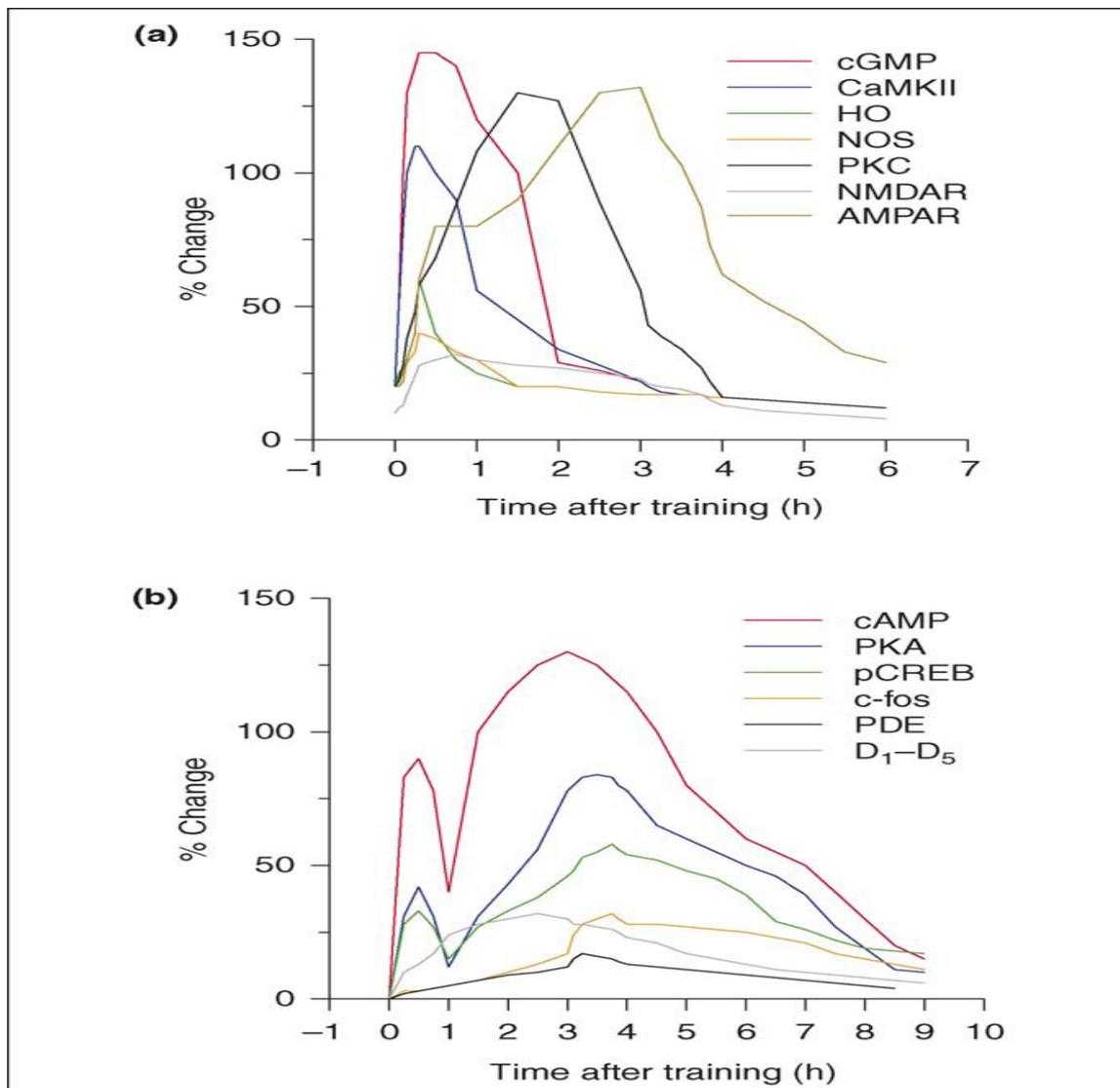


Figura 3- Eventos moleculares na formação da memória de longa duração.

- Mudanças que ocorrem nas primeiras horas após o treino: ativação do GMPc, CaMKII, óxido nítrico sintase (NOS), PKC, e ativação dos receptores AMPA e NMDA.
- Mudanças observadas após um longo período de atividade do AMPc, PKA, CREBp, c-fos, fosfodiesterase (PDE) e ativação dos receptores dopaminérgicos D₁-D₅ (Izquierdo e cols., 2006).

Modulação da memória

Devido à memória ser suscetível a influência de moduladores, isto é, substâncias que podem diminuir ou aumentar a sua performance, foi observado a importância deste sistema endógeno de regulação (Cahill e Mc Gaugh, 1996).

Entre três e seis horas após a aquisição, mecanismos β -adrenérgicos, serotoninérgicos (5HT-1_A) e dopaminérgicos (D1-5) na região CA1, córtex entorinal e córtex parietal posterior, mas não na amígdala, regulam o armazenamento da memória de longa duração, através da regulação da adenilato ciclase e, portanto, indiretamente a atividade da proteína quinase dependente de AMPc (PKA) (Izquierdo, 1997; Izquierdo e cols, 1999).

O estresse, a ansiedade e o estado de alerta são neuromoduladores não só na aquisição, mas também na evocação da memória. O local de atuação é o complexo BLA, aonde a adrenalina presente na circulação, a noradrenalina e a dopamina liberadas localmente, o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), a ocitocina, a vasopressina e os glicocorticóides circulantes, assim como os opióides, principalmente a beta endorfina, participam da neuromodulação (Cahill e McGaugh, 1996; Izquierdo, 2002; Cammarota e cols., 2008).

Memória traumática

As memórias traumáticas envolvem emoções dessa índole, e se estabelecem através da amígdala, sendo mais resistentes à extinção e ao esquecimento.

Sintomas de hipervigilância como resposta de sobressalto exagerada, labilidade afetiva, ansiedade e hiperreatividade do sistema nervoso podem estar presentes. Estas respostas neuronais podem ser ativadas por estímulos sensoriais externos ou internos, como estímulos cognitivos, afetivos ou somáticos. Ocorrerá esquiva persistente a estímulos que sejam associados ao trauma.

A intensidade do estressor integrado com a situação emocional em que se encontrava o estressado influencia o nível do transtorno. Como já foi mencionado, as substâncias neuromoduladoras como a adrenalina, influenciam os mecanismos básicos de processamento da memória (Cahill e Alkire, 2003; Izquierdo e cols., 1999, 2006; McGaugh, 2004; Cammarota e cols., 2008). O modelo da esquiva inibitória é o paradigma mais utilizado para o estudo deste tipo de memória (Izquierdo, 1984, 2002; McGaugh, 2004; Izquierdo e cols., 2006).

Passadas de 3 a 6 horas após a aquisição, os mecanismos β -adrenérgicos, serotoninérgicos (5HT-1_A) e dopaminérgicos (D1 e D5) regulam o armazenamento de longa duração em CA1, no córtex entorrinal e no parietal posterior (Izquierdo e cols, 2006) e no núcleo BLA (Paz, e cols., 2006; Cammarota e cols., 2008). A dopamina e a noradrenalina (Izquierdo e Medina, 1997; Izquierdo e cols, 2006; Van

Stereogen, 2008) facilitam, e a serotonina, através de receptores 5HT1A, diminui a retenção da memória (Izquierdo e cols., 2006).

No sistema nervoso central (SNC), o grupo mais importante de neurônios que sintetizam noradrenalina está no “locus ceruleus”. As células desta região quando ativadas por estímulos estressantes ou simplesmente alertantes, produzem uma reação comportamental cardiovascular característica de medo (Graeff, 2003). O “locus ceruleus” inerva o hipocampo, a amígdala e o neocórtex temporal, o que resulta não só na modulação, como na incorporação desses efeitos à memória (Izquierdo, 1984, 2002; Cammarota e cols., 2008). De todos os transtornos de ansiedade, o transtorno do pânico e o estresse pós-traumático são os que apresentam maior evidência da hiper-expressão do sistema noradrenérgico central (Roozendaal e cols., 2006).

O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) hiperativado é também associado à fisiopatologia dos transtornos de humor. Esta importante ativação inicia no hipotálamo que, por meio da secreção do fator liberador de corticotrofina (CRH), estimula a produção do hormônio liberador da adrenocorticotrofina (ACTH) na pituitária. Este, por sua vez, induzirá a produção de glicocorticóides como o cortisol, que levará potencialmente à lesão e atrofia dos neurônios do hipocampo que expressam altos níveis de receptores de glicocorticóides (Sapolsky, 2003).

Experiências traumáticas são mais bem lembradas em situações estressantes, confirmando que os fatores hormonais e neurohumorais presentes na consolidação, estão novamente presentes no momento da evocação (Izquierdo, 1984; Cammarota e cols., 2008).

Evocação da memória

A evocação é a única forma de mensurarmos a memória. A recuperação ou evocação envolve uma rápida reativação desta desde seu estado inativo. Tanto no hipocampo como no neocórtex, a função normal dos sistemas de sinalização da PKA e ERKs, assim como a ativação dos receptores metabotrópicos, são necessárias para a recuperação da memória. Inibidores da PKA e ERK bloqueiam a sua recuperação (Izquierdo e cols., 1997; Cammarota e cols., 2004a, 2005a).

Os receptores metabotrópicos são necessários na recuperação, pois o bloqueio destes receptores por antagonistas em geral, assim como a administração sistêmica de inibidores específicos, impedem a recuperação de memórias contextuais do medo. O bloqueio dos receptores AMPA/Cainato no hipocampo e no córtex entorrinal, 10 minutos antes do teste, inibem a evocação na esQUIVA inibitória, no córtex parietal e cingulado anterior, o receptor NMDA juntamente com os anteriormente citados, têm uma participação no processo de recuperação da memória (Izquierdo e cols., 1997; Cammarota e cols., 2004b).

Os hormônios são de grande importância, pois os glicocorticóides agem inibindo a recuperação da memória devido sua ação na amígdala, e a adrenalina, a vasopressina, a beta endorfina e a adrenocorticotropina (ACTH) que respondem ao stress, quando em doses baixas e moderadas, aumentam a recuperação, porém em doses elevadas a impedem (Cammarota e cols., 2005b; Ruiz e cols., 2007).

As situações traumáticas serão sempre melhor lembradas em situações estressantes. A evocação da memória utiliza a informação armazenada, para criar uma representação consciente ou para executar um comportamento aprendido como ato motor.

No momento da recuperação, o hipocampo atua como um coordenador que capacita a recuperação de todos os componentes das diferentes áreas do córtex (Dash e cols., 2004).

Extinção da memória

A extinção da memória não significa a sua perda. Descoberta por Pavlov, em 1927, a extinção representa a desvinculação de um estímulo condicionado do estímulo incondicionado que previamente havia sido associado com a geração de uma resposta aprendida (Izquierdo, Bevilaqua e Cammarota, 2006; Cammarota, e cols., 2004a). No processo de extinção, o estímulo passa a se associar com a ausência do estímulo incondicionado, mostrando que o estímulo incondicionado não mais ocorre (Cammarota e cols., 2004a).

Certas desordens emocionais são caracterizadas pela resistência em perder o aprendizado emocional aversivo ou o estímulo ansiogênico, devido, muitas vezes, a evitação da situação com potencial de induzir a extinção, que levaria a um enfraquecimento da resposta ao fator emocional (Herry e Mons, 2004; Bouton e cols., 2006).

Uma exemplificação deste processo é observada em modelo animal se for associados o som de uma campainha (estímulo condicionado), com um choque elétrico (estímulo incondicionado), que irá ter como resultado uma resposta (estresse). Quando não for mais acionado o choque, e o som da campainha continuar a ser apresentado, esta passa a não mais representar que o choque será recebido e sim, que não mais acontecerá quando esta tocar (Izquierdo, Bevilaqua, Cammarota, 2006). A esquiva inibitória, em que um animal aprende a inibir uma determinada resposta (descer de uma plataforma, sair de um compartimento) para evitar

um estímulo aversivo (McGaugh, 2000) é particularmente fácil de extinguir, porque a realização de tal resposta significa o começo de uma extinção (Vianna e cols., 2001; Szapiro e cols., 2002; Cammarota e cols., 2004b, 2005).

A memória de curta duração não é extinta durante o tempo em que a memória de longa duração é construída (0,5 à 6h) (Cammarota e cols., 2004a; Medina, Schröder e Izquierdo, 1999) e passa a ser extinta mais tarde (Vianna e cols., 2001).

A extinção costuma ser vista como uma gradual inibição da evocação. As memórias inibidas não estão perdidas pelo esquecimento, pois reaparecem espontaneamente ou após a reiteração isolada do estímulo incondicionado (Vianna e cols., 2001; Szapiro e cols., 2002; Bouton e cols., 2006).

O fato da extinção necessitar do receptor NMDA, da PKA, da síntese de RNAm e da síntese de proteínas (Vianna e cols., 2003) no hipocampo, no núcleo BLA e no córtex entorrinal; de ERKs e tirosina quinases no hipocampo e da CaMKII no hipocampo e córtex entorrinal, indica que se trata de um novo aprendizado (Vianna e cols., 2001; Myers e Davis, 2002; Cammarota e cols., 2004b).

Foi demonstrado que a anisomicina, que é um inibidor da síntese protéica, ao ser infundido no córtex insular, provoca o bloqueio da extinção da aversão a um sabor determinado (Berman e Dudai, 2001), quando injetada na região CA1 do hipocampo bloqueia a extinção da esquiva inibitória (Vianna e cols., 2001) e quando injetada no núcleo BLA bloqueia a extinção do sobressalto condicionado (Myers e Davis, 2002). Além da anisomicina, a infusão intra-hipocampal de dois

inibidores da transcrição de genes (DRB ou alfa-amanitina) provocam o bloqueio da extinção do estímulo condicionado (Szapiro e Cols., 2002).

As regiões cerebrais importantes na extinção do medo são o CPFvm (Bevilaqua e cols., 2005b; Sotres-Bayon, Cain e Le Doux, 2006) o núcleo BLA, o hipocampo e o córtex entorrinal (Bevilaqua e cols., 2005b, 2006). O CPFvm, em particular a região infra-límbica, regula a expressão do medo pela inibição da amígdala, que é um lugar crítico para a aquisição e a extinção do medo aprendido e também para a extinção (Phelps e cols., 2004).

A inibição de JNK na região CA1 do hipocampo bloqueia a extinção na esquiiva inibitória imediatamente, mas não após 180 min do início da extinção (Bevilaqua e cols., 2007).

A extinção envolve interações entre as áreas corticais e sub corticais do cérebro, principalmente entre o córtex pré-frontal ventromedial (CPFvm), o núcleo BLA, o hipocampo, o córtex entorrinal e eventualmente outras áreas de acordo com a tarefa a ser extinta (Cammarota e cols., 2007a; Quirk e cols., 2006; Phelps e cols., 2004; Bayon e cols., 2006).

Topiramato

Muitas drogas têm sido estudadas com o objetivo de avaliar o seu potencial de bloquear a extinção da memória, porém como estes trabalhos são realizados através da injeção das drogas diretamente no local estudado, provavelmente não correspondem idealmente ao uso terapêutico, desta forma, outros trabalhos devem ser desenvolvidos a fim de ampliar a possibilidade para o uso clínico.

O sistema GABA-benzodiazepínicos (BZD) da amígdala, regula não apenas a ansiedade, mas a memória emocional assim como a ação amnésica dos compostos BZD. Como estas drogas impedem o aprendizado, não são eficazes na extinção, pois conforme já descrito, esta se constitui em um novo aprendizado (Cammarota e cols., 2007b).

O TOP [2,3: 4,5-bis-O-(1-metil etileno)-3,6-β-D-frutopiranosulfamato ($C_{12}H_{21}NO_8S$)], é um medicamento que surgiu para o tratamento da epilepsia em 1996. Em modelo animal, o TOP é altamente efetivo no bloqueio da convulsão por eletrochoque em ratos e camundongos, apresentando uma atividade nítida após 30 minutos da administração oral, um pico entre 1 e 6 horas e depois um declínio gradativo (White, 2005; Shank e cols., 2000).

O TOP possui um peso molecular de 339 g/mol, é um sulfamato derivado da D-Frutose que possui um constante de dissociação (pka) de 8,7 e uma alta solubilidade em água. O seu metabolismo é 30% hepático e 70% é excretado via renal sem metabolização (Langtry, Gillis e Davis, 1997).

Na epilepsia, a dose inicial recomendada é de 25 a 50 mg/dia, sendo que a dose pode ser aumentada gradualmente com o acréscimo de 25 a 50mg por uma ou duas semanas. Para o tratamento de manutenção, normalmente as doses são de 200 a 600 mg/dia. A dose mais alta possível de ser administrada é de 1000mg por dia em doses fracionadas (Langtry, Gillis e Davis, 1997).

Independente da sua ação antiepiléptica, o TOP tem mostrado uma ação neuroprotetora com ação máxima na concentração de 80mg/Kg, mostrando uma redução da injúria neuronal (Fisher e cols., 2004).

Na epilepsia por Cainato, o TOP apresentou efeito anticonvulsivante quando utilizado nas concentrações de 30 e 100 mg/kg, sendo que o efeito mostrou ser dose dependente. A injeção de TOP 30 mg/kg reduziu a freqüência da convulsão espontânea em ratos induzidos à epilepsia por Cainato por 12 horas, e os resultados persistiram por 43 horas (Grabenstatter e cols., 2005).

Em ratos e humanos o TOP apresenta uma concentração mais alta no sangue total do que no plasma, devido a sua fraca ligação as proteínas plasmáticas (15%) e a sua ligação aos eritrócitos, que provavelmente reflete a sua associação com a anidrase carbônica. Em ratos, a concentração total cerebral é de 1/3 da concentração plasmática (Shank e cols., 2000).

Quando administrado 10 mg/kg de TOP, a dose necessária para ED₅₀ no teste (concentração eficaz como inibitória da convulsão em 50% do grupo amostrado) foi de aproximadamente 10 µM (10,8 µmol/kg de tecido).

Em humanos, além da sua utilização para uso em epilepsia no controle das crises convulsivas, o TOP tem sido utilizado na clínica médica para a prevenção da Migrânea (Krimchantowski e cols., 2004; White, 2005).

O seu uso tem sido investigado para o controle da obesidade e em vários transtornos de humor, entre eles, em pacientes bipolares (Chengappa, Gershon e Levine, 2001), no transtorno do estresse pós-traumático (Kan e Liberzon, 2004; Shank e cols., 2000), e em pacientes “borderline” (do Prado Lima, 2006; Tanesi, Yazigi e Fiore, 2007).

O TOP tem demonstrado ser um potente “anti-kindling”, em função disso é um promissor no tratamento do estresse traumático. Estudos têm demonstrado que o TOP é um medicamento que apresenta bons resultados quando administrado em pacientes com estresse traumático (Berland, 2001, 2004).

Uma resposta exagerada a um barulho é um sintoma presente no estresse pós-traumático. Embora a sua base fisiológica não seja bem conhecida e existam poucos tratamentos disponíveis, pesquisas neurobiológicas têm sugerido que agentes anticonvulsivantes e ou antagonistas do glutamato podem atenuar a resposta exagerada ao sobressalto acústico em modelo animal (Khan e Liberzon, 2004).

Num estudo que analisou a presença do TOP no tecido cerebral, quando administrado intraperitonealmente por 8 dias, nas concentrações de 0 a 100mg/kg, o TOP foi detectável a partir de 10mg/kg (Sills e cols., 2000).

Em humanos, foram observados alguns efeitos colaterais nas funções cognitivas com o uso do TOP (Thompson, 2000; Werz, 2006; Wheller, 2006), entre

eles a ataxia, diminuição da concentração, da fluência verbal, da memória de reconhecimento de objetos (Martins de Lima e cols., 2007) e memória de trabalho (McCabe e Eslinger, 2000), assim como a presença de fadiga (Fritz e cols., 2005; Shank e cols., 2000). Como o efeito é dose dependente, doses baixas na maioria dos estudos não apresentaram efeitos negativos nas funções cognitivas; porém quando o tratamento foi mais prolongado, o prejuízo na memória de trabalho e na fluência verbal se faz bastante presente (Sankar e Holmes, 2004; Gomer e cols., 2007; Lee e cols., 2006).

Quando utilizado em pacientes com epilepsia, avaliados através de ressonância magnética funcional, foi observado que o TOP provoca um declínio na ativação do córtex pré-frontal que é responsável entre outras funções, pela memória de trabalho (Jansen e cols., 2006; Kockelmann, Elger e Heimstaedter, 2004).

Mecanismos de ação do Topiramato

Os mecanismos de ação do TOP têm sido demonstrados em estudos pré-clínicos que indicam ser a fosforilação de proteínas o ponto em comum entre eles.

Em cultura de neurônios neocorticais, o TOP reduz a ativação da corrente de Sódio (McLean, Bukhari e Wamil, 2000) e em cultura de neurônios hipocámpais, em concentrações compatíveis com doses terapêuticas, reduz a frequência e a duração do potencial de ação epileptogênico espontâneo (White e cols., 2005).

Em modelo animal, a ação do TOP foi significativa a partir de 10 até 100 mg/kg, que corresponde a doses terapêuticas, sendo que a intensidade do efeito é dose dependente. A atenuação do canal de sódio voltagem dependente pode ser devido à estabilização do canal no seu estado inativo (Rigoulot e cols., 2003).

O TOP é responsável pela modulação negativa do canal de Cálcio tipo L. Para avaliar a influência do TOP na ativação do canal de cálcio dependente de voltagem (McKinney e Murphy, 2006), ou outras (Gibbs e cols., 2000; Ängehagen e cols., 2003b), que possam vir a interferir com os processos cálcio-dependentes imediatos pós-treino, necessários para a consolidação (Izquierdo e Medina, 1997; Bernabeu e cols., 1997).

O TOP inibe a atividade da anidrase carbônica (AC), mais especificamente as isoenzimas II e IV (Rigoulot e cols., 2003). Nos trabalhos de Sun e Alkon, foi demonstrado que ativadores da anidrase carbônica fazem com que haja um aumento no efluxo de HCO_3^- nos receptores gabaérgicos, de forma a fazer com que o mecanismo inibitório que ocorre normalmente devido à entrada de Cl^- (hiperpolarização), se torne excitatório (despolarização). A inibição da AC pelo TOP, faz com que haja um aumento da ação gabaérgica como inibitória (Sun e Alkon, 2001, 2002).

Nos neurônios do núcleo BLA, em modelo de "Patch-Clamp", foi avaliada a ação do TOP em baixa concentração nos receptores AMPA e Cainato. Os resultados mostraram que o TOP inibiu seletivamente a resposta excitatória sináptica nos dois tipos de receptores, porém a ação nos receptores GluR5 foi maior, com uma redução de 50% na corrente, mostrando que o TOP em doses clínicas inibe estes

receptores. Nos receptores AMPA, a resposta foi mais fraca e mais lenta. A provável ação é na dessensibilização destes receptores a nível pós-sináptico (Gryder e Rogawski, 2003).

Os receptores GluR5 do Cainato, são considerados o primeiro sitio de ação do TOP. Estes receptores estão presentes nos terminais gabaérgicos das células piramidais e interneurônios do núcleo BLA. Os GluR5KRs na região pré-sináptica, modulam a liberação do GABA de forma bidirecional e dependente da concentração de agonistas (Braga e cols., 2003). Baixa concentração de agonistas facilita a liberação do GABA, enquanto que a concentração elevada de agonistas impede a sua liberação nos interneurônios das células piramidais.

Local de ação	Mecanismos de ação do Topiramato
Receptores Cainato (GluR5)	Dessensibilização
Receptores AMPA	Dessensibilização
Anidrase Carbônica (II e IV)	Inibição da atividade
Receptores GABA _A	Ativação
Canal de Ca ⁺²	Modulação negativa
Canal de Na ⁺	Atenuação e/ou estabilização no estado inativo

Tabela 2: Principais mecanismos de ação do Topiramato.

Objetivos

Geral

- Avaliar a influência do TOP na consolidação e extinção de memórias aversivas em modelo animal.

Específicos

- 1) Avaliar a influência do TOP na consolidação da memória de longa duração em modelo animal, através da administração de dose única, imediatamente ou 3 horas após o treino.
 - 2) Avaliar a influência do uso prolongado de TOP pré-extinção da memória de longa duração.
 - 3) Avaliar a influência do uso de TOP durante a extinção da memória de longa duração.
 - 4) Avaliar a influência do uso de TOP na possível perda de memória, em modelo animal, após estresse induzido por choque, sem a realização da extinção, passando somente pelo teste final na esQUIVA inibitória.
-

Materiais e métodos

Amostra

Para o experimento, foram utilizados como amostra 83 ratos Wistar machos, adultos, de mais ou menos três meses de idade, adquiridos no Instituto Ludwig de São Paulo, e alojados em grupos de seis, com acesso livre a comida e água. Os ratos foram mantidos em ambiente a $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, em um ciclo de 12h, com alternância de luz/escuro (luz a partir das 07h00min). O medicamento administrado foi o TOP (“Topamax”- Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda.-Portugal), adquirido em comprimidos de 25 mg e dissolvidos em suco de maçã (“Suvalan”-Natural Products Ind. e Com. Ltda- Brasil), diluído previamente 1:1 com água.

Os grupos foram divididos em um grupo controle de 18 ratos e 5 grupos amostra de 13 ratos cada. O primeiro grupo foi o modelo que mostrou a influência do TOP na consolidação da memória através da sua administração imediata após o estresse, o segundo grupo foi o modelo que avaliou a influência do TOP na memória quando administrado 3 horas após o estresse traumático. O terceiro grupo foi o modelo que mostrou a influência do uso prolongado de TOP, pré-extinção na memória, o quarto grupo foi o modelo que avaliou o uso de TOP somente no período em que os animais estavam no procedimento que possibilita a extinção da memória e, o quinto grupo, avaliou a influência da administração de TOP no período de tempo padrão igual ao quarto grupo, porém sem passar pelo processo de

extinção na esQUIVA inibitória, com o intuito de observar o efeito isolado do TOP na memória.

EsQUIVA inibitória

Só podemos medir a memória através da sua recuperação. As memórias, porém, não são armazenadas de forma integral, pois mesmo após serem estabelecidas e consolidadas, não são permanentes. Quando se avalia a aquisição ou a perda de memória em modelo animal (ratos), se utiliza a tarefa de esQUIVA inibitória de sessão única. Este é um paradigma muito importante para se avaliar a influência de medicamentos sobre a memória de curta e/ou de longa duração, e tem sido o mais utilizado neste tipo de estudo nos últimos 30 anos (Izquierdo e cols., 2006).

O estímulo incondicionado é um choque aplicado nas patas do animal quando o mesmo desce da plataforma; o estímulo condicionado (medo) é a permanência na parte segura da caixa de treinamento (plataforma).

O aparelho usado na esQUIVA inibitória é de acrílico opaco, e possui uma parede frontal em acrílico transparente, medindo 50 x 25 x 25 cm. O assoalho é uma grade de barras de bronze paralelas de 0,1 cm de calibre, separadas entre si por 1 cm, com uma conexão do assoalho metálico a um estimulador elétrico. Na parte esquerda sobre a grade, há uma plataforma de fórmica com 7 cm de largura e 2,5 cm de altura. O resto do chão da caixa é uma grade de barras de bronze eletrificáveis.

O rato é colocado sobre a plataforma olhando para o canto traseiro esquerdo. Após alguns segundos, no instante em que o animal desce da plataforma colocando as quatro patas na grade, recebe um choque elétrico de 1mA por 2 segundos. Esta intensidade estamos considerando como modelo de estresse traumático (Graeff, 2003). Imediatamente após o treino, cada animal foi retirado da caixa de teste e recolocado delicadamente na sua caixa residência.

Para avaliar a memória formada durante a sessão treino (estímulo incondicionado), o animal foi submetido a sessões de teste, sendo para isso novamente colocados sobre a plataforma da caixa de esquiva.

Para avaliar a possibilidade de extinção da memória, houveram sessões de teste, sempre sem o choque. Para cada hipótese do estudo, foram realizadas 5 sessões de extinção (T1 a T5), uma a cada 24 h e a sessão final de teste 48 horas após. Da mesma forma que no treino, o comportamento analisado no teste foi a latência de descida da plataforma em segundos.

A extinção deve ser instalada no momento da primeira sessão de teste (Vianna e cols., 2001; Szapiro e cols., 2002; Cammarota e cols., 2004b, 2005a).

Após cada sessão de extinção, o animal foi colocado sobre a grade metálica por 30 segundos quando pode explorar o local livremente (Cammarota e cols., 2003a). Após o término do 5º teste, ficou 48 horas sem receber medicação ou suco de maçã, quando foi submetido a um último teste na esquiva inibitória (T6). A exposição sucessiva à caixa de esquiva inibitória, sem o reforço do choque, normalmente leva à extinção gradativa da memória do estresse.

Em todos os procedimentos os cuidados do “Principles of animal care” (NIH publicação Nº 85-23, revisada em 1996) foram observados. Após os experimentos, os ratos ficaram disponíveis para o Centro de Memória para seu uso eventual em outros experimentos.

Análise estatística

A medição do tempo em segundos com um platô de 600s no teste, requeriu o uso de um teste não paramétrico. Os resultados foram expressos como medianas e amplitude interquartil dos tempos de latência de descida da plataforma no paradigma de esquiva inibitória.

Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis na análise da variância, seguido pelo teste Mann-Whitney ou Wilcoxon quando necessário para a comparação entre as sessões do mesmo grupo. Foi considerado estatisticamente significativo um $p < 0,05$ para o Kruskal-Wallis e Mann Whitney.

Aspecto ético

O presente estudo obteve aprovação da comissão científica da Faculdade de Medicina e do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS.

Hipóteses referentes à consolidação da memória

Hipótese 1: Administração de TOP, em dose única, imediatamente após o estresse, inibe a consolidação da memória traumática de longa duração.

Para estimar a ação do TOP na consolidação da memória, foram administradas 10mg/Kg de TOP em dose única, previamente dissolvido em suco de maçã (diluído 1:1 com água) e administrado imediatamente após o choque de 1mA por 2 segundos, via oral por gavagem. Posteriormente, foram aguardados 14 dias e, no 15º dia, foi iniciado o procedimento de extinção da memória, por 5 dias consecutivos (T1 a T5), utilizando o paradigma de esQUIVA inibitória. Após 48 horas, período em que ficaram recebendo suco de maçã, foi realizado o teste final T6, de extinção da memória, na esQUIVA inibitória.

Hipótese 2: A administração de TOP, em dose única, 3 horas após o estresse, inibe a consolidação da memória traumática de longa duração.

Para estimar a ação do TOP na consolidação da memória, foi realizado um modelo de administração de 10mg/Kg de TOP, em dose única, dissolvido em suco de maçã (previamente diluído 1:1 com água) e administrado 3 horas após o estresse, via oral por gavagem. Posteriormente, foram aguardados 14 dias e, no 15º dia foi

iniciado o procedimento de extinção da memória, por 5 dias consecutivos (T1 a T5), utilizando o paradigma de esquiva inibitória. Após 48 horas, período em que ficaram recebendo suco de maçã, foi realizado o teste final T6, de extinção da memória, na esquiva inibitória.

Hipóteses referentes à extinção da memória

Hipótese 3: A administração de TOP por 14 dias consecutivos após o choque, facilita a extinção da memória aversiva

Para esta hipótese, 36 horas após o choque de 1mA por 2 segundos, os ratos receberam 10mg/Kg de TOP por 14 dias, dissolvidos em suco de maçã (previamente diluído 1:1 com água), administrado duas vezes ao dia, via oral por gavagem, com um intervalo de oito horas entre as doses. Após o término do período de administração do medicamento, foram aguardadas 24 horas e iniciado o procedimento de extinção da memória na esquiva inibitória. Durante o período de extinção, os ratos receberam por 5 dias consecutivos (T1 a T5), duas vezes ao dia por gavagem, suco de maçã (previamente diluído 1:1 com água), com um intervalo de oito horas entre as doses. Após, ficaram 48 horas na caixa residência recebendo suco de maçã, quando então foi realizado o teste T6 de extinção da memória na esquiva inibitória.

Hipótese 4: A administração de TOP somente no período de extinção da memória, facilita o processo de extinção do estresse traumático.

Para estimar as alterações da memória pelo uso do TOP, após o choque de 1mA por 2 segundos, os ratos receberam por quatorze dias consecutivos, suco de maçã diluído 1:1 com água, duas vezes ao dia, com um intervalo de oito horas entre as doses administradas oralmente por gavagem. Após este período, foram aguardadas 24 horas para o início do procedimento de extinção da memória (T1 a T5), período em que os ratos receberam 10mg/Kg de TOP dissolvido em suco de maçã (previamente diluído 1:1 com água), duas vezes ao dia, com um intervalo de oito horas entre as doses administradas. Após 48 horas, período em que ficaram na caixa residência recebendo suco de maçã, foi realizado o teste T6 de extinção da memória na esQUIVA inibitória.

Hipótese 5: Teste de controle do efeito direto do TOP na extinção da memória.

Para estimar as alterações na memória pelo uso do TOP, após o choque de 1mA por 2 segundos, os ratos receberam por quatorze dias consecutivos, suco de maçã diluído 1:1 com água, duas vezes ao dia, com um intervalo de oito horas entre as doses administradas oralmente por gavagem. A administração de TOP por 5 dias, no mesmo período do grupo da hipótese 4, porém sem realizar a extin-

ção (T1 a T5), mas avaliado T6 na esQUIVA inibitória, não deve apresentar efeito direto na perda da memória traumática.

Resultados

Em primeiro lugar estão demonstrados os tempos medianos de descida da plataforma, para todos os modelos de testes, realizados na esQUIVA inibitória no momento do treinamento inicial, antes da aplicação do choque traumático.

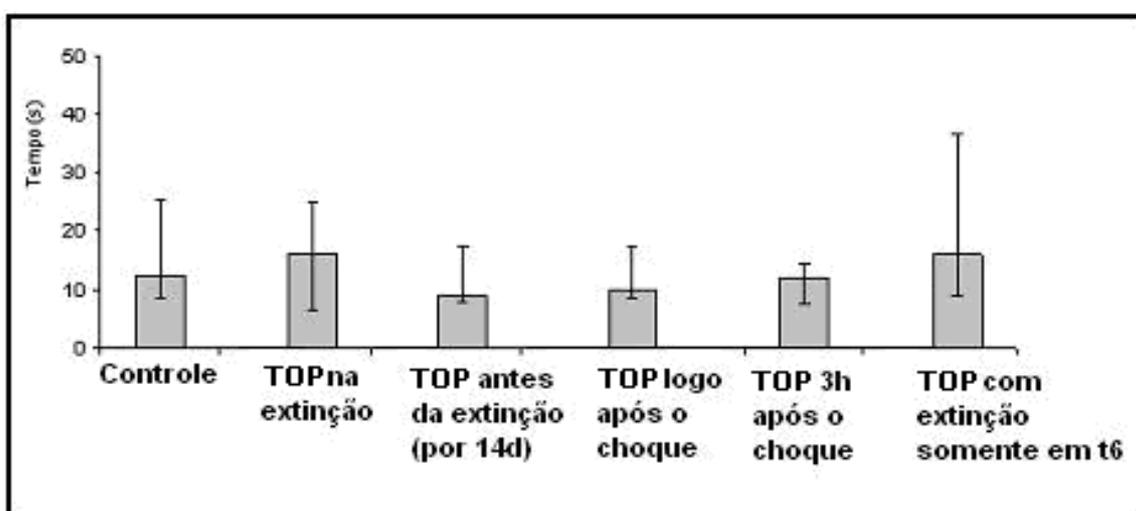


Figura 4- Medianas e amplitude interquartílica por grupo no treinamento. Os grupos no momento do treinamento não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$).

O primeiro experimento avaliou a administração de TOP na concentração de 10 mg/kg em dose única, imediatamente após o estresse, na consolidação da memória de longa duração. Os resultados encontrados mostraram que o TOP impediu a consolidação da memória traumática de longa duração em T1 ($p < 0,01$) (Fig 5 e 7), demonstrado quando comparados os tempos T1, T5 e T6 do grupo controle com o grupo amostra.

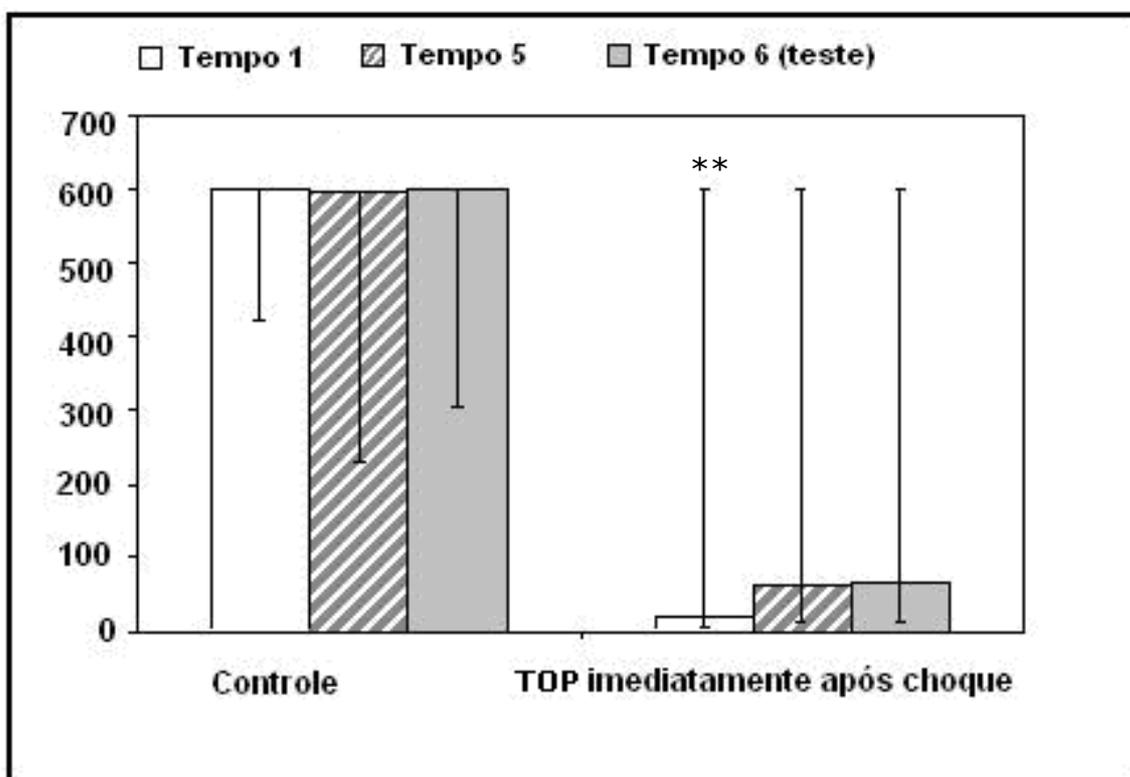


Figura 5- TOP administrado imediatamente após o choque. A administração de TOP (10mg/kg) inibiu a consolidação da memória traumática adquirida. A ação foi significativa em T1 (** $p < 0,01$) quando comparado o grupo controle com o grupo amostra. Estão representadas as medianas e a amplitude interquartílica para os tempos de latência de descida da plataforma em segundos para os tempos T1, T5 e T6 do grupo controle ($n=18$) quando comparado com o grupo amostra ($n=13$).

O segundo experimento avaliou a administração de TOP, na concentração de 10 mg/kg em dose única, 3 horas após o estresse, na consolidação da memória de longa duração. Os resultados encontrados mostraram que o TOP impediu a consolidação da memória de longa duração do estresse traumático, demonstrado nos tempos T1 ($p < 0,01$), T5 ($p < 0,01$) e T6 (teste) ($p < 0,01$), quando comparado o grupo controle com o grupo amostra (Fig 6 e 7).

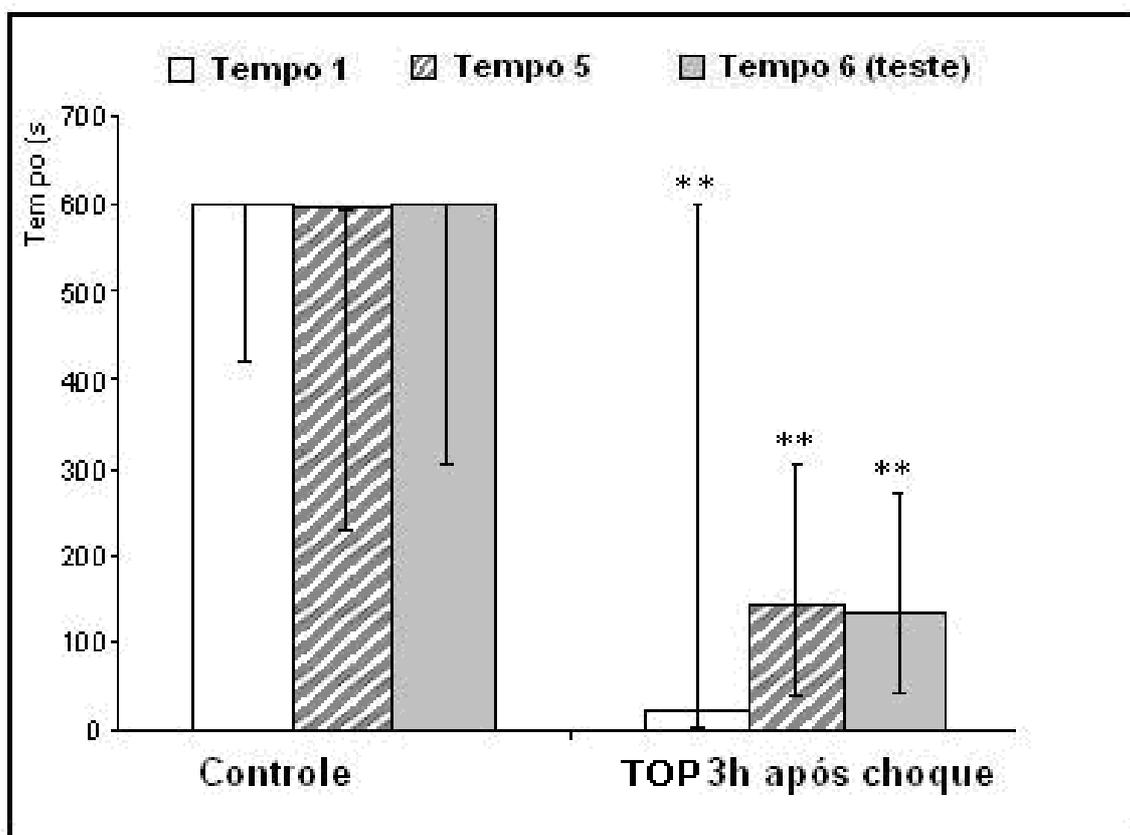


Figura 6- TOP administrado 3 horas após o choque. A administração de TOP (10 mg/kg) inibiu a consolidação da memória traumática adquirida. A diferença foi significativa quando comparado o grupo controle com o grupo amostra em T1 (** $p < 0,01$), T5 (** $p < 0,01$) e T6(teste) (** $p < 0,01$). Estão representadas as medianas e a amplitude interquartílica para os tempos de latência de descida da plataforma em segundos para os tempos T1, T5 e T6 do grupo controle ($n=18$) quando comparado com o grupo amostra ($n=13$).

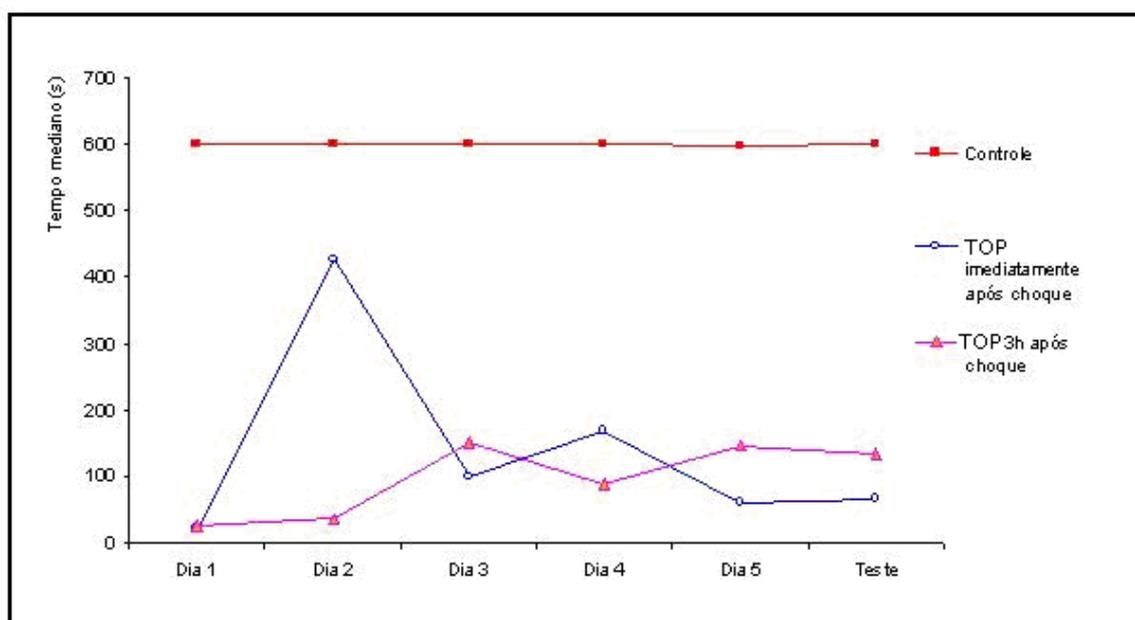


Figura 7- Tempos medianos da latência de descida da plataforma em segundos. Estão representados os tempos a cada dia da extinção (T1 a T5) e teste T6 para o grupo controle e amostra para as hipóteses 1 e 2.

O terceiro experimento avaliou o efeito da administração de 10 mg/Kg de TOP, por 14 dias consecutivos após o estresse traumático, na extinção da memória de longa duração. Os resultados encontrados mostraram que o TOP não induziu a extinção da memória quando comparados os tempos T1, T5 e T6 do grupo controle ($p > 0,05$) com o grupo amostra (Fig 8 e 10).

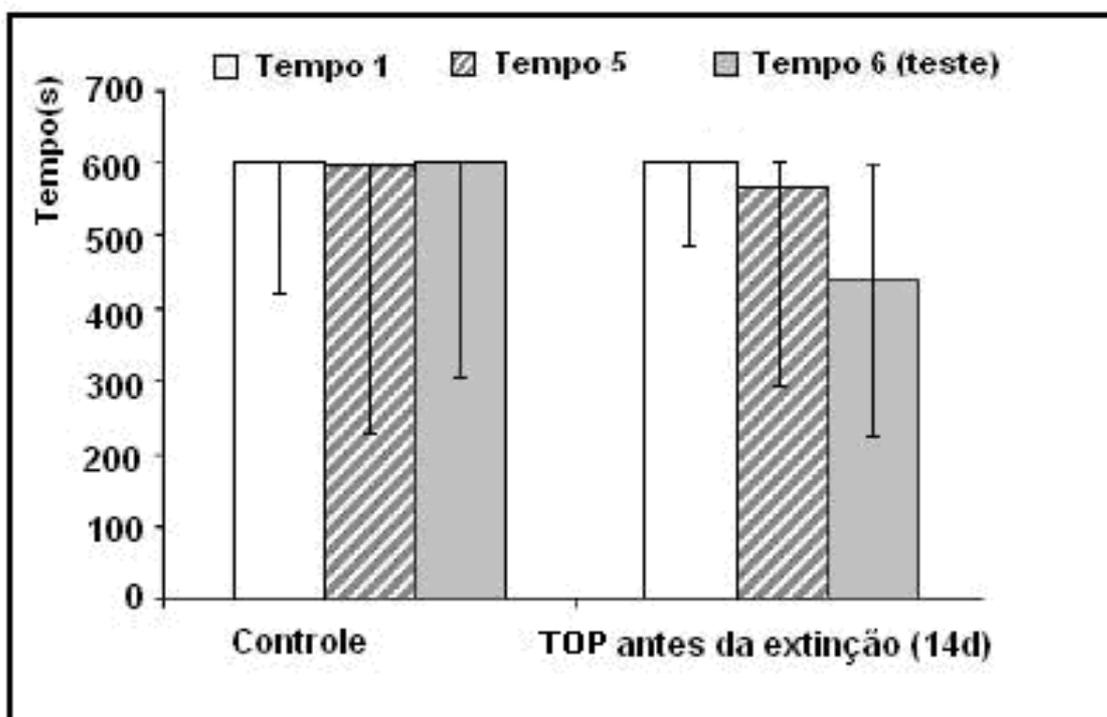


Figura 8- TOP administrado por 14 dias consecutivos antes da extinção da memória. A administração de Top (10mg/kg) não extinguiu a memória de longa duração do estresse traumático. Estão representadas as medianas e a amplitude interquartílica para os tempos T1, T5 e T6 do grupo controle (n=18) e amostra (n=13). Não houve uma diferença significativa entre T1, T5 e T6 do grupo controle quando comparado com o grupo amostra ($p>0,05$).

O quarto experimento avaliou a administração de TOP na concentração de 10 mg/kg, somente no período de T1 a T5, período em que ocorreu o procedimento de extinção na esquiwa inibitória. Os resultados encontrados mostraram que o TOP induziu a extinção da memória significativamente em T6 ($p<0,01$), quando comparado os tempos T1, T5 e T6 do grupo controle com o grupo amostra (Fig 9 e 10).

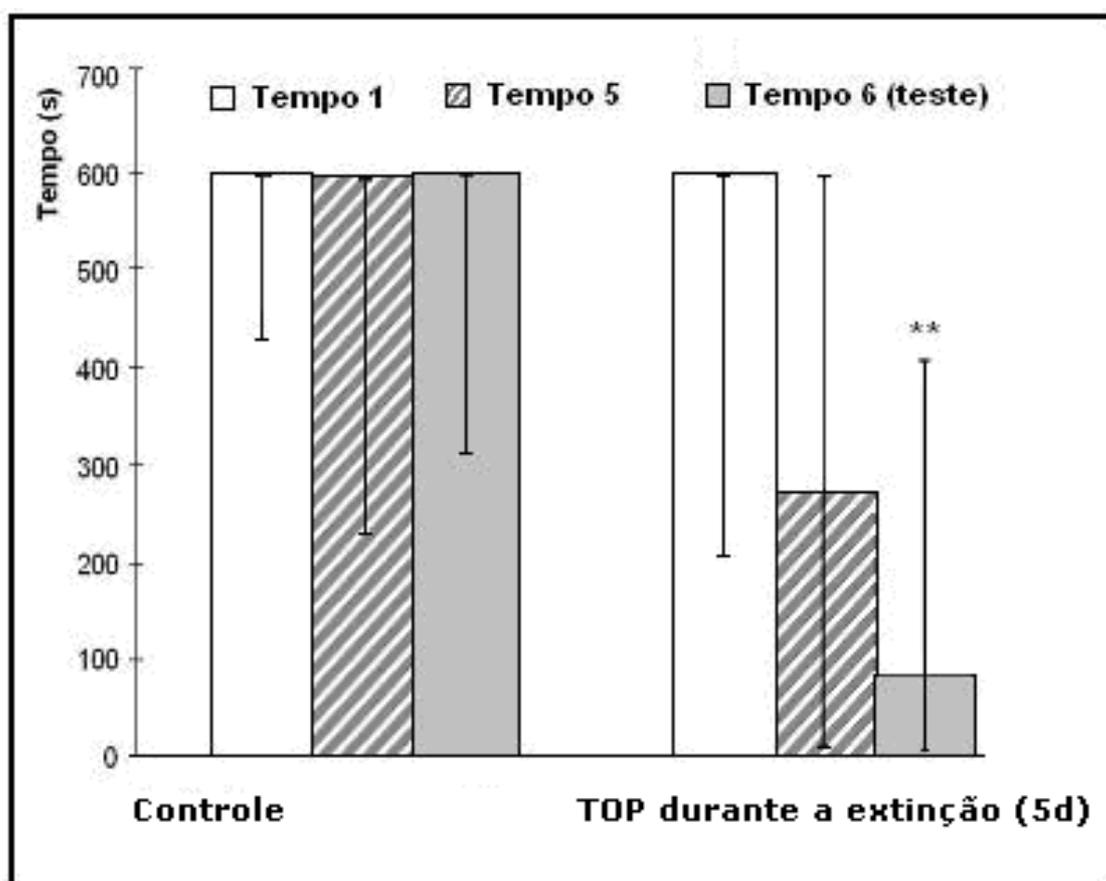


Fig. 9- TOP administrado por 5 dias consecutivos no período de extinção da memória. A administração de TOP (10mg/Kg) induziu a extinção da memória de longa duração do estresse traumático. A extinção foi significativa em T6 (** $p < 0,01$). Estão representadas as medianas e a amplitude interquartílica dos tempos de latência de descida da plataforma em segundos, para os tempos T1, T5 e T6 do grupo controle ($n=18$) quando comparado com o grupo amostra ($n=13$).

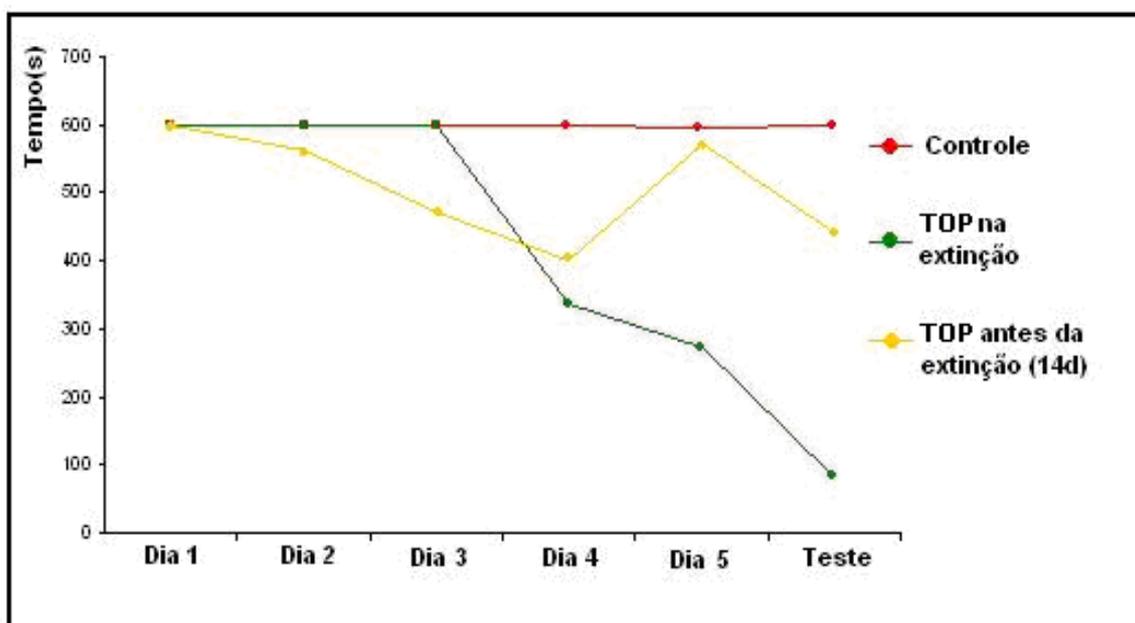


Figura 10- Tempos medianos da latência de descida da plataforma em segundos. Estão representados os tempos a cada dia da extinção (T1 a T5) e no dia do teste final (T6) do grupo controle e amostra para as hipóteses 3 e 4.

O quinto experimento avaliou a administração de TOP na concentração de 10 mg/kg no mesmo período do quarto experimento (16º ao 20º dia após o estresse traumático), porém sem passar pelo processo de extinção na esquiua inibitória. Os resultados encontrados mostraram que o TOP não induziu diretamente a perda da memória demonstrado na comparação do tempo T6 do grupo controle com o grupo amostra ($p > 0,05$).

Discussão

No presente estudo, foram analisadas cinco hipóteses relacionadas à ação do TOP na memória.

O primeiro experimento que avaliou a ação do TOP administrado por uma única vez imediatamente após o choque traumático mostrou que ele impediu de forma lábil a consolidação da memória de longa duração. A diferença foi significativa em T1, porém não se manteve significativa em todos os tempos.

O efeito pode ser explicável por uma influência do TOP, talvez mediada por uma inibição de canais de cálcio voltagem dependentes. Existem dois subtipos de canais de Ca tipo L encontrados no cérebro (Ca_v1,2 e Ca_v1,3). No estudo de McKinney e Murphy foi demonstrado, em ratos com deleção do gene para o subtipo Ca_v1,3, que este subtipo de canal é importante na consolidação da memória, mas não é para a extinção do medo (McKinney e Murphy, 2006).

No estudo de Ångenhagen e cols., foi demonstrado em cultura de células de neurônios do córtex cerebral de ratos, que a habilidade do TOP em inibir o Cainato na indução do acúmulo de Ca²⁺ é inversamente proporcional ao nível de PKA na fosforilação do canal receptor. Quando foi realizado um pré-tratamento da cultura, com ativadores da PKA, o TOP teve sua ação inibida, porém quando adicionados inibidores da PKA, mostrou sua ação aumentada. A conclusão foi de que o TOP exerce um efeito modulatório quando se liga aos sítios de fosforilação dos

receptores AMPA e Cainato, quando estes estão desfosforilados (Ängehagen e cols., 2004b).

Observa-se então, que o TOP neste primeiro experimento, pode ter atenuado, por mecanismos indiretos, a intervenção da PKA logo depois do treino (ver Izquierdo e Medina, 1997; Bernabeu e cols., 1997), mas provavelmente sem inibir o 2º pico dessa enzima, que é mais intenso e mais diretamente vinculado com a transcrição e a síntese protéica subsequente (Bernabeu e cols., 1997; Izquierdo e cols., 2006).

Sabemos que o CPFvm e CPFdl têm uma relação direta com a amígdala e o hipocampo (Izquierdo e cols., 2006, 2007). Tratamentos que afetam a memória imediata podem afetar também a memória de longo prazo (Izquierdo e cols., 2007).

O TOP, no estudo de Shannon e Love em modelo animal, provocou uma perda da memória de trabalho, que não foi muito intensa mas significativa. Esta ação refletiu a diminuição da memória espacial (Shannon e Love., 2004).

Um estudo que utilizou administração aguda (uma dose injetável) de TOP para avaliar a memória de longa duração no reconhecimento de objetos, mostrou que a partir da dose de 10mg/Kg, o TOP inibiu a recuperação deste tipo de memória (Martins de Lima e cols., 2007).

O nosso segundo experimento que avaliou a ação do TOP quando administrado 3 horas após o recebimento do choque, mostrou que ele impediu a consolidação da memória de longa duração. Nesse tempo (3 h), ocorre o pico maior do

AMPC, da PKA, de CREB e de atividade do receptor AMPA (Bernabeu e cols., 1997, Izquierdo 2006).

Em outro estudo de Ängehagen e cols., foi avaliado o efeito modulatório do TOP nos receptores AMPA, em cultura de células de astrócitos. Especificamente, foi avaliado como o TOP inibia transitoriamente a entrada de Ca^{+2} nos receptores e também, como ele modulava a fosforilação realizada pela PKA no GluR1, que é responsável pela ativação do receptor AMPA, possibilitando a entrada de Ca^{+2} pelo canal do receptor. Os resultados mostraram que o TOP de 10 a 100 μ M, impediu a PKA de acessar o local de fosforilação. Este efeito foi devido à ligação do TOP em Ser845, limitando a fosforilação da PKA na subunidade GluR1 do receptor AMPA e, por isto, reduzindo a entrada de Ca^{+2} pelo receptor (Ängehagen e cols, 2005).

Observa-se então que em nosso experimento, o TOP possivelmente inibiu a ação da PKA em seu estado desfosforilado impedindo a fosforilação dos receptores AMPA ou a fosforilação de CREB nesse período. Esses processos deverão ser objeto de pesquisas futuras.

Os resultados encontrados no nosso terceiro experimento, mostraram que a administração de TOP na concentração de 10mg/kg por 14 dias antes da extinção da memória traumática, não induziu nem facilitou este procedimento.

De acordo com o tempo de vida médio dos ratos, duas semanas equivaleriam aproximadamente a um ano de tratamento em humanos (Khan e Liberzon, 2004). Este tempo é considerado um tratamento prolongado que intensifica os

efeitos colaterais como torpor, efeito cognitivo associado a sua ação no lobo frontal (Fritz e cols., 2005).

No estudo de Swider e cols., o TOP nas concentrações de 76 a 135 mg/kg, 2 horas antes do teste, não afetou a memória na esQUIVA inibitória, porém, quando administrado junto com NMDA (50mg/kg) e Cainato (10mg/kg) dificultou a consolidação da memória de longa duração (Swiader e cols., 2005). Este foi o único estudo encontrado que relata o efeito do TOP no paradigma de esQUIVA inibitória. Como a administração foi em dose única e bem mais levada que em nosso estudo, não podemos realizar uma associação direta com nosso experimento.

Sabe-se que a ação do TOP é dose dependente (Anderjaska e cols., 2007), desta forma, podemos supor que doses muito altas ou a administração por um período muito prolongado, não facilitam a extinção da memória devido a uma ação prolongada do sistema gabaérgico, que quando muito forte e/ou por um tempo muito prolongado leva à intensificação do efeito colateral já descrito, que deixa os animais apáticos. Soma-se o fato de que no primeiro dia de extinção, no momento da recuperação da memória traumática, o medicamento já não estava sendo administrado, o que pode ter levado à recuperação do medo condicionado, que impediu o início do mecanismo de extinção. Com isto, fica evidente que a ação do medicamento é concentração dependente e que a sua administração desde o início da extinção é necessária.

Os receptores GluR5 do Cainato, são considerados o primeiro sitio de ação do TOP. Estes receptores estão presentes nos terminais gabaérgicos das células piramidais e interneurônios no núcleo BLA. Os GluR5KRs na região pré-sináptica,

modulam a liberação do GABA de forma bidirecional e dependente da concentração de agonistas (Braga e cols., 2003). Baixa concentração de agonistas (ATPA ou glutamato), facilita a liberação do GABA, enquanto que a concentração elevada de agonistas, impede a sua liberação nos interneurônios das células piramidais. O TOP em concentração muito alta e/ou por tempo muito prolongado, potencializa a liberação do GABA, intensificando a atuação dos receptores gabaérgicos.

O nosso quarto experimento, que avaliou a influência da administração do TOP na concentração de 10mg/Kg, durante os 5 dias de extinção da memória, mostrou que a ação do medicamento a partir do primeiro dia da extinção da memória de longa duração, induziu ou facilitou a extinção da memória, demonstrada pela redução gradual do tempo de latência de descida da plataforma.

Devemos inicialmente considerar que no grupo controle que passou pelo mesmo procedimento traumático, sem receber o TOP, não houve extinção da memória do stress intenso, processo que deveria ser instalado na primeira sessão do teste sem o estímulo incondicionado. Foi observado que o stress se manteve constante, devido à manutenção do estado catatônico de “freezing”, observado a cada dia, quando os animais eram expostos ao ambiente da esQUIVA inibitória.

Esta consideração reforça a idéia de que a intensidade do choque utilizado provocou um estresse traumático que exerceu uma reação aversiva ao ambiente no qual recebeu o choque, demonstrado pela impossibilidade de extinção da memória no grupo controle.

Neste mesmo experimento, para avaliarmos o efeito do TOP no grupo caso, devemos considerar que a extinção da memória envolve inicialmente a sua recuperação, o que sugere que o TOP exerceu uma importante ação na amígdala, diminuindo significativamente a memória do medo condicionado e, desta forma, possibilitou a extinção da memória do stress no paradigma de esquiva inibitória.

A extinção se processou gradativamente e foi significativa estatisticamente, no último dia do teste, quando o TOP já não estava mais sendo administrado há 48 horas. Com isto, foi observado que a retirada do TOP atenuou possíveis efeitos colaterais, facilitando ainda mais a extinção.

A evocação da memória, no paradigma da esquiva inibitória, que tem seu gatilho através do estímulo condicionado, necessita tanto no hipocampo como no neocórtex, o bom funcionamento dos sistemas de sinalização da PKA e ERK, assim como a ativação dos receptores metabotrópicos do glutamato (Cammarota e cols., 2000; Izquierdo e cols., 2006). Além destes, no hipocampo e no córtex entorrinal, o receptor AMPA e, no córtex parietal e cingulado anterior, também o receptor NMDA (Izquierdo e Medina, 1997; Izquierdo, 2006). No núcleo BLA, são requeridos para a recuperação da memória, somente os receptores AMPA intactos, assim como o sistema modulatório β noradrenérgico (Cammarota e cols., 2000, 2004b).

Vários experimentos demonstraram esta afirmativa ao utilizarem inibidores da PKA, ERK e da síntese protéica, assim como antagonistas dos receptores NMDA que, quando infundidos no hipocampo ou no núcleo BLA na primeira ses-

são de teste, impediram a extinção da memória (Cammarota e cols., 2000; Izquierdo e cols., 2006).

O TOP exerceu uma ação inibitória nos receptores Cainato, que conforme já descrito, tem a subunidade GluR5 como primeiro alvo de sua ação (Anderjaska e cols., 2007).

Gryder e Rogawski realizaram um estudo em neurônios do núcleo BLA em modelo de "Patch-Clamp" com o TOP em baixa concentração ($IC_{50} \sim 0,5 \mu M$), avaliando a sua ação nos receptores AMPA e Cainato. Os resultados mostraram que o TOP inibiu seletivamente a resposta excitatória sináptica nos dois tipos de receptores, porém a ação nos receptores GluR5 foi maior, com uma redução de 50% na corrente, mostrando que o TOP em doses clínicas inibe estes receptores. Nos receptores AMPA, a resposta foi mais fraca e mais lenta, mostrando que, como estes receptores são cruciais para a resposta excitatória sináptica no sistema nervoso central, o seu bloqueio acarretaria em uma diminuição grave no comportamento neurológico, o que não é observado na clínica com o TOP em doses terapêuticas. A provável ação nos receptores AMPA e Cainato é na dessensibilização destes receptores, a nível pós-sináptico (Gryder e Rogawski, 2003).

Como o receptor AMPA é o único receptor que necessita estar intacto para a recuperação da memória, podemos considerar que a amígdala exerceu um papel modulatório (Cammarota e cols., 2004a; Izquierdo e cols., 2008), mas a ação do TOP nos receptores AMPA na região BLA foi mais lenta e menor que a ação no GluR5KRs (Gryder e Rogawski, 2003), desta forma, para a concentração

utilizada, o TOP não impediu a recuperação da memória, o que possibilitou a sua extinção.

Como entre os mecanismos de ação do TOP está o aumento da ação do receptor GABA_A, este mecanismo possivelmente está envolvido na inibição da recuperação do medo aprendido em nosso experimento. A ação do TOP no receptor GABA_A parece ter sido um fator importante, pois já foi demonstrado que o GABA como fármaco, seria um ótimo candidato à supressão da atividade da amígdala (Bouton e cols., 2006; Grabenstatter e cols., 2005, White, 2000).

O GluR5KR está presente tanto em terminais sinápticos como pré-sinápticos. A ação excitatória no GluR5KRs promove uma resposta de corrente excitatória pós-sináptica que, por sua vez, inibe a liberação pré-sináptica do GABA promovida pelo GluR5KRs nos interneurônios da região basolateral da amígdala.

Como esta liberação é agonista dependente, o TOP ao ser administrado, inibiu a ação excitatória dos GluR5KRs que, como consequência, aumentou a liberação do GABA pelos terminais pré-sinápticos, inibindo o medo na região BLA (Anderjaska e cols., 2007).

A importância do sistema gabaérgico na regulação da memória no hipocampo tem sido bem demonstrada (Izquierdo, 2002; Izquierdo e cols., 2006). Um interneurônio gabaérgico inerva 1000 células piramidais, fechando efetivamente o fluxo de sinal quando os interneurônios estão ativos. A mudança de função dos interneurônios gabaérgicos, de inibitória para excitatória, é de fundamental importância na memória relacionada ao hipocampo. Uma modificação no fluxo de HCO₃⁻ através dos receptores gabaérgicos, modifica fortemente a transmissão de

sinal no hipocampo (Sun e Alkon, 2002). Esta mudança de sinal, de inibitório para excitatório, tem como responsável a ativação da enzima anidrase carbônica, que catalisa reversivelmente a hidratação do dióxido de carbono (CO₂), formando o HCO₃⁻, que leva a uma maior expressão de uma memória de tipo contextual (Sun e Alkon, 2001) (Note-se que a esquiva inibitória pode também ser vista como uma memória contextual, Cammarota e cols., 2008).

O TOP inibe as isoenzimas II e IV da anidrase carbônica que são encontradas em células gliais e neurônios cerebrais. A inibição faz com que haja um aumento da ação gabaérgica inibitória (Sun e Alkon, 2002).

No estudo de Khan e cols., o TOP foi administrado na concentração de 10 e 30mg/kg, via oral por uma semana, em ratos que passaram por um stress de nado forçado e por um posterior sobressalto acústico. Os resultados mostraram que o TOP reduziu significativamente o efeito do sobressalto acústico nos ratos estressados. O sobressalto acústico do grupo controle, que não passou pelo estresse do nado forçado, não foi afetado pelo TOP (Khan e Liberzon, 2004).

Apesar do modelo do estudo acima referido não ser exatamente igual ao nosso, é relevante observarmos o efeito do TOP na amígdala, atenuando o efeito excitatório provocado pelo estresse. Em função disso, podemos supor que os mecanismos neuronais e resposta, nos dois estudos, sejam semelhantes.

A região basolateral da amígdala recebe informações sensoriais via direta e indireta do tálamo e córtex pré-frontal e, frontal e hipocampo (Bouton e cols., 2006).

A excitabilidade no núcleo basolateral da amígdala, tem sido implicada em desordens emocionais estressantes quando um dos mecanismos de regulação é a modulação inibitória do sistema gabaérgico. Um dos mecanismos envolve a regulação da liberação do GABA via subunidade GLUR5 dos receptores ionotópicos cainato, que é a subunidade particularmente elevada na amígdala na região basolateral, no núcleo medial e no hipocampo (Li e cols., 2001). Conforme já descrito, o antagonismo a este receptor é o primeiro papel do TOP na inibição da resposta do medo adquirido (Anderjaska e cols., 2007).

Neste quarto experimento, a diminuição da recuperação da memória do medo provocado pelo stress traumático, pode ser explicada também, pela ação direta ou indireta do TOP nos receptores GABA_A.

A conclusão é que a atenuação ou bloqueio parcial do medo, presumivelmente no circuito amígdala-hipocampo-córtex pré-frontal, permitiu que no primeiro dia a extinção se iniciasse.

O quinto experimento foi uma contra prova realizada para nos certificarmos se o TOP apagava a memória sem passar pelo procedimento de extinção. Os resultados mostraram que o TOP nesta dose (10mg/kg) e por este período, não provocou a perda da memória de longa duração, provavelmente por não ter passado pelo procedimento de extinção da memória na esquia inibitória, o que fez com que não ocorresse a coincidência temporal de medicamento e extinção, que parece ser necessária para que esta inicie.

Novos estudos devem ser realizados para que se possa melhor avaliar a atuação do TOP na consolidação e extinção da memória traumática.

Conclusão

O presente estudo avaliou a ação do TOP na consolidação e extinção da memória de longa duração da esQUIVA inibitória, um possível modelo animal de estresse traumático. Os resultados encontrados evidenciaram que:

O TOP administrado imediatamente após a aquisição, inibiu a consolidação da memória de longa duração do estresse traumático de forma lábil. Administrado 3 h após o treino, a inibição foi maior.

O TOP não induziu a extinção da memória de longa duração quando administrado por 14 dias antes do procedimento de extinção da memória.

Quando administrado durante o período de extinção da memória (5 dias), o TOP induziu ou facilitou a extinção da memória de longa duração do estresse traumático, comprovando a necessidade de haver administração do medicamento e processo de extinção concomitante, assim como foi comprovada a extinção no teste (T6) momento em que o TOP não estava mais sendo administrado há 48 horas.

Quando administrado no mesmo período (5 dias), porém sem passar pela extinção da memória, o TOP não agiu diretamente apagando a memória do medo condicionado.

Nossos resultados oferecem duas sugestões para investigação clínica:

- 1) O uso do TOP na prevenção do transtorno do estresse pós-traumático.
-

2) O uso do TOP para aumentar a extinção de memórias traumáticas superconsolidadas que ocorrem em pacientes com este transtorno e também, muitas vezes, em pacientes com personalidade “borderline”.

Referências

- Akirav T, Maroun M: Ventromedial prefrontal cortex is obligatory for consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Cerebral Cortex*. 2006;16:1759-65.
- Alberini CM. The role of protein synthesis during the labile phases of memory: Revisiting the skepticism. *Neurobiol Learn Mem*. 2008;89:293-311.
- Anderjaska VA, Qashu F and Braga MFM. Mechanisms regulating GABAergic inhibitory transmission in the basolateral amygdale: implications for epilepsy and anxiety disorders. *Amino Acids*. 2007;32:305-15.
- Ängehagen M, Ben-Menachem E, Shank R, Rönnbäck L, Hansson E. Topiramate modulation of kainate-induced calcium currents is inversely related to channel phosphorylation level. *J Neurochem*. 2004a;88:320-5.
- Ängehagen M, Ben-Menachem E, Rönnbäck L, Hansson E. Novel mechanisms of action of three antiepileptic drugs, vigabatrin, tiagabine, and topiramate. *Neurochem Res*. 2003a;28:333-40.
- Ängehagen M, Ben-Menachem E, Rönnbäck L, Hansson E. Topiramate protects against glutamate- and kainate-induced neurotoxicity in primary neuronal-astroglial cultures. *Epilepsy Res*. 2003b;54:63-71.
- Ängehagen M, Ben-Menachem E, Shank R, Rönnbäck L, Hansson E. Topiramate modulation of kainate-induced calcium currents is inversely related to channel phosphorylation level. *J Neurochem*. 2004b;88:320-5.
- Ängehagen M, Rönnbäck L, Hansson E, Ben-Menachem E. Topiramate reduces AMPA-induced Ca^{+2} transients and inhibits GluR1 subunit phosphorylation in astrocytes from primary cultures. *J Neurochem*. 2005;94:1124-30.
- Barad M, Gean PW, Lutz B. The role of the amygdala in the extinction of conditioned fear. *Biol Psychiatry*. 2006;60:322-8.
- Barros DM, Mello e Souza T, De David, Choi, Aguzzoli A, Madche C, Ardenghi P, Medina JH, Izquierdo I, Simultaneous modulation of retrieval by dopaminergic D_1 , β -noradrenergic, serotonergic1A and cholinergic muscarinic receptors in cortical structures of the rat. *Behavioural Brain Research*. 2001;124: 1-7.
-

- Bayon FS, Cain CK, LeDoux JE. Brain mechanisms of fear extinction: historical perspectives on the contribution of prefrontal cortex. *Biol Psychiatry*. 2006;60:329-36.
- Bekinschtein P, Cammarota M, Igaz LM, Bevilaqua LR, Izquierdo I, Medina JH. Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis and BDNF dependent phase in the hippocampus. *Neuron*. 2007;53:261-77.
- Bekinschtein P, Cammarota M, Katche C, Slipczuk L, Rossato JI, Goldin A, et al. BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:2711-6.
- Berlant JL. Prospective open-label study of add-on and monotherapy topiramate in civilians with chronic nonhallucinatory posttraumatic stress disorder. *BMC Psychiatry*. 2004;4:24.
- Berlant JL. Topiramate in posttraumatic stress disorder: Preliminary Clinical Observations. *J Clin Psychiatry*. 2001;62:60-3.
- Berman DE, Dudai Y. Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science*. 2001;291:2417-9.
- Bernabeu R, Bevilaqua L, Ardenghi P, Bromberg E, Schimitz P, Bianchin M, et al. Involvement of hippocampal AMPc/AMPC-dependent protein kinase signaling pathways in a late memory consolidation phase of aversively motivated learning in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:7041-6.
- Bevilaqua L, Ardenghi P, Schröder N, Bromberg E, Quevedo J, Schmitz PK, Bianchin M, Walz R, Schaeffer E, Medina JH, Izquierdo I. Agents that affect AMPc levels or protein kinase A activity modulate memory consolidation when injected into rat hippocampus but not amygdala. *Braz J Med Biol Res*. 1997;30:967-70.
- Bevilaqua LR, Bonini JS, Rossato JI, Izquierdo LA, Cammarota M, Izquierdo I. The entorhinal cortex plays a role in extinction. *Neurobiol Learn Mem*. 2006;85:192-7.
- Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. Memory consolidation induces n-methyl-d-aspartic acid-receptor- and Ca^{2+} /Calmodulin-dependent protein kinase II-dependent modifications in α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptor properties. *Neuroscience*. 2005a;136:397-403.
- Bevilaqua LR, Rossato JI, Clarke JH, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. Inhibition of c-Jun N-terminal kinase in the CA1 region of the dorsal hippocampus blocks extinction of inhibitory avoidance memory. *Behav Pharmacol*. 2007;18:483-9.
-

-
- Bevilaqua LRM, Silva WN, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. Extinction and reacquisition of a fear-motivated memory require activity of the Src family of tyrosine kinases in the CA1 region of the hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005b;81:139-45.
- Bonini JS, Cammarota M, Kerr DS, Bevilaqua LRM, Izquierdo I. Inhibition of PKC in basolateral amygdala and posterior parietal cortex impairs consolidation of inhibitory avoidance memory. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005;80:63-7.
- Bouton ME, Westbrook RF, Corcoran KA, Maren S. contextual and temporal modulation of extinction: behavioral and biological mechanisms. *Biol Psychiatry.* 2006;60:352-60.
- Braga MF, Aroniadou-Anderjaska V, Xie J, Li H. Bidirectional modulation of GABA release by presynaptic glutamate receptor 5 kainate receptors in the basolateral amygdala. *J Neurosci.* 2003;23:442–452.
- Cahill L, Alkire MT. Epinephrine enhancement of human memory consolidation: Interaction with arousal at encoding. *Neurobiol Learn Mem.* 2003;79:194-8.
- Cahill L, McGaugh JL. Modulation of memory storage. *Curr Opin Neurobiol.* 1996;6:237-42.
- Cain CK, Blouin AM, Barad M. Adrenergic Transmission facilitates extinction of conditional fear in mice. *Learn Mem.* 2004;11:179-87.
- Cammarota M, Bernabeu R, Izquierdo I and Medina JH. Reversible changes in hippocampal 3[H]-AMPA binding following inhibitory avoidance training in the rat. *Neurobiol Learn Mem.* 1996;66:85-8.
- Cammarota M, Barros DM, Vianna MR, Bevilaqua LR, Coitinho A, Szapiro G, et al. The transition from memory retrieval to extinction. *An Acad Bras Cienc.* 2004a;76:573-82.
- Cammarota M, Bevilaqua LR, Barros DM, Vianna MR, Izquierdo LA, Medina JH, Izquierdo I. Retrieval and the extinction of memory. *Cell Mol Neurobiol.* 2005a; 25 : 465-74.
- Cammarota M, Bevilaqua LR, Kerr D, Medina JH, Izquierdo I. Inhibition of mRNA and protein synthesis in the CA1 region of the dorsal hippocampus blocks reinstallation of an extinguished conditioned fear response. *J Neurosci.* 2003a;23:737-41.
- Cammarota M, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, et al. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learnig & Memory.* 2004b;11:572-8.
-

Cammarota M, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I. ERK1/2 and CaMKII-mediated events in memory formation: Is 5HT regulation involved? *Behav Brain Res*. 2007a. Epub ahead of print.

Cammarota M, Bevilaqua LR, Rossato JI, Lima RH, Medina JH, Izquierdo I. Parallel memory processing by the CA1 region of the hippocampus and the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci*. 2008; in press.

Cammarota M, Bevilaqua LR, Rossato JI, Ramirez M, Medina JH, Izquierdo I. Relationship between short- and long-term memory and short- and long-term extinction. *Neurobiol Learn Mem*. 2005b;84:25-32.

Cammarota M, Bevilaqua LR, Rostas JA, Dunkley PR. Histamine activates tyrosine hydroxylase in bovine adrenal chromaffin cells through a pathway that involves ERK1/2 but not p38 or JNK. *Journal of Neurochemistry*. 2003b;84:453-8.

Cammarota M, Bevilaqua LR, Vianna MR, Medina JH, Izquierdo I. The extinction of conditioned fear: structural and molecular basis and therapeutic use. *Rev Bras Psiquiatr*. 2007b;29:80-5.

Cammarota M, Bevilaqua LR, Viola H, Kerr DS, Reichmann B, Teixeira V, et al. Participation of CaMKII in neuronal plasticity and memory formation. *Cell Mol Neurobiol*. 2002;22:259-67.

Cammarota M, LR Bevilaqua LR, Ardenghi P, Paratcha G, Levi de Stein M, Izquierdo I and Medina JH. Learning-associated activation of nuclear MAPK, CREB and Elk-1, along with Fos production, in the rat hippocampus after a one-trial avoidance learning: abolition by NMDA receptor blockade. *Mol Brain Res* 2000;76:36-46.

Cammarota M, R Bernabeu, M Levi de Stein, I Izquierdo and JH Medina. Learning-specific, time-dependent increases in hippocampal Ca^{2+} / calmodulin-dependent protein kinase II activity and AMPA GluR1 subunit immunoreactivity. *Eur J Neurosci*. 1998;10:2669-76.

Chengappa KNR, Gershon S, Levine J. The evolving role of topiramate among other mood stabilizers in the management of bipolar disorder. *Bipolar disorders* 2001;3:215-32.

Dash PK, Herbert AE, Runyan JD. A unified theory for systems and cellular memory consolidation. *Brain Res Rev*. 2004;45:30-7.

do Prado-Lima PA, Kristensen CH, Bacaltchuck J. Can childhood trauma predict response to topiramate in borderline personality disorder? *J Clin Pharm Ther*. 2006;31:193-6.

Dudai Y, Eisenberg M. Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron*. 2004 ;44:93-100.

Eppel AB. Uma visão psicobiológica da personalidade limítrofe. *Rev psiquiatr RS*. 2005;27:1-8.

Fisher A, Wang X, Cock HR, Thom M, Patsalos PN, Walker MC. Synergism between topiramate and budipine in refractory status epilepticus in the rat. *Epilepsia*. 2004;45:1300-7.

Fritz N, Glogau S, Hoffmann J, Rademacher M, Elger CE, Helmstaedter C. Efficacy and cognitive side effects of tiagabine and topiramate in patients with epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2005;6:373-81.

Gazzaniga M, Ivry RB, Mangun GR. *Neurociência Cognitiva*. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2006.

Gibbs III JW, Sombati S, DeLorenzo RJ, Coulter DA. Cellular Actions of Topiramate: blockade of kainate-evoked inward currents in cultured hippocampal neurons. *Epilepsia* 2000;41:10-6.

Gold PE. Protein synthesis inhibition and memory: formation vs amnesia. *Neurobiol Learn Mem*. 2008;89:201-11.

Gomer B, Wagner K, Frings L, Saar J, Carius A, Härle M, Steinhoff BJ, Schulze-Bonhage A. The influence of antiepileptic drugs on cognition: a comparison of levetiracetam with Topiramate. *Epilepsy Behav*. 2007;10:486-94.

Grabenstatter HL, Ferraro DJ, Williams PA, Chapman PL, Dudek FE. Use of chronic epilepsy models in antiepileptic drug discovery: The effect of Topiramate on spontaneous motor seizures in rats with kainate-induced epilepsy. *Epilepsia*. 2005;46:8-14.

Graeff FG. Biological basis of posttraumatic stress disorder. *Rev Bras Psiquiatr*. 2003;25:21-4.

Gruart A, Muñoz RD, Delgado-García JM. Involvement of the CA3-CA1 synapse in the acquisition of associative learning in behaving mice. *J. Neurosci*. 2006;26:1077-87.

Gryder DS, Rogawski MA. Selective antagonism of GluR5 kainate-receptor-mediated synaptic currents by topiramate in rat basolateral amygdala neurons. *J Neurosci*. 2003;23:7069-74.

Hall BJ, Ghosh A. Regulation of AMPA receptor recruitment at developing synapses. *Trends Neurosci*. 2008;31:82-9.

Hernandez PJ, Abel T. The role of protein synthesis in memory consolidation: Progress amid decades of debate. *Neurobiol Learn Mem.* 2008;89:293-311.

Herrero AI, Olmo ND, Escalada JRG, Solis JM. Two new actions of Topiramate: inhibition of depolarizing GABA_A-mediated responses and activation of a potassium conductance. *Neuropharmacology.* 2002;42:210-20.

Herry C, Mons N. Resistance to extinction is associated with impaired immediate early gene induction in medial prefrontal cortex and amygdala. *Eur J Neurosci.* 2004;20:781-90.

Igaz LM, Winograd M, Cammarota M, Izquierdo LA, Alonso M, Izquierdo I, Medina JH. Early activation of extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in the hippocampus is required for short-term memory formation of a fear-motivated learning. *Cell Mol Neurobiol.* 2006;26:989-1002.

Izquierdo I, Barros DM, Mello e Souza T, Souza MM, Izquierdo LA, Medina JH. Mechanisms for memory types differ. *Nature.* 1998;393:635-6.

Izquierdo I, Bevilaqua LRM, Cammarota M. A arte de esquecer. *Estudos avançados.* 2006;20:289-96.

Izquierdo I, Bevilaqua LRM, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends in Neurosciences.* 2006;29:496-505.

Izquierdo I, Cammarota M, da Silva WC, Bevilaqua LRM, Rossato JI, Bonini JS et al. The evidence for hippocampal long-term potentiation as a basis of memory for simple tasks. *An Acad Bras Cienc.* 2008;80:115-27.

Izquierdo I, Fin C, da Silva R.C. et al. Memory enhancement by intra-hippocampal, intra-amygdala or intra-entorhinal infusion of platelet-activating factor measured in an inhibitory avoidance task. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:5047-51.

Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behav Pharmacol.* 2000;11:517-34.

Izquierdo I, Medina JH, Vianna MR, Izquierdo LA, Barros DM. Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behav Brain Res.* 1999;103:1-11.

Izquierdo I, Medina JH. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem.* 1997;68:285-316.

Izquierdo I. *Memória.* Porto Alegre: Artmed, 2002.

Izquierdo I. Endogenous state dependency: Memory depends on the relation between the neurohumoral and hormonal status present after training and at the time of testing. In *Neurobiology of Learning and Memory* (Lynch G, McGaugh JL, Weinberger N, eds.), p 333-350, New York: Guilford Press, 1984.

Izquierdo LA, Barros DM, Costa JC, Furini C, Zinn C, Cammarota M, et al. A link between role two prefrontal areas in immediate memory and in long-term memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem.* 2007;88:160-6.

Izquierdo I, Quillfeldt J.A; Zanatta, M.S et al. Sequential role of hippocampus and amygdala, entorhinal cortex and parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. *Eur J Neurosci.* 1997;9:786-93.

Jansen JFA, Aldenkamp AP, Majoie HJM, Reijs RP, Krom MCTFM, Holfman PAM, et al. Functional MRI reveals declined prefrontal cortex activation in patients with epilepsy on topiramate therapy. *Epilepsy Behav.* 2006;9:181-5.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Fundamentos da Neurociência e do comportamento.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;1997.

Kapczinski F, Margis R. Posttraumatic stress disorder: diagnostic criteria. *Rev Bras Psiquiatr.* 2003;25:3-7.

Khan S, Liberzon I. Topiramate attenuates exaggerated acoustic startle in an animal model of PTSD. *Psychopharmacology (Berl).* 2004;172:225-9.

Klann E, Sweatt JD. Altered protein synthesis is a trigger for long-term memory formation. *Neurobiol Learn Mem.* 2008;89:247-59.

Kockelmann E, Elger CE, Helmstaedter C. Cognitive profile of topiramate as compared with lamotrigine in epilepsy patients on antiepileptic drug polytherapy: relationships to blood serum levels and comedication. *Epilepsy Behav.* 2004;5:716-21.

Kockelmann E, Elger CE, Helmstaedter C. Significant improvement in frontal lobe associated neuropsychological functions after withdrawal of topiramate in epilepsy patients. *Epilepsy Res.* 2003;54:171-8.

Krymchantowski AV, Tavares C, Penteado JC, Adriano M. Topiramate in the preventive treatment of migraine: experience in a tertiary center. *Arq Neuropsiquiatr.* 2004;62:91-5.

Langtry HD, Gillis JC, Davis R. Topiramate. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and clinical efficacy in the management of epilepsy. *Drugs.* 1997;54:752-73.

-
- Lee HW, Jung DK, Suh CK, Kwon SH, Park SP. Cognitive effects of low-dose topiramate monotherapy in epilepsy patients: A 1-year follow-up. *Epilepsy Behav.* 2006;8:736-41.
- Li H, Chen A, Xing G, Wei ML, Rogawski MA. Kainate receptor-mediated heterosynaptic facilitation in the amygdala. *Nat Neurosci.* 2001;4:612-20.
- Malenka RC, Nicoll RA. Long-Term Potentiation-A Decade of Progress? *Science.* 1999;285:870-1874.
- Marti Barros D, Ramirez MR, Dos Reis EA, Izquierdo I. Participation of hippocampal nicotinic receptors in acquisition, consolidation and retrieval of memory for one trial inhibitory avoidance in rats. *Neuroscience.* 2004;126:651-6.
- Martin R, Kuzniecky R, Ho S, Hetherington H, Pan J, Sinclair K, et al. Cognitive effects of topiramate, gabapentin, and lamotrigine in healthy young adults. *Neurology.* 1999;52:321-7.
- Martins de Lima MN, Presti-Torres J, Dornelles A, Bromberg E, Schroder N. Differential effects of low and high doses of topiramate on consolidation and retrieval of novel object recognition memory in rats. *Epilepsy Behav.* 2007;10:32-7.
- McCabe PH, Eslinger PJ. Abnormal Wada and Neuropsychological Testing Results due to topiramate therapy. *Epilepsia.* 2000;41:906-8.
- McGaugh JL, Izquierdo I. The contribution of pharmacology to research on the mechanism of memory formation, *Trends Pharmacol Sci.* 2000;21:208-10.
- McGaugh JL. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences, *Annu. Rev. Neurosci.* 2004;27:1-28.
- McKinney BC, Murphy GG. The L-Type voltage-gated calcium channel Cav1.3 mediates consolidation, but not extinction, of contextually conditioned fear in mice. *Learn Mem.* 2006;13:584-9.
- McLean MJ, Bukhari AA, Wam AW. Effects of topiramate on sodium-dependent action-potential firing by mouse spinal cord neurons in cell culture. *Epilepsia.* 2000;41:21-24.
- Medina JH, Schröder N, Izquierdo I. Two different properties of short and long-term memory. *Behav Brain Res.* 1999;103:119-21.
- Moore CM, Wardrop M, Frederick BB, Renshaw PF. Topiramate raises anterior cingulate cortex glutamine levels in healthy men; a 4.0 T magnetic resonance spectroscopy study. *Psychopharmacology.* 2006;188:236-43.
-

-
- Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, Addis DR, Westmacott R, Grady C, et al. Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *J Anat.* 2005;207:35-66.
- Muir GM, Bilkey DK. Instability in the place field location of hippocampal place cells after lesions centered on the perirhinal cortex. *J Neurosci.* 2001;21:4016-25.
- Mullasseril P, Dosemeci A, Lisman JE, Griffith LC. A structural mechanism for maintaining the 'on-state' of the CaMKII memory switch in the post-synaptic density. *J Neurochem.* 2007;103:357-64.
- Myers KM, Davis M: Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron.* 2002;36:567-584
- Pavlov, I.P. Conferências sobre o trabalho dos grandes hemisférios cerebrais. In: *Obras Escolhidas.* São Paulo, Fulgor, 1926.
- Paz R, Pelletier JG, Bauer EP, Paré D. Emotional enhancement of memory via amygdale-driven facilitation of rhinal interactions. *Nat Neurosci.* 2006;9:1321-9.
- Phelps EA, Delgado MR, Nearing KI, LeDoux JE: Extinction learning in humans: role of the amygdala and vmPFC. *Neuron.* 2004;43:897-905.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, et al. *Neurociências.* Artmed 2005;2ª ed.
- Quirk GJ, Garcia R, González-Lima F. Prefrontal mechanisms in extinction of conditioned fear. *Biol Psychiatry.* 2006;60:337-43.
- Rigoulot MA, Boehrer A, Nehlig A. Effects of topiramate in two models of genetically determined generalized epilepsy, the GAERS and the Audiogenic Wistar AS. *Epilepsia* 2003;44:14-9.
- Roosendaal B, Okuda S, Zee EAV, McGaugh JL. Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:6741-6.
- Ruiz JE, Barbosa Neto J, Schoedl AF, Mello MF. Psychoneuroendocrinology of posttraumatic stress disorder. *Rev Bras Psiquiatr.* 2007;29:7-12.
- Sankar R, Holmes GL. Mechanisms of action for the commonly used antiepileptic drugs: Relevance to antiepileptic drug-associated neurobehavioral adverse effects. *J Child Neurol.* 2004;19:6-14.
- Sapolsky RM. Stress and Plasticity in the Limbic System. *Neurochem Res.* 2003;28:1735-42.
-

Shank RP, Gardocki JF, Streeter AJ, Maryanoff BE. An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action. *Epilepsia*. 2000;41:3-9.

Shannon HE, Love PL. Effects of antiepileptic drugs on working memory as assessed by spatial alternation performance in rats. *Epilepsy Behav*. 2004;5:857-65.

Sills GJ, Kilpatrick JPLWS, Fraser CM, Thompson GG, Brodie MJ. Concentration-effect studies with topiramate on selected enzymes and intermediates of the GABA shunt. *Epilepsia*. 2000;41:30-4.

Smith ME, Gevins A, McEvoy LK, Meador KJ, Ray PG, Gilliam F. Distinct cognitive neurophysiologic profiles for lamotrigine and topiramate. *Epilepsia* 2006;47:695-703.

Soderling TR, Derkach VA. Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci*. 2000;23:75-80.

Sotres-Bayon F, Cain CK, LeDoux JE. Brain mechanisms of fear extinction: historical perspectives on the contribution of prefrontal cortex. *Biol Psychiatry*. 2006;60:329-36.

Stringer JL. A comparison of topiramate and acetazolamide on seizure duration and paired-pulse inhibition in the dentate gyrus of the rat. *Epilepsy Res*. 2000;40:147-53.

Sun MK, Alkon DL. Carbonic anhydrase gating of attention: memory therapy and enhancement. *Trends Pharmacol Sci*. 2002;23:83-9.

Sun MK, Alkon DL. Pharmacological enhancement of synaptic efficacy, spatial learning, and memory through carbonic anhydrase activation in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001;297:961-7.

Swiader MJ, Luszczki JJ, Zwolan A, Wielosz M, Czuczwar SJ. Effect of some convulsant agents on the protective activity of topiramate against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Pharmacol Rep*. 2005;57:373-9.

Szapiro G, Galante JM, Barros DM, Levi de Stein M, Vianna MR, Izquierdo LA, Izquierdo I, Medina JH. Molecular mechanisms of memory retrieval. *Neurochem Res*. 2002;27:1491-8.

Tanesi PHV, Yazigi L, Fiore MLM, Pitta JCN. Compliance in the treatment of borderline personality disorders. *Estud psicol*. 2007;12:71-8.

Thompson PJ, Baxendale SA, Duncan JS, Sander JW. Effects of topiramate on cognitive function. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000;69:636-41.

Van Stegeren AH. The role of the noradrenergic system in emotional memory. *Acta Psychol.* 2008;127:532-41.

Vianna MR, Igaz LM, Coitinho AS, Medina JH, Izquierdo I. Memory extinction requires gene expression in rat hippocampus. *Neurobiol Learn Mem.* 2003;79:199-203.

Vianna MR, Izquierdo LA, Barros DM, Walz R, Medina JH, Izquierdo I. Short and long-term memory: differential involvement of neurotransmitter systems and signal transduction cascades. *An Acad Bras Cienc.* 2000;72:353-64.

Vianna MR, Szapiro G, McGaugh JL, Medina JH, Izquierdo I. Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:12251-4.

Werz MA, Schoenberg MR, Meador KJ, Loring DW, Ray PG, Kaul-Gupta R, Ogrocki P. Subjective preference for lamotrigine or topiramate in healthy volunteers: relationship to cognitive and behavioral functioning. *Epilepsy Behav.* 2006;8:181-91.

Wheeler SD. Donepezil Treatment of topiramate-related cognitive dysfunction. *Headache.* 2006;46:332-9.

White HS, Brown D, Woodhead JH, Skeen GA, Wolf HH. Topiramate Modulates GABA-evoked currents in murine cortical neurons by a nonbenzodiazepine mechanism. *Epilepsia.* 2000;41:17-20.

White HS. Molecular pharmacology of topiramate: managing seizures and preventing migraine. *Headache.* 2005;45:48-56.

Yehuda R, Yang RK, Golier JA, Tischler L, Liang B, Decker K. Effect topiramate on glucocorticoid receptor mediated. *Neuropsychopharmacology.* 2004;29:433-9.
