

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

CAMILA ORLANDI ARENT

**PERFIL NEUROANATÔMICO DO EFEITO ANTIMANÍACO DOS
INIBIDORES DE HISTONAS DEACETILASES EM UM MODELO
ANIMAL DE MANIA**

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CAMILA ORLANDI ARENT

**PERFIL NEUROANATÔMICO DO EFEITO ANTIMANÍACO DOS
INIBIDORES DE HISTONAS DEACETILASES EM UM MODELO
ANIMAL DE MANIA**

Dissertação apresentada à Diretoria de Pós-Graduação da Universidade do Extremo Sul Catarinense- UNESC, para a obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. João Luciano de Quevedo

CRICIÚMA, DEZEMBRO DE 2010

Aos meus pais, Neusa e Volnei, por delegarem a mim sua maior herança: “a busca incessante pelo saber”.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Neusa e Volnei, pelo amor sagrado a mim durante toda a vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Quevedo, por me aceitar como orientanda e oportunizar importantes aprendizados.

Ao Prof. Dr. Flávio Kapczinski e seus alunos Gabriel R. Fries e Laura Stertz pela parceria e auxílio com as técnicas bioquímicas.

Às minhas colegas de mestrado e amigas, Samira, Morgana, Amanda e Gislaine que sempre estiveram ao meu lado durante todo o mestrado, auxiliando, contribuindo e tornando as jornadas de trabalho mais leves. Compartilho com vocês os resultados deste projeto.

Aos alunos de iniciação científica Camila, Edemilson, Felipe, Jéssica e Roger, pela árdua tarefa de executar este projeto com excelência. Partilho com vocês também estes resultados.

Aos meus grandes amigos Cristiane, Danon, Giane, Maykon, Stefânia e Samuel, que estão sempre presentes em minha vida. Obrigada pelo apoio, incentivo e amizade dedicados a mim.

Ao Luiz Paulo, pelo carinho e apoio.

Aos demais colegas do Laboratório de Neurociências que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto.

Por fim, meu agradecimento ao CNPq pelo auxílio financeiro que possibilitou a realização deste trabalho, à UNESC e aos professores do PPGCS pelos conhecimentos, auxílio e incentivo recebidos.

“O homem deve saber que de nenhum outro lugar, mas do encéfalo, vem a alegria, o prazer, o riso e a diversão, o pesar, o ressentimento, o desânimo e a lamentação. É por isto que de uma maneira especial, adquirimos sabedoria e conhecimento, e enxergamos e ouvimos e sabemos o que é justo e injusto, o que é bom e o que é ruim, o que é doce e o que é amargo... E é pelo mesmo órgão que tornamo-nos loucos e delirantes, e medos e terrores nos assombram... Todas estas coisas suportamos do encéfalo, quando não está sadio... Neste sentido sou da opinião de que o encéfalo exerce o maior poder sobre o homem.”

Hipócrates, acerca das doenças sagradas (séc. IX a.C.)

RESUMO

Um número crescente de estudos tem avaliado a relevância do potencial terapêutico das histonas desacetilases (HDAC) em transtornos de humor, como transtorno de humor bipolar (THB). Tem sido sugerido que o sistema límbico anterior, que controla a impulsividade e psicose, é disfuncional no THB. Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da microinjeção de inibidores de HDAC no ventrículo, a amígdala, estriado, pré-frontal e hipocampo sobre o comportamento maníaco induzido por meta-anfetamina (m-AMPH) em ratos Wistar. Os ratos receberam uma única dose intracerebral (no ventrículo, a amígdala, estriado, pré-frontal e hipocampo) de injeção de líquido cefalorraquidiano artificial (ACSF), butirato de sódio (SB) ou valproato (VPA), seguido por uma injeção intraperitoneal de salina ou m-AMPH 2 horas antes do teste do campo aberto. A atividade de HDAC foi avaliada em amígdala, estriado, córtex pré-frontal e hipocampo dos animais. A microinjeção de SB e VPA no ventrículo, amígdala, estriado, córtex pré-frontal, mas não no hipocampo bloqueou a hiperatividade induzida por m-AMPH. Além disso, SB e VPA inibiram a atividade da HDAC, no entanto, este efeito pode variar dependendo do procedimento experimental e das estruturas do cérebro avaliadas. Nossos resultados sugerem que os efeitos antimanicacos de SB e VPA, inibidores HDAC, estão relacionados com a amígdala, estriado e córtex pré-frontal, mas não no hipocampo. Mais estudos são necessários para esclarecer os efeitos terapêuticos dos inibidores HDAC no BD e assim desenvolver novos fármacos.

Palavras-chave: Transtorno de Humor Bipolar; meta-anfetamina; Histonas Deacetilases; Butirato; Valproato.

ABSTRACT

An increasing number of studies have evaluated the potential therapeutic relevance of histone deacetylases (HDAC) inhibitors in mood disorder, as bipolar disorder (BD). It has been suggested that anterior limbic, which controls impulsivity and psychosis, is dysfunctional in BD. The present studies aims to evaluate the effects of microinjection of HDAC inhibitors in the ventricle, amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus on m-amphetamine-induced manic-like behavior in rats. Rats were given a single intracerebral (in the ventricle, amygdala, striatum, prefrontal or hippocampus) injection of artificial cerebrospinal fluid (ACSF), sodium butyrate (SB) or valproate (VPA) followed by an intraperitoneal injection of saline or m-AMPH 2 h before the open-field task. The activity of HDAC was evaluated in amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus of animals. The microinjection of SB and VPA in the ventricle, amygdale, striatum, prefrontal, but not in hippocampus blocked the hyperactivity induced by m-AMPH. In addition, SB and VPA inhibited the HDAC activity; however, this effect varied depending on the experimental procedure and the brain structure evaluated. Our results suggest that the antimanic effects of SB and VPA, HDAC inhibitors, are related to the amygdala, striatum and prefrontal, but not the hippocampus. More studies are needed to clarify the therapeutic effects of the HDAC inhibitor in BD and thereby develop new drugs.

.

Key-words: Histone deacetylases; Bipolar disorder; Methamphetamine; Valproate; Butyrate

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Transtorno do Humor Bipolar	11
1.2 Áreas Cerebrais e Transtorno do Humor Bipolar	13
1.3 Histona Deacetilase e Transtorno do Humor Bipolar	15
1.4 Modelo Animal de Mania Induzida por Anfetamina	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral.....	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	21
4. DISCUSSÃO	46
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

1.1 Transtorno do Humor Bipolar

O Transtorno do Humor Bipolar (THB) é um transtorno mental crônico, muitas vezes incapacitante, pois envolve sintomas maníacos tipicamente precedidos e intercedidos por episódios depressivos. (Moreno et al., 2005). O THB afeta igualmente homens e mulheres e geralmente apresentam elevadas taxas de recaída, prolongando déficits cognitivos e funcionais, o que acarreta em prejuízos ao bem-estar e a qualidade de vida somente aos pacientes, mas também aos familiares e cuidadores (Manning, 1997; Tohen et al., 2003; Fagiolini et al., 2005; Revicki et al., 2005).

O termo “bipolar” expressa dois pólos de humor ou de estados afetivos que se alternam: a depressão e seu oposto, a hipomania ou a mania. A mania, dependendo da gravidade, tem manifestações como euforia, energia exagerada, grandiosidade, aceleração e uma sensação de prazer intenso ou um estado altamente irritável e agressivo (Calabrese et al., 2003).

Pacientes com THB geralmente possuem altas taxas de reincidência, sintomas que resistem mesmo com o tratamento, diminuição cognitiva e funcional, deficiência psicossocial e diminuição do bem estar (Fagiolini et al., 2005; Revicki et al., 2005; Tohen et al., 2003). Além disso, muitos efeitos deletérios relacionados com a saúde estão sendo reconhecidos.

O transtorno bipolar é cada vez mais encarado como um transtorno, não só com manifestações puramente psicológica, mas como um transtorno sistêmico

frequentemente associadas com doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, obesidade e doenças da tireoide. (Kupfer, 2005; Chien et al., 2010). São relatados também compulsão alimentar em pacientes bipolares (Kruger et al., 1996; Ramacciotti et al., 2005)

O tratamento farmacológico no THB tem como objetivo a manutenção das variações de humor e a redução da frequência das passagens entre as crises de mania e os estados depressivos. Todavia, apesar dos esforços e avanços no tratamento da doença, apenas 1/3 dos pacientes que sofrem de THB retomam completamente as suas funções sociais e ocupacionais após o início do tratamento farmacológico (Huxley & Baldessarini, 2007).

Embora o tratamento da mania aguda com lítio, valproato, carbamazepina e antipsicóticos atípicos tenha sido um grande avanço, muitos pacientes não toleram ou não respondem adequadamente a esses tratamentos (Evins et al., 2006).

Levando em consideração esses fatos, pouco se sabe sobre a precisa neurobiologia do THB, o que é essencial para o desenvolvimento de terapias específicas, que sejam mais efetivas, ajam rapidamente e sejam mais toleráveis que as terapias existentes.

Para o desenvolvimento de novos medicamentos para THB é importante:

- 1) Que se entendam os alvos bioquímicos de medicamentos terapeuticamente relevantes e que se utilize esse conhecimento para o desenvolvimento de novos fármacos, que atuem diretamente nesses alvos. Incluindo não somente os alvos bioquímicos diretos, mas também os alvos que são regulados pela administração crônica do fármaco.
- 2) Entender a fisiopatologia da doença (nos seus primórdios) e usar o que se sabe para o desenvolvimento de fármacos para atenuar ou prevenir o processo patológico (Zarate et al., 2006).

Os fármacos clássicos para tratamento de THB, lítio e mais recentemente valproato, são efetivos nos episódios de mania aguda, promovem razoável proteção contra episódios de humor recorrentes e tem uma modesta atividade antidepressiva (Davis et al., 2005). A elucidação de alvos diretos pelo quais os estabilizadores do humor agem modulando uma subjacente disfunção límbica e uma função límbica associada oferece o potencial para delinear a desconhecida fisiopatologia do THB.

1.2 Áreas Cerebrais e Transtorno do Humor Bipolar

Apesar de o THB ser uma doença psiquiátrica importante e comum, a base neuropatológica específica é desconhecida. Entretanto, nos últimos 15 anos, os estudos *post mortem* e o aprimoramento de técnicas de neuroimagem - principalmente a de ressonância magnética (MRI – sigla do inglês), a tomografia por emissão de pósitrons (PET - sigla do inglês), e mais recentemente a espectroscopia por ressonância magnética (MRS - sigla do inglês) e espectroscopia por ressonância magnética funcional (fMRI) - têm produzido vários estudos a fim de clarear os substratos neurais do THB (Drevets et al., 2001; Strakowski et al., 2005).

Os principais sintomas de THB que são instabilidade afetiva, anormalidades neurovegetativas, impulsividade e psicose, sugerem que o sistema límbico anterior age controlando esses comportamentos (Strakowski et al., 2005). Essa disfunção envolve as principais estruturas do sistema límbico, como a amígdala que modula um sistema interativo córtex pré-frontal-estriado-hipotálamo que controlam os comportamentos sócio-emocionais (Strakowski; Sax, 2000; Cummings, 1993).

Em relação à amígdala, estudos de neuroimagem mostraram uma diminuição significativa dessa área em pacientes bipolares (Drevets, 2003). Outros estudos também demonstraram diminuição do pré-frontal em pacientes com THB (Strakowski et al., 2000; Strakowski et al., 2002, Narita et al., *in press*). Estudos de espectroscopia têm demonstrado anormalidades na membrana e no metabolismo de segundos mensageiros no estriado e pré-frontal de pacientes bipolares (Strakowski & Sax, 2000; Cummings, 1993).

Alterações e diminuição no hipocampo também têm sido descrito no THB (Rosoklja et al., 2000; Araújo et al., 1999; Bertolino et al., 2003). Chen e colaboradores (2006), em um estudo de neuroimagem funcional demonstraram uma ativação anormal no hipocampo durante testes de emoção, atenção e memória, concordando com achados neurofisiológicos sobre a deficiência cognitiva nos episódios agudos do humor e uma significante diminuição da memória declarativa durante a remissão (Bearden et al., 2006a; 2006b).

Em uma revisão muito bem elaborada de Nugent et al.; (2006) sobre estudos de neuroimagem em pacientes com THB, é reforçada a participação dessas áreas na fisiopatologia da doença, e adicionam que no pré-frontal a área mais precisamente afetada é a medial, e no estriado a porção ventral (que inclui núcleo accumbens). Resultados de outro estudo mostraram que a microinjeção crônica de VPA no núcleo accumbens, atenuou a hiperatividade induzida por anfetamina (Kim, et al. 2007).

Esses estudos juntos sugerem fortemente que THB está associado principalmente às alterações na amígdala, córtex pré-frontal, estriado e hipocampo, resultando em prejuízo cognitivo e desregulação do humor em pacientes bipolares.

1.3 Histona Deacetilase e Transtorno do Humor Bipolar

Atualmente tem aumentado o interesse na epigenética, que é o estudo de características de organismos unicelulares e multicelulares – como as modificações de cromatina e DNA – que são estáveis ao longo de diversas divisões celulares, mas que não envolvem mudanças na sequência de DNA. Essas mudanças epigenéticas desempenham um importante papel no organismo no processo de diferenciação celular, permitindo que as células mantenham características estáveis diferentes, apesar de conterem o mesmo material genômico. Presume-se que diferenças funcionais e fenotípicas são resultados cumulativos de fatores ambientais e eventos estocásticos, alguns dos quais são mediados através de modificações epigenéticas de histonas. A regulação epigenética, é assim, um dos substratos moleculares para “memória celular” que pode ajudar a entender como efeitos ambientais resultam em dissociação temporal, alterando respostas comportamentais. (Drummont et al., 2005)

Os nucleossomos, encontrados na cromatina e que representam a relação proteína - ácido nucléico, estão envolvidos na regulação gênica. O nucleossomo contém 146 pares de bases do DNA enrolado em torno do octâmero de histonas. O octâmero de histonas é composto de duas cópias de cada um H2A, H2B, H3 e H4. Essas proteínas são muito básicas e altamente conservadas ao longo da evolução. (Marks, 2001).

A histona acetiltransferase (HAT- sigla do inglês) e a histona deacetilase (HDAC – sigla do inglês) são enzimas que influenciam na transcrição por acrescentar (acetilação) ou remover (deacetilação) grupos acetil de um aminoácido ϵ -N-acetil lisina em uma histona. A acetilação da histona está ligada à atividade

transcissional, enquanto a deacetilação está ligada a inativação da transcrição gênica. A desregulação e atividade aberrante de HAT e HDAC – ex. superexpressão gênica, mutação, translocação e amplificação – tem sido implicado na oncogênese, até mesmo no sistema nervoso central.

Está bem estabelecida na literatura que inibidores de HDAC tem a habilidade de agir em vários processos que são desregulados em células neoplásicas, inclusive, a inibição de HDAC tem sido considerada como um tratamento promissor para o câncer (Drummont et al., 2005).

Weaver et al., (2004) tem desenvolvido uma série de estudos sobre comportamento maternal e epigenética em ratos. Com esses estudos eles demonstraram que o aumento de cuidados maternais – foram avaliados os parâmetros comportamentais de lamber o filhote “pup licking (L)”, afagar a pele ou o pelo dos filhotes “grooming (G)” e amamentação realizada pela mãe quando permanecia numa posição com curvatura dorsal do corpo, que possibilitava melhor acesso dos filhotes aos mamilos “arched-back nursing (ABN)” – altera o epigenoma da prole em um promotor do gene do receptor de glicocorticóide no hipocampo. Os filhotes das ratas que mostraram altos níveis de L, G e ABN tiveram diferenças na metilação do DNA quando comparado com os filhotes que tiveram baixos L, G e ABN. Essa diferença foi revertida com a troca das mães, foram persistentes no adulto e associada com alteração da acetilação de histonas. A infusão central de um inibidor de HDAC removeu a diferença entre os grupos na deacetilação de histona, na metilação de DNA e a função do eixo hipotálamo-pituitaria-adrenal o qual é bem conhecido por ter um papel fundamental no estresse. Assim, os autores mostraram que um estado epigenético do gene pode ser estabelecido através da programação comportamental e este estado pode ser potencialmente reversível. Esta linha de

achados é interessante em casos que a sequela por estressores no início da vida - frequentemente observada em pacientes com THB (Leverich et al., 2003) - pode ser amenizado com inibidores de HDAC.

Várias substâncias que inibem a desacetilação das histonas estão em ensaios clínicos como o butirato de sódio, ácido valpróico, saha, piroxamida, depsipeptide, entre outros (Marks, 2001).

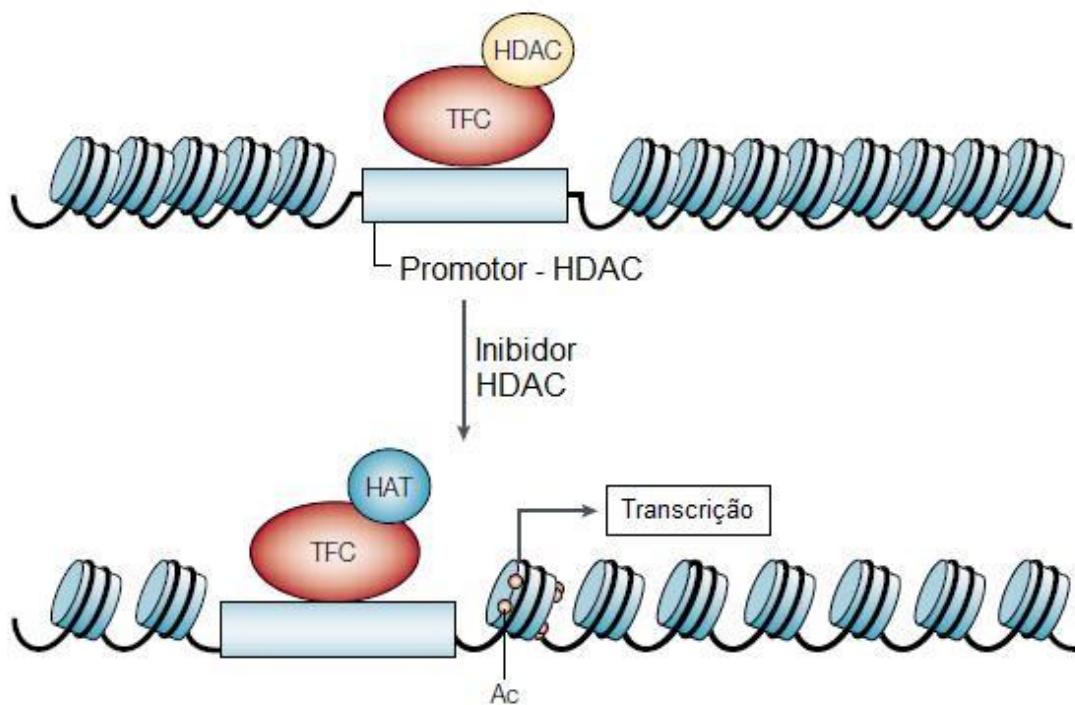


Figura 1. Mecanismo de ação dos inibidores de HDAC no remodelamento da cromatina e transcrição: Inibidores de HDAC, como o ácido valpróico e butirato de sódio, tornam as histonas acetiladas e, o DNA, que está embrulhado em torno de um núcleo desacetilado de histonas, relaxa. O aumento da acetilação causa modificações na conformação da cromatina, tornando-a menos condensada e aumentando a transcrição gênica (Adaptado de Marks, 2001).

O ácido valpróico – um estabilizador do humor – é também um inibidor de HDAC e pode causar espinha bífida no bebê se ingerido durante a gravidez (Eadie; Vadja, 2005). Langley et al., (2005) tem demonstrado, que a diminuição de HAT e a modulação de HDAC parecem estarem envolvidos na disfunção e degeneração neuronal. Aumentando assim possibilidade deste alvo molecular direto de valproato

ter um papel fundamental em algumas facetas de seu efeito terapêutico ou de seus efeitos colaterais (teratogenicidade ou ovário policístico).

Em um recente estudo, foi demonstrado que o butirato de sódio (inibidor de HDAC) reverteu comportamento de hiperatividade induzido pelo consumo de cocaína em camundongos (Schroeder et al., 2008). Juntos, esses dados sugerem evidências do envolvimento de HDACs na fisiopatologia e tratamento de THB.

1.4 Modelo Animal de Mania Induzida por Anfetamina

Questões éticas anteparam a utilização dos seres humanos em investigações fundamentais para o entendimento da fisiologia do organismo, assim como para o desenvolvimento de novos tratamentos e dispositivos médicos. Deste modo, o uso de animais em pesquisa tem sido crucial para gerar novos conhecimentos e tratamentos para organismos vertebrados (DaMatta, *in press*).

A pesquisa pré-clínica tem sido utilizada principalmente com o intuito de iniciar a avaliação da segurança, tolerabilidade e possível eficácia de novos fármacos; estudar o mecanismo de ação de psicofármacos e auxiliar na elucidação dos mecanismos neurobiológicos dos transtornos mentais (Rodgers, 1997; Weiss, 1998).

Estudos anteriores sugerem que para ser válido, um modelo animal em transtornos psiquiátricos deve demonstrar três características principais: mimetizar os sintomas da doença determinada (validade de face); habilidade do modelo em reproduzir alguns aspectos fisiopatológicos da doença (validade de construção) e, finalmente, os agentes terapêuticos usados no tratamento devem reverter os

sintomas induzidos no modelo animal (validade preditiva) (Ellenbroek; Cools, 1990). O desenvolvimento de modelos animais tem sido uma ferramenta importante para o estudo dos sistemas intracelulares envolvidos no THB (Einat et al., 2003; Manji; Chen, 2002). O marco clínico para o diagnóstico de THB é a presença de sintomas maníacos (Belmaker, 2004); assim, um modelo animal adequado de THB deve assemelhar-se a algumas características de um episódio maníaco, tais como euforia, irritabilidade, agressividade, hiperatividade, insônia, ou atividade sexual aumentada. No entanto, o padrão oscilante do THB dificulta o desenvolvimento de um modelo animal adequado, que abranja todos os sintomas da síndrome. (Ellenbroek; Cools, 1990).

Estudos prévios de nosso laboratório caracterizaram bem o modelo animal de mania induzido pela administração de anfetamina (AMPH – sigla do inglês), onde os estabilizadores do humor reverteram e preveniram a hiperatividade induzida por esse psicoestimulante (Frey et al., 2006). Sabe-se que a AMPH induz sintomas maníacos em pacientes com THB (Joyce et al., 1995) bem como em voluntários saudáveis (Anand et al., 2000). Tem sido demonstrado que injeções intracerebral de valproato em ratos previnem a hiperlocomoção induzida pela anfetamina (Kim et al., 2008).

Pesquisas em modelos animais de mania com a manipulação de alvos terapêuticos em áreas cerebrais possivelmente envolvidas no THB, avaliando as alterações neuroquímicas e comportamentais decorrentes dessa manipulação, são importantes para compreender a fisiopatologia do THB. Para com isso nos aproximarmos de novas substâncias farmacológicas que poderão ser utilizadas no tratamento desse transtorno do humor.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos comportamentais da administração da microinjeção intracerebral (I.C.) de inibidores de histonas deacetilases sobre a hiperatividade induzida por AMPH em ratos Wistar.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos comportamentais da administração da microinjeção I.C de Butirato de Sódio e Ácido Valpróico na amígdala sobre a hiperatividade induzida por AMPH em ratos Wistar.
- Avaliar os efeitos comportamentais da administração da microinjeção I.C de Butirato de Sódio e Ácido Valpróico no córtex pré-frontal, sobre a hiperatividade induzida por AMPH em ratos Wistar.
- Avaliar os efeitos comportamentais da administração da microinjeção I.C de Butirato de Sódio e Ácido Valpróico no estriado, sobre a hiperatividade induzida por AMPH em ratos Wistar.
- Avaliar os efeitos comportamentais da administração da microinjeção I.C de Butirato de Sódio e Ácido Valpróico no hipocampo, sobre a hiperatividade induzida por AMPH em ratos Wistar.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo intitulado de “*Neuroanatomical profile of antimanic effects of histone deacetylases inhibitors*” com autoria de Camila O. Arent; Samira S. Valvassori; Gabriel R. Fries; Laura Stertz; Camila L. Ferreira; Jéssica Lopes-Borges; Edemilson Mariot; Roger B. Varela; Felipe Ornell; Flávio Kapczinski; Monica L. Andersen e João Quevedo. Este artigo foi submetido ao periódico “*Neurobiology Disease*”.

Neuroanatomical profile of antimaniac effects of histone deacetylases inhibitors

Camila O. Arent^a; Samira S. Valvassori^a; Gabriel R. Fries^b; Laura Stertz^b; Camila L. Ferreira^a; Jéssica Lopes-Borges^a; Edemilson Mariot^a; Roger B. Varela^a; Felipe Ornelli^a; Flávio Kapczinski^b; Monica L. Andersen^c and João Quevedo^a

^a Laboratory of Neurosciences and National Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Postgraduate Program in Health Sciences, Health Sciences Unit, University of Southern Santa Catarina, 88806-000 Criciúma, SC, Brazil.

^b Bipolar Disorders Program, Laboratory of Molecular Psychiatry and National Institute for Translational Medicine (INCT-TM), Federal University of Rio Grande do Sul, 90035-003 Porto Alegre, RS, Brazil

^cDepartment of Psychobiology, Universidade Federal de São Paulo, 04024-002 São Paulo, SP, Brazil.

Corresponding author: Prof. João Quevedo, MD, PhD - Laboratório de Neurociências, PPGCS, UNASAU, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000 Criciúma, SC, Brazil. Phone: #55 48 3431 2578. Fax: # 55 48 3443 4817.
E-mail: quevedo@unesc.net

Abstract

An increasing number of studies have evaluated the potential therapeutic relevance of histone deacetylases (HDAC) inhibitors in mood disorder, as bipolar disorder (BD). It has been suggested that anterior limbic, which controls impulsivity and psychosis, is dysfunctional in BD. The present studies aims to evaluate the effects of microinjection of HDAC inhibitors in the ventricle, amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus on m-amphetamine-induced manic-like behavior in rats. Rats were given a single intracerebral (in the ventricle, amygdala, striatum, prefrontal or hippocampus) injection of artificial cerebrospinal fluid (ACSF), sodium butyrate (SB) or valproate (VPA) followed by an intraperitoneal injection of saline or m-AMPH 2 h before the open-field task. The activity of HDAC was evaluated in amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus of animals. The microinjection of SB and VPA in the ventricle, amygdale, striatum, prefrontal, but not in hippocampus blocked the hyperactivity induced by m-AMPH. In addition, SB and VPA inhibited the HDAC activity; however, this effect varied depending on the experimental procedure and the brain structure evaluated. Our results suggest that the antimanic effects of SB and VPA, HDAC inhibitors, are related to the amygdala, striatum and prefrontal, but not the hippocampus. More studies are needed to clarify the therapeutic effects of the HDAC inhibitor in BD and thereby develop new drugs.

Keywords: Histone deacetylases; Bipolar disorder; Methamphetamine; Valproate; Butyrate

Introduction

Histones play an important role in the regulation of gene expression, these proteins, package and order the DNA into units called nucleosomes (Choudhary et al., 2009; Sengupta and Seto, 2004). The acetylation of histones by histone acetyltransferases (HATs) promotes access to DNA and docking sites for transcriptional factors, permitting genetic transcription. Unlike, HDACs are enzymes that catalyze the removal of acetyl group from lysine residues of histones, leading to gene expression silencing (Kurdistani et al., 2004).

Previous studies have demonstrated that HDACs inhibitors, as valproate (VPA) and sodium butyrate (SB), to control epigenetic programming associated with regulation of cognition and behavior (see Machado-Vieira et al., 2010). An increasing number of studies have evaluated the potential therapeutic relevance of HDAC inhibitors in mood disorder, as bipolar disorder (BD) (Zarate et al., 2006; Machado-Vieira et al., 2010).

Weaver and colleagues (2004) have reported that lack of maternal care altered the offspring epigenome at glicocorticoide receptor (GR) gene promoter in the hippocampus. In the same study, HDAC inhibitor administration in the offspring reverses the group differences in GR expression, histone acetilation, DNA methylation and hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress. Other study found that co-treated with SB and estradiol benzoate resulted in a significant decrease in immobility behavior in FST, a measure for depression-like behavioral (Zhu et al., 2009). In a rat model of cocaine-induced conditioned place preference, SB treatment facilitates extinction of drug-seeking behavior (Malvaez et al., 2010). In addition,

chronic microinjection of VPA into the nucleus accumbens attenuates amphetamine-induced locomotor activity (Kim et al., 2007). Finally, previous studies of our research group have demonstrated that intraperitoneal VPA administration reverse and prevent d-AMPH-induced manic-like behaviors (Frey et al., 2006a; b; Valvassori et al., 2010).

BD is one of the most severe psychiatric disorders, which is associated with morbidity and mortality and psychiatric comorbidity (Kupfer, 2005; McIntyre et al., 2007). However, despite the severity of the disorder, its pathophysiology remains largely unknown. The main symptoms of BD are neurovegetative abnormalities, impulsivity and psychosis, suggesting that anterior limbic brain networks controlling these behaviors are dysfunctional. It is well known that the amygdala modulates the limbic system, controlling an iterative circuit, prefrontal–striatal–thalamic, which control complex socioemotional behaviors (Strakowski et al., 2000; 2005).

Considering: 1) the lack of knowledge about the BD pathophysiology and 2) the growing body of data of the therapeutic effects of HDAC inhibitors in mood disorders; the present studies aims to evaluate the effects of microinjection of HDAC inhibitors in the ventricle, amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus on m-amphetamine-induced manic-like behavior in rats.

Experimental Methods

Animals

Adult male Wistar rats (250–300 g) were obtained from the Central Animal House of Universidade do Extremo Sul Catarinense. They were caged in groups of

five with free access to food and water, and were maintained on a 12-h light–dark cycle (lights on at 7:00 am), at the temperature of $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. These conditions were maintained constant throughout the experiments.

All experimental procedures were carried out in accordance with the National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and the Brazilian Society for Neuroscience and Behavior (SBNeC) recommendations for animal care, with the approval of the Ethics Committee of Animals Use from Universidade do Extremo Sul Catarinense (Protocol 49/2009).

Surgical procedure

Animals were intraperitoneally anesthetized with ketamine (80mg/kg) and xylazine (10mg/kg). In a stereotaxic apparatus, the skin of the rat skull was removed for placement of guide cannula (27-gauge 9mm) aimed 1mm above lateral ventricle, basolateral nuclear complex nuclear of the amygdala, ventral striatum/nucleus accumbens, medial prefrontal cortex and CA1 hippocampus region, according Paxinos and Watson (1986).

In the ventricle, a single canulla was implanted, however, in the amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus the cannula were bilaterally implanted in the animals at coordinates: **ventricle** - posterior 0.9mm, lateral 1.5mm and ventral 2.6mm, **amygdala** - anterior 4.2mm, lateral 3.0mm, and ventral 1.3mm, **striatum** – anteroposterior 1.6mm, lateral 1.8mm, ventral 7.5mm **prefrontal** – 3.2mm anteroposterior, lateral 0.6mm, ventral 1.5mm and **hippocampus** – anteroposterior 4.2mm, lateral 3mm, ventral 2mm.

Drugs and infusion procedures

The drugs used in this study were sodium butyrate (SB - Sigma, St Louis, Mo.), sodium valproate (VPA - Sanofi-Aventis Pharmaceutic, São Paulo, Br.) and methamphetamine 1mg/kg (m-AMPH - Sigma, St Louis, Mo.). SB (10mM) and VPA (300ug) were dissolved in artificial cerebrospinal fluid (ACSF) and injected directly into the ventricle, amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus in a volume of 0.5 μ l. m-AMPH (0.25mg/kg) was dissolved in saline (NaCl 0.9%) and injected intraperitoneally (i.p) in a volume of 1mL/kg. The doses of SB and VPA were based on previous studies of Wang et al. (2008) and Kim et al. (2007), respectively. Controls groups received ACSF intracerebral and saline intraperitoneal.

At the time of infusion, an infusion cannula was fitted into the guide cannula and drugs or vehicle infusions were performed using a microsyringe attached to the cannulae by a polyethylene tube. The tip of the infusion cannula protruded 1.0mm beyond the guide cannula and was aimed at the ventricle, amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus. The cannula were linked to a microsyringe by polyethylene tubing, and the infusions were carried out over 30s first on one side, then on the other; the infusion cannula remained in place 15 s after the infusion, to minimize backflow.

Rats were given a single intracerebral (in the ventricle, amygdala, striatum, prefrontal or hippocampus) injection of ACSF, SB or VPA followed by an i.p injection of saline or m-AMPH 2 h before the behavioral test, totaling 6 experimental groups (ACSF+Saline, SB+Saline, VPA+Saline, ACSF+m-AMPH, SB+m-AMPH, VPA+m-AMPH).

Locomotor Activity

Locomotor activity was assessed using the open-field task as previously described (Frey et al., 2006a; b). This task was performed in a 40_60 cm open field surrounded by 50 cm high walls, made of brown plywood, with the floor divided into 12 equal rectangles by black lines. The animals were gently placed on the left rear rectangle, and left free to explore the arena for 5 min. Crossings of the black lines (locomotor activity/ horizontal activity) and rearings (exploratory activity/ vertical activity) were counted.

Biochemical analysis

After locomotor activity, rats were killed by decapitation and the brain transferred within 1 min to ice-cold isolation buffer (0.23 Mmannitol, 0.07M sucrose, 10mM Trise HCl, and 1m MEDTA, pH7.4). The amygdala, striatum, prefrontal and hippocampus ($n = 8$ animals per group) were dissected in ice-cold buffer in a Petri dish.

Nuclear extraction

The tissue samples were submitted to a nuclear extraction protocol, according to a Nuclear Extraction kit (Chemicon, USA). Briefly, the tissues and lymphocytes were homogenized in cytoplasmic lysis buffer containing dithiothreitol (DTT) and protease inhibitors. The suspension was kept in ice for 15 minutes and was later centrifuged in 250 x g for 5 minutes at 4 °C. The supernatant was discarded

and the pellet was resuspended in two volumes of cold cytoplasmic lysis buffer. The suspension was homogenized using a small gauge needle syringe and centrifuged in 8000 x g for 20 minutes at 4 °C. The resulting pellet contained the nuclear portion of the cellular lysate. The pellet was resuspended in a nuclear extraction buffer containing DTT and protease inhibitors, and the suspension was homogenized with a small gauge needle syringe. The resulting sample was kept in slow agitation for 30-60 minutes in an orbital shaker at 4 °C. Later, the nuclear suspension was centrifuged in 16000 x g for 5 minutes at 4 °C and the nuclear extract-containing supernatant was transferred to a new tube and stored at -80 °C until further analysis.

HDAC activity

The nuclear extracts were submitted to a HDAC activity assay with the use of HDAC Assay kit (Fluorometric Detection), according to the manufacturer's instructions (Upstate, USA). Briefly, 5 µL of nuclear extracts were mixed with 5 µL of HDAC Assay Buffer and 5 µL of HDAC Assay Substrate in a 384-well plate and incubated at 30 °C for 45 minutes. Concomitantly, a standard curve was performed with serial dilutions of deacetylated substrate and positive and negative controls were added to the plate. After, 10 µL of activator solution were added to the wells and the plate was incubated at room temperature for 15 minutes. The fluorescence reading was performed in a fluorescence plate reader, with 360 nm for excitation and 460 nm for emission. The calculation of the HDAC activity was performed based on the standard curve, and the values are presented as µM/µg protein. Total protein was measured by the modified Lowry's method (Peterson, 1977) using bovine serum albumin as a standard.

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using SPSS 16.0 for Windows. Behavioral data (number of crossing and rearings) and HDAC activities were fitted in a standard distribution curve and were therefore subjected to parametric analyses. For the comparisons between the groups, one-way analysis of variance (ANOVA) test was performed, followed by the Tukey post-hoc test when ANOVA was significant. P-Values <0.05 two-tailed were considered statistically significant.

Results

Firstly, in the present study we showed that administration of m-AMPH increased crossings and rearings in ACSF-treated rats in all experimental procedures, however, m-AMPH does not alter the activity of HDACs in any of the brain structures evaluated.

As shown in figure 1A, intracerebroventricular (ICV) administration of VPA and SB blocks m-AMPH-induced increased crossing and rearing. In figure 1B we observed that SB and VPA ICV administration in saline and m-AMPH groups inhibited the HDAC activity in the prefrontal and striatum. In hippocampus, the ICV administration of VPA and SB in the saline groups inhibited HDAC activity; and administration of SB, but not VPA, in m-AMPH-administered rats also decreased the activity of this enzyme. In amygdala there were no significant results.

In figure 2A, the microinjection of SB and VPA in the amygdala blocked the hyperactivity induced by m-AMPH. In the same procedure, the microinjection of SB in the amygdala in rat saline- and m-AMPH-treated decreased the HDAC activity

in the amygdala (Fig. 2B). However, microinjection of VPA in the amygdala did not alter the activity of HDAC in this brain structure.

The figure 3A shows that microinjection of SB and VPA in the striatum blocked the m-AMPH-induced hyperactivity. In addition, striatal microinjection of SB and VPA in the saline and m-AMPH groups decreased HDAC activity in the striatum (Fig. 3B).

According to figure 4A, microinjection of SB and VPA in the prefrontal also blocked the hyperactivity induced by m-AMPH. The SB and VPA microinjection in the prefrontal in saline and m-AMPH groups inhibit the HDAC activity in this brain structure (Fig. 4B).

As shown in figure 5A, microinjection of SB and VPA did not alter the hyperactivity induced by m-AMPH. However, the hippocampal microinjection of SB and VPA inhibited the HDAC activity in hippocampus of rat saline- and m-AMPH-treated.

Discussion

In previous studies, has been reported in the literature that epigenetic mediate diverse environmental aspects involved in the pathophysiology of major psychotic disorders (Rutten and Mill, 2009). Recently, was demonstrated that in major depressive disorder patients the expression of HDAC2 and -5 mRNA was increased in a depressive state, and in BD, the expression of HDAC4 mRNA was increased also in a depressive state, suggesting that changes in transcriptional regulation caused by the altered expression of HDACs is associated with the pathophysiology of mood disorders (Hobara et al., 2010). In an analysis of the

National Brain Databank microarray collection, was observed that HDAC1 expression is increased in the prefrontal cortex of schizophrenia subjects (Sharma et al., 2008).

In the present study our data demonstrated that microinjection of SB and VPA in the ventricle, amygdale, striatum and prefrontal block the d-AMPH-induced hyperlocomotion. Nevertheless, the microinjection of HDAC inhibitors in the hippocampus did not alter the d-AMPH-induced manic-like effects. Taken together, our results indicate that the antimanic effects of HDAC inhibitors are related to the amygdala, striatum and prefrontal, but not the hippocampus.

The mechanisms of antimanic effects of HDAC inhibitors are still unknown. However, a previous study has demonstrated that trichostatin A (TSA) – a HDAC inhibitor – completely blocked the cocaine-induced behavioral sensitization (Romieu et al., 2008). Wu and colleagues (2008) showed that HDA inhibitors up-regulate astrocyte glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene transcription, protecting dopaminergic neurons. Moreover, pretreatment with VPA, SB or TSA caused a robust decrease in lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory responses and protected DA neurons from damage in mesencephalic neuron-glia cultures (Chen et al., 2007). In addition, administration of phenylbutyrate significantly attenuated MPTP-induced depletion of striatal dopamine and loss of tyrosine hydroxylase-positive neurons in the substantia nigra; suggesting that administration of phenylbutyrate may be a useful approach for the treatment of neurodegenerative diseases (Gardian et al., 2004). In a positron emission tomography study, VPA has been shown to decrease [18F]-dopa uptake constants in the striatum of patients with mania, suggesting that VPA treatment decreases aromatic amino acid decarboxylase activity, which should decrease the rate of dopamine synthesis (Yatham et al., 2002).

It has been suggested that anterior limbic, which controls impulsivity and psychosis, is dysfunctional in BD. It is well known that the amygdala modulates the limbic system, controlling an iterative circuit, prefrontal–striatal–thalamic, which control complex socioemotional behaviors (Strakowski et al., 2000; 2005).

Recently, a functional magnetic resonance imaging (fMRI) study have suggested that stable amygdala overactivation across prolonged vigils may interfere with sustained attention and exacerbate attentional deficits in bipolar patients. In the same study, differential striatal and thalamic deactivation in BD is interpreted as a loss of amygdala (emotional brain) modulation by the ventrolateral prefrontal–subcortical circuit, which interferes with attentional maintenance (Fleck et al., 2010). In another fMRI study, bipolar manic patient exhibit blunted brain response to emotional cues throughout the ventrolateral prefrontal emotional arousal network; this emotional network alteration may contribute to the mood dysregulation of bipolar disorder (Strakowski et al., 2010). Narita and colleagues (2010) have also demonstrated that the BD patients showed gray matter volume reduction in the prefrontal cortex. Moreover, subjects with BD exhibit reduced gray matter volume in the dorsolateral prefrontal cortex, left nucleus accumbens and left amygdale, but not in the hippocampus (Dickstein et al., 2005). Despite the deficits in attention and memory in bipolar patients, most of the structural brain imaging studies did not find changes in hippocampal volume in BD (Frey et al., 2007).

Here we confirm that the decrease in HDAC activity was directly related to the antimanic effects of HDAC inhibitors. However, in some situations VPA did not inhibit the enzyme activity and still continued to have antimanic effect. This can be explained by the fact that VPA has other molecular targets. VPA has been found to enhance GABA activity within the brain by inhibiting its degradation, stimulating its

synthesis and release, and directly enhancing its postsynaptic effects (Owens and Nemeroff, 2003). VPA also acts on the protein kinase C - as inhibitor - decreasing the release of neurotransmitters (Chen et al., 1994). Another important fact to be reviewed is that when SB and VPA were administered in the ventricle, HDAC activity was not inhibited in the amygdala. Nevertheless, HDAC inhibitors continued to have antimanic effect. This may be by fact that in other brain structures HDAC activity was inhibited, thus compensating the lack of effect in the amygdala.

In summary our results suggest that the antimanic effects of SB and VPA, HDAC inhibitors, are related to the amygdala, striatum and prefrontal, but not the hippocampus. More studies are needed to clarify the therapeutic effects of the HDAC inhibitor in BD and thereby develop new drugs.

Acknowledgments

This research was supported by grants from CNPq (JQ, FK and MLA), FAPESC (JQ). MLA and JQ are CNPq Research Fellows. COA, SSV, GRF, LS, CLF, JLB, EM, RBV and FO are holders of a CNPq studentship.

References

Chen G, Manji HK, Hawver DB, Wright CB, Potter WZ. Chronic sodium valproate selectively decreases protein kinase C alpha and epsilon in vitro. *J Neurochem* 1994; 63:2361-2364.

Chen PS, Wang CC, Bortner CD, Peng GS, Wu X, Pang H, Lu RB, Gean PW, Chuang DM, Hong JS. Valproic acid and other histone deacetylase inhibitors induce microglial apoptosis and attenuate lipopolysaccharide-induced dopaminergic neurotoxicity. *Neuroscience* 2007; 149:203-212.

Choudhary C, Kumar C, Gnad F, Nielsen ML, Rehman M, Walther TC, Olsen JV, Mann M. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science* 2009; 325: 834-840.

Dickstein DP, Milham MP, Nugent AC, Drevets WC, Charney DS, Pine DS, Leibenluft E. Frontotemporal alterations in pediatric bipolar disorder: results of a voxel-based morphometry study. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62: 734-741.

Fleck DE, Eliassen JC, Durling M, Lamy M, Adler CM, Delbello MP, Shear PK, Cerullo MA, Lee JH, Strakowski SM. Functional MRI of sustained attention in bipolar mania. *Mol Psychiatry* 2010. [Epub ahead of print]

Frey BN, Andreazza AC, Nery FG, Martins MR, Quevedo J, Soares JC, Kapczinski F. The role of hippocampus in the pathophysiology of bipolar disorder. *Behav Pharmacol* 2007; 18:419-430.

Frey BN, Valvassori SS, Réus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J Psychiatry Neurosci* 2006a; 31: 326-332.

Frey BN, Valvassori SS, Réus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Changes in antioxidant defense enzymes after d-amphetamine exposure: implications as an animal model of mania. *Neurochem Res* 2006b; 31:699-703.

Gardian G, Yang L, Cleren C, Calingasan NY, Klivenyi P, Beal MF. Neuroprotective effects of phenylbutyrate against MPTP neurotoxicity. *Neuromolecular Med* 2004; 5: 235-241.

Hobara T, Uchida S, Otsuki K, Matsubara T, Funato H, Matsuo K, Suetsugi M, Watanabe Y. Altered gene expression of histone deacetylases in mood disorder patients. *J Psychiatr Res* 2010 44: 263-270.

Kupfer DJ. The increasing medical burden in bipolar disorder. *JAMA* 2005; 293: 2528-2530.

Kurdistani SK, Tavazoie S, Grunstein M. Mapping global histone acetylation patterns to gene expression. *Cell* 2004; 117:721–733.

Machado-Vieira R, Ibrahim L, Zarate CA Jr. Histone Deacetylases and Mood Disorders: Epigenetic Programming in Gene-Environment Interactions. *CNS Neurosci Ther*. 2010. [Epub ahead of print]

Malvaez M, Sanchis-Segura C, Vo D, Lattal KM, Wood MA. Modulation of chromatin modification facilitates extinction of cocaine-induced conditioned place preference. *Biol Psychiatry* 2010; 67: 36-43.

McIntyre RS, Soczynska JK, Beyer JL, Woldeyohannes HO, Law CW, Miranda A, Konarski JZ, Kennedy SH. Medical comorbidity in bipolar disorder: re-prioritizing unmet needs. *Curr Opin Psychiatry* 2007; 20:406-416.

Narita K, Suda M, Takei Y, Aoyama Y, Majima T, Kameyama M, Kosaka H, Amanuma M, Fukuda M, Mikuni M. Volume reduction of ventromedial prefrontal cortex in bipolar II patients with rapid cycling: A voxel-based morphometric study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010. [Epub ahead of print]

Owens MJ, Nemeroff CB. Pharmacology of valproate. *Psychopharmacology Bulletin* 2003; 37:17-24.

Paxinos, G., & Watson, C. (1986). The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Academic Press.

Romieu P, Host L, Gobaille S, Sandner G, Aunis D, Zwiller J. Histone deacetylase inhibitors decrease cocaine but not sucrose self-administration in rats. *J Neurosci* 2008; 28: 9342-9348.

Rutten BP, Mill J. Epigenetic mediation of environmental influences in major psychotic disorders. *Schizophr Bull* 2009; 35:1045–1056.

Sengupta N, Seto E. Regulation of histone deacetylase activities. *J Cell Biochem* 2004; 93:57-67.

Sharma RP, Grayson DR, Gavin DP. Histone deactylase 1 expression is increased in the prefrontal cortex of schizophrenia subjects: analysis of the National Brain Databank microarray collection. *Schizophr Res* 2008; 98:111-117.

Silva JR, Torres WM, Ortiz MS. Abnormal electrophysiological activation in schizophrenics during a personal traits attribution task. Biol Res 2008; 41: 143-150.

Strakowski SM, DelBello MP, Adler C, Cecil KM, Sax KW. Neuroimaging in bipolar disorder. Bipolar Disord 2000; 2:148–164.

Strakowski SM, Delbello MP, Adler CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. Mol Psychiatry 2005; 10:105-116.

Strakowski SM, Eliassen JC, Lamy M, Cerullo MA, Allendorfer JB, Madore M, Lee JH, Welge JA, Delbello MP, Fleck DE, Adler CM. Functional Magnetic Resonance Imaging Brain Activation in Bipolar Mania: Evidence for Disruption of the Ventrolateral Prefrontal-Amygdala Emotional Pathway. Biol Psychiatry 2010. [Epub ahead of print]

Valvassori SS, Moretti M, Kauer-Sant'Anna M, Roesler R, Petronilho F, Schwartsmann G, Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Effects of a gastrin-releasing peptide receptor antagonist on D-amphetamine-induced oxidative stress in the rat brain. J Neural Transm 2010; 117:309-316.

Wang D, Wang Z, Tian B, Li X, Li S, Tian Y. Two hour exposure to sodium butyrate sensitizes bladder cancer to anticancer drugs. Int J Urol 2008; 15: 435-341.

Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, D'Alessio AC, Sharma S, Seckl JR, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ. Epigenetic programming by maternal behavior. Nat Neurosci 2004; 7: 847-854.

Wu X, Chen PS, Dallas S, Wilson B, Block ML, Wang CC, Kinyamu H, Lu N, Gao X, Leng Y, Chuang DM, Zhang W, Lu RB, Hong JS. Histone deacetylase inhibitors upregulate astrocyte GDNF and BDNF gene transcription and protect dopaminergic neurons. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008; 11:1123-34.

Yatham LN, Liddle PF, Lam RW, Shiah IS, Lane C, Stoessl AJ, et al. PET study of the effects of valproate on dopamine D(2) receptors in neuroleptic- and moodstabilizer-naive patients with nonpsychotic mania. *Am J Psychiatry* 2002; 159:1718.

Zarate CA Jr, Singh J, Manji HK. Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2006; 59: 1006-1020.

Zhu H, Huang Q, Xu H, Niu L, Zhou JN. Antidepressant-like effects of sodium butyrate in combination with estrogen in rat forced swimming test: involvement of 5-HT (1A) receptors. *Behav Brain Res* 2009; 196:200-206.

Legends to figures

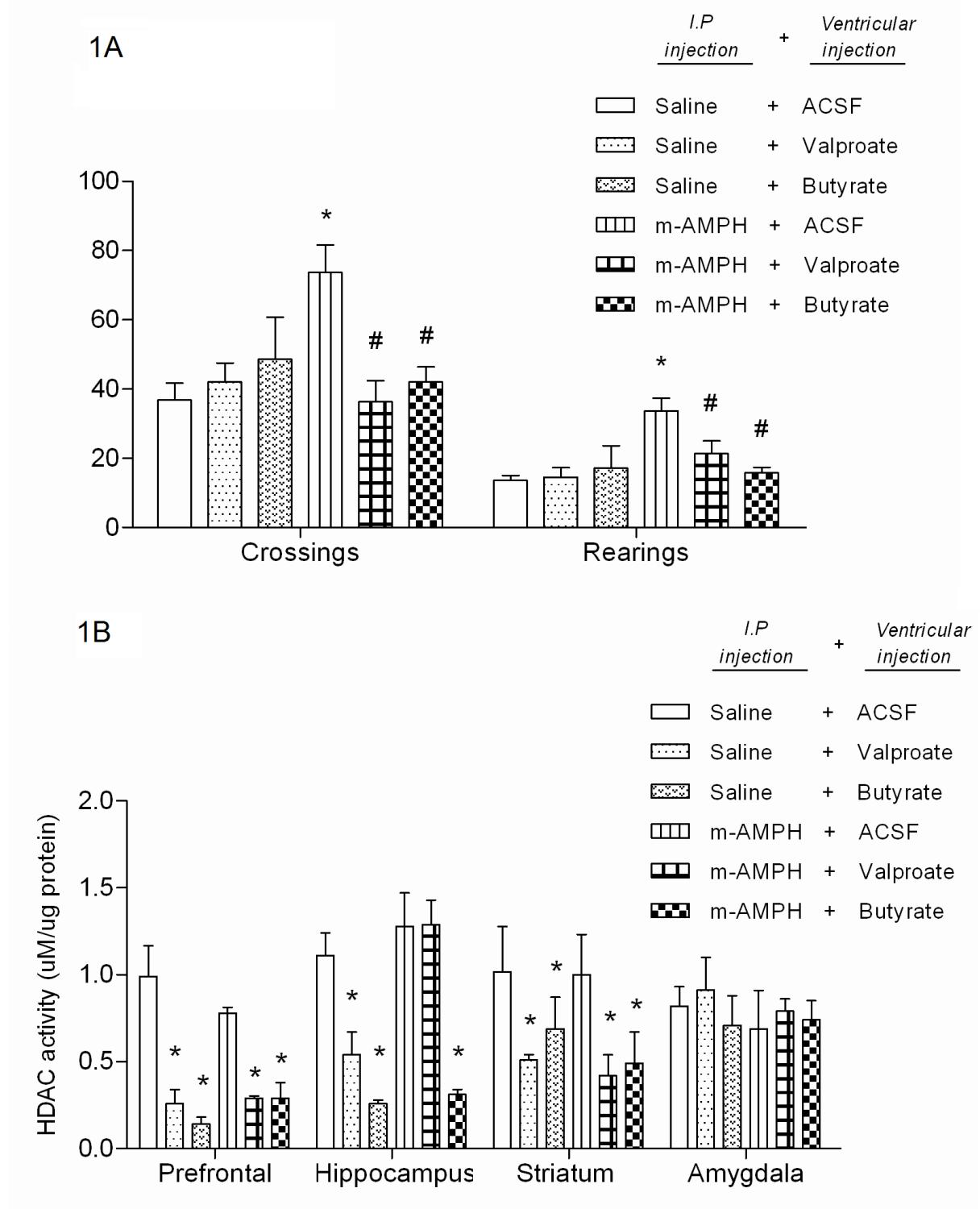
Figure 1. Microinjection of SB, VPA or ACSF in the ventricle followed by an i.p injection of saline or m-AMPH. Open-field task (**A**) and HDAC activity (**B**).

Figure 2. Microinjection of SB, VPA or ACSF in the amygdala, followed by an i.p injection of saline or m-AMPH. Open-field task (**A**) and HDAC activity (**B**).

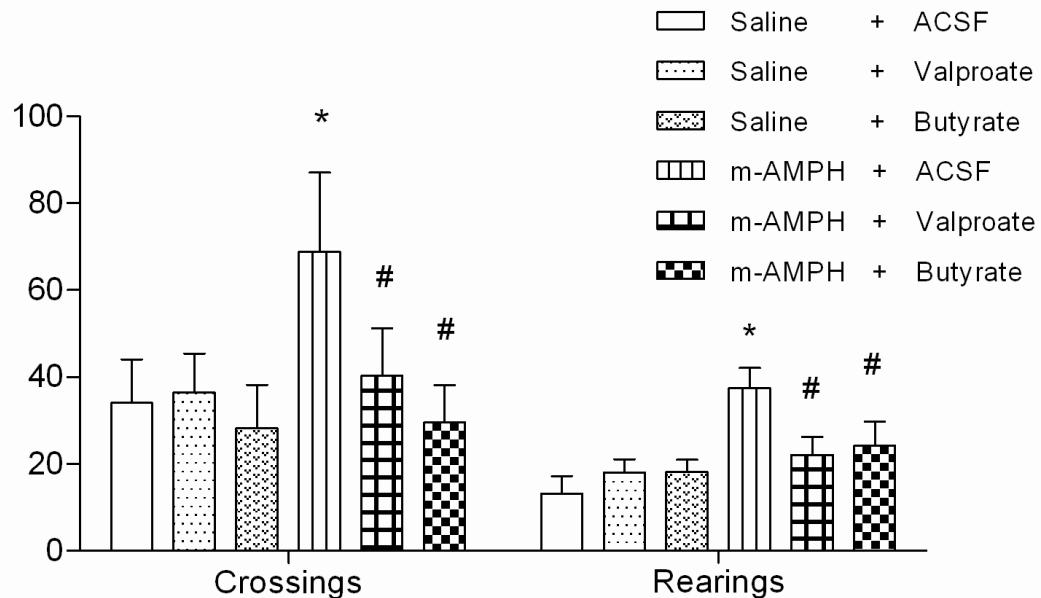
Figure 3. Microinjection of SB, VPA or ACSF in the striatum, followed by an i.p injection of saline or m-AMPH. Open-field task (**A**) and HDAC activity (**B**).

Figure 4. Microinjection of SB, VPA or ACSF in the prefrontal, followed by an i.p injection of saline or m-AMPH. Open-field task (**A**) and HDAC activity (**B**).

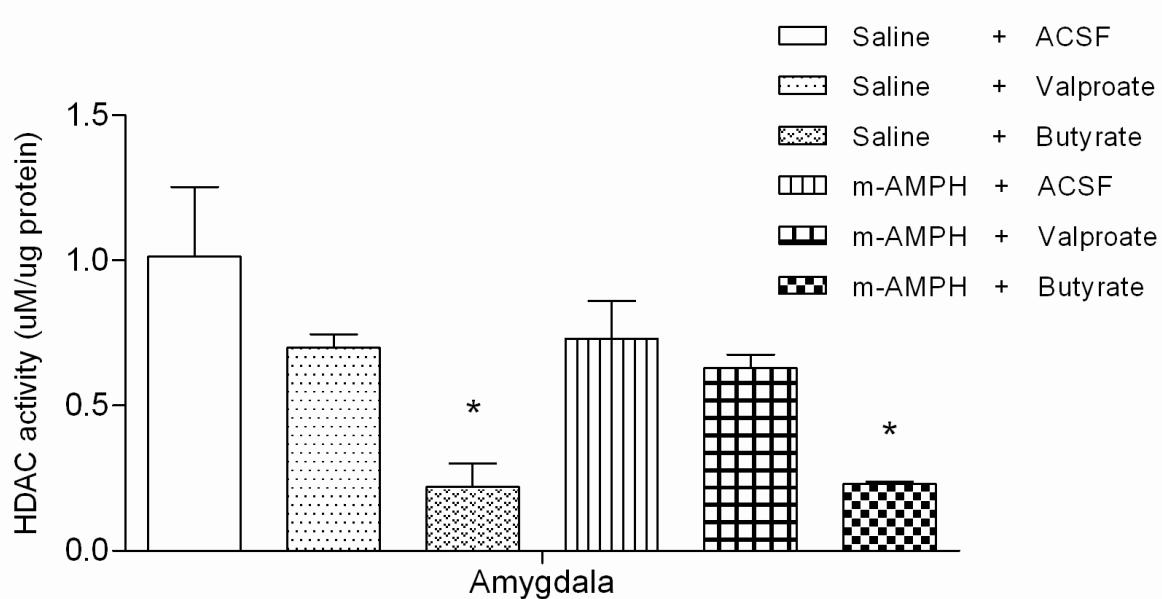
Figure 5. Microinjection of SB, VPA or ACSF in the hippocampus, followed by an i.p injection of saline or m-AMPH. Open-field task (**A**) and HDAC activity (B).



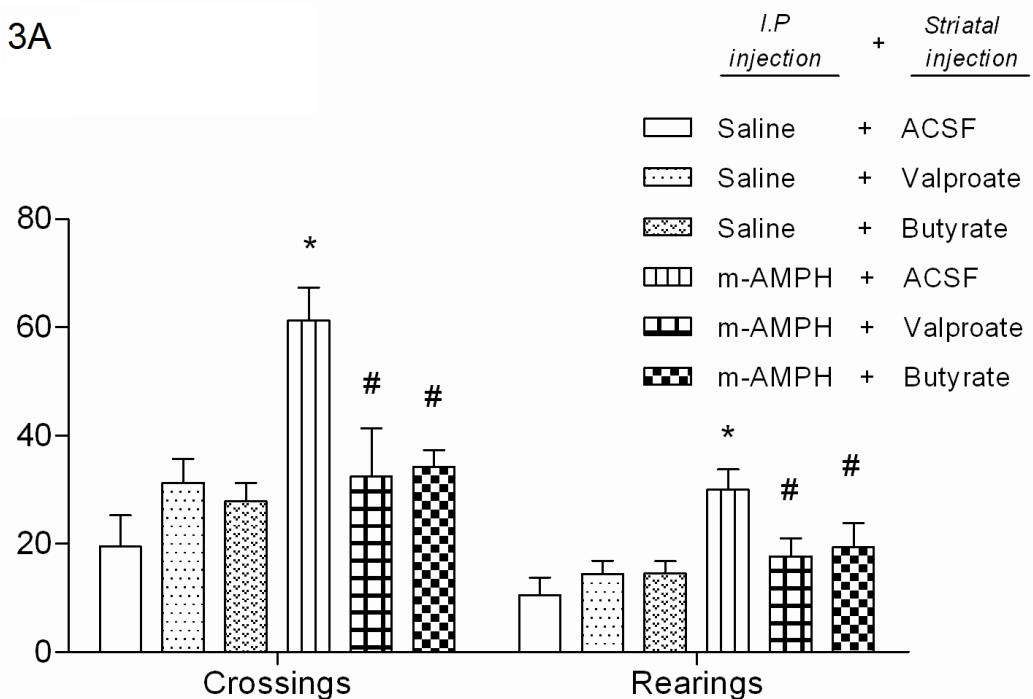
2A *I.P.* injection + *Amigdala* injection



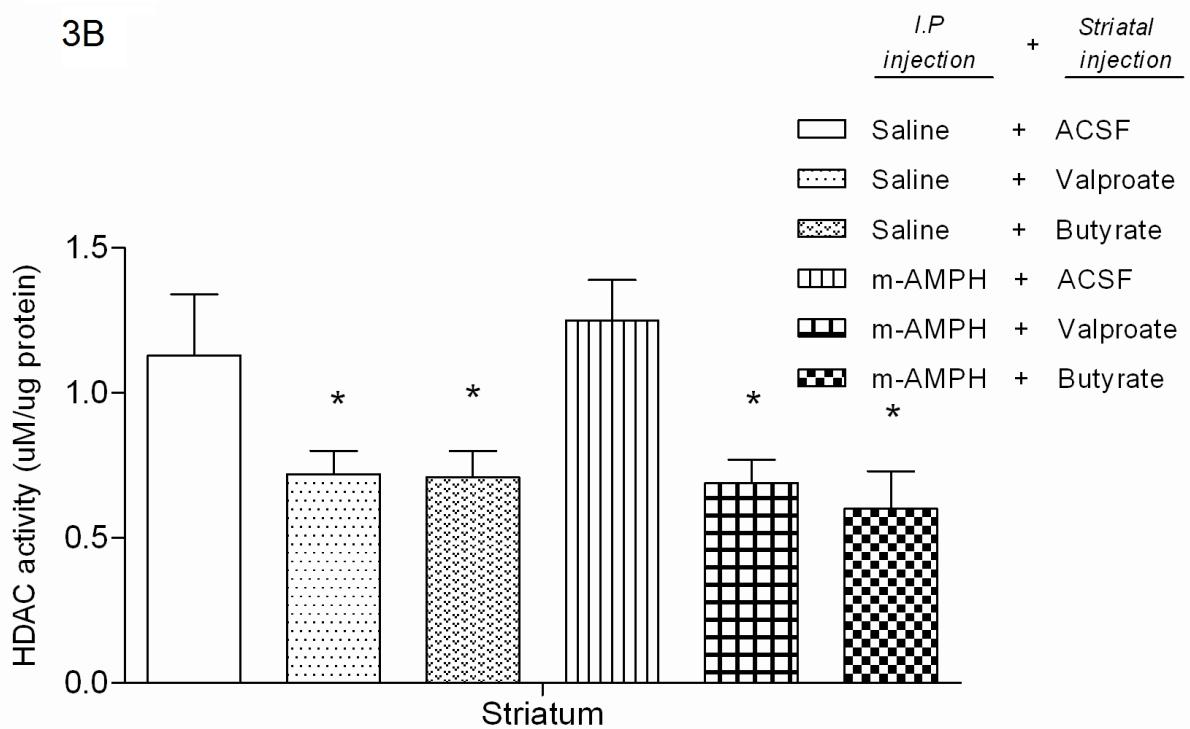
2B *I.P.* injection + *Amigdala* injection

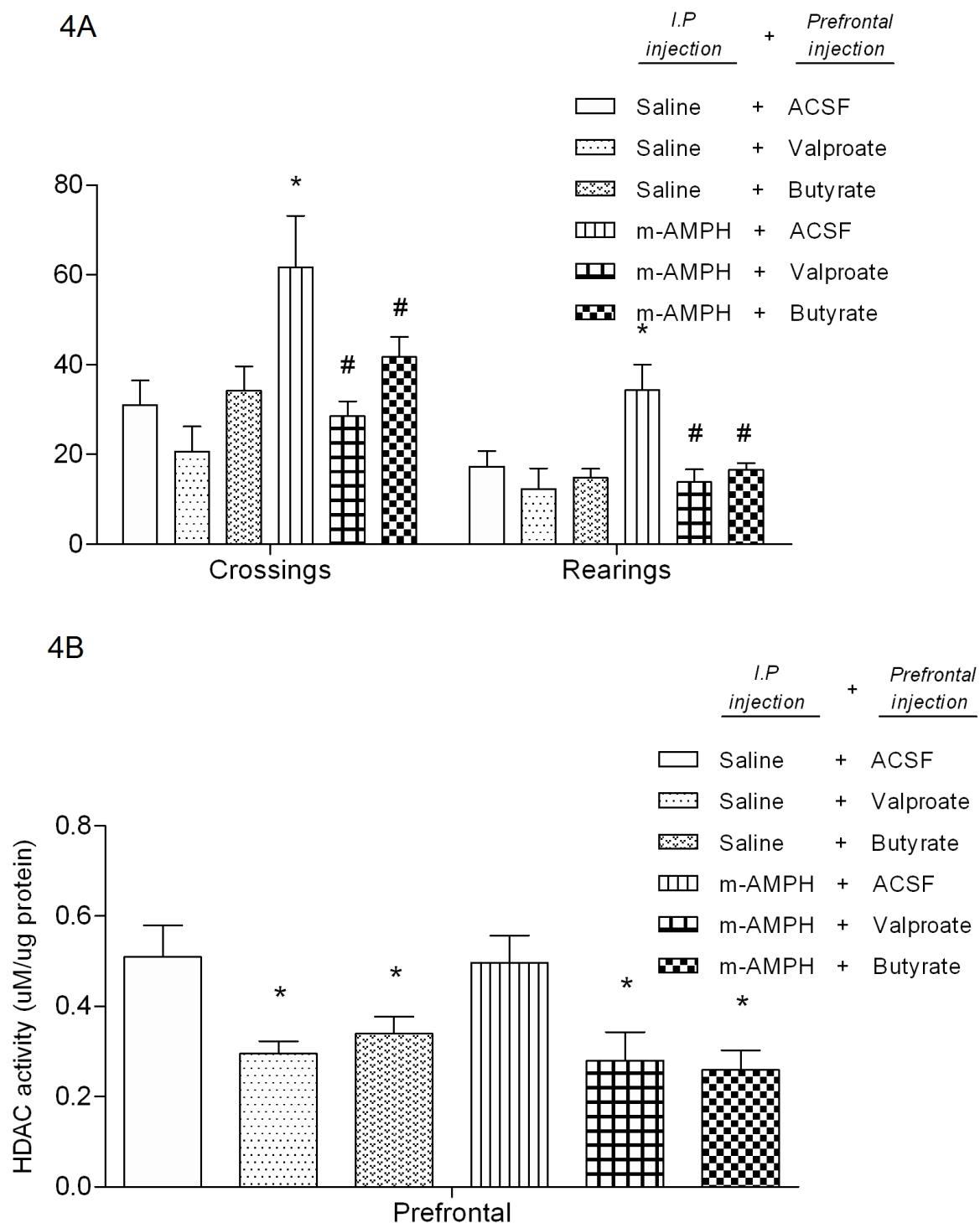


3A

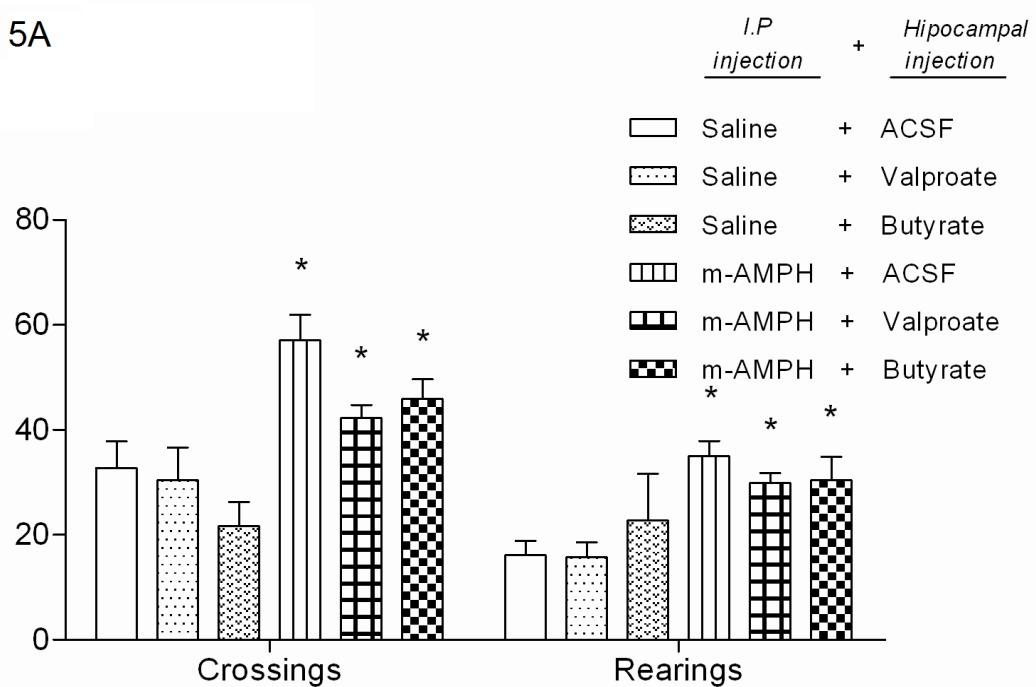


3B

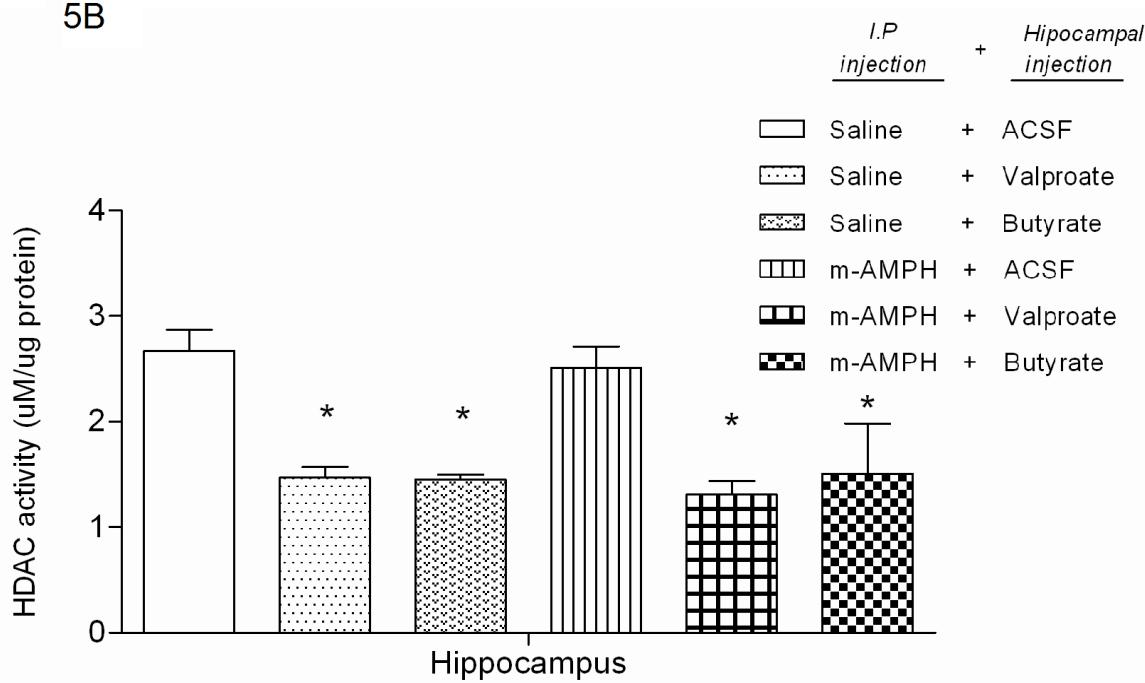




5A



5B



4. DISCUSSÃO

Em estudos anteriores, têm sido relatado que a epigenética media diversos aspectos ambientais envolvidos na fisiopatologia dos principais transtornos psicóticos (Rutten e Mill, 2009). Recentemente, foi demonstrado que pacientes com transtorno depressivo maior, a expressão de HDAC2 e -5 RNAm foi aumentada no estado depressivo e, no THB, a expressão de RNAm HDAC4 também foi aumentada no estado depressivo, sugerindo que as mudanças na regulação da transcrição provocadas pela expressão alterada de HDACs está associada à fisiopatologia dos transtornos de humor (Hobara et al., 2010). Em uma análise feita a partir do National Brain Databank, um banco de dados desenvolvido por Harvard, foi observado que a expressão HDAC1 é aumentada no córtex pré-frontal de pacientes esquizofrênicos (Silva et al., 2008).

Neste estudo, nossos dados demonstraram que a microinjeção de SB e VPA no ventrículo, amígdala, estriado e córtex pré-frontal bloqueiam a hiperlocomoção induzida por m-AMPH. No entanto, a microinjeção de inibidores de HDAC no hipocampo não alterou os efeitos da indução de mania. Juntos, nossos resultados indicam que os efeitos antimanicácos de inibidores de HDAC estão relacionadas com a amígdala, estriado e córtex pré-frontal, mas não com o hipocampo.

O mecanismo dos efeitos antimanicácos dos inibidores de HDAC ainda são desconhecidos. No entanto, um estudo anterior demonstrou que tricostatina A (TSA) - um inibidor HDAC - inibiu completamente a sensibilização induzida por cocaína (Romieu et al, 2008). Wu e colaboradores (2008) mostraram que os inibidores da HDA regulam a transcrição do fator neurotrófico derivado de célula gliais (GDNF) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em astrócitos,

protegendo os neurônios dopaminérgicos. Além disso, o pré-tratamento com VPA, SB ou TSA causaram redução nas respostas pró-inflamatórias induzidas por lipopolisacarídeo e proteção contra danos em culturas de neurônios dopaminérgicos mesencefálicos (Chen et al., 2007). Além disso, a administração de fenilbutirato atenuou significativamente a depleção de dopamina estriatal induzida por MPTP (1-methyl-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina) e perda de tirosina-hidroxilase em neurônios na substantia nigra, sugerindo que a administração de fenilbutirato pode ser um método útil para o tratamento de doenças neurodegenerativas (Gardian et al. , 2004). Em um estudo de tomografia por emissão de pósitrons, o VPA diminuiu a captação de [18F]-dopa no estriado de pacientes com mania, sugerindo que o tratamento com VPA diminui a atividade de descarboxilase dos aminoácidos aromáticos, o que deve diminuir a taxa de síntese de dopamina (al Yatham al. , 2002).

Tem sido sugerido que o sistema límbico anterior, que controla a impulsividade e psicose, é disfuncional no THB. É sabido que a amígdala modula o sistema límbico, controlando um circuito iterativo, pré-frontal-estriado-tálamo, que regula os comportamentos socioemocionais (Strakowski et al, 2000;. 2005).

Um estudo recente, utilizando imagens de ressonância magnética funcional (fMRI), sugere que a aumento da ativação da amígdala em função de vigílias prolongadas pode estar ligado aos déficits de atenção em pacientes bipolares (Fleck et al., 2010). Em outro estudo utilizando fMRI, pacientes bipolares em fase maníaca apresentam redução na resposta cerebral a estímulos emocionais no pré-frontal ventrolateral, o que pode estar contribuindo para a desregulação do humor no THB (Strakowski et al, 2010). Narita e colaboradores (2010) também demonstraram que os pacientes bipolares apresentaram redução do volume de

substância cinzenta no córtex pré-frontal. Além disso, os indivíduos com THB apresentam redução no volume de substância cinzenta no córtex pré-frontal dorsolateral, núcleo accumbens esquerdo e amígdala esquerda, mas não no hipocampo (Dickstein et al., 2005). Apesar do déficit de atenção e memória em pacientes bipolares, a maioria dos estudos de imagem estrutural do cérebro não encontraram mudanças no volume do hipocampo no THB (Frey et al., 2007).

Nossos resultados confirmaram que a diminuição da atividade de HDAC está diretamente relacionada com os efeitos antimanicacos dos inibidores de HDAC. No entanto, em algumas situações o VPA não inibiu a atividade dessa enzima e ainda continuou apresentando efeito antimanicaco. Isso pode ser explicado pelo fato de que o VPA possui outros alvos moleculares, como o GABA e a proteína quinase C (PKC). O VPA aumenta a atividade de GABA no cérebro, inibindo a sua degradação, estimulando sua síntese e liberação, e diretamente reforça os seus efeitos pós-sinápticos (Owens & Nemeroff, 2003). O VPA também age sobre a proteína quinase C - como inibidor - (Chen et al, 1994), diminuindo a liberação de neurotransmissores. Outro fato importante a ser analisado é que quando SB e VPA foram administradas no ventrículo, a atividade de HDAC não foi inibida na amígdala. No entanto, os inibidores de HDAC continuaram a produzir efeitos antimanicacos. Isso pode ser pelo fato de que em outras estruturas cerebrais atividade HDAC foi inibida, compensando assim a falta de efeito na amígdala.

Em sumo, nossos resultados sugerem que os efeitos antimanicacos de SB e VPA, inibidores HDAC, estão relacionados com a amígdala, estriado e córtex pré-frontal, mas não no hipocampo. Entretanto, mais estudos são necessários para esclarecer os efeitos terapêuticos dos inibidores HDAC no THB e assim usar o conhecimento para o desenvolvimento de novos fármacos.

REFERÊNCIAS

- ANAND A; VERHOEFF P; SENECA N; ZOGHBI SS; SEIBYL JP; CHARNEY DS; INNIS RB. Brain SPECT imaging of amphetamine-induced dopamine release in euthymic bipolar disorder patients. **The American Journal of Psychiatry** 157: 1108-1114. 2000.
- ANDREATINI, R. A importância dos modelos animais em psiquiatria. **Revista Brasileira de Psiquiatria** 24: 164-164. 2002.
- ARAÚJO F; RUANO D; VITORICA J. Native gamma-aminobutyric acid type A receptors from rat hippocampus, containing both alpha 1 and alpha 5 subunits, exhibit a single benzodiazepine binding site with alpha 5 pharmacological properties. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 290: 989-997. 1999.
- BEARDEN CE; GLAHN DC; MONKUL ES; BARRETT J; NAJT P; KAUR S; SANCHES M; VILLARREAL V; BOWDEN C; SOARES JC. Sources of declarative memory impairment in bipolar disorder: Mnemonic processes and clinical features. **Journal Psychiatry Research** 40: 47-58. 2006a.
- BEARDEN CE; GLAHN DC; MONKUL ES; BARRETT J; NAJT P; VILLAREAL V; SOARES JC. Patterns of memory impairment in bipolar disorder and unipolar major depression. **Journal Psychiatry Research** 142: 139-150. 2006b.
- BELMAKER RH. Bipolar disorder. **The New England journal of medicine** 351: 476-486. 2004.
- BERTOLINO A; FRYE M; CALLICOTT JH; MATTAY VS; RAKOW R; SHELTON-REPELLA J; POST R, WEINBERGER DR. Neuronal pathology in the hippocampal area of patients with bipolar disorder: a study with proton magnetic resonance spectroscopic imaging. **Biological Psychiatry** 53: 906-913. 2003.

CALABRESE JR; HIRSCHFIEL RM; REED M. Impact of bipolar disorder on U.S.community sample. **Journal Clinical Psychiatry** 64: 425-432. 2003.

CHEN CH; LENNOX B; JACOB R; CALDER A; LUPSON V; BISBROWN-CHIPPENDALE R; SUCKLING J, BULLMORE E. Explicit and implicit facial affect recognition in manic and depressed states of bipolar disorder: a functional magnetic resonance imaging study. **Biological Psychiatry** 59: 31-39. 2006.

CHEN G, MANJI HK, HAWVER DB, WRIGHT CB, POTTER WZ. Chronic sodium valproate selectively decreases protein kinase C alpha and epsilon in vitro. **Journal of Neurochemistry** 63:2361-2364. 1994.

CHEN PS, WANG CC, BORTNER CD, PENG GS, WU X, PANG H, LU RB, GEAN PW, CHUANG DM, HONG JS. Valproic acid and other histone deacetylase inhibitors induce microglial apoptosis and attenuate lipopolysaccharide-induced dopaminergic neurotoxicity. **Neuroscience** 149: 203-212. 2007.

CHIEN IC; CHANG KC; LIN CH; CHOU YJ; CHOU P. Prevalence of diabetes in patients with bipolar disorder in Taiwan: a population-based national health insurance study. **General Hospital Psychiatry** 32: 577-82. 2010.

CUMMINGS JL. Frontal–subcortical circuits and human behavior. **Archives of neurology** 50: 873–880. 1993.

DA MATTA RA. Animal models in biomedical research. **Scientia Medica**. (*In press*)

DAVIS LL; BARTOLUCCI A; PETTY F. Divalproex in the treatment of bipolar depression: a placebo-controlled study. **Journal of affective disorders** 85: 259-266. 2005.

Dickstein DP, Milham MP, Nugent AC, Drevets WC, Charney DS, Pine DS, Leibenluft E. Frontotemporal alterations in pediatric bipolar disorder: results of a voxel-based morphometry study. **Archives of General Psychiatry** 62:734-741. 2005.

DREVETS WC. Neuroimaging abnormalities in the amygdala in mood disorders. **Annals of the New York Academy of Sciences** 985: 420-444. 2003.

DREVETS WC. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. **Current opinion in neurobiology**. 11: 240-249. 2001.

DRUMMOND DC; NOBLE CO; KIRPOTIN DB; GUO Z; SCOTT GK; BENZ CC. Clinical development of histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. **Annual review of pharmacology and toxicology** 45: 495-528. 2005.

EADIE MJ; VAJDA FJ. Should valproate be taken during pregnancy? **Therapeutics and clinical risk management**. 1: 21-26. 2005.

EINAT H; YUAN P; GOULD TD; LI J; DU J; MANJI HK; CHEN G. The role of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in mood regulation. **The Journal of neuroscience**. 23: 7311-7316. 2003.

ELLENBROEK BA; COOLS AR. Animal models with construct validity for schizophrenia. **Behavioural Pharmacology** 6: 469-490. 1990.

EVINS AE; DEMOPULOS C; NIERENBERG A; CULHANE MA; EISNER L; SACHS G. A double-blind, placebo-controlled trial of adjunctive donepezil in treatment-resistant mania. **Bipolar Disorders** 8: 75–80. 2006.

FAGIOLINI A; FRANK E; SCOTT JA; TURKIN S; KUPFER DJ. Metabolic syndrome in bipolar disorder: findings from the Bipolar Disorder Center for Pennsylvanians. **Bipolar Disorders** 5: 424-430. 2005.

FAGIOLINI A; KUPFER DJ; MASALEHDAN A; SCOTT JA; HOUCK PR; FRANK E. Functional impairment in the remission phase of bipolar disorder. **Bipolar Disorders** 7: 281–285. 2005.

FLECK DE, ELIASSEN JC, DURLING M, LAMY M, ADLER CM, DELBELLO MP, SHEAR PK, CERULLO MA, LEE JH, STRAKOWSKI SM. Functional MRI of

sustained attention in bipolar mania. **Molecular Psychiatry.** *In press.*

FREY BN, ANDREAZZA AC, NERY FG, MARTINS MR, QUEVEDO J, SOARES JC, KAPCZINSKI F. The role of hippocampus in the pathophysiology of bipolar disorder. **Behavior Pharmacology** 18:419-430. 2007.

FREY BN; ANDREAZZA AC; CERESÉR KMM, MARTINS MR; VALVOSSORI SS; RÉUS GZ; QUEVEDO J; KAPCZINSKI F. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. **Life Sciences** 79: 281-286. 2006.

GARDIAN G, YANG L, CLEREN C, CALINGASAN NY, KLIVENYI P, BEAL MF. Neuroprotective effects of phenylbutyrate against MPTP neurotoxicity. **Neuromolecular Medicine** 5:235-41. 2004.

HOBARA T, UCHIDA S, OTSUKI K, MATSUBARA T, FUNATO H, MATSUO K, SUETSUGI M, WATANABE Y. Altered gene expression of histone deacetylases in mood disorder patients. **Journal of Psychiatric Research** 44: 263-270. 2010.

HUXLEY N, BALDESSARINI RJ. Disability and its treatment in bipolar disorder patients. **Bipolar Disorder.** 9:183-96. 2007.

JOYCE PR; FERGUSSON DM; WOOLLARD G; ABBOTT RM; HORWOOD LJ; UPTON J. Urinary catecholamines and plasma hormones predict mood state in rapid cycling bipolar affective disorder. **Journal affective disorders** 33: 233-243. 1995.

KIM S, YOON HS, KIM JH. CART peptide 55-102 microinjected into the nucleus accumbens inhibits the expression of behavioral sensitization by amphetamine. **Regulatore Peptides** 144: 6-9. 2007.

KIM WY; KIM S; KIM JH. Chronic microinjection of valproic acid into the nucleus accumbens attenuates amphetamine-induced locomotor activity. **Neurosciencse Letters** 13: 54-57. 2008.

KRUGER S; SHUGAR G; COOKE RG. Comorbidity of binge eating disorder and the partial binge eating syndrome with bipolar disorder. **The International journal of eating disorders** 19: 45–52. 1996.

KUPFER DJ. The increasing medical burden in bipolar disorder. **Journal of the American Medical Association** 293: 2528-2530. 2005.

LANGLEY B; GENSERT JM; BEAL MF; RATAN RR. Remodeling chromatin and stress resistance in the central nervous system: histone deacetylase inhibitors as novel and broadly effective neuroprotective agents. **Current drug targets. CNS and neurological disorders** 4: 41-50. 2005.

LEVERICH GS; ALTSHULER LL; FRYE MA; SUPPES T; KECK PE JR; MCELROY SL; DENICOFF KD; OBROCEA G; NOLEN WA; KUPKA R; WALDEN J; GRUNZE H; PEREZ S; LUCKENBAUGH DA; POST RM. Factors associated with suicide attempts in 648 patients with bipolar disorder in the Stanley Foundation Bipolar Network. **The Journal of clinical psychiatry** 64: 506-515. 2003.

MANJI HK; CHEN G. PKC, MAP kinases and bcl-2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers. **Molecular Psychiatry** 7: 46-56. 2002.

MANNING JS. All that wheezes is not asthma: bipolar disorder in primary care 1997-2007. **Primary Care Companion to the Journal of Clinical Psychiatry**. 9: 89-90. 2007.

MARKS P; RIFKIND RA; RICHON VM; BRESLOW R; MILLER T; KELLY WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. **Nature Reviews Cancer** 1: 194-202. 2001.

MORENO RA; MORENO DH; RATZKE R. Diagnosis, treatment and prevention of mania and hipomania within the bipolar disorder. **Revista de Psiquiatria Clínica** 32: 39-48. 2005.

NARITA K, SUDA M, TAKEI Y, AOYAMA Y, MAJIMA T, KAMEYAMA M, KOSAKA H, AMANUMA M, FUKUDA M, MIKUNI M. Volume reduction of ventromedial

prefrontal cortex in bipolar II patients with rapid cycling: A voxel-based morphometric study. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry.** *In press.*

NARITA K; SUDA M; TAKEI Y; AOYAMA Y; MAJIMA T; KAMEYAMA M; KOSAKA H; AMANUMA M; FUKUDA M; MIKUNI M. Volume reduction of ventromedial prefrontal cortex in bipolar II patients with rapid cycling: A voxel-based morphometric study. **Progress Neuropsychopharmacol & Biological Psychiatry.** *In press.*

NUGENT AC; MILHAM MP; BAIN EE; MAH L; CANNON DM; MARRETT S; ZARATE CA; PINE DS; PRICE JL; DREVETS WC. Cortical abnormalities in bipolar disorder investigated with MRI and voxel-based morphometry. **NeuroImage** 30: 485-497. 2005.

OWENS MJ, NEMEROFF CB. Pharmacology of valproate. **Psychopharmacology Bulletin** 37:17-24. 2003.

PAXINOS G., & WATSON C. (1986). The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Academic Press

PAXINOS G; WATSON C. **The rat brain: in stereotaxic coordinates.** Sam Diego: Academic Press. 1998.

RAMACCIOTTI CE; COLI E; PAOLI R; GABRIELLINI G; SCHULTE F; CASTROGIOVANNI S; DELL'OSO L; GARFINKEL PE. The relationship between binge eating disorder and non-purging bulimia nervosa. **Eating and Weight Disorders** 10: 8–12. 2005.

REVICKI DA; MATZA LS; FLOOD E; LLOYD A. Bipolar disorder and healthrelated quality of life: Review of burden of disease and clinical trials. **Pharmacoconomics** 23: 583–594. 2005.

RODGERS RJ; CAO B-J; DALVI A; HOLMES A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**

30: 289-304. 1997.

ROMIEU P, HOST L, GOBAILLE S, SANDNER G, AUNIS D, ZWILLER J. Histone deacetylase inhibitors decrease cocaine but not sucrose self-administration in rats. **Journal of Neuroscience** 28: 9342-9348. 2008.

ROSOKLIJA G; TOOMAYAN G; ELLIS SP; KEILP J; MANN JJ; LATOV N; HAYS AP; DWORK AJ. Structural abnormalities of subiculum dendrites in subjects with schizophrenia and mood disorders: preliminary findings. **Archives of General Psychiatry** 57: 349-356. 2000.

RUTTEN BP; MILL J. Epigenetic mediation of environmental influences in major psychotic disorders. **Schizophrenia Bulletin** 35:1045–1056. 2009.

SCHROEDER FA; PENTA KL; MATEVOSSIAN A; JONES SR; KONRADI C; TAPPER AR; AKBARIAN S. Drug-induced activation of dopamine D(1) receptor signaling and inhibition of class I/II histone deacetylase induce chromatin remodeling in reward circuitry and modulate cocaine-related behaviors. **Neuropsychopharmacology** 33: 2981-2992. 2008.

SILVA JR, TORRES WM, ORTIZ MS. Abnormal electrophysiological activation in schizophrenics during a personal traits attribution task. **Biological Research** 41:143-50. 2008.

STRAKOWSKI SM, DELBELLO MP, ADLER C, CECIL KM, SAX KW. Neuroimaging in bipolar disorder. **Bipolar Disorder** 2:148–164. 2000.

STRAKOWSKI SM, DELBELLO MP, ADLER CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. **Molecular Psychiatry** 10: 105-116. 2005.

STRAKOWSKI SM, ELIASSEN JC, LAMY M, CERULLO MA, ALLENDORFER JB, MADORE M, LEE JH, WELGE JA, DELBELLO MP, FLECK DE, ADLER CM. Functional Magnetic Resonance Imaging Brain Activation in Bipolar Mania: Evidence for Disruption of the Ventrolateral Prefrontal-Amygdala Emotional

Pathway. **Biological Psychiatry.** In press.

STRAKOWSKI SM; ADLER C; DELBELLO MP. Comparison of morphometric magnetic resonance imaging findings in bipolar disorder and unipolar depression. **Bipolar Disorders** 4: 80–88. 2002.

STRAKOWSKI SM; DELBELLO MP; ADLER C; CECIL DM; SAX KW. Neuroimaging in bipolar disorder. **Bipolar Disorders** 2: 148-164. 2000.

STRAKOWSKI SM; DELBELLO MP; ADLER CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. **Molecular Psychiatry** 10: 105-116. 2005.

STRAKOWSKI SM; SAX KW. Secondary mania: a model of the pathophysiology of bipolar disorder?. In: Soares, J.C., Gershon, S. (eds) **Basic Mechanisms and Therapeutic Implications of Bipolar Disorder** (Marcel Dekker, eds) p. 13–30. 2000.

TOHEN M; ZARATE CA JR; HENNEN J; KHALSA HM; STRAKOWSKI SM; GEBRE-MEDHIN P; SALVATORE P; BALDESSARINI RJ. The McLean-Harvard First-Episode Mania Study: prediction of recovery and first recurrence. **The American journal of psychiatry** 160: 2099-2107. 2003.

WANG D; WANG Z; TIAN B; LI X; LI S; TIAN Y. Two hour exposure to sodium butyrate sensitizes bladder cancer to anticancer drugs. **International journal of urology: official journal of the Japanese Urological Association** 15: 435-441. 2008.

WEAVER IC; CERVONI N; CHAMPAGNE FA; D'ALESSIO AC; SHARMA S; SECKL JR; DYMOV S; SZYF M; MEANEY MJ. Epigenetic programming by maternal behavior. **Nature Neuroscience** 7: 847-854. 2004.

WEISS JM; KILTS CD. Animal models of depression and schizophrenia. In: **Textbook of psychopharmacology** (Schatzberg AF, Nemeroff CB, eds).: American Psychiatric Press Inc, Washington (DC), pp. 89-131. 1998.

WU X, CHEN PS, DALLAS S, WILSON B, BLOCK ML, WANG CC, KINYAMU H, LU N, GAO X, LENG Y, CHUANG DM, ZHANG W, LU RB, HONG JS. Histone deacetylase inhibitors up-regulate astrocyte GDNF and BDNF gene transcription and protect dopaminergic neurons. **The International Journal of Neuropsychopharmacology** 11: 1123-1134. 2008.

YATHAM LN, LIDDLE PF, LAM RW, SHIAH IS, LANE C, STOESSL AJ. PET study of the effects of valproate on dopamine D(2) receptors in neuroleptic- and moodstabilizer-naive patients with nonpsychotic mania. **American Journal of Psychiatry** 159:1718. 2002.

ZARATE CA JR; SINGH J; MANJI HK. Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. **Biological Psychiatry** 59: 1006-1020. 2006.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)

[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)

[Baixar livros de Literatura Infantil](#)

[Baixar livros de Matemática](#)

[Baixar livros de Medicina](#)

[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)

[Baixar livros de Meio Ambiente](#)

[Baixar livros de Meteorologia](#)

[Baixar Monografias e TCC](#)

[Baixar livros Multidisciplinar](#)

[Baixar livros de Música](#)

[Baixar livros de Psicologia](#)

[Baixar livros de Química](#)

[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)

[Baixar livros de Serviço Social](#)

[Baixar livros de Sociologia](#)

[Baixar livros de Teologia](#)

[Baixar livros de Trabalho](#)

[Baixar livros de Turismo](#)