

Alessandra Satie Ofuchi

**Administração prolongada do ácido 13-cis-retinóico (isotretinoína)
em camundongos machos adolescentes: comportamentos
emocionais e quantificação de transcritos de componentes do
sistema serotoninérgico central**

Dissertação apresentada ao Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Chiavegatto

São Paulo
2010

RESUMO

Ofuchi AS. Administração prolongada do ácido 13-cis-retinóico (isotretinoína) em camundongos machos adolescentes: comportamentos emocionais e quantificação de transcritos de componentes do sistema serotoninérgico central [dissertação (Mestrado em Farmacologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

O ácido 13-cis-retinóico (13-cis-RA, isotretinoína) é um retinóide sintético de uso oral prolongado, prescrito em altas doses, para o tratamento da acne. Age primariamente diminuindo a atividade da glândula sebácea e reduzindo a inflamação. Desde a aprovação do uso do 13-cis-RA, tem-se relatos na literatura de sintomas psiquiátricos incluindo depressão, idealização de suicídio e psicoses. Estudos comportamentais utilizando modelos animais indicam possível associação com distúrbios cognitivos e depressão, entretanto as investigações tanto em humanos, como em animais ainda são controversas. Como os componentes da via do ácido retinóico possuem uma ampla distribuição no SNC e a participação do sistema serotoninérgico na modulação de comportamentos emocionais já é bem estabelecida, investigamos uma possível relação entre estes sistemas. Camundongos machos adolescentes da linhagem C57BL/6 receberam injeções intraperitoneais diárias, de 1mg/kg do 13-cis-RA ou veículo, durante 42 dias. Diferentes grupos foram utilizados para a análise comportamental e para quantificação de genes relacionados à via serotoninérgica, utilizando a metodologia de transcrição reversa do RNAm, associada à técnica de PCR em tempo real. Os camundongos tratados com 13-cis-RA apresentaram uma redução na atividade locomotora nos quadrantes periféricos, mas não centrais do campo-aberto (CA). Esta redução na atividade locomotora não foi observada no labirinto em cruz elevado (LCE), no qual os animais movimentaram-se de forma semelhante. O comportamento relacionado à ansiedade verificada através da locomoção central no CA e exploração dos braços abertos no LCE, não diferiu entre os grupos. Já o aparecimento de um comportamento relacionado à depressão foi evidenciado no nado-forçado (NF), através do aumento no tempo de imobilidade. De forma concordante, outro parâmetro da depressão, a anedonia (independente da atividade motora), foi avaliada no teste de preferência por sacarose (PPS), no qual observamos uma redução. Assim, a redução da atividade locomotora evidenciada no CA, juntamente com o aumento da imobilidade no NF e o aparecimento de um

comportamento relacionado à anedonia no PPS, sugerem a existência de um efeito pró-depressivo do fármaco. Adicionalmente, a análise do comportamento pró-depressivo no NF, 20 dias após interrupção do tratamento com 13-cis-RA, sugeriu reversão deste quadro. O mesencéfalo é uma área importante na modulação do sistema serotoninérgico devido à presença da maquinaria responsável pela sua retroalimentação. Nesta região verificamos uma redução na quantidade de transcritos para a proteína transportadora de 5-HT (5-HTT), bem como para a enzima de síntese de 5-HT (Tph2). O córtex pré-frontal demonstrou ser a região mais vulnerável ao tratamento com 13-cis-RA, no qual observamos uma redução nos transcritos para os receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT₆ e 5-HT₇. No hipocampo e hipotálamo as alterações foram mais sutis, havendo respectivamente uma redução nos transcritos para o receptor 5-HT₇ e um aumento nos transcritos para o receptor 5-HT_{2A}. Assim, demonstramos em animais de que o 13-cis-RA prescrito em humanos para o tratamento da acne pode levar a mudanças comportamentais e interferência na transcrição gênica de componentes do sistema serotoninérgico central.

Palavras-chave: Ácido 13-cis-retinóico. Isotretinoína. Depressão. Sistema serotoninérgico. Expressão gênica

ABSTRACT

Ofuchi AS. Chronic administration of 13-*cis*-retinoic acid (isotretinoin) in young male mice: emotion-related behaviors and quantification of central serotonergic system transcripts [Master thesis (Pharmacology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

13-*cis*-retinoic acid (13-*cis*-RA, isotretinoin) is a synthetic retinoid used for prolonged period at high oral doses for acne treatment. 13-*cis*-RA reduces the sebaceous gland activity and related inflammatory processes. Since the beginning of 13-*cis*-RA use, there are reports in the literature about psychiatric symptoms as depression, suicide idealization and psychosis in some individuals. Behavioral studies in animals have detected possible association with depression and cognitive disturbances. However, human and animal investigations results are still controversial. Since the retinoic acid components are widespread distributed in the CNS and serotoninergic system is a well known modulator of emotion behaviors, we investigated a possible relation between these systems. Male adolescent C57BL/6 mice received 13-*cis*-RA (1mg/kg *ip*) or vehicle once daily for 42 days. Different sets of animals were used to investigate emotion-related behaviors or 5-HT system-related mRNA levels by qRT-PCR. 13-*cis*-RA injected mice exhibited reduced peripheric locomotor activity in the open field (OF), without difference in central locomotor activity. In the elevated plus maze (EPM), no difference was observed in locomotor activity. Anxiety-related behaviors were not observed in both the OF or the EPM tests. A depressive-like behavior was exhibited in the forced swim test (FST) with increased immobility time. In agreement with depressive phenotype, anhedonia was measured in sucrose preference test (SPT) and we found a reduction in this parameter. Taken together, this behavioral results in the OF, FST and SPT reflect a depression-related behavior in mice treated with the drug. In addition, depression-related behavior was analysed after 20 days without the 13-*cis*-RA prolonged treatment and the increased immobility in the FST has not verified, suggesting reversion of the phenomenon. The midbrain is an important area in serotonergic modulation due to presence of feedback machinery. 13-*cis*-RA injected mice showed reduced levels of 5-HTT mRNA and Tph2 mRNA in this area. In the prefrontal cortex, a vulnerable area to 13-*cis*-RA, reduction was observed for 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT₆ and 5-HT₇

receptor transcripts. In the hippocampus and hypothalamus, changes were discrete, there were reduction in 5-HT₇ receptor mRNA and increase in 5-HT_{2A} receptor mRNA respectively. Our combined findings suggest that 13-*cis*-RA prescribed in humans for acne treatment can induce behavioral changes and interference in gene expression of serotonergic system components in mice.

Keywords: 13-*cis*-retinoic acid. Isotretinoin. Depression. Serotonergic system. Gene expression.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Retinóides

A classe dos retinóides é composta por moléculas com estrutura química semelhante à vitamina A (retinol). Estes compostos podem ser naturalmente encontrados no organismo após metabolização do retinol, sendo estes o retinaldeído, o ácido *all-trans*-retinóico (ATRA) e o ácido *13-cis*-retinóico (*13-cis*-RA), ou ter origem sintética representada por análogos modificados do retinol, como o etretinato e a acitretina (Allen e Bloxham, 1989). O retinol não pode ser produzido pelo organismo, sendo adquirido através da dieta animal na forma de retinil éster, bem como da dieta vegetal na forma de pró-vitamina A carotenóides, sendo sua necessidade diária inferior a 1 mg. A carência de vitamina A acarreta principalmente o aparecimento de sintomas como xeroftalmia e cegueira, tratando-se de uma deficiência nutricional grave encontrada principalmente em populações de países em desenvolvimento, como o Brasil (Ramalho et al., 2002). Por outro lado, a hipervitaminose A é menos frequente e é acompanhada de sintomas como aumento da pressão intracraniana, disfunção hepática, ressecamento de pele e mucosas, entre outros (Patel et al., 1988).

Os retinóides estão envolvidos na manutenção de diferentes processos fisiológicos no organismo. Estudos evidenciaram que tanto a carência quanto o excesso de suprimento de retinóides são prejudiciais na fase embriogênica e adulta, demonstrando a importância de se ter um suprimento adequado de retinol (Bonnet et al., 2008; Crandall et al., 2004; Lammer et al., 1985; Maden et al., 1996). No embrião, o ácido retinóico (RA) é imprescindível na morfogênese, atuando no padrão de desenvolvimento anteroposterior, dorsoventral e na formação do tubo neural (Maden et al., 1996). No adulto, o RA mantém ainda a capacidade de modular processos de neuroplasticidade no SNC e há evidências de que promova a regeneração axonal no sistema nervoso periférico (Misner et al., 2001; Bonnet et al., 2008; Yip et al., 2006).

Os retinóides são capazes de acentuar o processo de diferenciação neuronal e reduzir a proliferação celular, promovendo a formação de neurônios e células da glia a partir de células embrionárias indiferenciadas (Bain et al., 1996; Fraichard et al., 1995; Kim et al., 2009). Neste sentido, Bain et al. (1996) demonstraram que a

administração de RA em células embrionárias indiferenciadas aumentava a expressão de genes normalmente encontrados em tecidos neurais, enquanto reduzia aqueles relacionados a tecidos periféricos, tais como o cardíaco. Estes resultados sugeriram uma possível ação seletiva do RA na maturação de células neuronais. Estudos conduzidos *in vitro* utilizando retinóides em altas concentrações demonstraram aumento no processo de apoptose em células indiferenciadas, mecanismo que possivelmente contribui para o uso terapêutico dos retinóides no tratamento de diversos tipos de câncer (Horn et al., 1996; Kaba et al., 1996; Motzer et al., 1995; Stadler et al., 1998). Por outro lado, em baixas concentrações, os retinóides parecem ter um efeito celular benéfico demonstrado pelo aumento da sobrevivência de neurônios (Liu et al., 2008).

A maquinaria da via dos retinóides é composta pelo receptor do ácido retinóico (RAR), pelo receptor retinóide X (RXR) nas isoformas α , β e γ , pelas proteínas transportadoras de retinóides e ainda pela enzima de síntese de RA. Estes componentes encontram-se distribuídos no encéfalo maduro em diversas áreas como: córtex, hipocampo, hipotálamo, cerebelo, caudado-putamen, núcleo *acumbens*, tubérculo olfatório e estriado (Krezel et al., 1999; Zetterström et al., 1999).

A farmacocinética do retinol obtido através da dieta ocorre inicialmente através da absorção da molécula no intestino e posterior modificação enzimática através do processo de esterificação do retinol pela enzima lecitina retinol aciltransferase (LRAT) (Ruiz et al., 1999). A forma esterificada do retinol é transportada via quilomicrons para o fígado ou tecidos alvos (Goodman et al., 1966). No fígado, o retinil éster é estocado e de acordo com a necessidade corpórea pode ser processada novamente a retinol através de uma reação de hidrólise. O retinol é transportado no sangue ligado a um complexo formado pela proteína ligante de retinol (*retinol binding protein*, RBP) e pela proteína transtiretina (TTR) (Yamamoto et al., 1997). Estudos evidenciaram que a RBP liga-se a um receptor de membrana, possibilitando a liberação do retinol para o interior da célula (Shingleton, Skinner e Ong, 1989; Redondo et al., 2008). O retinol livre, devido ao seu caráter lipofílico, também pode entrar em grande parte das células através de um processo de difusão pela membrana celular (Lane e Bailey, 2005). No interior da célula, o retinol encontra-se ligado à proteína celular ligante de retinol (*cellular retinol binding protein*, CRBP) (Li et al., 1991) e pode ser convertido a RA através de dois processos

oxidativos seqüenciais: a) o primeiro é via retinol desidrogenase ou via álcool desidrogenase, formando o *all-trans*-retinaldeído (Boerman e Napoli, 1996; Van Thiel, Gavaler e Lester, 1974); b) o segundo através das enzimas retinaldeído desidrogenases (RALDHs) formando ATRA (**Figura 1**) (Lane e Bailey, 2005; Wang, Penzes e Napoli, 1996).

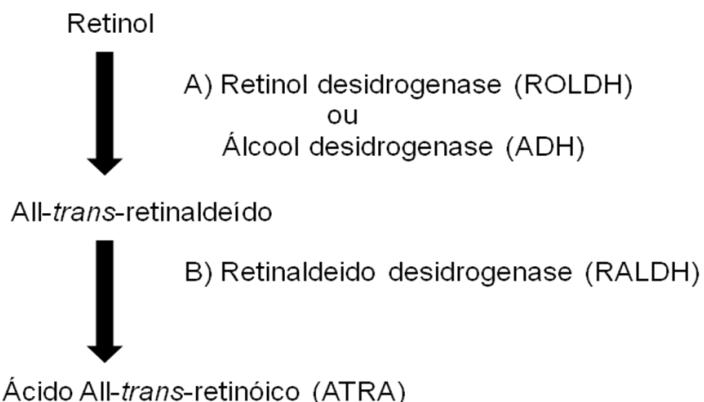


Figura 1 - Mecanismo de conversão enzimática do retinol a ATRA através de processos oxidativos.

No interior da célula ATRA se liga à proteína celular ligante de RA (*cellular retinoic acid binding protein*, CRABP) (Norris et al., 1994) e em seguida é transportada para o núcleo, onde ATRA se liga ao RAR (Tsukada et al., 2000) (**Figura 2**). O RAR existe na forma de um complexo heterodimérico com o RXR. O RXR é membro da superfamília de receptores hormonais nucleares e é integrante de outros receptores nucleares como da vitamina D, receptor do hormônio da tireóide e receptor ativado por proliferador de peroxissomo, entre outros (Leid, Kastner e Chambon, 1992; Theodosiou, Laudet e Schubert, 2010).

A farmacodinâmica dos retinóides tem início com a ativação do complexo receptor RXR-RAR, denominado como fator de transcrição, que se encontra ligado ao elemento responsável ao RA (*retinoic acid response element*, RARE) localizado em regiões promotoras do DNA dando início à transcrição gênica (Umesono et al., 1991) (**Figura 2**). Estudo baseado em técnicas farmacológicas e moleculares evidenciou que a ativação do processo de transcrição é dependente da interação de um agonista ao RAR (“fenômeno RAR dominante”), assim o RXR teria apenas uma função acentuadora na presença do seu ligante (Lane e Bailey, 2005; Minucci et al., 1997).

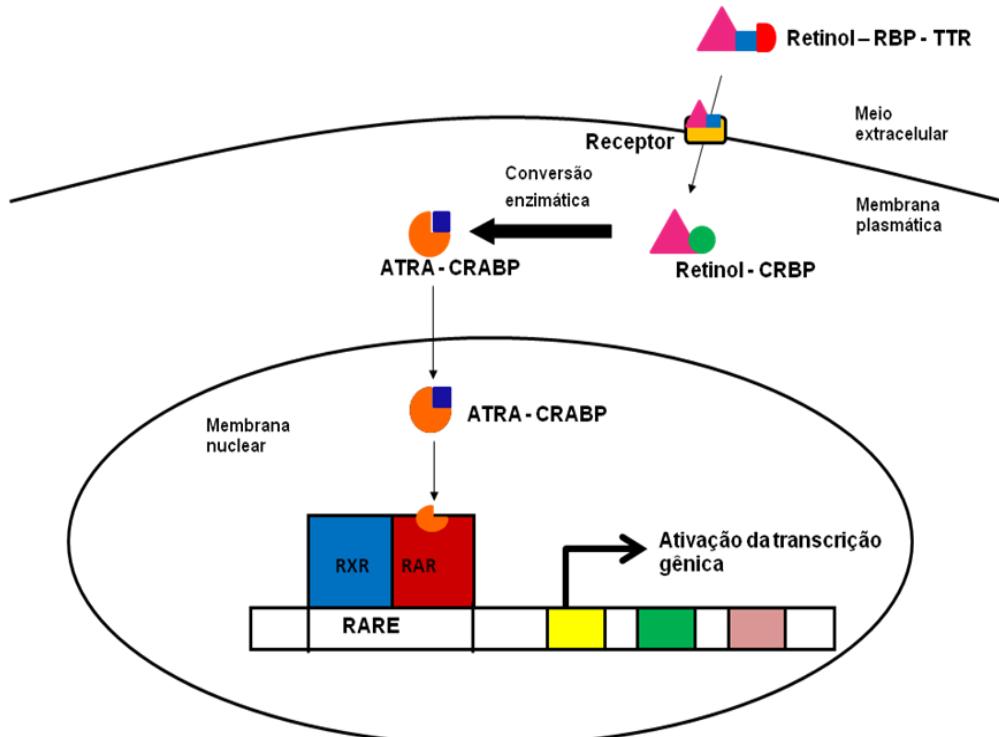


Figura 2 - Mecanismo de ação do retinol.

Na ausência do ligante, proteínas co-repressoras permanecem ligadas ao RAR, prevenindo o processo de transcrição gênica via RARE. Porém, quando ATRA se liga ao RAR, ocorre uma mudança conformacional no receptor e os co-repressores são liberados e substituídos por proteínas co-ativadoras (**Figura 3**). Estes fatores co-regulatórios medeiam seus efeitos principalmente através da modulação do nível de acetilação de resíduos de lisina pertencentes às histonas. Desta forma, co-repressores recrutam o complexo de histonas deacetilases (HDACs) removendo grupo acetila de resíduos de lisina de histonas, prevenindo assim o processo de transcrição gênica. Por outro lado, co-ativadores recrutam o complexo de histonas acetil transferases (HATs), promovendo a acetilação de resíduos de lisina e facilitando o processo de transcrição gênica (Bastien e Rochete-Egly, 2004; Blanco et al., 1998; Lane e Bailey, 2005).

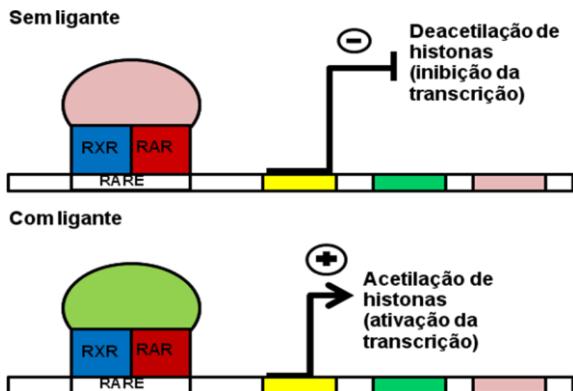


Figura 3 - Mecanismo de ativação do processo de transcrição gênica.
Fonte: Baseado em Marletaz et al. (2006).

O RARE é composto pela repetição de uma sequência formada por 6 nucleotídeos (A/G)G(G/T)TCA (ou seja, AGGTCA, GGGTCA, AGTTCA, GGTTCA e suas formas palindrômicas), ou ainda por uma forma mais “relaxada” (A/G)G(G/T)(G/T)(G/C)A (ou seja, AGGGGA, AGGGCA, AGGTGA, AGGTCA, AGTGGGA, AGTGCA, AGTTGA, AGTTCA, GGGGGA, GGGGCA, GGGTGA, GGGTCA, GGTGGA, GGTGCA, GGTTGA, GGTTCA e suas formas palindrômicas) (Balmer e Blomhoff, 2005). São nestas possíveis combinações de nucleotídeos que o complexo receptor formado por RXR-RAR se encontra ligado. A repetição da sequência de 6 nucleotídeos pode ser encontrada espaçada por 5 nucleotídeos quaisquer (forma clássica), entretanto pode estar separada também por 1 ou 2 nucleotídeos (Bastien e Rochete-Egly, 2004). Curiosamente, a sequência que compõe o RARE é muito semelhante à de outros *cis*-elementos presentes em genes pertencentes a receptores nucleares, como os receptores do hormônio da tireóide e vitamina D₃ (Umesono et al., 1991). Há evidências de que a especificidade da ligação dos diferentes fatores de transcrição (tais como o RA, hormônio da tireóide e vitamina D₃) para cada receptor nuclear esteja associada ao número de nucleotídeos que separam estas sequências (Umesono et al., 1991). Entretanto, estudo recente demonstrou também a possibilidade da existência de outros fatores que contribuem para a especificidade e estabilidade da ligação, tais como: a presença de proteínas auxiliares co-ativadoras e a existência de pequenas diferenças nas sequências de nucleotídeos do elemento de resposta (Phan et al., 2010).

1.2 Ácido 13-cis-retinóico

O 13-cis-RA (ou isotretinoína) é o composto ativo do fármaco comercializado com o nome de Roacutan® (Laboratório Roche, São Paulo, S.P., Brasil) ou Accutane® nos EUA (Roche Pharmaceuticals, Nutley, N.J., EUA) e trata-se de um retinóide sintético utilizado em altas doses para o tratamento de acnes severas. O seu uso terapêutico para acnes iniciou-se em 1982 com a aprovação deste tratamento pela agência regulamentadora nos EUA. No Brasil, a comercialização do 13-cis-RA teve início em 1993, e a regulamentação do produto genérico ocorreu em 2002 (Ministério da Saúde, [2010]).

A absorção do fármaco 13-cis-RA ocorre no intestino, que devido ao seu caráter lipofílico é aumentada com a ingestão concomitante de alimento. No sangue, o 13-cis-RA é transportado ligado à proteína albumina e entra na célula por um processo de difusão passiva (Tsukada et al., 2002). No interior da célula, o 13-cis-RA, diferentemente do ATRA, não é transportado pela CRABP, devido à sua baixa afinidade por esta proteína (¹Siegenthaler e Saurat, 1989 apud Zoubolis, 2006). O 13-cis-RA pode ativar o processo de transcrição gênica de forma semelhante ao retinol, através da interação com o RAR de duas maneiras (**Figura 4**): a) ligando-se diretamente ao RAR, porém com uma baixa afinidade; b) sofrer isomerização à ATRA, que é um ligante de alta afinidade (Allenby et al., 1993; O'Reilly et al., 2008; Tsukada et al., 2000).

¹Siegenthaler G, Saurat J-H. Binding of isotretinoin to cellular retinoic acid-binding protein: a reappraisal. In: Marks R, Plewig G (eds). Acne and Related Disorders. Dunitz: London. 1989;169-77.

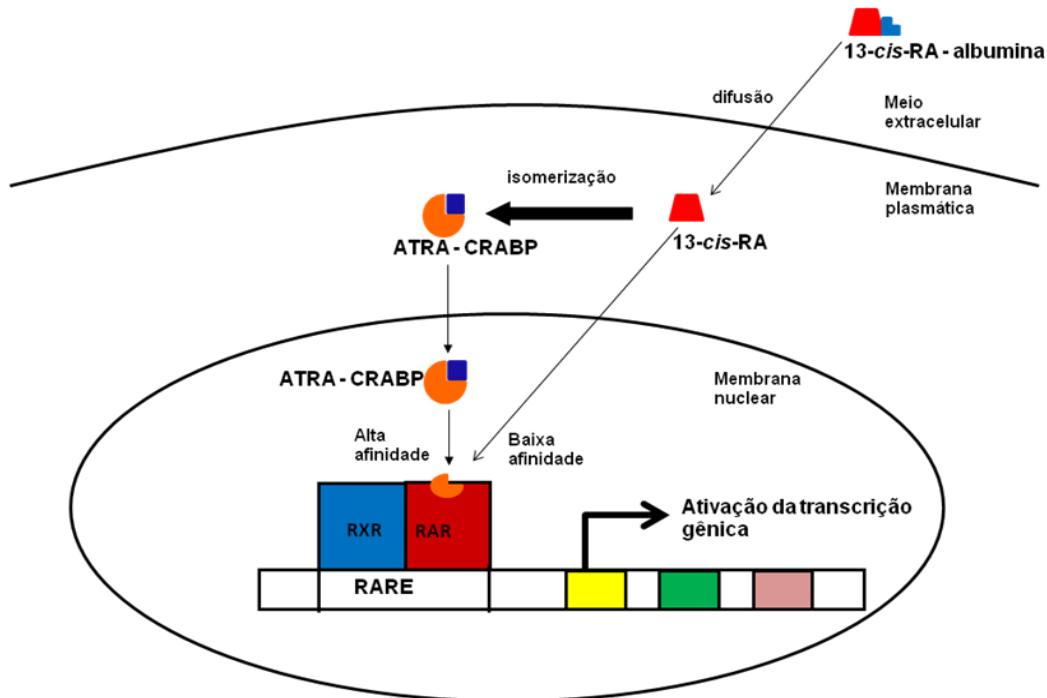


Figura 4 - Mecanismo de ação do 13-cis-RA.

A acne é uma patologia multifatorial que envolve a glândula sebácea. Os principais fatores que contribuem para o desenvolvimento da acne incluem estimulação da produção de sebo por androgênios, processo de hiperqueratinização anormal obstruindo a glândula, colonização por bactérias como *Propionibacterium acnes* e processo inflamatório (Clarke et al., 2007). De acordo com a gravidade das lesões, a acne pode ser dividida em: a) não inflamatória – acne comedogênica (grau I) ou b) inflamatória – papulopustulosa (grau II), nodulocística (grau III), conglobata (grau IV) (Sinclair e Jordaan, 2005). O tratamento com 13-cis-RA é preconizado principalmente nos casos de acne inflamatória grau III e IV (Brasil, 2001).

Estudos *in vitro* e *em vivo* evidenciaram os efeitos terapêuticos do 13-cis-RA no tratamento da acne, que podem ocorrer de diversas maneiras, tais como: a) redução acentuada do tamanho e da atividade da glândula sebácea, que demonstrou ser superior a de outros retinóides (Hommel et al., 1996; Plewig et al., 2004); b) redução do processo de hiperqueratinização e inflamação (Plewig et al., 2004); c) indução do processo de apoptose em glândulas sebáceas (Nelson et al., 2006) e d) inibição da síntese de diidrotestosterona (Karlsson et al., 2003). Entretanto, o exato mecanismo de ação do 13-cis-RA para promover a redução duradoura da atividade da glândula sebácea permanece ainda desconhecido. Estudos adicionais ainda são necessários para elucidar se o 13-cis-RA age por

interação ao RAR e/ou por outros mecanismos independentes da ligação ao receptor na glândula sebácea (Karlsson et al., 2003; Nelson et al., 2006). Uma investigação recente de expressão gênica em alta escala, a partir de biópsia da pele de pacientes tratados com 13-cis-RA, evidenciou modificações em genes relacionados à metabolização de lipídios e remodelamento da matriz protéica extracelular (Nelson et al., 2009). Estes resultados sugerem possíveis candidatos moleculares envolvidos na ação do 13-cis-RA sobre as glândulas sebáceas.

A posologia do 13-cis-RA para o tratamento acne varia de 0,5-1,0 mg/kg/dia, por via oral, durante 4 a 6 meses, afim de se obter uma dose acumulada teórica de 120 mg/kg no término do tratamento (Strauss et al., 1984). Seguindo esta posologia, aproximadamente 40% dos pacientes se tornam livres da acne, outros 40% podem ter recorrências que são facilmente tratadas com medicamentos de uso tópico e para os demais 20% recomenda-se um segundo tratamento com 13-cis-RA (Clarke et al., 2007). Assim, a possibilidade de cura definitiva da acne é o que atrai um número crescente de usuários, principalmente em adolescentes, onde sua alta prevalência pode interferir na auto-estima.

Considerando a necessidade de adotar mecanismos capazes de permitir o acesso da população ao tratamento com 13-cis-RA nos casos de acnes graves e refratárias, o SUS (Sistema Único de Saúde) em 2002 começou a disponibilização gratuita deste tratamento no Brasil. Isto ocorreu a partir do estabelecimento de um “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas” para o tratamento da acne com 13-cis-RA pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2001). Estas diretrizes foram atualizadas recentemente com a criação do anexo “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas – Acne Grave” (Brasil, 2010).

Os efeitos terapêuticos do 13-cis-RA no tratamento da acne não são desprovidos de efeitos adversos (semelhante ao quadro de hipervitaminose A descrito anteriormente), que incluem teratogenicidade, disfunção hepática, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, ressecamento de pele e mucosas, alopecia, distúrbios visuais, pseudotumor cerebral, artralgia e dores musculares (Ellis e Krach, 2001). Outro efeito adverso importante é a possibilidade do aparecimento de alterações psiquiátricas que tem sido investigada em diferentes estudos clínicos e pré-clínicos, com o intuito de se encontrar possíveis mecanismos associados.

Desde a aprovação do uso do 13-cis-RA, a literatura científica, através de relatos de caso e estudos epidemiológicos, tem reportado sintomas psiquiátricos

incluindo depressão, idealização de suicídio, psicoses, agressividade e impulsividade (Azoulay et al., 2008; Barak et al., 2005; Byrne et al., 1998; Friedman et al., 2006). Entretanto, devido ao aumento de casos de depressão na população em geral por consequência da ação de agentes estressores, bem como susceptibilidade individual, tais estudos correlacionais ainda são controversos (Friedman et al., 2006; Jick, Kremers e Vasilakis-Scaramozza, 2000; Rehn et al., 2009).

Um estudo clínico verificou o metabolismo cerebral em humanos adultos, através de tomografia com emissão de pósitrons (PET), antes e após tratamento de quatro meses com 13-cis-RA ou antibiótico. Os pesquisadores observaram uma associação do 13-cis-RA, mas não do antibiótico, à redução no metabolismo cerebral do córtex orbitofrontal, sugerindo que o uso de 13-cis-RA possa estar relacionado com mudanças no metabolismo cerebral. Entretanto, não detectaram alterações nos sintomas de depressão nestes indivíduos (Bremner et al., 2005).

Como mencionado anteriormente, a alta incidência de depressão presente na população em geral torna difícil distinguir um aumento gerado especificamente por um fator adicional como a administração do 13-cis-RA (Gupta e Gupta, 1998). Além disso, pacientes que apresentam desfiguração devido à acne severa, geralmente apresentam problemas com auto-estima, depressão e raiva (Koo, 1995), que poderiam confundir potenciais sintomas de depressão causados pelo tratamento. Neste caso, o uso de modelos animais se mostra uma importante estratégia para separar o comportamento depressivo relacionado diretamente com o medicamento, daquele relacionado com a auto-estima e humor do indivíduo.

Em camundongos adolescentes, a administração prolongada do 13-cis-RA (1mg/kg/*i.p.*, por dia) evidenciou um aumento da imobilidade em testes comportamentais validados para o estudo da depressão, como o nado-forçado e a suspensão pela cauda, sugerindo o aparecimento de um comportamento pró-depressivo decorrente do tratamento (O'Reilly et al., 2006).

Em contraste aos estudos conduzidos em camundongos, a administração prolongada do 13-cis-RA (7,5 mg/kg ou 22,5 mg/kg, por dia, através da via oral) em ratos adultos não alterou a imobilidade no nado forçado e nem a ingestão de sacarose (teste de anedonia). Neste estudo, somente uma redução na atividade locomotora no campo-aberto foi observada (Ferguson et al., 2005). Recentemente, outro estudo conduzido em ratos jovens e adultos (13-cis-RA, 1mg/kg, *i.p.*) também

não demonstrou alterações relacionadas à depressão em modelos animais geralmente utilizados no estudo desta patologia, porém verificou uma redução da agressividade que poderia ser correlacionada com um efeito pró-depressivo do 13-*cis*-RA (Trent et al., 2009).

Entretanto, a análise destes trabalhos em conjunto deve levar em consideração a diversidade de condições experimentais utilizadas, como dose do fármaco, duração do tratamento, via de administração, idade, linhagem dos animais e sensibilidade do teste comportamental, como importantes geradores de variabilidade.

A investigação de eventos moleculares cerebrais em decorrência da administração do 13-*cis*-RA em roedores tem sido o foco de trabalhos recentes. Neste sentido, um estudo envolvendo administração crônica do 13-*cis*-RA em camundongos verificou uma redução na taxa de proliferação e neurogênese no hipocampo de camundongos (Crandall et al., 2004). O hipocampo é uma das poucas áreas encefálicas onde ainda ocorre proliferação de neurônios no cérebro maduro (Eriksson et al., 1998). Esta neurogênese hipocampal parece ser passível de modulação, uma vez que estudos demonstraram um aumento da formação de novos neurônios após a administração de antidepressivos (Malberg et al., 2000). Considerando ainda a importância do hipocampo na modulação de processos cognitivos e emocionais, outros pesquisadores estudaram a morfologia de neurônios hipocampais de ratos, após o tratamento *in vitro* de uma cultura primária de hipocampo com diferentes concentrações de 13-*cis*-RA. Neste estudo, as mudanças morfológicas decorrentes do tratamento com 13-*cis*-RA demonstraram ser dependentes da concentração e foram evidenciadas por técnicas de imuno-histoquímica. Desta forma, o retinóide em baixa concentração demonstrou ter efeitos benéficos na morfologia dos dendritos, além de aumentar a sobrevivência dos neurônios, enquanto que a concentração elevada do 13-*cis*-RA causou efeitos neuronais deletérios (Liu et al., 2008). Adicionalmente, estudo da atividade da citocromo oxidase, um marcador da atividade metabólica basal de neurônios, verificou um prejuízo na correlação da atividade desta enzima entre o núcleo dorsal da raphé e o hipocampo em camundongos tratados cronicamente com 13-*cis*-RA (1mg/kg/*i.p.*), evidenciando uma vulnerabilidade na conexão neuronal entre regiões encefálicas (O’ Reilly et al., 2009).

A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) é um achado biológico na depressão (Dinan, 1994). Recentemente, um estudo demonstrou que a administração do 13-cis-RA em cultura de células derivadas do hipotálamo acarretou uma redução no número de células, evidenciando um efeito tóxico deste fármaco em uma área encefálica importante na modulação da resposta ao estresse (Griffin et al., 2010).

Em conjunto, estes dados sugerem distintas alterações neuronais, que parecem ocorrer em áreas específicas do cérebro, em decorrência da administração do 13-cis-RA.

O envolvimento da serotonina (5-HT) em transtornos psiquiátricos, já é bem estabelecido (Holmes, 2008). Neste sentido, uma possível interação entre o sistema serotoninérgico e o 13-cis-RA foi investigada em diferentes modelos experimentais. Inicialmente, estudo *in vitro* dos possíveis efeitos deletérios do 13-cis-RA foi conduzido em cultura de células derivadas dos núcleos da *raphé* de ratos. Estas células são capazes de expressar os auto-receptores serotoninérgicos inibitórios do subtipo 5-HT_{1A}, bem como a proteína transportadora de serotonina (5-HTT). Assim, um aumento nos auto-receptores 5-HT_{1A} e na proteína 5-HTT foram observados, que teria como consequência a redução de serotonina (5-HT, 5-hidroxitriptamina) na fenda sináptica (O'Reilly et al., 2007). Este resultado evidencia alterações importantes em componentes cruciais na modulação dos níveis de 5-HT no cérebro. Investigação da morfologia de neurônios serotoninérgica foi realizada em cultura de cortes histológicos derivados do mesencéfalo, que foram tratados com 13-cis-RA. O ensaio de imuno-histoquímica indicou alterações morfológicas na região somática dos neurônios em consequência do 13-cis-RA (Ishikawa et al., 2008). Recentemente, outro estudo foi conduzido na área dos núcleos da *raphé* com o intuito de verificar se o tratamento com 13-cis-RA poderia reduzir também o número de neurônios serotoninérgicos. Entretanto, os pesquisadores não observaram nenhuma alteração no número de neurônios sugerindo que as alterações que ocorrem no sistema serotoninérgico sejam possivelmente em decorrência de uma mudança na atividade desta via (Drew et al., 2010).

Assim, estes dados sugerem evidências de uma possível associação entre a via serotoninérgica e o 13-cis-RA. Devido à necessidade de aprofundar os conhecimentos obtidos até o momento, o presente trabalho se propôs a estudar os

efeitos comportamentais e transpcionais do 13-cis-RA no sistema serotoninérgico utilizando modelo animal.

1.6 Sistema serotoninérgico e comportamentos emocionais

A neurotransmissão serotoninérgica se origina no mesencéfalo, precisamente nos núcleos da *raphé*, região que apresenta alta densidade de corpos neuronais serotoninérgicos e projeta aferências para outras áreas encefálicas. A 5-HT é um neurotransmissor abundante no SNC e participa no processo de neuroplasticidade em neurônios serotoninérgicos, assim como no processo de desenvolvimento e maturação de diversos sistemas neuronais (Mazer et al., 1997; Whitaker-Azmitia e Azmitia, 1986; Whitaker-Azmitia et al., 1996).

O circuito neuronal corticolímbico pode sofrer modificações associadas à incidência de diferentes transtornos psiquiátricos, provavelmente através da interação entre diversos neurotransmissores. A 5-HT tem se destacado entre estes neurotransmissores por apresentar elevada densidade de receptores e neurônios neste circuito, sugerindo sua possível participação na manutenção destes fenótipos (Graeff et al., 1996; Holmes, 2008). Além disso, muitos fármacos utilizados no tratamento de pacientes com transtornos de humor, ansiedade e pânico tem como alvo primário o sistema serotoninérgico, confirmando o envolvimento da 5-HT na modulação de estados emocionais (Graeff et al., 1996; Nelson e Chiavegatto, 2001).

O sistema serotoninérgico é composto por diferentes tipos de receptores, enzima de síntese da 5-HT e seu transportador. No cérebro de mamíferos foram clonados 14 genes codificadores de receptores da 5-HT, divididos em seis classes de receptores metabotrópicos (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ e 5-HT₇) e uma classe de receptor do tipo canal iônico (5-HT₃) (Hoyer, Hannon e Martin, 2002) (**Tabela 1**). Os componentes do sistema serotoninérgico que estão presentes em neurônios na área do mesencéfalo encontram-se principalmente em neurônios serotoninérgicos, enquanto que os receptores serotoninérgicos presentes em outras áreas são provenientes predominantemente de neurônios não serotoninérgicos e são denominados heterorreceptores (**Figura 5**).

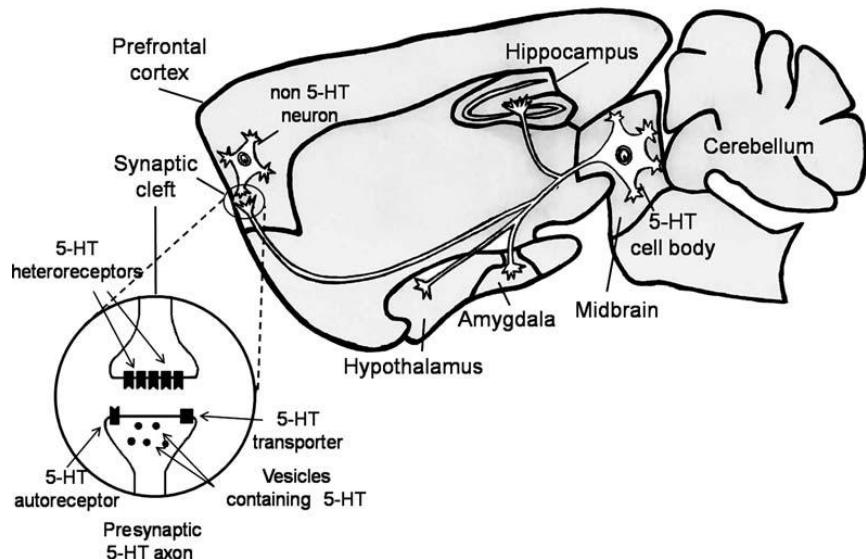


Figura 5 - Neurotransmissão serotoninérgica em um desenho esquemático de um corte sagital do cérebro de camundongo.

Fonte: Ambar e Chiavegatto (2009) com permissão da autora.

Os receptores 5-HT_{1A} localizam-se predominantemente na região somatodendrítica dos neurônios, são acoplados à proteína G_i que após ativação inibe a adenilil ciclase, reduzindo a formação de AMPc, promovendo a abertura dos canais de potássio (hiperpolarização) e inibindo canais de cálcio (Albert et al., 1990). Pré-sinapticamente, os receptores 5-HT_{1A} são denominados auto-receptores inibitórios dos neurônios serotoninérgicos e encontram-se no mesencéfalo, mais precisamente nos núcleos dorsal e mediano da *raphé*, controlando a liberação da 5-HT para a fenda sináptica (Riad et al., 2000; Sprouse e Aghajanian, 1987). Os receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos são heterorreceptores encontrados mais densamente em neurônios das regiões corticais, núcleo septal, hipocampo podendo modular a liberação de outros neurotransmissores (Chalmers e Watson, 1991; Laporte et al., 1994; Olivier et al., 1999; Pike et al., 1995; Torres-Escalante et al., 2004). No hipotálamo, este receptor participa da regulação da função neuroendócrina e da resposta ao estresse associado ao eixo límbico-hipotálamo-pituitária-adrenal (Morley-Fletcher et al., 2004; Osei-Owusu et al., 2005).

Alguns fármacos utilizados no tratamento da ansiedade apresentam atividade agonista do receptor 5-HT_{1A}. Estudos pré-clínicos utilizando animais geneticamente modificados nos quais o gene para este receptor encontrava-se desativado, ou seja, em animais nocaute para o receptor 5-HT_{1A} (*knockout*, 5-HT_{1A}^{-/-}) verificaram um fenótipo ansiogênico e antidepressivo nesses animais, confirmando resultados obtidos em estudos farmacológicos (Artigas et al., 1996; Heisler et al., 1998; Parks et

al., 1998; Picazo, López-Rubalcava e Fernández-Guasti, 1995). Os receptores 5-HT_{1A} são amplamente estudados devido a sua importante função regulatória sobre a neurotransmissão serotoninérgica. O processo de dessensibilização de auto-receptores 5-HT_{1A} pode ocorrer com o uso crônico de antidepressivos, que possivelmente contribui para a ocorrência de processos neuroadaptativos associados ao efeito terapêutico (Albert e Lemonde, 2004; Banasr et al., 2004). Há evidências de que o uso de antagonista para este receptor associado a um fármaco antidepressivo parece potencializar a resposta terapêutica em humanos deprimidos. Este efeito parece ser devido ao bloqueio da redução da concentração de 5-HT que ocorre no início do tratamento com antidepressivos (Blier et al., 1995).

Os receptores do tipo 5-HT_{1B}, de forma semelhante aos receptores 5-HT_{1A}, apresentam ação inibitória sobre a adenilil ciclase quando ativados, localizando-se predominantemente na região pré-terminal dos axônios (Adham et al., 1992; Riad et al., 2000). Pré-sinapticamente, os auto-receptores 5-HT_{1B} localizam-se nos núcleos da *raphé*, reduzindo a liberação da 5-HT (Davidson e Stamford, 1995). Pós-sinapticamente, os heterorreceptores 5-HT_{1B} encontram-se amplamente distribuídos no SNC, localizando-se em maior densidade em áreas como núcleo caudado, globo pálido e substância *nigra* (Vergé et al., 1986). Há evidências de que a ativação pré e pós-sinápticas dos receptores 5-HT_{1B} influenciam de forma direta ou indireta a liberação de outros neurotransmissores, como a dopamina, GABA e acetilcolina em diferentes regiões cerebrais (Cassel et al., 1995; Johnson, Mercuri e North, 1992; Lyer e Bradberry, 1996).

Estudos pré-clínicos com agonistas 5-HT_{1B} observaram redução da agressividade de maneira seletiva em roedores, sugerindo que este receptor seja um possível alvo terapêutico no futuro (Chiavegatto et al., 2001; Miczek et al., 2002; Miczek et al., 2004; Nelson e Chiavegatto, 2001;). Este papel no comportamento agressivo foi confirmado em investigação utilizando camundongos mutantes nulos 5-HT_{1B}^{-/-}, que apresentaram fenótipo agressivo, além de redução no comportamento ansioso quando comparados aos animais *wild-types* (Zhuang et al., 1999). Investigações utilizando técnicas farmacológicas e genéticas sugeriram envolvimento do receptor 5-HT_{1B} na vulnerabilidade ao abuso de drogas, como ingestão de etanol e cocaína, provavelmente através de uma ação indireta no sistema dopaminérgico (Hopligh, Sandgren e Neumaier, 2006; Pentkowski et al., 2009). Em humanos, estudo de diferentes variações genéticas do receptor 5-HT_{1B}

associou este receptor a um perfil antissocial, acompanhado de predisposição ao alcoolismo (Laplainen et al., 1998).

Tabela 1 - Componentes da via serotoninérgica, localização encefálica e principais comportamentos relacionados

(continua)

Componentes do sistema serotoninérgico	Mecanismo de transdução celular	Localização encefálica mais abundante	Principais comportamentos relacionados
5-HT_{1A}	Proteína G _i , Inibição da adenilil ciclase, ↓ [AMPc]	Núcleos da raphé, córtex, núcleo septal e hipocampo	Ansiedade, depressão e resposta ao estresse
5-HT_{1B}	Proteína G _i , Inibição da adenilil ciclase, ↓ [AMPc]	Núcleos da raphé, núcleo caudado, globo pálido e substância nigra	Agressividade, ansiedade e vulnerabilidade ao abuso de drogas
5-HT_{2A}	Proteína G _q , estimulação da fosfolipase C, ↑[IP ₃] e [Ca ²⁺]	Côrortex, sistema olfatório, hipocampo, núcleos da base, amígdala, diencéfalo, cerebelo e tronco encefálico	Ansiedade, depressão, esquizofrenia e resposta ao estresse
5-HT_{2C}	Proteína G _q , estimulação da fosfolipase C, ↑[IP ₃] e [Ca ²⁺]	Côrortex, hipocampo, estriado, substância nigra e plexo coroidal	Comportamento alimentar, ansiedade e resposta ao estresse
5-HT₃	Canal iônico, influxo de cátions, processo excitatório	Complexo vagal dorsal do tronco encefálico, áreas límbicas e extrapiramidais	Ansiedade, pânico, depressão, abuso de drogas e resposta ao estresse
5-HT₄	Proteína G _s , estimulação da adenilil ciclase, ↑[AMPc]	Gânglio basal, hipocampo e córortex	Depressão e comportamento alimentar

Tabela 1 - Componentes da via serotoninérgica, localização encefálica e principais comportamentos relacionados

(conclusão)

Componentes do sistema serotoninérgico	Mecanismo de transdução celular	Localização encefálica mais abundante	Principais comportamentos relacionados
5-HT_{5A}	Proteína G _i , Inibição da adenilil ciclase, ↓ [AMPc],	Núcleos da <i>raphé</i> , córtex cerebral, amígdala, hipotálamo e núcleo supraquiasmático	Possível participação no controle do ritmo circadiano, humor, e na patofisiologia da esquizofrenia
5-HT₆	Proteína G _s , estimulação da adenilil ciclase, ↑[AMPc]	Estriado, tubérculo olfatório, núcleo <i>accumbens</i> e hipocampo	Sono, processos cognitivos, depressão e ansiedade, doença de Alzheimer e depressão bipolar
5-HT₇	Proteína G _s , estimulação da adenilil ciclase, ↑[AMPc]	Córtex, hipocampo, tálamo, hipotálamo e núcleo supraquiasmático	Controle do ritmo circadiano, termorregulação, sono, memória e aprendizagem, ansiedade, depressão e esquizofrenia
Tph2	Promove hidroxilação do triptofano	Núcleos da <i>raphé</i>	Depressão, suicídio, ansiedade e autismo
5-HTT	Transporte de 5-HT	Ampla distribuição cerebral	Depressão, ansiedade, medo, agressividade, resposta ao estresse e cognição

Os receptores 5-HT_{2A} estão envolvidos predominantemente no processo de excitação neuronal, tratam-se de receptores acoplados à proteína G_q, que na presença de agonistas, ativam a fosfolipase C, aumentando a concentração intracelular de inositol trifosfato e cálcio (Pritchett et al., 1988). Estes receptores apresentam ampla distribuição no SNC, sendo encontrados em regiões como o sistema olfatório, hipocampo, núcleos da base, amígdala, diencéfalo, cerebelo, tronco encefálico e em maior densidade no córtex cerebral (Cornea-Hébert et al., 1999). Estudos farmacológicos do receptor 5-HT_{2A} verificaram a participação deste

receptor na modulação de neurônios glutamatérgicos e gabaérgicos, contribuindo para o processo de excitação ou inibição neuronal (Liu, Jolas e Aghajanian, 2000; Scruggs et al., 2000). Adicionalmente, investigações utilizando agonistas deste receptor observaram aumento na liberação de dopamina e corticosterona (Hemrick-Luecke e Evans, 2002; Pehek et al., 2006).

Estudo com animais nocaute para o gene deste receptor ($5\text{-HT}_{2A}^{-/-}$) observou uma redução em comportamentos relacionados à ansiedade, porém sem alteração naqueles relacionados à depressão (Weisstaub et al., 2006). Entretanto, uma investigação de variação genética do receptor 5-HT_{2A} descrita em humanos com diagnóstico de depressão foi associada a uma predisposição ao comportamento suicida (Arias et al., 2001). Além disso, os receptores 5-HT_{2A} são reconhecidamente sítios de ação de alucinógenos como o ácido lisérgico (LSD), e alvo de alguns antidepressivos e antipsicóticos atípicos (Aghajanian e Marek, 1999).

Os receptores metabotrópicos 5-HT_{2C} , após ativação de forma semelhante aos receptores 5-HT_{2A} , aumentam a atividade da fosfolipase C, elevando a concentração intracelular de cálcio (Pritchett et al., 1988). Estes receptores são amplamente distribuídos e podem ser encontrados em áreas como córtex cerebral, hipocampo, estriado, substância nigra e plexo coroidal (Abramowski et al., 1995). Investigação utilizando agonista inverso do receptor 5-HT_{2C} observou uma atividade basal constitutiva significativa deste receptor (De Deurwaerdere et al., 2004). A sua ativação, diferentemente de outros receptores serotoninérgicos, está relacionada à inibição de neurônios dopaminérgicos, provavelmente através da ativação de neurônios gabaérgicos. Este efeito poderia contribuir para o tratamento de patologias como esquizofrenia, doença de Parkinson, abuso de drogas, depressão e ansiedade (Alex et al., 2005). Com a geração dos camundongos nocaute para o gene 5-HT_{2C} , observou-se aumento na ingestão alimentar e na excitabilidade neuronal com predisposição a ataques epilépticos nestes animais mutantes, sendo estes resultados confirmados em estudos farmacológicos (Tecott et al., 1995). Adicionalmente, os animais $5\text{-HT}_{2C}^{-/-}$ apresentaram uma redução do comportamento ansioso e da ativação do eixo HPA (Heisler et al., 2007a, 2007b).

Os receptores 5-HT_3 , subdivididos em 5-HT_{3A} e 5-HT_{3B} , pertencem à classe de receptores serotoninérgicos do tipo canal iônico, diferente das outras classes que são compostos por receptores acoplados à proteína G (Davies et al., 1999; Derkach, Suprenant e North, 1989). O processo de ativação destes receptores envolve o

influxo de cátions, com consequente surgimento de processo excitatório (Derkach, Suprenant e North, 1989). Os receptores 5-HT₃ encontram-se distribuídos em maior densidade em núcleos pertencentes ao complexo vagal dorsal do tronco encefálico, e em menor densidade em áreas límbicas e extrapiramidais (Parker, Bentley e Barnes, 1996). A modulação alostérica do receptor 5-HT₃ por outras substâncias, tais como álcool e anestésicos, pode ocorrer através de ligação a um sítio distinto, de forma semelhante a outros receptores de canais iônicos (Parker et al., 1996). Estudos farmacológicos evidenciaram a possibilidade deste receptor modular diretamente, ou indiretamente, a atividade neuronal de outros sistemas, tais como dopaminérgicos, colinérgicos e gabaérgicos (Díez-Ariza et al., 1998; Porras et al., 2003).

O antagonista do receptor 5-HT₃, ondansetrona, é utilizado nos tratamentos de náuseas e vômitos, também o antagonismo deste receptor tem despertado interesse em investigações pré-clínicas e clínicas, em uma possível eficácia no tratamento de psicopatologias como ansiedade, pânico e depressão (Freeman et al., 1997; Nakagawa, Ishima e Takashima, 1998; Schneier et al., 1996). Estudos comportamentais utilizando camundongos com deleção para o gene da subunidade 3A confirmaram o perfil ansiolítico obtido em estudos farmacológicos com antagonistas do receptor 5-HT₃, além de verificarem uma atenuada resposta do eixo HPA em situações estressantes (Bhatnagar et al., 2004; Costall et al., 1993; Kelley, Bratt e Hodge, 2003). Investigações em animais e humanos observaram o envolvimento do receptor 5-HT₃ na liberação de dopamina no sistema mesolímbico e possivelmente uma participação na dependência induzida por drogas de abuso e etanol (Campbell e McBride, 1995; Chu et al., 2009; Myrick et al., 2008).

Os receptores metabotrópicos 5-HT₄, quando ativados estimulam a adenilil ciclase, elevando a concentração de AMPc intracelular, promovendo a fosforilação de diversas proteínas (Claeysen, Sebben e Journot, 1996). Estes receptores estão distribuídos em maior densidade na região dos núcleos da base e hipocampo e em menor densidade no córtex (Varnäs et al., 2003). Estudo recente com animais 5-HT₄^{-/-} verificou a existência de mudanças adaptativas em neurônios serotoninérgicos nos núcleos da raphé, associadas a uma redução na concentração de 5-HT tecidual. Estes resultados sugerem uma possível participação deste receptor no processo de retroalimentação do sistema serotoninérgico (Conductier et al., 2006). Adicionalmente, investigações farmacológicas e moleculares em roedores

observaram um possível envolvimento deste receptor nos comportamentos relacionados à depressão e regulação da ingestão alimentar (Jean et al., 2007; Tamburella et al., 2009).

O receptor 5-HT₅ é subdividido em 5-HT_{5A} e 5-HT_{5B}, porém em humanos o receptor 5-HT_{5B} demonstrou não ser funcional devido à interrupção na síntese protéica por um *códon* de parada, originando uma proteína não funcional (Grailhe, Grabtree e Hen, 2001). O mecanismo de ação do receptor 5-HT_{5A} ainda não é bem compreendido, porém há evidências de que trata-se de um receptor acoplado a proteína G_i e sua ativação tem como consequência a inibição da atividade da adenilil ciclase (Grailhe, Grabtree e Hen, 2001; Thomas et al., 2004). O subtipo 5-HT_{5A} apresenta ampla distribuição cerebral e em maior densidade em áreas como núcleos da *raphé*, córtex cerebral, amígdala, hipotálamo e núcleo supraquiasmático (Oliver et al., 2000). Um estudo farmacológico em cobaia (*guinea pig*) demonstrou a possibilidade da participação do receptor 5-HT_{5A} no processo de retroalimentação negativa do sistema serotoninérgico, funcionando provavelmente como auto-receptor (Thomas et al., 2006). São raros os estudos farmacológicos realizados até o momento para estes receptores, devido à escassa disponibilidade de ligantes seletivos. Com a criação dos animais 5-HT_{5A}^{-/-} foi possível observar uma elevação na atividade locomotora e exploratória, sem alterações em parâmetros relacionados à ansiedade (Grailhe et al., 1999). Este estudo ainda evidenciou a possibilidade de que o receptor 5-HT_{5A} seja um sítio de ação para agentes alucinógenos (Grailhe et al., 1999). Investigações em humanos e animais indicam uma possível participação deste receptor no controle do ritmo circadiano, humor e na patofisiologia da esquizofrenia (Birkett et al., 2000; Gannon, Peglion e Millan, 2009).

Os receptores 5-HT₆, de forma semelhante aos receptores 5-HT₄, são acoplados à proteína G_s, que estimulam a adenilil ciclase, aumentando a concentração intracelular de AMPc (Ruat et al., 1993a). Os receptores 5-HT₆ são distribuídos em maior densidade em regiões do estriado, tubérculo olfatório, núcleo *accumbens* e hipocampo (Ruat et al., 1993a). Estudos farmacológicos em animais indicam possível participação deste receptor no controle do sono, processos cognitivos, depressão e ansiedade (Lieben et al., 2005; Moraarty et al., 2008; Svenningsson et al., 2007; Wesolowska, 2008). Investigações em humanos evidenciaram uma correlação do receptor 5-HT₆ com doença de Alzheimer e transtorno bipolar (Lorke et al., 2006; Vogt et al., 2000).

Os receptores metabotrópicos 5-HT₇, após ativação, aumentam a atividade da adenilil ciclase com consequente acúmulo de AMPc (Ruat et al., 1993b). Estes receptores podem ser encontrados em maior densidade em áreas como córtex, hipocampo, tálamo, hipotálamo e núcleo supraquiasmático (Neumaier et al., 2001). Há evidências de que o receptor 5-HT₇ esteja envolvido no controle de processos fisiológicos, tais como ritmo circadiano, termorregulação, sono e no processo de memória e aprendizagem (Eriksson et al., 2008; Glass et al., 2003; Hedlund et al., 2004; Thomas et al., 2003). Estudos pré-clínicos utilizando técnicas farmacológicas e moleculares indicaram o envolvimento do receptor 5-HT₇ na modulação de transtornos psiquiátricos como ansiedade, depressão e esquizofrenia (Galici et al., 2008; Sarkisyan, Roberts e Hedlund, 2010; Wesolowska et al., 2006).

A enzima de biossíntese da 5-HT é a triptofano hidroxilase (Tph), que atua como passo limitante da reação, promovendo a hidroxilação do triptofano. Esta enzima apresenta duas isoformas, Tph1 e Tph2, codificadas por genes distintos. A proteína Tph2 é detectada exclusivamente no cérebro, enquanto que a Tph1 é encontrada no cérebro e também de forma abundante em tecidos periféricos (Walther e Bader, 2003). Estudos dos transcritos para o gene Tph2 em roedores e em humanos demonstraram que os RNAm do gene Tph2 são expressos de forma predominante nos núcleos da *raphé* e em maior quantidade do que o gene Tph1 (Patel, Pontrello e Burke, 2004; Zill et al., 2007). Estes resultados foram confirmados em camundongos Tph2^{-/-} que apresentaram depleção de 5-HT em neurônios da *raphé*, porém sem alterações morfológicas em fibras neuronais serotoninérgicas (Gutknecht et al., 2008). Adicionalmente, estudo utilizando animais duplo nocaute Tph1^{-/-}/Tph2^{-/-} e animais Tph2^{-/-}, demonstrou que estes animais são viáveis, mesmo com redução acentuada da 5-HT (Savelieva et al., 2008). Surpreendentemente, estes animais apenas apresentaram alterações fisiológicas e comportamentais sutis, sugerindo que a 5-HT talvez não tenha um papel tão crucial na etapa do desenvolvimento animal (Savelieva et al., 2008). Entretanto, estes resultados ainda necessitam de replicações independentes e investigações adicionais.

A depleção da 5-HT, através do processo de inibição irreversível da enzima de síntese Tph2, bloqueia o efeito antidepressivo de inibidores seletivos da recaptura da 5-HT (ISRS) em roedores, demonstrando sua importante participação no mecanismo de ação desta classe de antidepressivos (Page et al., 1999). Polimorfismos no gene que expressa Tph2 em roedores foram relacionados à

redução da concentração de 5-HT no SNC (Zhang et al., 2004). Investigações em humanos encontraram correlações entre variações genéticas no gene da Tph2 com aumento da incidência de casos clínicos de depressão e suicídio (Zill et al., 2004a, 2004b), com o risco de desenvolver quadro de ansiedade/depressão em mulheres em período peri-parto (Lin et al., 2009), bem como com a ocorrência de autismo (Coon et al., 2005).

A proteína transportadora da 5-HT, 5-HTT age como um mecanismo regulador chave na neurotransmissão serotoninérgica, responsável pela recaptura da 5-HT após sua liberação na fenda sináptica, controlando assim sua concentração extra-sináptica. Esta proteína apresenta ampla distribuição no SNC, com exceção do cerebelo, onde é mais escasso (Kish et al., 2005). O tratamento de diversas psicopatologias tem como alvo primário a 5-HTT, muito embora os mecanismos associados a estes efeitos terapêuticos ainda permanecem obscuros e sob intensa investigação.

Animais 5-HTT^{-/-} demonstraram ser viáveis e sem alterações anatomicas (Bengel et al., 1998), porém apresentaram uma elevação na concentração de 5-HT extracelular em áreas como estriado e córtex frontal (Mathews et al., 2004). Estudos comportamentais utilizando este modelo animal relataram aumento da ansiedade, redução da depressão e redução da agressividade. Entretanto, estas alterações comportamentais parecem ser dependentes das linhagens dos camundongos utilizados (Holmes et al., 2003; Holmes, Murphy e Crawley, 2002a; Holmes et al., 2002b). Não surpreendentemente, os animais 5-HTT^{-/-} apresentaram refratariedade ao tratamento com ISRS, mas não com fármacos inibidores da recaptura de 5-HT/NA (Holmes, Murphy e Crawley, 2002a). Polimorfismos encontrados na região promotora deste gene em humanos tem sido amplamente estudados e sugerem uma correlação com fenótipos de medo e ansiedade (Hariri et al., 2002), depressão (Caspi et al., 2003) e aumento da atividade do eixo HPA acompanhado de déficit cognitivo em idosos (O'Hara et al., 2007).

Assim, diante das evidências relacionando o uso do 13-cis-RA com o desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos e dados experimentais e clínicos controversos, estudos adicionais tornam-se necessários. Como a 5-HT possui um papel importante na neuromodulação e na regulação de vários comportamentos observados nestes pacientes, nossa hipótese é que existe uma interação do 13-cis-RA sobre o sistema serotoninérgico *in vivo*.

7 CONCLUSÕES

Os camundongos que receberam administração prolongada do 13-cis-RA apresentaram um perfil comportamental depressivo evidenciado através da análise conjunta do CA, NF e anedonia. Quantificação dos transcritos para os genes relacionados à via serotoninérgica evidenciou reduções em importantes componentes no mesencéfalo, uma área pré-sináptica serotoninérgica, o que poderia acarretar mudanças neuroadaptativas em regiões pós-sinápticas. O córtex pré-frontal apresentou ampla redução dos transcritos, demonstrando ser uma área muito vulnerável ao tratamento com 13-cis-RA. Apesar da possibilidade de um efeito pós-transcricional do 13-cis-RA sobre componentes da neurotransmissão serotoninérgica não ter sido investigada, nossos resultados comportamentais e moleculares em camundongos substanciam a ocorrência de efeitos colaterais psiquiátricos descritos em investigações clínicas, possibilitando o questionamento da segurança do uso deste fármaco distribuído pelo Sistema Único de Saúde (SUS) em nosso país.

REFERÊNCIAS*

Abramowski D, Rigo M, Duc D, Hoyer D, Staufenbiel M. Localization of the 5-hydroxytryptamine 2C receptor protein in human and rat brain using specific antisera. *Neuropharmacology*. 1995;34(12):1635-45.

Adham N, Romanienko P, Hartig P, Weinshank RL, Branchek T. The rat 5-hydroxytryptamine 1B receptor is the species homologue of the human 5-hydroxytryptamine 1D β receptor. *Mol. Pharmacol.* 1992;41:1-7.

Aghajanian GK, Marek GJ. Serotonin and hallucinogens. *Neuropsychopharmacology*. 1999;21(2):16-23.

Aghajanian GK, Rosecrans JA, Sheard MH. Serotonin: release in the forebrain by stimulation of midbrain raphé. *Science*. 1967;156:402-3.

Albert PR, Lemonde S. 5-HT_{1A} receptors, gene repression, and depression: Guilt by association. *Neuroscientist*. 2004;10(6):575-93.

Albert PR, Zhou QY, Van Tol HH, Bunzow JR, Civelli O. Cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of the rat 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene. *J Biol Chem*. 1990;265(10):5825-32.

Alex KD, Yavarian GJ, McFarlane HG, Pluto CP, Pehek EA. Modulation of dopamine release by striatal 5-HT2C receptors. *Synapse*. 2005;55:242-51.

Allen JG, Bloxham DP. The pharmacology and pharmacokinetics of the retinoids. *Pharmacol Ther*. 1989;40(1):1-27.

Allenby G, Bocquel MT, Saunders M, Kazmer S, Speck J, Rosenberger M, Lovey A, Kastner P, Grippo JF, Chambon P, Levin AA. Retinoic acid receptors and retinoid X receptors: interactions with endogenous retinoic acids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(1):30-4.

Ambar G, Chiavegatto S. Anabolic-androgenic steroid induces behavioral disinhibition associated with decreased transcription of serotonin receptors in the prefrontal cortex and amygdala of male mice. *Genes Brain Behav*. 2009;8(2):161-73.

American Psychiatric Association. DSM-IV-TR: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. Washington: Artmed; 2000.

*De acordo com: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

Archer J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim Behav*. 1973;21(2):205-35.

Arias B, Gasto C, Catalán R, Gutiérrez B, Pintor L, Fañanás L. The 5-HT_{2A} receptor gene 102T/C polymorphism is associated with suicidal behavior in depressed patients. *Am J Med Genet*. 2001;105(8):801-4.

Artigas F, Romero L, de Montigny C, Blier P. Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT_{1A} antagonists. *Trends Neurosci*. 1996;19(9):378-83.

Azoulay L, Blais L, Koren G, LeLorier J, Bérard A. Isotretinoin and the risk of depression in patients with acne vulgaris: a case-crossover study. *J Clin Psychiatry*. 2008;69(4):526-32.

Bain G, Ray WJ, Yao M, Gottlieb DI. Retinoic acid promotes neural and represses mesodermal gene expression in mouse embryonic stem cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;223(3):691-4.

Balmer JE, Blomhoff R. Gene expression regulation by retinoic acid. *J Lipid Res*. 2002;43:1773-808. Review.

Balmer JE, Blomhoff R. A robust characterization of retinoic acid response elements based on a comparison of sites in three species. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;96(5):347-54.

Banasr M, Hery M, Printemps R, Daszuta A. Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29(3):450-60.

Barak Y, Wohl Y, Greenberg Y, Bar Dayan Y, Friedman T, Shoval G, Knobler HY. Affective psychosis following Accutane (isotretinoin) treatment. *Int Clin Psychopharmacol*. 2005;20:39-41.

Bastien J, Rochette-Egly C. Nuclear retinoid receptors and the transcription of retinoid-target genes. *Genes*. 2004;328:1-16. Review.

Bengel D, Murphy DL, Andrews AM, Wicheims CH, Feltner D, Heils A, Mossner R, Westphal H, Lesch KP. Altered brain serotonin homeostasis and locomotor insensitivity to 3, 4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") in serotonin transporter-deficient mice. *Mol Pharmacol*. 1998;53(4):649-55.

Bhatnagar S, Sun LM, Raber J, Maren S, Julius D, Dallman MF. Changes in anxiety-related behaviors and hypothalamic–pituitary–adrenal activity in mice lacking the 5-HT_{3A} receptor. *Physiol Behav.* 2004;81(4):545–55.

Bibancos T, Jardim DL, Aneas I, Chiavegatto S. Social isolation and expression of serotonergic neurotransmission-related genes in several brain areas of male mice. *Genes Brain Behav.* 2007;6(6):529-39.

Birkett JT, Arranz MJ, Munro J, Osbourn S, Kerwin RW, Collier DA. Association analysis of the 5-HT_{5A} gene in depression, psychosis and antipsychotic response. *Neuroreport.* 2000;11(9):2017-20.

Blanco JC, Minucci S, Lu J, Yang XJ, Walker KK, Chen H, Evans RM, Nakatani Y, Ozato K. The histone acetylase PCAF is a nuclear receptor coactivator. *Genes Dev.* 1998;12(11):1638-51.

Blier P, Bergeron Richard. Effectiveness of pindolol with selected antidepressant drugs in the treatment of major depression. *J Clin Psychopharmacol.* 1995;15(3):217-22.

Boerman MH, Napoli JL. Cellular retinol-binding protein-supported retinoic acid synthesis. Relative roles of microsomes and cytosol. *J Biol Chem.* 1996;271(10): 5610-16.

Bonnet E, Touyariot K, Alfos S, Pallet V, Higueret P, Abrous DN. Retinoic acid restores adult hippocampal neurogenesis and reverses spatial memory deficit in vitamin A deprived rats. *PLoS One.* 2008;3(10):e3487.

Brasil. Portaria SAS/MS Nº 389. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas. Diário Oficial da União, Brasília (DF) 2001 jul. 21;Sec 1:84.

Brasil. Portaria SAS/MS Nº143. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – Acne grave. Diário Oficial da União, Brasília (DF) 2010 mar. 31.

Bremner JD, Fani N., Ashraf A, Votaw JR., Brummer ME., Cummins T, Vaccarino V, Goodman MM, Reed L, Siddiq S, Nemerooff CB. Functional brain imaging alterations in acne patients treated with isotretinoin. *Am J Psychiatry.* 2005;162:983-91.

Bremner JD, Innis RB, Salomon RM, Staib LH, Ng CK, Miller HL, Bronen RA, Krystal JH, Duncan J, Rich D, Price LH, Malison R, Dey H, Soufer R, Charney DS. Positron emission tomography measurement of cerebral metabolic correlates of tryptophan depletion-induced depressive relapse. *Arch Gen Psychiatry.* 1997;54(4):364-74.

Byrne A, Costello M, Greene E, Zibin T. Isotretinoin therapy and depression – Evidence for an association. *Ir J Psych Med.* 1998;45(2):59-60.

Campbell AD, McBride WJ. Serotonin-3 receptor and ethanol-stimulated dopamine release in the nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995;51(4):835-42.

Carta M, Stancampiano R, Tronci E, Collu M, Lisiello A, Morelli M, Fadda E. Vitamin a deficiency induces motor impairments and striatal cholinergic dysfunction in rats. *Neuroscience.* 2006;139:1163–72.

Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science.* 2003;301(5631):386-9.

Cassel JC, Jeltsch H, Neufang B, Lauth D, Szabo B, Jackisch R. Downregulation of muscarinic and 5-HT_{1B} mediated modulation of [³H]acetylcholine release in hippocampal slices of rats with fimbria-fornix lesions and intra-hippocampal grafts of septal origin. *Brain Res.* 1995;704(2):153-66.

Ceglia I, Acconcia S, Fracasso C, Colovic M, Caccia S, Invernizzi RW. Effects of chronic treatment with escitalopram or citalopram on extracellular 5-HT in the prefrontal cortex of rats: role of 5-HT_{1A} receptors. *Br J Pharmacol.* 2004;142(3):469-78.

Chalmers DT, Watson SJ. Comparative anatomical distribution of 5-HT_{1A} receptor mRNA and 5-HT_{1A} binding in rat brain — a combined in situ hybridisation/in vitro receptor autoradiographic study. *Brain Res.* 1991;561(1):51-60.

Chechik G, Meilijson I, Ruppin E. Neuronal regulation: A mechanism for synaptic pruning during brain maturation. *Neural Comput.* 1999;11(8):2061-80.

Chiavegatto S, Dawson VL, Mamounas LA, Koliatsos VE, Dawson TM, Nelson RJ. Brain serotonin dysfunction accounts for aggression in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(3):1277-81.

Chu LF, Liang DY, Li X, Sahbaie P, D'arcy N, Liao G, Peltz G, David Clark J. From mouse to man: the 5-HT₃ receptor modulates physical dependence on opioid narcotics. *Pharmacogenet Genomics.* 2009;19(3):193-205.

Claeysen S, Sebben M, Journot L. Cloning, expression and pharmacology of the mouse 5-HT4L receptor. *FEBS Lett.* 1996;398:19–25.

Clark JA, Pai LY, Flick RB, Rohrer SP. Differential hormonal regulation of tryptophan hydroxylase-2 mRNA in the murine dorsal raphe nucleus. *Biol Psychiatry*. 2005; 57(8):943-46.

Clarke SB, Nelson AM, George RE, Triboutot DM. Pharmacologic modulation of sebaceous gland activity: Mechanisms and clinical applications. *Dermalogic Clinics*. 2007;25:137-46.

Collin M, Hakansson-Ovesjo ML, Misane I, Ogren SO, Meister B. Decreased 5-HT transporter mRNA in neurons of the dorsal raphe nucleus and behavioral depression in the obese leptin-deficient ob/ob mouse. *Brain Res Mol Brain Res*. 2000;81(1-2): 51-61.

Conductier G, Dusticier N, Lucas G, Côté F, Debonnel G, Daszuta A, Dumuis A, Nieoullon A, Hen R, Bockaert J, Compan V. Adaptive changes in serotonin neurons of the raphe nuclei in 5-HT(4) receptor knock-out mouse. *Eur J Neurosci*. 2006;24(4):1053-62.

Coon H, Dunn D, Lainhart J, Miller J, Hamil C, Battaglia A, Tancredi R, Leppert MF, Weiss R, McMahon W. Possible association between autism and variants in the brain-expressed tryptophan hydroxylase gene (Tph2). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005;135(1):42-6.

Cornea-Hébert V, Riad M, Wu C, Singh SK, Descarries L. Cellular and subcellular distribution of the serotonin 5-HT_{2A} receptor in the central nervous system of adult rat. *J Comp Neurol*. 1999;409(2):187-209.

Costall B, Domeney AM, Kelly ME, Tomkins DM, Naylor RJ, Wong EH, Smith WL, Whiting RL, Eglen RM. The effect of the 5-HT₃ receptor antagonist, RS-42358-197, in animal models of anxiety. *Eur J Pharmacol*. 1993;234(1):91-9.

Crandall J, Sakai Y, Zhang J, Koul O, Mineur Y, Crusio WE, McCaffery P. 13-cis-retinoic acid suppress hippocampal cell division and hippocampal-dependent learning in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:5111-16.

Crowe DL. Retinoic acid mediates post-transcriptional regulation of keratin 19 mRNA levels. *J Cell Sci*. 1993;106(Pt 1):183-88.

Davidson C, Stamford JA. Evidence that 5-hydroxytryptamine release in rat dorsal raphe nucleus is controlled by 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT_{1D} autoreceptors. *Br. J. Pharmacol*. 1995;114:1107-9.

Davies PA, Pistis M, Hanna MC, Peters JA, Lambert JJ, Hales TG, Kirkness EF. The 5-HT_{3B} subunit is a major determinant of serotonin-receptor function. *Nature*. 1999;397:359–63.

De Deurwaerdere P, Navailles S, Berg KA, Clarke WP, Spampinato U. Constitutive activity of the serotonin 2C receptor inhibits in vivo dopamine release in the rat striatum and nucleus accumbens. *J Neurosci*. 2004;24:3235-41.

Derkach V, Surprenant A, North RA. 5-HT₃ receptors are membrane ion channels. *Nature*. 1989;339:706–9.

Detke MJ, Lucki I. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behav Brain Res*. 1996;73(1-2):43-6.

Díez-Ariza M, Ramírez MJ, Lasheras B, Del Rio J. Differential interaction between 5-HT₃ receptors and GABAergic neurons inhibiting acetylcholine release in rat entorhinal cortex slices. *Brain Res*. 1998;801(1-2):228-32.

Dinan TG. Glucocorticoids and the genesis of depressive illness. A psychobiological model. *Br J Psychiatry*. 1994;164(3):365-71.

Dopheide MM, Morgan RE. Isotretinoin (13-cis-retinoic acid) alters learning and memory, but not anxiety-like. *Pharmacol Biochem and Behav*. 2008;91(2): 243-51.

Drevets WC, Thase ME, Moses-Kolko EL, Price J, Frank E, Kupfer DJ, Mathis C. Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review. *Nucl Med Biol*. 2007;34(7):865-77.

Drew CI, O'Reilly KC, Lane MA, Bailey SJ. Chronic administration of 13-cis-retinoic acid does not alter the number of serotonergic neurons in the mouse raphe nuclei. *Neuroscience*. 2010. In Press.

Ellis CN, Krach KJ. Uses and complications of isotretinoin therapy. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45:150-7.

Eriksson P, Perfileva E, Bjork-Eriksson T, Alborn A, Nordborg C, Peterson D, Gage F. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Med*. 1998;4:1313-17.

Eriksson TM, Golkar A, Ekström JC, Svenningsson P, Ogren SO. 5-HT₇ receptor stimulation by 8-OH-DPAT counteracts the impairing effect of 5-HT(1A) receptor stimulation on contextual learning in mice. *Eur J Pharmacol*. 2008;596(1-3):107-10.

Ferguson SA, Cisneros FJ, Gough B, Hanig J, Berry K. Chronic oral treatment with 13-cis-retinoic acid (isotretinoin) or all-trans-retinoic acid does not alter depression-like behaviors in rats. *Toxicological Sciences*. 2005;87(2):451-9.

Fraichard A, Chassande O, Bilbaut G, Dehay C, Savatier P, Samarut J. In vitro differentiation of embryonic stem cells into glial cells and functional neurons. *J Cell Sci*. 1995; 108(Pt 10):3181-88.

Freeman AM, Westphal JR, Norris GT, Roggero BA, Webb PB, Freeman KL, Rush JA, Hearne EM III, Evoniuk G. Efficacy of ondansetron in the treatment of generalized anxiety disorder. *Depress Anxiety*. 1997;5(3):140-1.

Frenois F, Moreau M, O'Connor J, Lawson M, Micon C, Lestage J, Kelley KW, Dantzer R, Castanon N. Lipopolysaccharide induces delayed FosB/DeltaFosB immunostaining within the mouse extended amygdala, hippocampus and hypothalamus, that parallel the expression of depressive-like behavior. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32(5):516-31.

Friedman T, Wohl Y, Knobler HY, Lubin G, Brenner S, Levi Y, Barak Y. Increased use of mental health services related to isotretinoin treatment: A 5-year analysis. *Neropsychopharmacology*. 2006;16:413-6.

Galici R, Boggs JD, Miller KL, Bonaventure P, Atack JR. Effects of SB-269970, a 5-HT₇ receptor antagonist, in mouse models predictive of antipsychotic-like activity. *Behav Pharmacol*. 2008;19(2):153-9.

Gannon RL, Peglion JL, Millan MJ. Differential influence of selective 5-HT_{5A} vs 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, or 5-HT_{2C} receptor blockade upon light-induced phase shifts in circadian activity rhythms: interaction studies with citalopram. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2009;19(12):887-97.

Gill CH, Soffin EM, Hagan JJ, Davies CH. 5-HT₇ receptors modulate synchronized network activity in rat hippocampus. *Neuropharmacology*. 2002;42:82-92.

Gimpl G, Fahrenholz F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev*. 2001;81(2):629-83.

Glass JD, Grossman GH, Farnbauch L, DiNardo L. Midbrain raphe modulation of nonphotic circadian clock resetting and 5-HT release in the mammalian suprachiasmatic nucleus. *J Neurosci*. 2003;23(20):7451-60.

Goodman DS, Blomstrand R, Werner B, Huang HS, Shiratori T. The intestinal absorption and metabolism of vitamin A and beta-carotene in man. *J Clin Invest.* 1966;45(10):1615–23.

Graeff FG, Guimarães FS, De Andrade TG, Deakin JF. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996;54(1):129-41.

Grailhe R, Grabtree GW, Hen, R. Human 5-HT₅ receptors: the 5-HT_{5A} receptor is functional but the 5-HT_{5B} receptor was lost during mammalian evolution. *Eur J Pharmacol.* 2001;418:157–67.

Grailhe R, Waeber C, Dulawa SC, Hornung JP, Zhuang X, Brunner D, Geyer MA, Hen R. Increased exploratory activity and altered response to LSD in mice lacking the 5-HT(5A) receptor. *Neuron.* 1999;22(3):581-91.

Griffin JN, Pinali D, Olds K, Lu N, Appleby L, Doan L, Lane MA. 13-cis-retinoic acid decreases hypothalamic cell number in vitro. *Neurosci Res.* 2010;68(3):185-90.

Gupta MA, Gupta AK. Depression and suicidal ideation in dermatology patients with acne, alopecia areata, atopic dermatitis and psoriasis. *Br J Dermatol.* 1998;139(5):846-50.

Gutknecht L, Waider J, Kraft S, Kriegerbaum C, Holtmann B, Reif A, Schmitt A, Lesch K. Deficiency of brain 5-HT synthesis but serotonergic neuron formation in Tph2 knockout mice. *J Neural Transm.* 2008;115(8):1127-32.

Hariri AR, Mattay VS, Tessitore A, Kolachana B, Fera F, Goldman D, Egan MF, Weinberger DR. Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science.* 2002;297(5580):400-3.

Hedlund PB, Kelly L, Mazur C, Lovenberg T, Sutcliffe JG, Bonaventure P. 8-OH-DPAT acts on both 5-HT1A and 5-HT7 receptors to induce hypothermia in rodents. *Eur J Pharmacol.* 2004;487(1-3):125-32.

Heisler LK, Chu HM, Brennan TJ, Danao JA, Bajwa P, Parsons LH, Tecott LH. Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(25):15049-54.

Heisler LK, Pronchuk N, Nonogaki K, Zhou L, Raber J, Tung L, Yeo GS, O'Rahilly S, Colmers WF, Elmquist JK, Tecott LH. Serotonin activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis via serotonin 2C receptor stimulation. *J Neurosci.* 2007b;27:6956-64.

Heisler LK, Zhou L, Bajwa P, Hsu J, Tecott LH. Serotonin 5-HT(2C) receptors regulate anxiety-like behavior. *Genes Brain Behav.* 2007a;6:491-6.

Hemrick-Luecke SK, Evans DC. Comparison of the potency of MDL 100,907 and SB 242084 in blocking the serotonin (5-HT)(2) receptor agonist-induced increases in rat serum corticosterone concentrations: evidence for 5-HT(2A) receptor mediation of the HPA axis. *Neuropharmacology.* 2002;42(2):162-9.

Holmes A, Li Q, Murphy DL, Gold E, Crawley JN. Abnormal anxiety-related behavior in serotonin transporter null mutant mice: the influence of genetic background. *Genes Brain Behav.* 2003;2(6):365-80.

Holmes A, Murphy DL, Crawley JN. Reduced aggression in mice lacking the serotonin transporter. *Psychopharmacology (Berl).* 2002a;161(2):160-167.

Holmes A, Yang RJ, Murphy DL, Crawley JN. Evaluation of antidepressant-related behavioral responses in mice lacking the serotonin transporter. *Neuropsychopharmacology.* 2002b;27(6):914-23.

Holmes A. Genetic variation in cortico-amygdala serotonin function and risk for stress-related disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(7):1293-314.

Hommel L, Geiger JM, Harms M, Saurat JH. Sebum excretion rate in subjects treated with oral all-*trans*-retinoic acid. *Dermatology.* 1996;193(2):127-30.

Hoplight BJ, Sandygren NA, Neumaier JF. Increased expression of 5-HT_{1B} receptors in rat nucleus accumbens via virally mediated gene transfer increases voluntary alcohol consumption. *Alcohol.* 2006;38(2):73-9.

Horn V, Minucci S, Ogryzko VV, Adamson ED, Howard BH, Levin AA, Ozato K. RAR and RXR selective ligands cooperatively induce apoptosis and neuronal differentiation in P19 embryonal carcinoma cells. *FASEB J.* 1996;10(9):1071-7.

Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002;71(4):533-54.

Ishikawa J, Sutoh C, Ishikawa A, Kagechika H, Hirano H, Nakamura S. 13-cis-retinoic acid alters the cellular morphology of slice-cultured serotonergic neurons in the rat. *Eur J Neurosci.* 2008;27(9):2363-72.

Jean A, Conductier G, Manrique C, Bouras C, Berta P, Hen R, Charnay Y, Bockaert J, Compan V. Anorexia induced by activation of serotonin 5-HT₄ receptors is mediated by increases in CART in the nucleus accumbens. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(41):16335-40.

Jick SS, Kremers HM, Vasilakis-Scaramozza C. Isotretinoin use and risk of depression, psychotic symptoms, suicide and attempted suicide. Arch Dermatol. 2000;136:1231-36.

Joensuu M, Tolmunen T, Saarinen PL, Tiihonen J, Kuikka J, Ahola P, Vanninen R, Lehtonen J. Reduced midbrain serotonin transporter availability in drug-naïve patients with depression measured by SERT-specific [¹²³I] nor-β-CIT SPECT imaging. Psychiatry Research: Neuroimaging. 2007;154(2):125-31.

Johnson SW, Mercuri NB, North RA. 5-hydroxytryptamine 1B receptors block the GABA_B synaptic potential in rat dopamine neurons. J Neurosci. 1992;12: 2000-6.

Jørgensen, H. Studies on the neuroendocrine role of serotonin. Dan Med Bull. 2007;54(4):266-88.

Kaba SE, Langford LA, Yung WK, Kyritsis AP. Resolution of recurrent malignant ganglioglioma after treatment with *cis*-retinoic acid. J Neurooncol. 1996;30(1):55-60.

Karlsson T, Vahlquist A, Kedishvili N, Törmä H. 13-*cis*-retinoic acid competitively inhibits 3 alpha-hydroxysteroid oxidation by retinol dehydrogenase RoDH-4: a mechanism for its anti-androgenic effects in sebaceous glands? Biochem Biophys Res Commun. 2003;303(1):273-8.

Keedwell PA, Andrew C, Williams SC, Brammer MJ, Phillips ML. The neural correlates of anhedonia in major depressive disorder. Biol Psychiatry. 2005;58(11):843-53.

Kelley SP, Bratt AM, Hodge CW. Targeted gene deletion of the 5-HT_{3A} receptor subunit produces an anxiolytic phenotype in mice. Eur J Pharmacol. 2003;461(1):19-25.

Kennedy SH, Evans KR, Krüger S, Mayberg HS, Meyer JH, McCann S, Arifuzzman AI, Houle S, Vaccarino FJ. Changes in regional brain glucose metabolism measured with positron emission tomography after paroxetine treatment of major depression. Am J Psychiatry. 2001;158:899-905.

Kim M, Habiba A, Doherty JM, Mills JC, Mercer RW, Huettner JE. Regulation of mouse embryonic stem cell neural differentiation by retinoic acid. *Dev Biol.* 2009;328(2):456-71.

Kish SJ, Furukawa Y, Chang L, Tong J, Ginovart N, Wilson A, Houle S, Meyer JH. Regional distribution of serotonin transporter protein in postmortem human brain. Is the cerebellum a SERT-free brain region? *Nucl Med Biol.* 2005;32(2):123-8.

Koed K, Linnet K. Opposing changes in serotonin and norepinephrine transporter mRNA levels after serotonin depletion. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2000;10(6):501-9.

Koo J. The psychosocial impact of acne: patients' perceptions. *J Am Acad Dermatol.* 1995;32:26-30.

Koo JW, Duman RS. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(2):751-6.

Krezel W, Ghyselinck N, Samad TA, Dupé V, Kastner P, Borrelli E, Chambon P. Impaired locomotion and dopamine signaling in retinoid receptor mutant mice. *Science.* 1998;279(5352):863-7.

Krezel W, Kastner P, Chambon P. Differential expression of retinoid receptors in the adult mouse central nervous system. *Neuroscience.* 1999;89(4):1291-300.

Lacerda AL, Keshavan MS, Hardan AY, Yorbik O, Brambilla P, Sassi RB, Nicoletti M, Mallinger AG, Frank E, Kupfer DJ, Soares JC. Anatomic evaluation of the orbitofrontal cortex in major depressive disorder. *Biol Psychiatry.* 2004;55(4):353-8.

Lammer EJ, Chen DT, Hoar RM, Agnish ND, Benke PJ, Braun JT, Curry CJ, Fernhoff PM, Grix AW Jr, Lott IT, Richard JM, Sun SC. Retinoic acid embryopathy. *N Engl J Med.* 1985;313(14):837-41.

Lane MA, Bailey SJ. Role of retinoid signaling in the adult brain. *Prog Neurobiol.* 2005;72:275-93.

Laporte AM, Lima L, Gozlan H, Hamon M. Selective in vivo labelling of brain 5-HT_{1A} receptors by [³H]WAY 100635 in the mouse. *Eur J Pharmacol.* 1994;271(2-3):505-14.

Lappalainen J, Long JC, Eggert M, Ozaki N, Robin RW, Brown GL, Naukkarinen H, Virkkunen M, Linnoila M, Goldman D. Linkage of antisocial alcoholism to the

serotonin 5-HT_{1B} receptor gene in 2 populations. *Arch Gen Psychiatry.* 1998;55(11):989-94.

Lee JH, Kim HJ, Kim JG, Ryu V, Kim BT, Kang DW, Jahng JW. Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. *Neurosci Res.* 2007;58(1):32-9.

Leeb K, Parker L, Eikelboom R. Effects of pimozide on the hedonic properties of sucrose: analysis by the taste reactivity test. *Pharmacol Biochem Behav.* 1991;39:895-901.

Leid M, Kastner P, Chambon P. Multiplicity generates diversity in the retinoic acid signalling pathways. *Trends Biochem Sci.* 1992;17(10):427-33.

Li E, Qian SJ, Winter NS, d'Avignon A, Levin MS, Gordon JI. Fluorine nuclear magnetic resonance analysis of the ligand binding properties of two homologous rat cellular retinol-binding proteins expressed in Escherichia coli. *J Biol Chem.* 1991;266(6):3622-9.

Lieben CK, Blokland A, Sik A, Sung E, Van Nieuwenhuizen P, Schreiber R. The selective 5-HT₆ receptor antagonist Ro4368554 restores memory performance in cholinergic and serotonergic models of memory deficiency in the rat. *Neuropsychopharmacology.* 2005;30(12):2169-79.

Lin YJ, Ko H, Chang F, Yeh T, Sun S. Population-specific functional variant of the Tph2 gene 2755C>A polymorphism contributes risk association to major depression and anxiety in Chinese peripartum women. *Arch Womens Ment Health.* 2009;12(6):401-8.

Linnet K, Koed K, Wiborg O and Gregersen N. Serotonin depletion decreases serotonin transporter mRNA levels in rat brain. *Brain Res.* 1995;697(1-2):251-3.

Lira A, Zhou M, Castanon N, Ansorge MS, Gordon JA, Francis JH, Bradley-Moore M, Lira J, Underwood MD, Arango V, Kung HF, Hofer MA, Hen R, Gingrich JA. Altered depression-related behaviors and functional changes in the dorsal raphe nucleus of serotonin transporter-deficient mice. *Biol Psychiatry.* 2003;54(10):960-71.

Lister RG. The use of a plus maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology.* 1987;92(2):180-5.

Liu R, Jolas T, Aghajanian G. Serotonin 5-HT(2) receptors activate local GABA inhibitory inputs to serotonergic neurons of the dorsal raphe nucleus. *Brain Res.* 2000;873(1):34-45.

Liu Y, Kagechika H, Ishikawa J, Hirano H, Matsukuma S, Tanaka K, Nakamura S. Effects of retinoic acids on the dendritic morphology of cultured hippocampal neurons. *J Neurochem.* 2008;106(3):1104-16.

Lorke DE, Lu G, Cho E, Yew DT. Serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT₆ receptors in the prefrontal cortex of Alzheimer and normal aging patients. *BioMed Central Neurosci.* 2006;7:36-44.

Lucki I, Dalvi A, Mayorga AJ. Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. *Psychopharmacology* 2001;155(3):315-322.

Lyer RN, Bradberry CW. Serotonin-mediated increase in prefrontal cortex dopamine release: pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996;277(1):40-7.

Maden M, Gale E, Kostetskii I, Zile M. Vitamin A-deficient quail embryos have half a hindbrain and other neural defects. *Curr Biol.* 1996;6:417-26.

Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosc.* 2000;20(24):9104-10.

Malison RT, Price LH, Berman R, van Dyck CH, Pelton GH, Carpenter L, Sanacora G, Owens MJ, Nemeroff CB, Rajeevan N, Baldwin RM, Seibyl JP, Innis RB, Charney DS. Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [123I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl)tropane and single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry.* 1998;44(11):1090-98.

Marlétaz F, Holland LZ, Laudet V, Schubert M. Retinoic acid signaling and the evolution of chordates. *Int J Biol Sci.* 2006;2(2):38-47.

Mathews TA, Fedele DE, Coppelli FM, Avila AM, Murphy DL, Andrews AM. Gene dose-dependent alterations in extraneuronal serotonin but not dopamine in mice with reduced serotonin transporter expression. *J Neurosci Methods.* 2004;140(1-2):169-81.

Mazer C, Muneyyirci J, Taheny K, Raio N, Borella A, Whitaker-Azmitia P. Serotonin depletion during synaptogenesis leads to decreased synaptic density and learning deficits in the adult rat: a possible model of neurodevelopmental disorders with cognitive deficits. *Brain Res.* 1997;760(1-2):68-73.

McCance-Katz EF, Price LH. Depression associated with vitamin A intoxication (letter). *Psychosomatics.* 1992;33:117-8.

Miczek KA, Faccidomo S, De Almeida RM, Bannai M, Fish EW, Debold JF. Escalated aggressive behavior: new pharmacotherapeutic approaches and opportunities. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1036:336-55.

Miczek KA, Fish EW, De Bold JF, Almeida RMM. Social and neural determinants of aggressive behavior: pharmacotherapeutic targets at serotonin, dopamine and γ -aminobutyric acid systems. *Psychopharmacology.* 2002;163(3-4):434-58.

Mikkelsen JD, Hay-Schmidt A, Kiss A. Serotonergic Stimulation of the Rat Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis: Interaction between 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} Receptors. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1018:65-70.

Ministério da Saúde. Em busca de uma pele sem marcas. Portal da Saúde. Disponível em: <http://portalsaude.gov.br/portal/saude>. [2010 mar. 11].

Minucci S, Leid M, Toyama R, Saint-Jeannet JP, Peterson VJ, Horn V, Ishmael JE, Bhattacharyya N, Dey A, Dawid IB, Ozato K. Retinoid X receptor (RXR) within the RXR-retinoic acid receptor heterodimer binds its ligand and enhances retinoid-dependent gene expression. *Mol Cell Biol.* 1997;17(2):644-55.

Misner DL, Jacobs S, Shimizu Y, de Urquiza AM, Solomin L, Perlmann T, De Luca LM, Stevens CF, Evans RM. Vitamin A deprivation results in reversible loss of hippocampal long-term synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(20):11714-9.

Morairty SR, Hedley L, Flores J, Martin R, Kilduff TS. Selective 5HT_{2A} and 5HT₆ receptor antagonists promote sleep in rats. *Sleep.* 2008;31(1):34-44.

Morley-Fletcher S, Darnaudéry M, Mocaer E, Froger N, Lanfumey L, Laviola G, Casolini P, Zuena AR, Marzano L, Hamon M, Maccari S. Chronic treatment with imipramine reverses immobility behaviour, hippocampal corticosteroid receptors and cortical 5-HT(1A) receptor mRNA in prenatally stressed rats. *Neuropharmacology.* 2004;47(6):841-7.

Motomura K, Ohata M, Satre M, Tsukamoto H. Destabilization of TNF-alpha mRNA by retinoic acid in hepatic macrophages: implications for alcoholic liver disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(3):E420-E9.

Motzer RJ, Schwartz L, Law TM, Murphy BA, Hoffman AD, Albino AP, Vlamis V, Nanus DM. Interferon alfa-2a and 13-cis-retinoic acid in renal cell carcinoma: antitumor activity in a phase II trial and interactions in vitro. *J Clin Oncol.* 1995;13(8):1950-7.

Myrick H, Anton RF, Li X, Henderson S, Randall PK, Voronin K. Effect of naltrexone and ondansetron on alcohol cue-induced activation of the ventral striatum in alcohol-dependent people. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(4):466-75.

Nakagawa Y, Ishima T, Takashima T. The 5-HT₃ receptor agonist attenuates the action of antidepressants in the forced swim test in rats. *Brain Res*. 1998;786:189-93.

Nelson AM, Gilliland KL, Cong Z, Thiboutot DM. 13-cis-retinoic acid induces apoptosis and cell cycle arrest in human SEB-1 sebocytes. *J Invest Dermatol*. 2006;126(10):2178-89.

Nelson AM, Zhao W, Gilliland KL, Zaenglein AL, Liu W, Thiboutot DM. Early gene changes induced by isotretinoin in the skin provide clues to its mechanism of action. *Dermatoendocrinol*. 2009;1(2):100-1.

Nelson RJ, Chiavegatto S. Molecular basis of aggression. *Trends Neurosci*. 2001;24(12):713-9. Review.

Neumaier JF, Sexton TJ, Yracheta J, Diaz AM, Brownfield M. Localization of 5-HT(7) receptors in rat brain by immunocytochemistry, *in situ* hybridization, and agonist stimulated cFos expression. *J Chem Neuroanat*. 2001;21(1):63-73.

Norris AW, Cheng L, Giguère V, Rosenberger M, Li E. Measurement of subnanomolar retinoic acid binding affinities for cellular retinoic acid binding proteins by fluorometric titration. *Biochim Biophys Acta*. 1994;1209(1):10-18.

O'Hara R, Schröder CM, Mahadevan R, Schatzberg AF, Lindley S, Fox S, Weiner M, Kraemer HC, Noda A, Lin X, Gray HL, Hallmayer JF. Serotonin transporter polymorphism, memory, and hippocampal volume in the elderly: association and interaction with cortisol. *Mol Psychiatry*. 2007;12(6):544-55.

O'Reilly K, Bailey SJ, Lane MA. Minireview: Retinoid-mediated regulation of mood: possible cellular mechanisms. *Exp Biol Med*. 2008;233:251-8.

O'Reilly KC, Shumake J, Bailey SJ, Gonzalez-Lima F, Lane MA. Chronic 13-cis-retinoic acid administration disrupts network interactions between the raphe nuclei and the hippocampal system in young adult mice. *Eur J Pharmacol*. 2009;605:68-77.

O'Reilly KC, Shumake J, Gonzales-Lima F, Lane MA, Bailey SJ. Chronic administration of 13-cis-retinoic acid increases depression-related behavior in mice. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31:1919-27.

O'Reilly KC, Trent S, Bailey SJ, Lane MA. 13-cis-retinoic acid alters intracellular serotonin, increases 5-HT_{1A} receptor and serotonin reuptake transporter levels in vitro. *Exp Biol Med.* 2007;232:1195-203.

Oliveira MR, Silvestrin RB, Souza DM, Moreira JCF. Therapeutic vitamin A doses increase the levels of markers of oxidative insult in substantia nigra and decrease locomotory and exploratory activity in rats after acute and chronic supplementation. *Neurochem Res.* 2008;33(3):378-83.

Oliver KR, Kinsey AM, Wainwright A, Sirinathsinghji DJS. Localization of 5-HT_{5A} receptor-like immunoreactivity in the rat brain. *Brain Res.* 2000;867:131-42.

Olivier B, Soudijn W, Van Wijngaarden I. The 5-HT_{1A} receptor and its ligands: structure and function. *Prog Drug Res.* 1999;52:103-65.

Osei-Owusu P, James A, Crane J, Scroggin KE. 5-Hydroxytryptamine 1A receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus mediate oxytocin and adrenocorticotropin hormone release and some behavioral components of the serotonin syndrome. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005;313(3):1324-30.

Overstreet DH, Friedman E, Mathe AA, Yadid G. The Flinders Sensitive Line rat: a selectively bred putative animal model of depression. *Neurosci Biobehav.* 2005;29(4-5):739-59. Review.

Page ME, Detke MJ, Dalvi A, Kirby LG, Lucki I. Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology.* 1999;147(2):162-7.

Pang TYC, Zajac MS, Howard ML, Hannan AJ. Altered serotonin receptor expression is associated with depression-related behavior in the R6/1 transgenic mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet.* 2009;18(4):753-66.

Parker KJ, Kenna HA, Zeitzer JM, Keller J, Blasey CM, Amico JA, Schatzberg AF. Preliminary evidence that plasma oxytocin levels are elevated in major depression. *Psychiatry Res.* 2010;178(2):359-62.

Parker RM, Barnes JM, Ge J, Barber PC, Barnes NM. Autoradiographic distribution of [³H]-S-zacopride-labelled 5-HT₃ receptors in human brain. *J Neurol Sci.* 1996;144(1-2):119-27.

Parker RMC, Bentley KR, Barnes NM. Allosteric modulation of 5-HT₃ receptor: focus on alcohols and anaesthetic agents. *Trends Pharmacol Sci.* 1996;17:95-8.

Parks CL, Robinson PS, Sibille E, Shenk T, Toth M. Increased anxiety of mice lacking the serotonin1A receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(18):10734-9.

Patel P, Hanning RM, Atkinson SA, Dent PB, Dolovich J. Intoxication from vitamin A in an asthmatic child. *CMAJ*. 1988 Oct 15;139(8):755-6.

Patel PD, Pontrello C, Burke S. Robust and tissue-specific expression of Tph2 versus Tph1 in rat raphe and pineal gland. *Biol Psychiatry*. 2004;55(4):428-33.

Pehek EA, Nocjar C, Roth BL, Byrd TA, Mabrouk OS. Evidence for the preferential involvement of 5-HT_{2A} serotonin receptors in stress- and drug-induced dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31(2):265-77.

Pentkowski NS, Acosta JI, Browning JR, Hamilton EC, Neisewander JL. Stimulation of 5-HT(1B) receptors enhances cocaine reinforcement yet reduces cocaine-seeking behavior. *Addict Biol*. 2009;14(4):419-30.

Phan TQ, Jow MM, Privalsky ML. DNA recognition by thyroid hormone and retinoic acid receptors: 3,4,5 rule modified. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;319(1-2):88-98.

Picazo O, López-Rubalcava C, Fernández-Guasti A. Anxiolytic effect of the 5-HT_{1A} compounds 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin and ipsapirone in the social interaction paradigm: evidence of a presynaptic action. *Brain Res Bull*. 1995;37(2):169-75.

Pike VW, McCarron JA, Lammerstma AA, Hume SP, Poole K, Grasby PM, Malizia A, Cliffe IA, Fletcher A, Bench CJ. First delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and [11C]WAY-100635. *Eur J Pharmacol*. 1995;283(1-3):R1-3.

Pistovcakova J, Makatsori A, Sulcova A, Jezova D. Felbamate reduces hormone release and locomotor hypoactivity induced by repeated stress of social defeat in mice. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2005;15(2):153-8.

Pizzagalli DA, Iosifescu D, Hallett LA, Ratner KG, Fava M. Reduced hedonic capacity in major depressive disorder: evidence from a probabilistic reward task. *J Psychiatr Res*. 2008;43(1):76-87.

Plewig G, Dressel H, Pfleger M, Michelsen S, Kligman AM. Low dose isotretinoin combined with tretinoin is effective to correct abnormalities of acne. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2004;2(1):31-45.

Porras G, De Deurwaerdere P, Moison D, Spampinato U. Conditional involvement of striatal serotonin 3 receptors in the control of *in vivo* dopamine outflow in the rat striatum. Eur J Neurosci. 2003;17:771-81.

Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatment. Eur J Pharmacol. 1978;47(4):379-91.

Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressant. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1977a;229(2):327-36.

Porsolt RD, Le Pichon M and Jalfre M. Depression: A new model sensitive to antidepressant treatments. Nature. 1977b; 266(5604):730-2.

Pothion S, Bizot JC, Trovero F, Belzung C. Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. Behav Brain Res. 2004;155(1):135-46.

Pritchett, D.B., Bach, A.W.J., Wozny, M., Taleb O, Dal Toso R, Shih JC, Seeburg PH. Structure and functional expression of a cloned rat serotonin 5-HT-2 receptor. EMBO J. 1988;7(13):4135-40.

Purba JS, Hoogendoijk WJ, Hofman MA, Swaab DF. Increased number of vasopressin- and oxytocin-expressing neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in depression. Arch Gen Psychiatry. 1996;53(2):137-43.

Ramalho RA, Flores H, Saunders C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. Rev Panam Salud Publica. 2002;12(2):117-22.

Redondo C, Vouropoulou M, Evans J, Findlay JB. Identification of the retinol-binding protein (RBP) interaction site and functional state of RBPs for the membrane receptor. FASEB J. 2008;22(4):1043-54.

Rehn LM, Meririnne E, Höök-Nikanne J, Isometsä E, Henriksson M. Depressive symptoms and suicidal ideation during isotretinoin treatment: a 12-week follow-up study of male Finnish military conscripts. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2009;23(11):1294-7.

Riad M, Garcia S, Watkins KC, Jodoin N, Doucet E, Langlois X, El Mestikawy S, Hamon M, Descarries L. Somatodendritic localization of 5-HT_{1A} and preterminal axonal localization of 5-HT_{1B} serotonin receptors in adult rat brain. J Comp Neurol. 2000;417(2):181-94.

Richard S, Zingg HH. Identification of retinoic acid response element in the human oxytocin promoter. *J Biol Chem.* 1991;266(32):21428-33.

Roberts AJ, Krucker T, Levy CL, Slanina KA, Sutcliffe JG, Hedlund PB. Mice lacking 5-HT₇ receptors show specific impairments in contextual learning. *Eur J Neurosci.* 2004;19(7):1913-22.

Rolls ET, Hornak J, Wade D, McGrath J. Emotion-related learning in patients with social and emotional changes associated with frontal lobe damage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1994;57(12):1518-24.

Ruat M, Traiffort E, Arrang JM, Tardivel-Lacombe J, Diaz J, Leurs R, Schwartz JC. A novel rat serotonin (5-HT₆) receptor: molecular cloning, localization and stimulation of cAMP accumulation. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993a;193(1):268-76.

Ruat M, Traiffort E, Leurs R, Tardivel-Lacombe J, Diaz J, Arrang JM, Schwartz JC. Molecular cloning, characterization, and localization of a high-affinity serotonin receptor (5-HT₇) activating cAMP formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993b;90(18):8547-51.

Ruiz A, Winston A, Lim YH, Gilbert BA, Rando RR, Bok D. Molecular and biochemical characterization of lecithin retinol acyltransferase. *J Biol Chem.* 1999;274(6):3834-41.

Sarkisyan G, Roberts AJ, Hedlund PB. The 5-HT₇ receptor as a mediator and modulator of antidepressant-like behavior. *Behav Brain Res.* 2010. In press.

Savelieva KV, Zhao S, Pogorelov VM, Rajan I, Yang Q, Cullinan E, Lanthorn TH. Genetic Disruption of Both Tryptophan Hydroxylase Genes Dramatically Reduces Serotonin and Affects Behavior in Models Sensitive to Antidepressants. *PLoS ONE.* 2008;3(10):e3301.

Schneier FR, Garfinkel R, Kennedy B, Campeas R, Fallon B, Marshall R, O'Donnell L, Hogan T, Liebowitz MR. Ondansetron in the treatment of panic disorder. *Anxiety.* 1996;2(4):199-202.

Scruggs JL, Patel S, Bubser M, Deutch AY. DOI-Induced activation of the cortex: dependence on 5-HT_{2A} heteroceptors on thalamocortical glutamatergic neurons. *J Neurosci.* 2000;20:8846-52.

Shimizu M, Nishida A, Zensho H, Miyata M, Yamawaki S. Down-regulation of 5-hydroxytryptamine 7 receptors by dexamethasone in rat frontocortical astrocytes. *J Neurochem.* 1997;68(6):2604-9.

Shimizu M, Nishida A, Zensho H, Yamawaki S. Chronic antidepressant exposure enhances 5-hydroxytryptamine 7 receptor-mediated cyclic adenosine monophosphate accumulation in rat frontocortical astrocytes. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996;279(3):1551-8.

Singleton JL, Skinner MK, Ong DE. Characteristics of retinol accumulation from serum retinol-binding protein by cultured Sertoli cells. *Biochemistry.* 1989;28(25):9641-7.

Shishkina GT, Kalinina TS, Dygalo NN. Up-regulation of tryptophan hydroxylase-2 mRNA in the rat brain by chronic fluoxetine treatment correlates with its antidepressant effect. *Neuroscience.* 2007;150(2):404-12.

Sinclair W, Jordaan HF. Global Alliance to Improve Outcomes in Acne; Acne guideline 2005 update. *S Afr Med J.* 2005;95(11 Pt 2):881-92.

Sprouse JS, Aghajanian GK. Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. *Synapse.* 1987;1:3-9.

Stadler WM, Kuzel T, Dumas M, Vogelzang NJ. Multicenter phase II trial of interleukin-2, interferon-alpha, and 13-cis-retinoic acid in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 1998;16(5):1820-1825.

Strauss JS, Rapini RP, Shalita AR, Konecky E, Pochi PE, Comite H, Exner JH. Isotretinoin therapy for acne: results of a multicenter dose-response study. *J Am Acad Dermatol.* 1984;10(3):490-6.

Strelakova T, Gorenkova N, Schunk E, Dolgov O, Bartsch D. Selective effects of citalopram in a mouse model of stress-induced anhedonia with a control for chronic stress. *Behav Pharmacol.* 2006;17(3):271-87.

Sutcugil L, Oktenli C, MEUAbak U, Bozkurt A, Cansever A, Uzun O, Sanisoglu SY, Yesilova Z, Ozmenler N, Ozsahin A, Sengul A. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in major depression: effect of sertraline therapy. *Clin Dev Immunol.* 2007;2007:76396.

Svenningsson P, Tzavara ET, Qi H, Carruthers R, Witkin JM, Nomikos GG, Greengard P. Biochemical and behavioral evidence for antidepressant-like effects of 5-HT₆ receptor stimulation. *J Neurosci.* 2007;27(15):4201-9.

Tamburella A, Micale V, Navarria A, Drago F. Antidepressant properties of 5-HT₄ receptor partial agonist, SL65.0155: Behavioral and Neurochemical studies in rats. *Prog in Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009;33(7):1205-10.

Tecott LH, Sun LM, Akana SF, Strack AM, Lowenstein DH, Dallman MF, Julius D. Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2C} serotonin receptors. *Nature*. 1995;374(6522):542-6.

Teneback CC, Nahas Z, Speer AM, Molloy M, Stallings LE, Spicer KM, Risch SC, George MS. Changes in prefrontal cortex and paralimbic activity in depression following two weeks of daily left prefrontal TMS. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 1999;11(4):426-35.

Theodosiou M, Laudet V, Schubert M. From carrot to clinic: an overview of the retinoic acid signaling pathway. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67(9):1423-45.

Thomas DR, Larminie CG, Lyons HR, Fosberry A, Hill MJ, Hayes PD. Cloning and pharmacological characterisation of the guinea pig 5-HT_{5A} receptor. *Eur J Pharmacol*. 2004;494:91-9.

Thomas DR, Melotto S, Massagrande M, Gribble AD, Jeffrey P, Stevens AJ, Deeks NJ, Eddershaw PJ, Fenwick SH, Riley G, Stean T, Scott CM, Hill MJ, Middlemiss DN, Hagan JJ, Price GW, Forbes IT. SB-656104-A, a novel selective 5-HT₇ receptor antagonist, modulates REM sleep in rats. *Br J Pharmacol*. 2003;139(4):705-14.

Thomas DR, Soffin EM, Roberts C, Kew JN, de la Flor RM, Dawson LA, Fry VA, Coggon SA, Faedo S, Hayes PD, Corbett DF, Davies CH, Hagan JJ. SB-699551-A(3-cyclopentyl-N-[2-(dimethylamino)ethyl]-N-[(4'-{[(2-phenylethyl)amino]methyl}-4-biphenylyl)methyl] propanamide dihydrochloride), a novel 5-HT_{5A} receptor-selective antagonist, enhances 5-HT neuronal function: Evidence for an autoreceptor role for the 5-HT_{5A} receptor in guinea pig brain. *Neuropharmacology*. 2006;51(3):566-77.

Torres-Escalante JL, Barral JA, Ibarra-Villa MD, Pérez-Burgos A, Góngora-Alfaro JL, Pineda JC. 5-HT_{1A}, 5-HT₂, and GABA_B receptors interact to modulate neurotransmitter release probability in layer 2/3 somatosensory rat cortex as evaluated by the paired pulse protocol. *J Neurosci Res*. 2004;78(2):268-78.

Trent S, Drew CJG, Mitchell PJ, Bailey SJ. Chronic treatment with 13-cis-retinoic acid changes aggressive behaviours in the resident-intruder paradigm in rats. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2009;19(12):876-86.

Tribollet E, Charpak S, Schmidt A, Dubois-Dauphin M, Dreifuss JJ. Appearance and transient expression of oxytocin receptors in fetal, infant, and peripubertal rat brain studied by autoradiography and electrophysiology. *J Neurosci*. 1989;9(5):1764-73.

Tsien JZ, Huerta PT, Tonegawa S. The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell*. 1996;87(7):1327-38.

Tsukada M, Schröder M, Roos TC, Chandraratna RA, Reichert U, Merk HF, Orfanos CE, Zouboulis CC. 13-cis-retinoic acid exerts its specific activity on human sebocytes through selective intracellular isomerization to all-trans retinoic acid and binding to retinoid acid receptors. *J Invest Dermatol.* 2000;115(2):321-7.

Tsukada M, Schröder M, Seltmann H, Orfanos CE, Zouboulis CC. High albumin levels restrict the kinetics of 13-cis retinoic acid uptake and intracellular isomerization to all-trans retinoic acid and inhibit its anti-proliferative effect on SZ95 sebocytes. *J Invest Dermatol.* 2002;119(1):182-5.

Umesono K, Murakami KK, Thompson CC, Evans RM. Direct repeats as selective response elements for the thyroid hormone, retinoic acid, and vitamin D₃ receptors. *Cell.* 1991;65(7):1255-66.

Van Thiel DH, Gavaler J, Lester R. Ethanol inhibition of vitamin A metabolism in the testes: possible mechanism for sterility in alcoholics. *Science.* 1974;186(4167):941-2.

Vandesompele J, Katleen DP, Filip P, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 2002;3(7):RESEARCH0034.1-RESEARCH0034.11.

Varnäs K, Halldin C, Pike VW, Hall H. Distribution of 5-HT₄ receptors in the postmortem human brain--an autoradiographic study using [125I]SB 207710. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2003;13(4):228-34.

Vergé D, Daval G, Marcinkiewicz M, Patey A, el Mestikawy S, Gozlan H, Hamon M. Quantitative autoradiography of multiple 5-HT₁ receptor subtypes in the brain of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. *J Neurosci.* 1986;6(12):3474-82.

Vogt IR, Shimron-Abarbanell D, Neidt H, Erdmann J, Cichon S, Schulze TG, Müller DJ, Maier W, Albus M, Borrmann-Hassenbach M, Knapp M, Rietschel M, Propping P, Nöthen MM. Investigation of the human serotonin 6 [5-HT6] receptor gene in bipolar affective disorder and schizophrenia. *Am J Med Genet.* 2000;96(2):217-21.

Walther DJ, Bader M. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem Pharmacol.* 2003;66(9):1673-80.

Wang X; Penzes P, Napoli J. Cloning of a cDNA Encoding an Aldehyde Dehydrogenase and Its Expression in *Escherichia coli* RECOGNITION OF RETINAL AS SUBSTRATE. *J Biol Chem.* 1996;271(27):16288-93.

Weisstaub NV, Zhou M, Lira A, Lambe E, Gonzalez-Maeso J, Hornung JP, Sibille E, Underwood M, Itohara S, Dauer WT, Ansorge MS, Morelli E, Mann JJ, Toth M, Aghajanian G, Sealfon SC, Hen R, Gingrich JA. Cortical 5-HT_{2A} receptor signaling modulates anxiety-like behaviors in mice. *Science*. 2006;313(5786):536-40.

Wesolowska A, Nikiforuk A, Stachowicz K, Tatarczynska E. Effect of the selective 5-HT(7) receptor antagonist SB 269970 in animal models of anxiety and depression. *Neuropharmacology*. 2006;51(3):578-86.

Wesolowska A. The anxiolytic-like effect of the selective 5-HT(6) receptor antagonist SB-399885: The impact of benzodiazepine receptors. *Eur J Pharmacol*. 2008;580:355-60.

Whitaker-Azmitia PM, Azmitia EC. Autoregulation of fetal serotonergic neuronal development: role of high affinity serotonin receptors. *Neurosci Lett*. 1986;67(3):307-12.

Whitaker-Azmitia PM, Druse M, Walker P, Lauder JM. Serotonin as a developmental signal. *Behav Brain Res*. 1996;73(1-2):19-29.

Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF. Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science*. 2006;313(5790):1093-7.

Wible CG, Anderson J, Shenton ME, Kricun A, Hirayasu Y, Tanaka S, Levitt JJ, O'Donnell BF, Kikinis R, Jolesz FA, McCarley RW. Prefrontal cortex, negative symptoms, and schizophrenia: an MRI study. *Psychiatry Res*. 2001;108(2):65-78.

Wysowski DK, Pitts M, Betz J. An analysis of reports of depression and suicide in patients treated with isotretinoin. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45:515-9.

Yamamoto Y, Yoshizawa T, Kamio S, Aoki O, Kawamata Y, Masushige S, Kato S. Interactions of transthyretin (TTR) and retinol-binding protein (RBP) in the uptake of retinol by primary rat hepatocytes. *Exp Cell Res*. 1997;234(2):373-8.

Yamauchi M, Miyara T, Matsushima T, Imanishi T. Desensitization of 5-HT_{2A} receptor function by chronic administration of selective serotonin reuptake inhibitors. *Brain Res*. 2006;1067(1):164-9.

Yau JL, Noble J, Widdowson J, Seckl JR. Impact of adrenalectomy on 5-HT6 and 5-HT7 receptor gene expression in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res*. 1997;45(1):182-6.

Yip PK, Wong LF, Pattinson D, Battaglia A, Grist J, Bradbury EJ, Maden M, McMahon SB, Mazarakis ND. Lentiviral vector expressing retinoic acid receptor beta2 promotes recovery of function after corticospinal tract injury in the adult rat spinal cord. *Hum Mol Genet.* 2006;15(21):3107-18.

Zetterström RH, Lindqvist E, Mata de Urquiza A, Tomac A, Eriksson U, Perlmann T, Olson L. Role of retinoids in the CNS: differential expression of retinoid binding protein and receptors and evidence for presence of retinoic acid. *Eur J Neurosci.* 1999;11(2):407-16.

Zhang X, Beaulieu JM, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Caron MG. Tryptophan hydroxylase-2 controls brain serotonin synthesis. *Science.* 2004;305(5681):217.

Zhang X, Gainetdinov RR, Beaulieu JM, Sotnikova TD, Burch LH, Williams RB, Schwartz DA, Krishnan KRR, Caron MG. Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. *Neuron.* 2005;45(1):11-6.

Zhang Y, Damjanoska KJ, Carrasco GA, Dudas B, D'Souza DN, Tetzlaff J, Garcia F, Hanley NRS, Scripathirathan K, Petersen BR, Gray TS, Battaglia G, Muma NA, Van de Kar LD. Evidence That 5-HT_{2A} Receptors in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus Mediate Neuroendocrine Responses to (–)DOI. *J Neurosci.* 2002;22(21):9635-42.

Zhuang X, Gross C, Santarelli L, Compan V, Trillat AC, Hen R. Altered emotional states in knockout mice lacking 5-HT_{1A} or 5-HT_{1B} receptors. *Neuropsychopharmacology.* 1999; 21:52-60.

Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, Schule C, Eser D, Rupprecht R, Moller HJ, Bondy B, Ackenheil M. SNP and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase isoform (Tph2) gene provide evidence for association with major depression. *Mol Psychiatry.* 2004a;9(11):1030-6.

Zill P, Buttner A, Eisenmenger W, Moller HJ, Ackenheil M, Bondy B. Analysis of tryptophan hydroxylase I and II mRNA expression in the human brain: a post-mortem study. *J Psychiatr Res.* 2007;41(1-2):168-73.

Zill P, Buttner A, Eisenmenger W, Moller HJ, Bondy B, Ackenheil M. Single nucleotide polymorphism and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase isoform (Tph2) gene in suicide victims. *Biol Psychiatry.* 2004b;56(8):581-6.

Zouboulis CC. Isotretinoin revisited: pluripotent effects on human sebaceous gland cells. *J Invest Dermatol.* 2006;126(10):2154-6.