UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA

KELLY DA SILVA

*“Papel da via Núcleo Mediano da Rafe-Hipocampo Dorsal nos efeitos
antidepressivos do tratamento com Imipramina”*

Ribeirão Preto

2011

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA**

**Papel da via Núcleo Mediano da Rafe-Hipocampo Dorsal nos efeitos
antidepressivos do tratamento com Imipramina**

Kelly da Silva

Dissertação apresentada à Faculdade de
Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão
Preto da USP, como parte das exigências
para obtenção do título de mestre em
ciências.

Área de concentração: Psicobiologia

**Ribeirão Preto -SP
2011**

KELLY DA SILVA

Papel da via Núcleo Mediano da Rafe-Hipocampo Dorsal nos efeitos antidepressivos do tratamento com Imipramina

Dissertação apresentada à
Faculdade de Filosofia, Ciências e
Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de mestre em
Ciências. Versão corrigida.

Área de concentração: Psicobiologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a.
Cláudia Maria Padovan

Ribeirão Preto
2011

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de documentação da FFCLRP-USP
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
da Universidade de São Paulo

Silva, Kelly da

Papel da via Núcleo Mediano da Rafe-Hipocampo Dorsal nos efeitos antidepressivos do tratamento com Imipramina/ Kelly da Silva; Orientadora Cláudia Maria Padovan. – Ribeirão Preto, 2011.

66 f. : il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade de São Paulo, 2011.

1. Depressão 2. Labirinto em Cruz Elevado 3. Núcleo mediano da Rafe 4. Receptor 5-HT_{1a} 5. Estresse

Nome: SILVA, Kelly

Título: Papel da via Núcleo Mediano da Rafe-Hipocampo Dorsal nos efeitos antidepressivos do tratamento com Imipramina

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em ciências

Aprovado em:

Banca examinadora

Prof. Dr_____

Intituição:_____

Julgamento:_____

Assinatura:_____

Prof. Dr_____

Intituição:_____

Julgamento:_____

Assinatura:_____

Prof. Dr_____

Intituição:_____

Julgamento:_____

Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Adalberto e Luzinete, que me ensinaram os valores mais preciosos e as lições que não ensinam nas escolas. A vocês dedico esta dissertação com o desejo de que toda a minha ausência para me dedicar a este trabalho possa contribuir de alguma forma para a ciência, pois só assim minimizaria o sofrimento da saudade dilacerante que sinto do meu querido pai e a falta que sinto do contato diário com minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir que mais esta etapa fosse cumprida;

Ao meu pai, que partiu antes da conclusão desta dissertação, por ter me deixado ensinamentos que não ensinam nas escolas, pelo carinho que sempre teve por mim e pelo apoio sempre certo;

A minha mãe, por ser a minha fortaleza e o meu bem maior;

Ao meu esposo, Vitor, por caminhar comigo de mãos dadas e fazer meus dias valerm as lembranças;

À minha nova família, Rosa, Ariberto, Augusto, Beatriz e Felipe, pelo amor e carinho;

À Prof^a. Dr^a Cláudia Maria Padovan pelos ensinamentos e pela amizade motivadora;

Ao meu amigo Diego Padovan pela parceria em trabalhos científicos e pelo apoio nas horas mais difíceis;

Aos meus amigos do coração, Jaqueline, Letícia, Patrícia, Gabriela, Eduardo, Roberto, Paulo e Ricardo, por estarem sempre comigo;

Aos meus irmãos, Gil, Ari, Inês Cristiane e Jacqueline, por fazerem parte de mim;

À técnica de biotério Thalita Prado, pela imensa contribuição na realização deste trabalho;

Meus sinceros agradecimentos a Renata Vicentini, por atuar de forma tão competente.

Agradeço também ao técnico Igor, pelas ajudas com os softwares e manutenção de computadores;

Aos meus amigos do laboratório de neurobiologia do estresse e da depressão, Paulo, Natália, Mariana, Tayla e Nyanne, por tornar o ambiente de trabalho tão prazeroso;

Ao professor Carlos Tirapelli e sua equipe, pelas colaborações e happy hours;

À Prof^a. Dr^a Marisa Fukuda, pelas lições tão valiosas no estágio do PAE;

Ao Prof. José Fernando Colafêmina, meu orientador de iniciação científica, por ter gerado em mim este amor pela pesquisa;

À FAPESP e à CAPES, pelo apoio financeiro que viabilizou esta pesquisa;

À Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto pela oportunidade de realizar este trabalho.

EPÍGRAFE

“A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo da busca. E ensinar e aprender não pode dar-se fora da procura, fora da boniteza e da alegria” (Paulo Freire).

SILVA, K. Papel da via Núcleo Mediano da Rafe-Hipocampo Dorsal nos efeitos antidepressivos do tratamento com Imipramina. 2011. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

Introdução: A depressão é um transtorno psiquiátrico cujas causas parecem envolver a exposição crônica a estressores. Sabe-se que o hipocampo dorsal (HD) tem participação no mecanismo de adaptação a estímulos aversivos contínuos, pois a facilitação da neurotransmissão serotoninérgica nessa estrutura diminui o efeito de um estressor prévio. A principal fonte de inervação serotoninérgica para o HD é o núcleo Mediano da Rafe (NMnR). **Objetivo:** O objetivo geral deste trabalho foi verificar se a integridade da via NMnR-HD é essencial para os efeitos antidepressivos do tratamento crônico com Imipramina em animais com lesão dos neurônios serotoninérgicos do NMnR e submetidos ao estresse crônico repetido. **Materias e Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar, machos, com sete semanas de vida. Estes animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para lesão (ou não - grupo controle) dos neurônios serotoninérgicos do NMnR. Novamente foram subdivididos em grupos de acordo com o tratamento farmacológico que iriam receber cronicamente (Imipramina ou Salina). Todos os animais foram submetidos ao estresse de restrição crônico (7 dias/duas horas por dia) ou agudo (episódio único de restrição). No oitavo dia os animais foram testados no Labirinto em cruz Elevado (LCE). **Resultados:** Quando submetidos ao estresse agudo, animais com o NMnR íntegro e tratados com Imipramina apresentaram uma maior porcentagem de tempo despendido nos braços abertos (%TA) e no número de entradas nos braços abertos (%FA), quando comparados com o controle. Ainda, quando submetidos ao estresse agudo e com NMnR lesionados quimicamente, observou-se uma maior exploração dos braços abertos (%TA e %FA) quando comparados com o grupo sem lesão. Em relação aos animais submetidos ao estresse crônico, tanto os animais com NMnR íntegro, quanto os com este núcleo lesionados, a Imipramina foi capaz de atenuar os efeitos do estresse, pois foi observado uma maior %TA e %FA quando comparados com os animais que receberam salina. A lesão do NMnR em animais submetidos ao estresse crônico e tratados com salina apresentaram uma diminuição tanto da %TA quanto da %FA, quando comparados com os animais tratados com salina e com NMnR íntegro. **Discussão:** Nossos resultados mostraram que a lesão dos neurônios serotoninérgicos do NMnR não interferiu no comportamento dos animais no LCE quando submetidos a um episódio único de estresse, mas diminui a exploração dos braços abertos em animais submetidos ao estresse crônico. Este efeito, contudo, foi atenuado pela administração crônica de Imipramina. **Conclusão:** Estes resultados sugerem que a integridade da via NMnR-HD não é essencial para os efeitos antidepressivos da Imipramina no desenvolvimento da tolerância ao estresse repetido.

Palavras chaves: depressão; labirinto em cruz elevado; núcleo mediano da rafe; receptor 5-HT_{1a}; estresse.

SILVA, K. **Role of Median Raphe Nucleus- Dorsal Hippocampus pathway in the antidepressant effects of treatment with imipramine** 2011. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

Introduction: Depression is a psychiatric disorder whose causes seem to involve chronic exposure to stressors. It is known that the dorsal hippocampus (DH) participates in the adaptation mechanism to aversive stimuli, once the facilitation of serotonergic neurotransmission in this structure reduces the effect of a stressor. The main source of serotonergic innervation to the HD is the median raphe nucleus (MRN). **Aim:** The aim of this study was to verify if the integrity of the MRN-HD pathway is essential for the antidepressant effects of chronic treatment with imipramine in animals with lesion on serotonergic neurons of MRN submitted to chronic and repeated stress. **Materials and Methods:** We used male Wistar rats, seven weeks old. The animals were submitted to stereotactic surgery for lesion (or not - control group) on MRN serotonergic neurons. Later, they were divided in groups according to the chronic drug treatment they would receive (Imipramine or Saline). All animals were subjected to chronic (7days/Two hours a day) or acute restraint stress (a single episode of restraint). On the eighth day the animals were tested in the Elevated Plus Maze (EPM). **Results:** When subjected to acute stress, animals with intact MRN and treated with imipramine showed a higher percentage of time spent in open arms (% TO) and the number of entries in open arms (% FO) when compared to control. Moreover, rats subjected to acute stress and chemically injured showed a greater exploration of open arms (% TO and % FO) when compared with the group without lesion. Imipramine was able to attenuate the effects of stress on animals subjected to chronic stress from both groups, with intact MRN and those with lesion. That was observed on a increase of % TO and % FO when compared with rats treated with saline. The injury on MNR in animals submitted to chronic stress decreased both %TO and % FO. **Discussion:** Our results showed that the lesion on serotonergic neurons of MNR don't interfere in the behavior of animals in the EPM when subjected to a single stress episode, but decreases the open arm exploration in rats exposed to chronic stress. This effect, however, was attenuated by chronic administration of imipramine. **Conclusion:** These results suggest that the integrity of the NMnR-HD pathway is not essential for the antidepressant effects Imipramine in the development of tolerance to repeated stress.

Key words: depression; Elevated Plus Maze; Median Raphe Nucleus, 5-HT1A; Stress.

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Páginas
Figura 1- Estrutura química dos antidepressivos ADTS, IMAOs e de segunda geração_____	23
Figura 2- Os três estágios da síndrome de adaptação geral de Selye_____	25
Figura 3- Eixo HPA_____	27
Figura 4- Estresse de restrição_____	39
Figura 5- Vista superior do LCE_____	39
Figura 6- Desenho do protocolo experimental do estudo “ <i>Efeitos do tratamento crônico com imipramina em animais submetidos ao estresse crônico e com lesão do NMnR sobre o comportamento no LCE</i> ”_____	43
Figura 7- Desenho do protocolo experimental do estudo “ <i>Efeitos do tratamento crônico com imipramina em animais submetidos ao estresse agudo e com lesão do NMnR sobre o comportamento no LCE</i> ”_____	43
Figura 8- Sítio de injeção da neurotoxina 5,7-DHT no NMnR de ratos adultos_____	45
Figura 9- Imipramina administrada cronicamente previne os efeitos da exposição ao estresse agudo de restrição em animais testados no LCE_____	47
Figura 10- Imipramina administrada cronicamente atenua os efeitos da exposição ao estresse repetido de restrição em animais testados no LCE_____	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação dos transtornos afetivo _____ 16

Tabela 2- Critérios diagnósticos para o Episódio Depressivo _____ 17

Tabela 3- Critérios diagnósticos para o Transtorno Depressivo Maior _____ 18

Tabela 4- Categorias de Antidepressivos _____ 22

Tabela 5- Classificação dos modelos animais de depressão segundo Willner, 1990 _____ 29

Tabela 6- Grupos experimentais _____ 37

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACTH	hormônio adrenocorticotrófico
ADTs	Antidepressivos tricíclicos
APA	American Psychiatric Association
CEUA	Comitê de Ética em Uso dos Animais
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
5,7-DHT	5,7 Di-hidroxitriptamina
5 HIAA	5-Hidróxi-indol acético
5 HT	Serotonina
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DSM- IV TR	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4ª Edição, Texto Revisado
EUA	Estados Unidos da América
%FA	Porcentagem de entradas nos braços abertos
FF	Frequência nos braços fechados
FFCLRP	Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto
GC	Glicocorticóide
HCl	Ácido clorídrico
HPA	Hipotalâmico-Pituitário-Adrenal
i.m.	Intra-muscular
IMAO	Inibidor de monoaminoxidase
IMI	Imipramina
i.p.	Intraperitoneal
ISRS	Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
LHPA	Eixo Límbico- Hipotalâmico-Pituitário-Adrenal
MCPD	Matéria Cinzenta Periaquedutal
5-Me-DMT	5-metoxi-dimetil-triptamina
MAO	monoaminoxidase
NA	Noradrenalina
NaOH	Hidróxido de sódio
NDR	Núcleo Dorsal da Rafe
NMnR	Núcleo Mediano da Rafe

NE	Norepinefrina
8-OH-DPAT	8-hidroxi-2(di-n-amino-propilamina) tetralina
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	<i>phosphate buffer saline</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
SAL	Salina
s.c.	subcutânea
SNC	Sistema Nervoso Central
%TA	Porcetangem deTempo despendido nos braços abertos

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
cm	Centímetro
g	Grama
kg	Kilograma
pH	Potencial hidrogeniônico
M	Molar
mg	Miligrama
µg	Micrograma
µl	Microlitro
%	Porcentagem

SUMÁRIO

Capítulos	Páginas
I. Introdução	15
1.1 Transtornos afetivos	15
1.2 Epidemiologia dos transtornos depressivos	19
1.3 Histórico da depressão e tratamento farmacológico	20
1.4 Etiologia da depressão	24
1.5 Modelos animais de depressão	27
1.6 Teorias da depressão	30
II. Objetivos	34
III. Materiais e Métodos	35
3.1 Animais	35
3.2 drogas	35
3.3 Equipamentos	36
3.4 Procedimentos	37
3.4.1 Cirurgia estereotáxica	38
3.4.2 Restrição Forçada e Teste no Labirinto em Cruz Elevado	39
3.4.3 Tratamento farmacológico	40
3.4.4 Perfusão	40
3.4.5 Histologia e coloração das lâminas	41
3.5 Estudos comportamentais	41
3.5.1 Efeitos da lesão de neurônios serotoninérgicos do NMnR sobre o comportamento no LCE em ratos submetidos ao estresse crônico ou agudo	41
3.5.2 Efeitos do tratamento crônico com imipramina em animais submetidos ao estresse crônico ou agudo e com lesão do NMnR sobre o comportamento no LCE.	42
IV. Resultados	45

V. Discussão	50
VI. Conclusão	56
VII. Referências bibliográficas	57

INTRODUÇÃO

1.1 Transtornos afetivos

É comum a ocorrência de flutuações de humor nos seres humanos em decorrência de algum evento de sua vida cotidiana. Contudo, em algumas pessoas, estas respostas podem tomar proporções inadequadas pela sua gravidade, persistência ou circunstância desencadeadora. Esta resposta exacerbada caracteriza o transtorno afetivo (GUIMARÃES, 1993).

Dentre os vários transtornos afetivos conhecidos, o popularmente conhecido como depressão é caracterizado por uma grande variedade de sintomas que podem incluir irritabilidade, baixa autoestima, falta de esperança, sensação de culpa, baixa capacidade de concentração, distúrbios do apetite, do peso e do sono, desinteresse em estímulos prazerosos (anedonia), fadiga ou agitação excessiva, podendo ocorrer também pensamentos recorrentes de morte e suicídio. No pólo oposto ao quadro depressivo estão os transtornos maníacos. Neste, o principal fator é uma exacerbação do afeto, com sentimentos de euforia, alegria e intensa satisfação pessoal (APA, 2002).

É importante esclarecer que o termo depressão pode ser usado de três formas distintas: 1) o uso leigo relacionado à tristeza e que não se trata necessariamente de uma doença, 2) o termo representando sintomas de humor rebaixado e deprimido, secundário a várias patologias e 3) usado, enfim, para definir uma síndrome com sinais e sintomas relacionados aos transtornos de humor (KAPLAN, SADOCK e GREBB, 1997).

Historicamente, na busca de uma classificação dos transtornos afetivos, estes foram subdivididos em estados depressivos endógenos ou psicóticos e em estados depressivos neuróticos ou exógenos. Nos estados depressivos endógenos, a origem do transtorno seria interna ao organismo e este era subdividido em unipolar (composta apenas de quadros depressivos) ou bipolar (presença de quadros depressivos e maníacos) (GUIMARÃES, 1993).

Atualmente, estes termos têm dado lugar à classificação do Manual Estatístico e Diagnóstico da Associação Norte-Americana de Psiquiatria (em inglês, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- DSM*). Na revisão de texto da quarta edição

deste manual (DSM- IV TR), os transtornos psiquiátricos, dos quais fazem parte os transtornos afetivos, são abordados como doenças com componentes psicológicos, biológicos e sociais. Nesta edição do manual os transtornos afetivos, encontram-se divididos em dois grupos, os transtornos bipolares e os depressivos (tabela 1). Ainda, classifica dois outros grupos, o transtorno afetivo devido a uma condição médica geral e o induzido por drogas (APA, 2002).

Tabela 1- Classificação dos transtornos afetivos

	<i>Tipo I</i>
	<i>Tipo II</i>
<i>Transtornos bipolares</i>	<i>Ciclotimia</i>
	<i>Transtornos bipolares não-classificáveis</i>
	<i>Depressão Maior</i>
<i>Transtornos depressivos</i>	<i>Distímia</i>
	<i>Transtornos depressivos não-classificáveis</i>
<i>Transtornos afetivos devidos a problemas médicos gerais</i>	<i>Transtornos afetivos induzidos por drogas</i>
	<i>Transtornos afetivos não-classificáveis</i>

Fonte: DSM- IV TR. American Psychiatric Association, 2002 (adaptado)

No que diz respeito aos transtornos depressivos, a principal subdivisão é entre depressão maior e distímia. Entretanto, é importante diferenciar o episódio depressivo e o transtorno depressivo maior. Para o diagnóstico de episódio depressivo, é necessário a presença de humor deprimido a maior parte do tempo, na maioria dos dias e/ou anedonia. Além destes, deve completar o total de 5 sintomas citados na tabela 2, com uma duração de ao menos 2 semanas. Já para o diagnóstico do Transtorno Depressivo Maior deve haver um ou mais episódios depressivos maiores (tabela 3), acompanhados por ao menos quatro sintomas descritos na tabela 2 (APA, 2002).

Tabela 2- Critérios diagnósticos para o Episódio Depressivo

Ao menos 5 dos seguintes sintomas devem estar presentes por 2 ou mais semanas

- 1. Humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias*
- 2. Irritabilidade*
- 3. Redução acentuada de interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades*
- 4. Perda ou ganho significativo de peso ou diminuição ou aumento do apetite*
- 5. Insônia ou sono excessivo*
- 6. Agitação ou lentidão psicomotora*
- 7. Fadiga ou perda de energia*
- 8. Sentimento de inutilidade ou culpa excessiva ou inapropriada*
- 9. Diminuição da capacidade de pensar ou de se concentrar ou indecisão*
- 10. Sentimento de falta de esperança*
- 11. Pensamentos recorrentes de morte ou tentativa ou plano de suicídio.*

Fonte: DSM- IV TR. American Psychiatric Association, 2002 (adaptado)

Tabela 3- Critérios diagnósticos para o Transtorno Depressivo Maior

A. Presença de dois ou mais Episódios Depressivos Maiores.

Nota: Para serem considerados episódios distintos, deve haver um intervalo de pelo menos 2 meses consecutivos durante os quais não são satisfeitos os critérios para Episódio Depressivo Maior.

B. Os Episódios Depressivos Maiores não são mais bem explicados por Transtorno Esquizoafetivo nem estão sobrepostos a Esquizofrenia, Transtorno Esquizofreniforme, Transtorno Delirante ou Transtorno Psicótico Sem Outra Especificação.

C. Jamais houve um Episódio Maníaco, um Episódio Misto ou um Episódio Hipomaníaco.

Nota: esta exclusão não se aplica se todos os episódios de tipo maníaco, tipo misto ou tipo hipomaníaco são induzidos por substância ou tratamento ou se devem aos efeitos fisiológicos diretos de uma condição médica geral.

Se os critérios são atualmente satisfeitos para um Episódio Depressivo Maior, especificar a condição clínica e/ou características:

- **Leve, Moderado, Grave Sem Características Psicóticas.**
- **Grave com Características Psicóticas.**
- **Crônico.**
- **Com Características Catatônicas.**
- **Com Características Melancólicas.**
- **Com Características Atípicas.**
- **Com Início no Pós-Parto.**

Se os critérios não são atualmente satisfeitos para um Episódio Depressivo Maior, especificar a condição clínica atual do Transtorno Depressivo Maior ou as características do episódio mais recente:

- **Em Remissão Parcial,**
- **Em Remissão Completa.**
- **Crônico.**
- **Com Características Catatônicas.**
- **Com Características Melancólicas.**
- **Com Características Atípicas.**
- **Com Início no Pós-Parto.**

Especificar

- **Especificadores de Curso Longitudinal (Com e Sem Recuperação Entre os Episódios).**
- **Com Padrão Sazonal.**

Fonte: DSM- IV TR. American Psychiatric Association, 2002 (adaptado)

1.2 Epidemiologia dos transtornos depressivos

Atualmente, cerca de 121 milhões de pessoas em todo o mundo sofrem da genericamente chamada depressão (OMS, 2010). As desordens depressivas são consideradas questões preocupantes de saúde pública, pois apresentam alta prevalência na população, aumentam a morbidade, causam prejuízos sociais e de capacidade de trabalho, além de gerarem um alto custo econômico para a sociedade. A depressão influencia significativamente a comorbidade de doenças como as cardíacas, endocrinológicas e os cânceres (CASSANO e FAVA, 2002).

A organização mundial de saúde (OMS) alerta que a depressão é uma das doenças mais ameaçadoras para a saúde mundial, com perspectiva de agravamento nos próximos anos, sendo superada em 2020 apenas pelas doenças cardíacas (WILLIAN, HOLSENGER, 2005; OMS, 2010). Se considerarmos que o Transtorno Depressivo Maior é marcado pela cronicidade e por episódios recorrentes, fica clara a importância e a gravidade desta doença na população geral (BAHLS e BAHLS, 2002).

Estima-se que aproximadamente 80% das pessoas que receberam tratamento para um episódio depressivo irão apresentar outros episódios ao longo de suas vidas (ANDERSON, NUTT e DEAKIN, 1993). A duração média de um episódio é de 20 semanas e 12% desta população não apresentam remissão dos sintomas, ou seja, não respondem aos tratamentos existentes (JUDD, 1997).

Quanto à faixa etária, estudos indicam que esta doença está ocorrendo cada vez mais cedo na população. Estudos longitudinais demonstram tanto um aumento secular em adultos, como afirmado pela OMS, quanto um maior risco para estes transtornos em pessoas nascidas mais recentemente (CROSS-NATIONAL COLLABORATIVE GROUP, 1992). Já na população de idosos, a depressão é uma enfermidade mental freqüentemente encontrada. Tem prevalência em torno de 15% (KAPLAN, SADOCK e GREBB, 1997).

Com relação ao sexo, Lima em 1999 em seu artigo de revisão, afirmou que várias pesquisas epidemiológicas apontaram que as mulheres apresentam até duas

vezes mais depressão que os homens. Ainda, verificou que muitas pesquisas concluíram que baixa escolaridade e renda apresentam maiores prevalências de transtornos mentais (LIMA, 1999).

Estes dados epidemiológicos são de extrema importância, pois orientam as políticas de saúde pública além de impulsionar o surgimento de novas pesquisas que indireta ou diretamente contribuem para uma maior elucidação dos transtornos mentais.

1.3 Histórico da depressão e tratamento farmacológico

Embora os dados epidemiológicos apontem um número crescente de pessoas com depressão nos dias atuais, os sinais e sintomas dos transtornos depressivos têm sido descrito ao longo dos tempos.

No século IV a. C, Hipócrates descreveu a teoria dos humores. Segundo ele, a melancolia ou *bílis negra* seria o resultado do desequilíbrio dos humores do organismo. Este conceito foi amplamente utilizado por vários médicos da antiguidade como Celsus, Arateus, Galeno e outros. Como uma das principais características do indivíduo melancólico era o abatimento ou tristeza, o termo melancolia foi traduzido para o latim como *depremere*, ou seja, pressionar para baixo (SONENREICH et al., 1997).

Embora haja relatos de transtornos depressivos desde a antiguidade, somente na década de 50 foram descobertos os primeiros tratamentos farmacológicos para os transtornos de humor (STAHL, 1997).

Em 1949, John Cade, um psiquiatra australiano, observou que o lítio produzia sedação quando administrado em cobaias. O que Cade desconhecia era que este efeito era em decorrência da toxicidade do lítio. Ele propôs que esta substância poderia ser útil para o tratamento das manias, tratando com sucesso alguns pacientes. Porém, pela alta toxicidade do lítio e pela falta de conhecimento a respeito desta substância havia casos em que não era obtido sucesso e quadros tóxicos eram freqüentes. Somente no final da década de 50, Mogens Schou demonstrou a eficácia no lítio por meio de estudos controlados (*apud* GUIMARÃES, 2005).

Ainda na década de 50, observou-se que pacientes com tuberculose obtinham melhora de humor quando tratados com iproniazida. Pouco tempo depois, foi descoberto que esta droga, além de tratar a tuberculose, inibia a enzima monoaminoxidase (MAO), conhecida por melhorar o humor, justificando, assim, tal efeito. Nesta mesma época foi verificado que a letargia e retardo psicomotor produzidos pela reserpina eram revertidos para um estado de hiperatividade em ratos, quando eram pré-tratados com a iproniazida. Com estes dados, o psiquiatra americano Nathan Kline sugeriu que essa droga poderia agir como antidepressivo e demonstrou esse efeito em pacientes deprimidos (GUIMARÃES, 2005).

A descoberta de fármacos antidepressivos e sua utilização na prática clínica trouxeram um grande avanço na compreensão dos possíveis mecanismos neurais da depressão, tornando estes transtornos passíveis de serem tratados farmacologicamente (STAHL, 1997).

Quanto à imipramina, esta foi sintetizada em 1948, com estrutura química semelhante à da clorpromazina. Em meados da década de 50, com a descoberta dos efeitos antipsicóticos da clorpromazina, a imipramina foi também testada em pacientes esquizofrênicos, não obtendo sucesso terapêutico. Porém, Roland Kuhn, um psiquiatra suíço, observou melhora de humor em pacientes com sintomas depressivos sugerindo um efeito antidepressivo deste fármaco (GUIMARÃES, 2005).

Até os anos 80 havia duas classes de antidepressivos, os antidepressivos tricíclicos (ADTs) e os inibidores de monoaminoxidase (IMAOs). Embora sejam fármacos eficazes, apresentam muitos efeitos colaterais e são letais em casos de superdosagem (KESSEL e SIMPSON, 1995). Em busca de fármacos mais seletivos e com menos efeitos colaterais, surgiram nas últimas décadas novas classes de antidepressivos, a partir de pesquisas com moléculas desprovidas dos efeitos indesejáveis dos tricíclicos (STAHL, 1997).

Comumente, estas classes existentes de fármacos antidepressivos apresentam ações que envolvem o metabolismo das monoaminas neurotransmissoras e de seus receptores, principalmente da serotonina e da norepinefrina (NE) (GOODMAN e GILMAN, 2010).

Atualmente, os antidepressivos são classificados nas seguintes categorias contidas na tabela a seguir.

Tabela 4- Categorias de Antidepressivos

	<i>Inibidores não-seletivos (NE e Serotonina)</i>
<i>Inibidores de captura de monoaminas</i>	<i>Inibidores seletivos da captação da serotonina</i>
	<i>Inibidores seletivos da captação da NE</i>
	<i>Inibidores seletivos não-competitivos</i>
<i>Inibidores da monoaminoxidase (IMAOs)</i>	<i>Inibidores reversíveis seletivos para Monoaminoxidase-A (MAO)</i>
<i>Compostos variados (atípicos) do bloqueio de receptores</i>	

Fonte: Rang & Dale, 6ª Edição traduzida, 2007.

Como observado na tabela 2, Rang e Dale, em 2007, separam os antidepressivos nas seguintes categorias: os inibidores da captação de monoaminas, que são subdivididos em inibidores não-seletivos da recaptação da NE e da serotonina, inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e os inibidores seletivos recaptação da NE.

Na categoria dos inibidores não-seletivos da recaptação da NE e da serotonina, estão incluídos os ADTs, como, por exemplo, a imipramina (IMI) e a amitriptilina. Ainda se enquadram nesta classe os antidepressivos mais recentes, como a venlafaxina e a duloxetina que apresentam menos efeitos colaterais que os ADTs.

No que diz respeito aos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), fazem parte deste grupo a fluoxetina, a fluvoxamina, a paroxetina e a sertralina. E, por último, são fármacos pertencentes ao grupo dos inibidores seletivos da captação da NE a maprotilina e a reboxetina e são chamados de antidepressivos de segunda geração.

Já em relação aos IMAOs, estes são subdivididos por Rang e Dale (2007) em inibidores irreversíveis não competitivos, por exemplo, a fenelzina e a tranilcipromina, e em inibidores reversíveis seletivos para a MAO-A, como a moclobemida.

É importante salientar que os antidepressivos apenas são capazes de agir em organismos em condições anômalas, não influenciando de forma significativa o organismo em seu estado basal. Em pessoas sem queixas não provocam efeitos estimulantes ou euforizantes. Aproximadamente 70% dos pacientes com depressão respondem bem ao tratamento com os ADTs, os que não obtêm boa resposta com esta classe de fármacos necessitam de outra classe de antidepressivos ou terapias alternativas (MORENO; MORENO e SOARES, 1999).

A figura 1 indica a estrutura química dos ADTs, IMAOs e dos antidepressivos de segunda geração.

Figura 1- Estrutura química dos antidepressivos ADTs, IMAOs e de segunda geração (Fonte: GUIMARÃES, 1993).

Embora muito se tenha avançado no tratamento dos distúrbios afetivos, ainda não se sabe ao certo o motivo pelo qual alguns pacientes não respondem ao tratamento farmacológico e muitas pesquisas têm surgido para uma maior elucidação dos mecanismos subjacentes ao tratamento eficaz destes distúrbios.

1.4 Etiologia da depressão

Ainda que os primeiros fármacos antidepressivos não tenham surgido com base no conhecimento do substrato neural envolvidos no humor, atualmente muito se tem pesquisado na busca pela compreensão da etiologia da depressão e do aprimoramento dos tratamentos existentes. Tal etiologia ainda não está clara e em determinados aspectos é muito controversa. Seus fatores têm sido divididos, para efeito de estudo, em causas biológicas e psicossociais. Certamente estas áreas interagem fortemente na expressão patoplástica da doença (BAHLS, 1999).

Dentre os fatores desencadeadores que estão relacionados à depressão, o estresse tem recebido grande atenção nos últimos anos (NESTLER et al., 2002). Dados da literatura sugerem que a exposição a eventos estressantes é um dos principais fatores ambientais que antecede a depressão, pois em 60% dos casos a depressão é precedida por fatores estressantes, principalmente psicossociais (POST, 1992; JOCA et al., 2003).

O termo estresse foi primeiramente utilizado na física para designar o grau de deformidade sofrido por um material em decorrência de uma tensão ou esforço (MUJRHEAD, 1901). Adaptando o significado do termo estresse na área biológica, Hans Selye, um neuroendocrinologista húngaro, empregou este termo para descrever a resposta corporal não-específica a um insulto (SELYE, 1936).

Este pesquisador verificou que os ratos que eram submetidos diariamente a injeções, tanto de extratos químicos como de salina, apresentavam em comum o aparecimento de úlceras pépticas, aumento no volume das adrenais e atrofia de tecidos relacionados ao sistema imunológico. Após esta observação, ele verificou que estas mesmas alterações ocorriam quando ele expunha os animais a outros estressores físicos, como elevação ou diminuição de temperatura e ruídos intensos. Ele deduziu estar diante de uma resposta fisiológica generalizada (SELYE, 1936).

Com estes dados, em 1936, Selye propôs a teoria da Síndrome da Adaptação Geral (SAG), iniciando o estudo a respeito da neurobiologia do estresse. Este

pesquisador considerou a existência de três estágios na síndrome de adaptação geral (figura 1).

Figura 2– Os três estágios da síndrome de adaptação geral de Selye (Fonte: BRANDÃO, 2004).

Esta teoria defende que, ao primeiro contato com o estímulo físico estressante, ocorre a fase de alarme. Nesta etapa há a liberação de adrenalina pelas adrenais. Em seguida há a fase de resistência, onde há a liberação de glicocorticoides, também pelas adrenais. Esta fase é caracterizada pela resistência a qualquer outro estímulo estressante que não seja o estímulo inicial. Por último, no chamado por Selye de estágio de exaustão, a prolongada exposição ao agente estressor culmina na queda dos níveis dos glicocorticoides o que gera uma diminuição da resistência a qualquer estímulo estressante (SELYE, 1936).

Embora Selye tenha estudado apenas os efeitos de estressores físicos, ele delineou o papel da glândula pituitária na estimulação do córtex adrenal pelo hormônio adrenocorticoide (sigla em inglês, ACTH) abrindo caminho para o conceito do eixo HPA, como eixo hormonal do estresse (GRAEFF, 2003).

Atualmente, além dos estressores físicos descritos por Selye, os fatores psicológicos e as experiências vividas como a novidade, a falta de recompensa e a

antecipação da punição, são considerados como os mais poderosos fatores estressantes capazes de gerar alterações comportamentais e fisiológicas no organismo (McEWEN; MILLIKEN; MILLIKEN, 2000). Dentre as principais alterações fisiológicas está a liberação de glicorticoides (GC) pela supra-renal, como resposta à ativação do eixo hipotálamo, hipófise-pituitária-adrenal (HPA) (HERMAN e CULLINAN, 1997).

A respeito do eixo HPA, é sabido que o funcionamento deste eixo é modulado pelas estruturas límbicas ganhando destaque o hipocampo e a amígdala. Assim, pode-se estender o nome do eixo HPA para eixo LHPA (Límbico-Hipófese-Pituitária-Adrenal) (GRAEFF, 2003).

Como produto final da ativação do eixo HPA há a liberação de glicocorticoide. Mediante um estímulo estressor, o hipotálamo é estimulado a liberar o hormônio liberador de corticotropina (sigla em inglês CRH), estimulando a hipófise a liberar ACTH na corrente sanguínea. O ACTH, por sua vez, estimula o córtex das glândulas adrenais a liberar o glicocorticoide que irá gerar vários efeitos fisiológicos como hipertensão, úlceras estomacais, mudança no metabolismo, dentre outros (BRANDÃO, 2004).

Como citado acima, o estresse crônico estimula a liberação de níveis elevados de glicocorticóides. O hipocampo, um dos principais moduladores deste sistema, por ser uma estrutura rica em receptores para glicocorticoide poderia sofrer atrofia ou mesmo perda de seus neurônios pelo excesso desta substância no organismo, o que levaria à perda do controle inibitório que esta estrutura realiza sobre o eixo HPA (WARNER-SCHMIDT e DUMAN, 2005).

Figura 3- Eixo HPA. Frente a um estímulo estressor há como produto final a liberação de glicocorticóides que gera vários efeitos fisiológicos no organismo. (Fonte: BRANDÃO, 2004).

1.5 Modelos animais de depressão

Considerando que a exposição a estressores induz alterações significativas no organismo, a utilização de modelos animais para o estudo da depressão é

imprescindível. Nestes modelos, as respostas comportamentais e fisiológicas aos eventos estressores podem ser estudadas (WILLNER, 1990).

Os primeiros modelos animais que surgiram com o objetivo de facilitar a compreensão dos substratos neurais envolvidos nos transtornos afetivos foram baseados nos efeitos dos antidepressivos, sem se preocupar com os mecanismos envolvidos no desenvolvimento dos quadros depressivos. Porém, uma nova abordagem surgiu com os experimentos de Seligman e Maier em 1967. Eles verificaram que cães que haviam sido submetidos a choques inescapáveis nas patas, apresentavam *déficits* de aprendizado quando inseridos em outra situação onde poderiam evitar os mesmos (SELIGMAN e BEAGLEY, 1975).

Embora muito se tenha avançado no uso de modelos animais no estudo da depressão, ainda há grandes dificuldades na validação destes modelos. Paul Willner, um psicólogo inglês, estudou sistemicamente estes modelos e relatou a dificuldade que estes apresentam de satisfazer os três critérios para validação do modelo, a saber, o critério preditivo que diz respeito a respostas apropriadas do modelo quando o animal recebe um fármaco clinicamente eficaz, o critério de semelhança de alterações induzidas pelo modelo em relação àquelas apresentadas pela condição estudada e o critério do constructo teórico, que leva em contato o embasamento teórico e racional do modelo (GUIMARÃES, 1993; WILLNER, 1990).

A tabela 5 Indica a classificação dos modelos animais de depressão segundo Willner, 1990.

Tabela 5- Classificação dos modelos animais de depressão segundo Willner, 1990.

Modelos que não pretendem simular o quadro depressivo	<ul style="list-style-type: none"> • Reversão dos efeitos comportamentais induzidos pela reserpina • Potencialização dos efeitos comportamentais da anfetamina • Reversão da supressão de comportamento operante induzido por 5-hidróxi-triptofano • Facilitação da capacidade do animal de esperar recompensas maiores • Facilitação da adaptação a alterações de ciclos circadianos.
Modelos que envolvem a apresentação do estresse	<ul style="list-style-type: none"> • Desamparo aprendido, ou seja, déficits de desempenho induzidos pela exposição a estresse incontrolável. • Nado forçado, ou desespero comportamental ou incapacidade de manter esforço quando este é inútil para reverter situações de estresse. • Déficits de adaptação ao estresse crônico • Estado de anedonia relativa induzida pela apresentação crônica de estresse de intensidade leve. • Interrupção abrupta da administração crônica de anfetamina
Modelos de separação	<ul style="list-style-type: none"> • Alterações comportamentais induzidas por separação materna • Alterações comportamentais induzidas por isolamento social
Modelo de dano cerebral	<ul style="list-style-type: none"> • Alterações comportamentais induzidas por retirada do bulbo olfatório

Fonte: Willner, 1990

Os Modelos Animais para o estudo da depressão mais utilizados são o desamparo aprendido (SELIGMAN e BEAGLEY, 1975), o nado forçado (PORSOLT et al., 1977) e o estresse de restrição (PADOVAN e GUIMARÃES, 2000).

Embora o Labirinto em Cruz Elevado (LCE) tenha sido validado do ponto de vista farmacológico, bioquímico e comportamental como um modelo animal para o estudo dos transtornos de ansiedade (PELLOW et al., 1985), este modelo é uma excelente ferramenta para se avaliar os efeitos comportamentais da exposição a estressores incontroláveis, uma vez que a pré-exposição a um evento aversivo inescapável pode intensificar a aversão ocasionada pela exposição aos braços abertos do LCE (PADOVAN E GUIMARÃES, 2000). Assim, a utilização conjunta dos modelos de restrição forçada e LCE é considerada como Modelo Animal para o estudo da depressão (PADOVAN e GUIMARÃES, 2000; WILLNER, 1991, 1990).

Handley e Mithany foram os primeiros a empregarem o modelo do LCE, os quais observaram um maior número de entradas nos braços fechados quando comparados com o aberto, devido aos estímulos naturais de novidade impostos pelas condições do modelo (LISTER, 1990).

1.6 Teorias da depressão

A compreensão dos distúrbios afetivos necessita do conhecimento dos mecanismos neurais responsáveis pelos estados afetivos normais. Porém, só recentemente têm surgido hipóteses que englobam as alterações fisiológicas e o conhecimento sobre o funcionamento normal dos sistemas cerebrais responsáveis pelo humor.

As primeiras hipóteses sobre estes distúrbios foram baseadas nos efeitos e nos mecanismos de ação aguda dos antidepressivos (GUIMARÃES, 1993). Somente na década de 60 surgiu a primeira hipótese sobre a neurobiologia da depressão, chamada classicamente de *teoria monoaminérgica*, proposta por Joseph Schildkraut e Seymour Kety. Eles propuseram esta teoria com base em várias evidências de que o aumento da

atividade noradrenérgica era capaz de melhorar quadros depressivos. Foi descoberto nesta época que a imipramina era capaz de bloquear o mecanismo de recaptação neuronal dos neurotransmissores norepinefrina (NE) e serotonina (5-HT) obtendo, assim, uma maior quantidade destes neurotransmissores na fenda sináptica, e de que os inibidores de monoaminoxidase (IMAOs) também promoviam o mesmo aumento. Observaram, ainda, que a reserpina, substância que depleta as monoaminas, provocava quadros depressivos em 10% a 20% dos pacientes e ainda que a anfetamina, substância que além de liberar noradrenalina na fenda sináptica ainda inibe a sua recaptação, gerava efeitos euforizantes (*apud* GUIMARÃES, 2005).

Outras evidências provenientes dos trabalhos de James Olds e colaboradores na década de 50 ajudaram a fortalecer a teoria monoaminérgica, porém o neurotransmissor estudado por estes pesquisadores foi a NE. Em um estudo, Olds e seus colaboradores (*apud* GUIMARÃES, 2005) implantaram eletrodos em diferentes regiões do Sistema Nervoso Central (SNC) de ratos. Quando estes animais pressionavam uma barra produzia-se um estímulo elétrico na região do cérebro onde o eletrodo estava conectado. Eles chamaram este comportamento de pressionar a barra para se obter o estímulo elétrico de *autoestimulação* e verificaram que, dependendo do local onde se posicionava os eletrodos, os animais apresentavam este comportamento mais acentuado. Estas áreas cerebrais foram chamadas de *zonas de recompensa*.

Dentre estas regiões que geram os efeitos de autoestimulação estão o feixe prosencefálico medial. Este feixe interliga principalmente o córtex frontal com o tronco encefálico, passando pelo hipotálamo lateral. Como nestes feixes existe uma grande quantidade de inervação noradrenérgica e um dos principais sinais da depressão é a anedonia, concluíram que a depressão era uma deficiência de NE (ou noradrenalina) em vias de recompensa (*apud* GUIMARÃES, 1993).

Embora hoje se saiba que são as projeções dopaminérgicas (que também correm junto a esse feixe prosencefálico) as reais responsáveis pela recompensa, este dado corroborou a confirmação da *hipótese noradrenérgica da depressão*.

Da mesma forma que a NE, a transmissão serotoninérgica é facilitada pela maioria dos tratamentos com antidepressivos. Precusores de serotonina, como por exemplo, o l-triptofano e o 5-hidróxi-triptofano, apresentam ação antidepressiva, embora de forma

moderada. Além disso, baixas concentrações de serotonina e seu metabólito principal, o ácido 5-hidróxi-indol acético (5HIAA), são encontradas em cérebro de pessoas que cometeram suicídio ou no líquido de alguns pacientes deprimidos. Estes dados levaram Lapin e Oxenkrug a propor a *teoria serotoninérgica da depressão*, onde a causa da depressão seria uma deficiência deste neurotransmissor (GUIMARÃES, 1993).

Atualmente, são conhecidos 14 tipos de receptores de serotonina. Estes receptores são divididos em sete grupos diferentes, 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ e 5-HT₇, com subtipos a, b, e c (HOYER; HANNON; MARTIN, 2002) estudos comprovaram que cada subtipo pode gerar efeitos distintos e até opostos quando ativados (GUIMARÃES, 2005)

Deakin e Graeff, em 1989, propuseram que as diferenças anatômicas e funcionais das vias serotoninérgicas, bem como seus diferentes tipos de receptores, possuem diferentes mecanismos de controle sobre a depressão e a ansiedade, idealizando, assim, a chamada hipótese do desequilíbrio de receptores de serotonina. Estes autores acreditam que as respostas adaptativas a estímulos aversivos, inatos ou aprendidos, seriam reguladas por estes distintos sistemas serotoninérgicos (DEAKIN E GRAEFF, 1991).

Nesta teoria, uma das principais funções da serotonina seria a de modular respostas do organismo frente a eventos aversivos, porém cada subtipo desempenharia papéis distintos. Um excesso de neurotransmissão mediada pelo subtipo 2 (5HT₂) na amígdala e córtex frontal levaria a um aumento da reatividade emocional em consequência do evento aversivo enquanto o efeito oposto é desempenhado pela neurotransmissão mediada pelo subtipo 1A (5HT_{1A}).

Acreditavam ainda, que um importante papel na resistência a eventos aversivos crônicos seria dado às projeções ao hipocampo originadas no núcleo mediano da rafe (NMnR), pois esta via modulariam respostas desencadeadas por eventos aversivos continuados favorecendo o desenvolvimento de tolerância aos mesmos, por um mecanismo de desconexão dos eventos aversivos a suas consequências emocionais. O mau funcionamento dos mecanismos de adaptação ao estresse levaria ao aparecimento de quadros de desamparo aprendido em animais e depressão no homem (DEAKIN e GRAEFF, 1991).

Sabe-se que o NMnR é a principal fonte de inervação serotoninérgica para o hipocampo. Na tentativa de compreender os mecanismos serotoninérgicos do NMnR e sua participação em situações de exposição a eventos aversivos, Andrade e cols. (2001) estudaram os efeitos da exposição ao estresse de imobilização forçada. Esses pesquisadores mostraram que a lesão do NMnR promove efeito ansiolítico em animais imobilizados e submetidos ao LCE. Complementando esses resultados, Netto e colaboradores (2002) observaram que animais com lesão do NMnR e cronicamente imobilizados não desenvolviam tolerância ao estresse. Ambos estudos reforçam a importância desta via para a adaptação ao estresse crônico.

Outro aspecto que reforça a importância do NMnR e da neurotransmissão serotoninérgica na mediação a eventos aversivos inescapáveis, foi demonstrado por Adell *et al.* (1997). Esses pesquisadores mostraram que a exposição de ratos ao nado forçado por cinco minutos foi capaz de aumentar os níveis de serotonina nessa estrutura. Esse resultado sugere que eventos estressores, neste caso o nado forçado, são capazes de alterar a neurotransmissão serotoninérgica nessa estrutura, aumentando as concentrações desse neurotransmissor durante a apresentação do episódio aversivo.

Apesar dos resultados evidenciarem a participação do sistema serotoninérgico do NMnR na mediação de respostas comportamentais ao estresse, os mecanismos neurobiológicos ainda não foram completamente elucidados. Por exemplo, embora a integridade dos neurônios serotoninérgicos do NMnR seja importante para o desenvolvimento de tolerância ao estresse repetido, ainda não está claro se tal integridade seria fundamental para a eficácia do tratamento antidepressivo.

Baseados no conjunto de evidências anteriormente apresentadas, nossa hipótese é a de que a integridade do NMnR (e sua projeção ao hipocampo) são essenciais, tanto para a eficácia do tratamento crônico com antidepressivos em animais estressados, quanto para o desenvolvimento de tolerância ao estresse crônico.

OBJETIVOS

O objetivo geral do trabalho foi verificar se a integridade da via NMnR-Hipocampo Dorsal (HD) é essencial para os efeitos antidepressivos do tratamento crônico com imipramina (ADTs) em animais com lesão dos neurônios serotoninérgicos do NMnR e submetidos ao estresse crônico repetido. Para tanto, investigamos especificamente:

2.1 Os efeitos da lesão seletiva de neurônios serotoninérgicos do NMnR (através da administração local de 5,7-DHT) sobre o comportamento exploratório no LCE de ratos submetidos a um estressor crônico repetido (estresse de restrição);

2.2 Os efeitos do tratamento com imipramina sobre o comportamento exploratório no LCE, em animais expostos cronicamente à restrição forçada e com lesão do NMnR.

MATERIAS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 107 ratos albinos, Wistar, machos, provenientes do Biotério Central da Universidade de São Paulo, *Campus* de Ribeirão Preto, com 21 dias de vida (recém-desmamados).

Os animais foram alojados em gaiolas-viveiro aos pares, com livre acesso a água e comida. As gaiolas-viveiro foram forradas com maravalha, e o processo de higienização das mesmas foi realizado em dias alternados. Com exceção do contato para a limpeza das gaiolas, os animais permaneceram sem qualquer tipo de manipulação até a sétima semana de vida, quando se iniciaram os estudos.

Os animais foram mantidos no biotério do laboratório, o qual apresenta ciclo de luz claro-escuro de 12 horas (luzes ligadas das 6:30 às 18:30) e temperatura de 23°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) controlados.

Os procedimentos experimentais adotados neste projeto foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do *Campus* de Ribeirão Preto – USP, sob o processo nº 06.1.1131.53.0 em reunião da CEUA de 07 de dezembro de 2007.

3.2 Drogas

Foram utilizados os seguintes fármacos:

- ❖ Imipramina (antidepressivo tricíclico, IMI; 15 mg/Kg, intra-peritoneal, i.p.; Sigma, EUA), dissolvida em salina estéril;
- ❖ Desipramina (inibidor de recaptação de noradrenalina 25mg/kg; i.p.; Sigma, EUA; Kelly and Iversen, 1976; Netto e cols., 2002);
- ❖ 5,7-DHT (neurotoxina seletiva para neurônios serotoninérgicos; 5,7-diidroxitriptamina; 8 $\mu\text{g}/1 \mu\text{l}$; Netto e cols., 2002);
- ❖ 2,2,2-Tribromoetanol (anestésico; Aldrich, EUA, 2,5%, 10 mL/Kg, i.p.), dissolvido em água destilada;

- ❖ Pentabiótico (Fontoura-Wyeth-Brasil, 0,2 mL/animal, intramuscular, i.m.), dissolvido em salina estéril;
- ❖ Banamine (flunixin meglumine, analgésico, anti-inflamatório e antitérmico; 5 mg/ml; s.c), dissolvido em salina estéril;
- ❖ Cloridrato de lidocaína (0,30 mg/mL) associado a vasoconstritor (0,2 mg/mL) (Novocol 100, S.S. White-Brasil; anestésico local , 0,2mL em dose única, subcutânea, s.c.).
- ❖ Uretana (anestésico para eutanásia; Aldrich, EUA; 25%; 5mL/kg; i.p.), dissolvido em água destilada.

3.3 Equipamentos

Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- ❖ Labirinto em Cruz Elevado (LCE): O LCE é constituído de dois braços abertos (50 x 10 cm) perpendiculares a dois braços fechados de mesma medida, mas circundados por paredes elevadas (40 cm de altura). Nos braços abertos, há uma barreira de 1 cm de plexiglass, que ajuda evitar a queda do animal desses braços. Todo o aparato encontra-se elevado 50 cm do solo (PELLOW et al., 1985);
- ❖ Câmera filmadora, acima do LCE, as imagens são transmitidas a um computador e armazenadas para análise posterior do comportamento dos animais no LCE;
- ❖ Restrição Forçada: foi realizada em gaiolas de aço inoxidável (20 cm de comprimento x 6,5 cm de largura), com teto removível e ajustável (de 3 a 4 cm de altura), o que permite ao animal realizar somente pequenos movimentos para frente e para trás;
- ❖ Aparelho estereotáxico para cirurgia em ratos (Stoelting);
- ❖ Bomba de infusão para administração central (KD Scientific, EUA);

- ❖ Bomba peristáltica com sete canais (SIBRALAD);
- ❖ Seringas Hamilton de 10 µl;
- ❖ Criostato (Modelo Cryocut 1800, Leica, Alemanha);
- ❖ Microscópio (Leica DM5500B) acoplado a câmera (DFC 5MP) para captura e análise das imagens do sítio de injeção;
- ❖ Agulhas gengivais 30 G (13 mm) para injeção intraencefálica;
- ❖ Agulhas hipodérmicas para administração de drogas (BD PrecisionGlide 0,60x25 23 G1 e 0,45x13 26 G);
- ❖ Lâminas e Lamínulas para microscopia (Precision Glass Line 26,0 × 76 mm e Knittel-Glass, respectivamente).

3.4 Procedimentos

Foram compostos os seguintes grupos experimentais representados na tabela 1, os quais serão melhor descritos no item Procedimentos.

Tabela 6: Grupos experimentais.

Cirurgia estereotáxica para lesão (L) ou não (V) do NMnR	Tempo de estresse	Tratamento farmacológico
Veículo (V)	Estresse crônico	Imipramina (IMI)
		Salina (SAL)
	Estresse agudo	Imipramina (IMI)
		Salina (SAL)
5, 7 – DHT (Lesão-L)	Estresse crônico	Imipramina (IMI)
		Salina (SAL)
	Estresse agudo	Imipramina (IMI)
		Salina (SAL)

3.4.1. Cirurgia Estereotáxica

Os animais, com sete semanas de idade, foram submetidos à cirurgia estereotáxica para lesão do NMnR. Brevemente, foram anestesiados com tribromoetanol e, em seguida, receberam uma injeção de desipramina com a finalidade de preservar os terminais noradrenérgicos. O intervalo de tempo entre a injeção da desipramina e a introdução da agulha no NMnR, descrita a seguir, foi de aproximadamente 20 minutos.

Em seguida, foi realizada a tricotomia da região da cabeça, e os animais foram fixados a um aparelho estereotáxico pelo rochedo temporal e incisivos superiores, com a barra dos incisivos -3,3 mm abaixo da linha interaural. Após a limpeza do campo cirúrgico com álcool iodado foi administrado, por via subcutânea em dose única de 0,2 mL, o anestésico local associado a um vasoconstritor. Em seguida, os animais receberam uma associação antibiótica de amplo espectro assim como de Flunixin Meglumine, a fim de prevenir possíveis infecções e auxiliar na recuperação dos animais.

Após a exposição e limpeza do crânio, foi realizada uma incisão longitudinal, expondo-se o crânio e removendo-se o perióstio por raspagem. Em seguida, dois orifícios foram perfurados, sendo um para a fixação de um parafuso (apoio à prótese de acrílico) e outro pelo qual uma agulha foi dirigida ao NMnR, segundo coordenadas do Atlas de Paxinos e Watson (1997) adaptadas (ântero-posterior: -7,3; lateral: 2,7; profundidade: -7,8; inclinação da haste: 18°), através da qual foi administrada a neurotoxina 5,7-DHT (8 µg/1 µl), durante sessenta segundos. Após o término da injeção, a agulha permaneceu por mais um minuto no sítio da injeção, e então foi lentamente removida. Nos dois orifícios foram colocados dois parafusos, e em seguida o crânio foi coberto por acrílico autopolimerizável.

Após a cirurgia, os animais voltaram a suas respectivas caixas e permaneceram no biotério em recuperação pelo período de uma semana.

3.4.2. Restrição Forçada e Teste no Labirinto em Cruz Elevado

Após o período de recuperação os animais foram submetidos ou ao estresse crônico de restrição (duas horas de restrição/dia, durante sete dias consecutivos) ou ao estresse agudo de restrição (único episódio de restrição/duas horas) (Figura 2). No período de restrição, os animais foram colocados em gaiolas de inox individuais e após o término deste período os animais voltaram para suas gaiolas-viveiro no biotério, onde foram mantidos aos pares como anteriormente se encontravam.

Figura 4- Estresse de restrição

Vinte e quatro horas depois do último episódio (no caso do estresse crônico) ou do episódio único (estresse agudo) os animais foram testados no LCE (Figura1).

Figura 5- Vista superior do LCE

No grupo de animais expostos agudamente à restrição forçada, foram utilizados ratos com oito semanas de idade, a fim de se comparar com os animais estressados cronicamente.

As sessões de teste no LCE foram filmadas e analisadas posteriormente. Foram analisados a porcentagem de frequência e de tempo despendidos nos braços abertos (%FA e %TA, respectivamente) e o número de entradas nos braços fechados do labirinto.

3.4.3. Tratamento farmacológico

Após o período de recuperação, os animais foram submetidos ao tratamento farmacológico, sendo administradas salina ou Imipramina i.p, de acordo com o grupo, por sete dias.

Os animais receberam duas injeções intraperitoneais diárias, com intervalo de aproximadamente 12 horas entre elas, de salina (1ml/kg) ou imipramina (15mg/kg; 1 ml/kg) durante sete dias consecutivos, sendo submetidos ao estresse crônico após a primeira injeção de cada dia ou ao estresse agudo (após a primeira injeção do sétimo dia de tratamento). Os animais foram testados no LCE no 8º dia.

3.4.4. Perfusão

Após o término do teste no LCE, os animais foram anestesiados e sofreram perfusão transcardíaca com salina (200 ml) seguida de paraformaldeído a 4% tamponada em PBS (*phosphate buffer saline*) 0,2 M, pH 7,4 (150 ml/rato). Em seguida, os encéfalos foram removidos e crioprotetidos em solução de sacarose a 30% (em PBS 0,01M, pH 7,4) durante 48 horas, quando foram congelados em isopentana por 30 segundos, sendo armazenados em *freezer* a -70°C até o momento da realização dos cortes histológicos.

3.4.5. Histologia e coloração das lâminas

Os encéfalos foram cortados em secções de 50 µm em um criostato, coletando-se o NMnR em toda sua extensão (figuras 47 à 51 do Atlas de Paxinos e Watson, 1986), e colocados em lâminas gelatinizadas.

No próximo dia, as lâminas foram coradas com Nissl e, após a secagem, foram cobertas com Permount e lamínula. Depois de secos, os cortes foram analisados no microscópio Leica DFC 290 para verificação dos sítios de injeções.

Para a configuração dos gráficos, foram considerados apenas o comportamento dos animais com o sítio de injeção no NMnR confirmados, embora os dados dos animais com o sítio de injeção em outra estrutura sejam de extrema importância por confirmar a especificidade da estrutura estudada, os mesmos não estão representados neste trabalho.

3.5. Estudos Comportamentais

3.5.1. Efeitos da lesão de neurônios serotoninérgicos do Núcleo Mediano da Rafe sobre o comportamento no LCE em ratos submetidos ao estresse crônico ou agudo.

Objetivo: *investigar os efeitos da lesão do NMnR sobre o comportamento de ratos estressados crônica ou agudamente.*

Os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para lesão do NMnR (ou não – grupo controle). Após o período previsto para recuperação, sofreram estresse de restrição (crônico ou agudo) e foram testados no LCE. Em seguida, foi realizada a perfusão para retirada do encéfalo.

Para a análise estatística dos estudos comportamentais, foram calculadas as médias da porcentagem de entradas nos braços abertos (%FA) e a porcentagem de tempo despendido nos braços abertos (%TA) em relação ao total.

O número total de entradas nos braços fechados (FF) foi utilizado como índice geral da atividade exploratória (PADOVAN e GUIMARÃES, 2000).

As médias das variáveis descritas acima foram analisadas utilizando-se Análise de Variância (ANOVA) de duas vias, considerando-se os fatores lesão (com ou sem) e o fator para tempo de estresse (agudo ou crônico). O valor considerado crítico para o p-valor foi de $p < 0,05$.

Foram utilizados apenas os animais cujos sítios de injeção foram confirmados para elaboração dos resultados.

3.5.2. Efeitos do tratamento crônico com imipramina em animais submetidos ao estresse crônico ou agudo e com lesão do NMnR sobre o comportamento no LCE.

Objetivo: investigar se o tratamento crônico com imipramina em animais com lesão do NMnR atenua os efeitos da exposição ao estresse repetido.

Os animais foram submetidos ao mesmo procedimento citado anteriormente para a realização da cirurgia para lesão (ou não – grupo controle) dos neurônios serotoninérgicos do NMnR. Sete dias após a cirurgia, os animais foram divididos novamente em dois grupos de acordo com o tratamento farmacológico que iriam receber (salina ou Imipramina). Todos os animais receberam tratamento farmacológico crônico, independente do tempo de estresse (agudo ou crônico).

Figura 6- Desenho do protocolo experimental do estudo “Efeitos do tratamento crônico com imipramina em animais submetidos ao estresse crônico e com lesão do NMnR sobre o comportamento no LCE”.

Figura 7- Desenho do protocolo experimental do estudo “Efeitos do tratamento crônico com imipramina em animais submetidos ao estresse agudo e com lesão do NMnR sobre o comportamento no LCE”.

Após os testes comportamentais os animais foram anestesiados e perfundidos, tendo seus encéfalos removidos para confirmação do sítio de injeção, como descrito anteriormente.

Para esta análise estatística foi realizada a Anova de três vias, considerando-se os fatores lesão (com ou sem), o fator para tempo de estresse (agudo ou crônico) e o fator para tratamento (Imipramina ou Salina), também considerando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os resultados estão apresentados nas Figuras de 8 a 10.

Na Figura 8 pode-se observar uma fotomicrografia de um sítio de injeção confirmado para lesão do NMnR.

Figura 8: Sítio de injeção da neurotoxina 5,7-DHT no NMnR de ratos adultos. A figura mostra uma fotomicrografia do sítio de lesão neuroquímica com a neurotoxina 5,7-DHT no NMnR de ratos, conforme indicado pela seta. A barra em negrito no canto direito inferior da figura indica 1,0mm.

As Figuras 9 e 10 são constituídas de dois painéis, os painéis superiores ilustram a FF enquanto os inferiores mostram as % FA (barras claras) e %TA (barras escuras).

A Figura 9 mostra os resultados dos animais com e sem lesão do NMnR tratados cronicamente com Imipramina ou Salina e que foram submetidos ao **estresse de restrição agudo**. Nestes animais, a Anova de três vias revelou diferenças estatisticamente significantes da FF para o fator cirurgia ($F_{1,61}=14,42$; $p<0,05$), tratamento ($F_{1,61}=6,13$; $p<0,05$) e na interação entre os fatores cirurgia e tratamento ($F_{1,61}=5,54$; $p<0,05$).

Na %FA também foram encontradas diferenças estatísticas significativas para os fatores estudados, a saber, fator cirurgia ($F_{1,61}=8,32$; $p<0,05$), fator tratamento

($F_{1,61}=14,90$; $p<0,05$), porém não na interação entre tratamento e cirurgia ($F_{1,61}=7,85$; $p>0,05$).

Na %TA observou-se diferença estatística no fator cirurgia ($F_{1,61}=10,40$; $p<0,05$) e para o fator tratamento ($F_{1,61}=26,87$; $p<0,05$). Já na interação entre os fatores cirurgia e tratamento não foi encontrada diferença significativa ($F_{1,61}=5,36$; $p>0,05$).

Figura 9: Imipramina administrada cronicamente previne os efeitos da exposição ao estresse agudo de restrição em animais testados no LCE. O painel superior mostra as médias+EPM da FF e o painel inferior apresenta as médias+EPM do %FA (barras claras) e da % TA (barras escuras). O asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (ANOVA de três vias seguida de Duncan). O número inferior indica o número de animais em cada grupo.

A Figura 4 mostra os resultados da atividade exploratória do LCE de animais estressados cronicamente.

Não foram observadas diferenças estatísticas na FF para os fatores cirurgia ($F_{1,46}=1,288$; $p>0,05$), tratamento ($F_{1,46}=0,169$; $p>0,05$) e interação entre estes fatores ($F_{1,46}=0,566$; $p>0,05$).

Na %FA, houve diferenças estatísticas para os fatores cirurgia ($F_{1,46}=7,014$; $p<0,05$), tratamento ($F_{1,46}=26,65$; $p<0,05$) e na interação entre o fator cirurgia e tratamento ($F_{1,46}=4,60$; $p<0,05$).

Ainda, na %TA o teste estatístico não mostrou diferença significativa para o fator cirurgia ($F_{1,46}=0,50$; $p>0,05$). Entretanto, indicou diferença estatística para o fator tratamento ($F_{1,46}=10,44$ $p<0,05$). Na interação entre o fator tratamento e cirurgia esta diferença não foi observada ($F_{1,46}=1,20$; $p>0,05$).

Figura 10: Imipramina administrada cronicamente atenua os efeitos da exposição ao estresse repetido de restrição em animais testados no LCE. O painel superior mostra as médias+EPM da FF e o painel inferior apresenta as médias+EPM do %FA (barras claras) e da % TA (barras escuras). O asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (ANOVA de três vias seguida de Duncan). O número inferior indica o número de animais em cada grupo.

DISCUSSÃO

Antidepressivos, com diferentes estruturas químicas, são capazes de aumentar de forma aguda a disponibilidade sináptica de um ou mais neurotransmissores (GUIMARÃES, 2005). Mesmo com esta resposta aguda, estes fármacos demoram de 2 a 4 semanas para que se observasse eficácia clínica. Estes dados sugerem que mudanças adaptativas na neurotransmissão estejam ocorrendo para que a melhora dos sintomas depressivos sejam observadas (STAHL, 1997).

Embora em humanos os antidepressivos tenham janela terapêutica de 2-4 semanas, em ratos este efeito também pode ser observado em um período menor de tempo. No presente estudo, o ADT imipramina foi administrado duas vezes ao dia por 7 dias, o que pode ser considerado como administração crônica. Porém, a literatura ainda é controversa quanto qual seria o período mínimo de administração de um fármaco para que tal procedimento, seja considerado como crônico ou subcrônico. Alguns pesquisadores consideram como tratamento crônico o período de 10 dias (ALPERS e HIMWICH, 1972), 21 dias (JOCA, PADOVAN e GUIMARÃES, 2003) e de sete dias (SMITH, et al. 2005). No presente estudo utilizamos um período de tratamento de sete dias.

Reforçando a importância do tempo de tratamento na obtenção de efeitos antidepressivos e, considerando, ainda, a nomenclatura discutida no parágrafo anterior, Li, Muma e Kar (1996) realizaram um estudo, no qual os animais foram tratados por diferentes períodos com fluoxetina, um inibidor de recaptação seletivo para serotonina. Especificamente, esses pesquisadores administraram a fluoxetina por 3, 7, 14 ou 22 dias, uma vez ao dia. Dezoito horas após a última injeção de fluoxetina os ratos receberam uma injeção de 8-OH-DPAT (agonista de 5-HT_{1a}R) nas concentrações de 0, 50, 200 ou 500 µg/kg; subcutânea (s.c.) e, após 15 minutos, foram decapitados para avaliação dos níveis plasmáticos de ACTH. Os resultados mostraram que a resposta de liberação de ACTH foi significativamente diminuída após o tratamento com fluoxetina, sendo que tal redução apareceu depois dos 3 dias e alcançou o efeito máximo aos 14 dias para a dose de 50 µg/kg de 8-OH-DPAT. Esses resultados mostram que até mesmo curtos períodos de tempo auxiliam na redução da liberação de hormônios relacionados ao estresse, sugerindo que os efeitos antidepressivos aparecem logo no início do tratamento com essa classe de medicamentos, atingindo seus efeitos máximos em períodos prolongados. Entretanto, deve-se ressaltar que as conclusões a serem retiradas de estudos como o realizado por Li et al. (1996) devem considerar não só o período de tratamento

realizado, como também a frequência da administração diária, além de parâmetros farmacocinéticos de cada composto antidepressivo utilizado (por exemplo, meia-vida e a existência de metabólitos ativos).

Embora muitos estudos tenham surgido para elucidar o mecanismo neural dos antidepressivos ainda não se sabe ao certo o motivo para a latência entre o início do uso e seus efeitos no estado depressivo.

Para que estas pesquisas sejam possíveis, vários modelos animais têm sido rigorosamente validados para este propósito. Geralmente, nestes modelos, os animais são expostos a eventos estressantes inescapáveis e seu comportamento é estudado durante ou após os eventos aversivos (WILLNER, 1990).

A exposição a estressores incontrolláveis/inescapáveis, como os estressores ambientais, por exemplo, de mudança de temperatura e disponibilidade de alimento tem sido considerada um forte fator na etiologia dos transtornos de humor (POST, 1992) e estudos em animais de laboratório mostram efeitos comportamentais significativos após tal exposição. A equipe do pesquisador Guimarães realizou vários estudos que sugerem que experiências estressantes prévias são capazes de alterar a resposta dos animais a novos estímulos aversivos (GUIMARÃES, 1993; MENDONÇA e GUIMARÃES, 1998^a; MENDONÇA e GUIMARÃES, 1998 b, PADOVAN e GUIMARÃES, 2000). Esta equipe verificou que o estresse de restrição por 2 horas é capaz de causar um déficit na exploração de um campo aberto ou de um LCE após o estresse.

Ainda a respeito da relação entre estresse e serotonina nos transtornos afetivos, há fortes evidências de que a neurotransmissão serotoninérgica seja sensível aos fatores estressantes. É sabido que a adaptação à imobilização forçada é acompanhada do aumento de sensibilidade de receptores de serotonina (DEAKIN, 1991) e que a administração de agonista 5-HT_{1A} é capaz de prevenir os danos comportamentais provocados pelo estresse e de causar a Síndrome Serotoninérgica (KENETT, 1987). Esta síndrome é caracterizada por vários sinais que incluem abdução dos membros posteriores, tremores de patas anteriores (*"piano playing"*) e achatamento do corpo (KENETT, 1987).

Handley e Mithany foram os primeiros a empregar o modelo do LCE e observaram um maior número de entradas nos braços fechados quando comparados com o aberto, devido aos estímulos naturais de novidade impostos pelas condições do modelo (LISTER, 1990). Contudo, a administração de fármacos

ansiolíticos pode atenuar este comportamento (PELLOW e FILE, 1986). Ainda, com base no estudo de Padovan e Guimarães (2000) que observaram que o LCE também é um modelo animal capaz de se avaliar os efeitos comportamentais decorrentes da exposição ao estresse, o presente trabalho utilizou-se destes modelos para verificar se o tratamento crônico com imipramina era capaz de reverter os efeitos da exposição ao estresse crônico e agudo.

A maioria dos estudos com animais expostos à restrição forçada repetida (estresse crônico) e submetidos ao LCE 24 horas após a última exposição ao evento estressor indicaram que os animais desenvolvem tolerância a este estressor, visto que a atividade exploratória deste aparato é bastante semelhante à de animais não expostos a estressores de nenhuma natureza. Entretanto, quando expostos a um único episódio de estresse, esses animais apresentaram uma diminuição na exploração dos braços abertos (PADOVAN E GUIMARAES, 2000).

Em nosso laboratório, observamos previamente que a exposição a um único episódio de estresse de restrição diminuiu a exploração dos braços abertos, efeito este que não foi observado quando os animais foram submetidos a este estressor durante sete dias consecutivos (2 horas/dia). Estes achados estão de acordo com a literatura (PADOVAN e GUIMARÃES, 2000; KENNETT, 1985). Assim, demos continuidade ao projeto, primeiramente buscando repetir os resultados encontrados por Neto e cols. (2002) e por Andrade e cols. (2001). Nesses estudos, esses pesquisadores promoveram a lesão dos neurônios serotoninérgicos do NMnR e submeteram os animais a episódios agudos ou repetidos de estresse de restrição.

Nossos resultados mostraram que animais submetidos ao estresse agudo, apresentaram uma hipoatividade no LCE, na ausência de lesão do NMnR, resultado este que está de acordo com a literatura (PADOVAN e GUIMARÃES; 2000, NETTO et al., 2002; ANDRADE et al., 2001). Segundo a teoria de Deakin e Graeff, a adaptação aos eventos estressantes ocorre quando o evento aversivo é repetido, fenômeno este não observado quando o animal é exposto a um estresse agudo (DEAKIN, 1991).

O objetivo central de nosso estudo foi investigar se a integridade da via serotoninérgica NMnR-Hipocampo seria essencial para os efeitos antidepressivos da Imipramina.

Primeiramente observamos que o tratamento crônico com a IMI é capaz de prevenir e/ou atenuar os danos comportamentais ocasionados pelo estresse agudo.

Este achado concorda com o estudo realizado por Plaznik e colaboradores (1993) que verificaram que o pré-tratamento com imipramina atenua o efeito do estresse agudo por isolamento sobre o comportamento locomotor e exploratório.

Já nos animais com lesão do NMnR e submetidos agudamente ao estresse de restrição, observamos que o tratamento com Imipramina não alterou os níveis de exploração do LCE, quando comparados ao grupo controle (Lesão+Salina). Estes resultados reforçam a importância do funcionamento adequado da via NMnR-HD para a ocorrência de eventos de natureza aversiva para o organismo na elaboração de suas respostas comportamentais.

A explicação para este resultado pode estar relacionada com a função das diferentes estruturas encefálicas envolvidas na mediação das respostas adaptativas a estressores agudos. Há evidências de que seja o hipocampo a estrutura responsável por tais efeitos, por promover a desconexão das associações aversivas, aprendidas previamente, de suas consequências comportamentais (DEAKIN e GRAEFF, 1991). Assim, a projeção NMnR-Hipocampo atenuaria a formação da memória aversiva e diminuiria a resposta do hipocampo aos eventos estressores repetidos (VERTES et al. 1999). Por outro lado, na ausência dessas conexões e mediante um único episódio estressante, o hipocampo não seria “informado” da ocorrência desse evento, permitindo, dessa maneira, a adaptação do animal.

Entretanto, quando os animais são expostos repetidamente ao um mesmo estressor, observamos que os animais com lesão apresentam uma marcada diminuição da exploração dos braços abertos do LCE, em comparação a animais controles. Esses resultados estão de acordo com a proposta teórica de Deakin e Graeff (1991) e reforçam a importância desta via no desenvolvimento de tolerância ao estresse, promovendo a adaptação do animal frente a esses eventos repetidos.

Quando estes animais foram tratados com Imipramina, observou-se um aumento na atividade exploratória dos braços abertos do LCE, tanto no grupo controle (Veículo+IMI) quanto no grupo submetido à lesão (Lesão+IMI).

No que se refere ao grupo controle (Veículo+IMI), o aumento da atividade exploratória observado pode ser explicado por uma maior sensibilização na neurotransmissão serotoninérgica. Como descrito por Kennett e colaboradores. (1987), a exposição a eventos estressores repetidos/crônicos leva a uma sensibilização do sistema serotoninérgico. Nessas condições, e mediante o tratamento com agonistas serotoninérgicos como o 5-Me-DMT (KENNETT et al.,

1987), estes efeitos seriam intensificados, levando ao desenvolvimento da Síndrome Serotoninérgica. Assim sendo, é possível que, em nosso estudo, a exposição repetida ao estresse de restrição forçada aliada ao tratamento crônico com IMI tenha promovido uma maior sensibilização do sistema serotoninérgico, resultando em uma maior atividade exploratória dos braços abertos. Para garantir que este maior número de entradas nos braços abertos não foi devido a alterações locomotoras dos animais, foi comparado por meio de teste estatística o número de entrada nos braços fechados, comparando-as entre os grupos veículo e lesão e com e sem drogas e não foram observadas diferenças estatísticas que apoiassem a idéia de uma alteração locomotora.

Embora seja possível uma maior sensibilização do sistema de serotonina nos nossos animais, não observamos sinais evidentes da síndrome serotoninérgica em nossos animais como descrito no estudo de Kennet e colaboradores (1985).

Por outro lado, o tratamento crônico com IMI em animais com lesão do NMnR atenuou os efeitos da exposição repetida ao estresse de restrição forçada. Esses resultados são contrários a nossa hipótese inicial e sugerem que a integridade da via NMnR-Hipocampo não é imprescindível para a eficácia do tratamento farmacológico com IMI. A explicação para estes resultados não está clara e o assunto carece de maior investigação.

Uma possível explicação pode ser baseada no fato de que a IMI é um fármaco, cujo mecanismo de ação agudo é o bloqueio da recaptação de noradrenalina e/ou serotonina. Além disso, seus metabólitos possuem ação sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). O principal metabólito ativo da imipramina é a Desipramina, cujo mecanismo de ação agudo é a inibição da recaptação da noradrenalina, que também é conhecida por seus efeitos antidepressivos quando administrada cronicamente. Assim sendo, é possível que os efeitos do tratamento crônico com IMI sobre os sistemas noradrenérgicos existentes tenham compensado a ausência da via serotoninérgica NMnR-Hipocampo, levando o animal a desenvolver tolerância aos efeitos do estresse, visto que foi realizado tratamento sistêmico.

Entretanto, dados da literatura contradizem essa proposição. Alters e Himwich (1972) mostraram que a administração de IMI por dez dias não alterou os níveis de noradrenalina no SNC. Se tal alteração fosse encontrada, os resultados do

tratamento com IMI poderiam ser atribuídos somente à facilitação da neurotransmissão noradrenérgica e não serotoninérgica, como proposto. Entretanto, para se descartar completamente a ação do sistema noradrenérgico sobre os efeitos observados após o tratamento crônico com a Imipramina, seria interessante repetir este estudo utilizando uma droga Inibidora Seletiva de Recaptação de Serotonina (ISRS), como a fluoxetina, como já havia sido considerado anteriormente por nosso grupo de estudo.

Porém, outra evidência importante descrita na literatura é a de que a própria fluoxetina também é capaz de aumentar os níveis de noradrenalina no córtex cerebral, possivelmente devido à ação de seus metabólitos sobre a inibição da recaptação de noradrenalina (KOBAYASHI et al., 2008; LINO-DE-OLIVEIRA et al., 2001).

Baseado no que foi discutido anteriormente, os resultados prévios encontrados até o momento contrapõem-se a nossa hipótese inicial de que a integridade da via NMnR-Hipocampo seria essencial para os efeitos antidepressivos do tratamento crônico com IMI em animais com lesão do NMnR e submetidos ao estresse repetido de restrição forçada.

No entanto, estudos adicionais devem ser conduzidos para a elucidação destes achados.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nos permitem concluir que:

- A exposição aguda ao estresse de restrição promove uma diminuição na atividade exploratória do LCE;
- Estes efeitos foram atenuados pelo tratamento crônico com IMI;
- O estresse repetido levou ao desenvolvimento de tolerância ao mesmo;
- Este efeito não foi observado quando os animais tiveram seus neurônios serotoninérgicos do NMnR quimicamente lesados com 5,7DHT;
- A integridade da via NMnR-Hipocampo não é essencial para os efeitos antidepressivos do tratamento crônico com IMI.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, I. M.; NUTT, D. J.; DEAKIN, J. F. Evidence-based guidelines for treating depressive disorders with antidepressants: a revision of the 1993 British Association for Psychopharmacology guidelines. British Association for Psychopharmacology. **J Psychopharmacol**, v. 14, n. 1, p. 3-20, 2000.

ADELL, A.; CASANOVAS, J. M.; ARTIGAS, F. Comparative study in the rat of the actions of different types of stress on the release of 5-HT in raphe nuclei and forebrain areas. **Neuropharmacology**, v. 36, n. 4-5, p. 735-741, 1997.

ALONSO, R.; GRIEBEL, G.; PAVONE, G.; STEMMELIN, J.; LE FUR, G.; SOUBRIE, P. Blockade of CRF1 or V1B receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. **Molecular Psychiatry**, v. 9, p. 278-286, 2004.

ALPERS, S.; HIMWICH, H. E. The effects of chronic imipramine administration on rat brain levels of serotonin, 5-hydroxyindoleacetic acid, norepinephrine and dopamine, **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 180, p. 531, 1972.

ALTMAN, J. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 137, n. 4, p. 433-457, 1969.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. 4ª ed., Artes Médicas, 1995. p. 303-11.

ANDRADE, T.G.; GRAEFF, F.G. Effect of electrolytic and neurotoxic lesions of the median raphe nucleus on anxiety and stress. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 70, n. 1, p. 1-14, 2001.

BAHLS, S. C. Depressão: uma breve revisão dos fundamentos biológicos e cognitivos. **Interação**, v. 3, p. 49-60, 1999.

BAHLS, S. C.; BAHLS, F. R.C. Depressão na adolescência: características clínicas. **Interação em Psicologia**, v. 6, n. 1, p. 49-57, 2002.

BALDESSARINI, R. J. Tratamento farmacológico da depressão e dos transtornos de ansiedade. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARJER, K. L. Goodman & Gilman, as bases farmacológicas de terapêutica. 11ª edição, Artmed, Porto Alegre, 2010, p. 383-410.

BAYER, S. A.. Changes in the total number of dentate granule cells in juvenile and adult rats: a correlated volumetric and ^3H -thymidine autoradiographic study. **Experimental Brain Research**, v. 46, p. 315-323, 1982.

BLIER, P.; MONTIGNY, C. Current advances and trends in the treatment of depression. **Trends in Pharmacological Science**, v. 15, p. 220-225, 1994.

BRANDÃO, M.L. Comportamento emocional. In: As bases biológicas do comportamento: Introdução à neurociência. 1 edição, EPU, São Paulo, 2004, cap. 7, p. 118- 140

BREZUN, J. M.; DASZUTA, A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. **Neuroscience**, v. 89, n. 4, p. 999-1002, 1999.

BROWN, J. P.; Couillard-Despress, S.; Cooper_kuhn, C. M.; Winkler, J.; Aigner, L. and Kuhn, H. G.. Transient expression of doublecortin during adult neurogenesis. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 467, p. 1-10; 2003.

CAMERON, H. A.; McEWEN, B. S.; GOULD, E. Regulation of adult neurogenesis by excitatory input and NMDA receptor activation in the dentate gyrus. **Journal of Neuroscience**, v. 6, p. 4687-92, 1995.

CAMERON, H.; GOULD, E. Distinct populations of cells in the adult dentate gyrus undergo mitosis or apoptosis in response to adrenalectomy. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 369, p. 56-63, 1996.

CAMERON, H.; GOULD, E.. Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. **Neuroscience**. (2):203-209, 1994.

CAMERON, H.; TANAPAT, P.; GOULD, E. Adrenal steroids and N-methyl-D-aspartate receptor activation regulate neurogenesis in the dentate gyrus of adult rats through a common pathway. **Neuroscience**, v. 82, n. 2, p. 349-354, 1998.

CASSANO, P.; FAVA, M. Depression and public health: An overview. *Journal of Psychosomatic Research*. v. 53, n. 4, p. 849-857, 2002.

COUILLARD-DESPRESS, S.; WINNER, B.; SCHAUBEK, S.; AIGNER, R.; VROEMEN, M.; WEIDNER, N.; BOGDAHN, U.; WINKLER, J.; KUHN, H. G.; AIGNER, L. Doublecortin expression levels in adult brain reflect neurogenesis. **European Journal of Neuroscience**, v. 21, p. 1-14, 2005.

CROSS-NATIONAL COLLABORATIVE GROUP. The changing rate of major depression. Cross National comparisons. *Journal of the American Medical Association*. v. 268, n. 21, p. 3098-3105, 1992.

DEAKIN, J. F. W.; GRAEFF, F. G. 5-HT and mechanisms of defence. **Journal of Psychopharmacology**, v. 5, p. 305-315, 1991.

DUMAN, R. S.; NAKAGAWA, S.; MALBERG, J. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. **Neuropsychopharmacology**, v. 2, p. 836-844, 2001a.

DUMAN, R. S.; MALBERG, J.; NAKAGAWA, S.. Regulation of adult neurogenesis by psychotropic drugs and stress. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 299, p. 401-407, 2001b.

ERIKSSON, P. S.; PERFILIERA, E.; BJORK-ERIKSSON, T.; ALBORN, A. M.; NORDLBORG, C.; PETERSON, D. A. Neurogenesis in the adult human hippocampus. **Nature Med**, n. 11, p. 1313-1317, 1998.

FLECKA, M. P. A.; LIMA, A. F. B. S.; LOUZADA, S.; SCHESTASKY, G.; HENRIQUES, A.; BORGES, V. R.; CAMEYB, S.; LIDO, G. Associação entre sintomas depressivos e funcionamento social em cuidados primários à saúde. **Rev Saúde Pública**, v. 36, n. 4, p. 431-8, 2002.

GAGE, F. Mammalian neural stem cells. **Science**, v. 287, p. 1433-1438, 2000.

GALEA, L. A. M.; SPRITZER, M. D.; BARKER, J. M.; PAWLUSKI, J. L. Gonadal Hormone Modulation of Hippocampal Neurogenesis in the Adult. **Hippocampus**, v. 16, p. 225-232., 2006.

GARTSIDE, S. E.; COLE, A. J.; WILLIAMS, A. P.; MCQUADE, R.; JUDGE, S. J. AMPA and NMDA receptor regulation of firing activity in 5-HT neurons of the dorsal and median raphe nuclei. **European Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 10, p. 3001-3008, 2007.

GOULD, E.; TANAPAT, P. Stress and hippocampal neurogenesis. **Biological Psychiatry**, v. 46, p. 1472-1479, 1999.

GOULD, E.; McEWEN, B. S. Neuronal birth and death. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 5, p. 676-682, 1993.

GOULD, E.; McEWEN, B. S.; TANAPAT, P.; GALEA L. A. M. AND FUCHS, E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. **Journal of Neuroscience**, v. 17, n. 7, p. 2492-2498, 1997.

GOULD, E.; TANAPAT, P.; McEWEN, B. S.; FLUGGE, G.; FUCHS, E. Proliferation of granule cells precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. **Proc Natl Acad Sci USA**, n. 5, p. 3168-3171, 1998.

GRAEFF, F. G. Bases biológicas do transtorno de estresse pós-traumático. **Rev. Bras. Psiquiatr.** v. 25, n. 1, p. 21-24, 2003.

GUIMARÃES, F. S. Distúrbios de humor. In: GRAEFF, F. G. BRANDÃO, M. L. Neurobiologia das doenças mentais. 1ª edição, Lemos, São Paulo, 1993, cap.4, p. 79-107.

GUIMARÃES, F. S. Medicamentos antidepressivos e estabilizadores do humor. In: GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**, 1ª edição. Atheneu: São Paulo, 1999. cap. 6, p. 93-122.

GUIMARÃES, F. S.; CAROBREZ, A. P.; AGUIAR, J. C.; GRAEFF, F. G. Anxiolytic effect in the elevated plus-maze of the NMDA receptor antagonist AP7 microinjected into the dorsal periaqueductal grey. **Psychopharmacology**, v. 103, n. 1, p. 91-94, 1991.

HAROLD, B. S. M.; MILLIKEN, M. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. **Brain Research**, v. 886, p. 172-189, 2000.

HERMAN, J. P.; CULLINAN, W. E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. **Trends Neurosci**, v. 20, n. 78-84, 1997.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v. 71, n. 4, p. 533-554, 2002.

HUANG, Y. H.; CHENG, C. Y.; HONG, C. J.; TSAI, S. J. Expression of c-Fos-like immunoreactivity in the brain of mice with learned helplessness. **Neuroscience Letters**, v. 363, n. 3, p. 280-283, 2004.

HUANG, G. J.; HERBERT, J. Serotonin modulates the suppressive effects of corticosterone on proliferating progenitor cells in the dentate gyrus of the hippocampus in the adult rat. **Neuropsychopharmacology**, v. 30, p. 231-241, 2005.

JACOB, B. L.; PRAAG, H.; GAGE, F. Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. **Mol Psychiatry**, n. 3, p. 262-269, 2000.

JOCA, S. R.; PADOVAN, C. M.; GUIMARAES, F. S. Activation of post-synaptic 5-HT(1A) receptors in the dorsal hippocampus prevents learned helplessness development. **Brain Research**, v. 978, n.1-2, p. 177- 184, 2003.

JUDD, L. L. The clinical course of unipolar major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry*, v. 54, p. 989-91, 1997.

KAPLAN H. I.; SADOCK, B. J.; GREBB, J. A. Transtornos do humor. In: KAPLAN H. I.; SADOCK, B. J.; GREBB, J. A. *Compêndio de psiquiatria*. 7ª Ed. Artmed, Posto alegre, 1997, cap. 15, p. 493-544.

KELLY, P. H.; IVERSEN, S. D. Selective 6OHDA-induced destruction of mesolimbic dopamine neurons: abolition of psychostimulant-induced locomotor activity in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 40, n. 1, p. 45-56, 1976.

KEMPERMAN, G.. Regulation of adult hippocampal neurogenesis – implications for novel theories of major depression. **Bipolar Disorders**, v. 4, p. 17-33, 2002.

KENNET, G. A.; DICKINSON, S. L.; CURZON, G. Enhancement of some 5-HT dependent behavioral responses following repeated immobilization in rats. **Brain Research**, v. 330, p. 253-263, 1985.

KENNET, G. A.; DOURISH, C. T.; CURZON, G. Antidepressant-like action of 5-HT_{1A} agonists and conventional antidepressants in an animal model of depression. **European Journal of Pharmacology**, v. 134, p. 265-274, 1987.

KESSEL, J. B.; SIMPSON, G. M.; Tricyclic, tetracyclic, drugs. In: KAPLAN H. I. , SADOCK B. J. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. 6th ed. Baltimore: Williams e Wilkins; p. 2096-112, 1995.

KOBAYASHI,K. YUMIKO IKEDA, Y. HANEDA, E.; SUZIKI, H. Chronic Fluoxetine Bidirectionally Modulates Potentiating Effects of Serotonin on the Hippocampal Mossy Fiber Synaptic Transmission. **The Journal of Neuroscience**. v. 28, n.24, p. 6272– 628, 2008

LI, Q.; MUMA, N.A; VAN DE KAR, L. D. Chronic fluoxetine induces a gradual desensitization of 5-HT_{1A} receptors: Reductions in hypothalamic and midbrain g_i and g_o proteins and in neuroendocrine responses to a 5-HT_{1A} agonist. **J Pharmacol Exp Ther**. v. **279**, p. 1035–1042, 1996.

LIMA, M. S. Epidemiologia e impacto social. **Rev Bras Psiquiatria**, - Depressão - vol. 21 - maio 1999.

LISTERS, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacol. Ther.** v. 46, n. 3, p. 321-40, 1990.

MUIRHEAD, R. F. Stress - Its Definition.pdf. **Nature**,v. 64, n. 1652, p.207, 1901.

MAGARINOS, A. M.; MCEWEN, B. S.; FLUGGE, G.; FUCHS, E.. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. **Journal of Neuroscience**, v. 16, p. 3534-3540, 1996.

MALBERG, J.; EISCH, A. J.; DUMAN, R. S. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. **Journal of Neuroscience**, n. 24, p. 9104-9110, 2000.

MATSUDA, S.; PENG, H.; YOSHIMURA, H.; WEN, T. C.; FUKUDA, T.; SAKANAKA, M. Persistent c-fos expression in the brains of mice with chronic social stress. **Neurosci Res.**, v. 26, n. 2, p. 157-170, 1996.

McEWEN, B. S.; MILLIKEN, H.; MILLIKEN, M. **The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance.** Brain Research. v. 886, p. 172-189, 2000.

MOGHADDAM, B. Stress preferentially increases extraneuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex: comparison to hippocampus and basal ganglia. **Journal of Neurochemistry**, v. 60, n. 5, p. 1650-1657, 1993.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. M. Farmacologia de antidepressivos. **Rev. Bras. Psiquiatr.** v. 21, n. 1, 1999.

NESTLER, E. J.; GOULD, E.; MANJI, H.; BUCAN, M.; DUMAN, R.S.; GERSHENFELD, H.K.; HEN, R.; KOESTER, S.; LEDERHENDLER, I.; MEANEY, M. J.; T ROBBINS, T.; WINSKY, L.; ZALCMAN, S. Preclinical models: status of basis research in depression. **Biological Psychiatry**, v. 52, p. 503-528, 2002.

NESTLER, E. J.; BARROT, M.; DILEONE, R. J.; EISCH, A. J.; GOLD, S. J.; MONTEGGIA, L. M. Neurobiology of depression. **Neuron.**, v. 34, p. 13-25, 2002.

NETTO, S. M.; SILVEIRA, R.; COIMBRA, N. C.; JOCA, S. R.; GUIMARAES, F. S.; Anxiogenic effect of median raphe nucleus lesion in stressed rats. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 26, n. 6, p. 1135-41, 2002.

PADOVAN CM, GUIMARAES FS. Antidepressant-like effects of NMDA-receptor antagonist injected into the dorsal hippocampus of rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 77, n. 1, p. 15-19, 2004.

PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F.S. Restraint-induced hypoactivity in a elevated plus-maze. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 1, p. 79-83, 2000.

PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F.S. Attenuation of behavioral consequences of immobilization stress by intra-hippocampal microinjection of zimelidine. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 26, p. 1085-1089, 1993.

PAIZANIS, E.; HAMON, M; LANFUMEY, L.. Hippocampal neurogenesis, depressive disorders and antidepressant therapy. **Neural Plasticity**, 2007.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. Academic Press: New York, 1986.

PELLOW, S; CHOPIN, P.; FILE, S. BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 149-167, 1985.

PLAZNIK, A.; PLAJKO, W.; STEFANSKI, R.; KOSTOWSKI, W. Open field behavior of rats Reared in different social conditions: The effects of stress and imipramine. **Pol J Pharmacol.**, v. 45, n. 3, p. 243-52, 1993.

PORSOLT, R. D. Behavioral despair test. In: ENNA, S. J.; e cols. (eds): **Antidepressants: Neurochemical, behavioral and clinical perspectives**, Raven Press, 1981, p. 121-139.

PORSOLT, R. D.; ANTON, G.; BLAVET, N.; HALFRE, M. Behavioural despair in rats: a new models sensitive to antidepressant treatments. **European Journal of Pharmacology**, v. 47, p. 379-391, 1978.

PORSOLT, R.D.; LEPICHON, M., JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. **Nature**, v. 266, p. 730-732, 1977.

POST, R. M. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. **American Journal of Psychiatry**, v. 149, n. 8, p. 999-1010, 1992.

RANG; H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. Fármacos antidepressivos. In: RANG; H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. Farmacologia. 6ª edição, Elsevier, Rio de Janeiro, 2007, p. 557-574.

SAHAY, A.; HEN, R. Adult hippocampal neurogenesis in depression. **Nature Neuroscience**, v. 10, n. 9, p. 1110-1115, 2007.

SANBERG, C. D., JONES, F. L., DO, V.H., DIEGUEZ, D. JR, DERRICK, B. E. 5-HT_{1a} receptor antagonists block perforant path-dentate LTP induced in novel, but not familiar, environments. **Learn Mem.** V. 13, n. 1, p. 52-62, 2006.

SANTARELLI, L.; SAXE, M.; GROSS, C.; SURGET, A.; BATTAGLIA, F.; DULAWA, S.; WEISSTAUB, N.; LEE J.; DUMAN, R.; ARANCIO, O.; BELZUNG, C.; HEN, R. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. **Science**, v. 56, n. 4, p. 805-809, 2003.

SARGENT, P. A.; KJAER, K. H.; BENCH, C. J.; RABINER, E. A.; MESSA, C.; MEYER, J.; GUN, R. N.; GRASBY, P. M.; COWEN, P. Brain serotonin_{1A} receptor binding measured by positron emission topography with (¹¹C) WAY100635. **Arch Gen Psychiat**, v. 57, p. 17480, 2000.

SELYE, H.A. Syndrome produced by diverse nervous agents. **Nature**, n. 148, 1936.

SELIGMAN, M. E. P.; BEAGLEY, G. Learned helplessness in the rat. **Journal of comparative Physiology and Psychology**, v. 88, p. 534-541, 1975.

SELIGMAN, M. E. P.; MAIER, S. F. Failure to escape traumatic shock. **J. Exp. Psychol.** v. 74, n. 1, p. 1-9, 1967.

SHELIN, Y. I. 3D MRI studies of neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity. **Biological Psychiatry**, v. 8, p. 791-800, 2000.

SHELIN, Y. I.; WANG, P. W.; GADO, M. H.; CSERNANSKY, J. G.; VANNIER, M. W. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 9, p. 3908-3913, 1996.

SHORS, T. J.; MATHEW, J.; SISTI, H. M.; EDGECOMB, C.; BECKOFF, S.; DALLA C.. Neurogenesis and Helplessness are mediated by controllability in males but not in females. **Biological Psychiatry**, in press.

SONENREICH, C. ESTEVÃO, G., FRIEDRIC, S. SILVA FILHO, L. M. A. A evolução histórica do conceito de depressão. **Revista ABP-APAL**. v, 17, n. 1, p.29-40, 1995.

STAHL, S. M. **Psychopharmacology of antidepressants**. London: Martin Dunitz. p. 114, 1997.

STOCKMEIER, C. A.; MAHAJAN, G. J.; KONICK, L. C.; OVERHOLSER, J. C.; JURJUS, G. J.; MELTZER, H. Y.; UYLINGS, H. B.; FRIEDMAN, L.; RAJKOWSKA, G.

Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. **Biological Psychiatry**, v. 56, p. 640-650, 2004.

TAO, R.; AUERBACH, S. B. Differential effect of NMDA on extracellular serotonin in rat midbrain raphe and forebrain sites. **Journal of Neurochemistry**, v. 66, n. 3, p. 1067-75, 1996.

TITZE-DE-ALMEIDA, R.; OLIVEIRA, C. L.; SHIDA, H. W.; GUIMARAES, F. S.; Del Bel, E, A. Midazolam and the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist 2-amino-7-phosphonoheptanoic acid (AP-7) attenuate stress-induced expression of c-fos mRNA in the dentate gyrus. **Cell Mol Neurobiol.**, v. 14, n. 4, p. 373-380, 1994b.

TITZE-DE-ALMEIDA, R.; OLIVEIRA, C. L.; SHIDA, H. W.; GUIMARAES, F. S.; Del Bel, E, A.. Stress-induced expression of the c-fos proto-oncogene in the hippocampal formation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 27, n. 4, p. 1083-1088, 1994a.

TONI, N.; TENG, E. M.; BUSHONG, E. A.; AIMONE, J. B.; ZHAO, C.; CONSIGLIO, A.; VAN PRAAG, H.; MARTONE, M. E.; ELLISMAN, M. H.; GAGE, F. H. Synapse formation on neurons Born in the adult hippocampus. **Nature Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 727-734, 2007.

TRULLAS, R.; SKOLNICK, P. Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions. **European Journal of Pharmacology**, v. 185, n. 1, p. 1-10, 1990.

VAN DER BORGHT, K.; MEERLO, P.; LUITEN, P. G.; EGGEN, B. J.; VAN DER ZEE, E. A. Effects of active shock avoidance learning on hippocampal neurogenesis and plasma levels of corticosterone. **Behavioral Brain Research**, v. 157, n. 1, p. 23-30, 2005.

VERTES, R. P.; FORTIN, W. J.; CRANE, A, M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. **The J Comp Neurol**, n. 407, p. 555-82, 1999.

VOLLMAYR, B.; SIMONIS, C.; WEBER, S.; GASS, P. AND HENN, F.. Reduced cell proliferation in the dentate gyrus is not correlated with the development of learned helplessness. **Biological Psychiatry**, v.54, p. 1035-1040, 2003.

WARNER-SCHMIDT, J. L.; DUMAN, R. S. Hippocampal neurogenesis: opposing effects of stress and antidepressant treatment. **Hippocampus**, 2005.

WILLNER, P. Animal models of depression: an overview. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 45, p. 425-455, 1990.

WILLNER, P. **Depression, a psychological synthesis.** A Wiley-Interscience Publication. Eds. John Wiley and Sons, 1985.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), Disponível em: http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/, Acessado dia 10/01/2010.

WILLIAMS, J. W. J.; HOLSENGER, T. St. John's for depression, Worts and all. **BMJ**, v.5, p.350-351, 2005.