

PRISCILLA KARLA FERREIRA

**AÇÃO ANTIDEPRESSIVA DO ZINCO NO TESTE DO NADO
FORÇADO: UMA ABORDAGEM FARMACOLÓGICA**

Florianópolis, 2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**AÇÃO ANTIDEPRESSIVA DO ZINCO NO TESTE DO NADO
FORÇADO: UMA ABORDAGEM FARMACOLÓGICA**

Priscilla Karla Ferreira

Florianópolis, 2004

**AÇÃO ANTIDEPRESSIVA DO ZINCO NO TESTE DO NADO
FORÇADO: UMA ABORDAGEM FARMACOLÓGICA**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Santa Catarina, para a
obtenção do grau de Mestre em
Neurociências

Orientadora: Dra. Ana Lúcia Severo Rodrigues

Florianópolis, 2004

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais
voltará ao seu tamanho natural.”
Albert Einstein

Agradecimentos

Agradeço inicialmente à minha família, quem me incentivou a todo momento durante meus estudos e entenderam a ausência, o mau-humor e a distância aos quais corresponderam com muita compreensão, paciência, amor e carinho, principalmente à minha filha Isadora, que mesmo em sua tenra idade, percebeu a importância dos estudos para mim.

Agradeço também todo o apoio institucional oferecido pelos professores, mestrandos e tantos outros colegas da Universidade Federal de Santa Catarina que viabilizaram e viabilizam a continuidade do estudo acadêmico de alto nível de excelência, muito embora as dificuldades enfrentadas e alguns obstáculos ainda não transpostos, mas que certamente um dia serão. Lembrando ainda que muito do trabalho aqui desenvolvido não poderia ter sido realizado sem o apoio financeiro da CAPES e CPNq, que foram fundamentais nesta trajetória.

Agradeço especialmente minha orientadora, Ana Lúcia Severo Rodrigues, quem me ensinou e guiou sabiamente no imenso e curioso mundo da neurociência. O reconhecimento do seu trabalho em mim investido está aqui nestas páginas, que representam a alegria da exploração científica e a certeza de que pudemos contribuir, ainda que de forma singela, para a evolução da ciência.

Enfim, a todos que tornaram este trabalho possível – ainda que não tenham sido acima mencionados, mas que certamente foram lembrados – muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELA.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Zinco.....	1
1.2 Depressão.....	7
1.3 Neurotransmissores envolvidos na modulação da depressão.....	10
1.4 Tratamento da depressão.....	19
2. JUSTIFICATIVA.....	23
3. OBJETIVOS.....	24
3.1. Objetivo geral.....	24
3.2. Objetivos específicos.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1. Drogas e reagentes.....	25
4.2. Animais.....	25
4.3. Tratamento.....	26
5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA DO ZINCO.....	28
5.1. Teste do nado forçado (TNF).....	28
5.2. Estudo dos Mecanismos de Ação Antidepressiva do Zinco.....	30
5.2.1. Envolvimento do sistema dopaminérgico.....	30
5.2.2. Envolvimento dos subtipos de receptores serotoninérgicos 5-HT ₁ e 5-HT ₂	31
5.2.3. Envolvimento do sistema GABAérgico.....	32
5.2.4. Envolvimento do sistema opióide.....	33
5.2.5. Envolvimento dos canais de cálcio.....	34
5.2.6. Envolvimento dos canais de potássio.....	35
5.3. Análise estatística.....	36
6. RESULTADOS.....	37
6.1. Envolvimento do Sistema Dopaminérgico.....	37
6.2. Envolvimento dos Subtipos de Receptores Serotoninérgicos 5-HT ₁ e 5-HT ₂	39
6.3. Envolvimento do Sistema GABAérgico.....	41
6.4. Envolvimento do Sistema Opióide.....	43
6.5. Envolvimento dos canais de cálcio.....	45
6.6. Envolvimento dos canais de potássio.....	48
7. DISCUSSÃO.....	54
CONCLUSÃO.....	70
BIBLIOGRAFIA.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HIAA = ácido 5-hidróxi indol acético

5-HT = serotonina

5-HT_(...) = subtipos de receptores serotoninérgicos

AHV = ácido homovanílico

AMPA = α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico

AMPC = adenina monofosfato cíclico

ANT = linhagem de ratos não tolerantes ao álcool

AT = linhagem de ratos tolerantes ao álcool

ATP = adenina trifosfato

BDNF = fator neurotrófico derivado do cérebro

Bcl-2 = proteína antiapoptótica

Ca²⁺ = cálcio

CEUA = comissão de ética no uso de animais

COS-1 = células renais de macaco

CREB = proteína de ligação responsiva ao AMPC

D_(1ou 2) = receptores dopaminérgicos

DA = dopamina

DAT = transportador de dopamina

DIPPA = (2-(3,4-Diclorofenil)-N-metil-N-[S-1-(-3-isotilcianatofenil)-2-(-1-pirrolinil) etil] acetamida

DMSO = dimetilsulfóxido

DMT-1 = transportador de metal divalente

DNA = ácido desoxirribonucléico

DOPAC = ácido diidrofetilacético

DSM-IV = manual de diagnóstico e estatística das doenças mentais

E.P.M. = erro padrão da média

GABA = ácido- γ -aminobutírico

GAD = enzima catalisadora da formação do GABA a partir do glutamato

HPA = hipotálamo-pituitária-adrenal
i.c.v. = intracerebroventricular
i.p. = intraperitoneal
iMAO = inibidor da enzima monoamino oxidase
ISRD = antidepressivo inibidores da recaptção de dopamina
ISRN = antidepressivo inibidor seletivo da recaptção de noradrenalina
ISRS = antidepressivo inibidor seletivo da recaptção de serotonina
K⁺ = potássio
MAPKs = proteínas quinases ativadas por mitógenos
mRNA = ácido ribonucléico mensageiro
NA = noradrenalina
NGF = fator de crescimento neural
NMDA = N-metil-D-aspartato
NOS = óxido nítrico sintase
PCPA = p-clorofenilalanina metil éster
PET = tomografia por emissão de pósitrons
SNC = sistema nervoso central
TCA = antidepressivos tricíclicos
TEA = tetraetilamônio
TGI = trato gastrointestinal
TNF = teste do nado forçado
TSC = teste da suspensão da cauda
VSCC = canais de cálcio sensíveis a voltagem
Zn = zinco
ZnT-1 a ZnT-4 = transportadores de zinco

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Teste do Nado Forçado (TNF)	29
Figura 2. Efeito do pré-tratamento dos animais com haloperidol e com sulpirida.....	38
Figura 3. Efeito do pré-tratamento dos animais com pindolol, WAY 100635, isamoltane, ritanserina ou cetanserina	40
Figura 4. Efeito do pré-tratamento dos animais com bicuculina, baclofen e muscimol.....	42
Figura 5. Efeito do pré-tratamento dos animais com naltrindol, DIPPA e clocinamox.....	44
Figura 6. Efeito antidepressivo sinérgico da nifedipina com o cloreto de zinco.....	45
Figura 7. Efeito da administração de flunarizina.....	47
Figura 8. Efeito da administração de TEA.....	49
Figura 9. Efeito da administração de caribdotoxina.....	51
Figura 10. Efeito da administração de glibenclamida.....	53

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Diferenças entre transtornos unipolares e bipolares.....	8
---	---

RESUMO

O zinco está presente em altas concentrações no sistema nervoso central (SNC), especialmente nas fibras musgosas do hipocampo. Ele é considerado um importante modulador de transmissões sinápticas inibitórias e excitatórias. O envolvimento do zinco na fisiopatologia da depressão tem sido sugerido, pois este metal está reduzido no plasma de pacientes deprimidos e ele produz um efeito antidepressivo em roedores no teste do nado forçado (TNF), um modelo animal preditivo de atividade antidepressiva. Neste estudo o tratamento por via intraperitoneal (i.p.) de camundongos com cloreto de zinco (30 mg/kg) produziu efeito antidepressivo no TNF. A ação antidepressiva do cloreto de zinco no TNF foi revertida pelo pré-tratamento i.p. dos animais com haloperidol (0,2 mg/kg, antagonista dopaminérgico não seletivo), sulpirida (50 mg/kg, antagonista de receptores D₂-dopaminérgicos), pindolol (32 mg/kg, antagonista de receptores 5-HT_{1A/1B}), isamoltane (2,5 mg/kg, antagonista de receptores 5-HT_{1B}), WAY 100635 (0,3 mg/kg, s.c., antagonista seletivo de receptores 5-HT_{1A}), ritanserina (5 mg/kg, antagonista de receptores 5-HT_{2A/2C}), cetanserina (4 mg/kg, antagonista preferencial de receptores 5-HT_{2A}), baclofen (4 mg/kg, agonista de receptores GABA_B), bicuculina (1 mg/kg, antagonista de receptores GABA_A), naltrindol (3 mg/kg, antagonista de receptores δ -opioides), DIPPA (1 mg/kg, antagonista de receptores κ -opioides) ou clocinamox (1 mg/kg, antagonista de receptores μ -opioides). Além disso, o pré-tratamento de camundongos com doses sub-ativas de nifedipina (0,01 μ g/kg, i.p., bloqueador de canais de cálcio do tipo L), mas não de flunarizina (0,05 mg/kg, i.p., bloqueador de canais de cálcio do tipo T), foi capaz de potencializar o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.) no TNF. Finalmente, o pré-tratamento dos camundongos com doses sub-ativas de tetraetilamônio (TEA; 25 pg/sítio, i.c.v., inibidor inespecífico de canais de potássio), caribdotoxina (25 pg/sítio, i.c.v., inibidor de canal de potássio ativado por cálcio de moderada à alta condutância) ou glibenclamida (0,5 pg/sítio, i.c.v., inibidor de canal de potássio sensível ao ATP) também potencializou o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.) no TNF. Os resultados deste estudo sugerem que o efeito antidepressivo do zinco no TNF parece ser mediado pelos sistemas dopaminérgico (via receptores D₂-dopaminérgicos), serotoninérgico (via receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/C}), GABAérgico (via receptores GABA_A e GABA_B), opióide (via receptores μ , δ e κ -opioides), bem como pelos canais de cálcio do tipo L e pelos canais de potássio ativados por cálcio e/ou sensíveis ao ATP.

Apoio Financeiro: CNPq, CAPES.

ABSTRACT

Zinc is found at high concentrations in the central nervous system, especially in the hippocampal mossy fibers. It is considered an important modulator of inhibitory and excitatory synaptic transmissions. The involvement of zinc in the pathophysiology of depression has been suggested, since this metal is reduced in the plasma of depressed patients. Moreover, zinc produces an antidepressant-like effect in rodents in the forced swimming test (FST), an animal model predictive of antidepressant action. In this study the treatment of mice with zinc chloride (30 mg/kg) by the intraperitoneal (i.p.) route produced an antidepressant-like effect in FST. The antidepressant-like action of zinc chloride in FST was reversed by i.p. pre-treatment of the animals with haloperidol (0.2 mg/kg, a non-selective dopamine receptor antagonist), sulpiride (50 mg/kg, a selective D₂ receptor antagonist), pindolol (32 mg/kg, a 5-HT_{1A/1B} receptor antagonist), isamoltane (2.5 mg/kg, 5-HT_{1B} receptor antagonist), WAY 100635 (0.3 mg/kg, s.c., a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist), ritanserin (5 mg/kg, a 5-HT_{2A/2C} receptor antagonist), ketanserin (4 mg/kg, a preferential 5-HT_{2A} receptor antagonist), baclofen (4 mg/kg, a GABA_B receptor agonist), bicuculline (1 mg/kg, a GABA_A receptor antagonist), naltrindole (3 mg/kg, a δ -opioid receptor antagonist), DIPPA (1 mg/kg, a κ -opioid receptor antagonist) or clocinnamox (1 mg/kg, a μ -opioid receptor antagonist). Moreover, the pre-treatment of mice with sub-active doses of nifedipine (0.001 μ g/kg, i.p., a L-type calcium channel blocker), but not with flunarizine (0.05 mg/kg, i.p., a T-type calcium channel blocker) was able to produce a synergistic antidepressant-like effect with zinc chloride (5 mg/kg, i.p.) in FST. Furthermore, the pre-treatment of the mice with sub-active doses of tetraethylammonium (TEA; 25 pg/sítio, i.c.v., a non-specific inhibitor of potassium channels), charybdotoxin (25 pg/sítio, i.c.v., a large and intermediate conductance calcium-activated potassium channels inhibitor), or glibenclamide (0.5 pg/sítio, i.c.v., an ATP-sensitive potassium channels inhibitor) also produced a synergistic antidepressant-like effect with zinc chloride (5 mg/kg, i.p.) in the FST. Taken together, these results suggest that the antidepressant-like effect of zinc in the FST seems to be mediated by the dopaminergic (D₂-dopaminergic receptors), serotonergic (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/C} receptors), GABAergic (GABA_A e GABA_B receptors) and opioid (μ , δ e κ -opioid receptors) systems, as well as by L-type calcium channels or calcium-activated potassium channels and/or ATP-sensitive potassium channels.

Financial Support: CNPq, CAPES.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Zinco

O zinco, um metal de transição do grupo II b, tornou-se especialmente importante há mais de dois bilhões de anos atrás. Naquela época a atmosfera terrestre estava começando a ficar rica em oxigênio e o desenvolvimento da respiração celular introduziu espécies reativas de oxigênio perigosas para as células. Também nesta época, as células começaram a utilizar o zinco no lugar do ferro e do manganês em muitas proteínas, especialmente naquelas que interagem com o DNA. Desta forma, o zinco foi se tornando crítico para manutenção da integridade estrutural e funcional das células e dos tecidos. Porém, o conhecimento sobre a biologia celular deste metal teve sua origem a pouco mais de cinco décadas atrás, com a identificação de quantidades estequiométricas em metaloenzimas e através de técnicas colorimétricas de detecção. Desde então, tem sido demonstrado que o zinco é componente estrutural de mais de 300 metaloenzimas, assim como de numerosos fatores de transcrição. Nas enzimas suas funções são catalítica, coativa e estrutural (revisado por CHAI, 1999).

O zinco é obtido da dieta, sendo o segundo elemento traço mais abundante do organismo, ficando logo atrás do ferro. A absorção deste metal ocorre principalmente no trato gastrointestinal (TGI), que também é responsável pela maior parte da sua excreção. Portanto, o TGI é essencial para a manutenção da homeostasia do zinco no organismo. Após ser absorvido este metal atinge a corrente sanguínea onde se une com aminoácidos (cisteína ou

histidina – 1%) ou com proteínas (albumina – 84% e α_2 -macroglobulina – 14%). Desta forma, o zinco pode ser captado pelas células através de dois principais mecanismos, (1) através de um co-transporte zinco-albumina mediado por um receptor saturável e (2) por um co-transporte com ligantes, principalmente albumina e histidina, por um transportador não-saturável através de junções intercelulares. Além disso, ele também pode entrar nas células complexado com a cisteína ou com a histidina via mecanismo de transporte sódio/aminoácidos. Entretanto alguns ligantes como os fitatos e as fibras, podem se unir ao zinco não o deixando disponível para ser captado (revisado por TAPIERO e TEW, 2003).

A afinidade do zinco pelos seus ligantes no soro é extremamente relevante para o seu transporte via barreira hemato-encefálica. Um estudo com ratos que apresentavam uma mutação genética na expressão do mRNA da albumina verificou que esta não foi essencial para o transporte de zinco para o SNC (TAKEDA et al., 1997). Por outro lado, estudos *in vivo* e *in vitro* têm apontado a L-histidina como um importante ligante para o transporte do zinco ao SNC via barreira hemato-encefálica. A histidina parece transferir o zinco para proteínas de membrana como as DMT-1 (transportador de metal divalente) e/ou para transportadores de zinco ainda não identificados nas células dos capilares endoteliais do encéfalo (revisado por TAKEDA, 2000).

O zinco está presente em altas concentrações no sistema nervoso central (SNC), especialmente nas fibras musgosas do hipocampo (CHOI e KOH, 1998). As regiões do hipocampo e da amígdala possuem altas densidades de neurônios glutamatérgicos que contêm zinco. Porém, nem todos os neurônios glutamatérgicos contêm este metal (revisado por TAKEDA, 2000). No SNC, aproximadamente 90% do zinco está nas metaloproteínas. O restante se encontra nas vesículas pré-sinápticas onde ele é estocado. Apenas uma pequena parte do zinco é encontrado na forma livre no encéfalo. A concentração intracelular de zinco é

de aproximadamente 150 μM , enquanto a sua concentração extracelular está na faixa dos 150 nM . A partir desta diferença (1000 vezes) entre o meio intra e o extracelular foi sugerida a existência de um mecanismo dependente de energia para o influxo do zinco para os astrócitos e os neurônios (revisado por TAKEDA, 2000; VANDENBERG et al., 2004). Um estudo realizado por HOWELL e colaboradores (1984) revelou a presença de um transportador de alta afinidade para o zinco em fatias de hipocampo, o DMT1. Este transportador, já citado no transporte do zinco para o SNC, está presente em altas concentrações nas células piramidais e granulares do hipocampo, nas células piramidais do córtex e nas células granulares do cerebelo. Desta forma, ele parece também estar relacionado ao influxo do zinco para as células do SNC. Nas células nervosas o zinco pode ser transportado de forma anterógrada ou retrógrada via sistema de transporte axonal. Este sistema é importante para o suprimento de zinco nas regiões onde ele é requisitado (revisado por TAKEDA, 2000; VANDENBERG et al., 2004).

O zinco estocado nas vesículas sinápticas pode ser liberado por despolarização juntamente com o glutamato no espaço extracelular, onde irá alcançar altas concentrações (até 300 μM) (CHOI E KOH, 1998; BARAÑANO et al., 2001). Este metal é considerado um importante modulador de transmissões sinápticas inibitórias e excitatórias (revisado por TAKEDA, 2000).

O aminoácido glutamato é um neurotransmissor excitatório no SNC. As ações deste neurotransmissor juntamente com a glicina nos receptores ionotrópicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) são responsáveis por muitas funções fisiológicas. Entretanto, a excessiva atividade destes receptores pode causar excitotoxicidade e morte celular que, por sua vez, são fatores que contribuem na patogênese de muitos distúrbios neurológicos (revisado por VANDENBERG et al, 2004). O zinco apresenta seu principal papel neuroprotetor através da

ação inibitória sobre os receptores NMDA. Existem, pelo menos, dois mecanismos de inibição destes receptores pelo zinco. Um mecanismo é voltagem-dependente similar ao mecanismo do magnésio e o outro é um mecanismo independente de voltagem em um sítio de ligação distinto (CHOI E KOH, 1998; CHOI e LIPTON, 1999; TAKEDA, 2000). Além disso, o zinco também é capaz de potencializar as respostas mediadas pelos receptores glutamatérgicos ionotrópicos do tipo α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico (AMPA)/kainato. Porém suas funções neuroprotetoras ainda estão relacionadas à inibição dos receptores glutamatérgicos metabotrópicos do grupo I (revisado por NOWAK e SZEWCZYK, 2002).

O zinco pode exercer tanto ações neurotóxicas como neuroprotetoras, dependendo da sua concentração, da estrutura cerebral e do modelo experimental (CHEN e LIAO, 2003).

Em altas concentrações no SNC o zinco pode ser neurotóxico (KOH et al., 1996; SHELINE et al., 2000, CHEN e LIAO, 2003). A neurotoxicidade do zinco parece estar relacionada com a entrada deste metal, na forma livre, no neurônio pós-sináptico e com a conseqüente alteração na expressão de algumas proteínas. O deslocamento do zinco para o interior dos neurônios pós-sinápticos parece ser através de canais de cátions divalentes ativados pelo glutamato. Os neurônios glutamatérgicos apresentam inúmeros receptores NMDA permeáveis ao cálcio (Ca^{2+}). Além disso, os receptores AMPA/kainato (impermeáveis ao Ca^{2+}) quando ativados causam a despolarização do neurônio permitindo a entrada de Ca^{2+} através de canais de cálcio sensíveis á voltagem (VSCC). Finalmente, algumas subpopulações de neurônios possuem alguns receptores AMPA/kainato não usuais que são diretamente permeáveis ao Ca^{2+} . Estudos com culturas de neurônios indicaram que o zinco pode entrar por estes três tipos de canais, porém, com diferentes permeabilidades (revisado por WEISS et al., 2000).

Por outro lado, PALMITER e colaboradores (1996) demonstraram a presença de algumas proteínas capazes de transportar o zinco para fora do compartimento intracelular. Estas proteínas foram denominadas como transportadores de zinco (ZnT-1 a ZnT-4) e são responsáveis por manter o meio intracelular com baixas concentrações deste metal. O transportador ZnT-3, ao contrário dos outros, é responsável por transportar o zinco para dentro das vesículas pré-sinápticas. Além disso, também foram descritas as metalotioneínas que são proteínas de baixo peso molecular com múltiplos sítios de ligação para o zinco e para o cobre. Estas proteínas apresentam um importante papel unindo-se ao zinco e tamponando o meio intracelular (revisado por WEISS et al., 2000; TAPIERO e TEW, 2003).

Além dos efeitos na transmissão glutamatérgica o zinco também apresenta um importante papel modulatório sobre os receptores GABA_A, principal receptor inibitório do SNC. O zinco inibe a função destes receptores por um mecanismo alostérico. Porém, o potencial desta inibição está extremamente relacionado com a composição destes receptores através das combinações das sub-unidades. Desta forma, receptores com combinações de sub-unidades $\alpha\beta$ demonstraram a mais alta sensibilidade ao zinco, enquanto os receptores com combinações de sub-unidades $\alpha\beta\gamma$ apresentaram uma menor sensibilidade (HOSIE et al., 2003).

Alterações nos níveis de zinco, nos homens, têm sido associadas a distúrbios comportamentais como anorexia, dificuldades de aprendizagem e alterações de funções cognitivas. Além disso, ainda está relacionado com algumas patologias do SNC, tais como epilepsia, doença de Alzheimer e doença de Parkinson (TAKEDA, 2000; ZATTA et al., 2003).

Além das patologias anteriormente citadas, o zinco também apresenta um importante papel na modulação da depressão. Isto foi sugerido em alguns estudos clínicos que

demonstraram que o zinco está presente em baixas concentrações no plasma de pacientes deprimidos (MAES et al., 1994, 1997, 1999; DESNYDER, 1997). Além disso, foi relatado que os níveis plasmáticos de zinco em indivíduos recuperados da depressão estão aumentados em relação a pacientes deprimidos (NARANG et al., 1991). Um estudo recente demonstrou uma redução de 26% na capacidade do zinco de inibir o “binding” do MK-801 (antagonista não competitivo de receptores NMDA) aos receptores do hipocampo de vítimas de suicídio (NOWAK et al., 2003b). Outro estudo demonstrou que a utilização do zinco como suplemento do tratamento com antidepressivos clássicos reduziu os escores da escala Hamilton de depressão. Os pacientes que receberam o zinco com o tratamento clássico com antidepressivo apresentaram redução do escore desta escala tanto após a sexta quanto após a décima segunda semana de tratamento em relação aos pacientes controles que receberam placebo associado ao tratamento clássico (NOWAK et al., 2003c).

Além disso, estudos pré-clínicos demonstraram que o tratamento agudo e crônico com zinco produz um efeito antidepressivo em roedores no teste do nado forçado (TNF), um modelo animal preditivo de atividade antidepressiva (KROCZKA et al., 2000; KROCZKA et al., 2001; NOWAK et al., 2003a; ROSA et al., 2003). O hidroaspartato de zinco administrado de forma aguda, sub-crônica e crônica também apresentou atividade antidepressiva no modelo animal de depressão da bulbectomia. A remoção do bulbo olfatório em ratos faz com que estes animais apresentem várias alterações comportamentais associadas à depressão endógena humana (NOWAK et al., 2003a). Recentemente também foi demonstrado que a administração de zinco durante 14 dias em camundongos aumentou a expressão de mRNA para BDNF em córtex cerebral, de forma semelhante ao efeito do antidepressivo clássico tranilcipromina (NOWAK et al., 2004). Também foi verificado que o tratamento crônico com imipramina, citalopram ou terapia eletroconvulsiva induziu uma elevação nas concentrações hipocampais

e séricas de zinco em ratos (NOWAK e SCHLEGEL-ZAWADZKA, 1999). Entretanto, estes estudos não elucidaram todos os mecanismos envolvidos no efeito antidepressivo do zinco. Um trabalho realizado pelo nosso grupo confirmou o efeito antidepressivo do zinco no TNF e também demonstrou que ele produz efeito antidepressivo no teste da suspensão da cauda (TSC) em camundongos. Além disso, neste trabalho foi verificado que o efeito antidepressivo do zinco no TNF está relacionado com a inibição do receptor NMDA e com uma interação com a via da L-arginina-óxido nítrico (ROSA et al., 2003).

Através da análise destes dados pode ser observado um papel significativo do zinco na modulação da depressão. Desta forma, pode ser visualizada a relevância do aprofundamento dos estudos relacionados ao zinco e seus mecanismos de ação antidepressiva.

1.2 Depressão

As tentativas de classificar a depressão datam, pelo menos, desde o quarto século antes de Cristo, quando Hipócrates cunhou os termos melancolia “bílis negra” e mania “estar louco”. As descrições independentes, em 1854, de dois médicos franceses, Falret e Baillarger, de *Folie circulaire* (loucura circular) e *folie a doublé forme* (loucura de forma dupla) foram os primeiros diagnósticos formais de episódios alternantes de mania e depressão como uma doença única (DUBOVSKY e DUBOVISKY, 2004).

No início do século passado a depressão foi tratada como “mal do século”. Atualmente sabe-se que a depressão maior (unipolar) é uma das patologias enquadradas nos transtornos do humor, assim como a distímia e o transtorno bipolar (doença maníaco-depressiva) (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2000). Existem diferenças clínicas que auxiliam a classificação do tipo de depressão apresentado pelos pacientes (Tabela 1) (DUBOVSKY e DUBOVISKY, 2004).

Tabela 1. Diferenças entre transtornos unipolares e bipolares

DEPRESSÃO UNIPOLAR	DEPRESSÃO BIPOLAR
Início tardio	Início precoce
Início gradual	Início agudo
Menos episódios	Mais episódios
Mulheres >> Homens	Mulheres = Homens
Mais agitação psicótica	Lentidão psicomotora e letargia
Sintomas típicos	Sintomas atípicos
Insônia	Hipersônia
Risco menor de suicídio	Risco maior de suicídio
Menor frequência de sintomas psicóticos nos mais jovens	Maior frequência de sintomas psicóticos nos mais jovens
Antidepressivos são mais eficientes	Antidepressivos são menos eficientes
Lítio é menos eficiente	Lítio é mais eficiente
História familiar de depressão	História familiar de mania e depressão

(adaptação do texto de DUBOVSKY e DUBOVISKY, 2004)

O diagnóstico da depressão é realizado por médicos psiquiatras através da avaliação da presença de sintomas clínicos que são definidos em critérios internacionalmente padronizados. Como exemplo podem ser apresentados os critérios do manual de diagnósticos e estatísticas das doenças mentais - DSM-IV (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994), para episódio depressivo maior:

Um dos sintomas, apresentados num período de duas semanas, deve ser:

- presença de humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias;
- acentuada redução do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades, na maior parte do dia, quase todos os dias.

Além disso, deve haver a apresentação de mais quatro dos seguintes sintomas no mesmo período:

- perda ou ganho significativo de peso sem dieta;

- insônia ou hipersônia quase todos os dias;
- agitação ou retardo psicomotor quase todos os dias;
- fadiga ou perda de energia quase todos os dias;
- sentimento de inutilidade ou culpa excessiva ou inadequada;
- capacidade reduzida de pensar ou concentrar-se, ou indecisão;
- pensamentos de morte recorrentes, ideação suicida sem plano específico.

Porém, um problema evidente no diagnóstico dos transtornos do humor é que o sistema de classificação se baseia em descrições subjetivas de sintomas. Além disso, não há subsídio bioquímico que separe um subtipo de depressão do outro (WONG e LICÍNIO, 2001). Assim, aspectos básicos sobre a natureza da patologia e seus subtipos ainda têm que ser esclarecidos.

Um estudo epidemiológico demonstrou que nos Estados Unidos, o risco de se apresentar um episódio depressivo maior ao longo da vida é estimado em cerca de 20%. Também tem sido demonstrado que nos países industrializados do mundo, a incidência da depressão maior, do transtorno bipolar, do suicídio e de transtornos psicóticos do humor têm aumentado a cada geração (CROSS-NATIONAL COLLABORATIVE GROUP, 1992).

Além disso, o suicídio tem sido revelado como outro problema de saúde pública. Foi demonstrado que aproximadamente 15% dos óbitos de pacientes depressivos estão relacionados ao suicídio (MUSSELMAN et al., 1998). Também foi verificado que as mulheres tentam suicídio com maior frequência do que os homens. Porém, eles apresentam maior probabilidade de êxito (DUBOVSKY e DUBOVISKY, 2004).

Um aspecto relevante da depressão é seu impacto adverso na função psicossocial e na qualidade de vida dos indivíduos acometidos (PAPAKOSTAS et al., 2004). A depressão atualmente lidera o ranking das patologias que incapacitam um indivíduo nos países

desenvolvidos. No mundo ela já é considerada a quarta causa de incapacitação e foi estimado que ela passará para o segundo lugar até o ano 2020. Desta forma, além dos prejuízos particulares esta patologia tem atingido a economia global. O custo anual da depressão para a sociedade americana, nos anos 90, foi de 44 bilhões de dólares, sendo que deste montante 23,8 bilhões representaram o impacto da depressão no local de trabalho (revisado por ELHWUEGI, 2004).

1.3 Neurotransmissores envolvidos na modulação da depressão

A antiga teoria das monoaminas (noradrenalina – NA, serotonina – 5-HT e dopamina – DA) na depressão surgiu com o aparecimento dos primeiros antidepressivos em meados do século passado. Na época, era a base do conhecimento da patologia e de seu tratamento. A descoberta acidental das propriedades antidepressivas de drogas como a iproniazida, utilizada anteriormente para tratamento de tuberculose e da imipramina, utilizada como antipsicótico foi um marco histórico para a busca de soluções para os transtornos do humor. A iproniazida é um inibidor da enzima monoamino oxidase (iMAO) responsável pela degradação das monoaminas e a imipramina é um inibidor da recaptação de noradrenalina e serotonina . Estas drogas, que melhoraram o humor dos pacientes que as utilizaram, favorecem o aumento da concentração das monoaminas na fenda sináptica. Por outro lado, drogas que reduzem os níveis de monoaminas como a reserpina ou bloqueadores de receptores dopaminérgicos podem induzir disforia e humor deprimido. Desta forma, foi sugerido que a deficiência da atividade das monoaminas no SNC era responsável pelo quadro depressivo. Assim, na época, acreditava-se que a ação dos antidepressivos se baseava apenas no aumento da atividade das monoaminas no SNC (revisado por ELHWUEGI, 2004).

Porém, a hipótese monoaminérgica mais moderna apresenta enfoque nas respostas em longo prazo causadas por estes neurotransmissores no SNC. Esta nova teoria sugere que o aumento agudo dos níveis das monoaminas na sinapse é apenas um fato inicial dentro de uma cascata complexa de eventos que culminam com a atividade antidepressiva (PIÑEYRO e BLIER, 1999).

Corroborando com a hipótese monoaminérgica, vários estudos têm relatado que o sistema serotoninérgico está intimamente relacionado com a regulação do humor. Além disso, existem muitas evidências de que anormalidades na neurotransmissão serotoninérgica participam na fisiopatologia da depressão (WONG e LICINIO, 2001). Estudos clínicos, há anos, têm demonstrado esta participação. Isto pôde ser observado no estudo em que pacientes deprimidos apresentaram níveis plasmáticos mais baixos de triptofano (precursor da 5-HT) (ANDERSON et al., 1990). Além disso, outro estudo demonstrou que pacientes deprimidos tratados com antidepressivos (ISRS) apresentaram uma redução transitória do humor enquanto estavam com dieta privada de triptofano (OWENS e NEMEROFF, 1994). Este fenômeno tem sido associado com o decréscimo do metabolismo serotoninérgico nas regiões do córtex frontal dos pacientes (BREMNER et al., 1997). Alguns estudos bioquímicos também têm demonstrado níveis reduzidos de ácido 5-hidróxi indol acético (5-HIAA) no líquido de pacientes deprimidos, enquanto estudos *in vitro* têm demonstrado a redução da densidade de transportadores de 5-HT nas plaquetas de pacientes deprimidos (OWENS e NEMEROFF, 1994). Recentemente um estudo utilizando a tomografia de emissão de pósitrons (PET) sugeriu que alguns transportadores de 5-HT podem estar aumentados no córtex frontal e cíngulo de pacientes deprimidos (REIVICH et al., 2004).

Outros estudos têm relatado que o aumento da neurotransmissão serotoninérgica fundamenta a resposta terapêutica de vários tratamentos antidepressivos. Drogas que afetam a

neurotransmissão serotoninérgica, como as que inibem a recaptação da 5-HT no terminal nervoso ou as que inibem o metabolismo (iMAO), são eficientes no tratamento da depressão (NEMEROFF e OWENS, 2002).

Alguns estudos pré-clínicos também têm demonstrado a participação do sistema serotoninérgico na depressão. Um trabalho relatou que antagonistas de receptores 5-HT_{1A}, como o pindolol, foram capazes de potencializar os efeitos da terapia antidepressiva (ARTIGAS et al., 2001). Da mesma forma, alguns antagonistas de receptores 5-HT_{1B} e 5-HT₃ também potencializaram o efeito de ISRS em testes pré-clínicos (REDROBE et al., 1996a; REDROBE e BOURIN, 1997). Além disso, também foi demonstrado que os antagonistas de receptores 5-HT₂ são capazes de potencializar o efeito antidepressivo da imipramina (antidepressivo tricíclico) e da desipramina (inibidor preferencial da recaptação de noradrenalina), mas não o efeito da fluoxetina ou do citalopram (ISRS), em camundongos (REDROBE e BOURIN, 1997).

Entretanto, também tem sido relatada a participação de outros sistemas na fisiopatologia da depressão. A implicação do sistema dopaminérgico na patogênese da depressão foi sugerida por vários estudos. Estes trabalhos relataram que duas importantes linhas de evidências estimulam as investigações para o papel da dopamina tanto na fisiopatologia como no tratamento da depressão. Primeiramente, drogas que aumentam os níveis de DA como a cocaína e as anfetaminas, produzem elevação no humor. Por outro lado, drogas que reduzem os níveis de DA como a reserpina ou bloqueadores de receptores dopaminérgicos podem induzir disforia e humor deprimido. Em segundo lugar, muitos estudos têm demonstrado que os neurônios dopaminérgicos originados na área tegmental ventral e com seus nervos projetados para diferentes áreas telencefálicas, estão envolvidos no controle do comportamento da motivação e da recompensa, via que está envolvida na

fisiopatologia da depressão. Além disso, vários estudos sugerem que o tratamento crônico com antidepressivos potencializa a neurotransmissão dopaminérgica e este efeito parece estar contribuindo para a eficácia terapêutica (revisado por D'AQUILA et al., 2000). Outro estudo, que corrobora com estes dados, relatou que os mecanismos terapêuticos da estimulação transcraniana magnética repetitiva também parece envolver o sistema dopaminérgico através do aumento da liberação deste neurotransmissor com a conseqüente ativação da via mesolímbica (OHNISHI et al., 2004). O sistema dopaminérgico também participa do mecanismo de ação da terapia eletroconvulsiva, além de ser afetado pelo tratamento com os antidepressivos clássicos. Isto foi bem demonstrado no trabalho de NOMIKOS e colaboradores (1991), onde as concentrações de dopamina aumentaram 127% após a terapia eletroconvulsiva em ratos. Além disso, um estudo demonstrou que a bupropirona (inibidor misto da recaptação de noradrenalina e dopamina) apresenta eficácia clínica equivalente aos ISRS (NIEUWSTRATEN e DOLOVICH, 2001).

Em humanos, este papel da DA na depressão foi confirmado pelo efeito benéfico da adição de um agonista dopaminérgico (cabergolina) ao tratamento com o antidepressivo clássico milnaupram (ISRN) em pacientes resistentes ao tratamento padrão (TAKAHASHI et al., 2003). Entretanto, a eficácia da combinação da olanzapina (antagonista dopaminérgico) com a fluoxetina (ISRS) também foi demonstrada no tratamento da depressão refratária (THASE, 2002). Porém esta eficiência da olanzapina parece estar relacionada ao fato dela também agir como antagonista de receptores serotoninérgicos 5-HT_{2C}, o qual é capaz de proporcionar o aumento da função dopaminérgica mesocorticolímbica (DI MATTEO et al., 2001). Outros estudos clínicos demonstraram a presença de baixos níveis de metabólitos da DA como o ácido homovanílico (AHV) no líquido de pacientes suicidas deprimidos (BROWN e GERSHON, 1993). ROY e colaboradores (1985) também relataram níveis

significativamente menores dos metabólitos da DA como o AHV e o ácido diidroxifenilacético (DOPAC) em pacientes deprimidos melancólicos comparados aos não melancólicos. Além disso, um trabalho demonstrou recentemente que o pramipexol (agonista D_{2/3} dopaminérgico) apresentou uma atividade antidepressiva significativa em pacientes com depressão bipolar em relação aos controles em um estudo “duplo-cego” (ZARATE JR et al., 2004). Outro trabalho que utilizou o paradigma endócrino da resposta da prolactina ao desafio com sulpirida (antagonista de receptores D₂-dopaminérgicos) em pacientes deprimidos, revelou que o receptor D₂ parece estar sensibilizado nestes pacientes em relação aos controles saudáveis. Isto foi verificado através do aumento significativo dos níveis de prolactina nos pacientes deprimidos, após a administração da sulpirida, quando comparado ao grupo controle (VERBEECK et al., 2001).

Os opióides endógenos também têm sido implicados nos transtornos depressivos, assim como no mecanismo de ação de antidepressivos (BERROCOSO et al., 2004). Isto já vem sendo demonstrado há algumas décadas atrás, onde estudos clínicos verificaram a atividade antidepressiva do agonista opióide ciclazocina (FINK et al., 1970) e do peptídeo opióide β-endorfina (KLINE et al., 1977). Além disso, na época, foi sugerido que um dos efeitos da terapia eletroconvulsiva era o de aumentar a atividade dos opióides endógenos como a β-endorfina (INTURRISI et al., 1982). Também foi relatado o encontro de um aumento no número de receptores opióides no SNC de indivíduos suicidas deprimidos (GABILONDO et al., 1995). Estes dados estão de acordo com a literatura que relatou que a melhora do humor induzida por alguns antidepressivos parece estar relacionada com a regulação do sistema opióide (HAMON et al., 1987). Corroborando com estes dados, mais recentemente, estudos pré-clínicos demonstraram que inibidores da degradação de encefalinas como o RB101 e o BL-2401 apresentam atividade antidepressiva em ratos, a qual ocorreu

possivelmente pela inibição da degradação dos opióides endógenos (BAAMONDE et al., 1992; KITA et al., 1997). Atualmente, também foi relatado que o tratamento com antidepressivos é capaz de aumentar a liberação de β -endorfinas (SAWYNOK et al., 2001). Além disso, a janela terapêutica dos antidepressivos também parece estar relacionada com o fato de estarem ocorrendo adaptações no sistema opióide, principalmente com relação aos receptores μ e δ -opióides (VILPOUX et al., 2002).

O sistema GABAérgico também está envolvido na fisiopatologia dos transtornos do humor. O papel da disfunção GABAérgica nestes transtornos foi inicialmente descrito por EMRICH e colaboradores (1980). Eles propuseram que o valproato era eficaz no tratamento da depressão, pois era capaz de compensar a deficiência de ácido- γ -aminobutírico (GABA) no encéfalo, elevando suas concentrações. Alguns estudos clínicos corroboraram com esta proposta. Ainda naquela época, foi demonstrado que os níveis de GABA estavam reduzidos no líquor de pacientes com depressão unipolar e também em pacientes com depressão bipolar. Além disso, também foi relatado que pacientes com depressão unipolar e bipolar apresentam menores concentrações plasmáticas de GABA transaminase (GABA-T – enzima que catalisa a reação de formação do glutamato a partir do GABA) e menor atividade da GABA descarboxilase (GAD – enzima que catalisa a formação do GABA a partir do glutamato) (revisado por BRAMBILLA et al., 2003).

A participação dos receptores GABA_B na fisiopatologia da depressão tem sido demonstrada por vários estudos. A literatura descreve que os receptores GABA_B são autoreceptores que se localizam na membrana pré-sináptica. Estes receptores regulam a neurotransmissão GABAérgica suprimindo a condutância dos íons cálcio, que são necessários para a liberação dos neurotransmissores nesta região. Porém os receptores GABA_A são, em sua maioria, localizados na membrana pós-sináptica. Eles são receptores ionotrópicos

organizados em forma de canal e são formados por 5 sub-unidades que apresentam uma grande variedade de combinações. Durante a neurotransmissão GABAérgica, estes receptores sofrem uma interação alostérica com o neurotransmissor GABA causando um aumento na condutância aos íons cloreto, reduzindo assim, a excitabilidade celular e desta forma exercendo suas ações inibitórias (revisado por BRAMBILLA et al., 2003).

Alguns estudos mostraram que o muscimol, agonista de receptores GABA_A, reduziu o tempo de imobilidade dos animais no TNF, sendo este efeito revertido por picrotoxina, um antagonista GABérgico, e por bicuculina, um antagonista de receptores GABA_A (PONCELET et al., 1987; NAKAGAWA et al., 1996a). Outro estudo, realizado por SHERMAN e PETTY (1980) demonstrou que os ratos pré-tratados com GABA, administrado no córtex frontal e no hipocampo, não apresentaram a reação de desamparo aprendido causada por choque inescapável nas suas patas. Neste mesmo estudo, foi observado o comportamento de desamparo aprendido em ratos não estressados após a injeção intra-hipocampal de bicuculina (antagonista GABA_A), demonstrando assim, o envolvimento dos receptores GABA_A. Entretanto, os receptores GABA_B também estão envolvidos na fisiopatologia da depressão. Isto foi relatado no estudo onde ratos foram tratados com desipramina e obtiveram uma melhora significativa do déficit causado pela bulbectomia (modelo animal de depressão) associado a um aumento significativo na densidade dos receptores GABA_B (JOLY et al., 1987; BRAMBILLA et al., 2003).

Os receptores NMDA e a via da L-arginina-óxido nítrico também têm sido implicados na fisiopatologia da depressão. Estudos clínicos tem mostrado que indivíduos deprimidos possuem um nível elevado de glutamina plaquetário (LEVINE et al., 2000). Vários estudos pré-clínicos têm demonstrado que os receptores glutamatérgicos do sub-tipo NMDA devem ser um alvo para a modulação da depressão, uma vez que vários antagonistas

de receptores NMDA, como o antagonista não-competitivo MK-801, exibem atividade antidepressiva em modelos animais de depressão. Também, foi relatado que a administração crônica de antidepressivos altera a expressão das subunidades do receptor NMDA. Além disso, ocorre a redução do “binding” de MK-801 neste receptor em algumas áreas do SNC após tratamento crônico com antidepressivos (revisado por SKOLNICK, 1999; MANJI et al., 2003). Um outro estudo demonstrou que pacientes que receberam tratamento com cetamina (antagonista de receptores NMDA) apresentaram uma redução significativa do escore da escala Hamilton de depressão em relação aos pacientes deprimidos controles que receberam placebo (BERMAN et al, 2000).

Alguns estudos também têm sugerido a participação dos canais de cálcio na fisiopatologia da depressão. Um estudo demonstrou um aumento da mobilização das concentrações de cálcio intracelular em pacientes com distúrbios do humor (MIKUMI et al., 1991, 1992; KONOPKA et al., 1996). Também foi verificado que antidepressivos, como a fluoxetina e a imipramina, são capazes de antagonizar a mobilização de cálcio intracelular induzida pela serotonina em sinaptossomas de córtex frontal de humanos (JAGADEESH e SUBHASH, 1998). Em um estudo pré-clínico utilizando a técnica de “patch-clamp” foi demonstrado que a fluoxetina parece inibir os canais de cálcio do tipo L, N e T, em concentrações terapeuticamente relevantes (DEÁK et al., 2000). Além disso, um outro estudo verificou que, o tratamento repetido com antagonistas de canal de cálcio como a nifedipina, a nimodipina e o diltizem apresentaram atividade antidepressiva em ratos no TNF (CZYRAK et al., 1990).

Tem sido sugerido que os canais de potássio (K^+) também têm seu papel na modulação da depressão. Foi demonstrado que o pré-tratamento dos animais com gliburida, um bloqueador de canais de K^+ dependentes de ATP, potencializou a atividade dos

antidepressivos (imipramina, amitriptilina, citalopram, paroxetina, fluoxetina e fluvoxamina) em camundongos no TNF (GUO et al., 1996). A glicidona, um outro bloqueador de canais de K^+ dependentes de ATP, apresentou atividade antidepressiva *per se* em camundongos no TNF. De forma semelhante, a apamina e a caribdotoxina, dois bloqueadores de canais de K^+ ativados por cálcio, também reduziram o tempo de imobilidade dos animais no TNF (GALEOTTI et al., 1999). Por outro lado, o pré-tratamento dos animais com cromacalim, um ativador de canais de K^+ reverteu a atividade de alguns antidepressivos em camundongos no TNF (REDROBE et al., 1996b). Além disso, o cromacalim e o minoxidil (outro ativador de canais de K^+) também foram capazes de aumentar o tempo de imobilidade dos animais no TNF. O tetraetilamônio (TEA), inibidor não seletivo de canais de potássio, também foi capaz de reduzir a imobilidade dos camundongos no TNF. Estes dados estão de acordo com a sugestão prévia de que os canais de K^+ têm um papel importante na modulação da depressão através do envolvimento de mais de um tipo de canal (GALEOTTI et al., 1999).

Além destas alterações neuroquímicas, foram observadas alterações anatômicas distintas em regiões específicas do encéfalo de pacientes deprimidos. Estas alterações morfológicas (redução de volume e/ou número de células) foram observadas em regiões límbicas (hipocampo, gânglios da base e amígdala) e em regiões corticais, implicando no aparecimento de déficits cognitivos e problemas no humor (MANJI et al, 2001; D'SA e DUMAN, 2002).

Outro fator de relevada importância na fisiopatologia da doença é o estresse crônico que, muitas vezes, precede o início da depressão clínica e tem sido associado à severidade das doenças (WILLNER et al., 1997). Isto foi bem demonstrado por CALOGERO et al. (1988), quando verificaram que o aumento da atividade do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA), sensível ao estresse, faz com que se manifestem sintomas depressivos. Além disso,

SAPOLSKY et al. (2000), propuseram um mecanismo onde o estresse e conseqüentemente altos níveis de glicocorticóides apresentam como resultado excitotoxicidade glutamatérgica, distúrbio da homeostase do cálcio, inibição do transporte de glicose e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio. Sendo assim, em casos extremos o estresse induz à morte celular e compromete neurônios hipocâmpais em sua habilidade de responder a outros insultos (MC EWEN, 1999).

1.4 Tratamento da depressão

O tratamento da depressão pode ser realizado utilizando diversas terapias, sendo que o clínico deve sugerir o tratamento mais adequado ao quadro de cada paciente. O tratamento mais comum é a utilização de medicamentos antidepressivos. Porém, em alguns casos, pode ser utilizada a terapia eletroconvulsiva e a estimulação magnética transcraniana repetitiva. Além destes tratamentos somáticos ainda pode ser indicada a psicoterapia (DUBOVSKY e DUBOVISKY, 2004).

A terapia eletroconvulsiva é o tratamento mais eficiente para a depressão unipolar e bipolar. Trata-se da passagem pelo encéfalo de uma corrente elétrica bidirecional que dura cerca de dois milissegundos, a qual é aplicada por meio de eletrodo unilateral direito ou através de eletrodos bilaterais para produzirem uma convulsão elétrica generalizada no cérebro. Esta terapia é indicada para o tratamento de episódios agudos de depressão maior, especialmente quando são caracterizados por início rápido, duração breve, gravidade, psicose, lentidão motora, catotonia, demência grave e incapacidade de tolerar ou responder aos medicamentos antidepressivos. Os principais efeitos desta terapia são o aumento da transmissão dopaminérgica em algumas regiões do encéfalo, o aumento da transmissão serotoninérgica, o bloqueio da transmissão colinérgica muscarínica, a dessensibilização β -

adrenérgica e o aumento da sensibilidade dos receptores α_1 -adrenérgicos e a inibição da potenciação a longo prazo induzida por receptores NMDA no hipocampo. Foi verificado que esta terapia é segura e eficiente tanto em adultos como em crianças (revisado por DUBOVSKY e DUBOVISKY, 2004).

A hipótese de que a fisiopatologia da depressão envolve, em parte, a hipoatividade do córtex pré-frontal esquerdo levou à aplicação local de um campo magnético potente, que induz uma corrente elétrica localizada perpendicularmente ao campo magnético. Esta terapia foi denominada como estimulação magnética transcraniana repetitiva. Em estudos clínicos esta terapia melhorou significativamente os sintomas dos pacientes com depressão refratária, mas não teve efeito sobre o humor de pacientes saudáveis. Esta terapia é teoricamente atraente porque não apresenta efeitos colaterais cognitivos. Os efeitos adversos mais importantes foram cefaléia e raramente convulsões. Porém, a maioria dos estudos foi de duração muito curta e envolveu pequeno número de indivíduos, limitando a interpretação dos resultados (revisado por DUBOVSKY e DUBOVISKY, 2004).

A introdução dos medicamentos inibidores da monoamino oxidase (iMAO) e dos antidepressivos tricíclicos (TCA), na década de 50, e dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e de noradrenalina (ISRN), nos anos 80, revolucionou o tratamento medicamentoso da depressão. Após a descoberta acidental da eficácia antidepressiva do iMAO iproniazida e do TCA imipramina (antidepressivos de primeira geração), suas ações farmacológicas foram exploradas e formaram a base para os refinamentos para as próximas drogas. Durante a pesquisa da segunda geração de antidepressivos, todos os compostos desenvolvidos foram baseados na hipótese monoaminérgica clássica. O sucesso desta estratégia foi demonstrado pelo surgimento dos ISRSs, que são atualmente os antidepressivos mais prescritos por serem mais seguros e possuírem efeitos colaterais mais brandos. A terceira

geração de antidepressivos vem sendo pesquisada utilizando três importantes estratégias: modelos da patofisiologia, modelos farmacogenômicos e modelos de etiologia. No modelo da patofisiologia são utilizados dois exemplos de drogas: antagonistas da substância P e antagonistas do hormônio liberador de corticotrofinas. Nos modelos farmacogenômico e etiológico estão sendo utilizados grandes testes randomizados com alvos farmacogenômicos, considerando possíveis polimorfismos e principalmente tentando definir as possíveis etiologias da doença. Neste contexto, a cura da patologia poderia ser definida como o tratamento específico que irá restaurar a(s) função(ões) fisiológica(s) à partir da identificação da variação genética ou ambiental. Nestas condições ideais ainda seria possível realizar tratamentos preventivos com o mínimo de efeitos adversos (revisado por WONG e LICINIO, 2004).

Entretanto, os novos antidepressivos ainda estão longe do ideal. Isto porque a observação da eficácia terapêutica destas drogas ainda requer semanas de tratamento, três a seis semanas nas estimativas conservadoras. Além disso, estudos têm demonstrado que aproximadamente 30% dos pacientes tratados não apresentam resposta terapêutica (SKOLNICK, 1999; MANJI et al., 2003; WONG e LICINIO, 2004). Conseqüentemente, a procura por fármacos antidepressivos continua e o foco desta busca está na resolução destas deficiências.

Apesar dos anos de estudos, os mecanismos da eficácia dos antidepressivos ainda não estão completamente elucidados. Estes anos de pesquisa revelaram alguns problemas sérios na hipótese monoaminérgica, por exemplo, estudos envolvendo o sistema noradrenérgico relataram um aumento na liberação de NA na depressão. Além disso, as drogas que agem nestes sistemas neurotransmissores apresentam seu efeito horas após a administração. Desta forma a hipótese monoaminérgica não explica porque o efeito dos

antidepressivos só ocorre após semanas de tratamento. Algumas teorias postulam que ocorrem alterações em longo prazo e que estas explicariam o efeito tardio dos antidepressivos (revisado por WONG E LICINIO, 2001).

Alguns estudos sobre os mecanismos moleculares de ação dos antidepressivos têm sugerido a participação das vias de sinalização que envolvem a sobrevivência e a morte de células. Estudos recentes têm demonstrado que o tratamento crônico com diversas classes de antidepressivos aumenta a proliferação e a sobrevivência neuronal. Desta forma, os mecanismos da proteína de ligação responsiva ao AMPc (CREB), do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), da proteína antiapoptótica (Bcl-2) e das proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs) poderiam explicar ainda melhor o efeito tardio dos antidepressivos (MANJI et al., 2003).

2. JUSTIFICATIVA

A depressão tem sido relatada como uma das doenças neuropsiquiátricas de maior prevalência (NEMEROFF E OWENS, 2002). Entretanto, um terço dos pacientes deprimidos se mostram refratários ao tratamento com antidepressivos (SPIEGEL, 1996). Além disso, vários efeitos colaterais estão associados ao uso dos tratamentos clássicos (SPIEGEL, 1996).

Além destes dados, pode-se considerar que, primeiramente, o zinco é um metal que apresenta uma ação inibitória sobre receptores NMDA e que os mesmos estão envolvidos na fisiopatologia da depressão (SKOLNICK, 1999); em segundo lugar, o zinco está presente em baixas concentrações no plasma de pacientes deprimidos (MAES et al., 1994, 1997, 1999; DESNYDER, 1997); e finalmente, o tratamento agudo e crônico com zinco foi capaz de produzir efeito antidepressivo em roedores (KROCZKA et al., 2000; KROCZKA et al., 2001; NOWAK et al., 2003a, ROSA, 2003).

É neste cenário em que a busca por moduladores endógenos dos receptores NMDA, com efeito antidepressivo, como o zinco, bem como o estudo de seus mecanismos de ação se justifica como algo extremamente relevante.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Investigar os mecanismos de ação antidepressiva do cloreto de zinco no teste do nado forçado em camundongos.

3.2. Objetivos específicos

- Investigar o envolvimento dos sistemas dopaminérgico, serotoninérgico, GABAérgico e opióide na ação antidepressiva do cloreto de zinco no TNF; e,
- Investigar o envolvimento dos canais de cálcio e de potássio na ação antidepressiva do cloreto de zinco no TNF.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Drogas e reagentes

Os seguintes reagentes foram utilizados: baclofen, bicuculina, caribdotoxina, cetanserina, clocinamox, dimetilsulfóxido (DMSO), Tween 80; (2-(3,4-Diclorofenil)-N-metil-N-[S-1-(3-isotilcianatofenil)-2-(-1-pirrolinil) etil] acetamida (DIPPA), flunarizina, glibenclamida, haloperidol, muscimol, naltrindol, NAN-190, nifedipina, (N-[2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil]etil]-N-(2-piridinil) ciclohexanocarboxamida) WAY-100635, pindolol, ritanserina, sulpirida, tetraetilamônio (TEA), todos da Sigma, USA. O cloreto de zinco ($ZnCl_2$) foi obtido da Merck, Alemanha e o isamoltane da Tocris, USA.

4.2. Animais

Camundongos *Swiss* adultos de ambos os sexos, pesando 35 a 45 g, mantidos entre 22 e 25°C com água e ração *ad libitum*, em ciclo claro/escuro de 12 horas (7:00-19:00) foram utilizados. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica. Os camundongos permaneceram no laboratório por um período de adaptação de pelo menos 2 h antes da realização dos experimentos. Todas as observações foram feitas entre 10:00 e 16:00 horas sendo que cada animal foi usado apenas uma vez. Os procedimentos utilizados foram

aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA).

4.3. Tratamento

As drogas utilizadas foram diluídas em solução salina (0,9% NaCl), com exceção da bicuculina, pindolol, NAN-190 e ritanserina, os quais foram diluídos em salina com 1% de Tween 80, da sulpirida, que foi diluída em salina com 5% de DMSO, da caribdotoxina, do DIPPA, da glibenclamida e da nifedipina que foram diluídos em salina com 10% de DMSO e do haloperidol, que foi diluído em salina com 5% de etanol.

As drogas ou o veículo (salina com 1% de Tween 80, salina com 5% de DMSO, salina com 10% de DMSO ou salina com 5% de etanol) foram administrados pela via intraperitoneal (i.p.) em volume de 10 ml/kg de peso corporal. Depois de 30 minutos foi realizada a administração do $ZnCl_2$ ou veículo e após 30 min foi realizado o teste do nado forçado (TNF).

Em uma outra série de experimentos, foram administrados pela via intracerebroventricular (i.c.v.) salina, caribdotoxina, glibenclamida ou TEA. Depois de 15 minutos foi administrado por via i.p. o veículo ou $ZnCl_2$ e depois de 30 minutos foi realizado o TNF. A administração via i.c.v. foi realizada como descrito por Eckeli et al. (2000). Os camundongos foram levemente anestesiados com éter. As injeções foram feitas através da inserção de uma agulha conectada por uma cânula de propileno à micro-seringa Hamilton de 10 μ l, diretamente no ventrículo lateral usando-se a bregma como referência (1 mm lateral e 1 mm posterior ao bregma, com uma perfuração de 4 mm de profundidade). As soluções de veículo, caribdotoxina, glibenclamida ou TEA foram administradas (doses sub-ativas) em

volume constante de 5 μ l durante 30 segundos, e a cânula foi mantida no local da injeção por mais 30 segundos.

5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA DO ZINCO

5.1. Teste do nado forçado (TNF)

Este teste foi proposto por Porsolt et al. (1977) a fim de estudar substâncias com uma possível ação antidepressiva. O modelo sugere a observação do tempo de imobilidade, ou seja, a resposta do animal que está submetido a uma situação da qual não há saída, o nado forçado (Porsolt et al., 1979) (Figura 1). Um animal é considerado imóvel quando flutua na água ou quando realiza movimentos necessários apenas para manutenção da sua cabeça acima do nível da água. O tempo de imobilidade dos camundongos foi avaliado durante um período de 6 minutos. Esta avaliação foi realizada em um cilindro plástico de 10 cm de diâmetro e 24 cm de altura contendo 19 cm de altura de água a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Eckeli et al., 2000; Da Silva et al., 2000, Zomkowski et al., 2002). Os antidepressivos clássicos reduzem o tempo de imobilidade nesse teste (Porsolt et al., 1977). Embora este modelo não reflita adequadamente a sintomatologia da depressão em humanos, ele parece ter um alto valor preditivo na investigação de drogas antidepressivas (WILLNER, 1984).

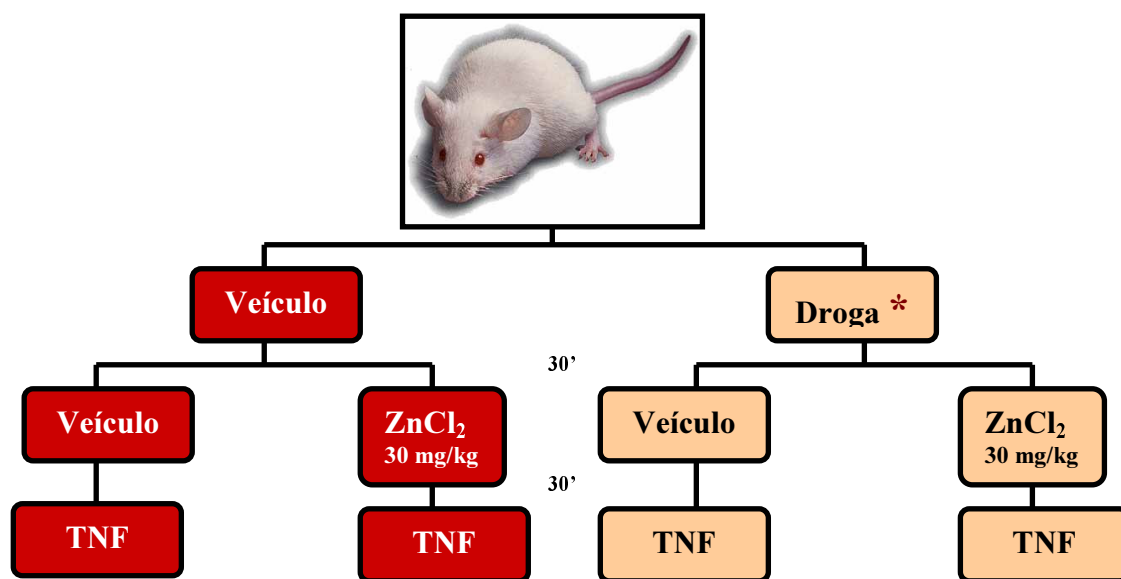


Figura 1. Teste do Nado Forçado (TNF)

5.2. Estudo dos Mecanismos de Ação Antidepressiva do Zinco

5.2.1. Envolvimento do sistema dopaminérgico

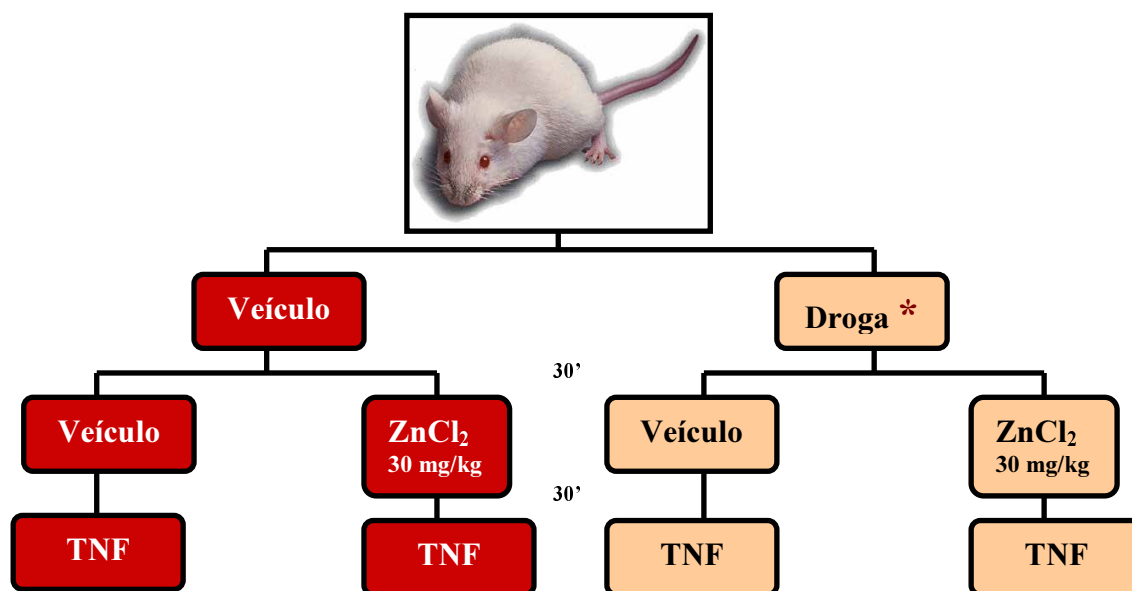
A fim de investigar o envolvimento do sistema dopaminérgico na ação antidepressiva do zinco, como pode ser observado no esquema abaixo, os camundongos foram pré-tratados com veículo, haloperidol (0,2 mg/kg, i.p., antagonista dopaminérgico não seletivo) ou sulpirida (50 mg/kg, i.p., antagonista D₂-dopaminérgico). Trinta minutos depois, os animais foram tratados com veículo ou cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.). Decorridos 30 minutos, os camundongos foram submetidos ao TNF.



*Haloperidol (0,2 mg/kg) ou sulpirida (50 mg/kg).

5.2.2. Envolvimento dos subtipos de receptores serotoninérgicos 5-HT₁ e 5-HT₂

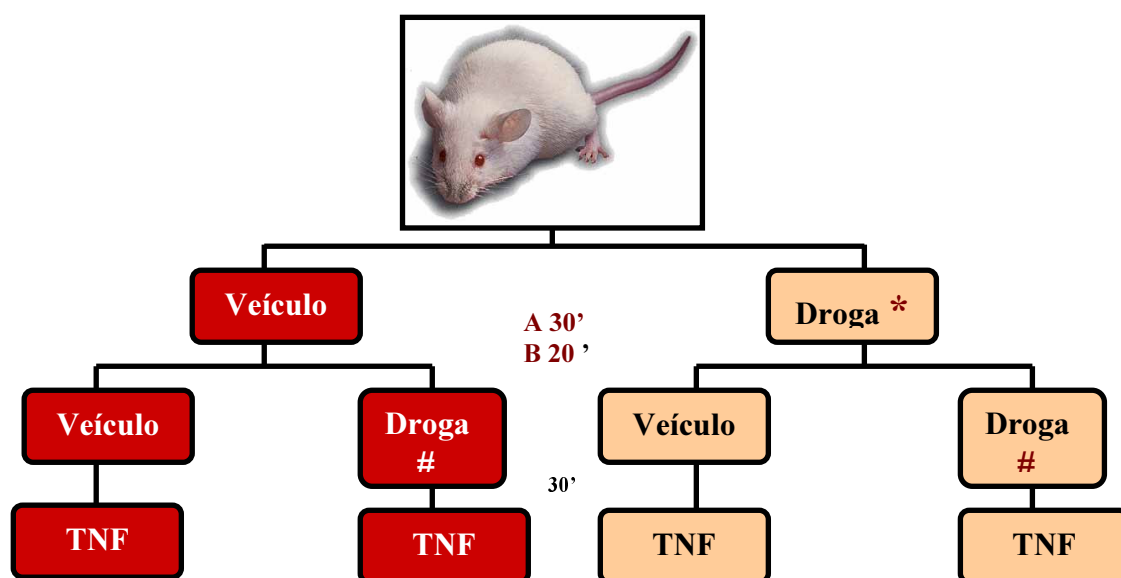
Para investigar a participação dos receptores serotoninérgicos no efeito antidepressivo do zinco, como pode ser observado no esquema abaixo, os animais foram pré-tratados com veículo, pindolol (32 mg/kg, i.p., antagonista de receptores 5-HT_{1A/1B}/β-adrenoceptores), WAY 100635 (0,3 mg/kg, por via subcutânea -s.c., antagonista seletivo de receptores 5-HT_{1A}) ou isamoltane (2,5 mg/kg, i.p., antagonista de receptores 5-HT_{1B}), e ainda com ritanserina (5 mg/kg, i.p., antagonista de receptores 5-HT_{2A/2C}) ou cetanserina (4 mg/kg, i.p., antagonista preferencial de receptores 5-HT_{2A}). Decorridos 30 minutos os animais foram tratados com veículo ou com cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.). Após 30 minutos os animais foram submetidos ao TNF (ZOMKOVSKI et al., 2004).



* Pindolol (32 mg/kg) isamoltane (2,5 mg/kg), WAY 100635 (0,3 mg/kg), ritanserina (5 mg/kg), ou cetanserina (4 mg/kg).

5.2.3. Envolvimento do sistema GABAérgico

A fim de investigar o envolvimento do sistema GABAérgico no efeito antidepressivo do zinco, como pode ser observado no esquema abaixo, os animais foram pré-tratados com veículo, baclofen (4 mg/kg, i.p., agonista de receptores GABA_B) ou bicuculina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores GABA_A). Decorridos 30 minutos os animais foram tratados com veículo ou com cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) e após 30 minutos foram submetidos ao TNF. Da mesma maneira, os animais foram pré-tratados com veículo ou bicuculina (1 mg/kg, i.p.) e após 30 minutos foram tratados com muscimol (1 mg/kg, i.p., agonista de receptores GABA_A), sendo submetidos, depois de 30 minutos ao TNF (**Protocolo A**). Em um outro protocolo experimental os animais foram pré-tratados com veículo ou uma dose sub-ativa de muscimol (0,5 mg/kg, i.p.), e após 20 minutos foram injetados com doses sub-ativas de cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.). Decorridos 30 minutos os animais foram submetidos ao TNF (**Protocolo B**).

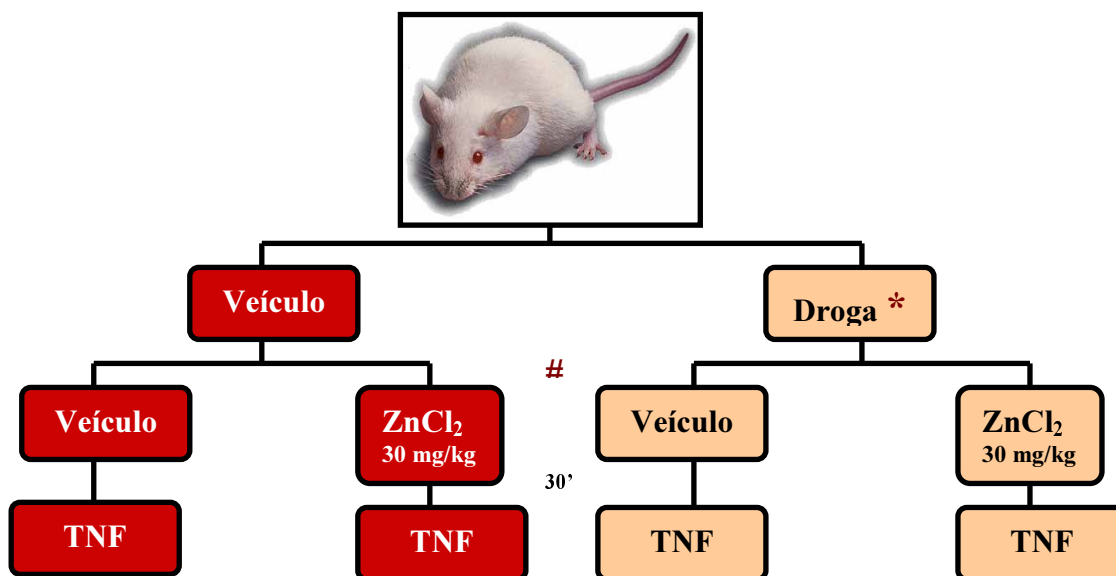


Protocolo A: * Baclofen (4 mg/kg) ou bicuculina (1 mg/kg) e # ZnCl₂ (30 mg/kg) ou Muscimol (1 mg/kg).

Protocolo B: * Muscimol (0,5 mg/kg, dose sub-ativa) e # ZnCl₂ (5 mg/kg, dose sub-ativa)

5.2.4. Envolvimento do sistema opióide

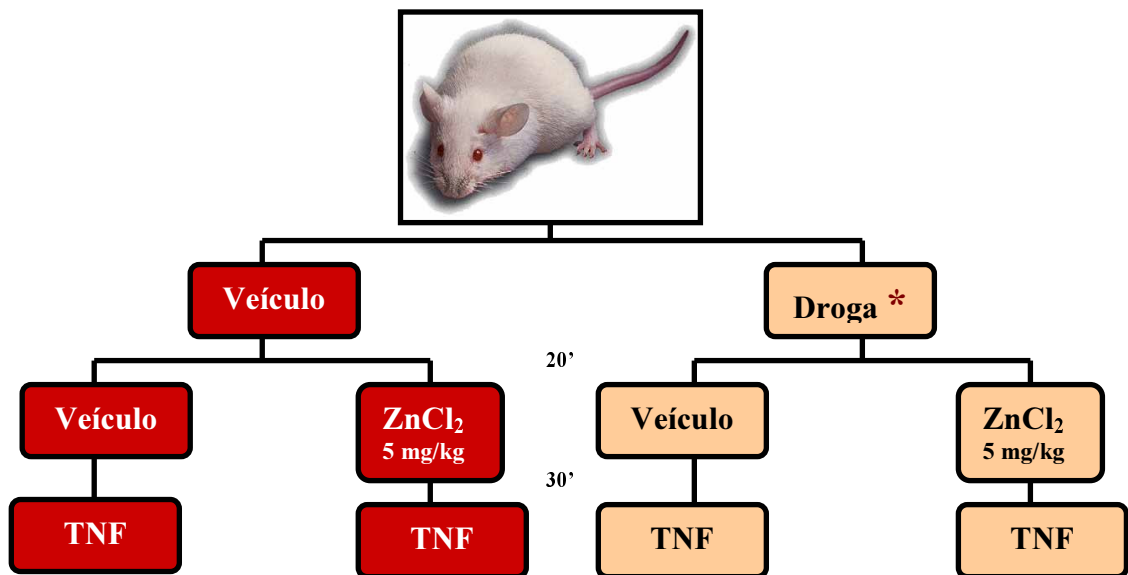
Para investigar a participação dos sub-tipos de receptores opióides no efeito antidepressivo do zinco, como pode ser observado no esquema abaixo, os animais foram pré-tratados com veículo ou naltrindol (3 mg/kg, i.p., antagonista seletivo dos receptores δ opióides). Após 30 minutos, os animais foram tratados com veículo ou cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.), sendo submetidos, após 30 minutos, ao TNF. Com o mesmo objetivo, os animais foram pré-tratados com DIPPA (1 mg/kg, i.p., antagonista seletivo dos receptores κ opióides) ou veículo, 48 horas antes, ou ainda com clocinamox (1 mg/kg, i.p., antagonista seletivo dos receptores μ opióides) ou veículo, 24 horas antes do tratamento. O tratamento foi realizado com a administração de veículo ou de cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.). Depois de 30 minutos os animais foram submetidos ao TNF.



* Naltrindol (3 mg/kg, #30 min. antes), DIPPA (1 mg/kg, #48h antes) ou clocinamox (1 mg/kg, #24h antes).

5.2.5. Envolvimento dos canais de cálcio

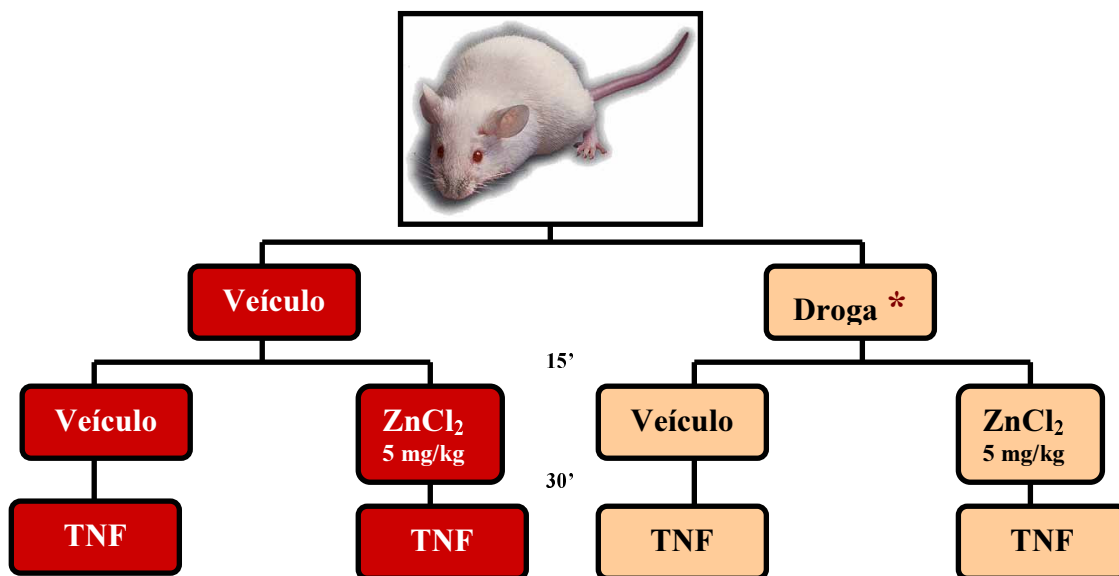
Para investigar a participação dos canais de cálcio no efeito antidepressivo do zinco, como pode ser observado no esquema abaixo, os animais foram pré-tratados com veículo ou doses sub-ativas de nifedipina (0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.p., bloqueador de canal de cálcio tipo L) ou flunarizina (0,05 mg/kg i.p., bloqueador de canal de cálcio tipo T) e após 20 minutos foram injetados com uma dose sub-ativa de cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.). Decorridos 30 minutos os animais foram submetidos ao TNF.



* Nifedipina (0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ou flunarizina (0,05 mg/kg).

5.2.6. Envolvimento dos canais de potássio

Para investigar a participação dos canais de potássio no efeito antidepressivo do zinco, como pode ser observado no esquema abaixo, os animais foram pré-tratados com veículo ou uma dose sub-ativa de TEA (25 pg/sítio, i.c.v., bloqueador de canais de potássio sensíveis ao ATP e/ou ativados por cálcio), caribdotoxina (25 pg/sítio, i.c.v., bloqueador de canal de potássio ativado por cálcio) ou Glibenclamida (0,5 pg/sítio, i.c.v., bloqueador de canal de potássio sensível ao ATP) e após 15 minutos foram injetados com doses sub-ativas de cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.). Decorridos 30 minutos os animais foram submetidos ao TNF.



* TEA (25 pg/sítio), caribdotoxina (25 pg/sítio) ou glibenclamida (0,5 pg/sítio).

5.3. Análise estatística

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) de uma ou de duas vias, seguida do teste *post hoc* de Duncan, quando apropriado. Foram considerados estatisticamente significativos valores de $P < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1. Envolvimento do Sistema Dopaminérgico

O pré-tratamento dos animais com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p., antagonista dopaminérgico não seletivo – **Figura 2A**) reverteu o efeito antidepressivo causado pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento com o haloperidol [$F(1,20) = 18,9; P < 0,01$], do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,20) = 13,2; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 12,47; P < 0,01$]. Da mesma forma, o pré-tratamento dos animais com a sulpirida (50 mg/kg, i.p., antagonista D_2 -dopaminérgico – **Figura 2B**) reverteu o efeito antidepressivo causado pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento com a sulpirida [$F(1,20) = 51,9; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 31,2; P < 0,01$], mas não do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,20) = 3,5; P = 0,07$]. O teste *post hoc* de Duncan mostrou que o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) foi significativamente prevenido pelo tratamento dos animais com haloperidol ou sulpirida.

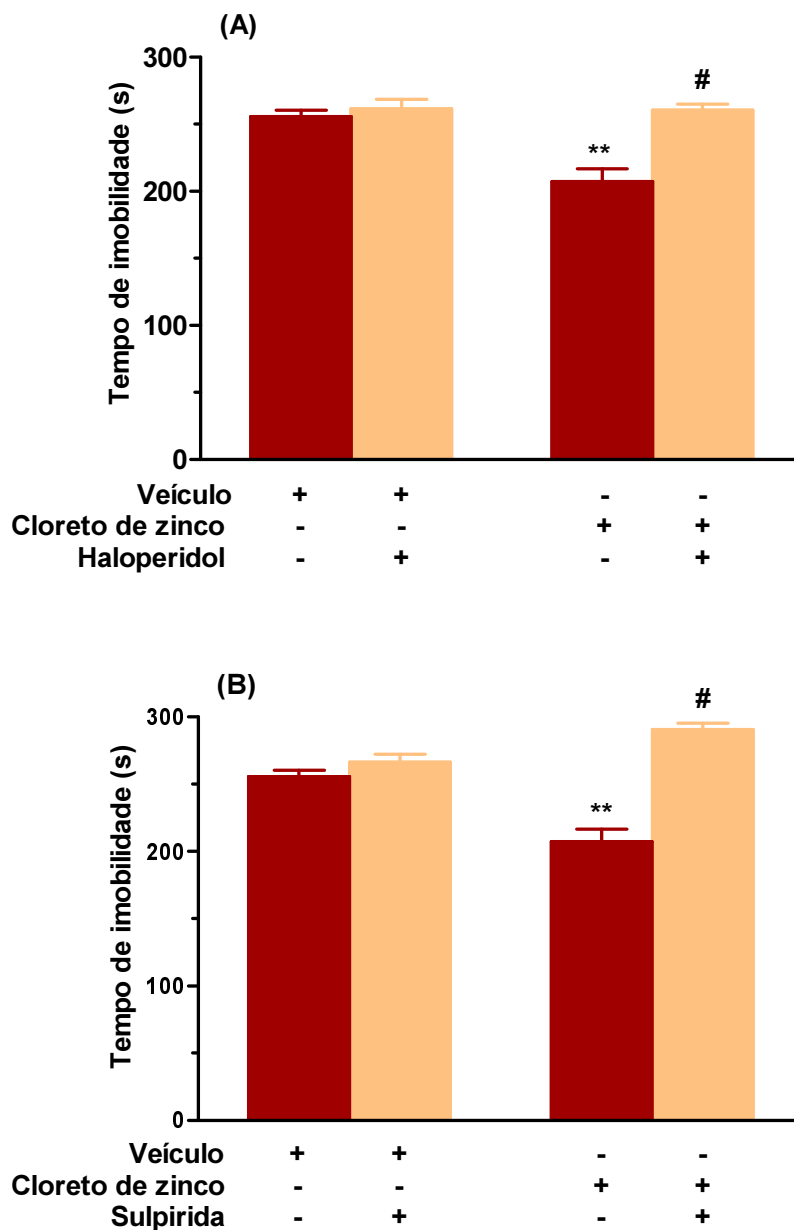


Figura 2. Efeito do pré-tratamento dos animais com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p., **Painel A**) e com sulpirida (50 mg/kg, i.p. **Painel B**) sobre a redução do tempo de imobilidade causada pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com os antagonistas 30 minutos antes da administração do cloreto de zinco. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6). ** $P < 0,01$ quando comparado com grupo controle (veículo), # $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com cloreto de zinco na ausência do antagonista.

6.2. Envolvimento dos Subtipos de Receptores Serotonérgicos 5-HT₁ e 5-HT₂

A **Figura 3A** mostra o efeito do pré-tratamento dos animais com pindolol (32 mg/kg, i.p., antagonista 5-HT_{1A} e 1B), WAY 100635 (0,3 mg/kg, antagonista 5-HT_{1A}) ou isamoltane (2,5 mg/kg, i.p., antagonista 5-HT_{1B}) revertendo a redução do tempo de imobilidade causado pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou o efeito significativo do pré-tratamento com pindolol [$F(1,20) = 48,7; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 68,2; P < 0,01$], mas não do tratamento com cloreto de zinco [$F(1,20) = 4,2; P = 0,05$]. Também revelou o efeito significativo do pré-tratamento com WAY 100635 [$F(1,21) = 18,4; P < 0,01$], do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,21) = 5,8; P < 0,05$]. e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,21) = 21,8; P < 0,01$]. Ainda revelou um efeito significativo do pré-tratamento com isamoltane [$F(1,20) = 16,9; P < 0,01$], do tratamento com o zinco [$F(1,20) = 22,3; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 40,6; P < 0,01$]. A análise de *post hoc* de Duncan indicou que o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) foi significativamente prevenido pelo tratamento dos animais com pindolol, WAY 100635 ou isamoltane.

A **Figura 3B** mostra, de maneira similar, o efeito do pré-tratamento dos animais com ritanserina (5 mg/kg, i.p., antagonista 5-HT_{2A/2C}) ou cetanserina (4mg/kg, i.p., antagonista 5-HT_{2A}), revertendo a redução do tempo de imobilidade causado pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento com ritanserina [$F(1,20) = 12,5; P < 0,01$], do tratamento com zinco [$F(1,20) = 20,2; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 19,0; P < 0,01$]. Também revelou um efeito significativo do pré-tratamento com cetanserina [$F(1,20) = 26,3; P < 0,01$], do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,20) = 21,9; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 34,6; P < 0,01$]. O teste de *post hoc*

de Duncan indicou que o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) também foi significativamente prevenido pelo tratamento dos animais com ritanserina ou cetanserina.

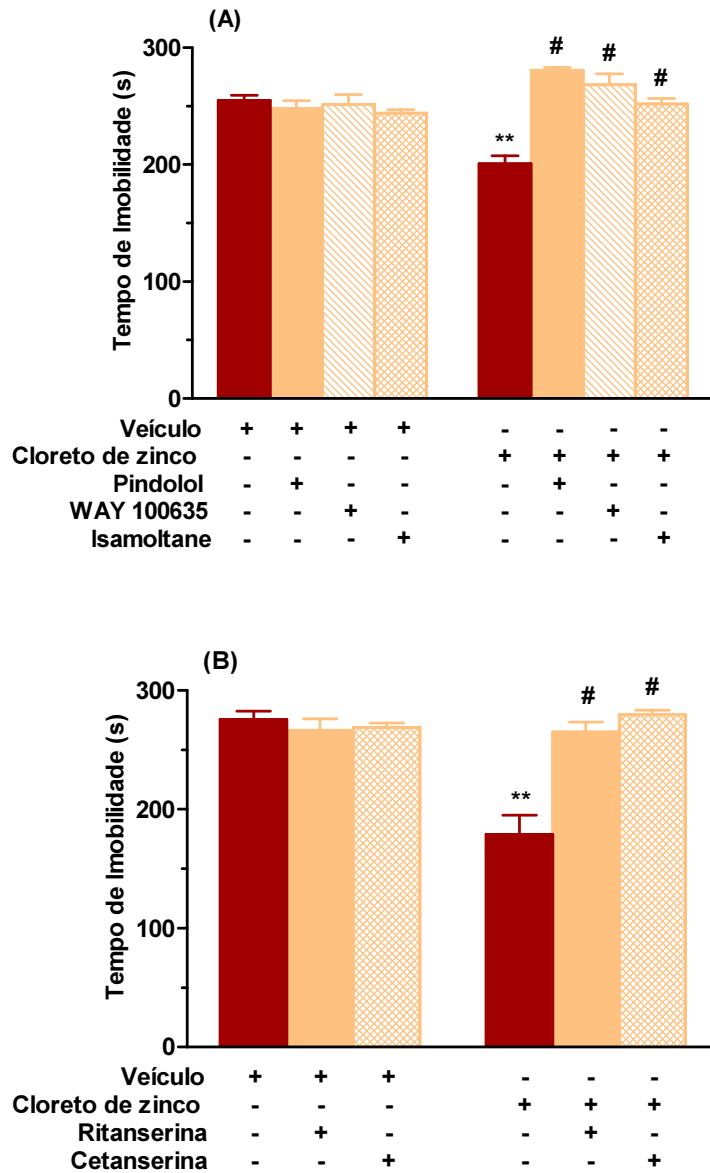


Figura 3. Efeito do pré-tratamento dos animais com pindolol (32 mg/kg, i.p.), WAY 100635 (0,3 mg/kg, i.p.) ou isamoltane (2,5 mg/kg, i.p.) (**Painel A**) e do pré-tratamento dos animais com ritanserina ou cetanserina (**Painel B**) sobre a redução do tempo de imobilidade causada pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com pindolol, WAY 100635, isamoltane, ritanserina ou cetanserina 30 minutos antes da administração do cloreto de zinco. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). ** $P < 0,01$ quando comparado com grupo controle (veículo), # $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com cloreto de zinco na ausência dos antagonistas.

6.3. Envolvimento do Sistema GABAérgico

O envolvimento do sistema GABAérgico na atividade antidepressiva do cloreto de zinco também foi investigada. O pré-tratamento dos animais com bicuculina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores GABA_A – **Figura 4A**) ou baclofen (4 mg/kg, i.p., agonista de receptores GABA_B – **Figura 4B**), reverteu, de maneira significativa, a redução do tempo de imobilidade causada pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento com bicuculina [$F(1,22) = 26,0; P < 0,01$], do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,22) = 29,6; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,22) = 18,6; P < 0,01$]. Também revelou um efeito significativo do pré-tratamento com baclofen [$F(1,20) = 7,3; P = 0,01$], do tratamento com cloreto de zinco [$F(1,20) = 12,7; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 15,5; P < 0,01$]. O teste *post hoc* de Duncan indicou que o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) foi significativamente prevenido pelo tratamento dos animais com bicuculina ou baclofen. Além disso, o pré-tratamento dos animais com bicuculina (1 mg/kg, i.p., – **Figura 4C**), reverteu de maneira significativa, a redução da imobilidade causada pelo muscimol (1 mg/kg, i.p., agonista de receptores GABA_A). A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento com bicuculina [$F(1,20) = 10,2; P < 0,01$], do tratamento com o muscimol [$F(1,20) = 13,58; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 10,75; P < 0,01$]. O teste *post hoc* de Duncan indicou que o efeito antidepressivo do muscimol (1 mg/kg) foi significativamente prevenido pelo tratamento dos animais com bicuculina. O pré-tratamento dos animais com muscimol (0,5 mg/kg i.p., dose sub-ativa – **Figura 4D**) foi capaz de potencializar o efeito do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou o efeito significativo da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,21) = 4,48; P < 0,05$], mas não do pré-tratamento

com muscimol [$F(1,21) = 1,87$; $P = 0,18$] e do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,21) = 2,76$; $P = 0,11$]. O teste *post hoc* de Duncan indicou que o pré-tratamento com muscimol foi capaz de aumentar significativamente o efeito anti-imobilidade do zinco no TNF.

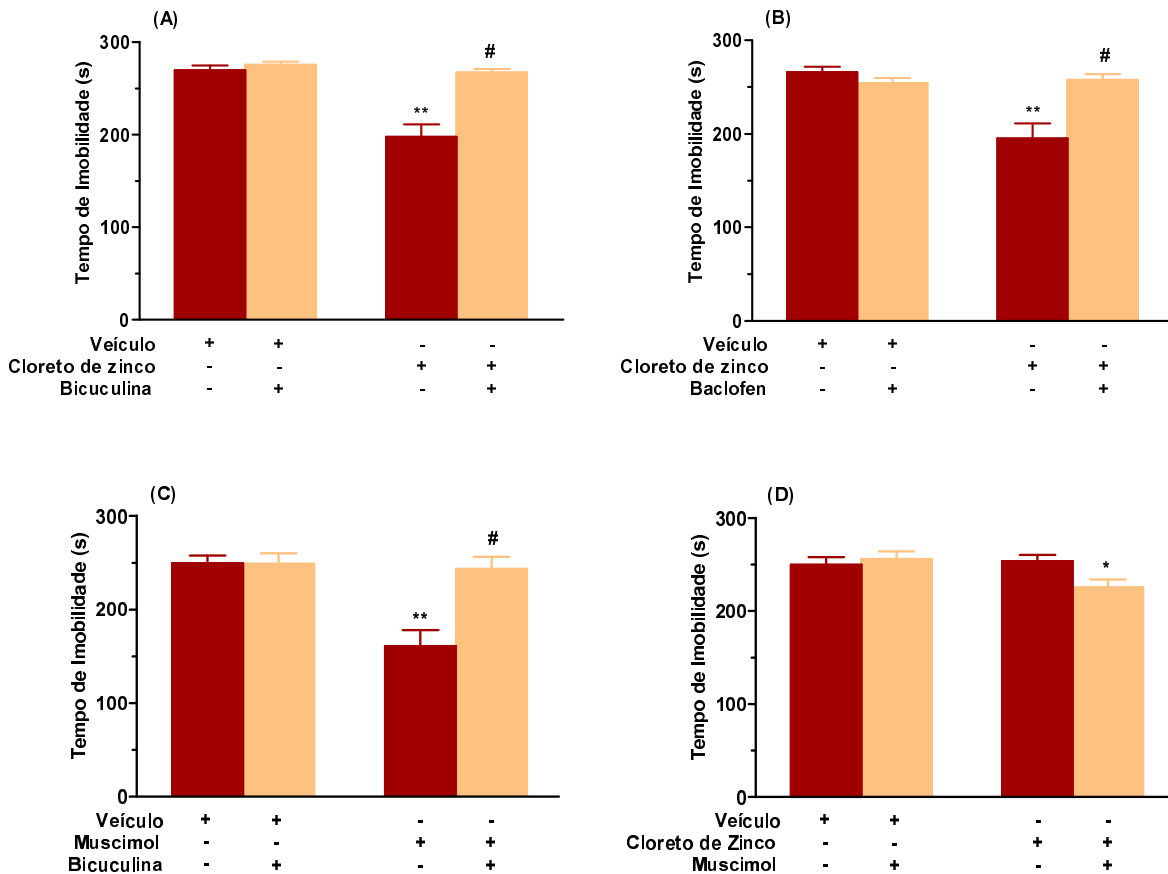


Figura 4. Efeito do pré-tratamento dos animais com bicuculina (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores GABA_A, **Painel A**) e baclofen (4 mg/kg, i.p., agonista de receptores GABA_B, **Painel B**) sobre a redução do tempo de imobilidade causada pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. Efeito do pré-tratamento dos animais com bicuculina (1 mg/kg, i.p., **Painel C**) sobre a redução do tempo de imobilidade causada pelo muscimol (1 mg/kg, i.p., agonista de receptores GABA_A). Os camundongos foram pré-tratados bicuculina ou baclofen 30 minutos antes da administração do cloreto de zinco ou muscimol. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). ** $P = 0,01$ quando comparado com grupo controle (veículo), # $P \leq 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com cloreto de zinco na ausência dos antagonistas. Efeito do pré-tratamento dos animais com muscimol (0,5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa, **Painel D**) potencializando o efeito do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com muscimol 20 minutos antes da administração do cloreto de zinco e pós 30 minutos foi realizado o TNF. Os resultados estão expressos como

média + E.P.M. (n = 6-7). * $P < 0,05$ quando comparado com os grupos salina/salina, salina/ cloreto de zinco ou muscimol/salina.

6.4 Envolvimento do Sistema Opióide

A participação de sub-tipos de receptores opióides no efeito antidepressivo do cloreto de zinco também foi investigada. O pré-tratamento dos animais com naltrindol (3 mg/kg, i.p., antagonista seletivo dos receptores delta (δ) opióides – **Figura 5A**), DIPPA (1 mg/kg, i.p., antagonista seletivo dos receptores kappa (κ) opióides – **Figura 5B**) ou clocinamox (1 mg/kg, i.p., antagonista seletivo dos receptores mi (μ) opióides – **Figura 5C**) reverteu o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento com naltrindol [$F(1,20)=21,5$; $P < 0,01$], do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,20) = 11,7$; $P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 24,5$; $P < 0,01$]. Também revelou um efeito significativo da interação entre o pré-tratamento com DIPPA e o tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,20) = 19,0$; $P < 0,01$], mas não do pré-tratamento com DIPPA [$F(1,20) = 0,8$; $P = 0,4$] ou do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,20) = 2,4$; $P = 0,1$]. A ANOVA ainda revelou o efeito significativo do pré-tratamento com clocinamox [$F(1,23) = 15,9$; $P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,23) = 44,6$; $P < 0,01$], mas não do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,23) = 3,9$; $P = 0,06$]. O teste de *post hoc* de Duncan indicou que o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) foi significativamente prevenido pelo tratamento dos animais com naltrindol, DIPPA ou clocinamox.

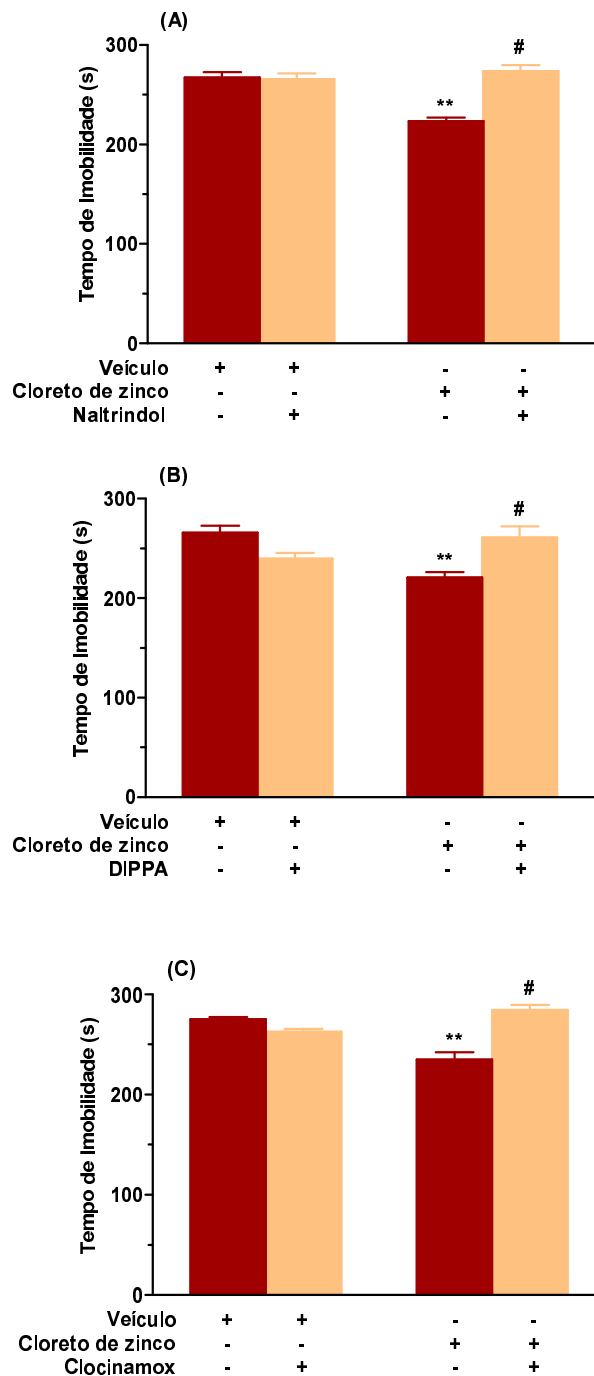


Figura 5. Efeito do pré-tratamento dos animais com naltrindol (3 mg/kg, i.p., **Painel A**), DIPPA (0,5 mg/kg, i.p., **Painel B**) e clocinamox (1 mg/kg, i.p., **Painel C**) sobre a redução do tempo de imobilidade causada pelo cloreto de zinco (30 mg/kg, i.p.) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com naltrindol 30 minutos, com DIPPA 48 horas e com clocinamox 24 horas antes da administração do cloreto de zinco e 30 minutos após foi realizado o TNF. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-9). ** $P < 0,01$ quando comparado com grupo controle (veículo), # $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com cloreto de zinco na ausência dos antagonistas.

6.5. Envolvimento dos canais de cálcio

O pré-tratamento dos animais com dose sub-ativa de nifedipina (0,01 µg/kg i.p., bloqueador de canal de cálcio tipo L – **Figura 6**) foi capaz de potencializar o efeito do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou o efeito significativo do pré-tratamento com nifedipina [$F(1,20) = 21,9; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,20) = 26,1; P < 0,01$], mas não do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,20) = 3,8; P = 0,06$]. O teste *post hoc* indicou que o pré-tratamento com nifedipina foi capaz de aumentar significativamente o efeito anti-imobilidade do cloreto de zinco no TNF.

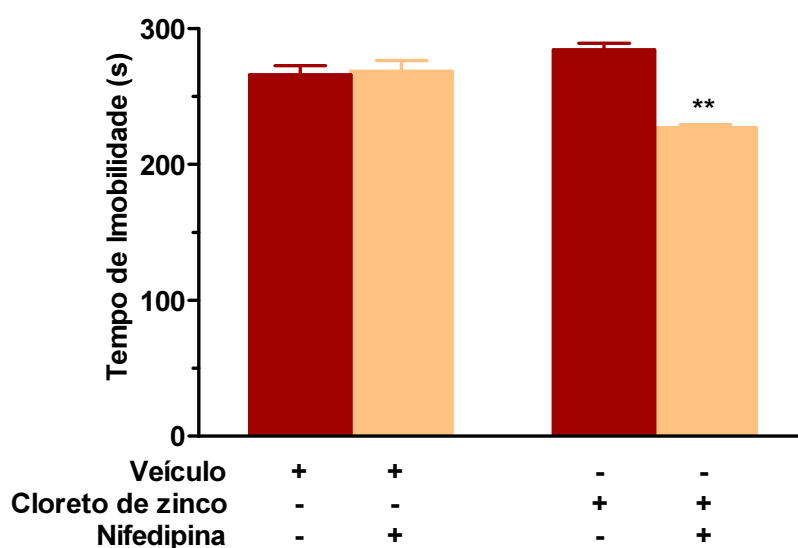


Figura 6. Efeito antidepressivo sinérgico da nifedipina (0,01 µg/kg i.p., dose sub-ativa) com o cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com nifedipina 20 minutos antes da administração do cloreto de zinco. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6). ** $P < 0,01$ quando comparado com os grupos salina/salina, salina/cloreto de zinco ou nifedipina/salina.

A **Figura 7A** mostra a curva dose-resposta da flunarizina (0,05-5 mg/kg i.p., bloqueador de canal de cálcio tipo T) no TNF. A ANOVA de uma via revelou uma diferença significativa para o efeito da flunarizina na redução do tempo de imobilidade no TNF [F(3,27) = 28,80; $P < 0,01$]. O teste *post hoc* de Duncan indicou que a flunarizina, nas doses de 0,5 e 5 mg/kg, reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais no TNF.

O pré-tratamento dos animais com flunarizina (0,05 mg/kg i.p., dose sub-ativa – **Figura 7B**) foi capaz de potencializar a redução do tempo de imobilidade do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou o efeito significativo do pré-tratamento com flunarizina [F(1,24) = 12,0; $P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [F(1,24) = 2,5; $P < 0,05$], mas não do tratamento com o cloreto de zinco [F(1,24) = 4,1; $P < 0,05$]. O teste *post hoc* indicou que o pré-tratamento com flunarizina foi capaz de aumentar significativamente o efeito anti-imobilidade do cloreto de zinco no TNF.

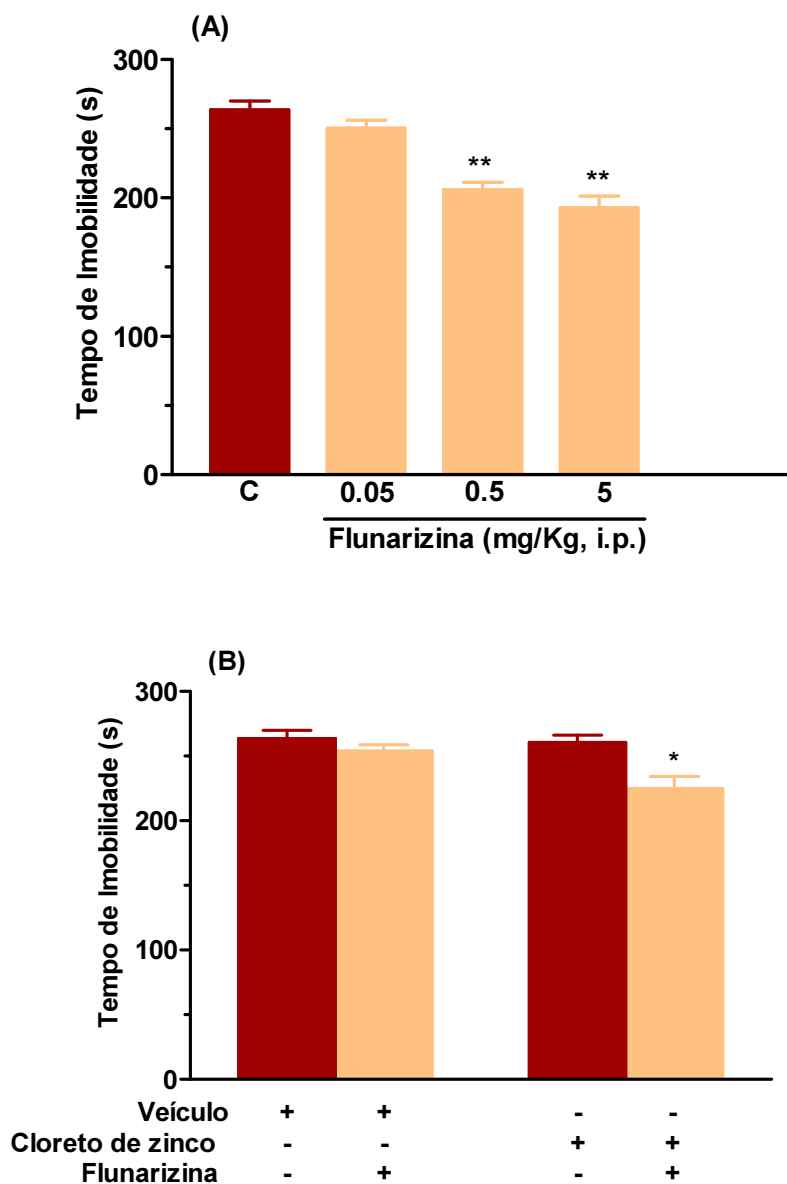


Figura 7. Efeito da administração de flunarizina (0,05–5 mg/kg, i.p., **Painel A**) no TNF. A flunarizina foi administrada 30 minutos antes do TNF. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). ** $P < 0,01$ quando comparado com o grupo salina. Efeito do pré-tratamento dos animais com flunarizina (0,05 mg/kg, i.p., **Painel B**) sobre o efeito do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com flunarizina 20 minutos antes da administração do cloreto de zinco. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-8).

6.6. Envolvimento dos canais de potássio

A **Figura 8A** mostra a curva dose-resposta do TEA (25 - 2500 pg/sítio, i.c.v., bloqueador de canais de potássio sensíveis ao ATP e/ou ativados por cálcio). A ANOVA de uma via revelou uma diferença significativa para o efeito do TEA na redução do tempo de imobilidade no TNF [$F(3,22) = 43,54; P < 0,01$]. O teste *post hoc* de Duncan indicou que o TEA, nas doses de 250 e 2500 pg/sítio, i.c.v., reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais no TNF.

A **Figura 8B** mostra que o pré-tratamento dos animais com dose sub-ativa de TEA (25 pg/sítio, i.c.v.) foi capaz de potencializar significativamente o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou o efeito significativo do pré-tratamento com TEA [$F(1,22) = 12,3; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,22) = 7,6; P < 0,01$], mas não do tratamento com o cloreto de zinco [$F(1,22) = 0,28, P = 0,6$]. O teste *post hoc* de Duncan indicou que o pré-tratamento com TEA foi capaz de aumentar significativamente o efeito anti-imobilidade do zinco no TNF.

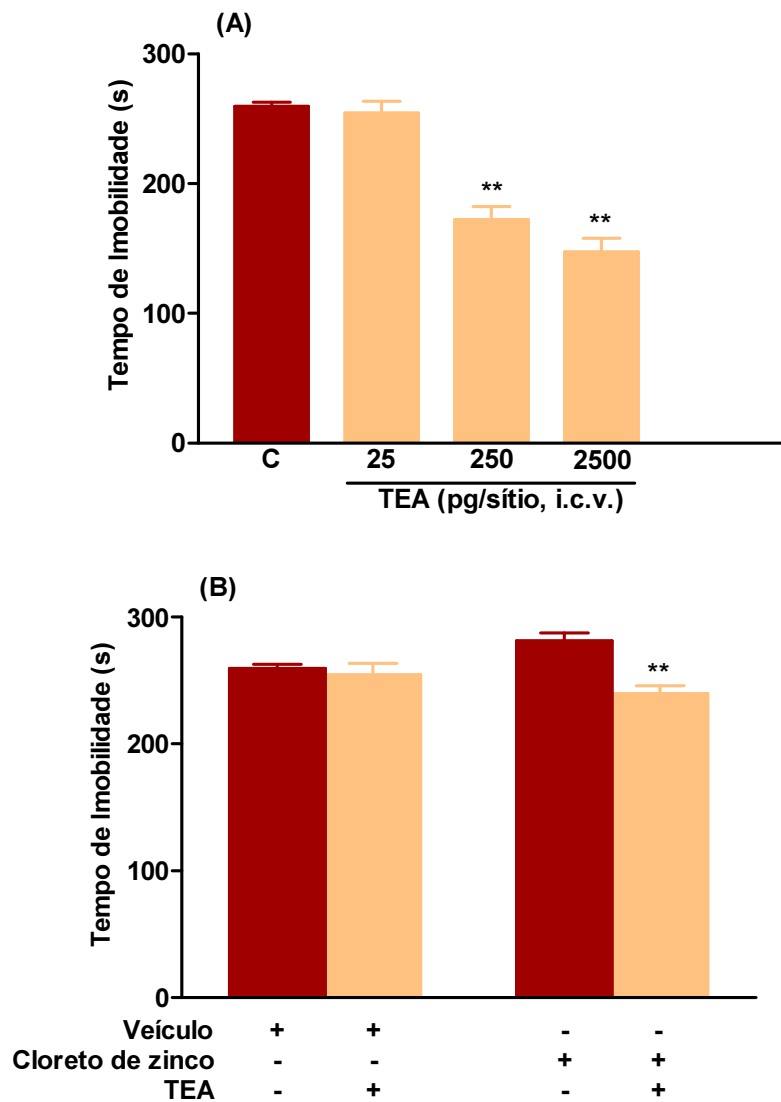


Figura 8. Efeito da administração de TEA (25 – 2500 pg/sítio, i.c.v., **Painel A**) no TNF. O TEA foi administrado 15 minutos antes do TNF. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). ** $P < 0,01$ quando comparado com o grupo salina. Efeito do pré-tratamento dos animais com TEA (25 pg/sítio, i.c.v., dose sub-ativa, **Painel B**) potencializando o efeito do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com TEA 15 minutos antes da administração do cloreto de zinco e pós 30 minutos foi realizado o TNF. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). ** $P < 0,01$ quando comparado com os grupos salina/salina, salina/ cloreto de zinco ou glibenclamida/salina.

A **Figura 9A** mostra a curva dose-resposta da caribdotoxina (0,025-25 ng/sítio, i.c.v., bloqueador de canal de potássio ativado por cálcio). A ANOVA de uma via revelou uma diferença significativa para o efeito da caribdotoxina na redução do tempo de imobilidade no TNF [$F(4,27) = 10,23; P < 0,01$]. O teste *post hoc* de Duncan indicou que a caribdotoxina, nas doses de 2,5 e 25 ng/sítio, i.c.v., reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais no TNF.

A **Figura 9B** mostra que o pré-tratamento dos animais com dose sub-ativa de caribdotoxina (0,025 ng/sítio, i.c.v.) foi capaz de potencializar significativamente o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou o efeito significativo do pré-tratamento com caribdotoxina [$F(1,22) = 42,9; P < 0,01$], do tratamento com o zinco [$F(1,22) = 31,3; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,22) = 19,3; P < 0,01$]. O teste *post hoc* indicou que o pré-tratamento com caribdotoxina foi capaz de aumentar significativamente o efeito anti-imobilidade do zinco no TNF.

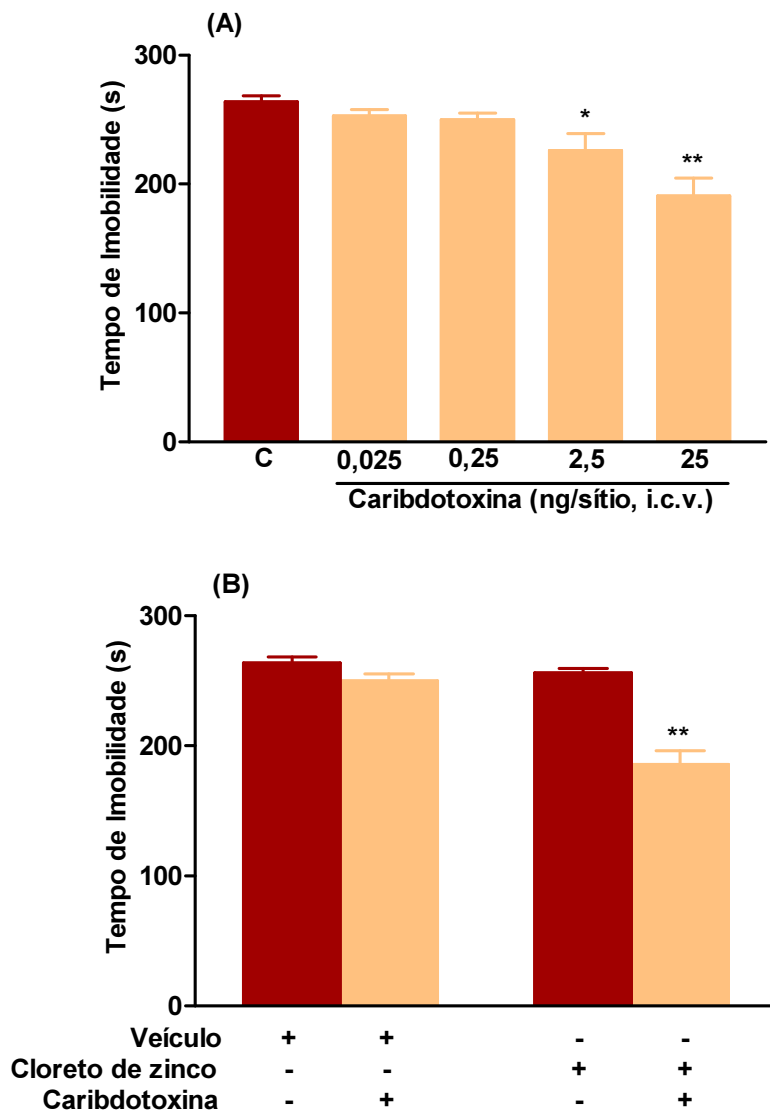


Figura 9. Efeito da administração de caribdotoxina (0,025 – 25 ng/sítio, i.c.v., **Painel A**) no TNF. A caribdotoxina foi administrada 15 minutos antes do TNF. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). * $P < 0,05$ ou ** $P < 0,01$ quando comparado com o grupo salina. Efeito do pré-tratamento dos animais com caribdotoxina (0,025 ng/sítio, i.c.v., dose sub-ativa, **Painel B**) potencializando o efeito do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com caribdotoxina 15 minutos antes da administração do cloreto de zinco e após 30 minutos foi realizado o TNF. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). ** $P < 0,01$ quando comparado com os grupos salina/salina, salina/ cloreto de zinco ou caribdotoxina/salina.

A **Figura 10A** mostra a curva dose-resposta da glibenclamida (0,5 - 5000 pg/sítio, i.c.v., bloqueador de canal de potássio sensível ao ATP). A ANOVA de uma via revelou uma diferença significativa para o efeito da glibenclamida na redução do tempo de imobilidade no TNF [$F(3,22) = 19,93; P < 0,01$]. O teste *post hoc* de Duncan indicou que a glibenclamida, nas doses de 50 e 5000 pg/sítio, i.c.v., reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais no TNF.

A **Figura 10B** mostra que o pré-tratamento dos animais com dose sub-ativa de glibenclamida (0,5 pg/sítio, i.c.v.) foi capaz de potencializar significativamente o efeito antidepressivo do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou o efeito significativo do pré-tratamento com glibenclamida [$F(1,23) = 43,8; P < 0,01$], do tratamento com o zinco [$F(1,23) = 13,5; P < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,23) = 26,1; P < 0,01$]. O teste *post hoc* indicou que o pré-tratamento com glibenclamida foi capaz de aumentar significativamente o efeito anti-imobilidade do zinco no TNF.

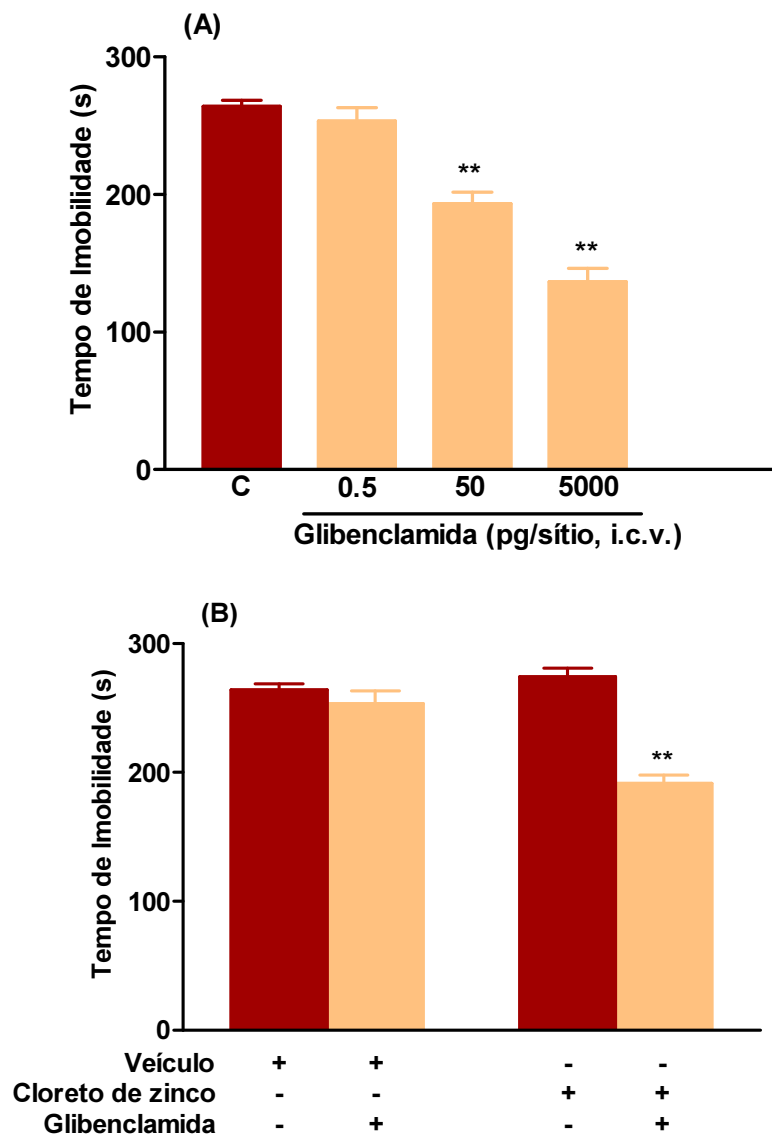


Figura 10. Efeito da administração de glibenclamida (0,5 - 5000 pg/sítio, i.c.v., **Painel A**) no TNF. A glibenclamida foi administrada 15 minutos antes do TNF. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-7). ** $P < 0,01$ quando comparado com o grupo salina. Efeito do pré-tratamento dos animais com glibenclamida (0,5 pg/sítio, i.c.v., dose sub-ativa, **Painel B**) potencializando o efeito do cloreto de zinco (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) no TNF. Os camundongos foram pré-tratados com glibenclamida 15 minutos antes da administração do cloreto de zinco e 30 minutos após foi realizado o TNF. Os resultados estão expressos como média + E.P.M. (n = 6-8). ** $P < 0,01$ quando comparado com os grupos salina/salina, salina/cloreto de zinco ou glibenclamida/salina.

7. DISCUSSÃO

Alguns estudos têm demonstrado que o tratamento agudo (KROCZKA et al., 2000; KROCZKA et al., 2001) e crônico (NOWAK et al., 2003a) com zinco produz efeito antidepressivo no TNF em roedores. Um trabalho realizado pelo nosso grupo confirmou este efeito antidepressivo do zinco no TNF em camundongos e mostrou também que o zinco exerce efeito antidepressivo no teste da suspensão da cauda, outro modelo animal preditivo de atividade antidepressiva. Além disso, neste trabalho foi verificado que o efeito antidepressivo do zinco no TNF está relacionado com a inibição do receptor NMDA e com uma interação com a via da L-arginina-óxido nítrico (ROSA et al., 2003). A partir destes resultados, o presente estudo foi desenvolvido procurando desvendar quais os sistemas de neurotransmissores e canais iônicos que também estão envolvidos direta ou indiretamente na atividade antidepressiva do zinco. Sendo assim, o envolvimento dos sistemas dopaminérgico, opióide, serotoninérgico, GABAérgico e dos canais de cálcio e de potássio na ação do zinco no TNF em camundongos foi investigado.

O TNF foi desenvolvido por Porsolt e colaboradores utilizando inicialmente ratos e posteriormente camundongos. Este teste gera uma situação de estresse inescapável. Desta forma, ele provoca um estado de imobilidade nos animais após um período de atividade vigorosa e tentativa de fuga (PORSOLT et al., 1977; WILNER, 1984). Esta imobilidade reflete a falha da persistência do comportamento de fuga (desamparo comportamental) ou o desenvolvimento do comportamento passivo que incapacita o animal. Substâncias que têm a

capacidade de reduzir o tempo de imobilidade neste modelo apresentam atividade antidepressiva em humanos (PORSOLT et al., 1977; PORSOLT, 1979). Embora o TNF não reflita adequadamente a sintomatologia da depressão em humanos, ele tem um alto valor preditivo na investigação de drogas antidepressivas (WILLNER, 1984, CRYAN et al., 2002). Por isso, este teste é uma das ferramentas mais amplamente utilizadas na avaliação pré-clínica da atividade antidepressiva de uma droga. A utilização difundida deste modelo, também é um reflexo do seu baixo custo, alta reprodutibilidade, facilidade de execução, sensibilidade a todas as classes de antidepressivos, e finalmente a possibilidade de determinar todos os mecanismos de ação dos tratamentos com antidepressivos (BORSINI e MELI, 1988; CRYAN et al., 2002). Por esta razão este foi o modelo escolhido para o presente estudo.

A fim de investigar a participação do sistema dopaminérgico na ação antidepressiva do zinco, os camundongos foram pré-tratados com haloperidol (antagonista dopaminérgico não seletivo) e com sulpirida (antagonista D₂ dopaminérgico) em doses que não produziram efeito no TNF. A administração do haloperidol ou da sulpirida reverteu significativamente o efeito antidepressivo causado pelo zinco neste teste. Estes resultados sugerem que a ação antidepressiva do zinco parece ser mediada, pelo menos em parte, pela estimulação de receptores dopaminérgicos D₂.

A sugestão do envolvimento do sistema dopaminérgico na ação antidepressiva do zinco é corroborada pelo fato que o zinco regula a recaptção de dopamina por uma interação molecular direta com o transportador de DA (DAT). O zinco na forma iônica interage com as histidinas no domínio extracelular do DAT reduzindo a sua capacidade de captação (NORREGARD et al., 2004). Desta forma, uma possibilidade que poderia explicar a reversão do efeito do zinco no TNF pelo haloperidol e pela sulpirida, seria o fato do zinco aumentar a

concentração de dopamina na fenda sináptica, levando a uma ativação de receptores dopaminérgicos D₂.

De fato, a participação do sistema dopaminérgico, particularmente via receptores dopaminérgicos D₂ na depressão tem sido amplamente demonstrada em estudos pré-clínicos e clínicos. A imipramina, antidepressivo tricíclico, apresentou um efeito antidepressivo sinérgico com a amantadina (antagonista não competitivo de receptores NMDA) no TNF em ratos, o qual foi revertido pelo pré-tratamento dos animais com sulpirida, sugerindo a participação dos receptores D₂ neste efeito. Além disso, um outro estudo verificou que a adição de lítio (antidepressivo utilizado na depressão bipolar) na alimentação de ratos, por 6 dias, foi capaz de aumentar significativamente a expressão do mRNA do receptor D₂ na região do estriado (KAMEDA et al., 2001). Um outro estudo verificou ainda, que o prampimexol (agonista D_{2/3} dopaminérgico) apresentou significativa atividade antidepressiva em camundongos no TNF (SIUCIAK e FUJIWARA, 2004).

Contudo, não podemos excluir a participação dos receptores D₁, os quais estão também envolvidos na fisiopatologia da depressão (YAMADA et al., 2004), na ação do zinco no TNF, a qual deverá ser investigada em estudos futuros. Foi demonstrado que os ratos submetidos ao estresse crônico (modelo animal de depressão) apresentaram um significativo acréscimo (36%) na densidade dos receptores D₁ nesta região. Este acréscimo foi atenuado quando os animais foram tratados cronicamente com imipramina (OSSOWSKA et al., 2002). Um outro estudo demonstrou que a bupropiona ou a nomifensina, inibidores da recaptação de DA (ISRD), apresentaram ação antidepressiva no TNF em camundongos, a qual foi revertida pelo pré-tratamento dos animais com SCH 23390 (antagonista de receptores D₁) ou com sulpirida (YAMADA et al., 2004). Os resultados deste trabalho sugerem que a atividade antidepressiva dos ISRD ocorreu através de uma ação indireta dos mesmos sobre o sistema

dopaminérgico, ou seja, através da inibição da recaptação da dopamina. Estes dados corroboram com a hipótese que a ação do zinco no TNF também poderia ocorrer de maneira indireta através da interação com o transportador DAT, reduzindo a recaptação da dopamina.

Os nossos resultados também estendem os resultados anteriores obtidos por ROSA (2003), confirmando o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do zinco. Isto ficou evidenciado uma vez que a administração de pindolol (antagonista de receptores 5-HT_{1A/1B}), WAY 100635 (antagonista seletivo de receptores 5-HT_{1A}) ou isamoltane (antagonista de receptores 5-HT_{1B}) reverteram completamente a redução no tempo de imobilidade causada pelo zinco. Da mesma forma, a administração de ritanserina (antagonista 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}) ou cetanserina (antagonista 5-HT_{2A}) também foram capazes de reverter completamente o efeito antidepressivo do zinco no TNF. Estes resultados indicam que a ação antidepressiva do zinco parece envolver, ao menos em parte, uma interação tanto com os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} como também com os receptores 5-HT_{2A}.

Estes dados complementam os resultados encontrados anteriormente pelo nosso grupo, que demonstraram uma reversão do efeito antidepressivo do zinco no TNF pelo pré-tratamento com PCPA (inibidor da enzima triptofano hidroxilase que causa depleção de serotonina), bem como um efeito antidepressivo sinérgico do pindolol com o zinco (ROSA, 2003). De acordo com a literatura, antagonistas dos receptores 5-HT_{1A}, como o pindolol, aumentam ou aceleram os efeitos de antidepressivos em estudos pré-clínicos e clínicos (Artigas et al., 2001). O mecanismo de ação pelo qual o pindolol auxilia nas atividades antidepressivas não foi totalmente elucidado. Uma possibilidade pode ser o antagonismo dos auto-receptores 5-HT_{1A} dos núcleos da rafe, cuja ativação induz uma hiperpolarização e redução dos disparos neuronais. Os ISRS aumentam a concentração de 5-HT na fenda sináptica, prevenindo sua recaptação, que favorece a ativação dos auto-receptores 5-HT_{1A}. O

pindolol pode agir através da prevenção da ativação dos receptores causada pelos ISRS e outras drogas que agem no sistema 5-HT, reduzindo o “feedback” negativo. Esta redução resulta em um aumento dos disparos neuronais, que por sua vez aumentam os níveis de 5-HT do córtex e do hipocampo (ARTIGAS et al., 2001). Porém a principal evidência da participação dos receptores 5-HT_{1A} na ação antidepressiva do zinco está no fato de que o WAY 100635 (antagonista seletivo de receptores 5-HT_{1A}) reverteu totalmente a sua ação antidepressiva no TNF. Corroborando com estes dados, um estudo recente do nosso grupo demonstrou que o WAY 100635 reverteu totalmente a ação antidepressiva da agmatina no TNF em camundongos. Neste mesmo trabalho também foi demonstrado que o WAY 100635 foi capaz de reverter a ação antidepressiva do 8-OH-DPAT (agonista de receptores 5-HT_{1A}) (ZOMKOVWSKI et al., 2004). Foi relatado que o bloqueio dos receptores 5-HT_{1A} pelo WAY 100635 potencializa o aumento das concentrações extracelulares de 5-HT produzido pelos antidepressivos (ROMERO et al., 1996). Além disso, a co-administração de WAY 100635 com ISRS produziu uma significativa redução da latência da ansiedade comparado com a utilização da paroxetina *per se* (DUXON et al., 2000), corroborando com a interação dos antidepressivos e os receptores 5-HT_{1A}.

O envolvimento dos receptores 5-HT_{1B} na ação antidepressiva do zinco também ficou evidenciado. Isto foi demonstrado através da reversão total da redução da imobilidade do zinco no TNF pelo isamoltane (antagonista 5-HT_{1B}). Além disso, o isamoltane também foi capaz de reverter a ação antidepressiva da agmatina no TNF, demonstrando a participação dos receptores 5-HT_{1B} neste efeito (ZOMKOVWSKI et al., 2004). Em concordância com os nossos resultados, antagonistas de receptores 5-HT_{1B} reverteram a ação de antidepressivos como a paroxetina e a imipramina em camundongos (GARDIER et al., 2001; O`NEILL e CONWEY, 2001). Além disso, foi mostrado que o agonista de receptores 5-HT_{1B} amipirtolina

produziu efeito antidepressivo no TNF em camundongos, indicando que a ativação de receptores 5-HT_{1B} desempenha um papel no mecanismo de ação de drogas antidepressivas (REDROBE e BOURIN, 1999). Neste sentido, um outro trabalho que utilizou animais “knock-out” de receptores 5-HT_{1B} demonstrou que a administração de paroxetina (ISRS) aumentou os níveis de 5-HT no hipocampo e no córtex dos animais mutantes e dos controles. Porém no hipocampo o aumento foi muito maior nos animais mutantes. Além disso, a paroxetina também reduziu a imobilidade dos animais controles no TNF, porém não reduziu a imobilidade dos mutantes (GARDIER et al., 2001). Desta forma, pôde-se observar que os receptores 5-HT_{1B} parecem realmente estar participando na fisiopatologia da depressão.

Corroborando com os nossos resultados de reversão do efeito do zinco no TNF por ritanserina e cetanserina, os quais sugerem a participação dos receptores 5-HT_{2A/2C} na ação antidepressiva do zinco, alguns trabalhos também têm demonstrado que antagonistas de receptores 5-HT₂ foram capazes de potencializar os efeitos antidepressivos da imipramina e da desipramina (REDROBE E BOURIN, 1999). Além disso, alguns estudos têm relatado que os antagonistas de receptores 5-HT₂ apresentam um importante papel na ação de antidepressivos convencionais no TNF (VAN OEKELLEN et al., 2003). Outro estudo revelou que a inibição da expressão dos receptores 5-HT_{2A} induz atividade antidepressiva no TNF (SIBILLE et al., 1997). Adicionalmente, o trabalho de ROSA (2003), demonstrou que o tratamento dos animais com cetanserina ou com ritanserina (antagonistas 5-HT₂), não apresentou atividade sinérgica com o zinco. Porém, neste mesmo estudo, o zinco apresentou atividade sinérgica com o DOI, agonista de receptores 5-HT_{2A}. Estes resultados sugerem que a ação antidepressiva do zinco no TNF poderia ser mediada por uma atividade agonista neste subtipo de receptores (ROSA, 2003). ROSA (2003) também relatou que o zinco exerce um efeito antidepressivo no TNF, ao menos em parte, pelo seu efeito inibitório sobre a atividade da

NOS. Sabendo-se que os inibidores da NOS aumentam a liberação de 5-HT no córtex pré-frontal (WEGENER et al., 2000), uma possibilidade para explicar o efeito do zinco sobre os receptores 5-HT_{2A} poderia ser que o zinco indiretamente aumentaria o nível de 5-HT na fenda sináptica. Entretanto esta hipótese necessita futuros estudos.

Os nossos estudos também indicam que o efeito antidepressivo do zinco parece estar envolvido com o sistema GABAérgico.

O envolvimento dos receptores GABA_B na ação antidepressiva do zinco ficou evidenciado através da reversão do seu efeito antidepressivo no TNF pelo baclofen, um agonista de receptores GABA_B. Corroborando com os nossos dados, um estudo demonstrou que os efeitos antidepressivos da desipramina (TCA), mianserina (antidepressivo atípico) ou buspirona (agonista parcial 5-HT_{1A}) no TNF, foram revertidos pelo pré-tratamento de ratos com baclofen (agonista de receptores GABA_B), sugerindo assim que os antidepressivos poderiam atuar como antagonistas de receptores GABA_B (NAKAGAWA et al., 1996a). Um outro estudo, do mesmo grupo, demonstrou que a desipramina (TCA) aumentou significativamente a resposta de fuga dos ratos no paradigma do desamparo aprendido (modelo animal de depressão que utiliza choque nas patas) e que o pré-tratamento dos animais com baclofen reverteu esta resposta. Este estudo sugeriu, mais uma vez a participação dos receptores GABA_B na atividade antidepressiva da desipramina (NAKAGAWA et al., 1996b), assim como o presente estudo sugere a participação dos receptores GABA_B na ação antidepressiva do zinco. Além disso, corroborando com estes dados, um recente estudo demonstrou que a administração crônica de SGS742, um antagonista de receptores GABA_B, aumentou a densidade destes receptores no córtex frontal de ratos e que, em pequenas doses, aumentou os níveis de expressão do mRNA do fator de crescimento neural (NGF) e do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no córtex e no hipocampo dos ratos (FROESTL et

al., 2004). Um outro estudo recente também verificou que o tratamento de ratos com tranilciprodima (iMAO), fenelzina (iMAO), desipramina (TCA), ou fluoxetina (ISRS) durante 7 dias foi capaz de aumentar a expressão da subunidade GABA_{B(1a)} no hipocampo (SANDS et al., 2004).

Os nossos dados ainda demonstraram a participação dos receptores GABA_A na ação antidepressiva do zinco através da reversão de sua atividade antidepressiva pela bicuculina e também pela potencialização da atividade antidepressiva do zinco pelo muscimol, em dose sub-ativa. Além disso, os resultados do presente estudo também confirmaram que o pré-tratamento dos camundongos com a bicuculina foi capaz de reverter a redução da imobilidade causada pelo muscimol. Um estudo havia demonstrado que o tratamento agudo de ratos com muscimol foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade dos animais no TNF, de forma dose dependente, e que o pré-tratamento dos animais com a bicuculina reverteu a ação antidepressiva do muscimol, sugerindo assim, a participação do receptor GABA_A nesta atividade antidepressiva (NAKAGAWA et al., 1996a).

Porém a literatura tem descrito que o zinco atua como inibidor de receptores GABA_A, possuindo um sítio de ligação neste receptor. Desta forma observa-se um fato importante que deve ser analisado mais detalhadamente, uma vez que o zinco, um inibidor de receptores GABA_A, apresentou uma atividade antidepressiva que foi revertida pelo antagonista de receptor GABA_A, bicuculina. Uma questão interessante e que com certeza merece ser melhor estudada posteriormente. Entretanto, alguns dados da literatura fornecem algumas informações importantes como, por exemplo, a descrição de que existem múltiplas isoformas do receptor GABA_A e que estas dependem de uma grande variedade de combinações entre as subunidades (BARNARD et al., 1998). Ainda tem sido relatado que a diferença estrutural entre os subtipos de receptores GABA_A faz com que estes exibam

diferentes sensibilidades aos seus moduladores, bem como, diferentes funções (LÜSCHER e KELLER, 2004).

Também tem sido relatado que a formação hipocampal é uma das regiões do encéfalo que está intimamente relacionada com os distúrbios depressivos (HJORTH et al., 2000). Um trabalho demonstrou que os receptores GABA_A, do tipo sensíveis às benzodiazepinas, desta região, exibem comportamentos diferentes dos receptores GABA_A, do tipo não sensíveis às benzodiazepinas, do cerebelo (região não relacionada com estados do humor). A sugestão de que estes dois subtipos de receptores exibem comportamentos distintos, levou este grupo a realizar um estudo dos efeitos do zinco sobre estes receptores. Para esta finalidade foram utilizados sinaptossomas do hipocampo e do cerebelo de ratos. O resultado encontrado neste estudo foi de que o zinco causou uma potente inibição da atividade dos receptores GABA_A do cerebelo enquanto os receptores GABA_A do hipocampo foram inibidos de maneira muito fraca (SCHIMID et al., 1999). Ainda no mesmo trabalho foi realizado um estudo do efeito do zinco em duas linhagens de ratos, os não tolerantes ao álcool (ANT), cujo cerebelo apresenta receptores GABA_A do tipo sensíveis às benzodiazepinas (devido a uma mutação na subunidade $\alpha 6$ do receptor) e os tolerantes ao álcool (AT), cujo cerebelo apresenta receptores não sensíveis às benzodiazepinas. Os resultados deste estudo demonstraram, mais uma vez, que o zinco causou uma potente inibição dos receptores GABA_A (não sensíveis às benzodiazepinas) dos animais AT e causou uma fraca inibição dos receptores GABA_A (sensíveis às benzodiazepinas) nos animais ANT (SCHIMID et al., 1999). Estes resultados aliados aos do presente estudo poderiam sugerir uma possível modulação dos receptores GABA_A pelo zinco na sua atividade antidepressiva, atuando direta ou indiretamente como um agonista GABA_A.

Uma vez que foi previamente mostrado por ROSA (2003) que a naloxona, antagonista opióide não seletivo, reverteu o efeito do zinco no TNF, este trabalho também investigou a participação dos subtipos de receptores opióides na ação antidepressiva do zinco. Para este fim, os camundongos foram pré-tratados com naltrindol (antagonista seletivo dos receptores delta (δ) opióides), com DIPP, (antagonista seletivo dos receptores kappa (κ) opióides) ou com clocinamox, (antagonista seletivo dos receptores mi (μ) opióides). Naltrindol, DIPP ou clocinamox, administrados em doses que não produziram efeitos *per se* no TNF, reverteram significativamente a redução do tempo de imobilidade causada pelo zinco. Desta forma pode-se sugerir que o efeito antidepressivo do zinco pode estar relacionado, ao menos em parte, com a participação dos receptores δ , κ e μ -opióides.

Estes resultados corroboram com os dados da literatura que descrevem que vários antagonistas opióides são capazes de atenuar os efeitos de antidepressivos efetivos em modelos animais de depressão (TEJEDOR-REAL et al., 1995). Um estudo no nosso grupo também mostrou que a naloxona (antagonista não seletivo de receptores opióides) foi capaz de reverter o efeito antidepressivo do extrato hidroalcolico de *Siphocampylus verticillatus* no TSC (RODRIGUES et al., 2002). Em um estudo recente, a naloxona também antagonizou a ação da venlafaxina (antidepressivo inibidor da recaptação de 5-HT e NA) em camundongos no TNF (BERROCOSO et al., 2004). Além disso, foi demonstrando que alguns inibidores da degradação de encefalinas como o RB101 e o BL-2401 apresentam atividade antidepressiva em ratos. Esta atividade poderia estar relacionada com a inibição da degradação dos opióides endógenos (BAAMONDE et al., 1992; KITA et al., 1997). Em outro trabalho foi relatado que o efeito do RB101 foi revertido pela administração do antagonista de receptores δ -opióide (naltrindol). Este resultado sugeriu a participação do receptor δ -opióide no mecanismo de ação antidepressiva do RB101 (TEJDOR E REAL, et al., 1998), assim como o presente

estudo sugeriu a participação deste receptor na ação antidepressiva do zinco. Corroborando com estes dados, BROOM e colaboradores (2002) demonstraram que o SNC80 e o BW372U86, que são agonistas seletivos δ -opioides, apresentaram atividade antidepressiva em ratos no TNF.

Também tem sido relatada a participação dos receptores μ -opioides na fisiopatologia da depressão. Um trabalho demonstrou que o tratamento de ratos com paroxetina (ISRS), por 4 dias, resultou num aumento significativo da densidade dos receptores μ -opioides no córtex cingulado, insular e ainda no núcleo endopiriforme dorsal em um estudo de “binding”. Além disso, o tratamento dos animais por 21 dias resultou em um aumento da densidade destes receptores no tubérculo olfatório e a redução da densidade no tálamo. No mesmo trabalho também foi demonstrado que o tratamento dos ratos com reboxetina (ISRN), por 4 dias, causou um aumento na densidade dos receptores μ -opioides na amígdala e uma redução no núcleo dorsal da rafe enquanto o tratamento de 21 dias aumentou a densidade destes receptores no tálamo e no hipocampo. Finalmente, o tratamento dos animais com moclobemida (iMAO), por 4 dias causou um aumento na densidade dos receptores μ -opioides no hipocampo e aumentou a densidade dos receptores δ -opioides no córtex e na amígdala, porém, reduziu a densidade dos receptores μ -opioides na amígdala e nos colículos. Desta forma, este estudo sugeriu que o tratamento com os antidepressivos pode causar uma série de adaptações no sistema opioide, particularmente nos receptores μ e δ -opioides e que estas alterações podem estar envolvidas no mecanismo de ação destas drogas (VILPOUX et al., 2002). Além disso, outro trabalho demonstrou que o tratamento crônico de ratos com a nefazodona causou um significativo aumento da latência no teste do “tail-flick” (modelo animal de hiperalgesia) e reduziu a imobilidade dos animais no TNF. Ainda no mesmo estudo, foi observado um aumento na densidade dos receptores μ -opioides no córtex frontal,

no cingulado, no núcleo dorsal da rafe e na substância cinzenta periaquedutal. Este trabalho sugeriu que os antidepressivos podem interagir com o sistema opióide, o qual está envolvido tanto na regulação dos processos de nocicepção quanto no estado de humor (ORTEGA et al., 2004).

O envolvimento dos receptores k-opioides na depressão também foi sugerido por um estudo que mostrou que a nor-binaltorfimina, um antagonista de receptores k-opioides, também produziu um efeito antidepressivo no TNF (MAGUE et al., 2003).

Desta forma, pôde-se observar que os resultados do nosso trabalho estão de acordo com a literatura quando sugerem a participação dos receptores δ , μ e k-opioides no mecanismo de ação antidepressiva do zinco. Contudo, uma possibilidade que merece ser futuramente investigada, seria que o zinco estivesse promovendo a liberação de opioides endógenos, ou seja, indiretamente levando a uma ativação dos receptores δ , μ e k-opioides. A liberação de opioides endógenos, como a dinorfina, leva a um bloqueio de receptores NMDA (CHEN et al., 1995). Conforme mencionado anteriormente, a inibição destes receptores é responsável, pelo menos em parte, pela ação do zinco no TNF (ROSA et al., 2003).

Entretanto, também podemos especular que uma interação direta do zinco com o receptor μ -opioides poderia estar relacionada ao seu efeito no TNF, uma vez que concentrações fisiológicas de zinco inibem o “binding” de naloxona (HANNISSIAN e TEJWANI, 1998). Além disso, o “binding” de agonistas em receptores μ -opioides é inibido pelo zinco mais do que em receptores δ e κ no cérebro de rato (TEJWANI e HANNISSIAN, 1990). Recentemente também foi mostrado que o zinco inibiu o “binding” de naloxona e DAMGO (agonista μ -opioides) em preparações de membrana de células COS-1 (células renais de macaco) (FOWLER et al., 2004).

A fim de investigar a participação dos canais de cálcio na ação antidepressiva do zinco, os camundongos foram pré-tratados com doses sub-ativas de nifedipina (bloqueador de canal de cálcio tipo L) ou de flunarizina (bloqueador de canal de cálcio tipo T) e posteriormente tratados com dose sub-ativa de cloreto de zinco. Através desta abordagem, foi observado que a nifedipina, mas não a flunarizina, potencializou significativamente o efeito antidepressivo do zinco no TNF. Estes resultados sugerem que a ação antidepressiva do zinco parece ser mediada, pelo menos em parte, pelos canais de cálcio do tipo L e não pelos canais do tipo T.

Nossos resultados estão de acordo com estudos que têm sugerido que bloqueadores de canais de cálcio (Ca^{2+}) afetam as funções do SNC (SRIVASTAVA e NATH, 2000). Tem sido demonstrado que os canais de cálcio são importantes para liberação dos neurotransmissores pelo processo de exocitose (GODFRIND et al., 1986). Estudos bioquímicos têm relatado que os bloqueadores de canais de Ca^{2+} alteram a liberação de neurotransmissores como, por exemplo, a noradrenalina e a serotonina, que estão envolvidas na fisiopatologia da depressão (SRIVASTAVA e NATH, 2000). Desta forma, alguns trabalhos têm avaliado a participação dos canais de Ca^{2+} nesta patologia, bem como no seu tratamento. Isto pôde ser observado no estudo que demonstrou que a nifedipina foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade de camundongos de maneira similar aos antidepressivos no TNF (MOGILNICKA et al., 1987). Corroborando com estes dados, um estudo do mesmo grupo verificou que o tratamento dos animais com BAY K 8644, um agonista de canais de Ca^{2+} , aumentou o tempo de imobilidade no TNF, efeito que foi revertido através do pré-tratamento dos animais com nifedipina, demonstrando mais uma vez que esta possui atividade antidepressiva neste modelo (MOGILNICKA et al., 1988). Além disso, um outro estudo deste grupo também verificou que o tratamento repetido com antagonistas de canais de cálcio como

a nifedipina, a nimodipina e o diltizem apresentaram atividade antidepressiva em ratos no TNF (CZYRAK et al., 1990). Um trabalho mais recente demonstrou que a ação antidepressiva da nifedipina no TNF foi atribuída ao bloqueio de α -2-receptores (autoreceptores) (SRIVASTAVA e NATH, 2000). Em um outro estudo, que utilizou a técnica de “patch-clamp”, foi demonstrado que a fluoxetina (ISRS) inibiu os canais de Ca^{2+} do tipo T, L e N, em concentrações terapeuticamente relevantes (DEÁK et al., 2000).

Corroborando com os nossos dados, também tem sido demonstrado que o zinco atua como inibidor de múltiplos canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem em concentrações relevantes para o SNC e que a modulação destes canais pelo zinco pode modificar processos pré-sinápticos e também a excitabilidade pós-sináptica, além de atuar em funções celulares dependentes de cálcio (MAGISTRETTI et al., 2003).

Tem sido relatado que os canais permeáveis ao Ca^{2+} são abertos por dois mecanismos diferentes: o primeiro seria diretamente através da ativação de receptores como os NMDA, e o outro mecanismo seria através de potenciais de membrana despolarizantes (BUSSELBERG, 1995). Desta forma, inibidores de receptores NMDA, como o zinco, estariam modulando a ativação destes canais de Ca^{2+} .

Também se sabe que os canais de Ca^{2+} tipo L são canais dependentes de voltagem que permitem o influxo do zinco (ATAR et al., 1995). Além disso, sabe-se que as concentrações vesiculares de zinco regulam a expressão do transportador de zinco ZnT-1 (LANGMADE et al., 2000). Por isso, um estudo demonstrou que a co-expressão dos canais de Ca^{2+} do tipo L, uma das principais rotas do influxo do zinco, com o transportador ZnT-1 foi capaz de reduzir significativamente o influxo do cálcio e do zinco através deste canal. Este trabalho sugeriu que o transportador ZnT-1, que é regulado pelas concentrações vesiculares de zinco, age como modulador dos canais de Ca^{2+} do tipo L dependentes de voltagem, fazendo

uma “down-regulation” no influxo do Ca^{2+} e do zinco. Desta forma, a manutenção da homeostase destes cátions protegeria as células da toxicidade mediada pelo aumento da concentração dos mesmos (SEGAL et al., 2004).

Através dos estudos anteriormente demonstrados pode-se sugerir que o zinco possa agir diretamente nos canais de Ca^{2+} , particularmente nos canais de do tipo L, ou ainda possa agir de maneira indireta, através da inibição dos receptores NMDA e desta forma modular as concentrações de cálcio e exercer sua atividade antidepressiva.

Os nossos dados ainda demonstraram a participação dos canais de potássio na ação antidepressiva do zinco. Isto foi observado através da potencialização da ação antidepressiva do zinco (em dose sub-ativa) pelo pré-tratamento dos animais com doses sub-ativas de caribdotoxina (bloqueador de canal de potássio ativado por cálcio), glibenclamida (bloqueador de canal de potássio sensível ao ATP) ou TEA (bloqueador de canais de potássio sensíveis ao ATP e/ou ativados por cálcio).

Nossos dados estão de acordo com a sugestão prévia de que os canais de K^+ têm um papel importante na modulação da depressão através do envolvimento de mais de um tipo de canal (GALEOTTI et al., 1999).

Corroborando com o presente estudo que demonstrou a potencialização da ação antidepressiva do zinco por bloqueadores de canais de K^+ , foi demonstrado que o pré-tratamento dos animais com gliburida, um bloqueador de canais de K^+ dependentes de ATP, potencializou a atividade dos antidepressivos imipramina, amitriptilina, citalopram, paroxetina, fluoxetina e fluvoxamina, em camundongos no TNF (GUO et al., 1996). A gliquidona, um outro bloqueador de canais de K^+ dependentes de ATP, apresentou atividade antidepressiva *per se* em camundongos no TNF. De forma semelhante, a apamina e a caribdotoxina (bloqueadores de canais de K^+ ativados por cálcio) e o TEA também reduziram

o tempo de imobilidade dos animais demonstrando sua atividade antidepressiva no TNF. Além disso, a administração de cromacalim, minoxidil e pinacidil (ativadores de canais de K^+) aumentou o tempo de imobilidade dos animais no TNF (GALEOTTI et al., 1999). Corroborando com estes dados, o pré-tratamento dos animais com cromacalim foi capaz de reverter a atividade de alguns antidepressivos em camundongos no TNF (REDROBE et al., 1996b).

A ação do zinco sobre canais de K^+ sensíveis ao ATP foi mostrada em um estudo que utilizou sinaptossomas de hipocampo de ratos, no qual baixas concentrações de zinco reduziram a liberação de glutamato pela ativação de canais de K^+ pré-sinápticos sensíveis ao ATP, sendo que esta ação foi mimetizada pelo ativador de canais de K^+ diazóxido e foi antagonizada pelo bloqueador de canais de K^+ tolbutamida (BANCILA et al., 2004).

Além disso, um outro estudo mostrou que a sertralina (ISRS) reduziu a imobilidade de camundongos no TNF e ela potencializou o efeito antidepressivo do 3,4-diaminopiridina, bloqueador de canal de K^+ e do TEA e ainda reduziu a atividade do pinacidil no TNF (YALCIN INAN et al., 2003).

Através dos estudos anteriormente mencionados, pode-se sugerir que o zinco possa estar agindo de maneira direta ou ainda atuar modulando, via sistema serotoninérgico, canais de K^+ , exercendo, portanto, sua atividade antidepressiva no TNF.

CONCLUSÃO

Este trabalho estendeu os dados da literatura em relação ao mecanismo de ação antidepressiva do zinco no TNF mostrando que este efeito é dependente da interação com vários sistemas de neurotransmissores e canais iônicos que estão envolvidos na fisiopatologia da depressão.

Os resultados deste estudo sugerem que a ação antidepressiva do zinco parece ser mediada pela estimulação de receptores dopaminérgicos D₂. Contudo, não pudemos excluir a participação dos receptores D₁, os quais estão também envolvidos na fisiopatologia da depressão (YAMADA et al., 2004), na ação do zinco no TNF.

Além disso, os nossos estudos estenderam os resultados anteriores obtidos por ROSA (2003), confirmando o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do zinco e mostrando a participação dos receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} e 5-HT_{2A} neste efeito.

O nosso trabalho também verificou que o efeito antidepressivo do zinco parece ser mediado pela atuação direta ou indireta nos receptores GABA_A ou GABA_B.

Estendendo, mais uma vez, os resultados obtidos por ROSA (2003), o presente estudo também sugeriu a participação dos receptores δ , μ e k -opióides no mecanismo de ação antidepressiva do zinco. Contudo, uma possibilidade a ser futuramente investigada seria verificar se o zinco poderia promover a liberação de opióides endógenos e indiretamente ativar os receptores δ , μ e k -opióides.

Finalmente, estes resultados sugerem que a ação antidepressiva do zinco parece ser mediada pelos canais de cálcio do tipo L e T e que o zinco possa estar agindo de maneira direta ou indireta, via sistema serotoninérgico, nos canais de K^+ , exercendo, portanto, sua atividade antidepressiva no TNF.

Portanto, nossos estudos demonstraram que o zinco pode estar atuando direta ou indiretamente em diversos sistemas neurotransmissores e canais iônicos envolvidos na fisiopatologia da depressão, dados que poderão ter um valor significativo na exploração de novas drogas a serem utilizadas na terapêutica.

BIBLIOGRAFIA

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. 4 ed. Washington, DC: American Psychiatric Association, 1994.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. 4 ed. Text revision. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000.

ANDERSON, I.M., PARRY-BILLINGS, M., NEWSHOLME, E.A., POORTMANS, J.R., COWEN P.J.: Decreased plasma tryptophan concentration in major depression: relationship to melancholia and weight loss. **J. Affect Disord.**, 20:185-191, 1990.

ARTIGAS, F., CELADA, P., LARUELLE, M., ADELL, A. How does pindolol improve antidepressant action? **Trends Pharmacol. Sci.**, 22: 224-228, 2001.

ATAR, D., BACKX, P.H., APPEL, M.M., GAO, W.D., MARBAN, E., Excitation-transcription coupling mediated by zinc influx through voltage-dependent calcium channels. **J. Biol. Chem.**, 270: 2473-2477, 1995.

BAAMONDE A., DAUGE V., RUIZ-GAYO M., FULGA I.G., TURCAUD S., FOURNIE-ZALUSHI M-C., ROQUES B.P., Antidepressant type effects of endogenous enkephalins protected by systemic RB101 are mediated by opioid- and dopamine D₁ receptor stimulation. **Eur. J. Pharmacol.**, 216: 157-166, 1992.

BANCILA, V., NIKONENKO, I., DUNANT, Y., BLOC, A. Zinc inhibits glutamate release via activation of pre-synaptic K_{ATP} channels and reduces ischaemic damage in rat hippocampus. **J. Neurochem.**, 90: 1243-1250, 2004.

BARAÑANO, D.E., FERRIS, C.D., SNYDER, S.H. Atypical neural messengers. **Trends Neurosci.**, 24: 99-106, 2001.

BARNARD, E.A., SKOLNICK, P., OLSEN, R.W., MOHLER, H., SIEGHART, W., BIGGIO, G., BRAESTRUP, C., BATESON, A.N., LANGER, S.Z. Subtypes of y-

aminobutyric acid_A receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. **Pharmacology**, 50: 291-313, 1998.

BERMAN R.M., CAPPIELLO, A., ANAND, A., OREN, D.A., HENINGER, G.R., CHARNEY, D.S., KRYSTAL, J.H. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. **Biol. Psychiatry**, 47: 351-354, 2000.

BERROCOSO, E., ROJAS-CORRALES, M.O., MICÓ, J.A. Non-selective opioid receptor antagonism of the antidepressant-like effect of venlafaxine in the forced swimming test in mice. **Neurosci. Lett.**, 363: 25-28, 2004.

BORSINI, F., MELI, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? **Psychopharmacology**, 94: 147-161, 1988.

BRAMBILLA, P., PEREZ, J., BARALE, F., SCHETTINI, G., SOARES, J.C. GABAergic dysfunction in mood disorders. **Mol. Psychiatry**, 8: 721-737 2003.

BREMNER, J.D., INNIS, R.B., SALOMÓN, R.M., STAIB, L.H., NG, C.K., MILLER, H.L. Positron emission tomography measurement of cerebral metabolic correlates of tryptophan depletion-induced depressive relapse. **Arch. Gen. Psychiatry**, 54:364-374, 1997.

BROOM, D.C., JUTKIEWICZ, E.M., FOLK, J.E., TRAYNOR, J.R., RICE, K.C., WOODS, J.H. Nonpeptidic δ -opioid receptor agonists reduce immobility in the forced swim assay in rats. **Neuropsychopharmacology**, 26:744-755, 2002.

BROWN, A.S., GERSHON, S. Dopamine and depression. **J. Neural Transm.**, 91:75-109, 1993.

BÜSSELBERG, D. Calcium channels as target sites of heavy metals. **Toxicol. Lett.**, 82/83: 255-261, 1995.

CALOGERO, A.E., GALLUCCI, W.T., GOLD, P.W., CHROUSOS, G.P. Multiple feedback regulatory loops upon rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion. Potential clinical replication. **J. Clin. Inv.** 82: 767-774, 1988.

CHAI, F., TRUONG-TRAN, A.Q., LIEN, H., ZALEWSKI, P.D. Regulation of caspase activation and apoptosis by cellular zinc fluxes and zinc deprivation: A review. **Immunol. Cell Biol.**, 77: 272-278, 1999.

CHEN, C., LIAO, S. Neurotrophic and neurotoxic effects on neonatal cortical neurons. **Neurochem. Int.**, 42: 471-479, 2003.

CHEN, L., GU, Y., HUANG, L.Y. The mechanism of action for the block of NMDA receptor channels by the opioid peptide dynorphin. **Neuroscience**, 15: 4602-4611, 1995.

CHOI, D.W., KOH, J.Y. Zinc and brain injury. **Annu. Rev. Neurosci.**, 21: 347-375, 1998.

CHOI, Y.B., LIPTON, S.A. Identification and mechanism of action of histidine residues underlying high-affinity Zn²⁺ inhibition of the NMDA receptor. **Neuron**, 23:171-180, 1999.

CROSS-NATIONAL COLLABORATIVE GROUP. The changing rate major depression: cross-national comparisons. **JAMA**, 268: 3098-3105, 1992.

CRYAN, J.F., MARKOU, A., LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends Pharmacol. Sci.**, 23: 238-245, 2002.

CZYRAK, A., MOGILNICKA, E., ANOWICZ, J.S., MAJ, J. Some behavioral effects of repeated administration of calcium channel antagonists. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 35: 557-560, 1990.

D'AQUILA, P.S., COLLU, M., GESSA, G.L. SERRA, G. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. **Eur. J. Pharmacol.**, 405: 365-373, 2000.

D'SA, C., DUMAN, R.S. Antidepressants and neuroplasticity. **Bipolar Disord.** 4:183-194, 2002.

DEÁK, F., LASZTÓCZI, B., PACHER, P., PETHEÖ, G.L., KECSKEMÉTI, V., SPÄT, A. Inhibition of voltage-gated calcium channels by fluoxetine in rat hippocampal pyramidal cells. **Neuropharmacology**, 39: 1029-1036, 2000.

DESNYDER, R. Lower serum zinc in major depression is a sensitive marker of treatment resistance and of the immune-inflammatory response in that illness. **Biol. Psychiatry**, 42: 349-358, 1997.

DI MATTEO, V., DE BLASI, A., DI GIULIO, C., ESPOSITO, E. Role of 5-HT_{2C} receptors in the control of central dopamine function. **Trends Pharmacol. Sci.** 22: 229-232, 2001.

DUBOVSKY, S.L., DUBOVSKY, A.N. **Transtornos do humor.** trad ORTIZ, I.S. Porto Alegre: Artmed, 2004.

DUXON, M.S., STARR, K.R., UPTON, N., Latency to paroxetine-induced anxiolysis in the rat is reduced by co-administration of the 5-HT_{1A} receptor antagonist WAY 100635. **Br. J. Pharmacol.**, 130: 1713-1719, 2000.

ELHWUEGI, A.S. Central monoamines and their role in major depression. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, 28: 435-451, 2004.

EMRICH, H.M., VON ZERSSEN D., KISSLING, W., MOLLER, H.J., WINDORFER, A. Effect of sodium valproate on mania. The GABA-hypothesis of affective disorders. **Arc. Psych. Nervenkrankheiten**, 229: 1-16, 1980.

FINK, M., SIMEON, J., ITIL, T.M., FREEDMAN, A.M. Clinical antidepressant activity of cyclazocine — a narcotic antagonist. **Clin. Pharmac. Ther.**, 11: 41-48, 1970.

FOWLER, C.B., POGOZHEVA, I.D., LEVINE, H., MOSBERG, H.I. Refinement of a Homology Model of the μ -Opioid Receptor Using Distance Constraints from Intrinsic and Engineered Zinc-Binding Sites. **Biochemistry**, 43: 8700-8710, 2004.

FROESTL, W., GALLAGHER, M., JERKINS, H., MADRID, A., THORSTEN. M., TEICHMAN, S., MONDARODI, C.G., PEARLMAN, R. SGS742: the first GABA_B receptor antagonist in clinical trials. **Biochem. Pharmacol.**, 68:1479-1487, 2004.

GABILONDO, A.M., MEANA, J.J., GARCIA-SEVILLA, J.A. Increased density of μ -opioid receptors in the postmortem brain of suicide victims. **Brain Res.**, 682: 245-250, 1995.

GALEOTTI, N., GHERLARDINI, C., CALDARI, B., BARTOLINI, A. Effect of potassium channel modulators in mouse forced swimming test. **Br. J. Pharmacol.**, 126: 1653-1659, 1999.

GARDIER, A.M., TRILLAT, A., MALAGIE', I., DAVID, D., HASCOJT, M., COLOMBEL, M., JOLLIET, P., JACQUOT, C., HEN, R., BOURIN, M. Recepteurs 5-HT_{1B} de la sérotonine et effets antidepresseurs des inhibiteurs de recapture sélectifs de la sérotonine, **C. R. Acad. Sci.**, 324: 433-441, 2001.

GODFRAIND, T., MILLER, R., WIBO, M., Calcium antagonism and calcium entry blockade. **Pharmacol. Rev.**, 38: 321-416, 1986.

GUO, W., TODD, K., BOURIN, M., HASCOET, M., KOUADIO, F. Additive effects of glyburide and antidepressants in the forced swimming test: evidence for the involvement of potassium channel blockade. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 54: 725-730, 1996.

HAMON, M., GOZLAN, H., BOURGOIN, S., BENOLIEL, J.J., MAUBORGNE, A., TAQUET, H., CESSÉLIN, F., MICO, J.A. Opioid receptors and neuropeptides in the CNS in rats treated chronically with amoxapine or amitriptyline. **Neuropharmacology**, 26: 531-539, 1987.

HANNISSIAN, S.H., TEJWANI, G.A. Histidine abolishes the inhibition by zinc of naloxone binding to opioid receptors in rat brain. **Neuropharmacology**, 27: 1145-1149, 1988.

HJORTH, S., BENGTSSON, H.J., KULLBERG, A., CARLZON, D., PEILOT, H., AUERBACH, S.B. Serotonin autoreceptor function and antidepressant drug action. **J. Psychopharmacol.**, 14: 177-185, 2000.

HOSIE, A.M., DUNNE, E.L., HARVEY, R.J., SMART, T.G. Zinc-mediated inhibition of GABA_A receptors: discrete binding sites underlie subtype specificity. **Nature Neurosci.**, 6: 362-369, 2003.

HOWELL, G. A., WELCH, M. G., FREDERICKSON, C. J. Stimulation-induced uptake and release of zinc in hippocampal slices. **Nature**, 308:736-738, 1984.

INAN, S.Y., YALCIN, I., AKSU, F. Dual effects of nitric oxide in the mouse forced swimming test: possible contribution of nitric oxide mediated serotonin release and potassium channel modulation. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 77: 457-464, 2004.

INTURRISI, C.E., ALEXOPOULOS, G., LIPMAN, R., FOLEY, K., ROSSIER, J. Endorphin immunoreactivity in the plasma of psychiatric patients receiving electroconvulsive treatment. **Ann. N Y Acad. Sci.**, 398: 413-423, 1982.

JAGADEESH, S.R., SUBHASH, M.N. Effect of Antidepressants on Intracellular Mobilization in Human Frontal Cortex. **Biol. Psychiatry.**, 44: 617-621, 1998.

JOLY, D., LLOYD, K.G., PICHAT, P., SANGER, D.J. Correlation between the behavioral effect of desipramine and GABA_B receptor regulation in the olfactory bulbectomized rat. **Br. J. Pharmacol.**, 90: 125, 1987.

KAMEDA, K., MIURA, J., SUZUKI, K., KUSUMI, I., TANAKA, T., KOYAMA, T. Effects of lithium on dopamine D2 receptor expression in the rat brain striatum. **J. Neural Transm.**, 108: 321-334, 2001.

KITA A., IMANO K., SETO Y., YAKUO I., DEGUCHI T., NAKAMURA H. Antinociceptive and antidepressant-like profiles of BL-2401, a novel enkephalinase inhibitor, in mice and rats. **Jpn. J. Pharmacol.**, 75: 337-346, 1997.

KLINE, N.S., LI, C.H., LEHMANN, H.E., LAJTHA, A., LASKI, E., COOPER, T. Endorphin induced changes in schizophrenic and depressed patients. **Arch. Gen. Psych.**, 34: 1111-1113, 1977.

KOH, J.Y., SUH, S.W., GWAG, B.J., HE, Y.Y., HSU, C.Y., CHOI, D.W. The role of zinc in selective neuronal death after transient global cerebral ischemia. **Science**, 272: 1013-1016, 1996.

KONOPKA, L.M., COOPER, R., CRAYTON, J.W. Serotonin-induced increases in platelet cytosolic calcium concentration in depressed, schizophrenic and substance abuse patients. **Biol. Psychiatry**, 39: 708-713, 1996.

KROCZKA, B., BRANSKI, P., PALUCHA, A., PILC, A., NOWAK, G. Antidepressant-like properties of zinc in rodent forced swim test. **Brain Res. Bull.**, 55: 297-300, 2001.

KROCZKA, B., ZIEBA, A., DUDEK, D., PILC, A., NOWAK, G. Zinc exhibits an antidepressant-like effect in forced swimming test in mice. **Pol. J. Pharmacol.**, 52: 403-406, 2000.

LANGMADE, S.J., RAVINDRA, R., DANIELS, P.J., ANDREWS, G.K. The transcription factor MTF-1 mediates metal regulation of the mouse ZnT1 gene. **J. Biol. Chem.**, 275: 34803-34809, 2000.

LEVINE, J., PANCHALINGAM, K., RAPOPORT, A., GERSHON, S., MCCLURE, R.J., PETTEGREW, J.W. Increased Cerebrospinal Fluid Glutamine Levels in Depressed Patients. **Biol. Psychiatry**, 47: 586-593, 2000.

LÜSCHER, B., KELLER, C.A. Regulation of GABA_A receptor trafficking, channel activity, and functional plasticity of inhibitory synapses. **Pharmacol. Therap.**, 102: 195-221, 2004.

MAES, M., D'HAESE, P.C., SCHARPE, S., D'HONDT, P., COSYNS, P., DE BROE, M.E. Hypozincemia in depression. **J. Affect. Disord.**, 31:135-140, 1994.

MAES, M., DE VOS, N., DEMEDTS, P., WAUTURES, A., NEELS, H. Lower serum zinc in major depression in relation to changes in serum acute phase proteins. **J. Affect. Disord.**, 56: 189-194, 1999.

MAES, M., VANDOOOLAEGHE, E., NEELS, H., DEMEDTS, P., WAUTERS, A., MELTZER, H.Y. Lower serum zinc in major depression is a sensitive marker of treatment resistance and of the immune-inflammatory response in that illness. **Biol. Psychiatry**, 42: 349-358, 1997.

MAGISTRETTI, J., CASTELLI, L., TAGLIETTI, V., TANZI, F. Dual effect of Zn²⁺ on multiple types of voltage-dependent Ca²⁺ currents in rat paleocortical neurons. **Neuroscience**, 117: 249-264, 2003.

MAGUE, S.D., PLIAKAS, A.M., TODTENKOPF, M.S., TOMASIEWICZ, H.C., ZHANG, Y., STEVENS JR, W.C., JONES, R.M., PORTOGHESE, P.S., CARLEZON JR, W.A. Antidepressant-Like Effects of kappa-Opioid Receptor Antagonists in the Forced Swim Test in Rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 305: 323-330, 2003.

MANJI, H., QUIROZ, J.A., SPORN, J., PAYNE, J.L., DENICOFF, K., GRAY, N.A., ZARATE JR, C.A., CHARNEY, D.S. Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. **Biol. Psychiatry**, 53: 707-742, 2003.

MANJI, H.K., DREVETS, W.C., CHARNEY, D.S. The cellular neurobiology of depression. **Nature Med.**, 7: 541-547, 2001.

MC EWEN, B.S. Stress and hippocampal plasticity. **Annu. Rev. Neurosci.**, 22: 105-122, 1999.

MIKUMI, M., KADAYA, A., TAKAHASHI, T., MELTZER, H.Y. Serotonin but not norepinephrine induced calcium mobilization of platelets is enhanced in affective disorders. **Psychopharmacology**, 106: 311-314, 1992.

MIKUMI, M., KUSUMI, I., KURODA, Y., MORI, H., TAKAHASHI, K. Increased 5-HT₂ receptor function as measured by serotonin stimulated phosphoinositide hydrolysis in platelets of depressed patients. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, 15: 49-61, 1991.

MOGILNICKA, E., CZYRAK, A., MAJ, J. Dihydropyridine calcium channel antagonists reduce immobility in the mouse behavioural despair test: antidepressants facilitate nifedipine action. **Eur. J. Pharmacol.**, 138: 413-416, 1987.

MOGILNICKA, E., CZYRAK, A., MAJ, J. BAY K 8644 enhances immobility in the mouse behavioral despair test, an effect blocked by nifedipina. **Eur. J. Pharmacol.**, 151:307-311, 1988.

MUSSELMAN, D.L., EVANS, D.L., NEMEROFF, C.B. The relationship of depression to cardiovascular disease: epidemiology, biology, and treatment. **Arch. Gen. Psych.**, 55: 580-592, 1998.

NAKAGAWA, Y., ISHIMA, T., ISHIBASHI, Y., YOSHII, T., M., TAKASHIMA, T. Involvement of GABA_B receptor systems in action of antidepressants: baclofen but not bicuculline attenuates the effects of antidepressants on the forced swim test in rats. **Brain Res.**, 709: 215–220, 1996a.

NAKAGAWA, Y., ISHIMA, T., ISHIBASHI, Y., TSUJI, M., TAKASHIMA, T. Involvement of GABA_B receptor systems in action of antidepressants. II: Baclofen attenuates the effect of desipramine whereas muscimol has no effect in learned helplessness paradigm in rats. **Brain Res.**, 728: 225–230, 1996b.

NARANG, R.L., GUPTA, K.R., NARANG, A.P., SINGH, R. Levels of copper and zinc in depression. **Indian J. Physiol. Pharmacol.**, 35: 272-274, 1991.

NEMEROFF, C.B., OWENS, M.J. Treatment of mood disorders. **Nature Neurosci.**, 5: 1068-1070, 2002.

NIEUWSTRATEN, C.E., DOLOVICH, L.R. Bupropion versus selective serotoninreuptake inhibitors for treatment of depression. **Ann. Pharmacother.**, 35: 1608-1613, 2001.

NOMIKOS, G.G., ZIS, A.P., DAMSMA, G., FIBIGER, H.C. Effects of chronic electroconvulsive shock on interstitial concentrations of dopamine in the nucleus accumbens. **Psychopharmacology**, 105: 230-238, 1991.

NORREGAARD, L., FREDERIKSEN, D., NIELSEN, E.O., GETHER, U., Delineation of an endogenous zinc-binding site in the human dopamine transporter. **EMBO Journal**, 17: 4266-4273, 1998.

NOWAK, G., LEGUTKO, B., SZEWCZYK, B., PAPP, M., SANAK, M., PILC, A. Zinc treatment induces cortical brain-derived neurotrophic factor gene expression. **Eur. J. Pharmacol.**, 492: 57-59, 2004.

NOWAK, G., SCHELEGEL-ZAWADZKA, M. Alterations in serum and brain trace element levels after antidepressant treatment: part I. Zinc. **Biol. Trace Elem. Res.**, 67: 85-92, 1999.

NOWAK, G., SIWEK, M., DUDEK, D., ZIEBA, A., PILC, A. Effect of zinc supplementation on antidepressant therapy in unipolar depression: a preliminary placebo-controlled study. **Pol. J. Pharmacol.**, 55: 1143-47, 2003c.

NOWAK, G., SZEWCZYK, B. Mechanisms contributing to antidepressant zinc actions. **Pol. J. Pharmacol.**, 54: 587-592, 2002.

NOWAK, G., SZEWCZYK, B., SADLIK, K., PIEKOSZEWSKI, W., TRELA, F., FLOREK, E., PILC, A. Reduced potency of zinc to interact with NMDA receptors in hippocampal tissue of suicide victims. **Pol. J. Pharmacol.**, 55: 455-59, 2003b.

NOWAK, G., SZEWCZYK, B., WIERONSKA, J.M., BRANSKI, P., PALUCHA, A., PILC, A., SADLIK, K., PIEKOSZEWSKI, W. Antidepressant-like effects of acute and chronic treatment with zinc in forced swim test and olfactory bulbectomy model in rats. **Brain Res. Bull.**, 61: 159-164, 2003a.

O'NEILL, M.F., CONWAY, M.W. Role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the mediation of behavior in the forced swim test in mice. **Neuropsychopharmacology**, 24: 391-398, 2001.

OHNISHI, T., HAYASHI, T., OKABE, S., NONAKA, I., MATSUDA, H., IIDA, H., IMABAYASHI, S., WATABE, H., MIYAKE, Y., OGAWA, M., TERAMOTO, N. OHTA, Y., EJIMA, N., SAWADA, T., UGAWA, Y. Endogenous dopamine release induced by repetitive transcranial magnetic stimulation over the primary motor cortex: an [11C]raclopride positron emission tomography study in anesthetized macaque monkeys. **Biol. Psychiatry.**, 55: 484-489, 2004.

ORTEGA-ALVARO, A., ACEBES, I., SARACIBAR, G., ECHEVARRIA, E., CASIS, L., MICO, J.A. Effect of the antidepressant nefazodone on the density of cells expressing mu-opioid receptor in discrete brain areas processing sensory and affective dimensions of pain. **Psychopharmacology**, 176: 305-311, 2004.

OSSOWSKA, G., NOWAK, G., KLENK-MAJEWSKA, B., DANILCZUK, Z. EBROWSKA-ŁUPINA, I. Effect of imipramine on brain D₁ and 5-HT_{2A} receptors in a chronic unpredictable stress model in rats. **Pol. J. Pharmacol.**, 54: 89-93, 2002.

OWENS, M.J., NEMEROFF, C.B. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. **Clin. Chem.**, 40: 288-295, 1994.

PALMITER, R. D., COLE T. B., QUAIFFE C. J., FINDLEY S. D. ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 93: 14934-14939, 1996.

PAPAKOSTAS, G.I., PETERSEN, T., MAHAL, Y., MISCHOULON, D., NIEREMBERG, A.A., FAVA, M. Quality of live in major depressive disorder: a review of literature. **Gen. Hosp. Psychiatry.**, 26:13-17, 2004.

PIÑEYRO, G., BLIER, P. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. **Pharmacol. Rev.**, 51: 533-591, 1999.

PONCELET, M., MARTIN, P., DANTI, S., SIMON, P., SOUBRIE, P. Noradrenergic rather than GABAergic processes as the common mediation of the antidepressant profile of GABA agonists and imipramine like drugs in animals. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 28: 321-326, 1987.

PORSOLT, R.D., BERTIN, A., JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch. Int. Pharm. Ther.**, 229: 327-336, 1977.

PORSOLT, R.D., BERTIN, A., JALFRE, M. Forced swimming in rats: hypothermia, immobility and the effect of imipramine. **Eur. J. Pharmacol.**, 57: 431-436, 1979.

REDROBE, J.P., BOURIN, M. Partial role of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in the activity of antidepressants in the mouse forced swimming test. **Eur. J. Pharmacol.**, 325: 129-135, 1997.

REDROBE, J.P., BOURIN, M., Evidence of the activity of lithium on 5-HT_{1B} receptors in the mouse forced swimming test: comparison with carbamazepine and sodium valproate. **Psychopharmacology**, 141: 370-377, 1999.

REDROBE, J.P., MACSWEENEY, C.P., BOURIN, M. The role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in antidepressant drug actions in the mouse forced swimming test. **Eur. J. Pharmacol.**, 318: 213-220, 1996a.

REDROBE, J.P., PINOT, P., BOURIN, M. The effect of the potassium channel activator, cromakalim, on antidepressant drugs in forced swimming test in mice. **Fundam. Clin. Pharmacol.** 10: 524-528, 1996b.

REIVICH, M., AMSTERD, A.M., J.D., BRUNSWICK, D.J., SHIUE, C.Y., Pet brain imaging with [¹¹C](+) McN5652 shows increased serotonin transporter availability in major depression. **J Affect Disor.**, 82:321-327, 2004.

RODRIGUES, A.L.S., DA SILVA, G., MATEUSSI, A.S., FERNANDES, E.F., MIGUEL, O.G., YUNES, R.A., CALIXTO, J.B., SANTOS, A.R.S. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of hydroalcoholic extract of *Siphocampylus varticullatus*. **Life Sci.**, 70: 1347-1458, 2002.

ROMERO, L., HERVAS, I., ARTIGAS, F. The 5-HT_{1A} antagonist WAY-100635 selectively potentiates the presynaptic effects of serotonergic antidepressants in rat brain. **Neurosci. Lett.**, 219: 123-126, 1996.

ROSA, A.O., **Estudo do efeito antidepressivo do zinco em camundongos**. Dissertação de Mestrado. Florianópolis: UFSC, 2003.

ROSA, A.O., LIN J., CALIXTO, J.B., SANTOS, A.R.S., RODRIGUES, A.L.S. Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitric oxide pathway in the antidepressant-like effects of zinc in mice. **Behav. Brain Res.**, 144: 87-93, 2003.

ROY, A., AGREN, H., PICKAR, D., LINNOILA, M., DORAN, A.R., CUTLER, N.R. Reduced CSF concentrations of homovanillic acid and homovanillic acid to 5-hydroxyindoleacetic acid ratios in depressed patients: relationship to suicidal behavior and dexamethasone nonsuppression. **Am. J. Psychiatry**, 143:1539-1545, 1986.

ROY, A., PICKAR, D., LINNOILA, M., DORAN, A.R., NINAN, P., PAUL, S.M. Cerebrospinal fluid monoamine and monoamine metabolite concentrations in melancholia. **Psychiatry Res.**, 15: 281-292, 1985.

SALPOLSKY, R.M. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. **Arch. Gen. Psychiatry**. 57: 925-935, 2000.

SANDS, S.A., REISMAN, S.A., ENNA, S.J. Effect of antidepressants on GABA_B receptor function and subunit expression in rat hippocampus. **Biochem. Pharmacol.**, 68:1489-1495, 2004.

SAWYNOK, J., ESSER, M.J., REID, A.R. Antidepressants as analgesics: an overview of central and peripheral mechanisms of action. **J. Psychiatry Neurosci.**, 26: 21-29, 2001.

SCHMID, G., CHITTOLINI, R., RAITERI, L., BONANNO, G. Differential effects of zinc on native GABA_A receptor function in rat hippocampus and cerebellum. **Neurochem. Int.**, 34: 399-405, 1999.

SEGAL, D., OHANA, E., BESSER, L., HERSHFINKEL, M., MORAN, A., SEKLER, I. A role for Znt-1 in regulating cellular cation influx. **Biochem Biophys Res Commun.**, 323: 1145-1150, 2004.

SHELINE, C.T., BEHRENS, M.M., CHOI, D.W., Zinc-induced cortical neuronal death: contribution of energy failure attributable to loss of NAD⁺ and inhibition of glycolysis. **J. Neurosci.**, 20: 3139-3145, 2000.

SHERMAN, A.D., PETTY, F. Neurochemical basis of the action of antidepressants on learned helplessness. **Behav. Neural Biol.**, 30: 119-134, 1980.

SIBILLE, E., SARNYAI, Z., BENJAMIN, D., GAL, J., BAKER, H., TOTH, M. Antisense inhibition of 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor induces an antidepressant-like effect in mice. **Mol. Pharmacol.**, 52:1056-1063, 1997.

SIUCIAK, J.A., FUJIWARA, R.A. The activity of pramipexole in the mouse forced swim test is mediated by D₂ rather than D₃ receptors. **Psychopharmacology**, 175: 163-169, 2004.

SKOLNICK, P. Antidepressants for the new millennium. **Eur. J. Pharmacol.**, 375: 31-40, 1999.

SPIEGEL, R. **Psychopharmacology: an introduction**. 3.ed. England: John Wiley & Sons, 1996.

SRIVASTAVA, S.K., NATH, C. The differential effects of calcium channel blockers in the behavioural despair test in mice. **Pharmacol. Res.**, 42: 293-297, 2000.

TAKAHASHI, H., YOSHIDA, K., HIGUCHI, H., SHIMIZU, T., KOYAMA, T. Addition of a dopamine agonist, cabergoline, to a serotonin-noradrenalin reuptake inhibitor, milnacipram as a therapeutic option in the treatment of refractory depression: two case reports. **Clin. Neuropharmacol.**, 26: 230-232, 2003.

TAKEDA, A. Movement of zinc and its functional significance in the brain. **Brain Res. Rev.**, 34: 137-148, 2000.

TAKEDA, A., KAWAI, M., OKADA, S. Zinc distribution in the brain of Nagase analbuminemic rat and enlargement of the ventricular system, **Brain Res.**, 769: 193-195, 1997.

TAPIERO, H., TEW, K.D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. **Biomed Pharmacother.**, 57: 399-411, 2003.

TEJEDOR-REAL P., MICO, J.A., SMADJA, C., MALDONADO, R., ROQUES, B.P., GILBERT-RAHOLA, J. Involvement of μ -opioid receptors in the effects induced by endogenous enkephalins on learned helplessness model. **Eur. J. Pharmacol.**, 354: 1-7, 1998.

TEJEDOR-REAL, P., MICO, J.A., MALDONADO, R., ROQUES, B.P., GIBERT-RAHOLA J. Implication of endogenous opioid system in the learned helplessness model of depression. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 52: 145-152, 1995.

TEJWANI, G.A., HANISSIAN, S.H. Modulation of mu, delta and kappa opioid receptors in rat brain by metal ions and histidine. **Neuropharmacology**, 29: 445–452, 1990.

THASE, M.E. What role do atypical drugs have in treatment-resistant depression? **J. Clin. Psychiatry.**, 63: 95-103, 2002.

VAN OEKELEN, D., LUYTEN, W.H.M.L., LEYSEN, J.E. 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors and their atypical regulation properties. **Life Sci.**, 72: 2429-2449, 2003.

VANDENBERG, R.J., JU, P., AUBREY, K.R., RYAN, R.M., MITROVIC, A.D. Allosteric modulation of neurotransmitter transporters at excitatory synapses. **Eur. J. Pharm. Sci.**, 23: 1-11, 2004.

VEERBEECK, W.J.C., BERK, M., PAIKER, J., JERSKY, B. The prolactin response to sulpirida in major depression: the role of D2 receptor in depression. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, 11: 215-220, 2001.

VILPOUX, C., DARPENTIER, C., LEEROUX-NICOLLET, I., NAUDON, L., COSTENTIN, J. Differential effects of chronic antidepressant treatments on μ and δ -opioid receptors in rat brain. **Eur. J. Pharmacol.**, 443: 85-93, 2002.

WEGENER, G., VOLKE, V., HARVEY, B.H., ROSENBERG, R. Local, but not systemic, administration of serotonergic antidepressants decreases hippocampal nitric oxide synthase activity. **Brain Res.**, 959: 128-134, 2003.

WEISS, J.H., SENSI, S.L., KOH, J.Y. Zn²⁺: a novel ionic mediator injury in brain disease. **Trends Pharmacol. Sci.**, 21: 395-401, 2000.

WILLNER, P. The validity of animal models of depression. **Psychopharmacology**, 83: 1-16, 1984.

WILLNER, P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression. **Psychopharmacology**, 134: 319-329, 1997.

WONG, M., LICINIO, J. From monoamines to genomic targets: a paradigm shift for drug discovery in depression. **Nature Rev. Drug Disc.**, 3: 136-151, 2004.

WONG, M., LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. **Nature Rev. Neurosci.**, 2: 343-351, 2001.

YAMADA, J., SUGIMOTO, Y., YAMADA, S. Involvement of dopamine receptors in the anti-immobility effects of dopamine re-uptake inhibitors in the forced swimming test. **Eur. J. Pharmacol.**, 504: 207-211, 2004.

ZARATE JR, C.A., PAYANE, J.L., SINGH, J., QUIROZ, J.A., LUCKENBAUGH, D.A., DENICOFF, K.D., MANJII, C., MANJII, H.K. Pramipexole for bipolar II depression: a placebo controlled proof of concept study. **Biol. Psychiatry.**, 56: 54-60, 2004.

ZATTA, P., LUCCHINI, R., VAN-RENSBURG, S.J., TAYLOR, A. The role of metals in neurodegenerative processes: aluminium, manganese and zinc. **Brain Res. Bull.**, 62: 15-28, 2003.

ZOMKOWSKI, A.D.E., HAMMES, L., LIN, J., CALIXTO, J.B., SANTOS, A.R.S., RODRIGUES, A.L.S. Agmatine produces antidepressant-like effects in two models of depression in mice. **NeuroReport**, 13: 387-391, 2002.

ZOMKOWSKI, A.D.E., ROSA, A.O., LIN, J., SANTOS, A.R.S., CALIXTO, J.B., RODRIGUES, A.L.S. Evidence for serotonin receptor subtypes involvement in agmatine antidepressant like-effect in the mouse forced swimming test. **Brain Res.**, 1023: 253-263, 2004.