

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS

HELENA MENDES ABELAIRA

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DA
ADMINISTRAÇÃO DE LAMOTRIGINA COMO ANTIDEPRESSIVO**

CRICIÚMA, OUTUBRO DE 2011

HELENA MENDES ABELAIRA

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DA
ADMINISTRAÇÃO DE LAMOTRIGINA COMO ANTIDEPRESSIVO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. João Quevedo

Co-orientadora: Dr^a. Gislaine Zilli Réus

CRICIÚMA, OUTUBRO DE 2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

A139e Abelaira, Helena Mendes.
Efeitos comportamentais e neuroquímicos da administração
de lamotrigina como antidepressivo. / Helena Mendes Abelaira ;
orientador : João Quevedo ; co-orientadora : Gislaine Zilli Réus.
– Criciúma : Ed. do Autor, 2011.

171 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul
Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde, Criciúma, 2011.

1. Lamotrigina. 2. Metabolismo energético. 3. Estresse
oxidativo. 4. Depressão. I. Título.

CDD. 21ª ed. 615.1

Bibliotecária Eliziane de Lucca – CRB 1101/14ª -
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

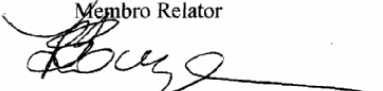
PARECER

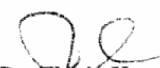
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO apresentado pela candidata **Helena Mendes Abelaira** sob o título “**Efeitos comportamentais e neuroquímicos da administração de lamotrigina como antidepressivo**” para obtenção do grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE** do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação, com conceito A.


Criciúma, SC, 21 de outubro de 2011


Profa. Dra. Carina Rodrigues Boeck
Membro Relator


Prof. Dr. Renan Pedra De Souza
Membro Interno


Prof. Dr. Flávio Kapczinski
Membro - UFRGS


Prof. Dr. João Luciano de Quevedo
Orientador


Prof. Dr. Emilio Luiz Streck
Coordenador do PPGCS

**Aos meus pais, Antonio e Rosane, pelo
carinho, força e incentivo em todos os
momentos deste desafio. Amo muito vocês!**

AGRADECIMENTOS

Ao professor João, pela oportunidade e confiança depositada, e ao ensinamento compartilhado durante o tempo do mestrado.

A Gislaine Z. Réus que pela atenção e carinho tornou-se especial para mim.

Aos alunos de iniciação científica do Neurolab, Giovanni Zappelinni, Karine F. Ribeiro, Roberto B. Stringari pela ajuda constante nos trabalhos, além da amizade.

Ao Chrystian Martins Freitas, pela paciência nos dias difíceis, incentivo constante e por fazer parte da minha vida. Te amo!

As amigas do Neurolab, Amanda V. Steckert, Camila O. Arent, Samira S. Valvassori, Daiane B. Fraga e Francielle G. Mina pela amizade e por tornar o dia a dia mais divertido.

As minhas amigas Kelen C. Cechinel e a Lara Canever pela cumplicidade e amizade.

Aos meus pais, por terem me proporcionado essa oportunidade! Vocês são muito importantes para mim!

A toda a família, que sempre acreditou que eu fosse capaz.

A Deus, que sempre me abriu muitas portas e proporcionou tudo isso.

E finalmente, a todos que tornaram este estudo possível, os meus mais sinceros agradecimentos!

"Cada dia que amanhece assemelha-se a uma página em branco, na qual gravamos os nossos pensamentos, ações e atitudes. Na essência, cada dia é a preparação de nosso próprio amanhã."

(Chico Xavier)

RESUMO

Lamotrigina possui uma ação antiglutamatérgica, o que pode contribuir para seus efeitos antidepressivos, uma vez que o glutamato tem sido associado à depressão. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos neuroquímicos e comportamentais da lamotrigina como antidepressivo em ratos Wistar. Para isso, o estudo foi dividido em três etapas. A primeira teve como objetivo avaliar os efeitos da administração aguda e crônica da lamotrigina nas doses 10 mg/kg e 20 mg/kg e imipramina (controle positivo) na dose de 30 mg/kg no teste do nado forçado, nos níveis de BDNF, NGF, Bcl-2, AKT e GSK-3 e na atividade das enzimas creatina quinase, citrato sintase e dos complexos enzimáticos I, II-III, III, IV no hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala. Os resultados mostraram que ambos os tratamentos reduziram o tempo de imobilidade. Os níveis de BDNF foram aumentados no córtex pré-frontal após tratamento agudo (20 mg/kg) e crônico (10 e 20 mg/kg) com lamotrigina, os níveis de NGF também foi aumentado no córtex pré-frontal após tratamento crônico (10 e 20 mg/kg) com lamotrigina. Os níveis de AKT aumentaram e de Bcl-2 e GSK-3 diminuíram após ambos os tratamentos em todas as áreas do cérebro. A atividade da citrato sintase e creatina quinase foram aumentadas na amígdala após tratamento agudo com imipramina e no tratamento crônico com imipramina e lamotrigina (10 mg/kg) no hipocampo. A atividade do complexo I foi diminuída e no complexo II, II-III e IV foi aumentada, mas relacionados com o tipo de tratamento e área cerebral. Em uma segunda etapa, os animais foram submetidos ao modelo animal de privação materna e na vida adulta tratados com lamotrigina na dose de 20 mg/kg por 14 dias. Após foram submetidos ao teste do nado forçado e avaliado os níveis de BDNF e NGF no hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala. Os resultados mostraram que o tratamento com lamotrigina reverteu o aumento do tempo de imobilidade dos ratos privados. Os níveis de BDNF foram diminuídos na amígdala em ratos privados tratados com salina e o tratamento com lamotrigina reverteu este efeito. Os níveis de NGF foram reduzidos no hipocampo em ratos privados tratados com salina. Na terceira etapa os animais foram submetidos a um protocolo de estresse por 40 dias e a seguir tratados com lamotrigina na dose de 20 mg/kg. Após foram avaliados: anedonia, peso da glandula adrenal, os níveis de BDNF, NGF e parâmetros de estresse oxidativo no hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala. Os resultados demonstraram que ratos estressados tratados com salina e ratos controle tratados com lamotrigina tiveram comportamento anedônico e a lamotrigina reverteu tal efeito em ratos estressados, o procedimento de estresse crônico moderado induziu uma diminuição do peso da glândula adrenal em ratos estressados tratados com lamotrigina; ratos estressados tratados com salina tiveram um aumento nos níveis BDNF no hipocampo. Lamotrigina em animais controle induziu aumento na peroxidação lipídica no pré-frontal e amígdala e em animais estressados no pré-frontal. O protocolo de estresse induziu aumento na carbonilação de proteína em pré-frontal e amígdala, lamotrigina reverteu este efeito no pré-frontal. A atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT foi diminuída no pré-frontal e hipocampo em ratos estressados e a lamotrigina não reverteu este efeito, já na amígdala lamotrigina aumentou a atividade da SOD e CAT em ratos estressados. Concluindo, a lamotrigina exerceu efeitos antidepressivos em diferentes modelos animais e alterou diversas vias moleculares envolvidas com a fisiopatologia e tratamento da depressão, sugerindo-se que a lamotrigina pode ser uma nova ferramenta farmacológica para o tratamento de transtornos do humor.

Palavras-chave: Lamotrigina, modelo animal de depressão, metabolismo energético, cascata de sinalização celular, estresse oxidativo, depressão.

ABSTRACT

Lamotrigine has an ant glutamatergic action, which may contribute to its antidepressant effects, since glutamate has been associated with depression. This study aimed to evaluate the neurochemical and behavioral effects of lamotrigine as an antidepressant in Wistar rats. For this, the study was divided into three steps. The first was to evaluate the effects of the acute and chronic administration of lamotrigine at doses of 10 mg/kg and 20 mg/kg and imipramine (positive control) at a dose of 30 mg / kg in the forced swimming test, levels of BDNF, NGF, Bcl-2, AKT and GSK-3 and activity of enzymes creatine kinase, citrate synthase and enzymatic complexes I, II, III, III, IV in the hippocampus, prefrontal cortex and amygdala. The results showed that both treatments reduced the immobility time. BDNF levels were increased in the prefrontal cortex after acute treatment (20 mg/kg) and chronic (10 and 20 mg/kg) with lamotrigine, the level of NGF was also increased in the prefrontal cortex after chronic treatment (10 and 20 mg/kg) with lamotrigine. The increased levels of AKT and Bcl-2 and GSK-3 decreased after both treatments in all areas of the brain. The activity of citrate synthase and creatine kinase were increased in the amygdala after acute treatment with imipramine and chronic treatment with imipramine and lamotrigine (10 mg/kg) in the hippocampus. The activity of complex I was decreased and the complex II, II-III and IV was increased, but related to the type of treatment and brain area. In a second step, the animals were submitted to the animal model of maternal deprivation in adulthood and treated with lamotrigine at a dose of 20 mg/kg for 14 days. After undergoing the forced swimming test, an evaluation of the levels of BDNF and NGF in the hippocampus, prefrontal cortex and amygdala was performed. The results showed that treatment with lamotrigine reversed the increased immobility time of deprived rats. BDNF levels were decreased in the amygdala of deprived rats treated with saline and lamotrigine treatment reversed this effect. NGF levels were reduced in the hippocampus of deprived rats treated with saline. In the third stage the animals were subjected to a stress protocol for 40 days and then treated with lamotrigine at a dose of 20 mg/kg. The following were evaluated: anhedonia, weight of the adrenal gland, the levels of BDNF, NGF and parameters of oxidative stress in the hippocampus, prefrontal cortex and amygdala. The results showed that stressed rats treated with saline and control rats treated with lamotrigine had an anhedonia behavior and the lamotrigine reversed this effect in stressed rats. The chronic stress procedure induced a moderate decrease of the adrenal gland in stressed rats treated with lamotrigine; stressed rats treated with saline had an increase in BDNF levels in the hippocampus. Lamotrigine control animals induced an increase in lipid peroxidation in the prefrontal and amygdala and in stressed animals in the pre-frontal. The protocol of stress induced an increase in protein carbonylation in the prefrontal and amygdala, lamotrigine reversed this effect in the prefrontal. The activity of the antioxidant enzymes SOD and CAT was decreased in the prefrontal and hippocampus of stressed rats and lamotrigine did not reverse this effect, since lamotrigine in the amygdala increased the activity of SOD and CAT in stressed rats. In conclusion, lamotrigine exerted antidepressant effects in animal models and altered several molecular pathways involved in the pathophysiology and treatment of depression, suggesting that lamotrigine may be a new tool for the pharmacological treatment of mood disorders.

Key Words: Lamotrigine, depression animal model, energetic metabolism, cascade of cell signaling, oxidative stress, depression

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação esquemática da cadeia respiratória mitocondrial.....	19
Figura 2: Representação do mecanismo de ação da lamotrigina.....	23

LISTA DE ABREVIATURAS

Bcl-2 – Células de linfoma B2

AKT – Proteína quinase B.

GSK-3 – Glicogênio sintase quinase.

CAT – Catalase.

BDNF – Fator neuro trófico derivado do cérebro.

NGF – Fator de crescimento neuronal.

MDA – Malondialdeído.

NMDA – *N*-metil-*D*-aspartato.

SOD – Superóxido Dismutase.

CAT – Catalase.

MDD - Transtorno depressivo maior.

DSMIV- Manual de diagnóstico e estatístico de doenças mentais, IV edição da Associação Americana de Psiquiatria.

5-HT – Serotonina.

NE – Norepinefrina.

SSRIs - inibidores seletivos da recaptação de serotonina.

AMPc - adenosina monofosfato cíclico.

ATP - Adenosina trifosfato.

ADP – Adenosina difosfato.

CK - Creatina quinase.

MRI - Ressonância magnética.

CREB – Proteína ligante ao elemento responsivo ao AMPc.

SNP- Sistema nervoso periférico.

SNC – Sistema nervoso central.

EROS- Espécies reativas de oxigênio.

HPA- Hipotálamo – hipófise – adrenal.

ACTH- Hormônio adrenocorticotrófico.

ECM – Estresse crônico moderado.

PKB – Proteína quinase B

NADH – Nicotinamida adenina dinucleótido

FADH₂ – Flavina adenina dinucleótido

SUMÁRIO

Parte I.....	14
I INTRODUÇÃO	14
1.1 Depressão	14
1.2 Regiões Cerebrais envolvidas na depressão.....	16
1.3 Vias de Sinalização e Depressão.....	17
1.4 Metabolismo Energético e Depressão.....	20
1.5 Estresse Oxidativo e Depressão.....	23
1.6 Lamotrigina	24
1.7 Depressão e Modelos Animais.....	27
2 OBJETIVOS	29
Etapa I.....	29
2.1 Objetivo Geral	29
2.2 Objetivos Específicos	29
Etapa II	30
2.3 Objetivo Geral	30
2.4 Objetivos Específicos	30
Etapa III.....	31
2.5 Objetivo Geral	31
2.6 Objetivos Específicos	31
Parte II	32
3 ARTIGO I	32
4 ARTIGO II.....	78
5 ARTIGO III	105
Parte III.....	139

6 DISCUSSÃO	139
7 REFERÊNCIAS.....	150

Parte I

1 INTRODUÇÃO

1.1 Depressão

A depressão é uma doença grave que tem enormes consequências para a qualidade de vida das pessoas, e é uma das formas mais prevalentes de doença mental (Larsen et al., 2010). É uma doença clínica e biologicamente heterogênea, com 10%-30% das mulheres e 7%-15% dos homens susceptíveis de sofrerem de depressão em sua vida útil (Briley, 2000). Além disso, pacientes que sofrem de depressão apresentam altas taxas de morbidade e mortalidade, com consequências econômicas e sociais profundas (Nemeroff & Owens, 2002).

No entanto, as combinações de múltiplos fatores genéticos podem estar envolvidas no desenvolvimento da depressão, porque um defeito em um único gene normalmente não induzem a expressão dos sintomas de depressão (Burmeister, 1999). Além disso, vários fatores não-genéticos, como estresse, trauma afetivo, infecção viral, e do desenvolvimento neurológico e outras anormalidades aumentam a complexidade da patogênese da doença.

O Manual Diagnóstico e Estatístico de Doenças Mentais, IV edição da Associação Americana de Psiquiatria (DSM-IV) caracteriza o Transtorno Depressivo Maior (MDD) como tendo dois sintomas principais – humor deprimido e/ou anedonia, definida como a perda do prazer das coisas que normalmente são agradáveis e pelo menos outros cinco sintomas associados (por exemplo, perda de apetite, distúrbios do sono, agitação ou retardo psicomotor, diminuição da energia, sentimentos de inutilidade e culpa e/ ou ideação suicida) também precisam estar presentes. Estes sintomas devem persistir por pelo menos duas semanas e causar prejuízo significativo do funcionamento social, profissional e pessoal (Duman et al., 1998).

Como uma compreensão básica do tratamento da depressão, a hipótese monoaminérgica foi formulada em meados dos anos 1960 com base na eficácia dos

antidepressivos na recaptação de monoaminas (Belmaker, 2008). Esta hipótese sugere uma deficiência ou desequilíbrio nos neurotransmissores monoaminérgicos, tais como dopamina, serotonina (5-HT) e norepinefrina (NE), como a causa da depressão. Entre os agentes terapêuticos, os antidepressivos tricíclicos, incluindo, inibidores da monoamina oxidase e inibidores seletivos da recaptação da serotonina (SSRIs) exercem sua ação terapêutica através de sua capacidade de aumentar o conteúdo sináptico dos neurotransmissores monoaminérgicos (Morilak, 2004). Embora as ações do tratamento agudo destes fármacos estejam envolvidas no sistema monoaminérgico, sua ação em longo prazo, durante o período de adaptação, nos mecanismos celulares e bioquímicos ainda parecem um pouco desconhecidos. Evidências descrevem um papel crítico dos fatores neurotróficos e neurogênicos para mediar às adaptações neurais no benefício do tratamento terapêutico com antidepressivos (Schmidt et. al., 2008).

O tratamento da depressão é geralmente seguro e efetivo, porém está longe do ideal, pois o tempo de latência para obter benefícios clínicos é relativamente longo, este período de resposta terapêutica dura entre 3-5 semanas, e há ainda grandes problemas quanto aos efeitos colaterais como perda da libido e ganho de peso, entre outros. Embora a terapia para a depressão com fármacos, psicoterapia e terapia eletroconvulsiva sejam efetivas, um número significativo de pacientes não respondem bem a estes tratamentos (Anderson et al., 2000). Em virtude disto, há uma grande necessidade de fármacos com ação rápida, seguros e efetivos para o tratamento da depressão (Berton & Nestler, 2006).

Nos últimos 50 anos, diferentes tipos de medicamentos antidepressivos estão sendo fabricados para atuar no sistema modulatório de monoaminas (Gonçalves & Coelho, 2006), mas recentemente novas teorias foram elucidadas sobre a fisiopatologia da depressão e a ação dos antidepressivos. Outros sistemas que estariam regulando a plasticidade neuronal e sináptica teriam importância central na neurobiologia e tratamento desses transtornos

(Sanacora et al.; 2008; Zarate & Manji, 2008) e as pesquisas atuais procuram buscar um ponto em comum entre todas essas evidências.

1.2 Regiões Cerebrais Envolvidas na Depressão

Recentes estudos básicos e clínicos fornecem direta evidência de atrofia e perda neuronal em resposta ao estresse na depressão (Duman et al., 1999). O hipocampo e o córtex frontal estão implicados na aprendizagem e controle de memória, atenção e impulsos, o que sugere que podem mediar aspectos cognitivos da depressão, tais como deficiências de memória e sentimentos de culpa, desesperança e suicídio.

Estudos de imagens cerebrais de pacientes deprimidos indicam uma significativa redução do volume do hipocampo em comparação com indivíduos saudáveis. Pesquisas mostram que o estresse pode resultar em atrofia e morte de neurônios nas áreas piramidais CA3 do hipocampo (Sapolsky, 1996). Além disso, o estresse diminui a neurogênese de neurônios granulares do giro denteado do hipocampo de animais adultos (Gould et al., 1997). Estes efeitos danosos de estresse podem contribuir para a redução do volume registrado em pacientes com depressão ou com transtorno de estresse pós-traumático (Bremner et al., 1995; Sheline et al., 1996; Drevets et al., 1997).

Estudos de ressonância magnética (MRI) mostram consistentemente que o córtex pré-frontal é reduzido em tamanho em pacientes adultos com transtorno depressivo maior (MDD), em comparação com controles saudáveis. Dados *postmortem* apoiam esta conclusão, e sugerem que as células da glia pode pelo menos contribuir para o tamanho total reduzido da região (Ongur et al., 1998).

Ao contrário do córtex pré-frontal e do hipocampo, os quais tem a atividade e volume reduzidos na depressão maior, a amígdala possui a atividade e a morfologia aumentadas (Drevets, 2003). Adicionalmente, estudos de imagem mostraram um aumento no volume da amígdala em pacientes com depressão maior (Bremner et al., 2000; Lange & Irle, 2004). O

estresse aumentou a plasticidade sináptica e a função de neurônios na amígdala, um efeito distinto da atrofia encontrada no hipocampo e córtex pré-frontal. Essas alterações encontradas na amígdala eventualmente podem contribuir para a ativação de circuitos neurais que controlam o medo, a ansiedade e a emoção (Pittenger & Duman, 2008).

Outra estrutura cerebral na qual a neuroplasticidade pode estar relacionada aos efeitos do estresse e aos sintomas da depressão é o estriado ventral, incluindo o núcleo accumbens. O núcleo accumbens desempenha um papel central nos mecanismos de defesa natural e já foi mostrada uma desregulação dessa estrutura na depressão, a qual foi relacionada aos sintomas de anedonia (Dunn et al., 2002; Nestler and Carlezon, 2006). Por tanto, tanto o estresse agudo quanto o crônico podem exercer diversos efeitos nas diferentes funções e regiões cerebrais, um fato importante para melhor compreender a fisiopatologia da depressão.

1.3 Vias de Sinalização e Depressão

Nos últimos anos, um número significativo de estudos relatam a transdução de sinal intracelular bem como a plasticidade celular na fisiopatologia e tratamento da depressão (Pittenger & Duman, 2008). O fato de haver um tempo de latência para a resposta aos antidepressivos leva a hipótese de que a inibição da recaptação dos neurotransmissores não seja, sozinha, suficiente para estabelecer alterações em longo prazo. Então, alterações como o aumento da neurogênese, crescimento das fibras nervosas, formação de novas sinapses e estabilização das já existentes podem ser responsáveis por essas mudanças (Goncalves & Coelho, 2006).

Esta teoria concentra sua atenção num conjunto de moléculas que funcionam em cascata, ou seja, cada fator neurotrófico a partir do momento que aumenta a sua expressão tem como efeito o aumento subsequente de expressão do fator imediatamente sucessor nessa sequência. Os dados mais recentes parecem sugerir a existência de uma cascata celular cuja a sequência seria a seguinte: AMPc-MAPcinases-CREB-BDNF (Kempermann, 2003).

Esta cascata seria unificadora de mecanismos como a reestruturação dendrítica, aumento da neurogênese hipocampal e aumento da sobrevivência das células do Sistema Nervoso Central (SNC) (Kempermann, 2003).

A administração crônica de antidepressivos aumenta a expressão de AMPc (adenosina mono-fosfato, cíclico), que dá início à cascata celular. A amplificação dessa cascata aumenta a diferenciação de novas células em neurônios, isto é, aumenta a sobrevivência, mas não a proliferação (Duman et. al., 2000). O fator CREB aumenta paralelamente à maturação de novos neurônios (Duman, et. al., 2000). Desempenha um papel bem estabelecido na neuroplasticidade sináptica em várias regiões do cérebro e está também envolvido na resposta antidepressiva no hipocampo.

O estresse diminui a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo e levam a perdas funcionais. Além disso, se tem estudado que a diminuição do BDNF causa alterações neurodegenerativas e comportamentais associadas ao estresse crônico e depressão (Duman & Monteggia, 2006). O BDNF também possui efeitos sinápticos (Manji et. al., 2003) e interação com o sistema serotoninérgico (Scholss & Henn, 2004). Este também exerce efeitos antidepressivos quer por si só através do aumento da expressão de outros fatores, que diminuem a morte dos neurônios e aumentam a sobrevivência destes (Shirayama et. al., 2002).

Dados recentes da literatura também mostram uma interação entre antagonistas do receptor NMDA e o BDNF (Garcia et al., 2008a, b). Estudos prévios demonstram que o tratamento agudo com memantina, bem como com cetamina, aumentou os níveis de BDNF em hipocampo de ratos (Garcia et al., 2008a, b). Outro estudo mostrou que o antidepressivo fluoxetina e o antagonista do receptor NMDA, amantadina, administrados em conjunto produziram um potente aumento nos níveis totais e na expressão gênica de BDNF (Rogóz et al. 2008). Adicionalmente, animais submetidos ao modelo de privação materna tiveram uma redução na expressão de BDNF, bem como nas subunidades NR-2A e NR-2B do receptor

NMDA com maior intensidade no hipocampo e menor em áreas corticais de ratos (Roceri et al., 2002). A cascata celular anterior pode aumentar a sobrevivência dos neurônios por diminuição da apoptose. O BDNF tem como efeito final aumentar a expressão de Bcl-2 que é uma proteína anti-apoptótica, ou seja, pró-sobrevivência (Manji et al., 2003).

Outra neurotrofina relacionada aos transtornos de humor é o fator de crescimento neuronal (NGF). Evidências tem demonstrado que o NGF promove o crescimento e sobrevivência de neurônios, bem como promove a sua reparação e remodelação. Também é relatado que o NGF é necessário para controlar a função sináptica e plasticidade. (Alleva & Santucci, 2001; Aloe et al., 2002). Recentemente, um estudo mostrou que o NGF está envolvido em processos fisiológicos e fisiopatológicos em células conectadas com apoptose e neurodegeneração. (Schulte-Herbrüggen et al., 2006).

Além das cascatas citadas acima, a proteína quinase B (PKB, AKT), glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3) que são componentes de regulação da morte celular, são intensamente estudados por razão dos efeitos bioquímicos conhecidos dos antidepressivos e estabilizadores de humor em relação ao papel que estes fármacos supostamente exercem sobre a sobrevivência celular, plasticidade e metabolismo dos neurônios durante as doenças mentais e degenerativas (Jope e Roh, 2006).

A compreensão das vias de sinalização em neurônios ou a investigação de novos componentes com os já descobertos podem ser considerados como a base molecular para encontrar as causas biológicas das doenças neuropsiquiátricas (D'Sa & Duman, 2002). Recentemente, foi proposto que os antidepressivos podem exercer seus efeitos terapêuticos em longo prazo, desencadeando mecanismos celulares que promovem a plasticidade neuronal (Manji et al., 2003) e as vias de neuroproteção pelo aumento da neurogênese no hipocampo (Malberg et al., 2000).

1.4 Metabolismo Energético e Depressão

As mitocôndrias são conhecidas como organelas essenciais para a respiração celular, bem como mediadoras-chaves na morte celular através de apoptose e/ou processos necróticos. A maioria da energia da célula é obtida através de fosforilação oxidativa, um processo que requer a ação da enzima respiratória por vários complexos enzimáticos localizados em uma estrutura especial da membrana interna da mitocôndria, a cadeia respiratória mitocondrial (Boekema & Braun, 2007).

Tecidos com alta demanda de energia tais como o cérebro, contêm um grande número de mitocôndrias, sendo, portanto, mais suscetíveis à redução do metabolismo aeróbio. É bem descrito que a disfunção mitocondrial foi implicada na patogênese de uma série de doenças que afetam o cérebro, como a demência, isquemia cerebral, doença de Alzheimer e doença de Parkinson (Blass, 2001). Além disso, a alteração na função mitocondrial com consequente prejuízo no metabolismo energético da célula é uma hipótese atrativa para explicar a fisiopatologia da depressão. Um estado energético celular anormal pode levar a perda da função e da plasticidade neuronal, e conseqüentemente, a alterações cognitivas e comportamentais características da depressão.

A ação combinada do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa é responsável pela maior parte da produção de ATP gerada pelos seres humanos, sendo que a cadeia de transporte de elétrons é composta por cinco complexos enzimáticos (complexos I, II, III, IV e V) e dois componentes que não fazem parte dos complexos, a coenzima Q, que transporta elétrons do complexo I e II ao complexo III, e o citocromo *c*, que transporta elétrons do complexo III ao complexo IV. Os elétrons presentes nas coenzimas NADH e FADH₂ são transferidos para o complexo I, do complexo I para coenzima Q, depois para o complexo III, citocromo *c*, complexo IV e finalmente para o complexo V ou ATP síntase (Wallace,

1999).

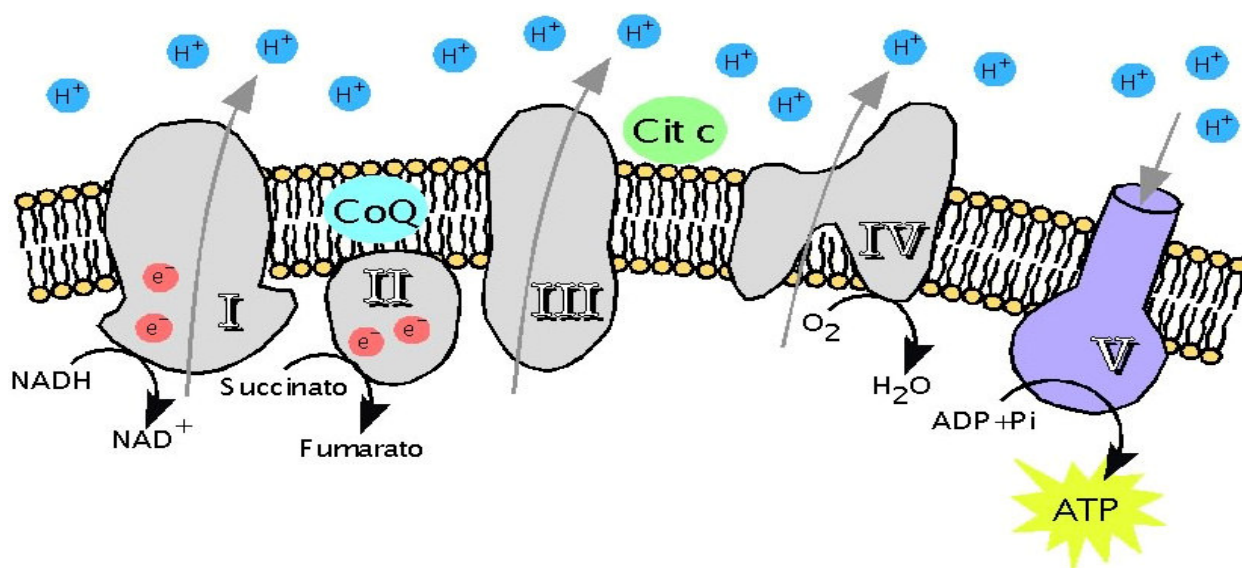


Figura 1: Representação esquemática da cadeia respiratória mitocondrial.

Alguns autores recentemente mostram uma relação entre a depressão e o metabolismo energético. De fato, um estudo do nosso grupo mostrou que complexos da cadeia respiratória mitocondrial I, III e IV foram inibidos após o estresse crônico leve no córtex cerebral e cerebelo, e administração aguda de cetamina reverteu esta inibição (Rezin et al., 2009). Madrigal et al. (2001) também relataram que os complexos I-III e II-III da cadeia respiratória mitocondrial foram inibidos em cérebro de ratos após estresse crônico (imobilização por seis horas durante 21 dias). Além disso, Ben-Shachar e Karry (2008) demonstraram em um estudo *post-mortem* reduções em mRNA e proteína do complexo I subunidades NDUFV1, NDUFV2 NADUFS1 no cerebelo de pacientes com depressão. Fisar e Hroudova (2010), utilizando um estudo *in vitro* a partir de cérebro de porco, demonstraram que a atividade do complexo I, II e IV diminuiu com antidepressivos e estabilizadores de humor, sugerindo neste estudo que os antidepressivos geralmente atuam como inibidores da cadeia de transporte de elétrons. McAllister et al. (2008) em um estudo *in vitro* mostraram que a memantina administrada agudamente e cronicamente diminuiu a atividade dos complexos I e IV.

A creatina quinase desempenha um papel central no metabolismo dos tecidos de consumo de alta energia tais como cérebro, onde ela funciona como um sistema de tamponamento eficaz através dos níveis celulares de adenosina trifosfato (ATP). A enzima catalisa a reversível transferência do grupo fosforil da fosfocreatina para adenosina difosfato (ADP), regenerando ATP (Bessman, 1985).

Recentemente foi mostrada uma diminuição na atividade da CK em cérebro de ratos submetidos a um modelo animal de mania (Streck et al., 2008). Em humanos com transtorno do humor bipolar também foram encontrados níveis anormais de CK (Meltzer, 2000). Além disso, Segal et al. (2007) avaliaram os níveis séricos de CK em uma amostra obtida de indivíduos com transtorno depressivo maior em episódio depressivo psicótico e não-psicótico. Adicionalmente a amostra incluía sujeitos com transtorno esquizoafetivo e transtorno bipolar que se apresentavam em episódios depressivos. Os resultados apontaram para um aumento nos níveis de CK na depressão maior não-psicótica, comparado aos outros grupos. Corroborando esses achados, foi mostrado que os antidepressivos imipramina, paroxetina e a cetamina aumentaram a atividade da CK no cérebro de ratos (Assis et al., 2009; Santos et al., 2009), sugerindo-se que a modulação do metabolismo energético por antidepressivos pode ser um importante mecanismo da ação desses fármacos.

Outra enzima bastante importante para manutenção do metabolismo energético no cérebro é a citrato sintase. A citrato sintase é usada como um marcador enzimático quantitativo para a presença de mitocôndrias intactas (Marco et al., 1974), que podem estar relacionados com transtornos do humor (Agostinho et al., 2011). Um estudo anterior já demonstrou que a administração aguda, mas não crônica, com o antipsicótico olanzapina e com o antidepressivo fluoxetina aumentaram a atividade da enzima citrato sintase em áreas do cérebro (Agostinho et al., 2011). Outro estudo prévio mostrou que a administração crônica de com o antidepressivo paroxetina aumenta a atividade da enzima citrato sintase no córtex pré-

frontal, hipocampo, estriado e córtex cerebral de ratos adultos (Scaini et al., 2010). De fato, a mitocôndria parece ser vista como alvo para antidepressivos (Weinbach et al., 1986).

1.5 Estresse oxidativo e Depressão

Evidências sugerem que o estresse oxidativo desempenha um papel fundamental na fisiopatologia do transtorno depressivo e está associado a várias outras comorbidades. A geração de radicais livres constitui, por excelência, um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas relevantes. Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas. Sua produção, em proporções adequadas, possibilita a geração de ATP (energia), por meio da cadeia transportadora de elétrons. Porém, a produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos (Ferreira & Matsubara, 1997).

A instalação do processo de estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção desses. Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com conseqüente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (Halliwell & Whiteman, 2004).

A produção contínua destes radicais livres durante os processos metabólicos culminou no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante. Estes têm o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e controlar a ocorrência de danos decorrentes (Bianchi & Antunes, 1999; Shami & Moreira, 2004).

As espécies reativas de oxigênio (EROS) podem causar danos celulares por inativação enzimática, peroxidação lipídica e modificação do DNA (Floyd, 1999). O estresse oxidativo é bem conhecido por contribuir para degeneração neuronal do sistema nervoso central (SNC) no processo de envelhecimento, bem como, em doenças neurodegenerativas.

Um outro estudo tem relata um aumento das espécies reativas de oxigênio no plasma em pacientes com depressão maior, especialmente com melancolia associada (Bilici et al., 2001). Além disso, mostramos que ratos submetidos ao estresse crônico moderado tiveram aumento na produção de superóxido no hipocampo, córtex pré-frontal e córtex cerebral e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico no córtex (Lucca et al., 2009a). Também demonstramos que os ratos submetidos ao estresse tiveram um aumento de proteínas no córtex pré-frontal, hipocampo, estriado e córtex; na peroxidação lipídica no cerebelo e estriado; na catalase no cerebelo, hipocampo, estriado e córtex e uma diminuição na atividade da superóxido dismutase no córtex pré-frontal, estriado, hipocampo e córtex (Lucca et al., 2009b). Todavia, outro estudo prévio mostrou que a utilização aguda e crônica de antidepressivos como harmina e imipramina promovem efeitos antioxidantes no córtex pré-frontal e no hipocampo de ratos (Réus et al., 2010).

O estresse oxidativo e a vulnerabilidade do cérebro, juntamente com as crescentes evidências de alterações degenerativas associadas com muitas síndromes psiquiátricas, sugerem que o dano oxidativo pode levar a alterações celulares gerando os transtornos de humor.

1.6 Lamotrigina

A lamotrigina (3,4 diamino -6- [diclorofenil] – 1,2,4 – triazino é um anticonvulsivante que apresenta eficácia clínica em diversos tipos de epilepsia e atualmente é empregado no tratamento de transtorno do humor (Calabrese et al., 1999; Frye et al., 2000; Barbosa et al., 2003). Em ensaios clínicos, drogas estabilizadoras do humor como o lítio, valproato e carbamazepina apresentam maior eficácia nos episódios de mania no transtorno Bipolar, enquanto que a lamotrigina é mais eficaz na depressão bipolar. Em ensaios clínicos, drogas estabilizadoras do humor como o lítio, valproato e carbamazepina apresentam maior eficácia

nos episódios de mania no transtorno Bipolar, enquanto que a lamotrigina é mais eficaz na depressão bipolar.

A dose terapêutica para o tratamento de transtorno de humor varia de 200 a 400mg/dia (Calabrese et al., 2002). Concentrações plasmática de 4 a 16 g/L estão associados com uma significante eficácia clínica para o tratamento de epilepsia (Peck, 1991). Os principais efeitos adversos da lamotrigina são cefaléias, náuseas, insônia, tremores e lesões cutâneas (rash) (Calabrese et al., 2002).

Sua ação anticonvulsivante consiste em reduzir a excitabilidade neuronal através da inibição dos canais voltagem-dependentes de Na⁺ e, assim, diminuindo a liberação de glutamato na sinapse excitatória (Xie & Hagan, 1998; Cunningham & Jones, 2000; Sitges et al, 2007a, b). Além disso, a lamotrigina pode modular a neurotransmissão através dos receptores NMDA (Wang et al 1996; Anand et al 2000; Farber et al 2002).

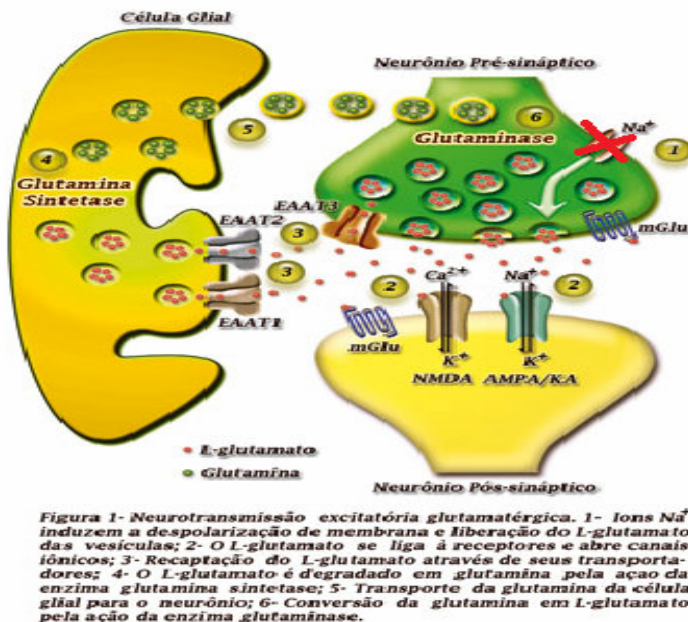


Figura 2: Representação do mecanismo de ação da lamotrigina.

A lamotrigina também bloqueia os canais voltagem-dependentes de cálcio, os canais pré-sinápticos de sódio que realizam a liberação de aspartato e a liberação de γ -aminobutírico nas fatias corticais de ratos (Goa et al., 1993). A lamotrigina apresentou efeitos

neuroprotetores que foram demonstrados em modelos animais de isquemia (Siniscalchi et al., 1998; Leach et al., 1991; Rataub et al., 1994) ou de dano neuronal, que podem ter sido relacionados, possivelmente, com seus efeitos sobre a liberação neuronal de glutamato. A lamotrigina também possui apreciável afinidade *in vitro* para receptores dopaminérgicos, adrenérgicos, muscarínicos, opióides em concentrações clinicamente relevantes, mas se liga fracamente aos receptores da serotonina 5HT₃ (Leach et al., 1991).

Em um estudo *in vitro*, usando plaquetas humanas e sinaptossomas de cérebro de ratos, foi observado que a lamotrigina foi capaz de inibir a recaptção de serotonina. (Southam et al., 1998). Estes autores concluíram que a lamotrigina deve estar interagindo com os transportadores de serotonina e também observou resultados semelhantes para a dopamina e noradrenalina.

A primeira observação de um possível efeito da lamotrigina no humor foi realizada por Smith et al. (1993). Estes autores observaram que a adição de lamotrigina ao tratamento (esquema duplo-cego, randomizado, comparativo com placebo) de pacientes com epilepsia parcial refratária acarretou uma melhora na qualidade de vida, particularmente no humor. Mais recentemente, estudos mostram a eficácia da lamotrigina no tratamento de Transtorno Bipolar tipo 1 e na Depressão Bipolar tipo 2 (Bowden, 2002). Por exemplo, pacientes com transtorno bipolar tratados com lamotrigina mostraram menor taxa de recaída que pacientes tratados com placebo (Calabrese et al., 2003). No mesmo estudo, quando analisado o tempo para recaída de um quadro depressivo, a lamotrigina apresentou um efeito antidepressivo maior que lítio e o controle.

Em pacientes com depressão associada com epilepsia parcial, o tratamento com lamotrigina melhorou o humor e o estado depressivo destes pacientes (Sackellares & Sackellares, 2002). Calabrese et al. (1999) demonstraram que a lamotrigina foi eficaz no tratamento de transtorno Bipolar tipo I, em pacientes que haviam apresentado um episódio depressivo recentemente. Como terapia de manutenção a lamotrigina tem apresentado boa

resposta em pacientes bipolares cicladores rápidos, os quais alteram ciclos de hipomania e depressão em curto intervalo de tempo, como por exemplo, mais de quatro ciclos em um ano (Calabrese et al., 2000).

As ações antiglutamatérgica da lamotrigina também contribuíram para seu efeito antidepressivo (Ketter et al., 2003), uma vez que o glutamato está relacionado à depressão (Petrie et al., 2000) e que antagonistas de receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) tem apresentado efeito tipo antidepressivo em modelos animais de depressão como o teste de natação forçada, o desamparo aprendido e a anedonia induzida por estresse moderado repetido (Maj et al., 1992; Petrie et al, 2000).

Portanto, o possível efeito antidepressivo da lamotrigina pode ser mediado tanto por uma ação monoaminérgica como antiglutamatérgica.

1.7 Depressão e Modelos Animais

Nos modelos animais de transtornos de humor, principalmente os de depressão, podem-se replicar em animais de laboratório os fatores etiológicos que causam depressão em humanos e conseqüentemente, muito dos sintomas (Nestler, et. al., 2002). Com isso, este modelo consegue recriar as especificidades da doença. Os modelos animais são usados com considerável sucesso nos últimos anos em várias enfermidades como, por exemplo, a doença de Huntington, Alzheimer e Parkinson, para que as anomalias genéticas das doenças sejam conhecidas (Nestler, et. al., 2002).

Dados da literatura descrevem que para ser válido, um modelo animal em transtornos psiquiátricos deve demonstrar três características principais: 1) mimetizar os sintomas da doença determinada (validade de face); 2) habilidade do modelo em reproduzir alguns aspectos fisiopatológicos da doença (validade de construção); e 3) finalmente, os agentes terapêuticos usados no tratamento devem reverter os sintomas induzidos no modelo animal (validade preditiva) (Ellenbroek & Cools, 1990).

Muitos modelos animais de depressão são utilizados a fim de investigar novos fármacos antidepressivos e conhecer os mecanismos fisiopatológicos da doença (Nestler et al., 2002, Cryan & Slattery, 2007). Entre eles, encontra-se o teste do nado forçado, descrito primeiramente por Porsolt et al., (1977) que é amplamente utilizado em ratos e em camundongos. Este é um modelo animal preditivo de atividade antidepressiva e é baseado na observação do animal em estado de desespero comportamental, que se movimenta para fugir de uma situação inescapável, desenvolvendo após os primeiros minutos uma postura imóvel que pode ser revertida pela administração de antidepressivos. Este teste está entre os mais utilizados para seleção de novos fármacos antidepressivos, de fácil uso e de boa reprodutibilidade (Cryan et al., 2002; Cryan & Slattery, 2007). Outros testes são utilizados como modelos animais de depressão, que além da validade preditiva, possuem validade de face e/ou constructo, entre eles está o modelo baseado na indução do estresse, o qual foi reproduzido por Gamaro et al. (2003), e posteriormente adaptado por outros autores (Garcia et al., 2009a; Fortunato et al., 2010). Este modelo consiste em gerar um comportamento anedônico em ratos, após um período de 40 dias com aplicação de estressores diversos e moderados, como privação de água, privação de comida, isolamento, exposição à luz estroboscópica. E demonstrou-se que os animais submetidos ao protocolo de estresse desenvolveram comportamento anedônico, diminuindo o consumo de sacarose, e, além disso, apresentaram alterações fisiológicas, como diminuição no peso, aumento na glândula adrenal e nos níveis do hormônio adrenocorticotrófico e cortisol, e ainda, esses efeitos puderam ser revertidas após administração de fármacos antidepressivos (Garcia et al., 2009; Fortunato et al., 2010).

2 OBJETIVOS

Etapa I

2.1 Objetivo Geral

Avaliar alterações comportamentais e neuroquímicas após administração aguda e crônica de lamotrigina como antidepressivo.

2.2 Objetivos Específicos

- a.** Avaliar os efeitos antidepressivos da administração aguda e crônica da lamotrigina em ratos Wistar através do modelo animal do nado forçado;
- b.** Avaliar os efeitos da administração aguda e crônica da lamotrigina na atividade das enzimas creatina quinase e citrato sintase (total e fração citosólica e mitocondrial) em tecido cerebral em ratos Wistar;
- c.** Avaliar os efeitos da administração aguda e crônica de lamotrigina na atividade dos complexos enzimáticos da cadeia respiratória mitocondrial (I, II, II-III e IV) em tecido cerebral em ratos Wistar;
- d.** Avaliar os efeitos da administração aguda e crônica da lamotrigina no nível do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e nível de fator de crescimento do cérebro (NGF) em tecido cerebral de ratos Wistar.
- e.** Avaliar os efeitos da administração aguda e crônica da lamotrigina nos níveis de Bcl-2, GSK-3 e AKT em tecido cerebral de ratos Wistar.

Etapa II

2.3 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos comportamentais e neuroquímicos após administração crônica de lamotrigina em ratos submetidos ao modelo animal de privação materna.

2.4 Objetivos específicos

- a. Avaliar os efeitos antidepressivos da administração crônica da lamotrigina em ratos Wistar através do modelo animal do nado forçado;
- b. Avaliar os efeitos da administração crônica da lamotrigina no nível do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e no nível do fator de crescimento do cérebro (NGF) em tecido cerebral de ratos Wistar submetidos à privação materna

Etapa III

2.5 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos comportamentais e neuroquímicos da administração crônica de lamotrigina em ratos submetidos ao protocolo de estresse crônico moderado.

2.6 Objetivos específicos

- a.** Avaliar os efeitos antidepressivos da administração crônica da lamotrigina em ratos Wistar através do modelo animal do nado forçado;
- b.** Avaliar os efeitos antidepressivos da administração crônica de lamotrigina após a indução do protocolo de ECM em ratos Wistar através do consumo de sacarose.
- c.** Avaliar os efeitos da administração crônica da lamotrigina no nível do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e no nível do fator de crescimento do cérebro (NGF) em tecido cerebral de ratos Wistar submetidos ao ECM.
- d.** Avaliar os efeitos da administração crônica de lamotrigina na expressão das enzimas CAT e SOD em tecido cerebral de ratos Wistar submetidos ao protocolo de EMC.
- e.** Avaliar os efeitos da administração crônica de lamotrigina em dano em lipídeos e em dano em proteínas em tecidos de ratos submetidos ao protocolo de ECM.

PARTE III

6 DISCUSSÃO

Este estudo mostrou que o tratamento agudo e crônico com lamotrigina (10 mg/kg e 20 mg/kg) e imipramina (30 mg/kg) reduziu o tempo de imobilidade no teste do nado forçado. Animais submetidos ao protocolo de privação materna tiveram um aumento no tempo de imobilidade e este efeito foi revertido com lamotrigina. No protocolo de ECM foi mostrado comportamento anedônico em animais tratados com salina, efeito que foi revertido após tratamento com lamotrigina. A atividade motora dos animais não foi alterada em ambos os protocolos.

Os efeitos comportamentais induzidos pela imipramina em ratos relatados no presente estudo estão de acordo com dados da literatura, que suportam uma ação antidepressiva da imipramina em estudos básicos e clínicos. De fato, estudos prévios do nosso laboratório mostraram que administração aguda de imipramina (10 e 20 mg / kg) e crônica (10, 20 e 30 mg / kg) diminuiu o tempo de imobilidade em ratos no teste de natação forçada, sem modificar a atividade locomotora (Garcia et al, 2008a; 2008b). Consistente também com este estudo, Consoni et al. (2006) mostraram que a lamotrigina (10 mg/kg) diminuiu a imobilidade e aumentou pontuações de escalada, em um padrão semelhante ao da nortriptilina. Além disso, a lamotrigina não alterou a locomoção no teste de campo aberto, nem mostrou habituação prejudicada. Kaster et al. (2007) também mostraram que a lamotrigina (20 e 30 mg / kg) diminuiu o tempo de imobilidade no teste de natação forçada. Além disso, Mikulecká et al. (2004) mostraram que a administração da lamotrigina (10 e /ou 20 mg/kg durante seis dias consecutivos) também não alterou as habilidades motoras no campo aberto.

Os mecanismos moleculares responsáveis pela ação antidepressiva da lamotrigina ainda não são totalmente compreendidos. No entanto, as evidências sugerem que diversas vias

intracelulares e cascatas de transdução de sinal estejam envolvidas na fisiopatologia e tratamento da depressão (Coyle e Duman, 2003; Duman, 1998; Vayda et al, 2007). Muitos fármacos antidepressivos, agudamente, aumentam os níveis de monoaminas, porém na maioria das vezes o tratamento crônico é requerido para um efeito terapêutico, o que leva a hipótese de que alterações moleculares e/ou genéticas estejam envolvidas com tais efeitos (Duman, 1994).

Os presentes achados mostraram que os tratamentos agudo e crônico com lamotrigina aumentaram os níveis de BDNF no córtex pré-frontal. Concomitante com este resultado, Li et al. (2010) mostraram que o tratamento crônico com lamotrigina (30mg/kg) aumentou a expressão da proteína BDNF no córtex pré-frontal, mas ao contrário deste resultado a expressão da proteína BDNF foi aumentada no hipocampo. Não se pode explicar por que estas discrepâncias ocorrem, contudo, podem estar relacionados à dose utilizada. Além disso, um estudo realizado por nosso grupo mostrou que a administração aguda de cetamina na dose mais elevada de 15 mg/kg, mas não em doses menores, aumentou os níveis de BDNF no hipocampo de ratos (Garcia et al., 2008a).

Este estudo também mostrou que o tratamento com lamotrigina em ratos submetidos à privação materna reverteu à diminuição dos níveis de BDNF apenas na amígdala. Por outro lado, outro estudo mostrou uma diminuição na expressão de BDNF e seu receptor, tirosina quinase B na amígdala após a privação materna (Petrovich et al., 2005). Em um estudo anterior (Réus et al. 2011a) mostrou que a privação materna não alterou os níveis de BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal, mas diminuiu seus níveis na amígdala. A amígdala, que está envolvida no medo e na ansiedade, desempenha um papel no comportamento alimentar e no processamento de recompensas (Levi-Montalcini, 1987; Paton et al, 2006). Assim, é possível que o comportamento alterado possa estar relacionado a alterações de BDNF na amígdala.

Além disso, no protocolo de estresse crônico moderado os presentes resultados mostraram que os níveis de BDNF estavam aumentados no hipocampo de animais estressados tratados com salina. Estudos anteriores do nosso grupo também mostraram que a exposição de ratos ao paradigma ECM não alteraram os níveis de BDNF no hipocampo (Garcia et al, 2009; Lucca et al, 2009a). Gronli et al. (2006) demonstraram que ratos expostos por cinco semanas a estressores tiveram uma expressão reduzida e inibida do BDNF no giro denteado, enquanto nenhum efeito significativo foi observado no hipocampo. Assim, sugerindo que as alterações nos níveis de BDNF podem ocorrer após situações estressantes em algumas áreas específicas do hipocampo, mas não em toda estrutura. Um estudo anterior mostrou que os níveis de BDNF foram aumentados no hipocampo de ratos tratados com salina no protocolo ECM em comparação com os ratos não-estressado tratados com salina, mas diferentemente do estudo atual, mostrou que a harmina reverteu o aumento dos níveis de BDNF em ratos tratados com salina ECM (Fortunato et al., 2010). A razão para a discrepância nestes achados ainda não é clara, mas pode estar relacionada com o período de tempo após o estresse em que o BDNF foi avaliado. Ou ainda, pode ter ocorrido uma dessensibilização para os efeitos do estresse repetido ou ainda por um mecanismo de adaptação.

O NGF foi o primeiro fator trófico a ser descoberto como um alvo para regular a sobrevivência e maturação dos neurônios (Cirulli et al., 1998). O presente trabalho mostrou que o tratamento crônico, mas não agudo, com lamotrigina (10 mg/kg e 20 mg/kg) aumentou os níveis de NGF no córtex pré-frontal. Outro resultado mostrou que em ratos, o tratamento com lítio, um estabilizador do humor, em diversas doses aumentou os níveis de NGF no hipocampo, amígdala, córtex frontal e sistema límbico do cérebro anterior, enquanto os níveis de NGF no estriado, mesencéfalo, hipotálamo manteve-se inalterado (Hellweg et al., 2002). Este estudo também mostrou que a imipramina não alterou os níveis de BDNF e NGF, sugerindo que os efeitos antidepressivos da lamotrigina podem estar relacionados, pelo menos

em parte, por sua ação sobre as neurotrofinas, que não foi observado com o antidepressivo clássico, imipramina.

Nos animais submetidos à privação materna, este estudo mostrou uma diminuição dos níveis de NGF no hipocampo em animais privados, mas não tratados. Já nos animais que foram induzidos ao protocolo de EMC os níveis de NGF não tiveram diferença significativa em nenhuma das estruturas. Contrariamente a estas conclusões, outros estudos tem mostrado um aumento na expressão de NGF no hipocampo, no córtex cerebral e no hipotálamo em um modelo animal de depressão (Cirulli et al, 1998; Cirulli et al, 2000). Além disso, a privação materna precoce aumentou os níveis de NGF no hipocampo dorsal e ventral (Faure et al., 2006), sugerindo que sua elevação reflete um mecanismo compensatório.

Curiosamente, o tratamento com lamotrigina não reverteu os níveis de NGF no hipocampo em ratos privados. Além disso, outro estudo mostrou que a administração crônica do antidepressivo escitalopram diminuiu os níveis de NGF no córtex de ratos cronicamente estressados sob as mesmas condições dos controles não tratados (Schulte-Herbrüggen et al., 2009). Além disso, este estudo não mostrou efeito significativo no córtex pré-frontal em ratos privados tratados com solução salina, todavia mostrou uma tendência a diminuir os níveis de NGF na amígdala no mesmo grupo, como já demonstrado em estudo anterior (Réus et al. 2011a) que a privação materna reduz os níveis de NGF na amígdala sem alterar significativamente no córtex pré-frontal de ratos.

Há forte evidência sugerindo que a disfunção no metabolismo energético cerebral está relacionada aos transtornos neuropsiquiátricos, como depressão e transtorno bipolar (Kato e Kato, 2000; Albert et al, 2002; Konradi, 2004). Os resultados do presente trabalho mostraram que a imipramina (30 mg/kg) aumentou a atividade da citrato sintase na amígdala após tratamento agudo, mas não o crônico. De fato, um estudo anterior já demonstrou que a administração aguda, mas não crônica com o antipsicótico olanzapina e o antidepressivo

fluoxetina aumentaram a atividade da citrato sintase em áreas cerebrais (Agostinho et al., 2011).

Considerando ainda que a deficiência do metabolismo energético esteja provavelmente envolvida na fisiopatologia dos transtornos depressivos, um aumento na atividade da creatina quinase por antidepressivos pode ser um importante mecanismo de ação desses fármacos (Assis et al., 2009; Santos et al., 2009). No presente trabalho mostrou-se que a atividade da CK foi aumentada na amígdala após a administração de imipramina (30 mg/kg) no tratamento agudo e no hipocampo após a administração de imipramina (30 mg/kg) e lamotrigina (10 mg/kg) no tratamento crônico. Outro estudo mostrou que a atividade da CK foi aumentada após a administração crônica com o antidepressivo paroxetina (Santos et al., 2009). Assis et al. (2009) também relataram que a administração aguda de cetamina e imipramina aumentou a atividade da CK no cérebro de ratos. Por outro lado, a administração crônica de nortriptilina e venlafaxina não afetou a atividade da CK no cérebro de ratos (Santos et al., 2009). Estudos relatam comprometimento cerebral no metabolismo energético em um modelo animal de mania induzido por anfetamina. Tem sido demonstrado que a administração de anfetamina inibi a citrato sintase (Corrêa et. al., 2007) e a CK (Streck et al., 2008) no cérebro de ratos. Assim, é possível que a diminuição do metabolismo energético no cérebro esteja envolvida na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos (Madrigal et al, 2001; Fattal et al, 2006).

No presente estudo demonstramos que tanto o tratamento agudo quanto o crônico com imipramina ou lamotrigina alterou os complexos da cadeia respiratória no cérebro de ratos. No entanto estas alterações foram diferentes com relação aos protocolos (agudo ou crônico), aos complexos e as áreas cerebrais. Além disso, foi mostrado que os complexos da cadeia respiratória mitocondrial I, III e IV foram inibidos após o ECM no córtex cerebral e cerebelo, e por outro lado, a administração aguda de cetamina reverteu esta inibição (Rezin et al., 2009). Madrigal et al. (2001) também relataram que os complexos I-III e II-III da cadeia respiratória mitocondrial foram inibidos no cérebro de ratos após estresse crônico

(imobilização por seis horas durante 21 dias). Além disso, Ben-Shachar e Karry (2008) demonstraram reduções nas subunidades do complexo I, NDUFV1, NDUFV2 e NADUFS1, no cerebelo *post-mortem* de pacientes com depressão. Em um estudo *in vitro*, Fisar e Hroudova (2010), utilizando cérebro de porco, demonstraram que a atividade dos complexos I, II e IV estava diminuída com a utilização de antidepressivos e estabilizadores de humor. Os autores sugerem que os antidepressivos geralmente atuam como inibidores da cadeia de transporte de elétrons. Complementando os achados anteriores, o presente estudo mostrou um efeito inibitório na atividade do complexo I, mas ao contrário deste, a lamotrigina (10 mg/kg e 20 mg/kg) e imipramina (30 mg/kg) aumentaram a atividade dos complexos II, II-III e IV, sugerindo que o aumento nos complexos II, II-III e IV pode estar relacionado, pelo menos em parte para compensar a diminuição da atividade do complexo I. Tais efeitos da lamotrigina e imipramina sobre a cadeia respiratória mitocondrial poderiam ser positivos, levando em consideração que há um prejuízo no metabolismo energético relacionado à depressão (Madrigal et al., 2001; Ben-Shachar e Karry, 2008; Rezin et al, 2009).

Um equilíbrio entre a morte celular e proliferação celular deve ser mantida para garantir a saúde de cada ser humano. Dados recentes indicam que aproximadamente metade de todas as principais doenças humanas é uma consequência de apoptose anormal (Reed, 2002). Neurodegeneração mediada por apoptose pode ser iniciada por translocação da Bax do citosol para a mitocôndria, onde ela afeta a permeabilidade da membrana e permite liberação do citocromo c e ativação subsequente de caspases (Yang et al, 1995; Ghribi et al, 2001). Um prejuízo nas cascatas que levam a apoptose pode causar doenças auto-imunes e degenerativas, bem como doenças cardíacas, enquanto a resistência à apoptose pode promover o câncer e impedir a eficácia terapêutica deste. A Bcl-2 e GSK-3 que são componentes de regulação da morte celular são intensamente estudadas por razão dos efeitos bioquímicos conhecidos dos antidepressivos e estabilizadores de humor em relação ao papel que estes fármacos

supostamente exercem sobre a sobrevivência celular, plasticidade e metabolismo dos neurônios durante as doenças mentais e degenerativas (Jope e Roh, 2006).

Neste estudo foi demonstrado que a imipramina (30 mg/kg) e a lamotrigina (10 mg/kg e 20 mg/kg) diminuíram os níveis de Bcl-2 no córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo nos tratamentos agudo e crônico. Outro estudo demonstrou que animais tratados por quatorze dias com imipramina e amitriptilina significativamente aumentaram a expressão da proteína Bcl-2 no hipocampo, em comparação com animais tratados com veículo (Murray e Hutson, 2007), sugerindo que a sua elevação reflete um mecanismo compensatório.

A GSK-3 (β isoforma) é um importante regulador da plasticidade sináptica, e da apoptose celular (Bijur, 2003). Tem sido sugerido que a GSK-3 regula o comportamento, afetando β -catenina, receptores de glutamato, os ritmos circadianos, e a neurotransmissão serotoninérgica (Beaulieu et al., 2008). Todos esses aspectos tem sido implicados na fisiopatologia de transtornos do humor grave. No presente estudo foi demonstrada uma diminuição no córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo com imipramina (30 mg/kg) e lamotrigina (10 mg/kg e 20 mg/kg) nos tratamentos agudo e crônico. Outro estudo mostrou que o lítio induz efeitos neurotróficos e neuroprotetores em roedores, em parte devido à inibição da GSK-3 β (Gould e Manji, 2005). Li et al. (2004) também mostraram que o tratamento com inibidores da recaptação de monoaminas, como a fluoxetina e a imipramina também aumentaram os níveis de GSK-3. Em geral, o aumento da atividade de GSK-3 leva a morte celular, com isso inibindo GSK-3 impede a apoptose. Assim, sugerimos que no presente estudo os efeitos da lamotrigina e imipramina foram antiapoptóticos, já que ambos inibiram GSK-3.

Evidências sugerem que uma diminuição na sinalização da AKT e/ou da sinalização ERK contribui para a patogênese da esquizofrenia, transtorno bipolar e depressão maior, e estudos farmacológicos indicam que antipsicóticos ativam essas vias de sinalização

in vivo ou *in vitro* (Lu et al, 2004; Zhang et al, 2005; Beaulieu et al, 2006; Arguello e Gogos, 2008).

Relatórios anteriores demonstraram que a AKT não só está envolvida no crescimento celular, mas também no metabolismo e captação da glicose (Hajdich et al, 2001; Lawlor e Alessi, 2001). AKT mostrou ser um importante mediador do processo de transdução de sinal e mediação de muitos dos sinais de sobrevivência (Brunet et al., 2001). O presente estudo mostrou um aumento nos níveis de AKT no tratamento agudo no córtex pré-frontal com imipramina (30 mg/kg) e na amígdala e hipocampo com a lamotrigina (20 mg/kg), e no tratamento crônico houve um aumento nos níveis de AKT no córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo com todas as doses. Por outro lado, este estudo também mostrou uma diminuição nos níveis de AKT na amígdala com imipramina (30 mg/kg), e no hipocampo com a lamotrigina (10 mg/kg) no tratamento agudo. Aubry et al. (2009) mostraram que o lítio, valproato, olanzapina e clozapina podem melhorar a proliferação e proteger as células contra lesões induzidas. Estes fármacos também ativam AKT-1 e a fosforilação de GSK-3 β (Aubry et al., 2009). Outro estudo mostrou que a sertralina inibiu a fosforilação da AKT e causou a morte celular (Reed, 2002). A lamotrigina tem uma potente atividade dependente de canais iônicos (ou seja, Na⁺ e Ca⁺) o que poderia ter uma ação indireta sobre a transdução de sinal intracelular (Xie e Hagan, 1998). Consistente com os presentes achados, a lamotrigina teve uma ação indireta sobre os níveis de AKT.

O cérebro é particularmente vulnerável a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), pois metaboliza 20% do oxigênio total do corpo e tem uma quantidade limitada de capacidade antioxidante (Floyd, 1999). Os radicais livres são produtos normais do metabolismo aeróbico celular. No entanto, quando aumenta a produção de radicais livres ou o mecanismo de defesa do organismo diminui, causa uma disfunção celular, levando a uma peroxidação lipídica. O aumento nos níveis de malonaldeído (MDA) é um marcador de peroxidação lipídica (Gupta et al., 2003). Este trabalho mostrou que ratos não estressados

tratados com lamotrigina e os animais estressados tratados com salina e lamotrigina aumentaram os níveis de MDA no córtex pré-frontal, e a lamotrigina sozinha produziu danos na amígdala. Contrariamente com estes achados, um estudo anterior mostrou que o tratamento agudo e crônico com imipramina e harmina reduziram a peroxidação lipídica no córtex pré-frontal e no hipocampo, em comparação ao grupo controle (Réus et al., 2010). Argawal et al. (2011) mostrou que a administração de lamotrigina e oxcarbazepina não mostrou nenhuma mudança nos níveis de MDA, mas em contraste a administração de topiramato obteve um aumento significativo nos níveis de MDA, indicando que o topiramato induz estresse oxidativo. Esse resultado pode ser explicado pela ação aditiva da lamotrigina na inibição da excitotoxicidade mediada pelo glutamato, o que levaria a produção de menores quantidades de radicais livres (Gupta e Malhotra, 2000).

Além disso, o presente estudo mostrou que ratos estressados tratados com salina aumentaram a carbonilação de proteína no córtex pré-frontal e na amígdala, porém, a lamotrigina reverteu este efeito apenas no córtex pré-frontal. Consistente com estes achados, um estudo anterior mostrou que o estresse crônico moderado aumentou a peroxidação de proteína no hipocampo, córtex pré-frontal, estriado e córtex total (Lucca et al., 2009b). Além disso, tratamentos agudo e crônico com imipramina e harmina reduziram a peroxidação de proteínas no córtex pré-frontal e hipocampo (Réus, et al., 2010a). Este é o primeiro estudo que mostrou os efeitos da lamotrigina na peroxidação de proteínas, sugerindo que estes efeitos podem ser positivos no cérebro de ratos, mas somente em algumas áreas.

Recentemente, um estudo demonstrou que em pacientes com depressão maior, especialmente com a melancolia associada, foi demonstrado níveis elevados na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase no plasma. Corroborando, outra pesquisa demonstrou que ratos submetidos ao ECM tiveram um aumento na atividade da catalase (CAT) e uma diminuição na atividade da superóxido dismutase (SOD) no cérebro de ratos (Lucca et al., 2009a, b). Este estudo mostrou que a atividade das enzimas SOD e CAT

foram reduzidas no córtex pré-frontal e no hipocampo. Na amígdala o tratamento com lamotrigina aumentou a atividade da CAT e da SOD, comparado ao grupo estresse. Contrariando estes achados, um estudo anterior mostrou que os tratamentos agudo e crônico com imipramina e hamina aumentaram a atividade das enzimas SOD e da CAT no córtex pré-frontal e no hipocampo (Réus, et al., 2010). Argawal et al. (2011) e Arora et al. (2009) também mostraram que a lamotrigina não produziu alterações na atividade das enzimas SOD e da CAT. Os resultados do presente estudo podem estar relacionados com o tempo de administração da droga e, em parte, pelo menos, com algumas áreas cerebrais.

Os efeitos da lamotrigina em ratos submetidos ao modelo animal de estresse no presente estudo foram, em parte, neuroprotetores sobre os parâmetros de estresse oxidativo, como por exemplo, a lamotrigina conseguiu diminuir a carbonilação de proteínas no córtex pré-frontal e aumentou atividade das enzimas antioxidantes, SOD e CAT na amígdala de ratos estressados.

A ação anticonvulsivante da lamotrigina é devido ao fato de sua capacidade em reduzir a excitabilidade neuronal através da inibição do canal de sódio voltagem dependente no estado inativado, impedindo seu retorno ao estado de repouso e, conseqüentemente, diminuindo o número de potenciais de ação. Este efeito nos canais de sódio resulta em uma diminuição na liberação de glutamato (Leach, 1986; Waldemeier et al, 1996). De fato, estudos eletrofisiológicos na amígdala (Wang, 2002) e no estriado (Calabrese et al., 1999) mostraram que a lamotrigina reduziu o potencial excitatório pós-sináptico mediado pelo glutamato, um efeito revertido quando o glutamato exógeno foi aplicado, resultados consistentes com a proposta de que a lamotrigina teve uma ação inibitória sobre a liberação de glutamato. A ação antiglutamatérgica da lamotrigina pode contribuir para seu efeito antidepressivo (Ketter e Wang, 2003), uma vez que o glutamato tem sido associado à depressão (Tokita et al., 2011), e que os antagonistas dos receptores de glutamato como N-metil-aspartato (NMDA) mostraram efeitos antidepressivos semelhantes em modelos animais de depressão (Réus et al., 2010; 2011b). Antagonistas dos receptores NMDA, como a cetamina e memantina apresentaram

efeitos antidepressivos semelhantes em ratos e aumentaram os níveis de BDNF (Garcia et al, 2008a; Réus et al, 2010; 2011a) e a cetamina alterou o metabolismo energético cerebral em ratos (Rezin et al., 2009; Assis et al., 2009).

Os resultados do presente estudo permitem concluir que a lamotrigina apresentou efeitos antidepressivos em modelos animais de depressão e foi capaz de alterar os níveis de BDNF e NGF, a atividade dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial e da CK e das proteínas Bcl-2, GSK-3 e AKT e em parâmetros relacionados ao estresse oxidativo. É importante enfatizar que todas estas alterações estão envolvidas na depressão.

Em conclusão, nossos resultados sugerem que a lamotrigina está envolvida em vias relacionadas à depressão. No entanto, mais estudos são necessários para entender os mecanismos exatos pelos quais a lamotrigina exerce tais efeitos antidepressivos.

7 REFERÊNCIAS

- AGARWAL NB; AGARWAL NK; MEDIRATTA PK; SHARMA KK. Effect of lamotrigine, oxcarbazepine and topiramate on cognitive functions and oxidative stress in PTZ-kindled mice. **Seizure** 20:257-262. 2011.
- AGOSTINHO FR; SCAINI G; FERREIRA GK; JEREMIAS IC; RÉUS GZ; REZIN GT; CASTRO AA; ZUGNO AL; QUEVEDO J; STRECK, EL. Effects of olanzapine, fluoxetine and olanzapine/fluoxetine on creatine kinase activity in rat brain. **Brain Research Bulletin** 80: 337–340. 2009.
- ALLEVA E; SANTUCCI D. Psychosocial vs. “physical” stress situations in rodents and humans: role of neurotrophins. **Physiology Behavior** 73: 313–320. 2001.
- ALOE L; ALLEVA E; FIORE M. Stress and nerve growth factor: findings in animal models and humans. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 73: 159–166. 2002.
- ALBERT KA; HEMMINGS HC JR; ADAMO AI; POTKIN SG; AKBARIAN S; SANDMAN CA; COTMAN CW; BUNNEY WE JR; GREENGARD P. Evidence for decreased DARPP-32 in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. **Archives of General Psychiatry** 59:705–712.2002.
- ANAND A; CHARNEY DS; OREN DA; BERMAN RM; ET AL. Attenuation of the neuropsychiatric effects of ketamine with lamotrigine : support for hyperglutamatergic effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. **Archives of General Psychiatry** 57: 270–276. 2000.

ANDERSON IM. Selective serotonin reuptake inhibitors versus tricyclic antidepressants: a attenuates the effects of antidepressants on the forced swim test in rats. **Brain Research** 709: 215-220. 1996.

ARGUELLO PA; GOGOS JA. A signaling pathway AKTing up in schizophrenia. **The Journal of Clinical Investigation** 118:2018–2021. 2008.

ARORA T; MEHTA AK; SHARMA KK; MEDIRATTA PK; BANERJEE BD; GARG GR; SHARMA AK. Effect of carbamazepine and lamotrigine on cognitive function and oxidative stress in brain during chemical epileptogenesis in rats. **Basical & Clinical Pharmacology & Toxicology** 106:372-377. 2010.

ASSIS LC; REZIN GT; COMIM CM; VALVASSORI SS; JEREMIAS IC; ZUGNO AI; QUEVEDO J; STRECK EL. Effect of acute administration of ketamine and imipramine on Creatine kinase activity in the brain of rats. **Revista Brasileira de Psiquiatria** 31: 247-252. 2009.

AUBRY JM; SCHWALD M; BALLMANN E; KAREGE F. Early effects of mood stabilizers on the Akt/GSK-3beta signaling pathway and on cell survival and proliferation. **Psychopharmacology** 3: 419-429. 2009.

BEAULIEU JM; SOTNIKOVA TD; GAINETDINOV RR; CARON MG. Paradoxical striatal cellular signaling responses to psychostimulants in hyperactive mice. **The Journal of Biological Chemistry** 281:32072–32080. 2006.

BEAULIEU JM; ZHANG X; RODRIGUIZ RM; SOTNIKOVA TD; COOLS MJ; WETSEL W C; GAINETDINOV RR; CARON MG. Role of GSK3 beta in behavioral abnormalities induced by serotonin deficiency. **Proceedings of the National Academic of Sciences USA** 105: 1333–1338. 2008.

BELMAKER RH; AGAM G. Major depressive disorder. **The New England Journal of Medicine** 358: 55–68. 2008.

BEN-SHACHAR D; KARRY R. Neuroanatomical pattern of mitochondrial complex I pathology varies between schizophrenia, bipolar disorder and major depression. **PLoS One** 3: 3676. 2008.

BERTON O; NESTLER EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Nature Review Neuroscience** 7: 137-151. 2006.

BESSMAN SP; CARPENTER CL. The creatine–creatine phosphate energy shuttle. **Annual Review of Biochemistry** 54: 831–862. 1985.

BIANCHI MLP; ANTUNES LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutricao** 12:123-30. 1999.

BIJUR GN; JOPE RS. Glycogen synthase kinase-3 beta is highly activated in nuclei and mitochondria. **Neuroreport**. 14:2415-2419. 2003.

BILICI M; EFE H; KOROGLU MA; UYDU HA; BEKAROGLU M; DEGER O. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. **Journal of Affective Disorders** 64:43-51. 2001.

BOEKEMA EJ; BRAUN HP. Supramolecular structure of the mitochondrial oxidative phosphorylation system. **Journal of Biological Chemistry** 282, 1–4. 2007.

BOWDEN CL. Lamotrigine in the treatment of bipolar disorder. **Expert Opinion on Pharmacotherapy** 3:1513-1519.2002.

BURMEISTER M. Basic concepts in the study of diseases with complex genetics. **Biological Psychiatry** 45: 522–532. 1999.

BLASS JP. Brain metabolism and brain disease: is metabolic deficiency the proximate cause of Alzheimer dementia? **Journal of Neuroscience Research** 66: 851–856. 2001.

BREMNER JD; RANDALL P; SCOTT TM; BRONEN RA; SEIBYL JP; SOUTHWICK SM; ET AL. MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. **The American Journal of Psychiatry** 152:973–981. 1995.

BREMNER JD; NARAYAN M; ANDERSON ER; STAIB LH; MILLER HL; CHARNEY DS. Hippocampal volume reductions in major depression. **American Journal of Psychiatry** 157: 115–117. 2000.

BRILEY M; MORET C. Present and future anxiolytics. **IDrugs** 3: 695–699. 2000.

BRUNET A; DATTA SR; GREENBERG M. Transcription-dependent and – independent control of neuronal survival by the PI3K-Akt signaling pathway. **Current Opinion in Neurobiology** 11: 297–305. 2001

CAGGIULA M. Neurotrophic factors and clinical recovery in relapsing-remitting multiple sclerosis. **Scandinavian journal of immunology** 62: 76-82. 2005.

CALABRESE, JR.; BOWDEN, CL.; SACHS, GS.; ASCHER, JA.; MONAGHAN, E.; RUDD, GD. A double-blind placebo-controlled study of lamotrigine monotherapy in outpatients with bipolar I depression. Lamictal 602 study Group. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 60, p. 79-88, 1999.

CALABRESE JR; SUPPES T; BOWDEN CL; ET AL. A double-blind, placebo-controlled, prophylaxis study of lamotrigine in rapid cycling bipolar disorder. **Journal Clinical of Psychiatry** 61: 841-850. 2000.

CALABRESE JR; BOWDEN CL; FIEVE R; ET AL. Lamotrigine or lithium in the maintenance treatment of bipolar I disorder. **European Neuropsychopharmacology** 3: 217. 2002.

CALABRESE JR; BOWDEN CL; SACHS G; ET AL. A placebo-controlled 18-month trial of lamotrigine and lithium maintenance treatment in recently depressed patients with bipolar I disorder. **Journal of Clinical Psychiatry** 2003. In press

CIRULLI F, MICERA A, ALLEVA E, ALOE L. Early maternal separation increases NGF expression in the developing rat hippocampus. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 59:853–858. 1998.

CIRULLI F, ALLEVA E, ANTONELLI A, ALOE L. NGF expression in the developing rat brain effects of maternal separation. **Development Brain Research** 123:129–134. 2000.

CONSONI FT; VITAL MA; ANDREATINI R. Dual monoamine modulation for the antidepressant-like effect of lamotrigine in the modified forced swimming test. *European Neuropsychopharmacology* 16: 451-458. 2006.

COYLE JT.; DUMAN, RS. Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. **Neuron** 38: 157-160. 2003.

CUNNINGHAM MO; JONES RS. The anticonvulsant, lamotrigine decreases spontaneous glutamate release but increases spontaneous GABA release in the rat entorhinal cortex in vitro. **Neuropharmacology** 39: 2139–2146. 2000.

CRYAN JF; MARKOU A; LUCKI I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacological Science** 23: 238-245. 2002.

CRYAN JF; SLATTERY DA. Animal models of mood disorders: recent developments. **Current Opinion in Psychiatry** 20: 1-7. 2007.

DSM-IV - **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**. Porto Alegre, Artes Medicas, 1994.

D'SA C; DUMAN RS. Antidepressants and neuroplasticity. **Bipolar Disorders** 4:183–94.2002.

DU J; GOULD TD; MANJI HK. Neurotrophic signaling in mood disorders. In Signal transduction and human disease. **Edited by Gutkind JS. John Wiley & Sons, Inc.** 352: 411-446. 2003.

DUMAN RS; HENINGER GR; NESTLER EJ. Molecular psychiatry. Adaptations of receptor-coupled signal transduction pathways underlying stress- and drug-induced neural plasticity. **The Journal of Nervous and Mental Disease** 182:692-700. 1994.

DUMAN RS. Novel therapeutic approaches beyond the serotonin receptor. **Biological Psychiatry**. 1998; 44:324-335.

DUMAN RS; MALBERG J; THOME J. Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. **Biological Psychiatry** 46:1181– 1191. 1999.

DUMAN RS.; MALBERG, J.; NAKAGAWA S. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. **Biological Psychiatry** 2000; 48: 732-739.

DUMAN RS.; MONTEGGIA LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biological Psychiatry** 2006; 59: 1116-1127.

DUNN RT; KIMBRELL TA; KETTER TA; FRYE MA; WILLIS MW; LUCKENBAUGH DA; POST RM. Principal components of the Beck Depression Inventory and regional cerebral metabolism in unipolar and bipolar depression. **Biological Psychiatry** 51: 387–399. 2002.

DREVETS WC; PRICE JL; SIMPSON JR; TODD RD; REICH T; VANNIER M; RAICHLE ME. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. **Nature** 386:824–827.1997.

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

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

FARBER NB; JIANG XP; HEINKEL C; NEMMERS B. Antiepileptic drugs and agents that inhibit voltage-gated sodium channels prevent NMDA antagonist neurotoxicity. **Molecular Psychiatry** 7: 726–733.2002.

FATTAL O; BUDUR K; VAUGHAN AJ; FRANCO K. Review of the literature on major mental disorders in adult patients with mitochondrial diseases. **Psychosomatics** 47: 1–7.2006.

FAURE J; UYS JD; MARAIS L; STEIN DJ; DANIELS WM. Early maternal separation followed by later stressors leads to dysregulation of the HPA-axis and increases in hippocampal NGF and NT-3 levels in a rat model. **Metabolic Brain Disease** 21:181-188.2006.

FERREIRA ALA; MATSUBARA LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista de Associação Médica Brasileira** 47:61-8. 1997.

FISAR Z; HROUDOVA J. Activities of respiratory chain complexes and citrate synthase influenced by pharmacologically different antidepressants and mood stabilizers. **Neuro Endocrinology Letters** 31: 336-342. 2010.

FORTUNATO JJ; RÉUS GZ; KIRSCH TR; STRINGARI RB; FRIES GR; KAPCZINSKI F; HALLAK JE; ZUARDI AW; CRIPPA JA; QUEVEDO J. Effects of Beta-carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties, **Brain Research Bulletin** 81: 491–496. 2010.

FLOYD RA. Antioxidants, oxidative stress and degenerative neurological disorders. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine** 222:236-245. 1999.

FRANCIS PT; POYNTON A; LOWE SL; NAJLERAHIM A; BRIDGES PK; BARTLETT JR; PROCTER AW; BRUTON CJ; BOWEN DM. Brain amino acid concentrations and Ca²⁺ dependent release in intractable depression assessed antemortem. **Brain Research** 494: 315–324. 1989.

FRYE MA; KETTER TA; KIMBRELL TA; ET AL. A placebo-controlled study of lamotrigine and gabapentin monotherapy in refractory mood disorders. **Journal of Clinical Psychopharmacology** 6: 607-614. 2000.

GAMARO GD; STRECK EL; MATTE C; PREDIGER ME; WYSE ATS; DALMAZ C. Reduction of hippocampal Na⁺, K⁺ -ATPase activity in rats subjected to an experimental model of depression. **Neurochemical Research** 28:1339-1344. 2003.

GARCIA LS; COMIM CM; VALVASSORI SS; RÉUS GZ; BARBOSA LM; ANDREAZZA AC; STERTZ L; FRIES GR; GAVIOLI EC; KAPCZINSKI F; QUEVEDO J. Acute administration of ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases BDNF levels in the rat hippocampus. **Progress in Neuro-psychopharmacol & Biological Psychiatry** 32: 104-4. 2008a.

GARCIA LS; COMIM CL; VALVASSORI SS; RÉUS GZ; ANDREAZZA AC; STERTZ L; FRIES GR; GAVIOLI CG; KAPCZINSKI F; QUEVEDO J. Chronic Administration of Ketamine Elicits Antidepressant-Like Effects in Rats without Affecting Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor Protein Levels. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology** 103: 502-506. 2008b.

GARCIA LSB; COMIM CM; VALVASSORI SS REUS GZ; STERTZ L; KAPCZINSKI F; GAVIOLI EC; QUEVEDO J. Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry** 30: 450-455. 2009

GOA KL; ROSS SR; CHRISP P; ET AL. Lamotrigine: a review of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. **Drugs** 46: 152-76. 1993.

GONÇALVES AF; COELHO, R. Depressão e tratamento: Apoptose, Neuroplasticidade e Antidepressivos. **Acta Medica Portuguesa** 19; 9-20, 2006.

GOULD E; MCEWEN BS; TANAPAT P; GALEA LAM; FUCHS E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. **Journal of Neuroscience** 17:2492–2498. 1997.

GOULD TD; MANJI HH. Glycogen synthase kinase-3: a putative molecular target for lithium mimetic drugs. **Neuropsychopharmacology** 230: 1223–1237. 2005.

GUPTA YK; MALHOTRA J. Antiepileptic drug therapy in the twenty first century. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology** 44:8–23. 2000

GUPTA YK; KUMAR MHV; SRIVASTAVA AK. Effect of Centella asiatica on pentylentetrazole- induced kindling, cognition and oxidative stress in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 74:579–85. 2003.

GHRIBI O; HERMAN MM; FORBES MS; DEWITT DA; SAVORY J. GDNF protects against aluminum-induced apoptosis in rabbits by upregulating Bcl-2 and Bcl-xL and inhibiting mitochondrial Bax translocation. **Neurobiology Disease** 8: 764-773. 2001.

GRONLI J; BRAMHAM C; MURISON R; KANHEMA T; FISKE E; BIORVATN B; URSIN R; PORTAS CM. Chronic mild stress inhibits BDNF protein expression and CREB activation in the dentate gyrus but not in the hippocampus proper. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 85: 842–849. 2006.

HAJDUCH E; LITHERLAND GJ; HUNDAL HS. Protein kinase B (PKB/Akt) — a key regulator of glucose transport? **FEBS Letters** 492: 199–203.2001.

HALLIWELL B; WHITEMAN M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology* 142: 231-55.2004.

HANDA RJ; BURGESS LH; KERR JE; O'KEEFE JA. Gonadal steroid hormone receptors and sex differences in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. **Hormones and Behavior**. 28: 464-476. 1994.

HARRO J; TONISSAAR M; ELLER M; KASK A; ORELAND L. Chronic variable stress and partial 5-HT denervation by parachloroamphetamine treatment in the rat: effects on behavior and monoamine neurochemistry. **Brain Research** 899: 227–239. 2001.

HELLWEG R; LANG UE; NAGEL M; BAUMGARTNER A. Subchronic treatment with lithium increases nerve growth factor content in distinct brain regions of adult rats. **Molecular Psychiatry** 7:604-608. 2002.

HERMAN JP; CULLINAN WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamopituitary- adrenocortical axis. **Trends in Neurosciences** 20:78-84. 1997.

JOPE RS; ROH MS. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3) in psychiatric diseases and therapeutic interventions. **Current Drug Targets** 7, 1421-34.2006.

KALB R. The protean actions of neurotrophins and their receptors on the life and death of neurons. **Trends in Neurosciences** 28: 5-11. 2005.

KASTER MP; RAUPP I; BINFARÉ RW; ANDREATINI R; RODRIGUES AL. Antidepressant-like effect of lamotrigine in the mouse forced swimming test: evidence for the involvement of the noradrenergic system. **European Journal of Pharmacology** 565:119-124.2007.

KATO T; KATO N. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. **Bipolar Disorders** 2: 180–190. 2000.

KEMPERMANN G.; KRONENBERG G. Depressed new neurons? – Adult hippocampal neurogenesis and a cellular plasticity hypothesis of major depression (Neuroscience Perspectives). **Biological Psychiatry**. 2003; 54: 499-503.

KETTER TA.; WANG PW. The emerging differential roles of GABAergic and ant glutamatergic agents in bipolar disorders. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 64,n. 3, p. 15 20, 2003

KONRADI C; EATON M; MACDONALD ML; BENES FM; HECKERS S. Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. **Archives General of Psychiatry** 61: 300–308.2004.

LANGE C; IRLE E. Enlarged amygdala volume and reduced hippocampal volume in young women with major depression. **Psychological Medicine** 34: 1059–1064. 2004.

LARSEN MH; MIKKELSEN JD; HAY-SCHMIDT A; SANDI C. Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the chronic unpredictable stress rat model and the effects of chronic antidepressant treatment. **Journal Psychiatry Research** 44: 808-816. 2010.

LAWLOR M; ALESSI D. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses? **Journal of Cellular Science** 114: 2903–2910. 2001.

LEACH MJ, MARDEN CM, MILLER AA. Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug: II. Neurochemical studies on the mechanism of action. **Epilepsia** 27:490-497.1986.

LEACH MJ, BAXTER MG, CRITCHLEY MAE, ET AL. Neurochemical and behavioral aspects of lamotrigine. **Epilepsia** 32: 4-8. 1991.

LEVINE S. Primary social relationships influence the development of the hypothalamic-pituitaryadrenal axis in the rat. **Physiology and Behavior** 73: 255-260. 2001.

LEVI-MONTALCINI R. The nerve growth factor 35 years later. **Science** 237:1154-1162. 1987.

LI X; ZHU W; ROH MS; FRIEDMAN AB; ROSBOROUGH K; JOPE RS. In vivo regulation of glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) by serotonergic activity in mouse brain. **Neuropsychopharmacology** 29: 1426-1431.2004.

LI N; HE X; ZHANG Y; QI X; LI H; ZHU X; HE S. Brain-derived neurotrophic factor signaling mediates antidepressant effects of lamotrigine. **International Neuropsychopharmacology** 16:1-8.2010.

LU XH; BRADLEY RJ; DWYER DS. Olanzapine produces trophic effects in vitro and stimulates phosphorylation of Akt/PKB, ERK1/2, and the mitogen-activated protein kinase p38. **Brain Research** 1011:58–68.2004.

LUCCA G; COMIM CM; VALVASSORI SS; RÉUS GZ; VUOLO F; PETRONILHO F; GAVIOLI EC; DAL-PIZZOL F; QUEVEDO J. Increased oxidative stress in submitochondrial particles into the brain of rats submitted to the chronic mild stress paradigm. **Journal of Psychiatry Research** 43:864–869. (2009a).

LUCCA G; COMIM CM; VALVASSORI SS; RÉUS GZ; VUOLO F; PETRONILHO F; GAVIOLI EC; DAL-PIZZOL F; QUEVEDO J. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. **Neurochemistry International** 54:358-362. (2009b).

MADRIGAL JLM; OLIVENZA R; MORO MA; LIZASOAIN; I; LORENZO P; RODRIGO J; LEZA JC. Glutathione depletion, lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction are induced by chronic stress in rat brain. **Neuropsychopharmacology** 24: 420–429. 2001.

MAJ J; ROGÓZ Z; SKUZA G; SOWIŃSKA H. The effect of CGP 37849 and CGP 39551, competitive NMDA receptor antagonists, in the forced swimming test. **Polish Journal of Pharmacology and Pharmacology** 44:337-46. 1992.

MALBERG JE; EISCH AJ; NESTLER EJ; DUMAN RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. **Journal of Neuroscience**. 20: 9104 – 9110.2000.

MANJI HK; QUEIROZ JA; SPORN ET AL. Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult to treat depression. **Biological Psychiatry** 53: 707-742. 2003.

MARCO R; PESTA~NA A; SEBASTIAN J; ALBERTO S. Oxaloacetate metabolic crossroads in liver. Enzyme compartmentation and regulation of gluconeogenesis. **Molecular Cellular Biochemistry** 3: 53–70. 1974.

MEANEY MJ; BHATNAGAR S; LAROCQUE S; MCCORMICK C; SHANKS N; SHARMA S; SMYTHE J; VIAU V; PLOTSKY PM. Individual differences in the hypothalamic-pituitaryadrenal stress response and the hypothalamic CRF system. **Annual of the New York of Academy Science** 697: 70-85. 1993.

MELTZER HY. Massive serum creatine kinase increases with atypical antipsychotic drugs: what is the mechanism and the message? **Psychopharmacology** 150: 349–350. 2000.

MIKULECKÁ A; KUBOVÁ H; MARES P. Lamotrigine does not impair motor performance and spontaneous behavior in developing rats. **Epilepsy Behavior** 4: 464-471. 2004.

MORILAK DA; FRAZER A. Antidepressants and brain monoaminergic systems: a dimensional approach to understanding their behavioural effects in depression and anxiety disorders. **International Journal of Neuropsychopharmacology** 7: 193–218. 2004.

MURRAY F; HUTSON PH. Hippocampal Bcl-2 expression is selectively increased following chronic but not acute treatment with antidepressants, 5-HT(1A) or 5-HT(2C/2B) receptor antagonists. **European Journal Pharmacology** 569: 41-47. 2007.

MCALLISTER J; GHOSH S; BERRY D; PARK M; SADEGHI S; WANG KX; PARKER D; SWERDLOW RH. Effects of memantine on mitochondrial function. **Biochemical Pharmacology** 75: 956-964. 2008.

NEMEROFF CB; OWENS MJ. Treatment of mood disorders. **Nature Neuroscience** 5: 1068-1070. 2002.

NESTLER EJ; GOULD E; MANJI H; BUCAN M; DUMAN RS; GERSHENFELD HK; HEN R; KOESTER S; LEDERHENDLER I; MEANEY MJ; ROBBINS T; WINSKY L; ZALCMAN S. Preclinical models: status of basic research in depression. **Biological Psychiatry** 52: 503-528. 2002.

NESTLER EJ; CARLEZON JR WA. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. **Biological Psychiatry** 59: 1151–1159. 2006.

O'CONNOR TM; O'HALLORAN DJ; SHANAHAN F. The stress response and the hypothalamic–pituitary–adrenal axis: from molecule to melancholia. **QJM – Monthly Journal of the Association of Physicians**. 93: 323–333. 2000.

ONGUR D; DREVETS WC; PRICE JL. Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. **Proceedings National Academic Sciences USA** 95:13290 –13295. 1998.

PATON JJ; BELOVA MA; MORRISON SE; SALZMAN CD. The primate amygdala represents the positive and negative value of visual stimuli during learning. **Nature** 439:865-870. 2006.

PECK AW. Clinical pharmacology of lamotrigine. **Epilepsia** 2: 9-12. 1991.

PETRIE RXA; REID IC; STEWART CA. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity, and depressive disorder: a critical review. **Pharmacology Therapy**, v. 87, p. 11-25, 2000.

PETROVICH GD, HOLLAND PC, GALLAGHER M. Amygdalar and prefrontal pathways to the lateral hypothalamus are activated by a learned cue that stimulates eating. **Journal Neuroscience** 25: 8295– 8302. 2005.

PITTENGER C; DUMAN RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. **Neuropsychopharmacology** 33: 88–109. 2008.

PORSOLT RD; BERTIN A; JALFRE M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives International Pharmacodyn Therapy** 229: 327-336, 1977.

RATAUD J; DEBARNOT F; MARY V; ET AL. Comparative study of voltage-sensitive sodium channel blockers in focal ischaemia and electric convulsions in rodents. **Neuroscience Letters** 172: 19-23. 1994.

REED JC. Apoptosis-based therapies. **Nature Reviews Drugs Discovery** 1: 111-121.2002.

RÉUS GZ; STRINGARI RB; DE SOUZA B; PETRONILHO F; DAL-PIZZOL F; HALLAK JE; ZUARDI AW; CRIPPA JA; QUEVEDO J. Harmine and imipramine promote antioxidant activities in prefrontal cortex and hippocampus. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity** 35:325-331. 2010.

RÉUS GZ; STRINGARI RB; RIBEIRO KF; FERRARO AK; VITTO MF; CESCO NETTO P; SOUZA CT; QUEVEDO J. Ketamine plus imipramine treatment induces antidepressant-like behavior and increases CREB and BDNF protein levels and PKA and PKC phosphorylation in rat brain. **Behavior Brain Research** 221:166-171. (2011a)

RÉUS GZ; STRINGARI RB; RIBEIRO KF; CIPRIANO AL; PANIZZUTTI BS; STERTZ L; LERSCH C; KAPCZINSKI F; QUEVEDO J. Maternal deprivation induces depressive-like behaviour and alters neurotrophin levels in the rat brain. **Neurochemical Research** 363:460-466. (2011b)

REZIN GT; GONCALVES; CL; DAUFENBACH JF; FRAGA DB; SANTOS PM; FERREIRA; GK; HERMANI FV; COMIM CM; QUEVEDO J; STRECK EL. Acute administration of ketamine reverses the inhibition of mitochondrial respiratory chain induced by chronic mild stress. **Brain Research Bulletin** 79: 418-421. 2009.

ROCERI M; HENDRIKS W; RACAGNI G; ELLENBROEK BA; RIVA MA. Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. **Molecular Psychiatry** 7: 609–616. 2002.

ROGOZ Z; SKUZA G; LEGUTKO B. Repeated co-treatment with fluoxetine and amantadine induces brain-derived neurotrophic factor gene expression in rats. **Pharmacology Report** 60: 817–826. 2008.

SACKELLARES D, SACKELLARES JC. Improvement in depression associated with partial epilepsy in patients treated with lamotrigine. **Epilepsy Behavior** 3:510-516. 2002.

SANACORA G; ZARATE CA; KRYSTAL JH; MANJI HK. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. **Nature reviews** 7: 426-437. 2008.

SANTOS PM; SCAINI G; REZIN GT; BENEDET J; ROCHI N; JEREMIAS GC; CARVALHOSILVA M; QUEVEDO J; STRECK EL. Brain creatine kinase activity is increased by chronic administration of paroxetine. **Brain Research Bulletin** 80: 327-330. 2009.

SAPOLSKY RM. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: The current state of confusion. **Stress** 1:1–19. 1996.

SEGAL M; AVITAL A; DROBOT; M; LUKANIN A; DEREVENSKI A; SANDBANK S; WEIZMAN A. Serum creatine kinase level in unmedicated nonpsychotic, psychotic, bipolar and schizoaffective depressed patients. **The European Journal of Neuropsychopharmacology** 17: 194-198. 2007.

SINISCALCHI A; ZONA C; GUATTEO E; ET AL. An electrophysiological analysis of the protective effects of felbamate, lamotrigine, and lidocaine on the functional recovery from in vitro ischemia in rat neocortical slices. **Synapse** 4: 371-9. 1998.

SITGES M; CHIU LM; GUARNEROS A; NEKRASSOV V. Effects of carbamazepine, phenytoin, lamotrigine, oxcarbazepine, topiramate and vinpocetine on Na⁺ channel-mediated release of [3H] glutamate in hippocampal nerve endings. **Neuropharmacology** 52: 598–605. (2007a).

SITGES M; GUARNEROS A; NEKRASSOV V. Effects of carbamazepine, phenytoin, valproic acid, oxcarbazepine, lamotrigine, topiramate and vinpocetine on the presynaptic Ca²⁺ channel-mediated release of [3H] glutamate : comparison with the Na⁺ channel-mediated release. **Neuropharmacology** 53: 854–862. (2007b).

SCAINI G; SANTOS PM; BENEDET J; ROCHI N; GOMES LM; BORGES LS; REZIN GT; PEZENTE DP; QUEVEDO J; STRECK EL. Evaluation of Krebs cycle enzymes in the brain of rats after chronic administration of antidepressants. **Brain Research Bulletin** 82:224-227. 2010.

SHAMI NJIE; MOREIRA EAM. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutricao** 17:227-36. 2004.

SHELIN YI; WANG P; GADO MH; CSERNANSKY JG; VANNIER MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. **Proceedings National Academic Sciences USA** 93:3908 –3913. 1996.

SHIRAYAMA Y; CHEN AC; NAKAGAWA S; RUSSEL DS; DUMAN RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. **The Journal of Neuroscience** 22: 3251–3261. 2002.

SCHULTE-HERBRÜGGEN O; CHOURBAJI S; MÜLLER H; DANKER-HOPFE H; BRANDWEIN C; GASS P; HELLWEG R. Differential regulation of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in a mouse model of learned helplessness. **Experimental Neurology** 202:404-409. 2006.

SCHRAMM A; SCHULTE JH; ASTRAHANTSEFF K; APOSTOLOV O; LIMPT V; SIEVERTS H; KUHFITIG-KULLE S; PFEIFFER P; VERSTEEG R; EGGERT A. Biological effects of TrkA and TrkB receptor signaling in neuroblastoma. **Cancer Letters** 228:143-53. 2005.

SCHLOSS P; HENN FA. New insights into the mechanisms of antidepressant therapy. **Pharmacology Therapeutics** 102: 47-60. 2004.

SCHMIDT HD; BANASR M; DUMAN RS. Future antidepressant targets: Neurotrophic factors and related signaling cascades. **Drugs discovery today therapy strategy** 5: 151-156. 2008.

SMITH D; CHADWICK D; BAKER G, ET AL. Seizure severity and the quality of life. **Epilepsia** 5: 31-35. 1993.

STRECK EL; AMBONI G; SCAINI G; DI-PIETRO PB; REZIN GT; VALVASSORI SS; LUZ G; KAPCZINSKI F; QUEVEDO J. Brain creatine kinase activity in an animal model of mania. **Life Science** 82: 424-429. 2008.

TOKITA K; YAMAJI T; HASHIMOTO K. Roles of glutamate signaling in preclinical and/or mechanistic models of depression. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** in press. 2011.

WALLACE DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. **Science** 283. 1999.

WALDMEIER PC; BAUMANN PA; WICKI P; FELDTRAUER JJ; STIERLIN C; SCHMUTZ M. Similar potency of carbamazepine, oxcarbazepine and lamotrigine in inhibiting the release of glutamate and other neurotransmitters. **Neurology** 45:1907-13.1996.

WANG SJ; HUANG CC; HSU KS; TSAI JJ; ET AL Presynaptic inhibition of excitatory neurotransmission by lamotrigine in the rat amygdalar neurons. **Synapse** 24: 248–255. 1996.

WANG JF; SUN X; CHEN B; YOUNG LT. Lamotrigine Increase Gene Expression of GABA-A Receptor 3 Subunit in Primary Cultured Rat Hippocampus Cells. **Neuropsychopharmacology** 4:415-21. 2002.

WEINBACH EC; COSTA JL; NELSON BD; CLAGGETT CE; HUNDAL T; BRADLEY D; MORRIS SJ. Effects of tricyclic antidepressant drugs on energy-linked reactions in mitochondria. **Biochemical Pharmacology** 35: 1445-1451. 1986.

VAIDYA VA; FERNANDES K; JHA S. Regulation of adult hippocampal neurogenesis: relevance to depression. **Expert Review of Neurotherapeutics** 7:853-864. 2007.

XIE X; HAGAN RM. Cellular and molecular actions of lamotrigine: possible mechanisms of efficacy in bipolar disorder. **Neuropsychobiology** 38:119-130.1998.

ZHANG L; ZHOU R; XIANG G. Stepholidine protects against H₂O₂ neurotoxicity in rat cortical neurons by activation of Akt. **Neuroscience Letters** 383: 328–332. 2005.

ZARATE CA; MANJI HK. The role of AMPA receptor modulation in the treatment of neuropsychiatric diseases. **Clinical and Experimental Neurology** 211: 7-10. 2008.

YANG E; ZHA J; JOCKEL J; BOISE LH; THOMPSON CB; KORSMEYER SJ. Bad, a heterodimeric partner for Bcl-xL and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell death. **Cell** 80, 285-291. 1995.