

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

**Interação do zinco com antidepressivos no teste de suspensão da cauda e no teste do  
campo aberto**

**Maurício Peña Cunha**

**Florianópolis, 2009.**

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

**Interação do zinco com antidepressivos no teste de suspensão da cauda e no teste do  
campo aberto**

**Maurício Peña Cunha**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências, da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Neurociências.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Severo Rodrigues**

**Departamento de Bioquímica – BQA**

**Florianópolis, 2009.**

*Dedico esta dissertação a minha mãe,  
Adilene Emília Peña Cunha, ao meu pai, Gedeão Cunha Junior,  
e ao meu irmão Marcio Moushe Peña Cunha  
pela amizade e amor eterno ,  
pelo exemplo de conduta moral e simplicidade, e  
por me oportunizar aprender o significado da palavra FAMÍLIA,  
Obrigado família!*

*“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”*

*(Albert Einstein)*

## **Agradecimentos**

À minha orientadora Ana Lúcia Severo Rodrigues pela conduta moral e profissional, pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório no estudo da neurobiologia da depressão, pelo grande apoio diário, por sua dedicação, pelos ensinamentos e orientação indispensáveis para meu aprendizado. Admiro seu caráter, seriedade, e sinceridade. Agradeço por todos os momentos de aprendizado que tive durante esta jornada ao seu lado, desde simples conversas dentro do laboratório acerca de um assunto interessante até ensinamentos didáticos e teóricos em sala de aula. Ana você é muito mais que uma professora para mim, a senhora é uma amiga que para sempre irei levar na minha memória como exemplo de pessoa e de profissional!

A amiga para todas as horas Daniele Guilhermano por ser essa grande companheira, leal e sincera, me oportunizando desde o aprendizado das técnicas laboratoriais até conceitos relacionados à vida. Dani você é símbolo de perseverança, garra e vontade para qualquer pessoa no mundo! Muito obrigado por tudo!

Ao Juliano pelas idéias, troca de conhecimento e amizade em todo esse tempo de laboratório. Cara você vai longe!

A doutora Patrícia por ser uma grande professora para mim, me ensinando e ajudando em muitas fases do meu aprendizado dentro do laboratório.

Ao Luis pelas conversas diurnas no laboratório e noturnas no computador, e pelos seus questionamentos cotidianos.

A Chandra pelo seu comportamento doce e meigo durante todo este tempo de convívio.

Embora a pouca convivência, agradeço a Manu pelos ensinamentos que me foram de grande valia.

Aos colegas do laboratório, Josiane, Ricardo e Kelly pela convivência diária.

Aos novos integrantes da equipe laboratorial Roberto, Jardel, Andiará, Vivian, Grasiela, e Cristiane, sejam bem vindos!

Aos meus amigos Gianni e “Fritz” pela honestidade e amizade demonstrada em cada ato de carinho e respeito. Amigos iguais a vocês agente não procura, agente reconhece. Sou eternamente grato!

Aos parceiros de experimentos Morgana, Marina, Daniel, Leidi (Centro de Ciências Fisiológicas), e Fabrício (Departamento de Farmacologia)! Os experimentos com vocês são sempre divertidos! Obrigado pessoal!

Aos docentes do curso de Pós-Graduação em Neurociências, que de forma amistosa sempre tiveram a paciência de transmitir seus vastos conhecimentos.

Ao Nivaldo, secretário da Pós-Graduação, por sua colaboração incansável, e por sua amizade. Obrigado pelo apoio e incentivo por estes anos.

A UFSC e a CAPES pelo apoio financeiro que foi de extrema importância para o meu desenvolvimento científico durante todo o transcorrer do mestrado.

Ao meu grande amigo Leandro Toscano de Carvalho que em nenhum momento me deixou desistir do sonho de seguir no mundo acadêmico! Leandro você é meu irmão de consideração e tem um valor de grande proporção em minha vida! Sou e sempre serei grato por tudo que você fez por mim!

A minha amiga Lausimar que me acolheu em Florianópolis com extrema virtude, carinho e amizade.

Ao meu grande amigo Sandro Vargas pela sua amizade, por me motivar, e por me ajudar nos momentos difíceis e alegres da minha passagem por Florianópolis.

Aos grandes amigos Jeffinho e Bruno que contribuíram no meu amadurecimento pessoal!

Aos meus avós maternos, Alzira Alves Peña e Artur Gregório Peña (*In Memoriam*) pelo amor transmitido. E a minha avó paterna Célia Sousa Cunha.

Aos animais experimentais, companheiros indispensáveis para o meu desenvolvimento científico e pessoal. Fica aqui registrado minha gratidão, respeito e reconhecimento! A evolução da humanidade está interligada de forma relevante as vossas existências.

# Sumário

DEDICATÓRIA.....	i
Agradecimentos.....	iii
Sumário .....	vi
Lista de Abreviaturas .....	viii
Lista de Figuras .....	x
Lista de Tabelas .....	xii
Resumo .....	xiii
Abstract.....	xiv
1. Introdução .....	1
1.1. Depressão.....	1
1.1.1 Depressão e Ansiedade .....	8
1.1.2. Tratamento Antidepressivo.....	8
1.1.2.1. “Augmentation”.....	10
1.1.3. Modelos animais de Depressão.....	12
1.2. Zinco.....	14
1.2.1 Zinco e depressão.....	21
2. Justificativa.....	23
3. Objetivos .....	24
3.1. Objetivo geral.....	24
3.2. Objetivos específicos.....	24
4. Materiais e métodos .....	25
4.1. Animais.....	25



4.2. Drogas e tratamento.....	25
4.3. Testes comportamentais.....	26
4.3.1. Teste da suspensão da cauda (TSC).....	26
4.3.2. Teste do Campo Aberto (TCA).....	27
4.4. Protocolo Experimental.....	30
4.4.1. Curva de doses crescentes de cloreto de zinco (ZnCl <sub>2</sub> ) no TSC e no TCA.....	30
4.4.2. Curva tempo-resposta de ZnCl <sub>2</sub> no TSC.....	30
4.4.3. Curvas de doses crescentes de antidepressivos convencionais no TSC.....	31
4.4.4. Efeito do tratamento combinado de cloreto de zinco e antidepressivos convencionais no TSC e no TCA.....	32
4.7. Análise Estatística.....	32
5. Resultados.....	33
5.1. Efeito da administração oral de ZnCl <sub>2</sub> no tempo de imobilidade no TSC.....	33
5.2. Efeito da administração oral de ZnCl <sub>2</sub> em curva tempo-resposta no TSC.....	35
5.3. Efeito da administração oral de ZnCl <sub>2</sub> na locomoção horizontal no TCA .....	37
5.4. Efeito da administração oral de antidepressivos clássicos no tempo de imobilidade no TSC.....	39
5.5. Efeito da interação de ZnCl <sub>2</sub> com antidepressivos convencionais no tempo de imobilidade no TSC.....	41
5.6. Efeito da interação de ZnCl <sub>2</sub> e fluoxetina nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (rearing) no TCA.....	44
5.7. Efeito da interação de ZnCl <sub>2</sub> e paroxetina nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA.....	46

5.8. Efeito da interação de ZnCl <sub>2</sub> e imipramina nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA.....	48
5.9. Efeito da interação de ZnCl <sub>2</sub> e desipramina nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA.....	50
5.10. Efeito da interação de ZnCl <sub>2</sub> e bupropiona nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA.....	52
5.11. Efeito da interação de ZnCl <sub>2</sub> e antidepressivos convencionais no comportamento de auto-limpeza no TCA.....	54
6. Discussão .....	57
7. Conclusão .....	66
8. Perspectivas.....	67
Referências Bibliográficas .....	68
ANEXOS.....	89

## Lista de Abreviaturas

E.P.M = erro padrão da média

p.o.= *per os* (via oral)

ISRN = inibidor seletivo da recaptção de noradrenalina

ISRS = inibidor seletivo da recaptção de serotonina

IMAO = inibidor da monoamino oxidase

NMDA = N-metil-D-aspartato

PKC = proteína cinase C

SNC = sistema nervoso central

TNF = teste do nado forçado

TSC = teste da suspensão da cauda

TCA= teste do campo aberto

5-HT = serotonina

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Efeito modulatório do zinco em sistemas de neurotransmissão.....	19
<b>Figura 2.</b> Efeito da concentração intracelular de zinco na viabilidade e função celular.....	20
<b>Figura 3.</b> Teste da suspensão da cauda (TSC).....	27
<b>Figura 4.</b> Teste do campo aberto (TCA).....	29
<b>Figura 5.</b> Esquema da curva de doses crescentes de ZnCl <sub>2</sub> no TSC e.....	30
<b>Figura 6.</b> Esquema da curva tempo-resposta da administração de ZnCl <sub>2</sub> no TSC.....	30
<b>Figura 7.</b> Esquema da curva de doses crescentes de antidepressivos convencionais no TSC.....	31
<b>Figura 8.</b> Esquema da interação de ZnCl <sub>2</sub> e antidepressivos convencionais no TSC e no TCA.....	32
<b>Figura 9.</b> Efeito do tratamento com doses crescentes de ZnCl <sub>2</sub> por via oral sobre o tempo de imobilidade no TSC.....	34
<b>Figura 10.</b> Efeito do tratamento com ZnCl <sub>2</sub> no TSC, em curva tempo-resposta.....	36
<b>Figura 11.</b> Efeito do tratamento com doses crescentes de ZnCl <sub>2</sub> por via oral sobre o número de cruzamentos no TCA.....	38
<b>Figura 12.</b> Efeito da co-administração de doses sub-efetivas de antidepressivos e ZnCl <sub>2</sub> por via oral sobre o tempo de imobilidade no TSC.....	43
<b>Figura 13.</b> Efeito da interação entre ZnCl <sub>2</sub> e fluoxetina administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA.....	45
<b>Figura 14.</b> Efeito da interação entre ZnCl <sub>2</sub> e paroxetina administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B).....	47
<b>Figura 15.</b> Efeito da interação entre ZnCl <sub>2</sub> e imipramina administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA.....	49

<b>Figura 16.</b> Efeito da interação entre ZnCl <sub>2</sub> e desipramina administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA.....	51
<b>Figura 17.</b> Efeito da interação entre ZnCl <sub>2</sub> e bupropiona administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA.....	53
<b>Figura 18.</b> Efeito da interação entre ZnCl <sub>2</sub> e antidepressivos por via oral no comportamento de auto-limpeza no TCA.....	56

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Evidências clínicas e pré-clínicas do envolvimento do zinco na patofisiologia e tratamento da depressão.....	22
<b>Tabela 2.</b> Efeito do tratamento com doses crescentes de antidepressivos clássicos por via oral sobre o tempo de imobilidade no TSC.....	41

## Resumo

O efeito tipo-antidepressivo do zinco vem sendo demonstrado em alguns modelos animais de depressão. No presente estudo, cloreto de zinco ( $ZnCl_2$ ) foi administrado, sozinho ou em combinação com diferentes antidepressivos, por via oral (p.o.), em camundongos, e a resposta comportamental no teste de suspensão da cauda (TSC), teste preditivo de atividade antidepressiva, e no teste do campo aberto foi investigada.  $ZnCl_2$  administrado nas doses de 10 e 30 mg/kg, p.o., 60 minutos antes dos testes comportamentais, reduziu o tempo de imobilidade no TSC, sem afetar a atividade locomotora no teste do campo aberto. Além disso,  $ZnCl_2$  (30 mg/kg, p.o.) apresentou efeito tipo-antidepressivo quando foi administrado 30' antes do TSC. Os antidepressivos fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina e bupropiona produziram uma significativa redução no tempo de imobilidade no TSC nas doses de 10; 1; 1; 1; 10 mg/kg, p.o., respectivamente. O tratamento combinado de doses sub-efetivas de  $ZnCl_2$  (1 mg/kg) com doses sub-efetivas de fluoxetina (5 mg/kg), paroxetina (0,1 mg/kg), desipramina (0,1 mg/kg), imipramina (0,1 mg/kg), ou bupropiona (1 mg/kg) gerou uma significativa redução no tempo de imobilidade no TSC, quando comparado com grupos tratados com o veículo,  $ZnCl_2$  ou antidepressivos sozinhos. O tratamento com  $ZnCl_2$  e antidepressivos sozinhos ou em combinação não afetou a locomoção dos animais submetidos ao teste do campo aberto, exceto a desipramina que administrada sozinha reduziu a locomoção dos animais. O tratamento com desipramina (0,1 mg/kg) ou paroxetina (0,1 mg/kg) sozinhos reduziu o número de respostas de levantamento vertical (“rearings”) no teste do campo aberto. O tratamento com bupropiona (1 mg/kg) ou desipramina (0,1 mg/kg) sozinhos reduziu o número de respostas de auto-limpeza dos animais submetidos ao teste do campo aberto. Ainda, a administração combinada de  $ZnCl_2$  com bupropiona também diminuiu o número de respostas de auto-limpeza, condizente com um efeito semelhante a de benzodiazepínicos (ansiolíticos). Os resultados indicam, inicialmente, que o  $ZnCl_2$  administrado por via oral produz um efeito tipo-antidepressivo no TSC. Além disso, efeitos sinérgicos da administração de  $ZnCl_2$  com antidepressivos em diferentes classes foi mostrado no TSC, sugerindo que uma melhora na terapia antidepressiva clássica ocorra quando o zinco é acrescentado ao tratamento realizado com antidepressivos. Ainda, a combinação de  $ZnCl_2$  com o inibidor da recaptção de dopamina bupropiona diminuiu o número de auto-limpeza de animais submetidos ao teste do campo aberto, sugerindo que esta combinação seja efetiva no tratamento de pacientes aonde a depressão coexista com a ansiedade.

**Palavras-Chave:** antidepressivos; depressão; teste da suspensão da cauda; teste do campo aberto; zinco.

## Abstract

The antidepressant-like effect of zinc has been shown in several animal models of depression. In this study, zinc chloride ( $\text{ZnCl}_2$ ) was given alone or in combination with different classes of antidepressants by oral route (p.o.) to mice and the behavioral responses in the tail suspension test (TST), a predictive test of antidepressant action, and in the open field test were investigated.  $\text{ZnCl}_2$  administered at the doses of 10 and 30 mg/kg, p.o. sixty minutes before the behavioral tests, reduced the immobility time in the TST, without affecting the locomotor activity in the open-field test. Furthermore,  $\text{ZnCl}_2$  (30 mg/kg, p.o.) administered thirty minutes before the TST produced an antidepressant-like effect. The antidepressants fluoxetine, paroxetine, imipramine, desipramine and bupropion produced a significant reduction in the immobility time in TST at the doses of 10, 1, 1, 1 and 10 mg/kg, p.o., respectively. The combined treatment of sub-effective doses of  $\text{ZnCl}_2$  (1 mg/kg) with sub-effective doses of fluoxetine (5 mg/kg), paroxetine (0.1 mg/kg), desipramine (0.1 mg/kg), imipramine (0.1 mg/kg) or bupropion (1 mg/kg) induced a significant reduction in the immobility time in the TST when compared with the groups treated with  $\text{ZnCl}_2$  or with antidepressants alone. The treatment with  $\text{ZnCl}_2$  and antidepressants alone or in combination did not affect the locomotion in open-field test, except that desipramine alone reduced the ambulation. The treatment with desipramine or paroxetine alone reduced the rearing responses. The treatment with bupropion alone or in combination with  $\text{ZnCl}_2$  reduced grooming responses, an effect similar to the one produced by benzodiazepinic agents (anxiolytic effect). The results first indicate that  $\text{ZnCl}_2$  administered by p.o. route produces an antidepressant-like effect in the TST. Moreover, synergistic effects of zinc with antidepressants were shown in the TST, suggesting that an improvement in the response to the antidepressant therapy occurs when zinc is combined with different classes of antidepressants. Moreover, the combination between  $\text{ZnCl}_2$  and bupropion produced a decrease in grooming behavior in the open field test, suggesting that this combination may be effective in the treatment of the patients with depression associated with anxiety symptoms.

**Keywords:** antidepressants; depression; tail suspension test; open field test; zinc.



## **1 - Introdução**

### **1.1 – Depressão**

A depressão vem sendo descrita há alguns milhares de anos, através de perspectivas distintas. Hipócrates, por volta de 400 anos antes de Cristo, em seu tratado “A Natureza do Homem” descreveu a teoria dos quatro humores corporais (sangue, fleugma ou ptuíta, bílis amarela, e bílis negra), onde o desequilíbrio do humor “bílis negra” estaria associado a um estado de melancolia. Os tratamentos para este desequilíbrio humoral eram através de prescrições quando necessárias de ar fresco, massagens, ginástica, eméticos, purgativos e sangrias visando eliminar o humor excedente através das fezes, suor e sangue. Em seqüência, Galeno difunde as idéias hipocráticas e postula a existência de dois tipos de bílis negra, uma natural e outra não natural, sendo que a melancolia era decorrente de um desequilíbrio da bílis negra não natural. A partir disto, diversos escritores de origem galênica, como Oribésius de Pergamon, Alexandre de Tralles e Paulo de Aegina, e escritores de origem árabe como Constantinus Africanus e Avicenne, descrevem a melancolia de acordo com suas tradições (Wong e Licínio, 2001; Cordás, 2002).

Entretanto, apenas em 1854, é que foram descritos, pelos médicos franceses Falret e Baillarger, os primeiros diagnósticos formais dos episódios alternantes de mania e depressão como uma doença única, através dos termos Folie Circulaire (“loucura circular”) e Folie Doublé Forme (“loucura de forma dupla”) (Dubovisky e Dubovisky, 2004). Ainda, a depressão só foi referida como uma desordem, em 1893, por Emil Kraepelin, no seu sistema nosológico de classificação de desordens psiquiátricas (Wong e Licínio, 2001).

Atualmente, a depressão é considerada uma doença potencialmente ameaçadora à vida, com um índice de suicídio entre deprimidos chegando a 15%, e afetando cerca de 20% da população mundial (Musselman et al., 1998; Berton e Nestler, 2006). Estima-se que no Brasil 54 milhões de pessoas terão

em algum momento de suas vidas algum episódio de depressão, sendo que 7,5 milhões destes episódios serão agudos e graves, com altíssimo risco de suicídio (Nardi, 2000). Neste contexto, o transtorno depressivo maior surge como um grande problema de saúde pública devido a sua prevalência e seu impacto na função psicossocial e na qualidade de vida de pacientes e familiares envolvidos (Simon et al, 1995; Papakostas et al., 2004). Além disso, a depressão é uma das principais causas para a invalidez e desvalia de indivíduos (Charney e Manji, 2004)

A depressão é uma doença heterogênea, embora apresente manifestações fisiológicas, comportamentais e psicológicas semelhantes em diferentes países, grupos culturais, e status sócio-econômico (Spiegel, 1996). Esta neuropatologia é classificada como um transtorno de humor. Os transtornos de humor se dividem em transtornos unipolares, que incluem a depressão maior e a distímia (depressão menor intermitente) e os transtornos bipolares, que incluem o transtorno bipolar (desordem maniaco-depressiva) e a ciclotímia (forma branda da desordem bipolar caracterizada por episódios de hipomania e depressão alternados) (American Psychiatry Association, 1994).

Os critérios para o diagnóstico da depressão maior se baseiam em um conjunto de sintomas estabelecidos pelo Manual Estatístico e Diagnóstico de Doenças Mentais, quarta edição (DSM-IV, 2000). Estes sintomas incluem: 1. humor deprimido na maior parte do tempo; 2. diminuição, marcante, no interesse ou prazer, em todas ou quase todas as atividades (anedonia); 3. aumento ou diminuição marcante de peso ou apetite; 4. insônia ou hipersônia; 5. agitação ou retardo psicomotor; 6. fadiga ou falta de energia; 7. sentimentos de culpa ou desvalia excessivos; 8. diminuição na capacidade de concentração e pensamento; 9. pensamentos recorrentes de morte ou idéias e tentativas suicidas. Para preencher os critérios de depressão maior o indivíduo deve apresentar um total de cinco destes sintomas, com duração mínima de duas semanas, incluindo, no mínimo, um dos sintomas 1 ou 2 (DSM-IV, 2000).

Atualmente, a depressão maior é classificada em categorias de acordo com a heterogeneidade nas características clínicas apresentadas nos episódios depressivos. De acordo com o seu curso clínico a

depressão pode ocorrer em um único episódio, ser uma doença extremamente recorrente, ou mesmo se constituir em uma desordem crônica (17% de todos os casos), sendo que os indivíduos com esta doença podem apresentar remissão total ou parcial da doença (Goodwin e Jamison, 1990; Wong e Licínio, 2001). Ainda, esta desordem pode apresentar característica psicótica (humor congruente), característica catatônica, um padrão sazonal, característica atípica ou mesmo característica melancólica. Além disto, a depressão maior pode ser classificada de acordo com o seu início, podendo este acontecer precocemente, pós-parto ou tardiamente, e de acordo com sua gravidade em leve, moderada e severa (Wong e Licínio, 2001).

Em muitos casos, a depressão não tem uma causa clínica identificável. Entretanto, existem fatores genéticos, fisiológicos, bioquímicos, morfológicos e ambientais, associados ao episódio depressivo (File, 1996; Nestler, 2002; Berton e Nestler 2006). Dentre os fatores ambientais que influenciam na etiologia da desordem depressiva incluem-se, à exposição a algumas substâncias, como drogas de abuso, organofosforados, e alguns fármacos como agentes antihipertensivos, corticosteróides, anticonvulsivantes, dentre outros (Robertson e Katona, 1993; Karalliedde et al., 2000). A depressão maior também coexiste com outras desordens (co-morbidade), tais como doenças cardiovasculares, doenças neurológicas e câncer (Nestler, 2002). Assim sendo, Goodwin e Jamison (1990) classificaram esta desordem de humor, de acordo com as suas possíveis causas, em depressão secundária, sendo esta decorrente de outras desordens clínicas, do uso de medicações específicas, e da exposição a substâncias tóxicas; e depressão primária de causa idiopática.

A depressão é uma doença de ordem genética, aonde a hereditariedade parece aumentar três vezes o risco de desenvolvimento de tal desordem, sendo estimado que a carga genética contribua com 31-42% do desenvolvimento da doença (Sullivan et al., 2000). Entretanto a depressão é uma doença complexa que parece não estar atrelada apenas a um gene (Lander e Schork, 1994), sendo, ainda, altamente dependente da interação de fatores genéticos com os fatores ambientais (acontecimentos pré-

natais, perdas, privação, tristeza, estresse, desastres naturais, guerra, sistemas de suporte social, aspectos nutricionais, exercício físico, efeito de drogas, desordens médicas), o que acaba por denotar uma suscetibilidade genética a eventos de vida (Wong e Licínio, 2001). Dentro deste contexto, vem sendo sugerido que polimorfismos de genes codificantes do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (Hong et al., 2003; Tsai et al., 2003, Schumacher et al., 2005), do transportador de serotonina (5-HTT) (Lesch et al., 1995; Caspi et al., 2003), da triptofano hidroxilase (Zill et al., 2004), da monoaminaoxidase A (MAO A) (Schulze et al., 2000, Du et al., 2004), da catecol-O-metiltransferase (Szegedi et al., 2005), bem como de citocinas (Jun et al., 2003; Fertuzinhos et al., 2004; Rosa et al., 2004) poderiam estar gerando uma suscetibilidade no desenvolvimento de desordens depressivas em relação a eventos de vida, bem como predizendo a melhor terapia antidepressiva a ser prescrita.

Alguns estudos têm investigado mudanças anatômicas e funcionais na depressão revelando alterações no fluxo sanguíneo cerebral, redução do metabolismo da glicose na amígdala (Drevets et al., 1992; Drevets e Raichle, 1992) e córtex pré-frontal (Baxter et al., 1989; Biver et al., 1994), bem como mudanças neuroanatômicas em grande proporção no hipocampo (Campbell e Macqueen, 2004). Estudos com pacientes depressivos utilizando ressonância magnética (Sheline et al., 1996, Sheline et al., 1999, Bremner et al., 2000; Mervaala et al., 2000, Steffens et al., 2000, Czeh et al., 2001; Campbell et al., 2004), bem como estudos *post-mortem* (Stockmeier et al., 2004) têm demonstrado uma redução drástica no volume hipocampal na depressão. Essa atrofia hipocampal está sendo relacionada a eventos de estresse (Mattson et al., 2004), e à diminuição na neurogênese adulta induzida por hormônios liberados da glândula adrenal em resposta ao estresse, como por exemplo, os corticosteróides (Tanapat et al., 1998; Westenbroek et al., 2004; Karten et al., 2005; Rosenbrock et al., 2005).

Particularmente, evidências sugerem que a depressão parece estar associada a déficits na neurogênese adulta: a) o hipocampo, que é um dos dois locais aonde acontece neurogênese adulta, está diminuído na depressão; b) antidepressivos parecem estimular a formação de novas células neurais

(Brezun e Daszuta, 1999; Duman et al, 2001, 1997; Malberg e Duman, 2003; Kodama et al, 2004); c) novos neurônios levam 4-5 semanas para se tornarem funcionais (Van Praag et al, 2002), que é o tempo de latência dos benefícios terapêuticos de muitas medicações antidepressivas.

A depressão é frequentemente descrita como uma doença relacionada ao estresse, pois existem diversas evidências de que o estresse provoca alterações neuroquímicas e morfológicas que contribuem na etiologia de tal desordem (Brown e Harris, 1982; Brown et al., 1986; Monroe et al., 1991; Paykel, 2001; Nestler, 2002). Durante o estresse agudo ou crônico, a resposta do cérebro será acompanhada pela ativação do sistema nervoso simpático e do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA). A ativação sustentada do sistema nervoso simpático está sendo associada à depressão (Wong et al., 2000). A hiperativação sustentada do eixo HPA em situações de estresse prolongado ou severo pode gerar danos hipocâmpais, particularmente em neurônios piramidais de CA3, tais danos podendo ser decorrente de uma redução na influência inibitória que o hipocampo exerce no eixo HPA, aumentando os níveis de corticóides circulantes (Nestler et al, 2002). A hipercortisolemia está sendo amplamente associada à depressão (Sachar et al., 1970), e os níveis do hormônio hipotalâmico liberador de corticotrofina (CRH) encontram-se aumentados em pacientes deprimidos (Gold et al, 1984, 1986; Nemeroff et al., 1984, Holsboer et al., 1984), sugerindo, assim, uma redução no feedback inibitório do hipocampo na supressão de CRH no transtorno depressivo (Nestler et al., 2002; Krishnan and Nestler, 2008)

Existe um consenso geral de que a depressão pode resultar da disfunção de vários neurotransmissores ou sistemas metabólicos. Fortes evidências sugerem uma associação da patofisiologia da depressão com anormalidades no sistema monoaminérgico, particularmente os mecanismos noradrenérgicos e serotoninérgicos. Esta hipótese monoaminérgica sugere que a depressão é resultante de uma deficiência de serotonina (5-HT) e/ ou noradrenalina (NA) ou mesmo de receptores de tais neurotransmissores ineficientes (Mann et al., 1996; Wong e Licínio, 2001).

Em particular, algumas evidências estão reforçando a relação do sistema serotoninérgico com a patofisiologia da depressão tais como: a) níveis plasmáticos diminuídos de triptofano (precursor de serotonina) e da própria serotonina observados em pacientes com depressão maior (Coppen e Doogan, 1988); b) diminuição do metabolismo serotoninérgico nas regiões do córtex frontal de pacientes deprimidos (Bremner et al., 1997); c) nível reduzido de ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), metabólito da serotonina, no líquido de pacientes com depressão (Ricci e Wellmen, 1990); d) redução da densidade de transportadores de 5-HT nas plaquetas de pacientes deprimidos, em estudos *in vitro* (Owens e Nemeroff, 1998); e) aumento no número de transportadores de serotonina no córtex frontal e cíngulo de pacientes deprimidos em um estudo utilizando a tomografia de emissão de pósitrons (PET) (Reivich et al., 2004).

Outros estudos denotam uma potencial participação do sistema noradrenérgico na etiologia da depressão (Charney, 1998; Wong e Licínio, 2001). Dentre estas evidências observamos: a) alguns compostos antidepressivos, como a mirtazapina, atuam como antagonistas de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos (Gupta et al., 2003); b) indivíduos deprimidos apresentam uma hipersensibilidade nos receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos (Price et al., 1986); c) antagonista  $\alpha_1$ -adrenérgico reverte o efeito antidepressivo dos extratos das plantas *Siphocampylus verticillatus* e *Schinus molle* no teste da suspensão da cauda (TSC) em camundongos (Rodrigues, et al., 2002; Machado et al., 2007).

Ainda, estudos clínicos e pré-clínicos indicam que o sistema dopaminérgico está fortemente envolvido com a regulação neural do humor, em específico, evidências correlacionam anormalidades na neurotransmissão dopaminérgica com a patofisiologia da depressão (D'Aquila *et al.*, 2000; Rampello et al., 2000). Evidências sugerem baixos níveis de metabólitos da dopamina, como o ácido homovanílico (AHV) no líquido de pacientes deprimidos (Brown e Gershon, 1993). Nesse sentido, estudos realizados com testes comportamentais pré-clínicos preditivos da ação antidepressiva, teste do nado forçado (TNF) e TSC, já revelaram que agonistas dopaminérgicos apresentam um efeito tipo-antidepressivo (Joca et al.,

2000; Dhir e Kulkarni, 2007). Além disso, a depressão apresenta uma grande co-morbidade com a doença de Parkinson (doença caracterizada pela perda de neurônios dopaminérgicos), uma vez que 50% dos pacientes com a doença de Parkinson apresentam depressão (Menza et al, 2009). Estas evidências científicas têm reforçado o potencial envolvimento do sistema monoaminérgico na gênese da depressão.

Alguns estudos clínicos têm apontado que pacientes com depressão apresentam um nível elevado de glutamina nas plaquetas, sugerindo uma possível alteração no ciclo glutamato-glutamina na patofisiologia da depressão (Levine et al., 2000). Estudos têm implicado um papel dos receptores NMDA de glutamato na patofisiologia da depressão. Nesse sentido, antagonistas do receptor NMDA como o MK-801 e a cetamina, exibem atividade antidepressiva em modelos animais de depressão e em estudos clínicos (Skolnick, 1999; Berman et al., 2000; Kudoh et al., 2002). Além disso, o antagonista dos receptores de glutamato AMPA, NBQX, reverte o efeito tipo-antidepressivo dos antagonistas de NMDA, MK-801 e cetamina (Maeng et al., 2007). Ainda, os potenciadores de receptores AMPA, LY451616 e LY392098, produzem efeito tipo-antidepressivo em modelos animais de depressão (Ly et al., 2001). Outros receptores glutamatérgicos, também, estão sendo implicados na patofisiologia da depressão, como é o caso dos receptores metabotrópicos de Glutamato (Witkin et al., 2007).

O sistema GABAérgico também está envolvido na fisiopatologia dos transtornos de humor, visto que níveis de GABA estão reduzidos no líquido de pacientes com depressão unipolar e bipolar. Além disso, níveis de GABA transaminase, enzima que converte glutamato em GABA, estão reduzidos em pacientes com depressão unipolar e bipolar (Brambilla et al., 2003). Estudos pré-clínicos utilizando a substância muscimol, agonista dos receptores GABA<sub>A</sub>, demonstraram uma diminuição no tempo de imobilidade no TNF, sendo este efeito revertido pela administração de bicuculina e picrotoxina (antagonistas GABAérgicos) (Poncelet et al, 1987; Nakagawa et al., 1996).

Recentemente, além da hipótese monoaminérgica, glutamatérgica e GABAérgica da depressão, outros sistemas moleculares estão sendo implicados na neurobiologia de tal desordem. Dentre eles se

destacam o efeito modulatório do sistema adenosinérgico (Kaster et al., 2004), o papel da via L-arginina-óxido nítrico (Da Silva et al., 2000; Chapko et al., 2004), bem como, a participação do sistema colinérgico (Janowsky et al., 1972; Dilsaver, 1986; Gibbons et al., 2008). Além disso, o potencial envolvimento da hiper secreção de citocinas associada com a ativação do sistema imune vem sendo amplamente associado à etiologia depressiva (Smith, 1991; Connor e Leonard, 1998; Dantzer et al., 1999, 2002; Charlton, 2000).

### **1.1.1 Depressão e ansiedade**

Freqüentemente, a depressão é associada à ansiedade sugerindo-se uma comorbidade (existência ou aparecimento de outra patologia qualquer, no curso da evolução clínica de um enfermo que apresente uma determinada doença), entre estas doenças (Feinstein, 1970; Clark et al., 1995). Neste sentido, o surgimento da depressão varia com o diagnóstico do transtorno de ansiedade, de tal modo que, por exemplo, para o transtorno do pânico a taxa de comorbidade é de 67% (Clark, 1989), para o transtorno obsessivo-compulsivo é de 66% (American Psychiatric, 1994), para o transtorno de ansiedade generalizada é de 33% (Clark, 1989) e para as fobias simples ou para a fobia social é de 15% (Clark, 1989; American Psychiatric, 1994). Além disso, a comorbidade entre o transtorno de ansiedade e o transtorno depressivo é também elevada ao longo da vida. De fato, 49% dos doentes com perturbações de ansiedade apresentam também um diagnóstico de depressão maior ou menor (Angst e Dobler-Mikola, 1985; Kessler et al., 1997). Neste sentido, é necessário o desenvolvimento de estratégias que atuem nesta co-morbidade de forma efetiva.

### **1.1.2 Tratamentos antidepressivos**

Diversas intervenções antidepressivas estão sendo propostas ao longo dos anos (Ressler e Nemeroff, 1999; Donati e Rasenick, 2003). Em 1934, Ladislav Meduna introduziu a terapia convulsiva,



com indução de convulsões pela administração de pentilenotetrazol (metrazol) no combate a algumas desordens de humor como a depressão. Posteriormente, a terapia eletroconvulsiva (ECT) foi idealizada e proposta por Hugo Cerletti e Lucio Bini, em 1937, com o objetivo de proporcionar melhoras nos quadros clínicos de algumas desordens mentais, como a esquizofrenia e a depressão. Esta terapia consiste na passagem de uma corrente elétrica através do cérebro com o intuito de produzir convulsões, com a vantagem de ser mais controlável e seus usuários apresentarem amnésia retrógrada, ou seja, uma perda de todas as memórias de eventos imediatamente anteriores ao choque, incluindo a sua percepção (Wong e Licínio, 2001; Greenberg e Kellner, 2005; Isenberg e Zorumski, 2006). Além disto, desde 1910, terapias psicológicas, como a terapia cognitiva comportamental, a terapia interpessoal, e a terapia de solução de problemas, estão sendo propostas com o intuito de atenuar os sintomas clínicos da depressão (Ebmeier et al., 2006).

Entretanto, apenas em 1950 se iniciam os tratamentos psicofarmacológicos. Atualmente, existem várias classes de antidepressivos usados para o tratamento da depressão. Estas drogas podem agir inibindo a enzima monoamina oxidase (MAO), ou atuando sobre os sistemas de recaptção das monoaminas em conjunto, como é o caso dos antidepressivos tricíclicos. Ainda, podem ser inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS) ou da recaptção de noradrenalina (ISRN), aumentando a concentração destes neurotransmissores na fenda sináptica (Nemeroff e Owens, 2002). Os antidepressivos tricíclicos e os inibidores da enzima MAO foram introduzidos no tratamento da depressão na década de 1950, enquanto os antidepressivos ISRS e ISRN só foram introduzidos na década de 1980 (Maubach et al., 1999).

Uma limitação da terapia antidepressiva é que os fármacos antidepressivos proporcionam uma completa remissão para apenas cerca de 50% dos indivíduos, além de causarem efeitos colaterais (Brunello et al., 2002). Estes efeitos colaterais dos fármacos antidepressivos se constituem como a principal causa da não adesão dos pacientes ao tratamento antidepressivo (MacGillivray et al., 2003;

Sleath et al., 2003). Os efeitos colaterais mais frequentes da terapia psicofarmacológica antidepressiva são a tontura, sedação, alterações cognitivas e comprometimento da memória (Matos e Sousa, 1999). A terapia com antidepressivos tricíclicos, antidepressivos inibidores da MAO, normalmente, é acompanhada pelo efeito colateral de ganho de peso (Matos e Sousa, 1999). Já a terapia farmacológica com os antidepressivos de última geração, como ISRSs e os ISRNs, apresentam alguns efeitos adversos como disfunção sexual (Nemeroff e Owens, 2002), dores de cabeça, náuseas e ganho de peso (Rudorfer e Potter, 1989). Além disto, a resposta terapêutica destes fármacos antidepressivos só ocorre 3-6 semanas após o início do tratamento (Wolf et al., 2004). Desta forma, existe uma grande necessidade do desenvolvimento de terapias antidepressivas alternativas ou de substâncias que possam aumentar a eficácia clínica no tratamento da depressão.

#### **1.1.2.1. “Augmentation”**

Uma das estratégias mais utilizadas, desde a década de 20, no tratamento da depressão refratária (depressão não responsiva ao tratamento com antidepressivos clássicos) é a potenciação da terapia antidepressiva não efetiva por um segundo composto farmacológico com ou sem propriedades antidepressivas estabelecidas na literatura. Esta estratégia está sendo denominada de “augmentation” (Thase, 2007). Assim sendo, o termo “augmentation” é definido como a adição de um ou mais agentes farmacológicos a um tratamento antidepressivo pré-existente com o intuito de melhorar o humor dos pacientes e a resposta dos antidepressivos (DeBattista, 2006). Embora estratégias de “augmentation” sejam amplamente utilizadas para melhorar clinicamente a resposta antidepressiva, poucos estudos sistemáticos e controlados são realizados acerca desta prática. Ironicamente, atualmente, os dois agentes mais estudados como “augmentators” na terapia antidepressiva, o lítio e hormônio da tireóide, são raramente utilizados por psiquiatras no tratamento dos pacientes acometidos por depressão (Thase, 2004).

No final da década de 1980 e início dos anos 1990, uma estratégia clínica bastante utilizada para casos de depressão resistente à monoterapia era a associação de lítio a antidepressivos tricíclicos, como a nortriptilina (Nierenberg et al., 1990). Corroborando, Bauer et al. (2003) reportaram que o lítio se constitui em uma ótima estratégia de potenciação da terapia antidepressiva. Já os hormônios da tireóide estão sendo utilizados como “augmentators” há mais de 20 anos (DeBattista, 2006). Alguns estudos elucidam uma melhora na terapia antidepressiva clássica quando T3 ou T4 são adicionados ao tratamento (Joffe e Sokolov, 2000; Thase, 2004).

Atualmente, sabe-se que drogas que modulam o sistema dopaminérgico (inibidores da recaptação de dopamina e agonistas dopaminérgicos) aumentam a efetividade de drogas antidepressivas (DeBattista et al., 2003; Lavretsky et al., 2003, Cassano et al., 2004). Drogas antipsicóticas (Shelton et al., 2001), e agentes anti-glicocorticóides (DeBattista and Belanoff, 2006), também, estão sendo utilizados como estratégias na melhora da terapia antidepressiva clássica.

A literatura reporta ainda que antagonistas de receptores glutamatérgicos NMDA apresentam efeito tipo-antidepressivo sinérgico quando combinados com antidepressivos em modelos animais (Maj et al., 1992; Rogóz et al., 2002, 2004). Em específico, fortes evidências clínicas e pré-clínicas estão sugerindo que a suplementação realizada com o inibidor de receptor NMDA zinco apresenta efeito sinérgico e aditivo quando associada a antidepressivos tricíclicos e ISRSs (Krocza et al., 2001; Szewczyk et al., 2002; Nowak et al., 2003a; Rosa et al., 2003).

É válido ressaltar que a combinação da farmacoterapia com a psicoterapia também tem demonstrado benefícios em pacientes com depressão severa, crônica, ou refratária (Thase and Rush, 1997; Keller et al., 2000; Segal et al., 2002). Além disso, sugere-se que em casos de depressão resistente, outras estratégias não farmacológicas sejam empregadas (terapia eletroconvulsiva, estimulação do nervo vago e a atividade física) juntamente com a terapia farmacológica (Nemeroff,

2007). Entretanto a abordagem da potenciação da terapia antidepressiva clássica através de estratégias não farmacológicas não será discutida a fundo neste estudo.

### **1.1.3 – Modelos animais de depressão**

Pesquisas pré-clínicas são essenciais para o desenvolvimento de novas terapias e para o estudo da neurobiologia dos transtornos mentais (Andreatini, 2002). Os modelos animais de depressão se constituem como um método excelente na identificação de potenciais alvos antidepressivos, possibilitando um melhor entendimento das vias e mecanismos responsáveis pela ação destes. Estes ensaios pré-clínicos contribuem substancialmente para uma melhor compreensão dos transtornos depressivos e para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o seu tratamento (Wong e Licinio, 2001; Cryan et al., 2002; Nestler et al., 2002a/b; Krishnan and Nestler, 2008)

O maior problema nestes métodos é a condição da depressão afetar atividades cognitivas superiores, tais como a emoção e a auto-realização, que não podem ser facilmente reproduzidas em animais. Assim, sintomas clínicos da depressão, como: melancolia, sentimento de culpa e pensamentos suicidas não podem ser reproduzidos e mensurados em ensaios pré-clínicos (Wong e Licinio, 2001).

McKinney e Bunney (1969) propuseram que os modelos animais de depressão devem cumprir um mínimo de requisitos, entre eles: a) ter analogia com a depressão humana em sua manifestação ou sintomas; b) existir mudança comportamental no animal que possa ser controlada objetivamente; c) as mudanças comportamentais alteradas no animal devem ser revertidas pelo mesmo tratamento antidepressivo utilizado em seres humanos; d) os ensaios pré-clínicos devem ter reprodutibilidade. Acrescentando, Markou e colaboradores (2009), definiram que o critério essencial para que o modelo animal de depressão tenha utilização na avaliação pré-clínica é possuir validade preditiva e reprodutibilidade entre laboratórios.

Existem diversos modelos animais de depressão baseados nas alterações comportamentais produzidas pelo estresse, drogas, excisão ou lesões de estruturas cerebrais (Cryan et al., 2002). Os modelos de predição antidepressiva mais utilizados na avaliação pré-clínica são: o modelo de desespero comportamental e o modelo de desamparo aprendido. Um exemplo de modelo de desespero comportamental seria o TNF (Porsolt et al., 1977) e o TSC (Steru, et al, 1985), e o exemplo de modelo de desamparo aprendido seria a esquivada ativa de duas vias após administração de choques inescapáveis e imprevisíveis (Sherman et al., 1982).

O TNF, desenvolvido por Porsolt et al. (1977), padronizado inicialmente para ratos e posteriormente para camundongos, e o TSC, padronizado para camundongos, têm sido os testes mais empregados para avaliar a atividade antidepressiva pré-clínica, devido a sua fácil utilização, grande reprodutibilidade entre os laboratórios e a sua grande habilidade de detectar um grande espectro de agentes antidepressivos (Borsini e Meli, 1988; Cryan et al., 2002; Nestler et al., 2002a/b). Estes modelos são baseados na observação do animal colocado em um estado de desespero. Inicialmente, o animal apresenta movimentos para tentar escapar da situação inescapável, mas após certo tempo de luta, o animal desenvolve uma postura quase imóvel. Este comportamento de imobilidade pode ser entendido como o fracasso na tentativa de escapar do estímulo estressante (comportamento de desespero) (Willner, 1984). Outras interpretações seriam que a imobilidade pode ser um comportamento que reflete o estado de desesperança no qual o animal perde a expectativa de fuga, ou mesmo, um comportamento adaptativo do animal para a manutenção de energia (Preston e West, 1990). Os antidepressivos reduzem a duração da imobilidade do animal comparado ao veículo (Borsini e Meli, 1988; Cryan et al., 2002).

Entretanto, alguns problemas ocorrem com estes modelos: o tratamento agudo com doses elevadas de fármacos antidepressivos altera o tempo de imobilidade em um curto período de tempo, enquanto que nos seres humanos o mesmo tratamento antidepressivo leva semanas para produzir tal efeito (Cryan et al., 2002a); o modelo pode apresentar resultados falsos positivos, como por exemplo,

com drogas estimulantes do sistema motor. Nesse contexto, drogas estimulantes motoras, como a anfetamina, diminuem o tempo de imobilidade e não apresentam efeito antidepressivo na clínica (Willner, 1984; Preston e West, 1990). Com isso, existe a necessidade de se realizar experimentos adicionais com modelos que avaliam a atividade locomotora para se descartar que o efeito observado no teste de predição antidepressiva não seja devido a um efeito locomotor. O modelo amplamente utilizado para esta finalidade é o teste no campo aberto, que avalia a atividade locomotora dos animais (Hall, 1934, 1936; Kelly, 1993).

## 1.2. Zinco

O Zinco ( $Zn^{+2}$ ) é um metal de transição do grupo IIb, diferindo dos outros metais de transição, pois contém a camada eletrônica “d” completa e assim não participa de reações redox. Este metal age como ácido de Lewis, aceitando um par de elétrons, tornando-se assim um íon estável. O zinco ocorre naturalmente como 5 isótopos estáveis:  ${}_{64}Zn$ ,  ${}_{66}Zn$ ,  ${}_{67}Zn$ ,  ${}_{68}Zn$ , e  ${}_{70}Zn$ . Geralmente se associa com aminoácidos, peptídeos e nucleotídeos e tem afinidade com grupos tióis e hidrogênio (McCall et al., 2000). O zinco está sendo considerado o segundo elemento traço mais abundante do organismo, ficando apenas atrás do ferro (Tapiero e Tew, 2003). Este metal está presente em todos os tecidos corporais, sendo 85% de todo o zinco corporal encontrado no osso e no músculo, 11% se encontra no fígado e na pele, e o restante está difundido em outros tecidos (Tapiero e Tew, 2003).

O  $Zn^{+2}$  é obtido da dieta, sendo que mariscos, ostras, carne bovina e suína, fígado, miúdos e ovos são considerados as melhores fontes de zinco (Sandström, 1997). A absorção deste metal ocorre principalmente no trato gastro-intestinal (TGI), sendo esta região, também, responsável pela maior parte da sua excreção. Neste sentido, o trato gastro-intestinal apresenta uma função essencial na regulação das concentrações corpóreas de zinco (Tapiero e Tew, 2003). Após ser absorvido, o zinco atinge a corrente sanguínea e então, pode se unir a aminoácidos, como a cisteína e histidina (1%), ou a proteínas, como

albumina (84%), e a  $\alpha$ 2-macroglobulina (14%). Desta forma, o zinco pode ser captado pelas células por três mecanismos: i) através de um co-transporte zinco-albumina, sendo a ligação do zinco acontecendo em um receptor saturável; ii) por um co-transporte com ligantes, principalmente à albumina e a histidina, aonde o zinco se liga a um receptor não saturável; iii) por um mecanismo sódio/ aminoácidos quando o zinco está ligado a aminoácidos, como a cisteína e a histidina (Tapiero e Tew, 2003).

A afinidade do zinco pelos seus ligantes no plasma sanguíneo é extremamente importante para o seu transporte através da barreira hematoencefálica. A esse respeito um estudo com ratos mutantes que não expressavam albumina, demonstrou que esta proteína plasmática não é essencial no transporte do zinco para o sistema nervoso central (SNC) (Takeda et al., 1997). Entretanto, estudos *in vivo* e *in vitro* têm demonstrado que a L-histidina é essencial para o transporte do zinco ao SNC, via barreira hematoencefálica. A histidina parece então transferir o zinco para proteínas de membrana, como as proteínas transportadoras de cátions divalentes I (DMT-1), e/ ou para transportadores de zinco ainda não identificados nas células capilares do encéfalo (Takeda, 2000).

Dentro das células, 30 a 40% do zinco está localizado no núcleo, 50% no citosol e organelas citoplasmáticas e o restante está associado a proteínas de membrana (Tapiero e Tew, 2003) e assim regula diversas proteínas associadas a uma variedade de atividades celulares (Eom et al., 2001). O zinco é extremamente necessário a mais de 300 proteínas enzimáticas, pois o mesmo pode apresentar uma função catalítica, co-ativa (co-catalítica) ou estrutural para estas enzimas. Dentro deste grupo de enzimas dependentes de zinco incluem-se a DNA e RNA polimerase (enzimas essenciais aos processos de replicação e transcrição), metaloproteínases, e enzimas do metabolismo intermediário, como a piruvato carboxilase e a lactato desidrogenase (Valee e Falchuck, 1993; Valee e Auld, 1995; Takeda, 2000; Tapiero e Tew, 2003).

Ainda, o zinco interfere na atividade de diversas outras enzimas, modulando, assim, cascatas de sinalização intracelular. De acordo com a sua concentração, o zinco modula a atividade da proteína

quinase dependente do complexo Cálcio/ Calmodulina 2 (CAMK-II). Níveis fisiológicos de zinco ativam a enzima de forma independente do complexo cálcio/calmodulina, e impedem a formação do complexo Cálcio/ Calmodulina, enquanto níveis elevados de zinco inibem a função de CAMK-II (Lengyel et al., 2000). O zinco parece regular a atividade da proteína quinase C (PKC). Concentrações nanomolares parecem ativar a PKC e causar o deslocamento da enzima para a membrana plasmática (Beyersmann e Haase, 2001). O zinco, ainda, parece inibir a atividade da glicogênio sintase quinase-3 $\beta$  (Ilouz et al., 2002). Além disso, o zinco pode ser um componente estrutural ou modulatório de proteínas regulatórias e fatores de transcrição (Valee e Falchuck, 1993; Beyersmann e Haase, 2001).

O zinco está envolvido na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular, prevenindo a peroxidação lipídica. O papel fisiológico do zinco como antioxidante é evidenciado por uma proteção de grupos sulfidrila contra oxidação e pela inibição da produção de espécies reativas de oxigênio. Ainda, o zinco participa da estrutura da enzima superóxido dismutase (SOD), sendo a atividade desta enzima reduzida pela deficiência deste metal (Vallee e Falchuck, 1993; Fairweather-Tait, 1988; Hasanoglu et al., 1994)

O zinco, também, é um importante modulador no sistema imune de mamíferos. O zinco regula as funções de linfócitos, tais como a mitogênese, síntese de anticorpos, ativação de células T e de células Natural Killer, e mais especificamente a imunidade celular (Antonioni et al., 1981; Fraker et al., 1986; Kirchner e Ruhl, 1970; Luecke et al., 1978; Prasad, 1983). Além disso, o zinco modula a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias (Bao et al., 2003), onde diminuições das concentrações de zinco parecem estar implicadas no aumento de alguns mediadores pró-inflamatórios, como o TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (Beck et al., 1997; Baum et al., 2000), e na diminuição de outros, como a IL-2 e IFN- $\gamma$  (Beck et al., 1997). Ainda algumas citocinas pró-inflamatórias como IL-4, IL-6 e IL-1 $\alpha$  não são afetadas pelo status do zinco (Beck et al., 1997). Assim sendo, existem evidências de que a suplementação com zinco reduz



o impacto de muitas doenças, pois promove melhora da função imune (Fraker et al., 2000; Rink e Kirchner., 2000).

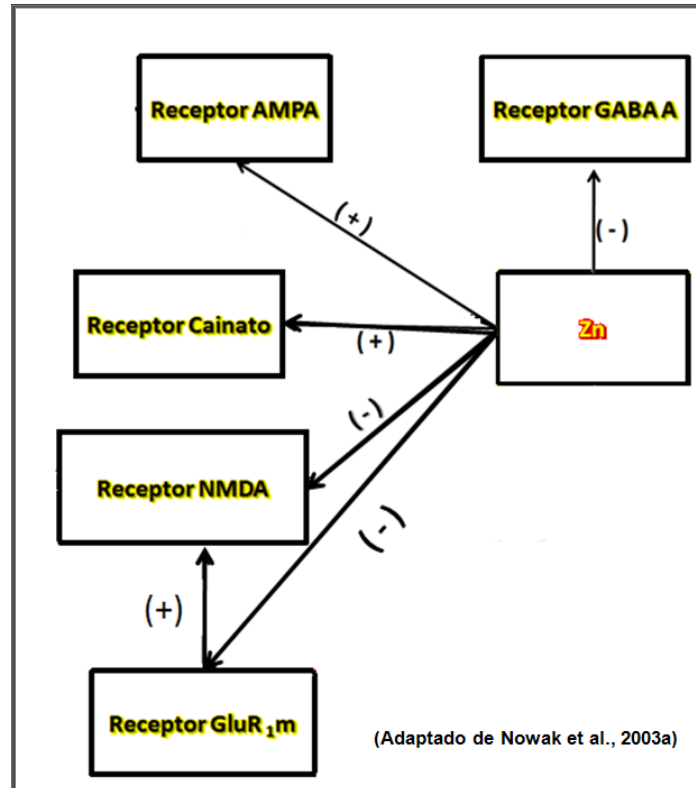
O zinco é encontrado em altas concentrações, em muitas regiões do sistema nervoso de mamíferos, particularmente no córtex, nas fibras musgosas do hipocampo e na glândula pineal (Choi e Koh, 1998; Barañano et al, 2001). No SNC aproximadamente 90% do zinco encontrado no encéfalo está presente junto às metaloproteínas (Cole et al., 1999; Takeda, 2000), entretanto este metal também é estocado em vesículas sinápticas e liberado nas fendas sinápticas mediante despolarização graduada no potencial de membrana, e, ainda, pode ser encontrado na forma livre (Choi e Koh, 1998; Barañano et al, 2001).

Após ser liberado na fenda sináptica, o zinco é captado pelas terminações pré e pós-sináptica (Howell et al., 1984), através de canais iônicos (Koh e Choi, 1994) ou de proteínas transportadoras específicas (Palmiter et al., 1996 a/b), sendo transportados de forma anterógrada ou retrógrada via sistema de transporte axonal dentro das células neurais, e eventualmente colocados em novas vesículas sinápticas (Wenzel et al., 1997; Vandenberg et al., 1998; Takeda, 2000).

No SNC a concentração intracelular do zinco é de 150  $\mu\text{M}$ , enquanto sua concentração extracelular é de 150  $\text{nM}$ . Devido a essa grande diferença de concentração desse cátion divalente entre o meio intracelular e o meio extracelular, cerca de 1000 vezes, foi sugerida a existência de um mecanismo dependente de energia para o influxo de zinco em neurônios e astrócitos (Vandenberg et al., 1998; Takeda, 2000). Por outro lado, Palmiter et al. (1996b) demonstraram a presença de algumas proteínas capazes de transportar o zinco para fora do compartimento intracelular neural. Estas proteínas foram denominadas como transportadores de zinco (ZnT-1, ZnT-2, e ZnT-4), responsáveis por manter o meio intracelular com baixas concentrações deste metal. Ao contrario dos seus homólogos o ZnT-3 é o responsável por transportar o zinco para dentro das vesículas sinápticas (Palmiter et al., 1996a; Weiss et al., 2000; Tapiero e Tew, 2003).

A concentração de zinco em vesículas glutamatérgicas é bastante alta, variando entre 300 a 350  $\mu\text{M}$  (Perez-Clausell e Danscher, 1985; Choi e Koh, 1998; Takeda, 2000; Barañano et al, 2001). Após uma despolarização, o zinco é liberado nos terminais pré-sinápticos glutamatérgicos juntamente com o glutamato, atingindo um pico de concentração na fenda sináptica de 10 a 100  $\mu\text{M}$  (Vogt et al., 2000). O zinco liberado no espaço extracelular produz uma série de efeitos modulatórios na neurotransmissão, sendo a inibição do receptor de glutamato ionotrópico NMDA um de seus efeitos mais marcante (Choi e Koh, 1998). O zinco inibe os receptores NMDA por mecanismo voltagem dependente, similar ao do magnésio, ou por mecanismo independente de voltagem (Christine e Choi, 1990; Choi e koh, 1998; Choi e Lipton, 1999; Takeda, 2000) Ainda, o zinco parece estar implicado na potencialização das respostas mediadas pelos receptores ionotrópicos de Glutamato AMPA e cainato (Nowak e Szewczyk, 2002). A permeabilidade do zinco é específica para cada tipo de canal iônico, e assim proporciona uma alteração na expressão de algumas proteínas intracelulares. (Sensi et al., 1999; Weiss et al., 2000). Além disso, o zinco apresenta uma ação inibitória nos receptores metabotrópicos de Glutamato do grupo 1 (Nowak e Szewczyk, 2002).

Além da modulação do sistema glutamatérgico, está sendo reportado um importante papel inibitório do zinco sobre os receptores  $\text{GABA}_A$ , principal receptor inibitório do SNC. O zinco inibe a função destes receptores por um mecanismo alostérico dependente da especificidade das combinações conformacionais das subunidades do receptor. Assim, receptores com combinações das subunidades  $\alpha\beta$  demonstram alta sensibilidade ao zinco, enquanto receptores que apresentam a combinação das subunidades  $\alpha\beta\gamma$  apresentam uma menor sensibilidade ao metal de transição zinco (Hosie et al., 2003).



**Figura 1. Efeito modulatório do zinco em sistemas de neurotransmissão.**

Ainda, o zinco tem uma atuação dual marcante na regulação da morte celular no SNC. O zinco pode exercer um papel tanto neurotóxico, quanto neuroprotetor, dependendo de sua concentração, da estrutura cerebral e do modelo experimental (Chen e Liao, 2003). Alguns estudos apontam que em concentrações elevadas no SNC o zinco é neurotóxico (Koh et al., 1996; Park e Koh, 1999; Horning et al., 2000; Sheline et al., 2000; Chen e Liao, 2003). A neurotoxicidade do zinco parece estar relacionada com a entrada deste metal na forma livre nos neurônios pós-sinápticos através dos canais de cátions divalentes ativados na presença de glutamato (Weiss et al., 2000), e assim está sendo implicado em patologias do SNC como o Alzheimer, Parkinson e Epilepsia, além de distúrbios comportamentais como anorexia, dificuldades de aprendizagem e alterações de funções cognitivas. (Takeda 2000; Bush, 2003; Zatta et al., 2003). Entretanto alguns estudos elucidam o papel neuroprotetor de concentrações fisiológicas de zinco em relação à morte neuronal. Esta neuroproteção do zinco suporta a teoria que a

liberação sináptica de zinco, inibindo os receptores NMDA, regula a neurotoxicidade provocada pelo excesso de Glutamato (Dominguez et al., 2003). Além disso, é reportado que o zinco é essencial na regulação da neurogênese, migração neuronal e formação de sinapses (Bhatnagar e Taneja, 2001).

Assim sendo, concentrações fisiológicas de zinco influenciam os processos bioquímicos de catálise enzimática, síntese de DNA, expressão gênica, divisão, proliferação, diferenciação, balanço oxidante, função imunológica, neurotransmissão, sinalização celular e neurogênese (Prasad et al., 1982; Frederickson et al., 2000, Powell, 2000; Takeda, 2000). Enquanto que o excesso de zinco livre nas células corporais pode representar toxicidade (Choi e Koh, 1998) e causar a morte celular (Koh e Choi, 1994; Manev et al., 1997; Lobner et al., 2000; Marin et al., 2000).

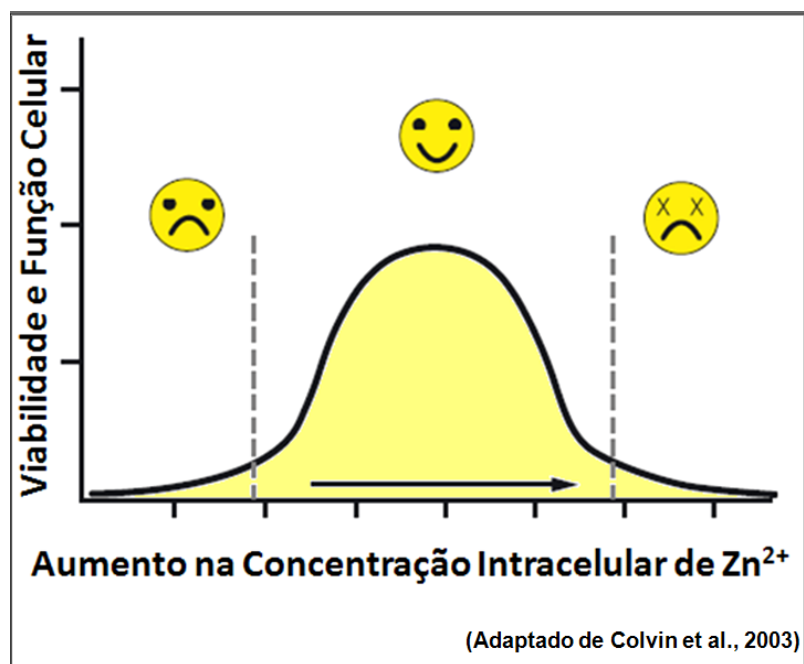


Figura 2. Efeito da concentração intracelular de zinco na viabilidade e função celular.

### 1.2.1 Zinco e depressão

Estudos recentes têm demonstrado que o tratamento agudo e crônico com o zinco (i.p.) produz um efeito tipo-antidepressivo em roedores no TNF e no TSC (Krocicka et al., 2000, 2001; Nowak et al., 2003b; Rosa et al., 2003). Acrescentando, Rosa et al. (2003) demonstraram o envolvimento da inibição dos receptores NMDA no efeito tipo-antidepressivo do zinco no TNF. Ainda, em um estudo pré-clínico utilizando o modelo de bulbectomia olfatória, modelo de indução de depressão realizado através da excisão neural do bulbo olfatório, os tratamentos repetido, ou agudo com hidroaspartato de zinco mostraram perfis antidepressivos (Nowak et al., 2003a). Acrescentando, Brocardo et al. (2007) demonstraram que o zinco atenua os efeito tipo-depressivo induzido pelo organofosforado malation em ratos.

Estudos clínicos também sugerem um potencial antidepressivo da suplementação feita com zinco, bem como uma melhora na rapidez da eficácia terapêutica antidepressiva. Assim, um estudo clínico demonstrou que a associação de antidepressivos padrões com uma suplementação de zinco reduziu os escores da escala de Hamilton de depressão, tanto após a sexta semana, quanto após a décima segunda semana após o início do tratamento, comparada aos tratamentos utilizando apenas os antidepressivos clássicos (Nowak et al., 2003b). Outros estudos clínicos têm demonstrado que pacientes deprimidos apresentam baixos níveis de zinco no plasma sanguíneo (hipozincemia), e que após o tratamento com antidepressivos clássicos os níveis de zinco voltam aos valores considerados normais (Maes et al., 1994; 1997; 1999; Nowak e Szewczyk, 2002). Além disso, é reportado que o nível plasmático de zinco em indivíduos recuperados de quadros depressivos está aumentado em relação ao grupo dos deprimidos (MacLoughlin e Hodge, 1990; Narang et al., 1991). Acrescentando, em um estudo pré-clínico com ratos foi verificado que o tratamento com imipramina, ou citalopram, ou choque eletro-convulsivo (ECT), promoveu um aumento nas concentrações hipocâmpais e séricas de zinco (Nowak e Schlegel-Zawadzka, 1999). Sabe-se também que a deprivação de zinco na dieta de

camundongos promove um comportamento tipo-depressivo no TNF e no TSC e este é revertido pela administração de desipramina (Whittle et al., 2009). Neste sentido, o zinco parece ter um papel fundamental na modulação do humor.

Evidências Clínicas		Evidências Pré-Clinicas	
Parâmetro	Efeito	Parâmetro	Efeito
<u>Concentração de Zinco</u>		<u>Deprivação de Zinco</u>	Depressivo (8)
Depressão	↓ Sérico (1); (2); (3) (4); (5) e (6)	<u>Modelos Animais de Depressão</u>	
Depressão + Tratamento Não Efetivo	↓ Sérico (3)	Estresse Crônico Imprevisível	Efetivo (9)
Depressão + Tratamento Efetivo	↔ Sérico (3) e (7)	Bulbectomia Olfatória	Efetivo (6)
		Depressão Induzida por Malation	Efetivo (10)
		<u>Testes Preditivos de Ação Antidepressiva</u>	
		Teste da Suspensão da Cauda	Efetivo (11)
		Teste do Nado Forçado	Efetivo (12; 13)
Depressão + Suplementação com Zinco + Tratamento Antidepressivo	<i>IDB</i> Melhora (14) <i>EDH</i> Melhora (14)	Zinco + Antidepressivos (Doses Subefetivas no TNF)	Efetivo (15)

(Adaptado de Nowak et al., 2005)

**Tabela 1. Evidências clínicas e pré-clínicas do envolvimento do zinco na patofisiologia e tratamento da depressão.** ↓ - Diminuição; ↔ - Nenhuma alteração em relação ao respectivo controle. *IDB*: Inventário de Depressão de Beck; *EDH*: Escala de depressão de Hamilton. (1) – Manser et al., 1989 (2) – Maes et al., 1994; (3) – Maes et al., 1997; (4) – Maes et al., 1999; (5) - Nowak et al., 1999; (6) – Nowak et al., 2003a; (7) - Schlegel-Zawadzka et al., 2000; (8) - Whittle et al., 2009; (9) - Ossowska et al., 2003; (10) - Brocardo et al., 2007; (11) – Rosa et al., 2003; (12) - Krocicka et al., 2000; (13) - Krocicka et al., 2001; (14) – Nowak et al., 2003b; (15) – Szweczyk et al., 2002.

## 2. Justificativa

Considerando que: a) a depressão apresenta uma alta incidência na população mundial (Musselman et al., 1998; Berton e Nestler, 2006), com impacto na função social e na qualidade de vida de pacientes (Nestler e Carlezon, 2006; Nemeroff, 2007); b) o tratamento com antidepressivos convencionais (tricíclicos, inibidores da monoamina oxidase (MAO), inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina (ISRN)) promove uma completa remissão para cerca de 50% dos indivíduos, (Nestler et al., 2002; Rush et al., 2003); c) a terapia antidepressiva produz inúmeros efeitos colaterais (Brunello et al., 2002), reduzindo, assim, a adesão de pacientes ao tratamento (MacGillivray et al., 2003; Sleath et al., 2003); d) a depressão exibe co-morbidade com outras desordens como a ansiedade (Clark et al., 1995), existe uma grande necessidade do desenvolvimento de terapias antidepressivas alternativas ou de substâncias que possam aumentar a eficácia clínica no tratamento convencional da depressão. Neste sentido a administração de cloreto de zinco, bem como sua co-administração com antidepressivos tem sido proposta como novas alternativas antidepressivas (Szewczyk et al., 2002; Nowak et al., 2003a/b).

Portanto, este trabalho tem o intuito de, primeiramente, investigar o efeito antidepressivo do zinco administrado por via oral no teste de suspensão da cauda, teste preditivo de atividade antidepressiva (Steru et al., 1985; Cryan et al., 2005, 2007) e, secundariamente, examinar o possível efeito tipo-antidepressivo sinérgico da administração combinada de doses sub-efetivas de zinco e antidepressivos em diferentes classes: tricíclicos (imipramina e desipramina), inibidores seletivos da recaptação de serotonina (fluoxetina e paroxetina), e inibidores da recaptação de dopamina (bupropiona). Além disto, o estudo buscou analisar o comportamento dos animais administrados com antidepressivos ou  $ZnCl_2$  sozinhos ou em combinação no teste do campo aberto e assim descartar que evidenciar estratégias farmacológicas que possam estar atuando de forma efetiva tanto na depressão quanto na ansiedade.

### 3. Objetivos

#### 3.1. Objetivo geral

Investigar o efeito da interação entre  $ZnCl_2$  e antidepressivos no teste da suspensão da cauda (TSC) e no teste do campo aberto.

#### 3.2. Objetivos específicos:

- a) Verificar o efeito de  $ZnCl_2$ , administrado pela via oral (p.o.) no TSC em camundongos.
- b) Verificar o efeito de  $ZnCl_2$  administrado pela via p.o., em curva tempo-resposta no TSC.
- c) Investigar o efeito de  $ZnCl_2$  na atividade locomotora de camundongos no teste do campo aberto.
- d) Verificar o efeito dos antidepressivos clássicos (fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina, e bupropiona), administrado pela via p.o., no TSC em camundongos.
- e) Investigar o efeito da interação entre  $ZnCl_2$  e antidepressivos clássicos (fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina, e bupropiona), administrados p.o., em doses sub-efetivas, no TSC.
- f) Investigar a interação de  $ZnCl_2$  e antidepressivos clássicos (fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina, e bupropiona) na atividade locomotora no teste do campo aberto.
- g) Investigar os possíveis efeitos da interação entre  $ZnCl_2$  e antidepressivos clássicos (fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina, e bupropiona) na atividade exploratória vertical (rearing) e no comportamento de auto-limpeza no teste do campo aberto.



## 4. Materiais e Métodos

### 4.1. Animais

Para os experimentos foram utilizados camundongos machos *Swiss*, pesando entre 30-45 g, com 45-70 dias de vida. Os animais foram mantidos a temperatura de 22-25°C com livre acesso à água e comida, em ciclo claro/escuro 12:12 h (ciclo claro iniciando às 7:00 h). Todos os experimentos foram realizados entre 11:00 e 17:00 h, com cada animal usado somente uma vez (N = 5-12 animais por grupo). Animais foram ambientados no local da experimentação 24 horas antes da observação comportamental. Os camundongos foram distribuídos de forma aleatória nos grupos experimentais. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica.

### 4.2. Drogas e tratamento

As seguintes drogas foram usadas: Cloreto de Zinco (Merck, Germany), fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina, e bupropiona (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, U.S.A.). Todas as drogas foram diluídas em água destilada e administradas por via oral (p.o.) por gavagem em um volume constante de 10 ml/kg de peso corporal. Animais controles receberam os veículos apropriados (água destilada). Comida e água foram retiradas uma hora antes do início das administrações das drogas. As drogas ou veículo foram administrados 1 hora antes dos testes comportamentais (TSC ou teste do campo aberto). As doses de cloreto de zinco ( $ZnCl_2$ ) empregadas neste estudo (1-30 mg/kg) foram baseadas em um estudo prévio aonde o zinco foi administrado intraperitonealmente (Rosa et al., 2003).

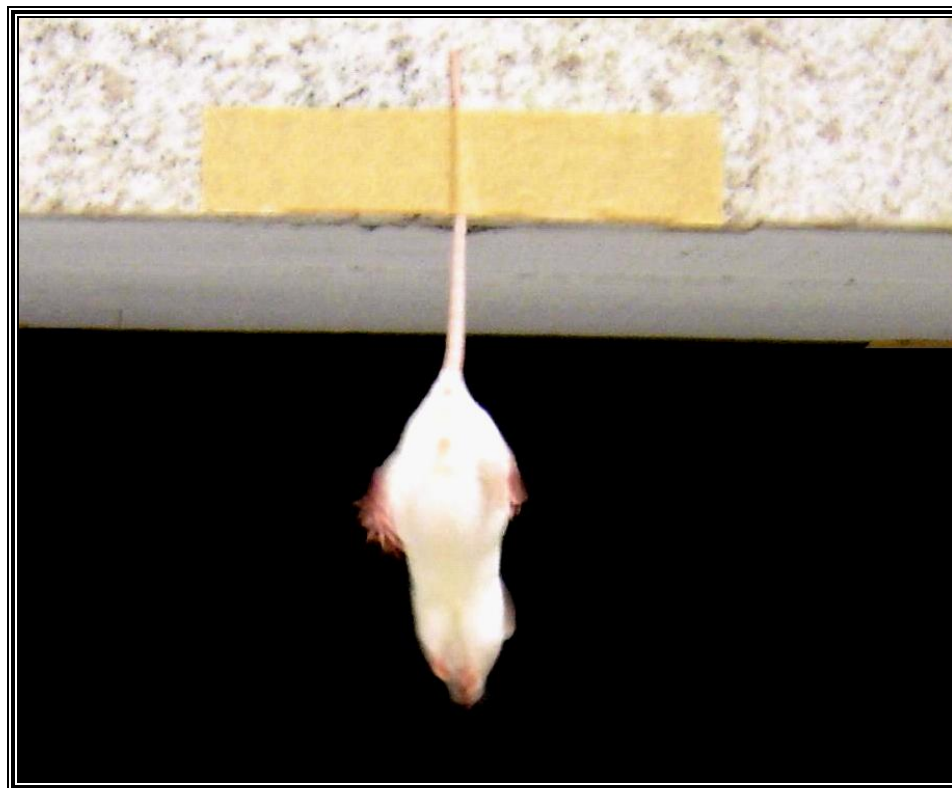
Além disso, nos estudos que visam analisar o efeito sinérgico de doses sub-efetivas de cloreto de zinco com doses sub-efetivas de antidepressivos no TSC, e teste do campo aberto, a

administração de  $ZnCl_2$  ou veículo foi seguida imediatamente pela administração de drogas antidepressivas ou veículo, uma hora antes dos testes comportamentais.

### **4.3. Testes comportamentais**

#### **4.3.1. Teste da suspensão da cauda (TSC)**

O teste da suspensão da cauda é um modelo amplamente utilizado para analisar a atividade tipo-antidepressiva de compostos farmacológicos em camundongos. O teste é baseado no fato que animais que são submetidos a curtos períodos de estresse inescapável pela suspensão de sua cauda tendem a desenvolver uma postura imóvel. O tempo total de duração da imobilidade foi medido de acordo com o método Steru et al. (1985). Os camundongos acústica e visualmente isolados foram suspensos 50 cm acima do chão por fita adesiva e a imobilidade foi registrada durante 6 minutos (Figura 3). Os camundongos são considerados imóveis somente quando eles estão completamente parados. Os antidepressivos reduzem o tempo de imobilidade neste teste (Steru et al., 1985; Rodrigues et al., 2002; Mantovani et al., 2003, Cryan et al., 2005; Machado et al., 2007, 2008). Os animais foram analisados por um observador “cego” acerca das drogas utilizadas no tratamento.



**Figura 3. Teste da Suspensão da Cauda (TSC)**

#### **4.3.2. Teste do campo aberto (TCA)**

Desde seu desenvolvimento por Calvin Hall (Hall, 1934, 1936), o TCA é utilizado como uma ferramenta importante nas pesquisas comportamentais. A fim de excluir a possibilidade de que a diminuição do tempo de imobilidade no TSC seja devido a uma estimulação motora, os animais foram submetidos ao TCA, conforme descrito anteriormente (Rodrigues et al., 1996).

As respostas de levantamento (“rearing”) foram verificadas TCA. O comportamento de diminuição das respostas de cruzamentos associado a uma diminuição no número de respostas de levantamento é considerado um efeito sedativo, enquanto que um aumento no número de respostas de levantamento associado a um aumento no número de cruzamentos é considerado um efeito estimulante (Prut e Belzung, 2003).

Além disso, o perfil comportamental de auto-limpeza dos animais foi verificado neste teste. O comportamento de auto-limpeza normalmente se reflete em um movimento de lambidas em direção céfalo-caudal visando a limpeza da cabeça, patas, cauda, e genitálias (VanErp et al., 1994; Kruk et al., 1998; Kalueff, 2002). A literatura reporta que drogas benzodiazepínicas (ansiolíticas) diminuem o número de auto-limpeza de animais submetidos a estes testes, sugerindo que este parâmetro comportamental seja uma ferramenta importante na detecção de drogas com potencial ansiolítico (Jolles et al., 1979).

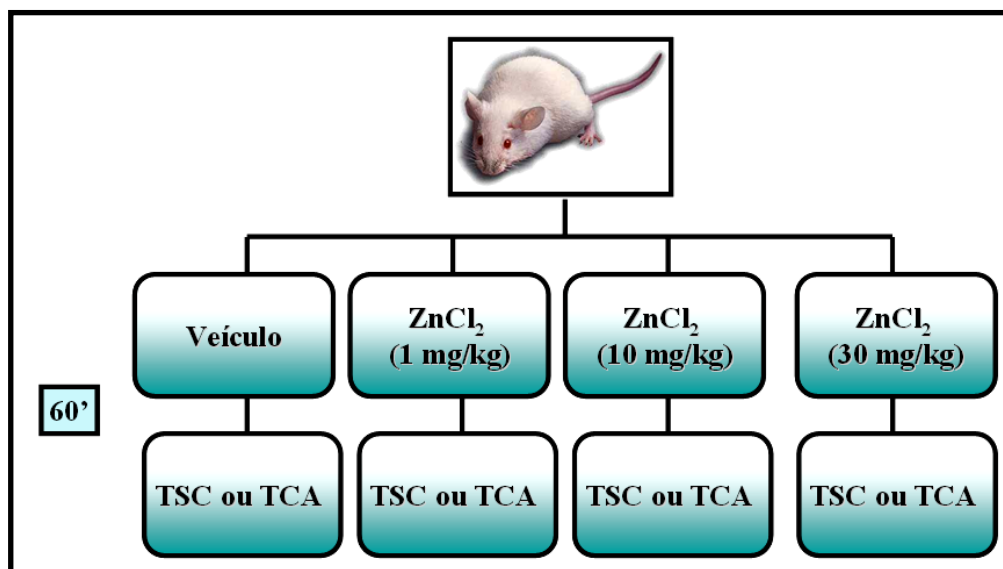
O TCA foi realizado em uma caixa de madeira medindo 40x60x50 cm, com o chão dividido em 12 quadrantes iguais. O número de quadrantes cruzados com todas as patas, levantamentos (“rearing”), e respostas de auto-limpeza foram mensurados em uma sessão de 6 minutos (Figura 4). As respostas comportamentais foram registradas por um observador “cego” para o tratamento. O chão do aparato utilizado no TCA foi limpo com etanol 10% entre as sessões.



**Figura 4. Teste do campo aberto (TCA).** A: visão frontal do aparato, B: visão superior do aparato, C: camundongo realizando levantamento (“rearing”); D: camundongo realizando auto-limpeza.

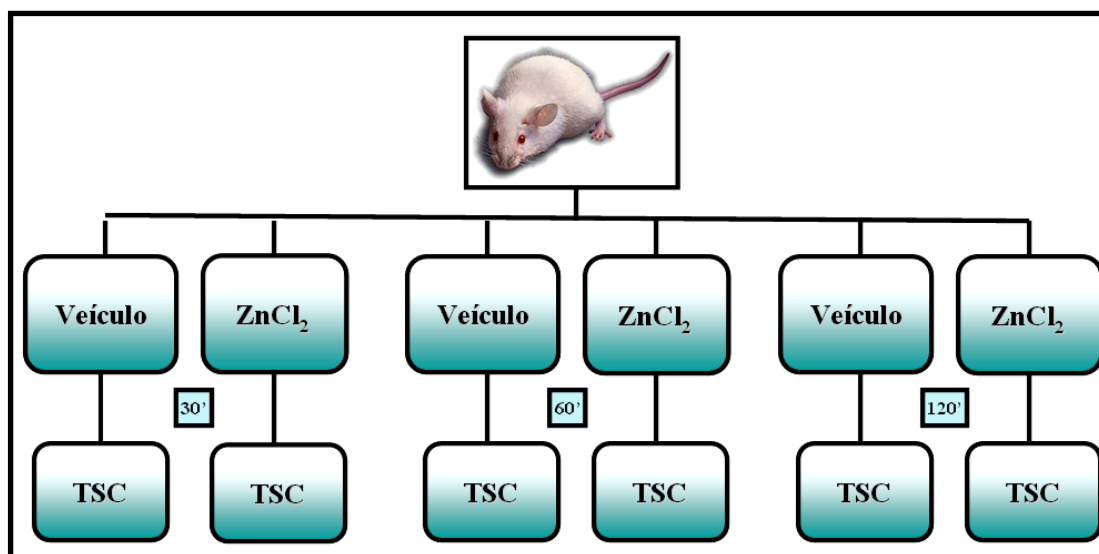
## 4.4. Protocolo experimental

### 4.4.1 Curva de doses crescentes de cloreto de zinco ( $\text{ZnCl}_2$ )



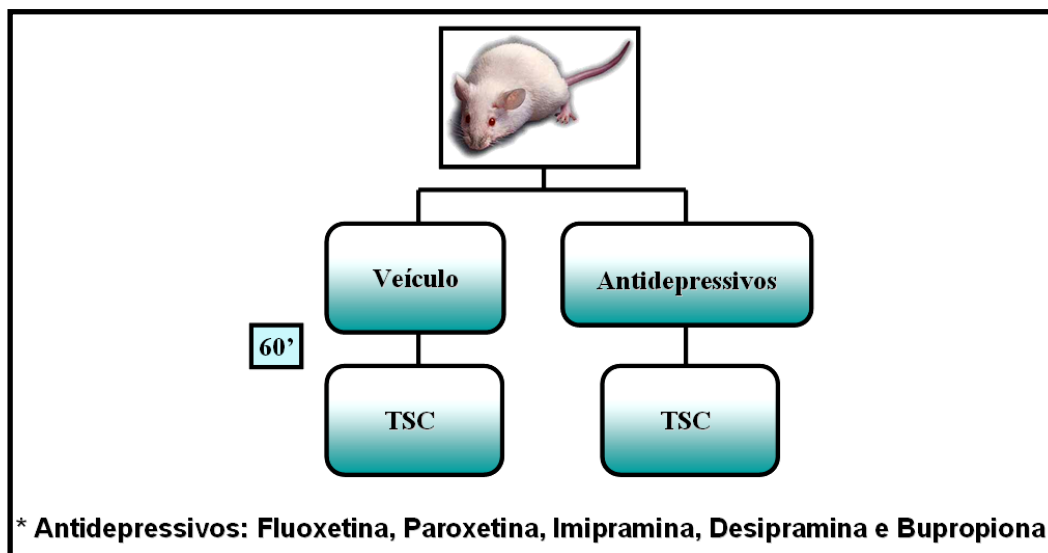
**Figura 5.** Esquema da curva de doses crescentes de  $\text{ZnCl}_2$  no TSC e TCA.  $\text{ZnCl}_2$  foi administrado nas doses de 1; 10 e 30 mg/kg p.o., sessenta minutos antes do TSC. O grupo controle recebeu o tratamento com água destilada por via oral.

### 4.4.2 Curva tempo-resposta da administração de $\text{ZnCl}_2$



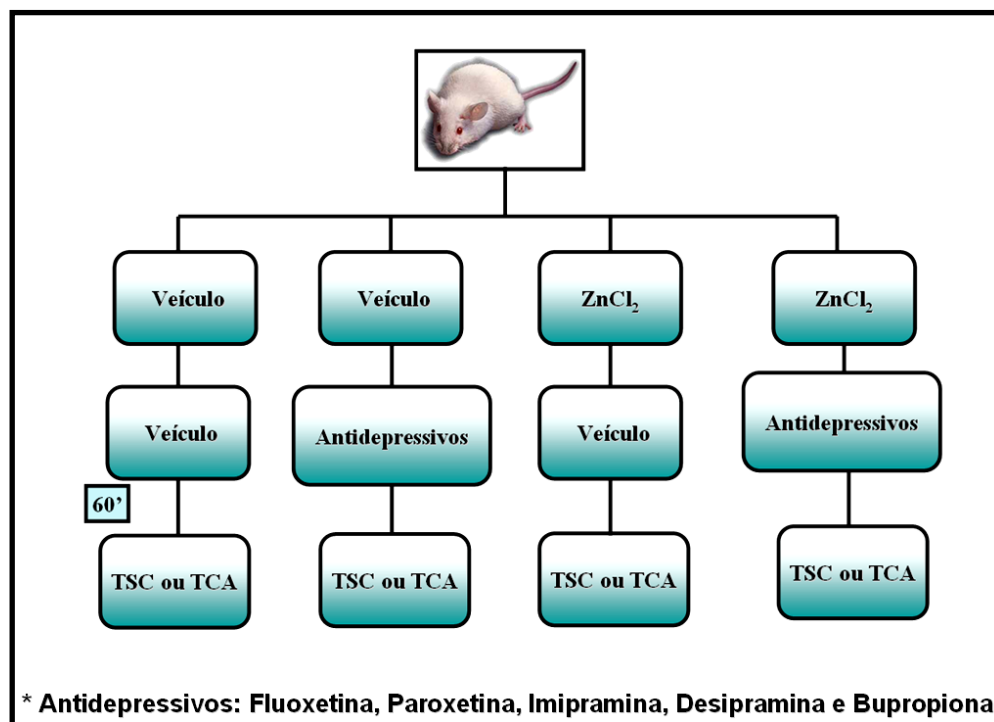
**Figura 6.** Esquema da curva tempo-resposta da administração de  $\text{ZnCl}_2$  no TSC.  $\text{ZnCl}_2$  (30 mg/kg p.o.) ou o veículo (água destilada) foram administrados 30, 60 ou 120 minutos antes do TSC.

#### 4.4.3 Curvas de doses crescentes de antidepressivos convencionais



**Figura 7. Esquema da curva de doses crescentes de antidepressivos convencionais no TSC.** Fluoxetina (5 e 10 mg/kg); Paroxetina (0,1 e 1 mg/kg); Imipramina (0,1 e 1 mg/kg); Desipramina (0,1 e 1 mg/kg); e Bupropiona (1 e 10 mg/kg) foram utilizadas. O grupo veículo recebeu o tratamento com água destilada. Todos os tratamentos foram realizados 60 minutos antes do TSC.

#### 4.4.4 Potencial sinérgico antidepressivo do tratamento combinado com $ZnCl_2$ e antidepressivos convencionais



**Figura 8. Esquema da interação de  $ZnCl_2$  e antidepressivos convencionais no TSC e no TCA.** As doses subefetivas de  $ZnCl_2$  (1 mg/kg), fluoxetina (5 mg/kg), paroxetina (0,1 mg/kg), imipramina (0,1 mg/kg), desipramina (0,1 mg/kg) e bupropiona (1 mg/kg) no TSC foram utilizadas. Os animais receberam o pré-tratamento com  $ZnCl_2$  ou veículo (água destilada) e imediatamente após esta administração receberam o tratamento com antidepressivo (fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina ou bupropiona) ou veículo (água destilada). As co-administrações aconteceram sessenta minutos antes do TSC.

#### 4.5. Análise estatística

Os resultados estão apresentados como média + E.P.M. Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, conforme o protocolo experimental, seguida do teste *post-hoc* de Tukey (HSD), quando apropriado. Foram considerados significativos os valores de  $P < 0,05$ .

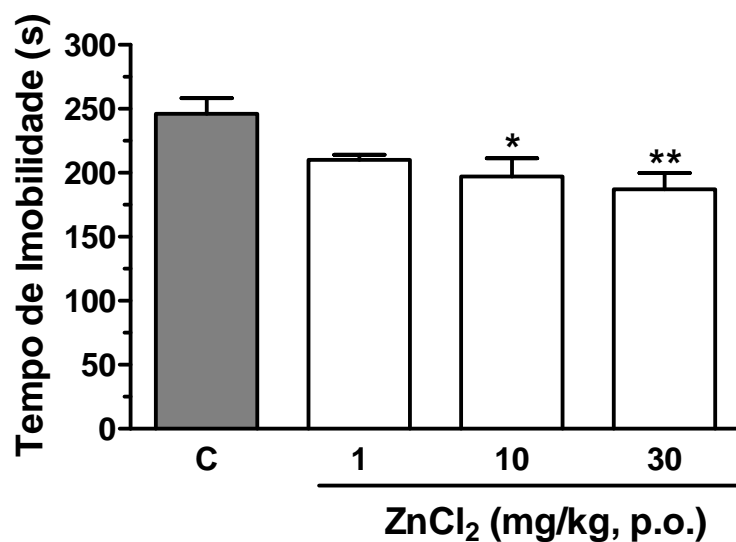


---

## 5. Resultados

### 5.1. Efeito da administração oral de $ZnCl_2$ no tempo de imobilidade no TSC

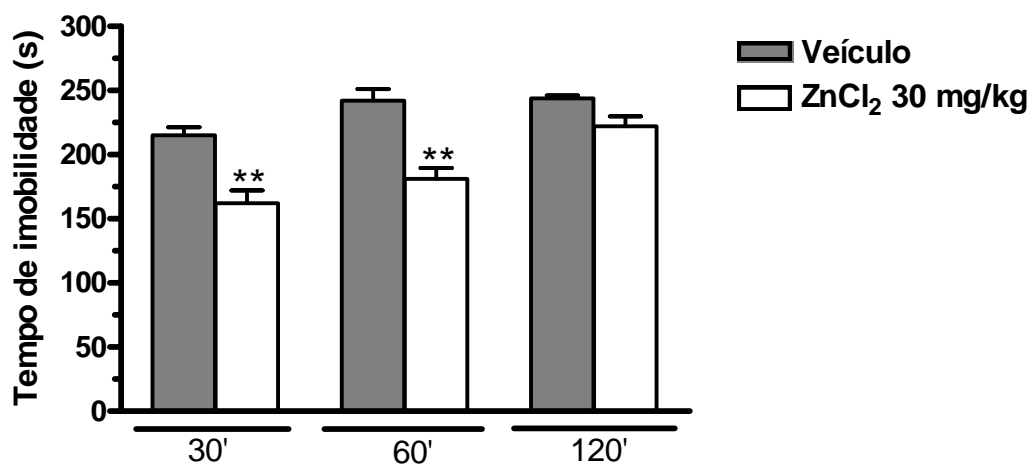
Camundongos administrados com  $ZnCl_2$  nas doses de 1, 10, 30 mg/kg, p.o. foram testados no TSC (Figura 9).  $ZnCl_2$  nas doses de 10 e 30 mg/kg reduziu significativamente o tempo de imobilidade no TSC, comparado com o grupo controle tratado com o veículo (19,9% e 24% de redução, respectivamente) e não teve efeito na dose de 1 mg/kg. A ANOVA de uma via revelou um efeito significativo do tratamento com  $ZnCl_2$ . [ $F(3,18)=4,62$ ;  $P<0,05$ ]. Considerando estes dados, o potencial efeito sinérgico do zinco com antidepressivos, ambos em doses sub-efetivas foi verificado em estudos subsequentes.



**Figura 9. Efeito do tratamento com doses crescentes de ZnCl<sub>2</sub> por via oral sobre o tempo de imobilidade no TSC.** ZnCl<sub>2</sub> foi administrado nas doses de 1; 10 e 30 mg/kg p.o., 60 minutos antes do TSC. O grupo controle recebeu o tratamento com água destilada por via oral. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7). \*P<0,05, \*\*P<0,01 quando comparado com o grupo controle (C).

## 5.2. Efeito da administração oral de $ZnCl_2$ em curva tempo-resposta no TSC

Camundongos foram testados no TSC 30', 60', ou 120' após a administração com  $ZnCl_2$  na dose de 30 mg/kg, p.o. ou veículo (Figura 10). A ANOVA de uma via revelou um efeito significativo do tratamento com  $ZnCl_2$  [ $F(5,28)=16,22$ ,  $P<0,01$ ]. O teste post-hoc mostrou uma redução significativa no tempo de imobilidade no TSC nos animais testados 30' e 60' após a administração com  $ZnCl_2$  (30 mg/kg, p.o.) (24,65% e 25,25% de redução, respectivamente). O tempo de análise comportamental de 60' após a administração de  $ZnCl_2$  foi utilizado nos experimentos subsequentes, visto que nesse tempo se obteve uma maior diminuição percentual da imobilidade em relação ao controle tratado com o respectivo veículo e que importantes alvos celulares levam mais tempo para serem ativados.

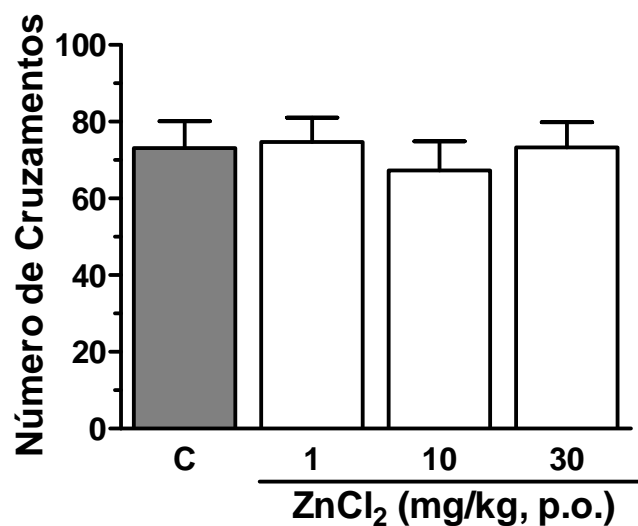


**Figura 10. Efeito do tratamento com ZnCl<sub>2</sub> no TSC, em curva tempo-resposta.** ZnCl<sub>2</sub> (30 mg/kg p.o.) ou o veículo (água destilada) foram administrados 30, 60 ou 120 minutos antes do TSC. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7). \*\*\*P<0,01 quando comparado com o respectivo grupo controle (veículo).

---

### **5.3. Efeito da administração oral de ZnCl<sub>2</sub> na locomoção horizontal no teste do campo aberto**

A Figura 11 mostra que a administração de ZnCl<sub>2</sub> nas doses 1, 10 e 30 mg/kg, p.o. não alterou a atividade locomotora no teste do campo aberto (Figura 3), como revelado pela ANOVA de uma via [ $F(3,23) = 1,09; P=0,37$ ]. Considerando os resultados do TSC e do teste do campo aberto, a dose de 1 mg/kg de ZnCl<sub>2</sub> foi escolhida para ser utilizada nos estudos que avaliam a interação de ZnCl<sub>2</sub> com antidepressivos.



**Figura 11. Efeito do tratamento com doses crescentes de ZnCl<sub>2</sub> por via oral sobre o número de cruzamentos no TCA.** ZnCl<sub>2</sub> foi administrado nas doses de 1; 10 e 30 mg/kg p.o., 60 minutos antes do TCA. O Grupo controle recebeu o tratamento com água destilada. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7).

#### 5.4. Efeito da administração oral de antidepressivos clássicos no tempo de imobilidade no TSC

Com o intuito de se estabelecer as doses sub-efetivas da fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina e bupropiona no TSC, esses antidepressivos foram administrados por via oral 60 minutos antes do teste comportamental (Tabela 1). Fluoxetina e paroxetina, inibidores seletivos da recaptação de serotonina, nas doses de 10 mg/kg e 1 mg/kg, respectivamente, foram efetivos em reduzir o tempo de imobilidade no TSC (redução de 20,1% e 36,4% no tempo de imobilidade, respectivamente). Entretanto, quando a fluoxetina e a paroxetina foram administradas nas doses de 5 mg/kg e 0,1 mg/kg p.o., respectivamente, nenhum efeito foi observado. A ANOVA de uma via mostrou um significativo efeito do tratamento com fluoxetina [ $F(2,18)=8,15; P<0,01$ ] e paroxetina [ $F(2,15)= 22,02; P<0,01$ ].

Os antidepressivos tricíclicos imipramina e desipramina produziram um significativo efeito no TSC nas doses de 1 mg/kg p.o. (redução de 23,3% e 26,2% no tempo de imobilidade, respectivamente), entretanto a dose de 0,1 mg/kg de ambos os antidepressivos não produziu efeito significativo. A ANOVA de uma via revelou um significativo efeito do tratamento com imipramina [ $F(2,20) = 5,37; P<0,05$ ] e com desipramina [ $F(2,18)=9,77; P <0,01$ ]. Bupropiona, um inibidor da recaptação de dopamina, foi efetiva no TSC na dose de 10 mg/kg (redução de 27,4% no tempo de imobilidade), porém nenhum efeito foi observado quando bupropiona foi administrada na dose de 1 mg/kg. A ANOVA de uma via revelou um significativo efeito do tratamento com bupropiona [ $F(2,18)=4,30; P<0,05$ ].

Composto	Dose (mg/kg)	Tempo de Imobilidade(s)
<u>Veículo</u>	—	201.1 ± 6.9
<u>Fluoxetina</u>	5	222.4 ± 15.8
<u>Fluoxetina</u>	10	160.7 ± 7.94*
<u>Veículo</u>	—	252.3 ± 8.5
<u>Paroxetina</u>	0.1	217.3 ± 10.3
<u>Paroxetina</u>	1	160.5 ± 12.8*
<u>Veículo</u>	—	230.5 ± 8.6
<u>Imipramina</u>	0.1	190.3 ± 15.8
<u>Imipramina</u>	1	176.9 ± 12.3*
<u>Veículo</u>	—	230.6 ± 9.9
<u>Desipramina</u>	0.1	240.0 ± 10.1
<u>Desipramina</u>	1	170.3 ± 14.7*
<u>Veículo</u>	—	215.8 ± 17.8
<u>Bupropiona</u>	1	181.0 ± 8.2
<u>Bupropiona</u>	10	156.6 ± 15.9*

**Tabela 2. Efeito do tratamento com doses crescentes de antidepressivos clássicos por via oral sobre o tempo de imobilidade no TSC.** Fluoxetina (5 e 10 mg/kg); Paroxetina (0,1 e 1 mg/kg); Imipramina (0,1 e 1 mg/kg); Desipramina (0,1 e 1 mg/kg); e Bupropiona (1 e 10 mg/kg) foram utilizadas. O grupo veículo recebeu o tratamento com água destilada. Todos os tratamentos foram realizados 60 minutos antes do TSC. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7). \*P<0,05, quando comparado com o grupo controle (veículo).



## 5.5. Efeito da interação de $ZnCl_2$ com antidepressivos convencionais no tempo de imobilidade no TSC

Os efeitos da administração combinada de doses sub-efetivas de  $ZnCl_2$  com o ISRS fluoxetina no tempo de imobilidade de camundongos no TSC foi demonstrada na figura 12A. A combinação diminuiu, significativamente, o tempo de imobilidade, quando comparado ao veículo tratado com água destilada (23,6% de redução). A ANOVA de duas vias mostrou um significativo efeito para o tratamento com fluoxetina [ $F(1,22)=13,37$ ;  $P<0,01$ ] e para a interação fluoxetina X  $ZnCl_2$  [ $F(1,22)=7,86$ ;  $P < 0,05$ ], mas não para o tratamento com  $ZnCl_2$  [ $F(1,22)=2,44$ ;  $P=0,13$ ].

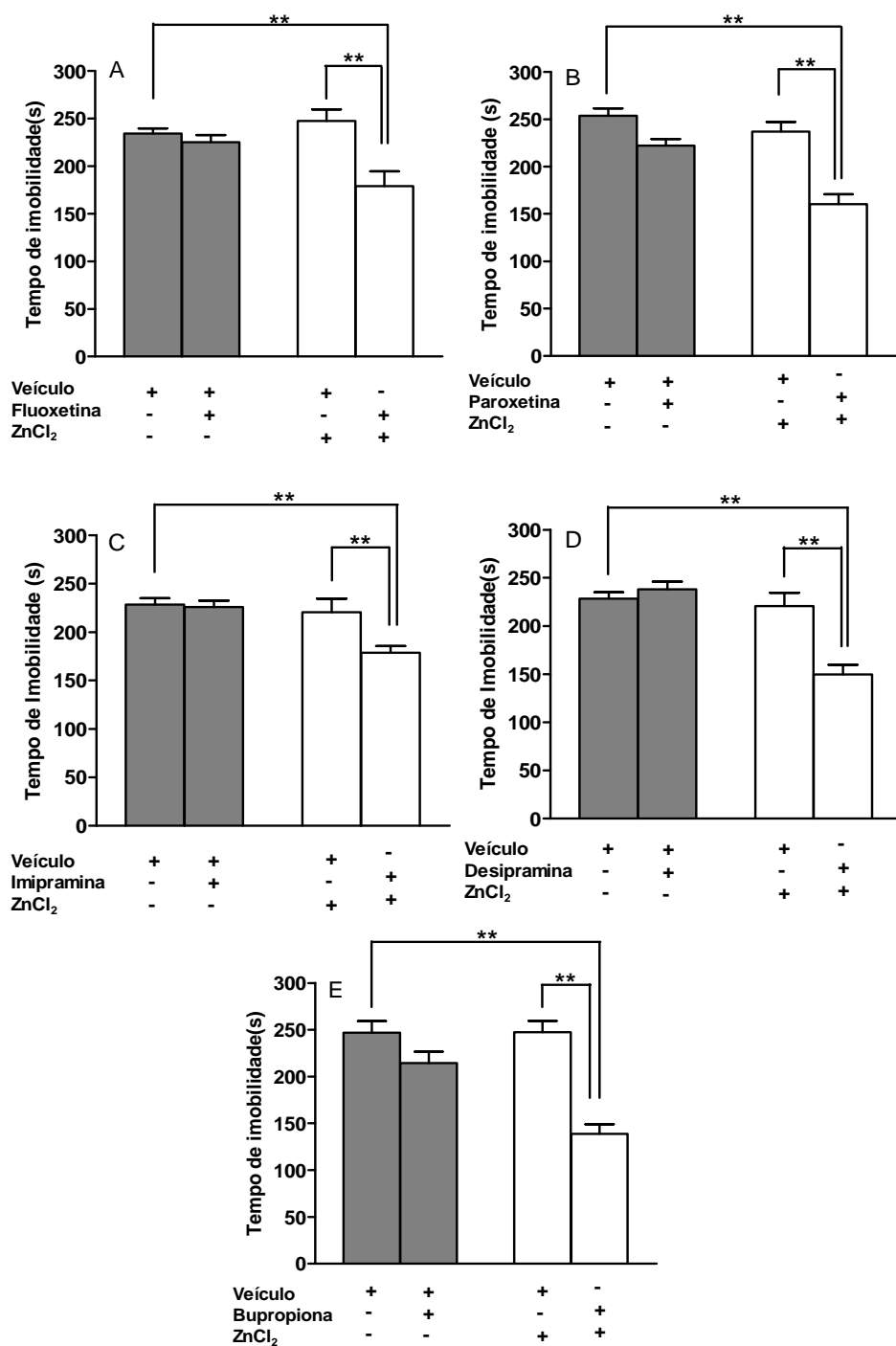
Paroxetina, outro antidepressivo ISRS, administrada em sua dose sub-efetiva no TSC (0,1 mg/kg, p.o.) associada com a dose sub-efetiva de  $ZnCl_2$  reduziu o tempo de imobilidade de camundongos submetidos ao TSC, comparado ao grupo controle tratado com veículo (36,8% de redução) (Figura 12B). A ANOVA de duas vias mostrou um significativo efeito para o tratamento com paroxetina [ $F(1,26)=33,45$ ;  $P<0,01$ ], com  $ZnCl_2$  [ $F(1,26)=17,69$ ;  $P<0,01$ ], e para a interação entre paroxetina X  $ZnCl_2$  [ $F(1,26) = 5,75$ ;  $P<0,05$ ].

O antidepressivo tricíclico imipramina administrado em sua dose sub-efetiva no TSC (0,1 mg/kg, p.o.) produziu um efeito anti-imobilidade sinérgico com  $ZnCl_2$ , em sua dose sub-efetiva (1 mg/kg, p.o.), (21,7% de redução comparada com o grupo controle tratado com o veículo). A ANOVA de duas vias demonstrou um significativo efeito para o tratamento com imipramina [ $F(1,23)=7,63$ ;  $P<0,05$ ], com  $ZnCl_2$  [ $F(1,23)=11,50$ ;  $P<0,01$ ] e para a interação entre imipramina X  $ZnCl_2$  [ $F(1,23)=6,14$ ;  $P<0,05$ ].

Outro antidepressivo tricíclico, desipramina, um inibidor preferencial da recaptação de noradrenalina, quando combinado em sua dose sub-efetiva (0,1 mg/kg) com a dose sub-efetiva de  $ZnCl_2$  (1 mg/kg) no TSC produziu um significativo efeito na diminuição do tempo de imobilidade (redução de 34,5% em relação ao grupo controle) (Figura 13D). A ANOVA de duas vias mostrou

um significativa efeito para o tratamento com desipramina [ $F(1,23)=10,11$ ;  $P<0,01$ ], com  $ZnCl_2$  [ $F(1,23)=25,14$ ;  $P<0,01$ ] e para a interação entre desipramina X  $ZnCl_2$  [ $F(1,23)=17,67$ ;  $P<0,01$ ].

O inibidor da recaptação de dopamina bupropiona, administrado em sua dose sub-efetiva (1 mg/kg), apresentou um potente efeito antidepressivo sinérgico quando combinado com  $ZnCl_2$  em dose sub-efetiva (1 mg/kg) no TSC (redução de 43,8% do tempo de imobilidade comparado ao grupo controle tratado com o veículo). A ANOVA de duas vias mostrou diferenças significativas para o tratamento com bupropiona [ $F(1,21)=35,14$ ;  $P<0,01$ ], com  $ZnCl_2$  [ $F(1,21)=9,94$ ;  $P<0,01$ ] e para a interação entre bupropiona X  $ZnCl_2$  [ $F(1,21)=10,21$ ;  $P<0,01$ ].



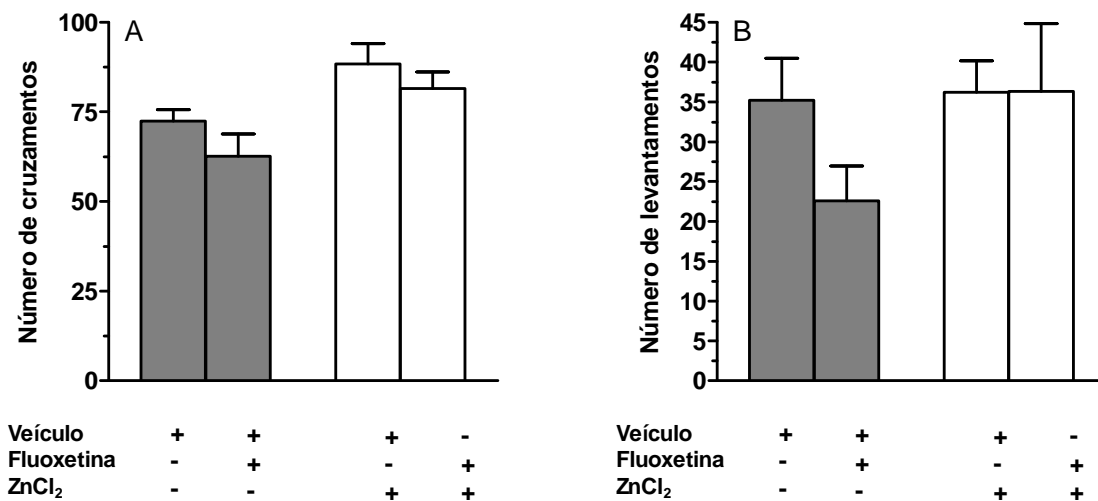
**Figura 12.** Efeito da co-administração de doses sub-efetivas de antidepressivos e ZnCl<sub>2</sub> por via oral sobre o tempo de imobilidade no TSC. Fluoxetina (5 mg/kg); Paroxetina (0,1 mg/kg); Imipramina (0,1 mg/kg); Desipramina (0,1 mg/kg); Bupropiona (1 mg/kg) e ZnCl<sub>2</sub> (1 mg/kg) foram utilizados. Os animais receberam o pré-tratamento com ZnCl<sub>2</sub> ou veículo (água destilada) e imediatamente após esta administração receberam o tratamento com antidepressivo (fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina ou bupropiona) ou veículo (água destilada). As co-administrações aconteceram 60 minutos antes do TSC. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7). \*\*P<0,01, quando comparado com o grupo indicado na figura.

## 5.6. Efeito da interação de $ZnCl_2$ e fluoxetina nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA

A figura 13 mostra o efeito da administração de  $ZnCl_2$  sozinho ou em combinação com a fluoxetina no comportamento locomotor e exploratório (horizontal e vertical) de camundongos no TCA. A locomoção horizontal no teste do campo aberto não foi alterada pela co-administração de  $ZnCl_2$  com fluoxetina (Figura 13A). A ANOVA de duas vias não mostrou diferença significativa do tratamento com fluoxetina [ $F(1,25)=1,28$ ;  $P=0,27$ ],  $ZnCl_2$  [ $F(1,25)=14,30$ ;  $P<0,01$ ], e da interação fluoxetina X  $ZnCl_2$  [ $F(1,25)=1,16$ ;  $P=0,29$ ].

Os resultados da figura 13B mostraram que o zinco sozinho ou em combinação com a fluoxetina não alterou o número de respostas de levantamentos no TCA. A ANOVA de duas vias não revelou efeito significativo do tratamento com fluoxetina [ $F(1; 17)=1,408$ ;  $P=0,25$ ],  $ZnCl_2$  [ $F(1; 17)=1,008$ ;  $P=0,33$ ] e da interação fluoxetina X  $ZnCl_2$  [ $F(1; 17)=1,052$ ;  $P=0,32$ ].

Esses resultados obtidos no teste do campo aberto indicam que  $ZnCl_2$  e fluoxetina em combinação não causaram alteração na atividade locomotora de camundongos, descartando um efeito psicoestimulante desta intervenção.



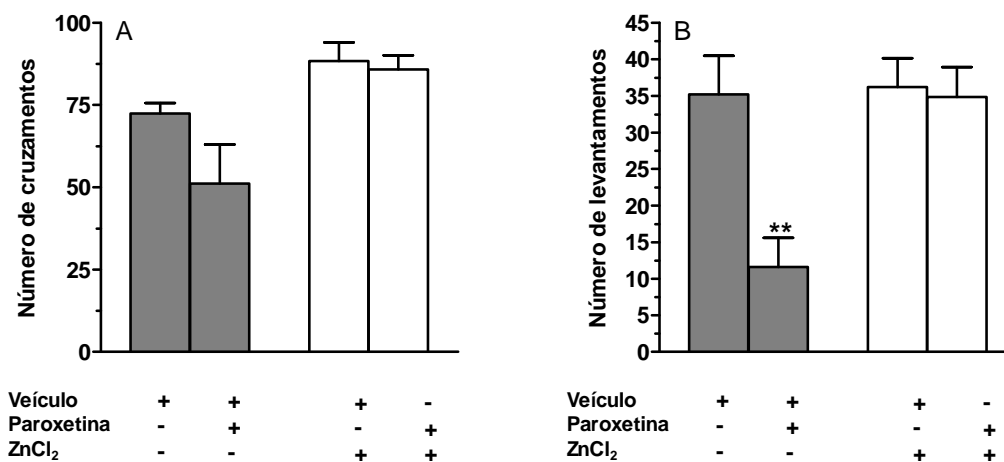
**Figura 13. Efeito da interação entre ZnCl<sub>2</sub> e fluoxetina administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA.** ZnCl<sub>2</sub> (1 mg/kg) e fluoxetina (5 mg/kg) foram utilizados. Os animais receberam o pré-tratamento com ZnCl<sub>2</sub> ou veículo (água destilada) e imediatamente após esta administração receberam o tratamento com fluoxetina ou veículo (água destilada). As co-administrações aconteceram sessenta minutos antes do TCA. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7).

## 5.7. Efeito da interação de $ZnCl_2$ e paroxetina nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA

A figura 14 mostra o efeito da administração de  $ZnCl_2$  sozinho ou em combinação com a paroxetina no comportamento locomotor e exploratório (horizontal e vertical) de camundongos no TCA. O tratamento com  $ZnCl_2$  e paroxetina também não alterou o número de cruzamentos (Figura 14A). ANOVA de duas vias mostrou diferença significativa do tratamento com  $ZnCl_2$  [ $F(1,25)=14,72$ ;  $P<0,01$ ], mas não do tratamento com paroxetina [ $F(1,25)=3,23$ ;  $P=0,084$ ] e nem da interação entre paroxetina X  $ZnCl_2$  [ $F(1,25)=2,01$ ;  $P=0,17$ ].

Ainda, os resultados da figura 14B mostram que a paroxetina diminuiu o número de rearing, entretanto o zinco sozinho ou em combinação com a paroxetina não alterou este parâmetro comportamental. A ANOVA de duas vias revelou efeito significativo do tratamento com paroxetina [ $F(1; 17)=7,698$ ;  $P<0,05$ ],  $ZnCl_2$  [ $F(1; 17)=8,170$ ;  $P<0,05$ ] e da interação entre paroxetina X  $ZnCl_2$  [ $F(1; 17)=6,479$ ;  $P<0,05$ ].

Os resultados obtidos no teste do campo aberto indicam que  $ZnCl_2$  e paroxetina em combinação não causaram alteração na atividade locomotora de camundongos, descartando um efeito psicoestimulante desta intervenção.



**Figura 14. Efeito da interação entre ZnCl<sub>2</sub> e paroxetina administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA.** ZnCl<sub>2</sub> (1 mg/kg) e paroxetina (0,1 mg/kg) foram utilizados. Os animais receberam o pré-tratamento com ZnCl<sub>2</sub> ou veículo (água destilada) e imediatamente após esta administração receberam o tratamento com paroxetina ou veículo (água destilada). As co-administrações aconteceram sessenta minutos antes do TCA. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7). \*\*P<0,01, quando comparado com o grupo controle tratado com o veículo.

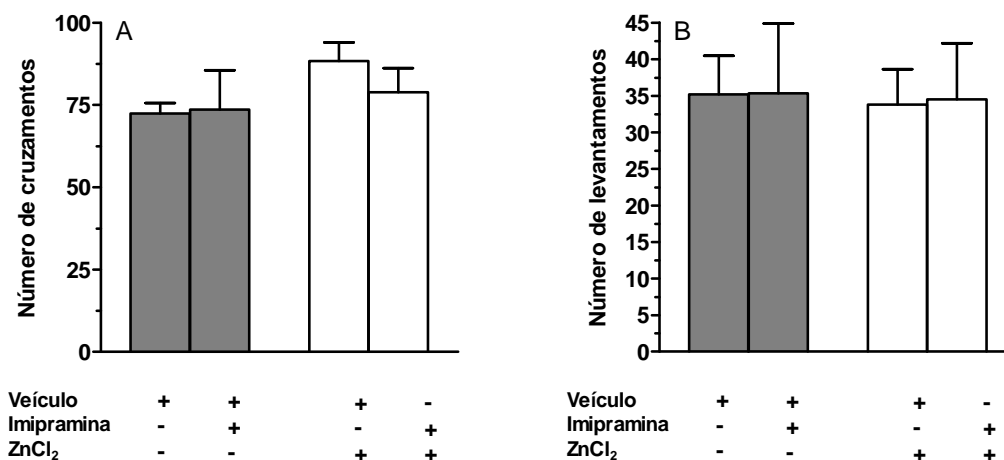
## 5.8. Efeito da interação de $ZnCl_2$ e imipramina nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA

A figura 15 mostra o efeito da administração de  $ZnCl_2$  sozinho ou em combinação com a imipramina no comportamento locomotor e exploratório (horizontal e vertical) de camundongos no TCA. Nenhuma significância na atividade locomotora foi mostrada em camundongos coadministrados com imipramina e  $ZnCl_2$  (Fig 15A). A ANOVA de duas vias não revelou diferença significativa do tratamento com imipramina [ $F(1,25)=0,33$ ;  $P=0,57$ ],  $ZnCl_2$  [ $F(1,25) = 2,22$ ;  $P=0,15$ ], e da interação imipramina X  $ZnCl_2$  [ $F(1,25)=0,58$ ;  $P=0,45$ ].

Os resultados da figura 15B mostram que a administração de imipramina não alterou o número de rearing, assim como a administração de  $ZnCl_2$  sozinho ou em combinação com a imipramina. A ANOVA de duas vias não revelou efeito significativo do tratamento com imipramina [ $F(1; 17)=0,0127$ ;  $P=0,911$ ],  $ZnCl_2$  [ $F(1; 17)=0,0087$ ;  $P=0,926$ ] e da interação entre imipramina X  $ZnCl_2$  [ $F(1; 17)=0,0679$ ;  $P=0,797$ ].

Os resultados obtidos no teste do campo aberto indicam que  $ZnCl_2$  e imipramina em combinação não causaram alteração na atividade locomotora de camundongos, descartando um efeito psicoestimulante desta intervenção.





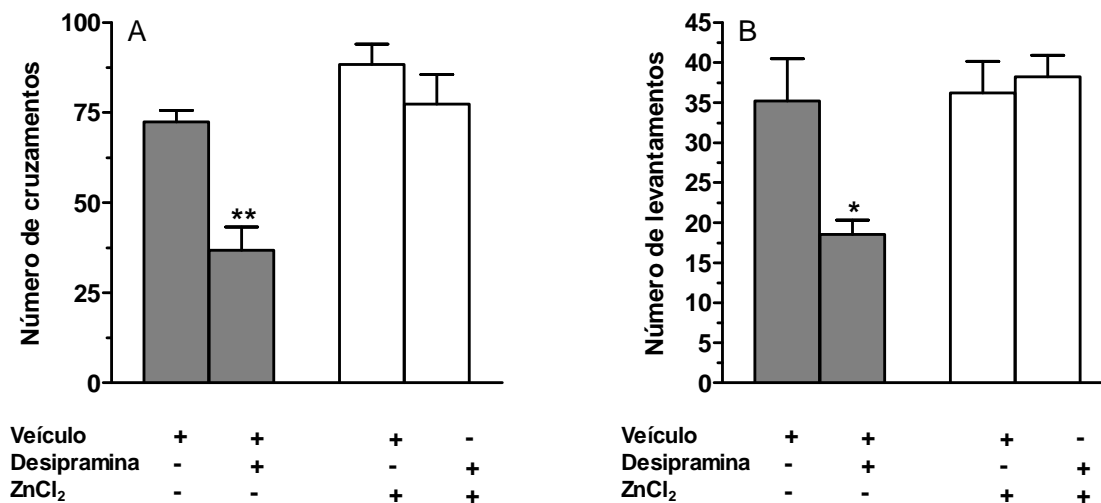
**Figura 15. Efeito da interação entre ZnCl<sub>2</sub> e imipramina administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA.** ZnCl<sub>2</sub> (1 mg/kg) e imipramina (0,1 mg/kg) foram utilizados. Os animais receberam o pré-tratamento com ZnCl<sub>2</sub> ou veículo (água destilada) e imediatamente após esta administração receberam o tratamento com imipramina ou veículo (água destilada). As co-administrações aconteceram 60 minutos antes do TCA. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7).

## 5.9. Efeito da interação de $ZnCl_2$ e desipramina nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA

A figura 16 mostra o efeito da administração de  $ZnCl_2$  sozinho ou em combinação com a desipramina no comportamento locomotor e exploratório (horizontal e vertical) de camundongos no TCA. Os nossos dados mostram que a administração de desipramina alterou a locomoção horizontal no teste do campo aberto (redução de 47% do número de cruzamentos comparado com o grupo controle tratado com o veículo) (Figura 13C). Além disso, a administração de  $ZnCl_2$  em combinação com desipramina não alterou o número de cruzamentos no teste do campo aberto (Figura 16A). A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do tratamento com desipramina  $F(1,25)=9,98$ ;  $P<0,01$ ],  $ZnCl_2$  [ $F(1,25)=14,85$ ;  $P <0,01$ ], e da interação desipramina X  $ZnCl_2$  [ $F(1,25)=4,28$ ;  $P<0,05$ ].

Os resultados da figura 16B mostram que a desipramina diminuiu o número de rearing, entretanto o  $ZnCl_2$  sozinho ou em combinação com a desipramina não alterou este parâmetro comportamental. A ANOVA de duas vias revelou significância do tratamento com desipramina [ $F(1; 17)=8,514$ ;  $P<0,01$ ] e da interação desipramina X  $ZnCl_2$  [ $F(1; 17)=6,948$ ;  $P<0,05$ ], mas não do tratamento com  $ZnCl_2$  [ $F(1; 17)=4,293$ ;  $P=0,054$ ].

Os resultados obtidos no teste do campo aberto indicam que  $ZnCl_2$  e desipramina em combinação não causaram alteração na atividade locomotora de camundongos, descartando um efeito psicoestimulante desta intervenção.



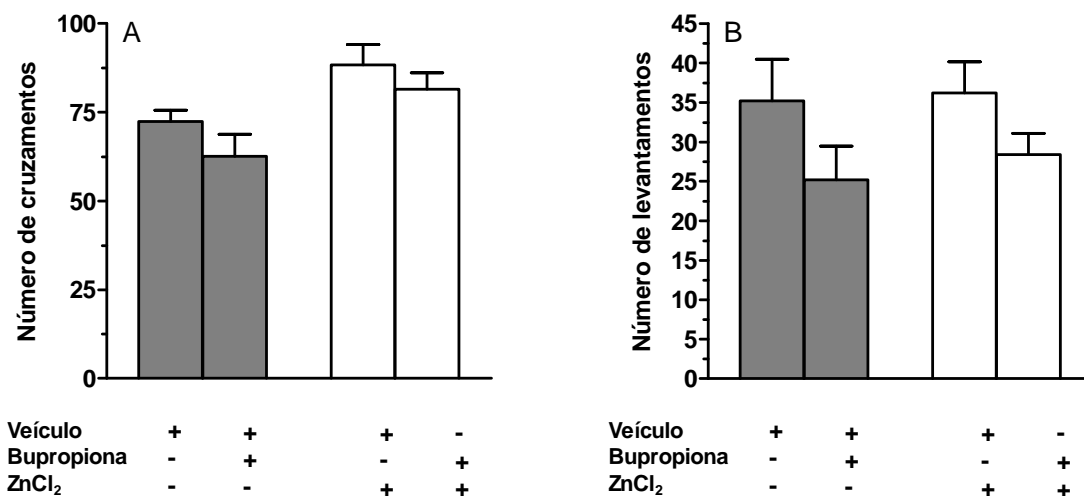
**Figura 16.** Efeito da interação entre ZnCl<sub>2</sub> e desipramina administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA. ZnCl<sub>2</sub> (1 mg/kg) e desipramina (0,1 mg/kg) foram utilizados. Os animais receberam o pré-tratamento com ZnCl<sub>2</sub> ou veículo (água destilada) e imediatamente após esta administração receberam o tratamento com desipramina ou veículo (água destilada). As co-administrações aconteceram 60 minutos antes do TCA. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7). \*\*P<0,01; \*P<0,05, quando comparado com o grupo controle tratado com o respectivo veículo.

### 5.10. Efeito da interação de ZnCl<sub>2</sub> e bupropiona nos parâmetros comportamentais de cruzamento e levantamento (“rearing”) no TCA

A figura 17 mostra o efeito da administração de ZnCl<sub>2</sub> sozinho ou em combinação com a bupropiona no comportamento locomotor (horizontal e vertical) de camundongos no TCA. O tratamento combinado com ZnCl<sub>2</sub> e bupropiona não alterou o número de cruzamentos no teste do campo aberto (Figura 17A). A ANOVA de duas vias revelou efeito significativo do tratamento com ZnCl<sub>2</sub> [F(1,24)=11,16;  $P<0,01$ ], mas não do tratamento com bupropiona [F(1,24)=2,53;  $P=0,12$ ], e da interação bupropiona X ZnCl<sub>2</sub> [F(1,24)=0,08;  $P=0,78$ ].

Os resultados da figura 17B mostram que a administração de zinco ou bupropiona sozinhos ou os dois compostos em combinação não alteraram o número de “rearing”. A ANOVA de duas vias revelou efeito significativo do tratamento com bupropiona [F(1,16)=4,61;  $P<0,05$ ], mas não do tratamento com ZnCl<sub>2</sub> [F(1,16)=0,25;  $P=0,62$ ] e da interação bupropiona X ZnCl<sub>2</sub> [F(1,16)=0,07;  $P=0,79$ ].

Os resultados obtidos no teste do campo aberto indicam que ZnCl<sub>2</sub> e bupropiona em combinação não causaram alteração na atividade locomotora de camundongos, descartando um efeito psicoestimulante desta intervenção.



**Figura 17. Efeito da interação entre ZnCl<sub>2</sub> e bupropiona administrados por via oral no número de cruzamentos (A) e levantamentos (B) no TCA.** ZnCl<sub>2</sub> (1 mg/kg) e bupropiona (1 mg/kg) foram utilizados. Os animais receberam o pré-tratamento com ZnCl<sub>2</sub> ou veículo (água destilada) e imediatamente após esta administração receberam o tratamento com bupropiona ou veículo (água destilada). As co-administrações aconteceram 60 minutos antes do TCA. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7). \*P<0,05, quando comparado com o grupo controle tratado com o respectivo veículo.

### 5.11. Efeito da interação de ZnCl<sub>2</sub> e antidepressivos convencionais no comportamento de auto-limpeza no TCA

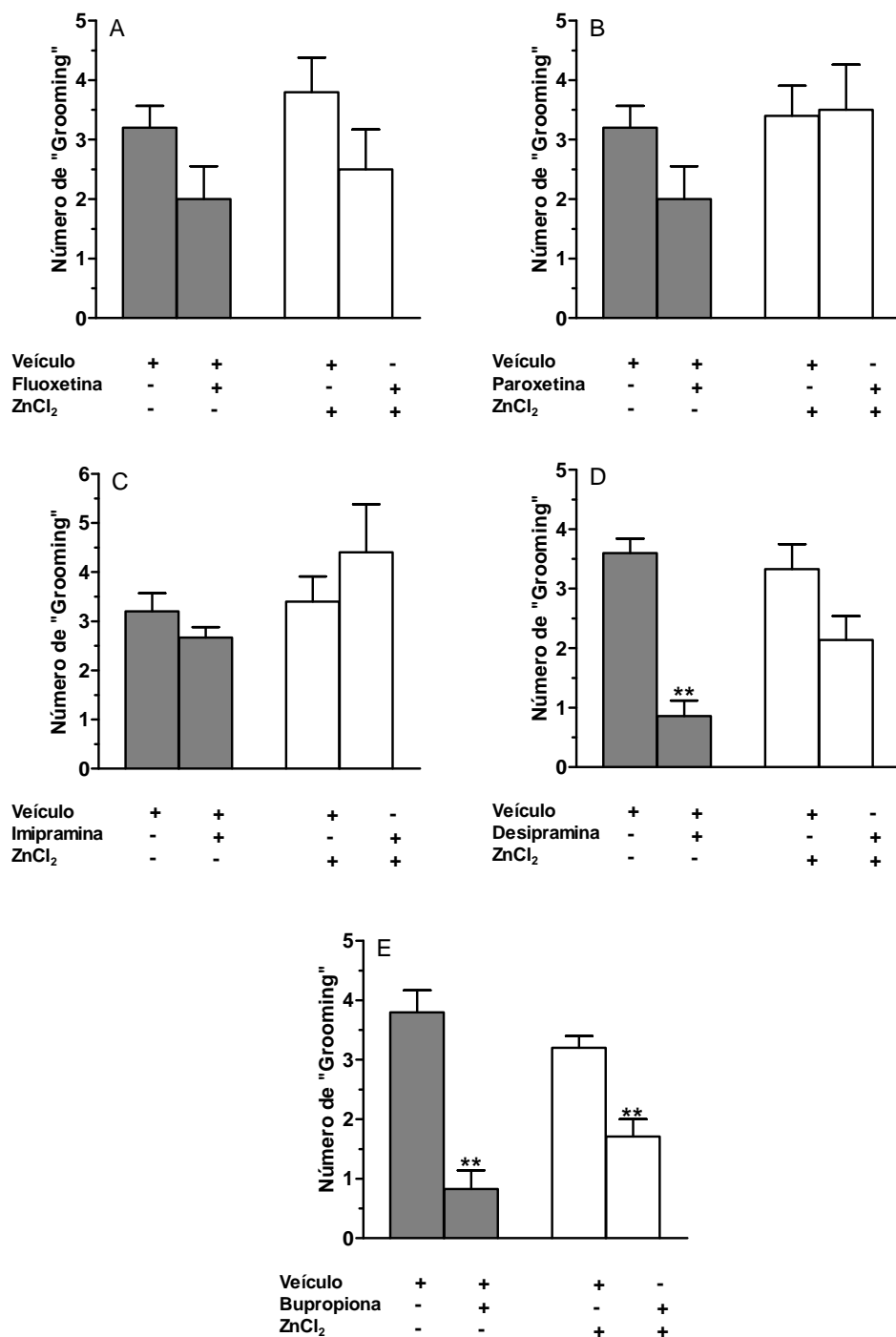
A figura 18 mostra o efeito da administração de ZnCl<sub>2</sub> sozinho ou em combinação com antidepressivos no comportamento de auto-limpeza de camundongos no TCA. O teste *post-hoc* revelou que os animais tratados com zinco sozinho ou em combinação com fluoxetina não apresentaram alteração no número de respostas de auto-limpeza (Figura 14A), sendo que a ANOVA de duas vias revelou efeito significativo do tratamento com ZnCl<sub>2</sub> [F(1; 17)=4,762;  $P<0,05$ ], mas não do tratamento com fluoxetina [F(1; 17)=0,922;  $P=0,35$ ] ou da interação de fluoxetina X ZnCl<sub>2</sub> [F(1; 17)=0,076;  $P=0,93$ ].

Os animais tratados com zinco sozinho ou em combinação com paroxetina não apresentaram alteração no número de auto-limpeza (Figura 18B), sendo que a ANOVA de duas vias não revelou efeito significativo do tratamento com paroxetina [F(1; 17)=2,034;  $P=0,171$ ], ZnCl<sub>2</sub> [F(1; 17)=0,851;  $P=0,368$ ] ou da interação paroxetina X ZnCl<sub>2</sub> [F(1; 17)=1,18;  $P=0,291$ ].

Os animais tratados com ZnCl<sub>2</sub> sozinho ou em combinação com imipramina não apresentaram alteração no número de auto-limpeza (Figura 18C), sendo que a ANOVA de duas vias não revelou significância do tratamento com imipramina [F(1; 17)=2,904;  $P=0,106$ ], ZnCl<sub>2</sub> [F(1; 17)=0,169;  $P=0,685$ ], ou da interação imipramina X ZnCl<sub>2</sub> [F(1; 17)=1,827;  $P=0,194$ ].

Os animais tratados com desipramina apresentaram uma diminuição do número de movimentos de auto-limpeza, entretanto a administração com ZnCl<sub>2</sub> sozinho ou em combinação com desipramina não causou alteração no número de auto-limpeza (Figura 18D). A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do tratamento com desipramina [F(1; 20)=27,86;  $P<0,01$ ] e da interação desipramina X ZnCl<sub>2</sub> [F(1; 20)=4,53;  $P<0,05$ ], mas não do tratamento com ZnCl<sub>2</sub> [F(1; 20)=1,98;  $P=0,17$ ].

Os animais tratados com bupropiona apresentaram uma diminuição do número de movimentos de auto-limpeza. Além disso, animais tratados com bupropiona em combinação com  $ZnCl_2$  também apresentaram diminuição do número de auto-limpeza. Entretanto, a administração com  $ZnCl_2$  sozinho não apresentou alteração do número de auto-limpeza (Figura 18E). A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do tratamento com bupropiona [ $F(1, 19)=53,83; P<0,01$ ] e da interação bupropiona X  $ZnCl_2$  [ $F(1, 19)=5,96; P<0,05$ ], mas não do tratamento com  $ZnCl_2$  [ $F(1, 19)=0,21; P=0,65$ ].



**Figura 18. Efeito da interação entre ZnCl<sub>2</sub> e antidepressivos por via oral no comportamento de auto-limpeza no TCA.** Fluoxetina (5 mg/kg); Paroxetina (0,1 mg/kg); Imipramina (0,1 mg/kg); Desipramina (0,1 mg/kg); Bupropiona (1 mg/kg) e ZnCl<sub>2</sub> (1 mg/kg) foram utilizados. Os animais receberam o pré-tratamento com ZnCl<sub>2</sub> ou veículo (água destilada) e imediatamente após esta administração receberam o tratamento com antidepressivo (fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina ou bupropiona) ou veículo (água destilada). As co-administrações aconteceram 60 minutos antes do TCA. Cada coluna representa a média + EPM (N=5-7). \*\*P<0,01, quando comparado com o grupo controle tratado com veículo.



## 6. Discussão

A depressão é uma condição médica amplamente desabilitadora e prevalente na população mundial associada com morbidade e mortalidade (Simon et al, 1995; Papakostas et al., 2004; Nestler and Carlezon, 2006; Nemeroff et al., 2007). Os tratamentos convencionais para a depressão incluem os antidepressivos tricíclicos, iMAO, ISRS, ISRN, atípicos, e a terapia eletroconvulsiva (Wong e Licínio, 2001). Embora esses tratamentos sejam efetivos, um significativo número de pacientes não responde ou responde parcialmente ao tratamento, mesmo que este seja realizado de forma sustentada e agressiva (Thase et al., 2001; Brunello et al., 2002). Avanços na compreensão da neurobiologia da depressão têm sugerido novos alvos para o tratamento antidepressivo. Novas intervenções farmacológicas incluem antagonistas de receptores NMDA, como o zinco (Nowak et al., 2003a), e a adição de um ou mais agentes farmacológicos a um tratamento antidepressivo pré-existente (DeBattista, 2006).

Nossos resultados mostram pela primeira vez, ao nosso conhecimento, que o  $ZnCl_2$  administrado sistematicamente por via oral é efetivo em reduzir o tempo de imobilidade no TSC, consistente com um efeito tipo-antidepressivo neste teste de predição da atividade antidepressiva (Steru et al., 1985). O TSC é amplamente utilizado para análise de novas drogas com potencial antidepressivo, pois todas as classes de antidepressivos, incluindo os antidepressivos tricíclicos, ISRS, ISRN, e atípicos são sensíveis a este teste. O tratamento efetivo com antidepressivos diminui o tempo de imobilidade no TSC (Steru et al., 1985). Entretanto, este teste apresenta algumas desvantagens representadas pela possibilidade de se obter “falsos” resultados positivos ou negativos. Drogas que estimulam a atividade locomotora podem promover “falsos” resultados positivos, enquanto que drogas que diminuem a locomoção podem gerar “falsos” resultados negativos (Borsini e Meli, 1988). A redução no tempo de imobilidade demonstrada em nosso estudo através da

administração de  $ZnCl_2$  não pode ser atribuída a um efeito psicoestimulante deste composto. Esta conclusão deriva do fato de que o zinco quando administrado agudamente por via oral diminui significativamente o tempo de imobilidade no TSC sem alterar a locomoção no teste do campo aberto.

O comportamento tipo-antidepressivo induzido pela administração de  $ZnCl_2$  no TSC está de acordo com estudos clínicos que mostram que o zinco apresenta um significativo papel na patofisiologia da depressão, visto que sua deficiência está associada com sintomas de depressão (Manser et al., 1989; McLoughlin and Hodge, 1990; Nowak et al., 1999). Além disso, alguns estudos pré-clínicos vêm demonstrando a ação tipo-antidepressiva do zinco no TSC e no TNF em camundongos e ratos (Krocza et al., 2001; Rosa et al., 2003; Szewczyk et al., 2008). Entretanto, esses estudos utilizam administrações intraperitoneais de zinco.

Contrariando estudos prévios que demonstram uma diminuição na atividade locomotora no TCA de camundongos tratados com zinco (Krocza et al., 2001; Rosa et al., 2003), o presente estudo não demonstrou alteração na locomoção induzida pela administração de zinco. Nossos resultados estão de acordo com um estudo que utilizou a via de administração oral de  $ZnCl_2$  na água de beber em ratos, aonde foi verificada uma diminuição no tempo de imobilidade no TNF sem promover alteração na atividade locomotora no teste do campo aberto (Franco et al., 2008). Neste mesmo estudo foi demonstrado que a administração intraperitoneal aguda de  $ZnCl_2$  promove uma diminuição na ambulação de ratos no teste do campo aberto (Franco et al., 2008). Dessa maneira, sugerimos que o fato do nosso estudo diferir de estudos prévios na resposta locomotora de camundongos administrados com zinco (Krocza et al., 2000, 2001; Rosa et al., 2003) possa ser devido ao fato da via de administração empregada em nosso trabalho ser diferente dos estudos anteriores da literatura.

Alguns estudos demonstraram que o zinco reduz a habilidade do glutamato em ativar os receptores NMDA (Molnár e Nadler, 2001) por um antagonismo não-competitivo pelo sítio da glicina nestes receptores (Yeh et al., 1990). Além disso, a literatura reporta que o zinco inibe a enzima óxido nítrico sintase, dentre outros efeitos no SNC (Mittal et al., 1995; Choi e Koh, 1998; Rosa et al., 2003). Similarmente ao zinco, outros antagonistas do receptor NMDA tais como a amantadina, memantina, neramexana (Rogóz et al., 2002), ACPC, AP-7, MK-801 (Trullas e Skolnick, 1990; Trullas et al., 1991; Maj et al., 1992; Skolnick et al., 1992; Rosa et al., 2003; Mantovani et al., 2002) e cetamina (Mantovani et al., 2002; Rosa et al., 2003; Garcia et al., 2008; Maeng et al., 2008) também apresentam efeito tipo-antidepressivo em modelos animais. Além disso, ensaios clínicos têm indicado que altos níveis de glutamato são observados no SNC de pacientes depressivos (Mathis et al., 1988; Altamura et al., 1993; Levine et al., 2000), bem como anormalidades nos receptores NMDA (Law e Deakin, 2001), sendo que antagonistas de receptores NMDA, como a cetamina (Berman et al., 2000; Zarate et al., 2006; 2009) e o CP-101,606 (Preskorn et al., 2008) são efetivos como estratégias antidepressiva na depressão humana. Estes estudos clínicos e pré-clínicos indicam que a administração de antagonistas do receptor NMDA produz efeito tipo-antidepressivo, e, a partir destas evidências, Skolnick (1999) propôs que inibidores de receptores glutamatérgicos NMDA poderiam ser os antidepressivos do novo milênio (Skolnick, 1999).

Tradicionalmente, todos os antidepressivos apresentam eficácia clínica semelhante em estudos com pacientes depressivos (Itil et al., 1983; Rabkin et al., 1999; Papakostas et al., 2007). Este fato é corroborado pelo nosso trabalho aonde foi verificado que todas as diferentes classes de antidepressivos empregadas no estudo apresentaram efeito tipo-antidepressivo no TSC. Assim sendo, o nosso estudo demonstrou a efetividade tipo-antidepressiva das administrações por via oral dos ISRS fluoxetina e paroxetina. Os ISRS são os antidepressivos mais prescritos em todo mundo

---

atualmente (Stahl, 2004). Os ISRS empregados neste estudo apresentam distintas seletividades para os sítios neuronais de recaptção de serotonina, uma vez que a paroxetina parece ser mais potente em inibir a recaptção de serotonina quando comparada à fluoxetina (Hyttel 1994). Em relação à administração por via oral de fluoxetina os nossos dados estão em desacordo com um estudo que não encontrou efetividade deste fármaco em camundongos ICR no TSC (Teste et al, 1993), porém em outros estudos já foi verificado a efetividade da fluoxetina p.o. em camundongos *Swiss* e em gerbilos mongolianos no TSC (Machado et al., 2007; Varty et al., 2003). Já em relação ao outro ISRS paroxetina, é ao nosso conhecimento o primeiro estudo que reporta o efeito tipo-antidepressivo da administração por via oral deste fármaco em camundongos submetidos posteriormente a observação comportamental no TSC.

Os antidepressivos tricíclicos imipramina e desipramina quando administrados por via oral também apresentaram efeito tipo-antidepressivo no TSC em nosso estudo. Os antidepressivos tricíclicos estão disponíveis desde o final da década de 1950 e início de 1960 e estão sendo amplamente prescritos no tratamento da depressão maior (Maubach et al., 1999; Dvoskin et al., 2006). A imipramina é um inibidor dual da recaptção de serotonina e noradrenalina (Glowinski e Axelrod, 1964; Carrodi e Fuxe, 1968; Richelson e Pfenning, 1984), enquanto que a desipramina é um inibidor preferencial da recaptção de noradrenalina, tendo um pequeno efeito na recaptção de serotonina (Andrews e Nemeroff, 1994). Em relação à administração por via oral de imipramina, os nossos dados estão em acordo com outros estudos que reportam um efeito tipo-antidepressivo da administração por via oral de imipramina no TSC em camundongos NMRI e em gerbilos mongolianos (Winterhoff et al., 1987; Varty et al., 2003). Já em relação à desipramina, os nossos dados corroboram com alguns estudos da literatura que reportaram que a desipramina quando administrada por via oral apresenta efeito tipo-antidepressivo no TSC (Porsolt et al., 1987; Varty et al., 2003).

Uma vez que a dopamina é um neurotransmissor envolvido nas vias de recompensa mesolímbica, está sendo proposto que um aumento na neurotransmissão dopaminérgica possa reverter a anedonia, sintoma característico da depressão (D'Aquila et al., 2000). Além disso, algumas substâncias que modulam o sistema dopaminérgico, tais como bupropiona, um inibidor da recaptção de dopamina com baixa atividade sobre a recaptção noradrenérgica e serotoninérgica (Cooper et al., 1980; Richelson, 2003), pergolida, agonista de receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>, e pramipexole, agonista dopaminérgico com alta afinidade por receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> estão sendo utilizados como antidepressivos (Rektorová et al., 2003; Cassano et al., 2004; Dhillon et al., 2008). Nesse sentido, o nosso estudo mostrou pela primeira vez o efeito tipo-antidepressivo da administração por via oral da bupropiona em camundongos submetidos a uma observação comportamental no TSC.

Por outro lado, médicos reconhecem por décadas que alguns pacientes respondem melhor a um antidepressivo que a outro, e que combinações de drogas podem ser mais efetivas do que apenas a administração de um antidepressivo (Nelson et al. 1991, 2007). O intuito da combinação de antidepressivos com substâncias farmacológicas é aumentar a eficácia do tratamento e diminuir os efeitos colaterais. Entretanto, a prescrição de tais combinações farmacológicas é frequentemente baseada no empirismo (experiência e conhecimento), sendo a base neurofarmacológica destes procedimentos necessitando de mais fundamentação teórica. Poucos estudos clínicos controlados comparando a terapia antidepressiva combinada com a monoterapia estão sendo conduzidos. Com intuito de se buscar vestígios científicos acerca da terapia antidepressiva combinada, o presente estudo investigou um possível efeito sinérgico da administração de doses sub-efetivas (p.o.) de antidepressivos em diferentes classes com ZnCl<sub>2</sub>, administrado por via oral em uma dose que *per se* não promoveu efeito tipo-antidepressivo no TSC.

Em nosso estudo foi demonstrado o efeito tipo-antidepressivo sinérgico da combinação de doses sub-efetivas de  $ZnCl_2$  com os antidepressivos ISRS fluoxetina e paroxetina. Os nossos dados corroboram com um estudo aonde zinco e fluoxetina foram co-administrados em doses sub-efetivas apresentando um efeito tipo-antidepressivo no TNF sem afetar a locomoção no teste do campo aberto (Szewczyk et al., 2008). Além disso, um outro estudo reportou que o efeito tipo-antidepressivo da fluoxetina no TNF desapareceu em camundongos que sofriam de privação de zinco, levando a crer que níveis de zinco diminuídos poderiam estar levando a uma depressão refratária ao tratamento antidepressivo com a fluoxetina (Tassabehji et al., 2008) e, assim sendo, uma suplementação com zinco associada a fluoxetina poderia estar gerando melhores respostas antidepressivas. Ainda, nossos dados estão em acordo com um estudo clínico que demonstrou que a suplementação de zinco quando associada a alguns antidepressivos, incluindo a fluoxetina, reduziu os escores da escala de depressão de Hamilton e do inventário de depressão de Beck em relação ao grupo tratado apenas com os antidepressivos, gerando um efeito aditivo entre o zinco e os antidepressivos clássicos na resposta comportamental dos pacientes depressivos (Nowak et al., 2003a). Nesse contexto, a literatura reporta a importância da modulação de vias serotoninérgicas para a ação tipo-antidepressiva do zinco e da fluoxetina (Szewczyk et al., 2008) e esta modulação pode ser importante no efeito tipo-antidepressivo do sinergismo desses compostos.

Além da habilidade do zinco em produzir um efeito sinérgico tipo-antidepressivo com os ISRS, nosso estudo também demonstrou que o  $ZnCl_2$  causou um efeito sinérgico tipo-antidepressivo com os antidepressivos tricíclicos imipramina e desipramina. Nossos resultados estão em acordo com um estudo que mostrou que a co-administração de zinco com imipramina, ambos em doses inefetivas, foi capaz de diminuir o tempo de imobilidade no TNF (Krocicka et al., 2001; Szewczyk et al., 2002). A administração de  $ZnCl_2$  também produziu um efeito tipo-antidepressivo aditivo com a imipramina no TNF, quando ambos são administrados intraperitonealmente em doses ativas (Rosa et

al., 2003). Além disso, o nosso estudo está de acordo com um trabalho que demonstrou que o zinco melhora o efeito antidepressivo da imipramina em pacientes depressivos (Siwek et al., *in press*). Nosso estudo, demonstrou que a co-administração de desipramina (antidepressivo tricíclico com maior seletividade a inibição da recaptção de noradrenalina) e  $ZnCl_2$  foi capaz de diminuir o tempo de imobilidade no TSC, entretanto, em um outro estudo utilizando a co-administração de zinco e reboxetina (inibidor seletivo da recaptção de noradrenalina, ISRN) não foi demonstrado efeito tipo-antidepressivo da combinação destes agentes farmacológicos no TNF (Szewczyk et al., 2008). Embora a reboxetina e a desipramina ajam através de vias moleculares noradrenérgicas similares, acreditamos que o fato do ISRN reboxetina não apresentar efeito sinérgico com o zinco no TNF (Szewczyk et al., 2008) e a desipramina, em nosso estudo, apresentar um efeito sinérgico quando combinada com o zinco no TSC seja devido à sensibilidade dos testes diferirem e devido ao fato de a desipramina também inibir a recaptção de serotonina. É válido ressaltar, ainda, que o magnésio, outro antagonista de receptores NMDA, também não apresentou efeito sinérgico quando combinado a doses sub-efetivas de reboxetina no TNF (Poleszak, 2007).

Em nosso estudo, a bupropiona apresentou efeito sinérgico tipo-antidepressivo no TSC quando combinada com  $ZnCl_2$ , ambos administrados em doses sub-efetivas. Essa é, ao nosso conhecimento, a primeira evidência que o zinco é capaz de causar um efeito sinérgico tipo-antidepressivo com este antidepressivo. A bupropiona, de forma similar ao zinco (Rosa et al., 2003), modula a via L-arginina/óxido nítrico (Dhir e Kulkarni, 2007) e este pode ser um mecanismo importante de ação antidepressiva para ambos.

A combinação de  $ZnCl_2$  com antidepressivos empregada em nosso estudo não altera os padrões locomotores de camundongos submetidos ao TCA. Os resultados descartam um possível efeito psicoestimulante desta interação, confirmando que o efeito tipo-antidepressivo observado no TSC é específico. Entretanto, temos que considerar que o tratamento realizado em todos os animais

com o  $ZnCl_2$  (grupos tratados com  $ZnCl_2$ / Veículo +  $ZnCl_2$ / Antidepressivos) produziu um aumento na atividade locomotora quando comparado com o tratamento com o veículo (grupos tratados com Veículo/ Veículo + Veículo/ Antidepressivos). Uma possível razão para este fato é que  $ZnCl_2$  aboliu a redução da atividade locomotora gerada pela administração de desipramina e também atenuou a redução na atividade locomotora (não significativa) gerada pelas administrações de fluoxetina, paroxetina e bupropiona. O aumento na atividade locomotora gerado pelo tratamento com  $ZnCl_2$  não é, provavelmente, devido a um aumento na locomoção do grupo tratado com  $ZnCl_2$ /veículo, porque o  $ZnCl_2$  administrado na mesma dose (1 mg/kg, p.o.) não alterou a locomoção na curva dose-resposta de  $ZnCl_2$  no teste do campo aberto. Corroborando, dados na literatura não reportam aumento na atividade locomotora no teste do campo aberto em camundongos quando o zinco é administrado (Krocicka et al., 2001; Rosa et al., 2003).

Além do zinco, outros antagonistas de receptor NMDA como memantina, amantadina, neramexana e MK-801 também produzem efeito sinérgico tipo-antidepressivo quando combinados com antidepressivos (Maj et al., 1992; Rogóz et al., 2002, 2004). Nós sugerimos que o bloqueio dos receptores NMDA através da administração de antagonistas NMDA melhora o efeito de drogas antidepressivas clássicas.

Paroxetina e desipramina administradas sozinhas promoveram uma diminuição no número de “rearings”. A resposta comportamental de “rearing” reflete a exploração vertical dos animais no teste do campo aberto (Syme, 1975; Paulus et al., 1999). O comportamento de diminuição da locomoção associado a uma diminuição no número de rearing está sendo proposto como um efeito sedativo (Prut e Belzung, 2003). Assim sendo, a desipramina apresentou efeito sedativo no teste do campo aberto, sendo este se constituindo como um dos efeitos secundários deste tratamento antidepressivo. Entretanto, o zinco quando administrado em conjunto com a desipramina reverteu o efeito sedativo do tratamento com a desipramina.



A administração de bupropiona ou desipramina sozinhas promoveu uma diminuição no número de auto-limpeza no teste do campo aberto. Ainda, a interação de zinco com o antidepressivo bupropiona também promoveu uma diminuição no número de auto-limpeza no TCA. O comportamento de diminuição do número de auto-limpeza dos compostos e interação farmacológica apresentados neste trabalho é semelhante ao de drogas benzodiazepínicas (ansiolíticas) (Jolles et al., 1979). Entretanto, o significado fisiológico da diminuição da auto-limpeza no teste do campo aberto ainda é pouco estabelecido na literatura, sendo que alguns autores propõem que este comportamento esteja atrelado à regulação da temperatura corporal (Thiessen, 1988) e outros autores afirmam que este comportamento está associado a uma diminuição da excitação causada pelo ambiente novo (Colbern et al., 1978). Dentro deste contexto, o sistema mesolímbico dopaminérgico está sendo amplamente relacionado à resposta de diminuição da auto-limpeza em relação à exposição a um ambiente novo (Prinssen et al., 1994), sendo esta mediada pela ativação de receptores D<sub>2</sub> (Ferrari et al., 1992). Sabendo-se que a depressão está bastante associada a quadros de ansiedade (Bakish, 1999), os nossos dados sugerem que a interação do inibidor da recaptação de dopamina bupropiona com zinco pode se constituir em uma estratégia farmacológica para o tratamento de casos de depressão que coexistam com ansiedade, visto que o número de auto-limpeza dos camundongos co-administrados com bupropiona e ZnCl<sub>2</sub> diminuiu no teste do campo aberto em relação ao respectivo controle. No entanto, estudos futuros mais detalhados são necessários para confirmar esta hipótese. Corroborando com os nossos dados, a literatura reporta que a deprivação de zinco promove um efeito tipo-ansiógênico e nesse sentido a suplementação com zinco se constitui em uma estratégia interessante para auxiliar drogas com potencial ansiolítico (Takeda et al., 2007)

## 7. Conclusões

Os presentes resultados indicam que o zinco é produz um efeito tipo-antidepressivo no TSC quando administrado agudamente por via oral e que este ainda pode produzir um efeito sinérgico quando combinado com diferentes antidepressivos (fluoxetina, paroxetina, imipramina, desipramina e bupropiona). Estes dados sugerem que o zinco pode melhorar a efetividade desses compostos antidepressivos na terapia da depressão humana. Entretanto, é válido ressaltar que o TSC não é um modelo de depressão *per se*, e que os resultados obtidos neste estudo devem ser analisados com cuidado. Conseqüentemente, o presente estudo torna-se útil para futuros trabalhos focados na hipótese que esta combinação farmacológica pode ser útil no tratamento de pacientes que apresentam efeitos colaterais intoleráveis ou que são resistentes a terapia antidepressiva realizada somente com os antidepressivos clássicos. Ainda, este estudo abre uma nova perspectiva no tratamento de pacientes aonde a depressão maior coexista com a ansiedade através da combinação farmacológica do zinco com o inibidor da recaptção de dopamina bupropiona, sendo que esta hipótese necessita de estudos posteriores mais aprofundados.

## 8. Perspectivas

- Potencial antidepressivo do zinco em modelos animais de depressão tais como bulbectomia olfatória, ovariectomia, orquiectomia, depressão induzida pela administração de TNF- $\alpha$  e estreptozotocina, estresse imprevisível, e estresse por separação maternal.
- Potencial sinérgico e aditivo do zinco com terapias antidepressivas não farmacológicas como a atividade física, choque eletroconvulsivo, e acupontos no TSC.
- Verificação das vias de sinalização celular que modulam o efeito tipo-antidepressivo do zinco no TSC.
- Verificação dos eixos neuroendócrinos modulados no efeito tipo-antidepressivo do zinco.
- Potencial ansiolítico do zinco no teste de esconder esferas.

---

## Referências Bibliográficas

Andrews JM, Nemeroff CB. Contemporary management of depression. *Am J Med.* 97(6A):24S-32S, 1994.

Altamura CA, Mauri MC, Ferrara A, Moro AR, D'Andrea G, Zamberlan F. Plasma and platelet excitatory amino acids in psychiatric disorders. *Am J Psychiatry.* 150(11):1731-3, 1993.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.* Washington, DC, 4<sup>a</sup>ed. 1994.

Andreatini R. A importância dos modelos animais em psiquiatria. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 24 (4): 64, 2002.

Angst J, Dobler-Mikola A. The Zurich study. A continuum from depression to anxiety disorders? *Eur. Arch. Psychiatry Neurol. Sci.* 235: 179-186, 1985.

Antonioni LD, Shalhoub RJ, Schechter GP. The effect of zinc on cellular immunity in chronic uremia. *Am. J. Clin. Nutr.* 34(9):1912-7, 1981.

Bakish D. The patient with comorbid depression and anxiety: the unmet need. *J. Clin. Psychiatry.* 60 Suppl 6:20-4, 1999.

Bancila V, Nikonenko I, Dunant Y, Bloc A. Zinc inhibits glutamate release via activation of presynaptic K channels and reduces ischaemic damage in rat hippocampus. *J. Neurochem.* 90:1243-50, 2004.

Bao B, Prasad AS, Beck FW, Godmere M. Zinc modulates mRNA levels of cytokines. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285(5):E1095-102, 2003.

Barañano DE, Ferris CD, Snyder SH. Atypical neural messengers. *Trends Neurosci.* 24:99-106, 2001.

Bauer M, Adli M, Baethge C, Berghöfer A, Sasse J, Heinz A, Bschor T. Lithium augmentation therapy in refractory depression: clinical evidence and neurobiological mechanisms. *Can. J. Psychiatry.* 48(7):440-8, 2003.

Baum MK, Shor-Posner G, Campa A. Zinc status in human immunodeficiency virus infection. *J. Nutr.* 130(5S Suppl):1421S-3S, 2000.

Baxter LR Jr, Schwartz JM, Phelps ME, Mazziotta JC, Guze BH, Selin CE, Gerner RH, Sumida RM. Reduction of prefrontal cortex glucose metabolism common to three types of depression. *Arch. Gen. Psychiatry.* 46(3): 243-50, 1989.

---

Beck FW, Prasad AS, Kaplan J, Fitzgerald JT, Brewer GJ. Changes in cytokine production and T cell subpopulations in experimentally induced zinc-deficient humans. *Am. J. Physiol.* 272(6):E1002-7, 1997.

Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol. Psychiatry.* 47: 351-354, 2000.

Berton O, Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat. Rev. Neurosci.* 7(2):137-51, 2006.

Beyersmann D, Haase H. Functions of zinc in signaling, proliferation and differentiation of mammalian cells. *Biometals.* 14(3-4):331-41, 2001.

Bhatnagar S, Taneja S. Zinc and cognitive development. *BR. J. Nutr.* 85 Suppl 2:S139-45, 2001.

Biver F, Goldman S, Delvenne V, Luxen A, De Maertelaer V, Hubain P, Mendlewicz J, Lotstra F. Frontal and parietal metabolic disturbances in unipolar depression. *Biol. Psychiatry.* 36(6):381-8, 1994.

Borsini F, Meli A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology.* 94(2):147-60, 1988.

Bourin M, Chenu F, Ripoll N, David DJ. A proposal of decision tree to screen putative antidepressants using forced swim and tail suspension tests. *Behav. Brain Res.* 164(2):266-9, 2005.

Brambilla P, Perez J, Barale F, Schettini G, Soares JC. GABAergic dysfunction in mood disorders. *Mol. Psychiatry.* 8(8):721-37, 715, 2003.

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

Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am. J. Psychiatry.* 157(1):115-8, 2000.

Brezun JM, Daszuta A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience.* 89(4):999-1002, 1999.

Brocardo PS, Assini F, Franco JL, Pandolfo P, Müller YMR, Takahashi RN, et al. Zinc attenuates malathion-induced depressant-like behavior and confers neuroprotection in the rat brain. *Toxicol. Sci.* 97:140-8, 2007.

---

Brown GW, Harris T. Disease, distress and depression. A comment. *J. Affect. Disord.* 4(1):1-8, 1982.

Brown GW, Bifulco A, Harris T, Bridge L. Life stress, chronic subclinical symptoms and vulnerability to clinical depression. *J. Affect. Disord.* 11(1):1-19, 1986.

Brown AS, Gershon S. Dopamine and depression. *J. Neural Transm. Gen. Sect.* 91(2-3):75-109, 1993.

Brunello N; Mendlewicz J; Kasper S; Leonard B; Montgomery S; Nelson JC; Paykel E; Versiani M; Racagni G. The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 12: 461-475, 2002.

Bush AI. Copper, zinc, and the metallobiology of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 17(3):147-50, 2003.

Campbell S; Macqueen G. The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *J Psychiatry Neurosci.* 29(6):417-26, 2004.

Campbell S, Marriott M, Nahmias C, MacQueen GM. Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis. *AM. J. Psychiatry.* 161(4):598-607, 2004.

Carrodi H, Fuxe K. The effects of imipramine on central monoamine neurones. *J Pharm. Pharmacol.* 20:230-1, 1968.

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

Cassano P, Lattanzi L, Soldani F, Navari S, Battistini G, Gemignani A, Cassano GB. Pramipexole in treatment-resistant depression: an extended follow-up. *Depress Anxiety.* 20(3):131-8, 2004.

Charlton BG. The malaise theory of depression: major depressive disorder is sickness behavior and antidepressants are analgesic. *Med. Hypotheses.* 54(1):126-30, 2000.

Charney DS. Monoamine dysfunction and the pathophysiology and treatment of depression. *J. Clin. Psychiatry.* 59 Suppl 14: 11-4, 1998.

Charney DS, Manji HK. Life stress, genes, and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention. *Sci. STKE.* (225), 2004.

Chen CJ, Liao SL. Neurotrophic and neurotoxic effects of zinc on neonatal cortical neurons. *Neurochem. Int.* 42(6):471-9, 2003.

Choi DW, Koh JY. Zinc and brain injury. *Annu. Rev. Neurosci.* 21:347-75, 1998.

---

Choi YB, Lipton SA. Identification and mechanism of action of two histidine residues underlying high-affinity Zn<sup>2+</sup> inhibition of the NMDA receptor. *Neuron*. 23(1):171-80, 1999.

Chrapko WE, Jurasz P, Radomski MW, Lara N, Archer SL, Le Mellédo JM. Decreased platelet nitric oxide synthase activity and plasma nitric oxide metabolites in major depressive disorder. *Biol Psychiatry*. 56(2):129-34, 2004.

Christine CW, Choi DW. Effect of zinc on NMDA receptor-mediated channel currents in cortical neurons. *J. Neurosci*. 10(1):108-16, 1990.

Clark L. The anxiety and depressive disorders: descriptive psychopathology and differential diagnosis. Em P. Kendall e D. Watson (Eds.), *Anxiety and Depression. Distinctive and Overlapping Feature*, San Diego: Academic Press. 83-129, 1989.

Clark L, Watson D, Reynolds S. Diagnosis and classification of psychopathology: challenges to the current system and future directions. *Annu. Rev. Psychol.*, 46: 121-53, 1995.

Colbern DL, Isaacson RL, Green EJ, Gispen WH. Repeated intraventricular injections of ACTH 1-24: the effects of home or novel environments on excessive grooming. *Behav. Biol*. 23(3):381-7, 1978.

Cole TB, Wenzel HJ, Kafer KE, Schwartzkroin PA, Palmiter RD. Elimination of zinc from synaptic vesicles in the intact mouse brain by disruption of the ZnT3 gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96(4):1716-21, 1999.

Connor TJ, Leonard BE. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci*. 62(7):583-606, 1998.

Cooper BR, Hester TJ, Maxwell RA. Behavioral and biochemical effects of the antidepressant bupropion (Wellbutrin): evidence for selective blockade of dopamine uptake in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 215:127-34, 1980.

Coppen AJ, Doogan DP. Serotonin and its place in the pathogenesis of depression. *J. Clin. Psychiatry*. 49 Suppl: 4-11, 1988.

Cordas TA. *Depressão: da bile negra aos neurotransmissores (uma introdução histórica)*. 1. ed. São Paulo: Lemos editorial. 13-28, 2002.

Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.* 23(5):238-45, 2002.

Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav. Rev.* 29(4-5):571-625, 2005.

---

Cryan JF, Slattery DA. Animal models of mood disorders: Recent developments. *Curr Opin Psychiatry*. 20(1):1-7, 2007.

Czéh B, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, de Biurrun G, van Kampen M, Bartolomucci A, Fuchs E. Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98(22):12796-801, 2001

D'Aquila PS, Collu M, Gessa GL, Serra G. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressants. *Eur. J. Pharmacol.* 405:365-73, 2000.

Da Silva GL, Mateussi AS, Santos ARS, Calixto JB, Rodrigues ALS. Evidence for a dual effect of nitric oxide in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. *NeuroReport*. 11: 3699-3702, 2000.

Dantzer R, Wollman EE, Vitkovic L, Yirmiya R. Cytokines, stress, and depression. Conclusions and perspectives. *Adv. Exp. Med. Biol.* 461:317-29, 1999.

Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya R. Cytokines and depression: an update. *Brain Behav. Immun.* 16(5):501-2, 2002.

DeBattista C, Solvason HB, Poirier J, Kendrick E, Schatzberg AF. A prospective trial of bupropion SR augmentation of partial and non-responders to serotonergic antidepressants. *J. Clin. Psychopharmacol.* 23(1):27-30, 2003.

DeBattista C. Augmentation and combination strategies for depression. *J. Psychopharmacol.* 20:11-8, 2006.

DeBattista C, Belanoff J. The use of mifepristone in the treatment of neuropsychiatric disorders. *Trends Endocrinol. Metab.* 17(3):117-21, 2006.

Dhillon S, Yang LP, Curran MP. Bupropion: a review of its use in the management of major depressive disorder. *Drugs*. 68:653-89, 2008.

Dhir A, Kulkarni SK. Involvement of nitric oxide (NO) signaling pathway in the antidepressant action of bupropion, a dopamine reuptake inhibitor. *Eur J Pharmacol.* 568:177-85, 2007.

Dhir A, Kulkarni SK. Involvement of dopamine (DA)/serotonin (5-HT)/sigma (sigma) receptor modulation in mediating the antidepressant action of ropinirole hydrochloride, a D2/D3 dopamine receptor agonist. *Brain Res. Bull.* 74(1-3):58-65, 2007.

Dilsaver SC. Cholinergic mechanisms in affective disorders. Future directions for investigation. *Acta Psychiatr. Scand.* 74(4):312-34, 1986.



---

Domínguez MI, Blasco-Ibáñez JM, Crespo C, Marqués-Marí AI, Martínez-Guijarro FJ. Zinc chelation during non-lesioning overexcitation results in neuronal death in the mouse hippocampus. *Neuroscience*. 116(3):791-806, 2003.

Donati RJ, Rasenick MM. G protein signaling and the molecular basis of antidepressant action. *Life Sci*. 73(1):1-17, 2003.

Drevets WC, Raichle ME. Neuroanatomical circuits in depression: implications for treatment mechanisms. *Psychopharmacol Bull*. 28(3):261-74, 1992.

Drevets WC, Videen TO, Price JL, Preskorn SH, Carmichael ST, Raichle ME. A functional anatomical study of unipolar depression. *J Neurosci*. 12(9):3628-41, 1992.

Du L, Bakish D, Ravindran A, Hrdina PD. MAO-A gene polymorphisms are associated with major depression and sleep disturbance in males. *Neuroreport*. 15(13): 2097-101, 2004.

Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ. A molecular and cellular theory of depression. *Arch. Gen. Psychiatry*. 54(7):597-606, 1997.

Duman RS, Nakagawa S, Malberg J. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology*. 25(6):836-44, 2001.

Dwoskin LP, Rauhut AS, King-Pospisil KA, Bardo MT. Review of the pharmacology and clinical profile of bupropion, an antidepressant and tobacco use cessation agent. *CNS Drug Rev*. 12:178-207, 2006.

Ebmeier KP, Donaghey C, Steele JD. Recent developments and current controversies in depression. *Lancet*. 367(9505):153-67, 2006.

Eom SJ, Kim EY, Lee JE, Kang HJ, Shim J, Kim SU, Gwag BJ, Choi EJ. Zn(2+) induces stimulation of the c-Jun N-terminal kinase signaling pathway through phosphoinositide 3-Kinase. *Mol. Pharmacol*. 59(5):981-6, 2001.

Fairweather-Tait SJ. Zinc in human nutrition. *Nutr. Res. Rev*. 1(1):23-37, 1988.

Feinstein A. The pre-therapeutic classification of co-morbidity in chronic diseases. *Journal of Chronic Diseases*, 23: 455-468, 1970.

Ferrari F, Pelloni F, Giuliani D. Suppressive effect of the dopamine D2 receptor agonist B-HT 920 on rat grooming. *Eur. J. Pharmacol*. 216(3):345-50, 1992.

File SE. Recent developments in anxiety, stress, and depression. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 54: 3-12, 1996.

Fraker PJ, Gershwin ME, Good RA, Prasad A. Interrelationships between zinc and immune function. *Fed Proc*. 45(5):1474-9, 1986.

---

Fraker PJ, King LE, Laakko T, Vollmer TL. The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status. *J. Nutr.* 130(5S Suppl):1399S-406S, 2000.

Franco JL, Posser T, Brocardo PS, Trevisan R, Uliano-Silva M, Gabilan NH, Santos AR, Leal RB, Rodrigues ALS, Farina M, Dafre AL. Involvement of glutathione, ERK1/2 phosphorylation and BDNF expression in the antidepressant-like effect of zinc in rats. *Behav. Brain Res.* 188(2):316-23, 2008.

Frederickson CJ, Won Suh S, Silva D, Frederickson CJ, Thompson RB. Importance of zinc in the central nervous system: the zinc-containing neuron. *J. Nutr.* 130:1471S-83S, 2000.

Garcia LSB, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Barbosa LM, Andreazza AC, et al. Acute administration of ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases BDNF levels in the rat hippocampus. *Prog Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 32:140-4, 2008.

Decreased muscarinic receptor binding in the frontal cortex of bipolar disorder and major depressive disorder subjects. Gibbons AS, Scarr E, McLean C, Sundram S, Dean B. *J Affect Disord.* 2008. *In press.*

Glowinski J, Axelrod J. Inhibition of uptake of tritiated noradrenaline in intact rat brain by imipramine and structurally related compounds. *Nature.* 204:1318-9, 1964.

Greenberg RM, Kellner CH. Electroconvulsive therapy: a selected review. *Am J Geriatr Psychiatry.* 13(4):268-81, 2005.

Gold PW, Chrousos G, Kellner C, Post R, Roy A, Augerinos P, Schulte H, Oldfield E, Loriaux DL. Psychiatric implications of basic and clinical studies with corticotropin-releasing factor. *Am. J. Psychiatry.* 141(5):619-27, 1984.

Gold PW, Calabrese JR, Kling MA, Avgerinos P, Khan I, Gallucci WT, Tomai TP, Chrousos GP. Abnormal ACTH and cortisol responses to ovine corticotropin releasing factor in patients with primary affective disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 10(1):57-65, 1986.

Goodwin FK, Jamison KR. Maniac-depressive illness. 1.ed. New York: Oxford University Press. 1990.

Gupta RK, Tiller JW, Burrows GD. Dual action antidepressants and some important considerations. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 37:190-195, 2003.

Hall CS. Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Psychol.* 18: 385-403, 1934.

Hall CS. Emotional behavior in the rat III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *J. Comp. Psychol.* 22: 345-352, 1936.

---

Holsboer F, Müller OA, Doerr HG, Sippell WG, Stalla GK, Gerken A, Steiger A, Boll E, Benkert O. ACTH and multiteroid responses to corticotropin-releasing factor in depressive illness: relationship to multiteroid responses after ACTH stimulation and dexamethasone suppression. *Psychoneuroendocrinology*. 9(2):147-60, 1984.

Hong CJ, Huo SJ, Yen FC, Tung CL, Pan GM, Tsai SJ. Association study of a brain-derived neurotrophic-factor genetic polymorphism and mood disorders, age of onset and suicidal behavior. *Neuropsychobiology*. 48(4):186-9, 2003.

Horning MS, Blakemore LJ, Trombley PQ. Endogenous mechanisms of neuroprotection: role of zinc, copper, and carnosine. *Brain Res*. 852(1):56-61, 2000.

Hasanoğlu E, Altan N, Sindel S, Ongun CO, Bali M, Altıntaş E. The relationship between erythrocyte superoxide dismutase activity and plasma levels of some trace elements (Al, Cu, Zn) of dialysis patients. *Gen. Pharmacol*. 25(1):107-10, 1994.

Hosie AM, Dunne EL, Harvey RJ, Smart TG. Zinc-mediated inhibition of GABA<sub>A</sub> receptors: discrete binding sites underlie subtype specificity. *Nat. Neurosci*. 6(4):362-9, 2003.

Howell GA, Welch MG, Frederickson CJ. Stimulation-induced uptake and release of zinc in hippocampal slices. *Nature*. 308(5961):736-8, 1984.

Hyttel J. Pharmacological characterization of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). *Int. Clin. Psychopharmacol*. 9:19-26, 1994.

Ilouz R, Kaidanovich O, Gurwitz D, Eldar-Finkelman H. Inhibition of glycogen synthase kinase-3beta by bivalent zinc ions: insight into the insulin-mimetic action of zinc. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 295:102-6, 2002.

Isenberg KE, Zorumski CF. Treatment choices when options appear plentiful. *J ECT*. 22(4):233-4, 2006.

Itil TM, Shrivastava RK, Mukherjee S, Coleman BS, Michael ST. A double-blind placebocontrolled study of fluvoxamine and imipramine in out-patients with primary depression. *Br. J. Clin. Pharmacol*. 15:433S-8S, 1983.

Janowsky DS, el-Yousef MK, Davis JM, Sekerke HJ. A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet*. 2(7778):632-5, 1972.

Joca SR, Skalisz LL, Beijamini V, Vital MA, Andreatini R. The antidepressive-like effect of oxcarbazepine: possible role of dopaminergic neurotransmission. *Eur. Neuropsychopharmacol*. 10(4):223-8, 2000.

Joffe RT, Sokolov ST. Thyroid hormone treatment of primary unipolar depression: a review. *Int. J. Neuropsychopharmacol*. 3(2):143-147, 2000.

---

Jolles J, Rompa-Barendregt J, Gispen WJ. Novelty and grooming behavior in the rat. *Behav. neural Biol.* 25: 563–572, 1979.

Jun TY, Pae CU, Hoon-Han, Chae JH, Bahk WM, Kim KS, Serretti A. Possible association between -G308A tumour necrosis factor-alpha gene polymorphism and major depressive disorder in the Korean population. *Psychiatr Genet.* 13(3): 179-81, 2003.

Kalueff AV. *Grooming and stress.* KSF Publishers, Kiv. 2002.

Karalliedde L, Wheeler H, Maclehorse R, Murray V. Possible immediate and long-term health effects following exposure to chemical warfare agents. *Public Health.* 114(4):238-48, 2000.

Karten YJ, Olariu A, Cameron HA. Stress in early life inhibits neurogenesis in adulthood. *Trends Neurosci.* 28(4):171-2, 2005.

Kaster, MP, Rosa AO, Rosso MM, Goulart EC, Santo ARS, Rodrigues ALS. Adenosine administration produces an antidepressant-like effect in mice: evidence for the involvement of A1 and A2A receptors. *Neurosci Lett.* 355(1-2):21-4, 2004.

Kaster MP, Ferreira PK, Santos AR, Rodrigues ALS. Effects of potassium channel inhibitors in the forced swimming test: possible involvement of L-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway. *Behav. Brain Res.* 165(2):204-9, 2005.

Keller MB, McCullough JP, Klein DN, Arnow B, Dunner DL, Gelenberg AJ, Markowitz JC, Nemeroff CB, Russell JM, Thase ME, Trivedi MH, Zajecka J. A comparison of nefazodone, the cognitive behavioral-analysis system of psychotherapy, and their combination for the treatment of chronic depression. *N. Engl. J. Med.* 342(20):1462-70, 2000.

Kelly AE. Locomotor activity and exploration. In: *Behavioural Neuroscience: a Practical Approach* vol. II. Oxford: Ed. A. Sahgal. 121, 1993.

Kessler R, Zhao S, Blazer D, Swartz M. Prevalence, correlates, and course of minor depression and major depression in the National Comorbidity Survey. *J Affect Disord,* 45 (1-2): 19-30, 1997.

Kirchner H, Rühl H. Stimulation of human peripheral lymphocytes by Zn<sup>2+</sup> in vitro. *Exp. Cell Res.* 61(1):229-30, 1970.

Kodama M, Fujioka T, Duman RS. Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. *Biol. Psychiatry.* 56(8):570-80, 2005.

Koh JY, Choi DW. Zinc toxicity on cultured cortical neurons: involvement of N-methyl-D-aspartate receptors. *Neuroscience.* 60(4):1049-57, 1994.

---

Koh JY, Suh SW, Gwag BJ, He YY, Hsu CY, Choi DW. The role of zinc in selective neuronal death after transient global cerebral ischemia. *Science*.272(5264):1013-6, 1996.

Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature*. 455(7215):894-902, 2008.

Krocicka B, Ziêba A, Dudek D, Pilc A, Nowak G. Zinc exhibits an antidepressant-like effect in the forced swimming test in mice. *Pol. J. Pharmacol*. 52:403–6, 2000.

Krocicka B, Brański P, Palucha A, Pilc A, Nowak G. Antidepressant-like properties of zinc in rodent forced swim test. *Brain Res. Bull*. 55:297–300, 2001.

Kruk MR, Westphal KGC, VanErp AMM, VanAsperen J, Cave BJ, Slater E. The hypothalamus: cross-roads of endocrine and behavioral regulation of grooming and aggression. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 23: 163–177, 1998.

Kudoh A, Takahira Y, Katagai, H., Takazawa, T. Small-dose ketamine improves the postoperative state of depressed patients. *Anesth. Analg*. 95: 114-118, 2002.

Lander ES, Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science*. 265(5181): 2037-48, 1994.

Lavretsky H, Kim MD, Kumar A, Reynolds CF. Combined treatment with methylphenidate and citalopram for accelerated response in the elderly: an open trial. *J. Clin. Psychiatry*. 64(12):1410-4, 2003.

Lengyel I, Fieuw-Makaroff S, Hall AL, Sim AT, Rostas JA, Dunkley PR. Modulation of the phosphorylation and activity of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II by zinc. *J. Neurochem*. 75(2):594-605, 2000.

Lesch KP, Gross J, Franzek E, Wolozin BL, Riederer P, Murphy DL. Primary structure of the serotonin transporter in unipolar depression and bipolar disorder. *Biol. Psychiatry*. 37(4): 215-23, 1995.

Levine J, Panchalingam K., Rapoport A, Gershon S, McClure RJ, Pettegrew JW. Increased Cerebrospinal Fluid Glutamine Levels in Depressed Patients. *Biol. Psychiatry*. 47: 586-593, 2000.

Li X, Tizzano JP, Griffey K, Clay M, Lindstrom T, Skolnick P. Antidepressant-like actions of an AMPA receptor potentiator (LY392098). *Neuropharmacology*. 40(8):1028-33, 2001.

Lobner D, Canzoniero LM, Manzerra P, Gottron F, Ying H, Knudson M, Tian M, Dugan LL, Kerchner GA, Sheline CT, Korsmeyer SJ, Choi DW. Zinc-induced neuronal death in cortical neurons. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. 46(4):797-806, 2000.

---

Luecke RW, Simonel CE, Fraker PJ. The effect of restricted dietary intake on the antibody mediated response of the zinc deficient A/J mouse. *J. Nutr.* 108(5):881-7, 1978.

MacGillivray S, Arroll B, Hatcher S, Ogston S, Reid I, Sullivan F, Williams B, Crombie I. Efficacy and tolerability of selective serotonin reuptake inhibitors compared with tricyclic antidepressants in depression treated in primary care: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 326(7397):1014, 2003.

Machado DG, Kaster MP, Binfaré RW, Dias M, Santos ARS, Pizzolatti MG, Brighente I, Rodrigues ALS. Antidepressant-like effect of the extract from leaves of *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Prog Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 31:421-8, 2007.

Machado DG, Bettio LE, Cunha MP, Santos ARS, Pizzolatti MG, Brighente IM, Rodrigues ALS. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *Eur J Pharmacol.* 587(1-3):163-8, 2008.

Maeng S, Zarate Jr CA, Du J, Schloesser RJ, McCammon J, Chen G, et al. Cellular mechanisms underlying the antidepressant effects of ketamine: role of alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptors. *Biol. Psychiatry.* 63:349-52, 2008.

Maes M, D'Haese PC, Scharpe S, D'Hondt PD, Cosyns P, De Broe ME. Hypozincemia in depression. *J. Affect. Disord.* 31:135-40, 1994.

Maes M, Vandoolaeghe E, Neels H, Demedts P, Wauters A, Meltzer HY, et al. Lower serum zinc in major depression is a sensitive marker of treatment resistance and of the immune/inflammatory response in that illness. *Biol. Psychiatry.* 42:349-58, 1997.

Maes M, De Vos N, Demedts P, Wauters A, Neels H. Lower serum zinc in major depression in relation to changes in serum acute phase proteins. *J. Affect. Disord.* 56:189-94, 1999.

Maj J, Rogóz Z, Skuza G, Sowińska H. Effects of MK-801 and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2:37-41, 1992.

Malberg JE, Duman RS. Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology.* 28(9):1562-71, 2003.

Manev H, Kharlamov E, Uz T, Mason RP, Cagnoli CM. Characterization of zinc-induced neuronal death in primary cultures of rat cerebellar granule cells. *Exp. Neurol.* 146(1):171-8, 1997.

---

Mantovani M, Pértile R, Calixto JB, Santos AR, Rodrigues ALS. Melatonin exerts an antidepressant-like effect in the tail suspension test in mice: evidence for involvement of N-methyl-D-aspartate receptors and the L-arginine-nitric oxide pathway. *Neurosci. Lett.* 343(1):1-4, 2003.

Manser WW, Khan MA, Hasan KZ. Trace element studies on Karachi population. Part IV: blood copper, zinc, magnesium and lead levels in psychiatric patients with depression, mental retardation and seizure disorders. *J. Pak Med. Assoc.* 39:269-74, 1989.

Mann JJ, Malone KM, Diehl DJ, Perel J, Cooper TB, Mintun MA. Demonstration in vivo of reduced serotonin responsivity in the brain of untreated depressed patients. *Am. J. Psychiatry.* 153: 174-82, 1996.

Marin P, Israël M, Glowinski J, Prémont J. Routes of zinc entry in mouse cortical neurons: role in zinc-induced neurotoxicity. *Eur. J. Neurosci.* 12(1):8-18, 2000.

Markou A, Chiamulera C, Geyer MA, Tricklebank M, Steckler T. Removing obstacles in neuroscience drug discovery: the future path for animal models. *Neuropsychopharmacology.* 34(1):74-89, 2009.

Mathis P, Schmitt L, Benatia M, Granier F, Ghisolfi J, Moron P. Plasma amino acid disturbances and depression. *Encephale.* 14(2):77-82, 1988.

Matos e Sousa FG. Tratamento da depressão. *Rev. Bras. Psiqu.* 21: SI18-SI23, 1999.

Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci.* 27(10):589-94, 2004.

Maubach KA, Rupniak NM, Kramer MS, Hill RG. Novel strategies for pharmacotherapy of depression. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 3(4):481-8, 1999.

McCall KA, Huang C, Fierke CA. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. *J. Nutr.* 130(5S Suppl):1437S-46S, 2000.

McKinney WT Jr, Bunney WE Jr. Animal model of depression. I. Review of evidence: implications for research. *Arch. Gen. Psychiatry.* 21(2):240-8, 1969.

McLoughlin IJ, Hodge JS. Zinc in depressive disorder. *Acta Psychiatr. Scand.* 82 (6):451-3, 1990.

Menza M, Dobkin RD, Marin H, Mark MH, Gara M, Buyske S, Bienfait K, Dicke A. A controlled trial of antidepressants in patients with Parkinson disease and depression. *Neurology.* 72(10):886-92, 2009.

Mervaala E, Föhr J, Könönen M, Valkonen-Korhonen M, Vainio P, Partanen K, Partanen J, Tiihonen J, Viinamäki H, Karjalainen AK, Lehtonen J. Quantitative MRI of the hippocampus and amygdala in severe depression. *Psychol. Med.* 30 (1):117-25, 2000.

---

Mittal CK, Harrell WB, Mehta CS. Interaction of heavy metal toxicants with brain constitutive nitric oxide synthase. *Mol. Cell Biochem.* 149–150:263–5, 1995.

Molnár P, Nadler JV. Synaptically-released zinc inhibits N-methyl-aspartate receptor activation at recurrent mossy fiber synapses. *Brain Res.* 910:205–7, 2001.

Monroe SM, Simons AD, Thase ME. Onset of depression and time to treatment entry: roles of life stress. *J. Consult. Clin. Psychol.* 59(4):566-73, 1991.

Musselman DL, Evans DL, Nemeroff CB. The relationship of depression to cardiovascular disease: epidemiology, biology, and treatment. *Arch. Gen. Psychiatry.* 55:580–92, 1998.

Nakagawa Y, Ishima T, Ishibashi Y, Tsuji M, Takashima T. Involvement of GABAB receptor systems in experimental depression: baclofen but not bicuculline exacerbates helplessness in rats. *Brain Res.* 741(1-2):240-5, 1996.

Narang RL, Gupta KR, Narang AP, Singh R. Levels of copper and zinc in depression. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 35(4):272-4, 1991.

Nardi AE. Depressão no ciclo da vida. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 22: 49-152, 2000.

Nelson JC. Current status of tricyclic antidepressants in psychiatry: their pharmacology and clinical applications. *J. Clin. Psychiatry.* 52:193–200, 1991.

Nelson JC. Augmentation strategies in the treatment of major depressive disorder. Recent findings and current status of augmentation strategies. *CNS Spectr.* 12:6–9, 2007.

Nemeroff CB, Widerlöv E, Bissette G, Walléus H, Karlsson I, Eklund K, Kilts CD, Loosen PT, Vale W. Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science.* 226(4680):1342-4, 1984.

Nemeroff CB; Owens MJ. Treatment of mood disorders. *Nature Neurosci.*, v.5, p.1068-1070, 2002.

Nemeroff CB. The burden of severe depression: a review of diagnostic challenges and treatment alternatives. *J. Psychiatr. Res.* 41:189–206, 2007.

Nestler EJ, Carlezon JrWA. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol. Psychiatry.* 59:1151–9, 2006.

Nestler EJ, Barrot M, Dileone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron.* 34:13–25, 2002a.

Nestler EJ, Gould E, Manji H, Bunacan M, Duman RS, Greshenfeld HK, Hen R, Koester S, Lederhendler I, Meaney M, Robbins T, Winsky L, Zalcman S. Preclinical models: status of basic research in depression. *Biol. Psychiatry.* 52(6):503-28, 2002b.



---

Nierenberg AA, Price LH, Charney DS, Heninger GR. After lithium augmentation: a retrospective follow-up of patients with antidepressant-refractory depression. *J. Affect. Disord.* 18(3):167-75, 1990.

Nowak G, Szewczyk B. Mechanisms contributing to antidepressant zinc action. *Pol. J. Pharmacol.* 54:587-92, 2002.

Nowak G, Siwek M, Dudek D, Zięba A, Pilc A. Effect of zinc supplementation on antidepressant therapy in unipolar depression: a preliminary placebo-controlled study. *Pol. J. Pharmacol.*;55:1143-7, 2003a.

Nowak G, Szewczyk B, Wierońska JM, Brański P, Palucha A, Pilc A. Antidepressant-like effects of acute and chronic treatment with zinc in forced swim test and olfactory bulbectomy model in rats. *Brain Res. Bull.* 61:159-64, 2003b.

Nowak G, Zięba A, Dudek D, Kroeniak M, Szymaczek M, Schlegel-Zawadzka M. Serum trace elements in animal models and human depression. Part I. Zinc. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* 14:83-6, 1999.

Nowak G, Schlegel-Zawadzka M. Alterations in serum and brain trace element levels after antidepressant treatment: part I. Zinc. *Biol. Trace Elem. Res.* 67(1):85-92, 1999.

Ossowska G, Klenk-Majewska B, Danilczuk Z, Wróbel A, Ebrowska-Łupina I, Czajkowski L: Antidepressantlike effect of zinc hydroaspartate in a chronic unpredictable stress model of depression. In: 12th International Symposium "Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism", Cracow. Ed. Lach H, Kraków, 288-289, 2003.

Ossowska G, Klenk-Majewska B, Danilczuk Z, Wróbel A, Ebrowska-Lupina I, Czajkowski L: Effects of coadministration of antidepressants and zinc in chronic unpredictable stress (CUS) model of depression. In: 13<sup>th</sup> International Symposium "Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism", Cracow. Ed. Lach H, Kraków, 332-333, 2004.

Owens MJ, Nemeroff CB. The serotonin transporter and depression. *Depress. Anxiety.* 8 Suppl 1:5-12, 1998.

Palmiter RD, Cole TB, Findley SD. ZnT-2, a mammalian protein that confers resistance to zinc by facilitating vesicular sequestration. *EMBO J.* 15(8):1784-91, 1996a.

Palmiter RD, Cole TB, Quaipe CJ, Findley SD. ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93(25):14934-9, 1996b.

Papakostas GI, Montgomery SA, Thase ME, Katz JR, Krishen A, Tucker VL. Comparing the rapidity of response during treatment of major depressive disorder with bupropion and the SSRIs: a pooled survival analysis of 7 double-blind, randomized clinical trials. *J. Clin. Psychiatry.* 68:1907-12, 2007.

---

Papakostas GI, Petersen T, Mahal Y, Mischoulon D, Nierenberg AA, Fava M. Quality of life assessments in major depressive disorder: a review of the literature. *Gen. Hosp. Psych.* 26:13–7, 2004.

Park JA, Koh JY. Induction of an immediate early gene *egr-1* by zinc through extracellular signal-regulated kinase activation in cortical culture: its role in zinc-induced neuronal death. *J. Neurochem.* 73(2):450-6, 1999.

Paulus MP, Dulawa SC, Ralph RJ, Geyer MA Behavioral organization is independent of locomotor activity in 129 and C57 mouse strains, *Brain. Res.* 835: 27–36, 1999.

Paykel ES. Stress and affective disorders in humans. *Semin. Clin. Neuropsychiatry.* 6(1):4-11, 2001.

Pérez-Clausell J, Danscher G. Intravesicular localization of zinc in rat telencephalic boutons. A histochemical study. *Brain Res.* 337(1):91-8, 1985.

Peters S, Koh JY, Choi DW. Zinc selectively blocks the action of N-methyl-D-aspartate on cortical neurons. *Science.* 236:589–93, 1987.

Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology (Berl).* 177(3):245-55, 2005.

Poncelet M, Martin P, Danti S, Simon P, Soubrié P. Noradrenergic rather than GABAergic processes as the common mediation of the antidepressant profile of GABA agonists and imipramine-like drugs in animals. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 28(3):321-6, 1987.

Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 266(5604):730-2, 1977.

Porsolt, R.D., Chermat, R., Lenegre, A., Avril, I., Janvier, S., Steru, L. Use of the automated tail suspension test for the primary screening of psychotropic agents. *Arch Int Pharmacodyn. Ther.* 288, 11–30, 1987.

Prasad AS. Zinc deficiency in human subjects. *Prog. Clin. Biol. Res.* 129:1-33, 1983.

Preston A; West A. Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swim test. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry.* 14: 863-877, 1990.

Preskorn SH, Baker B, Kolluri S, Menniti FS, Krams M, Landen JW. An innovative design to establish proof of concept of the antidepressant effects of the NR2B subunit selective N-methyl-D-aspartate antagonist, CP-101,606, in patients with treatment-refractory major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol.* 28(6):631-7, 2008.

---

Price LH, Charney DS, Rubin AL, Heninger GR. Alpha 2-adrenergic receptor function in depression. *Arch. Int. Pharm. Ther.* 229: 327-36, 1986.

Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur. J. Pharmacol.* 463(1-3):3-33, 2003.

Rabkin JG, Rabkin R, Wagner G. Effects of fluoxetine on mood and immune status in depressed patients with HIV illness. *J. Clin. Psychiatry.* 55:92-7, 1999.

Rampello L, Nicoletti F, Nicoletti F. Dopamine and depression. Therapeutic implications. *CNS Drugs.* 13: 36-45, 2000.

Reivich M, Amsterdam JD, Brunswick DJ, Shiue CY. PET brain imaging with [11C](+)McN5652 shows increased serotonin transporter availability in major depression. *J. Affect. Disord.* 82(2):321-7, 2004.

Rektorová I, Rektor I, Bares M, Dostál V, Ehler E, Fanfrdlová Z, Fiedler J, Klajblová H, Kulist'ák P, Ressler P, Svátová J, Urbánek K, Velísková J. Pramipexole and pergolide in the treatment of depression in Parkinson's disease: a national multicentre prospective randomized study. *Eur. J. Neurol.* 10(4):399-406, 2003.

Ressler KJ, Nemeroff CB. Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biol. Psychiatry.* 46(9):1219-33, 1999.

Richelson E. Interactions of antidepressants with neurotransmitter transporters and receptors and their clinical relevance. *J. Clin. Psychiatry.* 64:5-12, 2003.

Richelson E, Pfenning M. Blockade by antidepressants and related compounds of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes: most antidepressants selectively block norepinephrine uptake. *Eur. J. Pharmacol.* 104:277-86, 1984.

Rink L, Kirchner H. Zinc-altered immune function and cytokine production. *J. Nutr.* 130(5S Suppl):1407S-11S, 2000.

Robertson MM, Katona CL. Effective and acceptable treatment for depression. *BMJ.* 306(6885):1125-6, 1993.

Rodrigues ALS, Silva GL, Matteussi AS, Fernandes E, Miguel O, Yunes RA. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of the hydroalcoholic extract of *Siphocampylus verticillatus*. *Life Sci.* 70:1347-58, 2002.

Rodrigues ALS, Rocha JBT, Mello CF, Souza DO. Effect of perinatal lead exposure on rat behavior in open-field and two-way avoidance tasks. *Pharmacol. Toxicol.* 79: 150-156, 1996.

---

Rogóz Z, Skuza G, Maj J, Danysz W. Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *Neuropharmacology*. 42:1024–30, 2002.

Rogóz Z, Skuza G, Kus'mider M, Wójcikowski J, Kot M, Daniel WA. Synergistic effect of imipramine and amantadine in the forced swimming test in rats. Behavioral and pharmacokinetic studies. *Pol. J. Pharmacol*. 56:179–85, 2004.

Rosa A, Peralta V, Papiol S, Cuesta MJ, Serrano F, Martínez-Larrea A, Fañanás L. Interleukin-1beta (IL-1beta) gene and increased risk for the depressive symptom-dimension in schizophrenia spectrum disorders. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 124B(1):10-4, 2004.

Rosa AO, Lin J, Calixto JB, Santos AR, Rodrigues ALS. Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitric oxide pathway in the antidepressant-like effects of zinc in mice. *Behav. Brain Res*. 144:87–93, 2003.

Rosenbrock H, Koros E, Bloching A, Podhorna J, Borsini F. Effect of chronic intermittent restraint stress on hippocampal expression of marker proteins for synaptic plasticity and progenitor cell proliferation in rats. *Brain Res*. 1040(1-2):55-63, 2005.

Rudorfer MV, Potter WZ. Antidepressants. A comparative review of the clinical pharmacology and therapeutic use of the 'newer' versus the 'older' drugs. *Drugs*. 37(5):713-38, 1989.

Rush AJ, Trivedi M, Fava M. Depression, IV: STAR-D treatment trial for depression. *Am. J. Psychiatry*. 160:237, 2003.

Sachar EJ, Hellman L, Fukushima DK, Gallagher TF. Cortisol production in depressive illness. A clinical and biochemical clarification. *Arch. Gen. Psychiatry*. 23(4):289-98, 1970.

Sandström B. Bioavailability of zinc. *Eur. J. Clin. Nutr*. 51 Suppl 1:S17-9, 1997.

Schlegel-Zawadzka M, Ziêba A, Dudek D, Krooeniak M, Szymaczek M, Nowak G: Effect of depression and of antidepressant therapy on serum zinc levels – a preliminary clinical study. In: *Trace Elements in Man and Animals 10*. Ed. Roussel AM, Anderson RA, Favrier AE, Kluwer. Academic Plenum Press, New York, 2000, 607–610.

Schulze TG, Müller DJ, Krauss H, Scherk H, Ohlraun S, Sygailo YV, Windemuth C, Neidt H, Grässle M, Papassotiropoulos A, Heun R, Nöthen MM, Maier W, Lesch KP, Rietschel M. Association between a functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter and major depressive disorder. *Am. J. Med. Genet*. 96(6):801-3, 2000.

---

Schumacher J, Jamra RA, Becker T, Ohlraun S, Klopp N, Binder EB, Schulze TG, Deschner M, Schmäl C, Höfels S, Zobel A, Illig T, Propping P, Holsboer F, Rietschel M, Nöthen MM, Cichon S. Evidence for a relationship between genetic variants at the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) locus and major depression. *Biol Psychiatry*. 58(4): 307-14, 2005.

Segal Z, Vincent P, Levitt A. Efficacy of combined, sequential and crossover psychotherapy and pharmacotherapy in improving outcomes in depression. *J. Psychiatry Neurosci*. 27(4):281-90, 2002.

Sensi SL, Yin HZ, Weiss JH. AMPA/kainate receptor-triggered Zn<sup>2+</sup> entry into cortical neurons induces mitochondrial Zn<sup>2+</sup> uptake and persistent mitochondrial dysfunction. *Eur. J. Neurosci*. 12(10):3813-8, 2000.

Sheline CT, Behrens MM, Choi DW. Zinc-induced cortical neuronal death: contribution of energy failure attributable to loss of NAD(+) and inhibition of glycolysis. *J. Neurosci*. 20(9): 3139-46, 2000.

Sheline YI, Sanghavi M, Mintun MA, Gado MH. Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression. *J Neurosci*. 15;19(12):5034-43, 1999.

Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*. 93(9):3908-13, 1996.

Shelton RC, Tollefson GD, Tohen M, Stahl S, Gannon KS, Jacobs TG, Buras WR, Bymaster FP, Zhang W, Spencer KA, Feldman PD, Meltzer HY. A novel augmentation strategy for treating resistant major depression. *Am. J. Psychiatry*. 158(1):131-4, 2001.

Sherman AD, Sacquitne JL, Petty F. Specificity of the learned helplessness model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 16(3):449-54, 1982.

Simon GE, Maier W, Ustun TB, Linden M, Boyer P. Research diagnosis of current depressive disorder: a comparison of methods using current symptoms and lifetime history. *J. Psychiatry Res*. 29:457-65, 1995.

Siwek M, Dudek D, Paul IA, Sowa-Kućma M, Zięba A, Popik P, Pilc A, Nowak G. Zinc supplementation augments efficacy of imipramine in treatment resistant patients: A double blind, placebo-controlled study. *J Affect Disord*. In press.

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

Skolnick P, Miller R, Young A, Boje K, Trullas R. Chronic treatment with 1-aminocyclopropanecarboxylic acid desensitizes behavioral responses to compounds acting at the N-methyl-D-aspartate receptor complex. *Psychopharmacology*. 107:489-96, 1992.

---

Sleath B, Wurst K, Lowery T. Drug information sources and antidepressant adherence. *Community Ment. Health J.* 39(4):359-68, 2003.

Smith RS. The macrophage theory of depression. *Med. Hypotheses.* 35(4):298-306, 1991

Spiegel D. Cancer and depression. *Br. J. Psychiatry. Suppl:* 109-16, 1996.

Stahl SM. Selectivity of SSRIs: individualising patient care through rational treatment choices. *Int. J. Psychiatry Clin. Pract.* 8:3-10, 2004.

Steffens DC, Byrum CE, McQuoid DR, Greenberg DL, Payne ME, Blitchington TF, MacFall JR, Krishnan KR. Hippocampal volume in geriatric depression. *Biol. Psychiatry.* 48(4):301-9, 2000.

Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology.* 85:367-70, 1985.

Stockmeier CA, Mahajan GJ, Konick LC, Overholser JC, Jurjus GJ, Meltzer HY, Uylings HB, Friedman L, Rajkowska G. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biol. Psychiatry.* 56(9):640-50, 2004.

Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am. J. Psychiatry.* 157(10):1552-62, 2000.

Syme LA. Influence of age and sex on the behavior of rats deprived of the rearing response. *Dev Psychobiol.* 8(1):35-9, 1975.

Szegedi A, Rujescu D, Tadic A, Müller MJ, Kohnen R, Stassen HH, Dahmen N. The catechol-O-methyltransferase Val108/158Met polymorphism affects short-term treatment response to mirtazapine, but not to paroxetine in major depression. *Pharmacogenomics J.* 5(1): 49-53, 2005.

Szewczyk B, Brański P, Wierońska JM, Palucha A, Pilc A, Nowak G. Interaction of zinc with antidepressants in the forced swimming test in mice. *Pol. J. Pharmacol.* 54:681-5, 2002.

Takeda A. Movement of zinc and its functional significance in the brain. *Brain Res. Bull.* 34:137-48, 2002.

Takeda A, Tamano H, Kan F, Itoh H, Oku N. Anxiety-like behavior of young rats after 2-week zinc deprivation. *Behav. Brain Res.* 177(1):1-6, 2007.

Takeda A, Kawai M, Okada S. Zinc distribution in the brain of Nagase albuminemic rat and enlargement of the ventricular system. *Brain Res.* 769(1):193-5, 1997.

Tanapat P, Galea LA, Gould E. Stress inhibits the proliferation of granule cell precursors in the developing dentate gyrus. *Int. J. Dev. Neurosci.* 16(3-4):235-9, 1998.

---

Tapiero H, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed. Pharmacother.* 57(9):399-411, 2003.

Tassabehji NM, Corniola RS, Alshingiti A, Levenson CW. Zinc deficiency induces depression-like symptoms in adult rats. *Physiol. Behav.* 95(3):365-9, 2008.

Teste JF, Pelsy-Johann I, Decelle T, Boulu RG. Antiimmobility activity of different antidepressant drugs using the tail suspension test in normal or reserpinized mice. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 7, 219–226, 1993.

Thase ME, Rush AJ. When at first you don't succeed: sequential strategies for antidepressant nonresponders. *J. Clin. Psychiatry.* 58 Suppl 13:23-9, 1997.

:

Thase ME. The clinical, psychosocial, and pharmacoeconomic ramifications of remission. *Am. J. Manag. Care.* 7:S377–85, 2001.

Thase ME. Therapeutic alternatives for difficult-to-treat depression: a narrative review of the state of the evidence. *CNS Spectr.* 9(11):808-16, 818-21, 2004.

Thase ME. Augmentation strategies for depression: history and concepts. *CNS Spectr.* 12(12 Suppl 22):3-5, 2007.

Thiessen DD. Body temperature and grooming in the Mongolian gerbil. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 525:27-39, 1988.

Trullas R, Skolnick P. Functional antagonists of the NMDA receptor complex exhibit antidepressant action. *Eur. J. Pharmacol.* 185:1–10, 1990.

Trullas R, Folio T, Young A, Miller R, Boje K, Skolnick P. 1 aminocyclopropanecarboxylates exhibit antidepressant and anxiolytic actions in animal models. *Eur. J. Pharmacol.* 203:379–85, 1991.

Tsai SJ, Cheng CY, Yu YW, Chen TJ, Hong CJ. Association study of a brain-derived neurotrophic-factor genetic polymorphism and major depressive disorders, symptomatology, and antidepressant response. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 123B(1):19-22, 2003.

Weiss JH, Sensi SL, Koh JY. Zn(2+): a novel ionic mediator of neural injury in brain disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 21(10):395-401, 2000.

Wenzel HJ, Cole TB, Born DE, Schwartzkroin PA, Palmiter RD. Ultrastructural localization of zinc transporter-3 (ZnT-3) to synaptic vesicle membranes within mossy fiber boutons in the hippocampus of mouse and monkey. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94(23):12676-81, 1997.

---

Westenbroek C, Den Boer JA, Veenhuis M, Ter Horst GJ. Chronic stress and social housing differentially affect neurogenesis in male and female rats. *Brain Res. Bull.* 64(4):303-8, 2004.

Whittle N, Lubec G, Singewald N. Zinc deficiency induces enhanced depression-like behaviour and altered limbic activation reversed by antidepressant treatment in mice. *Amino Acids.* 36(1):147-58, 2009.

Willner P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology (Berl)* 83: 1-16, 1984.

Winterhoff H, Spengler B, Christoffel V, Butterweck V, Lohning A. Cimicifuga extract BNO 1055: reduction of hot flushes and hints on antidepressant activity. *Maturitas.* 44 (suppl 1), S51-S58, 2003.

Witkin JM, Marek GJ, Johnson BG, Schoepp DD. Metabotropic glutamate receptors in the control of mood disorders. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 6(2):87-100, 2007.

Wolf OT, Kuhlmann S, Buss C, Hellhammer DH, Kirschbaum C. Cortisol and memory retrieval in humans: influence of emotional valence. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1032:195-7, 2004.

Wong ML, Licinio J. Research and treatment approaches to depression. *Nat. Rev. Neurosci.* 2:343-51, 2001.

Wong ML, Kling MA, Munson PJ, Listwak S, Licinio J, Prolo P, Karp B, McCutcheon IE, Geraciotti TD Jr, DeBellis MD, Rice KC, Goldstein DS, Veldhuis JD, Chrousos GP, Oldfield EH, McCann SM, Gold PW. Pronounced and sustained central hypernoradrenergic function in major depression with melancholic features: relation to hypercortisolism and corticotropin-releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97(1):325-30, 2000.

Vallee BL, Auld DS. Zinc metallochemistry in biochemistry. *EXS.* 73:259-77, 1995.

Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol. Rev.* 73(1):79-118, 1993.

Vandenberg RJ, Mitrovic AD, Johnston GA. Molecular basis for differential inhibition of glutamate transporter subtypes by zinc ions. *Mol. Pharmacol.* 54(1):189-96, 1998.

Van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, Gage FH. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature.* 415(6875):1030-4, 2002.

VanErp AMM, Kruk MR, Meelis W, Willekens-Bramer DC. Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening. *Behav. Brain Res.* 65: 47-55, 1994



---

Varty GB, Cohen-Williams ME, Hunter JC. The antidepressant-like effects of neurokinin NK1 receptor antagonists in a gerbil tail suspension test. *Behav. Pharmacol.* 14, 87–95, 2003.

Vogt K, Mellor J, Tong G, Nicoll R. The actions of synaptically released zinc at hippocampal mossy fiber synapses. *Neuron.* 26(1):187-96, 2000.

Yeh GC, Bonhaus DW, McNamara JO. Evidence that zinc inhibits N-methyl-D-aspartate receptor-gated ion channel activation by noncompetitive antagonism of glycine binding. *Mol. Pharmacol.* 38:14–9, 1990.

Zarate CA Jr, Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, Charney DS, Manji HK A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 63(8):856-64, 2006.

Zatta P, Lucchini R, van Rensburg SJ, Taylor A. The role of metals in neurodegenerative processes: aluminum, manganese, and zinc. *Brain Res. Bull.* 62(1):15-28, 2003.

Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, Schüle C, Eser D, Rupprecht R, Möller HJ, Bondy B; Ackenheil M. SNP and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase isoform (TPH2) gene provide evidence for association with major depression. *Molecular Psychiatry.* 9: 1030–1036, 2004.

Zomkowski AD, Santos ARS, Rodrigues ALS. Putrescine produces antidepressant-like effects in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 30(8):1419-25, 2006.