

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

APARECIDA VINES

**O PAPEL DO ÓLEO DE PEIXE SOBRE RECEPTORES 5-HT_{1A} E A EXPRESSÃO
DO BDNF NO HIPOCAMPO E CÓRTEX DE RATOS: UM POSSÍVEL MECANISMO
ANTIDEPRESSIVO**

CURITIBA 2011

APARECIDA VINES

O PAPEL DO ÓLEO DE PEIXE SOBRE RECEPTORES 5-HT_{1A} E A EXPRESSÃO DO BDNF NO HIPOCAMPO E CÓRTEX DE RATOS: UM POSSÍVEL MECANISMO ANTIDEPRESSIVO

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre em Fisiologia, curso de Pós-graduação em Fisiologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientação: Profa. Dra. Anete Curte Ferraz

CURITIBA 2011



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Departamento de Fisiologia
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia



DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que **APARECIDA VINES** no dia 19 de dezembro de 2011, no Setor de Ciências Biológicas (UFPR) defendeu sua Dissertação de Mestrado em Fisiologia, intitulada: “ENVOLVIMENTO RECÍPROCO DOS RECEPTORES 5-HT1A E FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO ENCÉFALO NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADA EM RATOS SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE PEIXE DURANTE GRAVIDEZ E LACTAÇÃO”, com a banca examinadora constituída, pelos professores: Dr. Roberto Andreatini (Universidade Federal do Paraná), Dr^a. LUANA FISCHER (Universidade Federal do Paraná), e Dr^a. ANETE CURTE FERRAZ (da Universidade Federal do Paraná, como orientador e presidente da Banca Examinadora), tendo sido Aprovada. A solicitação de emissão do Diploma de Mestre em Fisiologia ficará condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Art. 59º do Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação.

Esta Declaração tem validade por 60(sessenta) dias, a partir da data de emissão da mesma.

Curitiba, 19 de dezembro de 2011.

Ricardo Fernández Perez
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia

AGRADECIMENTOS

Em especial a Deus, por ter me colocado neste caminho, e sempre estar supervisionando minha caminhada.

À minha família por entender os meus anseios.

À Universidade Federal do Paraná, em especial ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia, aos coordenadores e respectivos professores, pela formação profissional e moral recebida nestes dois anos de estudo.

Ao Laboratório de Neurofisiologia da UFPR onde despertou em mim o gosto pela ciência.

À orientadora e professora Dra. Anete Curte Ferraz, por ter aberto as portas do laboratório de Neurofisiologia da UFPR, permitindo o meu aperfeiçoamento profissional e pessoal. Pela confiança, ensinamentos e orientações, fundamentais para a realização deste trabalho, e sobretudo pela oportunidade a mim concedida, serão sempre pequenas minhas manifestações de reconhecimento, agradecimento e admiração.

À futura mestrande Laís Soares Rodrigues pelo longo tempo de parceria, durante a realização deste trabalho, sobretudo pela amizade, confiança, perseverança e incentivo.

À doutoranda Ana Marcia Delattre, sempre pronta a auxiliar nos experimentos ao longo deste trabalho, e principalmente pela ajuda imensurável na quantificação do BDNF.

A todos colegas do laboratório de Neurofisiologia e da turma do Mestrado pelo apoio e convivência agradável.

À secretária Denize Moraes do Departamento de Fisiologia pela disponibilidade e atenção.

Aos professores Marcelo Meira dos Santos Lima (UFPR) e Débora Suchecki (UNIFESP), e a doutoranda Ana Márcia Delattre (UFPR) pela significativa colaboração e importantes sugestões para a elaboração do artigo científico gerado a partir destes dados. Agradeço também à professora Débora Suchecki (UNIFESP) pela quantificação das monoaminas e metabólitos das estruturas cerebrais dos animais deste projeto.

Aos funcionários do Biotério do Centro de Ciências Biológicas da UFPR pelo auxílio no dia a dia.

À Fundação Herbarium de Pesquisa e Saúde pela gentileza na doação das cápsulas de óleo de peixe utilizadas neste trabalho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

A todos que de alguma forma, direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho.

RESUMO

Estudos epidemiológicos e dietéticos mostram que a deficiência nutricional dos ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 (AGPI ω -3 ou n-3) está diretamente relacionada à prevalência e severidade da depressão. A suplementação com os ácidos docosahexaenoico (DHA) e eicosapentaenoico (EPA) durante a gestação e a lactação, períodos críticos do desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC), é essencial para maturação cortical, sinaptogênese e mielinização. Dados de pesquisas associam o baixo conteúdo dos AGPIs n-3 à redução dos níveis do BDNF (fator neurotrófico derivado do encéfalo), da mesma forma que o metabolismo da 5-HT (serotonina) e DA (dopamina) é coletivamente afetado pelos AGPIs n-3 e pela razão n-3/n-6. O presente estudo foi dedicado a avaliar o envolvimento do receptor serotoninérgico, 5-HT_{1A}, e as expressões hipocampal e cortical do BDNF no efeito antidepressivo da suplementação com óleo de peixe. No Experimento 1A, as análises dos comportamentos de imobilidade e natação acessadas pelo teste de natação forçada modificado (NFM), em ratos adultos aos 90 dias de idade, indicaram um robusto efeito antidepressivo induzido pela suplementação com óleo de peixe durante gestação e lactação, o qual foi revertido no Experimento 1B, pela ação de dois tratamentos farmacológicos que interferem no sistema serotoninérgico, um antagonista seletivo do receptor 5-HT_{1A}, WAY 100135, e um inibidor da enzima triptofano-hidroxilase, PCPA (para-clorofenilalanina). No Experimento 2, os conteúdos cortical e hipocampal do BDNF, da 5-HT e DA e de seus metabólitos, 5-HIAA (ácido 5-hidroxi-indolacético) e DOPAC (ácido 3,4-dihidroxifenilacético), respectivamente, foram determinados nos animais experimentais aos 21 e 90 dias de idade. Foi detectado acréscimo na expressão do BDNF no córtex cerebral e hipocampo nos animais suplementados, em ambos os grupos de idade. No grupo óleo de peixe (OP) aos 90 dias de idade, houve acréscimo nos níveis da 5-HT no hipocampo e córtex, embora a formação de 5-HIAA estivesse diminuída no hipocampo, indicando baixa metabolização da 5-HT nessa região cerebral. Estes dados confirmam o efeito antidepressivo da suplementação com óleo de peixe, além de mostrar a interação da ativação dos receptores 5-HT_{1A} e o acréscimo da expressão do BDNF hipocampal, o que sugere a mediação da 5-HT no efeito induzido pelo óleo de peixe.

Palavras-chave: ácidos graxos poli-insaturados, óleo de peixe, depressão, BDNF, serotonina, receptores 5-HT_{1A}

ABSTRACT

Epidemiological and dietary studies show that the nutritional deficit of omega-3 polyunsaturated fatty acids (ω -3 PUFA) is directly related to the prevalence and severity of depression. Supplementation with docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) during pregnancy and lactation, critical periods of development of the nervous central system (SNC) is essential for cortical maturation, synaptogenesis and myelination. Data associate the n-3 PUFAs low content with the BDNF (brain-derived neurotrophic factor) reduced levels, while the serotonergic and dopaminergic metabolism is collectively affected by n-3 PUFAs and the n-3/n-6 ratio. The present study was performed to evaluate the involvement of the serotonergic receptor, 5-HT_{1A}, and hippocampal and cortical brain BDNF expressions in the antidepressant effect of supplementation with fish oil. In Experiment 1A, analysis of immobility and swimming behaviors accessed by the modified forced swimming test (MFST) in adult rats showed a robust antidepressant effect induced by fish oil supplementation, during pregnancy and lactation, that could be reversed in Experiment 1B, through by two pharmacological treatments that interfere with serotonergic system, a selective antagonist of 5-HT_{1A} receptor, WAY 100135, and a inhibitor of the enzyme tryptophan hydroxylase, PCPA (para- chlorophenylalanine). In Experiment 2, the cortical and hippocampal contents of BDNF, 5-HT, DA (dopamine) and its metabolites, 5-HIAA (5-hydroxyindoleacetic acid), and DOPAC (3,4-dihydroxyphenylacetic acid), respectively, were determined in experimental animals at 21 and 90 days old. BDNF-increased expression in the cortex and hippocampus of supplemented animals in both age groups was detected. In the fish oil group at 90 days old, there was an increase in the levels of 5-HT in the hippocampus and cortex, although the formation of 5-HIAA was reduced in the hippocampus, indicating low 5-HT metabolism in this brain region. These data confirm the antidepressant effect of fish oil supplementation, in addition to show the activation of 5-HT_{1A} receptors and increased BDNF hippocampal expression interaction, which suggests a 5-HT mediation on induced effect of fish oil.

Keywords: Polyunsaturated fatty acids, Fish oil, Depression, BDNF, Serotonin, 5-HT_{1A} receptors

LISTA DE ABREVIATURAS (da dissertação)

- AA- Ácido araquidônico
- AADC- Descarboxilase de aminoácido aromático
- AGPI-LC- Ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa
- ALA- Ácido linolênico
- ALDH- Aldeído desidrogenase
- C - Controle
- CA- Campo aberto
- cAMP- Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
- CNPq- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- COX-2- Ciclo-oxigenase2
- DA- Dopamina
- DHA- Ácido docosahexaenoico
- DOPAC- Ácido 3,4-di-hidroxifenilacético
- DSM-IV- Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais
- EPA- Ácido eicosapentaenoico
- 5-HIAA- Ácido 5-hidroxi-indolacético
- 5-HTP- 5-hidroxitriptofano
- IL-1- Interleucina-1
- LA- Ácido linoleico
- MAO- Monoamina oxidase
- NE- Noradrenalina
- NFM- Teste de natação forçada modificado
- n-3 ou ω -3- ômega-3
- n-6 ou ω -6- ômega-6
- OMS- Organização Mundial da Saúde
- OP- Óleo de peixe
- PCPA- Para-clorofenilalanina(Parachlorophenylalanine)
- PMAT- Transportador de monoaminas da membrana plasmática
- 5-HT1A- Receptor de serotonina 1A
- 5-HT- Serotonina (5-hidroxitriptamina)

SERT- Transportador de serotonina (5-HTT)

SNC- Sistema nervoso central

TNF- Fator de necrose tumoral

TPH2- Triptofano hidroxilase2

TrKB- Receptor tirosina-quinaseB

UFPR- Universidade Federal do Paraná

UNIFESP- Universidade Federal de São Paulo

VMAT- Transportador vesicular de monoaminas

WAY100135- (S)-WAY100135 dihydrochloride

LISTA DE ABREVIATURAS (do artigo)

BDNF- Brain derived neurotrophic factor

C- Control

DA - Dopamine

DHA- Docosahexaenoic acid

DOPAC- 3,4-dihydroxyphenylacetic acid

EPA- Eicosapentaenoic acid

FO- Fish oil-supplemented group

HPLC- High-performance liquid chromatography

5-HIAA- 5-hydroxyindoleacetic acid

HVA- Homovanilic acid

i.p.- Intraperitoneal

MFST- Modified forced swim test

ω -3 PUFA- Omega-3 polyunsaturated fatty acids

5-HT- 5-hydroxytryptamine

5-HT1A- Serotonin receptors 1A

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Linha do tempo-delineamento experimental.....	34
Figura 2 - Campo aberto e Natação forçada, grupos OP e C.....	35
Figura 3 - Natação forçada (grupos PCPA e WAY).....	36
Figura 4 - BDNF, neurotransmissores e metabólitos, animais de 21 dias.....	37
Figura 5 - BDNF, neurotransmissores e metabólitos, animais de 90 dias.....	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 DEPRESSÃO	12
1.2 ÁCIDOS GRAXOS	13
1.2.1 Ácidos graxos essenciais e o SNC.....	14
1.3 HIPÓTESE DAS MONOAMINAS DA DEPRESSÃO	17
1.3.1 Serotonina (5-HT).....	20
1.3.2 Receptores de 5-HT.....	23
1.3.3 Receptores 5-HT1A.....	24
1.4 BDNF E DEPRESSÃO.....	25
1.4.1 BDNF, 5-HT e SNC.....	26
1.4.2 AGPIs n-3 e depressão.....	28
2 OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3 MÉTODOS E RESULTADOS	32
3.1 ARTIGO CIENTÍFICO.....	33
4 CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS.....	42
ANEXO 1.....	66

1 INTRODUÇÃO

1.1 DEPRESSÃO

A depressão é um dos distúrbios psiquiátricos de maior prevalência, acometendo cerca de 10% a 30% das mulheres e 7% a 15% dos homens (YU e CHEN, 2011), com uma predominância em média de 15% a 25% durante a vida do indivíduo, o que a classifica entre as principais causas de incapacidade no mundo (SADOCK e SADOCK, 2007; MAES *et al.*, 2009). É uma alteração do humor associada a um distúrbio do sistema nervoso central (SNC), recorrente, debilitante e potencialmente ameaçador à vida (LOGAN, 2004), sendo responsável por alto índice de morbidade e mortalidade (SADOCK e SADOCK, 2007; NYMAN *et al.*, 2011), condições estas que expõem os indivíduos portadores a um risco de suicídio correspondente a 15% (ROSS, 2007). Pelo impacto negativo com que se apresenta à sociedade em geral, à família e ao próprio paciente, o distúrbio representa um sério problema de saúde pública (NYMAN *et al.*, 2011; YU e CHEN, 2011). Em uma projeção da Organização Mundial da Saúde (OMS), a depressão, até 2020, caracterizará a segunda maior causa de incapacidade no mundo (perdendo apenas para as doenças cardíacas isquêmicas), sendo a terceira causa nos países desenvolvidos e a primeira nos países em desenvolvimento (MURRAY e LOPEZ, 1997; SU *et al.*, 2003).

Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV), esse distúrbio pode ser diagnosticado diante de um quadro de alteração do humor, por pelo menos duas semanas contínuas, associado à manifestação de, no mínimo, quatro dos seguintes sintomas: anedonia (diminuição ou perda de prazer e de interesse), alterações no sono e nas atividades em geral, sentimentos de culpa, falta de energia, dificuldades de concentração, mudanças no apetite e no peso, agitação ou retardo psicomotor, além de pensamentos recorrentes de morte e suicídio (WOOLEY e SYMON, 2000; SADOCK e SADOCK, 2007).

A etiologia da depressão é complexa e heterogênea, e envolve a interação de fatores ambientais, genéticos e biológicos (MURRAY e LOPEZ, 1997; CARLSON,

2002; CHARNEY e MANJI, 2004; SADOCK e SADOCK, 2007; NYMAN, *et al.*, 2011). Durante os últimos cem anos, tem-se antecipado a idade de início do distúrbio nos indivíduos, assim como sua incidência global tem crescido notavelmente (NEURINGER *et al.*, 1984). Entre os fatores ambientais que envolvem esse transtorno, um dos principais pode estar relacionado a mudanças no comportamento alimentar no último século, mais especificamente em relação aos lipídios ou tipo de ácidos graxos consumidos na dieta (LAKHWANI *et al.*, 2007).

1.2 ÁCIDOS GRAXOS

Ácidos graxos são compostos químicos formados por cadeias hidrocarbônicas de extensão variável e terminadas por uma carboxila, nas quais, normalmente os átomos de carbono estão dispostos em números pares. As cadeias hidrocarbonadas podem ser saturadas, quando apresentam somente ligações simples entre seus carbonos ou insaturadas, com uma ou mais duplas ligações carbônicas ao longo da cadeia. Os ácidos graxos insaturados exercem funções estrutural e funcional e fazem parte do grupo de lipídios complexos, representados principalmente pelos fosfolipídios constantes das membranas biológicas (VIEIRA *et al.*, 1996; LEHNINGER *et al.*, 1998; FAROOQUI *et al.*, 2000; ROSS, 2007; AIRES, 2008). As múltiplas duplas ligações de carbono presentes na cadeia dificultam a interação molecular, conferindo característica líquida a esses ácidos graxos, à temperatura ambiente, importante propriedade física requerida para manutenção do alto grau de flexibilidade da bicamada lipídica das membranas celulares (SARGENT, 1997; MARZZOCO e TORRES, 1999; ATTAR-BASHI e SINCLAIR, 2004; HULBERT *et al.*, 2005; CHALON, 2006; INNIS, 2007).

Os principais ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) encontrados na natureza são o ácido α -linolênico (ALA, 18:3n-3) e o ácido linoleico (LA, 18:2n-6), precursores dos ácidos graxos de cadeia longa (LC-AGPIs) das famílias ômega-3 (n-3 ou ω -3) e ômega-6 (n-6 ou ω -6) respectivamente. O ALA (n-3) dá origem aos ácidos docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3) e eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3), principais AGPIs da família n-3; e o LA (n-6) é precursor do ácido araquidônico (AA, 20:4n-6) da família n-6 (CARRIÉ *et al.*, 2000; SU *et al.*, 2003; INNIS, 2007). Esses

derivados são importantes componentes das membranas celulares de animais e plantas (SIMOPOULOS, 2006). O ALA (n-3) e o LA (n-6) são classificados como ácidos graxos essenciais pelo fato de não poderem ser sintetizados e interconvertidos pelo organismo dos mamíferos, de forma que seu suprimento depende unicamente da dieta alimentar (SVENNERHOLM, 1968; CARRIÉ *et al.*, 2000; BOURRE, 2004; OKEN e BELFORT, 2010).

O LA (n-6) pode ser obtido de sementes oleaginosas como milho, girassol, e soja, enquanto o ALA (n-3) é encontrado nas sementes de linhaça, canola, e, principalmente em alimentos marinhos, tais como peixes, algas e no *fitoplâncton*, base da cadeia alimentar dos oceanos (SARGENT, 1997; ATTAR-BASHI e SINCLAIR, 2004; HULBERT *et al.*, 2005). O *fitoplâncton* é capaz de efetuar a síntese do DHA e do EPA, uma das razões pelas quais estes dois ácidos graxos são encontrados em maior quantidade nos peixes marinhos das águas frias e profundas e em algas (CARRIÉ *et al.*, 2000; De VRIESE *et al.*, 2003; INNIS, 2007; CHIU *et al.*, 2008; LEVANT, 2011).

1.2.1 Ácidos graxos essenciais e o SNC

O encéfalo contém a segunda maior concentração de lipídios do corpo, depois do tecido adiposo, representando 36-60% do tecido nervoso (SINCLAIR *et al.*, 2007). O DHA é o principal componente dos fosfolipídios das membranas neuronais, abrangendo cerca de 17% do total dos ácidos graxos nesses tecidos, (SINCLAIR, 1975; NEURINGER *et al.*, 1986; LEHNINGER *et al.*, 1998; MORIGUCHI *et al.*, 2000; SALEM *et al.*, 2001; HORROCKS e FAROOQUI, 2004), sendo desta forma, um dos grandes responsáveis pela fluidez necessária à execução de funções celulares dependentes das membranas, tais como, síntese e taxa de renovação de fosfolipídios (SALEM *et al.*, 2001), cascatas de sinalização, atividades de proteínas enzimáticas e receptores de membrana, transcrição e expressão gênica, entre outras (NEURINGER *et al.*, 1986; BOURRE, 2004; CALDERON e KIM, 2004; HORROCKS e FAROOQUI, 2004; LANE e BAILEY, 2005; STILLWELL *et al.*, 2005; CALDER, 2006; HASHIMOTO *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2008). Uma propriedade importante do DHA, graças à baixa afinidade pelo colesterol, é sua participação na

interação entre a membrana celular, suas proteínas e as balsas lipídicas (*lipid rafts*) componentes da arquitetura e sustentação das proteínas na membrana. A presença do DHA nessas estruturas favorece a flexibilidade e a mobilidade das proteínas na bicamada de fosfolipídios, características essenciais para as respectivas funções (SALEM *et al.*, 2001; SHAIKH *et al.*, 2003; SU *et al.*, 2003; STILLWELL *et al.*, 2005; BERTRAND *et al.*, 2006; INNIS, 2007; PONGRAC *et al.*, 2007; SINCLAIR *et al.*, 2007).

A competição por vias metabólicas e enzimas entre as duas famílias de ácidos graxos (n-3 e n-6) está presente em vários processos fisiológicos, incluindo a síntese dos mediadores da inflamação (RINGBOM *et al.*, 2001; CONTRERAS e RAPOPORT, 2002). Tanto o AA (n-6) como o EPA (n-3) atuam como precursores de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), moléculas bioativas mediadoras das respostas inflamatórias, vasculares e imunológicas (MAES *et al.*, 1999; YOUDIM *et al.*, 2000; CALDER, 2006; SINCLAIR *et al.*, 2007), sendo que o EPA origina a classe dos mediadores anti-inflamatórios, e o AA é precursor dos mediadores pró-inflamatórios (FEDOROVA e SALEM Jr., 2006; SIMOPOULOS, 2006). A geração desses mediadores, no entanto, depende da quantidade e família do AGPI disponível, uma vez que há competição entre o EPA e o AA na produção dos eicosanoides ao nível das enzimas ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e lipo-oxigenase. Na presença do EPA há inibição da COX-2, com a consequente diminuição da produção das citocinas pró-inflamatórias, incluindo interleucina 1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF), bem como a redução da taxa de renovação dessa enzima, eventos importantes na atenuação de processos inflamatórios associados a doenças como artrites, distúrbios cardiovasculares e depressão (SIMOPOULOS, 2002; INNIS, 2003). Com base nessas propriedades, sugere-se que a integridade funcional do organismo requer um balanço no metabolismo dos AGPIs n-3 e n-6, e, se este balanço é interrompido, tal integridade é perturbada (CONTRERAS e RAPOPORT, 2002; INNIS, 2003).

Evidências demonstram a importância do DHA para o desenvolvimento do SNC, incluindo retina e encéfalo, e sua participação na estrutura, função e plasticidade sináptica na vida adulta (NEURINGER *et al.*, 1986; SALEM *et al.*, 2001; INNIS, 2007). A presença do DHA durante a gestação e lactação é essencial para

maturação cortical, neurogênese e mielinização, podendo atenuar riscos de prejuízos cognitivos e psicopatologias na adolescência (McNAMARA e CARLSON, 2006; EILANDER *et al.*, 2007; BORSONELO e GALDUROZ, 2008). Durante o último trimestre gestacional, fase crítica da formação do SNC, há elevado consumo desse ácido graxo, com um aumento de cerca de 50 a 60 miligramas (mg) por dia, sendo que a maioria do DHA no encéfalo humano é acumulada a partir deste período da gestação e nos primeiros meses de vida do neonato (CLANDININ *et al.*, 1980(a); CLANDININ *et al.*, 1980(b); MARTINEZ, 1992; MAKRIDES e GIBSON, 2000; De VRIESE, 2003; MUSKIET *et al.*, 2006; JENSEN, 2006). Juntamente com o DHA, o AA está presente nos tecidos encefálicos, sendo também recrutado nos processos de diferenciação neuronal e crescimento axonal (TEAGUE *et al.*, 2002; KAN *et al.*, 2007).

Estudos sugerem que a baixa disponibilidade desse ácido graxo pode afetar o cone de crescimento dos neurônios, levando à redução da densidade neuronal e arborização dendrítica, em regiões como hipocampo, hipotálamo e córtex encefálico (WAINWRIGHT *et al.*, 1998; AHMAD *et al.*, 2002; CALDERON e KIM, 2004), podendo assim interferir na liberação de neurotransmissores (ZIMMER *et al.*, 2002; CHALON, 2006).

Segundo Innis (2007) deficiências metabólicas nos AGPIs estão diretamente ligadas ao comportamento alimentar, podendo os níveis do DHA nos lipídios das membranas ser alterados pela quantidade de ácidos graxos da dieta (INNIS, 2005; UAUY e DANGOUR, 2006). Embora o organismo do ser humano seja capaz de converter o ALA adquirido na dieta em EPA e DHA, essa conversão é relativamente ineficiente (GERSTER, 1998; SALEM *et al.*, 1999; PAWLOSKY *et al.*, 2001; BRENNAN, 2002; KIM, 2007), pelo fato de não haver uma enzima específica para cada família de AGPI. Na conversão, ambos AGPIs n-6 e n-3 compartilham a mesma enzima dessaturase ($\Delta 6$ -dessaturase) e as mesmas vias metabólicas. Sendo assim, altas concentrações do LA podem inibir a conversão do ALA em DHA e EPA, reduzindo a quantidade destes ácidos graxos (RUXTON *et al.*, 2005). Portanto o meio mais seguro de suprir as necessidades do DHA no encéfalo, é a obtenção desses AGPIs, de preferência de fontes diretas, representadas pelo peixe e do óleo de peixe (SU *et al.*, 2003; DeMAR *et al.*, 2006).

O DHA e o EPA são encontrados em peixes marinhos como o arenque, salmão, atum, anchovas e sardinhas (PAWLOSKY *et al.*, 2001; INNIS, 2003). Todavia, o consumo do peixe não é habitual e frequente na alimentação da maioria da população mundial, principalmente dos países do Ocidente, fator que pode agravar o desequilíbrio entre os dois AGPIs (n-6 e n-3) presentes no organismo (PAWLOSKY *et al.*, 2001; RUXTON *et al.*, 2005; ROSS, 2007; SIMOPOULOS, 2010). De acordo com Simopoulos, (2002) a razão ideal de consumo de ácidos graxos da família n-6 para n-3 de 1-4:1, vem apresentando uma inversão quantitativa, ao longo das últimas décadas até os dias atuais, em especial nas dietas ocidentais, resultando na razão de consumo dos AGPIs n-6 para n-3 de 20-16:1 (SIMOPOULOS, 2002; LAKHWANI *et al.*, 2007). Considerando que o balanço n-6/n-3 é crucial para a função neural (FARKAS *et al.*, 2002), e, tendo em vista o declínio dramático do consumo de alimentos que contém os AGPIs n-3 nas dietas em geral, estudos epidemiológicos sugerem a existência de uma correlação negativa entre consumo de peixe e óleo de peixe (maiores fontes de DHA e EPA) e a incidência e prevalência de vários distúrbios mentais, entre estes a depressão (MAES *et al.*, 1996; HIBBELN, 1998; TANSKANEN *et al.*, 2001; INNIS, 2007; LAKHWANI *et al.*, 2007; GÓMES-PINILLA, 2008; CHYTROVA *et al.*, 2010; LEVANT, 2011).

1.3 HIPÓTESE DAS MONOAMINAS NA DEPRESSÃO

De acordo com Su e colaboradores, (2003), é possível que os AGPIs n-3 melhorem os sintomas da depressão através da alteração da microestrutura das membranas neuronal e vesicular, interferindo desta forma, na liberação de neurotransmissores envolvidos no distúrbio. Do ponto de vista biológico, alterações morfológicas e bioquímicas na comunicação neuronal têm sido sugeridas como as responsáveis pelo surgimento de diversas neuropatologias, entre elas a depressão (NESTLER *et al.*, 2002). A noradrenalina ou norepinefrina (NA ou NE) e a serotonina (5-HT) são os dois neurotransmissores mais implicados na fisiopatologia dos transtornos depressivos, embora a dopamina (DA) também exerça o seu papel nas mudanças de estado do humor observadas na doença (DUNLOP e NEMEROFF, 2007; SADOCK e SADOCK, 2007).

Diversos estudos, desde a década de 1950, vêm associando a depressão a disfunções dessas aminas biogênicas, bem como a alterações dos níveis dos respectivos metabólitos, detectadas na urina, sangue e líquido cerebro-espinhal de portadores da depressão (CARLSON, 2001; SADOCK e SADOCK, 2007). Observações iniciais, no sentido de tentar explicar a origem da depressão, em termos bioquímicos, deram origem uma importante teoria para a formação do distúrbio, a hipótese das catecolaminas, baseada nas mudanças envolvendo esses neurotransmissores (ULAK *et al.*, 2010; PORCELLI *et al.*, 2011).

Referida hipótese surgiu “por acaso” (BAUMEISTER e HAWKINS, 2007), a partir da observação clínica de respostas a determinados medicamentos (mais especificamente a *iproniazida*, a *imipramina* e a *reserpina*) utilizados para tratamento de doenças como tuberculose, esquizofrenia e hipertensão, respectivamente. Essas “reações” denotavam efeitos sobre o estado do humor de alguns pacientes, o que levou pesquisadores a interpretarem o fenômeno, inicialmente, como um “efeito colateral” psicoestimulante (SELIKOFF *et al.*, 1952). Ao mesmo tempo, para os clínicos, tais drogas emergiam como potencial terapêutica no tratamento a pacientes psiquiátricos (SMITH, 1953).

Em contrapartida, as mudanças psicológicas provocadas por esses medicamentos direcionaram as atenções de pesquisadores para a hipótese de sua interferência nas funções dos neurotransmissores no SNC (POTTER e MANJI, 1994; LOPEZ-MUÑOZ e ALAMO, 2009). Em 1952, Albert Zeller e seu grupo, pesquisando a *iproniazida*, observaram sua efetividade em inibir a enzima monoamina oxidase, resultando em breves acréscimos das concentrações sinápticas de monoaminas (ZELLER *et al.*, 1952; DUNLOP e NEMEROFF, 2007). Estudos posteriores confirmaram as propriedades da *imipramina* em bloquear a recaptação sináptica da NE (GLOWINSKI e AXELROD, 1964), bem como foram capazes de fazer a associação entre a depleção de estoques de monoamina pela *reserpina* e o comprometimento do estado de humor em pacientes que utilizavam tal fármaco como anti-hipertensivo (FREIS, 1954; SCHILDKRAUT, 1965; COPPEN, 1967; GOODWIN e BUNNEY, 1971).

Graças a essas descobertas, nos anos 60, emerge a teoria monoaminérgica da depressão, inicialmente proposta por Joseph J. Schildkraut, que, em 1965,

sugeriu como causas do distúrbio, deficiências nos níveis de catecolaminas, particularmente a NE, na fenda sináptica, acompanhadas de falhas nos receptores adrenérgicos no encéfalo (SCHILDKRAUT, 1965). Esta hipótese, por ter sido baseada em pesquisas envolvendo especificamente a NE, foi denominada “hipótese noradrenérgica da depressão” (SCHILDKRAUT, 1965; BUNNEY e DAVIS, 1965; POTTER e MANJI, 1994; BERMAN *et al.*, 1999; LOPEZ-MUÑOZ e ALAMO, 2009).

Já a hipótese serotoninérgica da depressão teve início com Wooley e Shaw, em 1954, logo após a descoberta de algumas funções da 5-HT no SNC, quando estes dois pesquisadores sugeriram a possibilidade do surgimento de doenças mentais diante de um possível desequilíbrio desse neurotransmissor. Em 1969 a teoria da 5-HT foi postulada por Lapin e Oxenkrug, que após intensivas investigações, conseguiram relacionar disfunções da 5-HT em determinadas regiões do SNC à vulnerabilidade ao transtorno depressivo (PLETSCHER *et al.*, 1956; BRODIE e SHORE, 1957; COPPEN *et al.*, 1963; VAN PRAAG e HAAN, 1979; CARLSSON *et al.*, 1968). Essa teoria propunha como causa da doença, além da diminuição da liberação da 5-HT, alterações na sensibilidade, densidade e na função dos respectivos receptores, na mediação da transdução do sinal (COPPEN *et al.*, 1972; CHARNEY *et al.*, 1981; BLIER e de MONTIGNY, 1994; HENINGER *et al.*, 1996; MANN, 1999; KORNUN *et al.*, 2006).

Segundo McNamara e colaboradores, (2009), tais alterações nas funções do sistema serotoninérgico podem estar relacionadas à deficiência do DHA nas membranas neuronais, levando ao risco da depressão e suicídio, o que é demonstrado por resultados de um estudo neuroquímico correlacionando positivamente as concentrações plasmáticas de AGPIs n-3 aos níveis do metabólito 5-HIAA no fluido cerebro-espinhal entre indivíduos saudáveis (HIBBELN *et al.*, 1998); bem como, por estudos de prospecção sugerindo como indicadores de suscetibilidade a impulsos suicidas, a baixa composição do DHA no plasma (SUBLETTE *et al.*, 2006) e o baixo conteúdo do metabólito da 5-HT, ácido 5-Hidroxi-indolacético (5-HIAA), no Líquor (SHAW *et al.*, 1967; ASBERG *et al.*, 1976 ; COPPEN *et al.*, 1976; DEAKIN *et al.*, 1990; GRAEFF *et al.*, 1996; MANN, 1999; MILLER *et al.*, 2000; CARLSON, 2001; PLACIDI *et al.*, 2001; SIBILLE *et al.*, 2004; PUCADYIL *et al.*, 2005; SADOCK e SADOCK, 2007; ALBERT *et al.*, 2011).

1.3.1 Serotonina (5-HT)

A serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) é uma amina biogênica encontrada no sistema nervoso central e em órgãos periféricos, descoberta entre as décadas de 1940 e 1950, como resultado de duas linhas de pesquisas independentes (JACOBS e AZMITIA, 1992; PUCADYIL *et al.*, 2005). Em 1948, a substância foi cristalizada e caracterizada do sangue por Maurice Rapport e colaboradores, e denominada serotonina (serum e tonic), tendo em vista suas propriedades vasoconstritoras (RAPPORT *et al.*, 1948 (a); RAPPORT *et al.*, 1948 (b); WOOLEY e SHAW, 1954; ZIGMOND *et al.*, 1999). Na mesma época, Erspamer e Asero (1952) isolaram a 5-HT de células enterocromafins no trato gastrointestinal e a identificaram e caracterizaram como “hormônio específico das células enterocromafins”, ao qual denominaram “enteramina” (WHOLE e SHAW, 1954; BRODIE e SHORE, 1957; PUCADYIL *et al.*, 2005).

O papel da 5-HT no SNC começou a ser desvendado, em 1953, quando de sua identificação em tecidos encefálicos de animais vertebrados por Twarog e Page, dados estes, confirmados por Amin e colaboradores, (1954) e Bogdanski e colaboradores, (1957). Em 1954, foram identificadas as enzimas envolvidas na síntese e degradação da 5-HT, em tecidos e órgãos periféricos e no encéfalo (CLARK *et al.*, 2006), e, em 1955, Marrazzi e Hart, através de experimentos eletrofisiológicos, foram capazes de detectar ações da 5-HT no controle da condução nervosa e nas sinapses (CHOI *et al.*, 1967). Ações mediadoras da 5-HT no SNC foram evidenciadas após experimentos farmacológicos com manipulação da 5-HT no encéfalo de animais vertebrados, seguida da observação e análise das reações fisiológicas e comportamentais, em 1957, por Brodie e Shore (GADDUM, 1953; AMIN *et al.*, 1954; WELSH, 1957; WOOLEY e SHAW, 1954). Desde então, esse neurotransmissor tem sido implicado nas doenças mentais, e pode ser particularmente importante na depressão (VERGE *et al.*, 1985).

Os corpos celulares (somas) dos neurônios serotoninérgicos estão localizados nos núcleos da rafe, ao longo do mesencéfalo e tronco encefálico (PARKEL, 2010), onde se concentram em dois grandes grupos: dorsal e caudal. O

grupo dorsal, também conhecido por rostral ou superior, contém os neurônios que se projetam para o aproximadamente todo o encéfalo, abrangendo amplamente o córtex e áreas límbicas. O grupo caudal ou inferior, composto pela formação reticular medular lateral e pelos núcleos magnus, obscurus e pallidus, projeta seus neurônios em direção à medula espinhal (DAHLSTROM e FUXE, 1964; AZMITIA e SEGAL, 1978; STEINBUSCH, 1981; TORK, 1990; JACOBS e AZMITIA, 1992; JACOBS e FORNAL, 1999; HENSLER e DURGAM, 2001; BUHOT *et al.*, 2004; BERGER *et al.*, 2009; HORNUNG, 2010; ALBERT *et al.*, 2011). Terminações de neurônios 5-HT são também encontradas na glândula pineal, onde o neurotransmissor atua como precursor do hormônio melatonina (OLIVEIRA e AMARAL, 1997; KATZUNG, 2005).

A 5-HT é sintetizada no soma de neurônios localizados nos núcleos da rafe no tronco encefálico, a partir do aminoácido essencial triptofano (PUCADYIL *et al.*, 2005; KLEIN, 2010). Em vertebrados, o triptofano obtido na dieta é captado no plasma e transportado ativamente por um sistema mediado por transportador proteico de aminoácidos não específico, através da barreira hematoencefálica até o local da síntese, nos neurônios serotoninérgicos no SNC (JACOBS e FORNAL, 1999; PYTLIAC *et al.*, 2011). A biossíntese da 5-HT ocorre em duas etapas, começando com a hidroxilação do triptofano a 5-hidroxitriptofano (5-HTP) pela ação da enzima triptofano hidroxilase-2 (TPH-2) específica dos neurônios serotoninérgicos (HOKFELT *et al.*, 1973; BOMAN, 1988). A seguir, dá-se a descarboxilação pela descarboxilase de aminoácido aromático (AADC) do 5-HTP originando a 5-hidroxitriptamina (5-HT) (GRAHAME-SMITH, 1964; EATON *et al.*, 1993; AZMITIA, 1999; CHAMPE e HARVEY, 2002). A enzima AADC encontra-se amplamente distribuída no organismo e pode ser detectada também nos neurônios catecolaminérgicos no SNC (HOKFELT *et al.*, 1973; SANDERS-BUSH e MAYER, 2010).

Após a síntese, a 5-HT é internalizada, por um transportador vesicular de monoaminas, VMAT2 (*vesicular monoamines transporter*) nas vesículas secretoras dos terminais nervosos pré-sinápticos (ALCOCER, 1994; HOLTJE *et al.*, 2000) de onde, mediante estimulação neural, é liberada em pulsos característicos de um marcapasso endógeno (JACOBS e FORNAL, 1999), via exocitose, para a fenda

sináptica (JOVANOVIC, 2008; SANDERS-BUSH e MAYER, 2010). A liberação da 5-HT só é cessada durante o sono REM (*rapid eye movement*) (JACOBS e FORNAL, 1999).

Como todo neurotransmissor, após sua liberação, a 5-HT permanece livre na fenda sináptica, por milissegundos, devendo ser removida rapidamente do local. A remoção da fenda sináptica e a internalização do neurotransmissor na terminação pré-sináptica neuronal dão-se por transporte ativo, por um mecanismo denominado recaptção (GUYTON e HALL, 2002) desempenhado principalmente pela proteína transportadora 5-HTT ou SERT (*Serotonin transporter*) presente na membrana plasmática dos terminais axonais pré-sinápticos e no corpo celular e dendritos em neurônios nos núcleos da rafe. Além da SERT, outros transportadores envolvidos nos processos de recaptção da 5-HT da fenda sináptica já estão identificados no encéfalo humano, dentre eles, o transportador de monoaminas da membrana plasmática, PMAT (*plasma membrane monoamine transporter*) identificado por Zhou e colaboradores em 2007.

A recaptção da 5-HT é o principal mecanismo de regulação da 5-HT sináptica (JOVANOVIC, 2008; SANDERS-BUSH e MAYER, 2010), fundamental para a restauração das condições neuronais de repouso, permitindo novo disparo e evitando uma superestimulação dos receptores (OLIVIER e OORSCHOT, 2005). A 5-HT recaptada, tanto pode ser estocada novamente nas vesículas, como ser exposta às enzimas monoamino oxidase (MAO) e aldeído desidrogenase (ALDH) para degradação. A MAO, encontrada em grande quantidade nas membranas das mitocôndrias presentes nas terminações neuronais dos neurônios serotoninérgicos (DAVIDSON *et al.*, 1957; SANDERS-BUSH e MAYER, 2010) tem a função específica de metabolizar a 5-HT recaptada e convertê-la no seu metabólito inativo, 5-HIAA, que após a conversão difunde-se através da membrana neuronal para o fluido cerebrospinal (JOVANOVIC, 2008) de onde é ativamente transportado para o plasma por um transportador inespecífico, e posteriormente, eliminado do organismo por excreção renal (DAVIDSON *et al.*, 1957; SANDERS-BUSH e MAYER, 2010). O trabalho conjunto da SERT e da MAO é responsável, em grande parte, pelo estabelecimento do equilíbrio entre a quantidade armazenada nas vesículas e os níveis do neurotransmissor livre na fenda sináptica e seu metabólito

5-HIAA no fluido cerebro-espinhal e plasma, regulando assim a 5-HT nas sinapses (ASBERG *et al.*, 1976; ALCOCER, 1994; BLAKELY *et al.*, 1994; BOROWSKY e HOFFMAN, 1995; STELT, 2004; JORGENSEN, 2007).

A 5-HT está implicada na proliferação, migração e maturação celular em vários tecidos do trato gastrointestinal e no SNC (AZMITIA, 2001). No sistema nervoso periférico, a 5-HT interfere na regulação da motilidade intestinal (ZIGMOND *et al.*, 1999), na vasoconstrição (RAPPORT *et al.*, 1948b) e na modulação da dor em episódios de lesão e inflamação (BAYNES e DOMINICZAC, 2000; CHEN *et al.*, 2011).

No SNC a 5-HT é fundamental desde as fases iniciais do desenvolvimento, exercendo seu papel trófico na neurogênese, arborização neuronal e maturação dos sistemas de neurotransmissores (Del OLMO *et al.*, 1998; AZMITIA, 1999; BENES *et al.*, 2000; GROSS *et al.*, 2002; GASPAR *et al.*, 2003), além de estar presente na plasticidade sináptica e na manutenção da arquitetura e sobrevivência neuronal (AZMITIA e WHITAKER-AZMITIA, 1997, AZMITIA, 2001; GASPAR *et al.*, 2003; MATTSON *et al.*, 2004). A 5-HT participa da regulação de uma multiplicidade de processos fisiológicos e comportamentais, entre eles, ciclos do sono, cognição, memória, respostas ao estresse, emoção e humor; além de modular funções autonômicas e motoras (OLIVEIRA e AMARAL, 1997; AZMITIA, 1999; JACOBS e FORNAL, 1999; LANFUMEY e HAMON, 2000; GASPAR *et al.*, 2003; BUHOT *et al.*, 2004; PUCADYIL *et al.*, 2005; MARTINOWICH e LU, 2008; KLEIN, 2010).

1.3.2 Receptores de 5-HT

A 5-HT exerce suas diversas funções (eventos intracelulares como fosforilação de proteínas e transcrição gênica) (HENINGER *et al.*, 1996; DUMAN *et al.*, 1997) através de ligações a distintos receptores transmembrana no sistema nervoso central e periférico, bem como em tecidos não neuronais (HANNON e HOYER, 2008, PARKEL, 2010). Esses receptores são classificados com base nas respostas farmacológicas a específicos ligantes, sequências de aminoácidos, organização genética e vias de sinalização intracelular. Entre os receptores de 5-HT, estão bem identificados pelo menos 15 diferentes tipos, divididos em sete

subfamílias numeradas de 5-HT1 a 5-HT7 (BARNES e SHARP, 1999; AZMITIA, 2001; HOYER *et al.*, 2002, PUCADYIL *et al.*, 2005), sendo que a subfamília dos receptores 5-HT1 compreende 5 receptores (5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D, 5-HT1E, 5-HT1F (PARKEL, 2010).

A heterogeneidade dos receptores serotoninérgicos foi primeiro notada por Gaddun e Picarelli (1957) e confirmada no SNC por Peroutka e Snyder (1983). A maioria pertence à família de receptores acoplados à proteína G (GPCR), uma molécula envolvida na transdução de sinais através da membrana plasmática, exceto os receptores 5-HT3, encontrados também no sistema nervoso entérico, os quais são canais iônicos (HALL *et al.*, 1999; BAYNES e DOMINICZAK, 2000; KLEIN, 2010; SANDERS-BUSH e MAYER, 2010). Os receptores de 5-HT acoplados à proteína G, em geral, são inibitórios (ligados à subunidade Gi), e, portanto, inibem a adenilato ciclase diminuindo a produção da adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP ou AMP cíclico) (BOCKAERT *et al.*, 2006; KLEIN, 2010; PYTLIAC *et al.*, 2011), e regulando negativamente a atividade neuronal serotoninérgica (ALBERT *et al.*, 2011).

1.3.3 Receptor 5-HT1A

O receptor 5-HT1A foi um dos primeiros receptores de 5-HT a ser clonado e sequenciado (KOBILKA *et al.*, 1987; ALBERT *et al.*, 1990; BARNES e SHARP, 1999) e um dos primeiros farmacologicamente caracterizados (LACIVITA *et al.*, 2008; SAVITZ *et al.*, 2009). Esse receptor desempenha dupla função, de acordo com a localização, na pré ou pós-sinapse (KLEIN, 2010). Na pré-sinapse, o receptor 5-HT1A é expressado no soma e dendritos dos neurônios serotoninérgicos, nos núcleos da rafe, sendo denominado autorreceptor ou receptor somatodendrítico, e tem a função de monitorar os níveis da 5-HT livre através de mecanismos inibitórios dos disparos neuronais. O receptor 5-HT1A é sensibilizado e estimulado pela presença da 5-HT na fenda sináptica, levando à hiperpolarização da membrana do neurônio e consequentes inibição da atividade neuronal, redução da quantidade de 5-HT livre e diminuição das funções do neurotransmissor nas áreas de projeção (WANG e AGHAJANIAN, 1977; ANDRADE *et al.*, 1986; BLIER e de MONTIGNY,

1994; KREISS e LUCKI, 1994; RUPALLA *et al.*, 1994; BLIER e de MONTIGNY, 1995). Este comportamento representa um mecanismo de retroalimentação negativa ou um *feedback* auto inibitório (BARNES e SHARP, 1999; CELADA *et al.*, 2004; WIDMAIER *et al.*, 2006).

Pós-sinapticamente, os receptores 5-HT_{1A} são conhecidos como heteroreceptores e estão expressos em alta densidade nas áreas de projeção neuronal, principalmente nas regiões corticolímbicas, tais como hipocampo, córtex frontal e entorrinal, e interneurônios do córtex pré-frontal, septo medial, amígdala e hipotálamo (ALBERT *et al.*, 1990; PALACIOS *et al.*, 1990; HOYER *et al.*, 1994; BARNES e SHARP, 1999; GHAVAMI *et al.*, 1999; RIAD *et al.*, 2000; HOYER *et al.*, 2002; SANDERS-BUSH e MAYER, 2010).

Por exercerem um papel importante nas funções inerentes aos processos de desenvolvimento, tais como crescimento, migração neuronal e formação de sinapses, os receptores 5-HT_{1A} apresentam-se como mediadores chaves na sinalização serotoninérgica e estão relacionados a respostas fisiológicas específicas como, modulação da atividade neuronal, liberação de neurotransmissor e mudança comportamental (BARNES e SHARP, 1999; BORDUKALO-NIKSIC *et al.*, 2008; SAVITZ *et al.*, 2009). Assim, o receptor 5-HT_{1A} tem sido implicado nas doenças psiquiátricas, entre elas, distúrbios de ansiedade e depressão (HENSLER e DURHAM, 2001), sendo que níveis reduzidos desses receptores são comumente detectados em indivíduos portadores de depressão e vítimas de suicídio, principalmente nas áreas corticais e límbicas, áreas estas relacionadas com estados emocionais, humor e comportamento (ALBERT *et al.*, 1990; CHALMERS e WATSON, 1991; POMPEIANO *et al.*, 1992; HOYER *et al.*, 1994; SAVITZ *et al.*, 2009; KLEIN, 2010; ALBERT *et al.*, 2011).

1.4 BDNF E DEPRESSÃO

O desenvolvimento dos medicamentos antidepressivos envolvendo o sistema de monoaminas, na década de 1960, forneceu a primeira evidência de uma base biológica e uma inerente anormalidade bioquímica relacionada ao distúrbio. Até aquela época a depressão era considerada como uma manifestação sintomatológica

de conflitos internos de personalidade, e, ao mesmo tempo, classificada como uma doença de alma, e não do encéfalo (COPPEN, 1967; VAIDYA E DUMAN, 2001; LÓPEZ-MUÑOZ e ALAMO, 2009). Partindo desse princípio, as pesquisas ampliaram-se no sentido de investigar, intracelularmente, os processos implicados, tanto no agravamento do distúrbio, como na resposta à terapêutica.

A primeira hipótese celular e molecular da depressão foi postulada por Duman e colaboradores, em 1997. Duman e seu grupo foram pioneiros em caracterizar, a nível molecular, a relação entre depressão, eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e eventos danosos dos glicocorticoides sobre neurônios e fatores neurotróficos, em especial, o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), detectando através de exames de imagem, decréscimos na neurogênese e no volume hipocampal em pacientes portadores de depressão; bem como puderam observar as mudanças adaptativas, a longo prazo, à terapia antidepressiva, e a reversão desses eventos frente ao tratamento (HENINGER *et al.*, 1996; DUMAN *et al.*, 1997; VAIDYA e DUMAN, 2001). Estes achados puseram em evidência a importância do BDNF à vida e função dos neurônios, já que o BDNF é uma das principais neurotrofinas responsáveis pela modulação da plasticidade hipocampal (JACOBS *et al.*, 2000; LU e GOTSCHALK, 2000). Deficiência do BDNF leva à redução funcional do hipocampo, que por si, contribui para prejuízos na neurotrofina e na plasticidade neuronal, eventos estes observados na depressão (VAIDYA e DUMAN, 2001; FRODL *et al.*, 2007; SONG e WUANG, 2011).

1.4.1 BDNF, 5-HT e SNC

O BDNF é uma proteína homodimérica de 27kDA pertencente à família das neurotrofinas, entre as quais estão o fator de crescimento neural (NGF) e as neurotrofinas-3 e 4 (NT-3 e 4) (MATTSON *et al.*, 2004; HASHIMOTO, 2010; KLEIN, 2010). O papel fisiológico do BDNF é promover e regular a neurogênese, o crescimento e a maturação neural, durante o desenvolvimento do SNC. Na vida adulta, o BDNF é essencial para a plasticidade sináptica, manutenção, estabilização e sobrevivência neuronal (AZMITHIA, 1999; MATTSON *et al.*, 2004; MARTINOWICH e LU, 2008; Aan het ROT *et al.*, 2009; LICINIO *et al.*, 2009; HASHIMOTO, 2010),

sendo a maioria das suas funções intracelulares mediadas especificamente pelo receptor tropomiosina-kinaseB, (TrKB) no núcleo dorsal da rafe (MERLIO *et al.*, 1992; POST, 2007; GARDIER, 2009; HASHIMOTO, 2010). O BDNF é produzido e amplamente expressado nos terminais de neurônios serotoninérgicos, no SNC, particularmente no hipocampo, amígdala e córtex (MATTSON *et al.*, 2004), sendo que exerce efeitos tróficos sobre os neurônios serotoninérgicos, promovendo regeneração e brotamento de axônios no caso de lesões (MAMOUNAS *et al.*, 1995).

Nos núcleos da rafe no tronco encefálico, o BDNF estimula a transcrição de genes envolvidos nas funções do sistema serotoninérgico, tais como a proteína SERT e a enzima TPH2 (Aan het ROT *et al.*, 2009). Interagindo em conjunto e em recíproca sintonia, BDNF e 5-HT regulam aspectos da neuroplasticidade adaptativa durante a vida, de modo que ambos são referidos como “dupla dinâmica” (MATTSON *et al.*, 2004). Além disso, a ativação dos receptores de 5-HT pela liberação do respectivo neurotransmissor nos núcleos da rafe estimula a expressão do gene do BDNF (Aan het ROT *et al.*, 2009). Durante o desenvolvimento do SNC, esses processos cíclicos promovem as formações das sinapses nos neurônios serotoninérgicos, além do crescimento neuronal em múltiplas regiões do encéfalo (MAMOUNAS *et al.*, 1995; MARTINOWICH e LU, 2008; Aan het ROT *et al.*, 2009).

Baseados nessa interação, resultados de pesquisas mostram uma relação entre o BDNF, a 5-HT e a depressão (MATTSON *et al.*, 2004), indicando que, da mesma forma que a deficiência do BDNF pode levar ao decréscimo dos níveis de 5-HT nos circuitos neurais envolvidos com o distúrbio, alterações na sinalização serotoninérgica podem interferir na neurogênese, favorecendo o desenvolvimento do transtorno (MATTSON *et al.*, 2004; MOSSNER *et al.*, 2007; POST, 2007; MARTINOWICH e LU, 2008; Aan het ROT *et al.*, 2009; HASHIMOTO, 2010; KLEIN, 2010).

Várias evidências vêm corroborar esses resultados, tais como, detecção do decréscimo de níveis séricos de BDNF em indivíduos com diagnóstico de depressão severa (HASHIMOTO, 2010; KLEIN, 2010), e dados de estudos *postmortem* demonstrando baixos níveis de BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal de pacientes depressivos (DUMAN e MONTEGGIA, 2006; MARTINOWICH *et al.*, 2007; Aan het ROT *et al.*, 2009). Tais resultados são confirmados por estudos

demonstrando a efetividade da terapia antidepressiva com inibidores seletivos da recaptação da 5-HT, em reverter os baixos níveis de concentração do BDNF (NIBUYA *et al.*, 1995; SEN *et al.*, 2008). Conforme Gardier, (2009), tratamento crônico com antidepressivos favorece a neurotransmissão serotoninérgica potencializando o BDNF, crescendo a seguir os níveis dessa neurotrofina, mais notadamente no hipocampo (NIBUYA *et al.*, 1995; SEN *et al.*, 2008).

Por outro lado, reduzidos níveis do BDNF têm sido associados a reduzido conteúdo dos AGPIs n-3 (LEVANT *et al.*, 2008), e as consequências funcionais podem derivar de uma alimentação deficiente nesses ácidos graxos (LOGAN, 2003).

1.4.2 AGPIs N-3 e depressão

Nos dois últimos séculos a ingestão dos AGPIs n-3 (presentes em grandes quantidades nos peixes e no óleo de peixe) tem decrescido no mundo ocidental, sobretudo em decorrência do advento da industrialização dos alimentos (WILCZYNSKA-KWIATEK, *et al.*, 2010), sendo que nos dias atuais a dieta é composta de alta quantidade de gordura saturada e LA (precursor dos AGPIs n-6) em detrimento do ALA (precursor dos AGPIs n-3 DHA e EPA), o que poderia explicar, parcialmente, as mudanças drásticas no estado de saúde da população em geral, entre elas, o acréscimo da incidência e prevalência de doenças psiquiátricas e neurodegenerativas (OKEN *et al.*, 2004; MUSKIET *et al.*, 2006; BORSONELO e GALDUROZ, 2008). Uma vez que os AGPIs n-3 exercem funções benéficas à saúde mental humana, deficiências desses ácidos graxos podem representar um fator de risco para depressão (PARKER *et al.*, 2006; WILCZYNSKA-KWIATEK, *et al.*, 2010).

Segundo Pekkanen e colaboradores (1989), o consumo de peixes pode representar um mecanismo protetor do SNC. Essa hipótese é fundamentada em estudos epidemiológicos associando o consumo regular de peixe à melhora do quadro das doenças mentais e reduzida ideação suicida (HIBBELN e SALEM, 1995; HIBBELN, 1998; TASKANEN *et al.*, 2001; FREEMAN, *et al.*, 2006; LIN e SU, 2007; COLANGELO *et al.*, 2009). Outros dados clínicos corroboram a implicação dos AGPIs n-3 em efeitos benéficos sobre a saúde do SNC e prevenção da depressão (BORSONELO e GALDUROZ, 2008; Da SILVA *et al.*, 2008), entre estes, a detecção

de níveis reduzidos de DHA e EPA no plasma e na composição dos ácidos graxos das membranas das hemáceas de pacientes portadores de depressão (ADAMS *et al.*, 1996; MAES *et al.*, 1996; EDWARDS *et al.*, 1998; PEET *et al.*, 1998) e em vítimas de tentativas de suicídio (HUAN *et al.*, 2004; GARLAND *et al.*, 2007).

O primeiro estudo com óleo de peixe desenvolvido em nosso laboratório mostrou que a suplementação a partir da gestação e lactação e estendida até a vida adulta do animal foi hábil em expressar o comportamento antidepressivo nos animais suplementados comparados aos não suplementados ou suplementados com gordura de coco. Além desses resultados, esse trabalho detectou concentração aumentada de EPA e DHA no leite das matrizes suplementadas, assim como no córtex cerebral e no hipocampo dos ratos jovens adultos suplementados (NALIWAIKO *et al.*, 2004). Posteriormente, avaliamos o efeito antidepressivo do óleo de peixe em ratos adultos, suplementados em duas janelas temporais distintas: fase A (suplementação de forma indireta durante as fases de gestação e lactação) e fase B (suplementação iniciada após a gestação e lactação), tendo resultado em efeitos benéficos sobre a prevenção do desenvolvimento do comportamento depressivo nos ratos adultos (FERRAZ *et al.*, 2008).

Outro trabalho desenvolvido em nosso laboratório avaliou, através de um estudo duplo-cego, o efeito da suplementação com óleo de peixe sobre os sintomas depressivos em pacientes parkinsonianos. Neste estudo, os pacientes parkinsonianos suplementados apresentaram redução dos sintomas depressivos em relação ao grupo placebo, evidenciando um efeito antidepressivo do óleo de peixe (Da SILVA *et al.*, 2008). Em conjunto, estes resultados suportam a hipotética relação entre AGPIs n-3 e depressão.

Recentemente, Venna e colaboradores, (2009) mostraram uma associação entre dieta enriquecida com AGPIs n-3 e alterações dos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico em camundongos submetidos ao teste da natação forçada, modelo animal usado para avaliar o comportamento depressivo.

No entanto, o mecanismo ou mecanismos bioquímicos através dos quais os AGPIs n-3 podem estar desenvolvendo um papel antidepressivo e neuroprotetor continuam desconhecidos, assim novos estudos serão necessários.

Portanto, a proposição do presente trabalho foi investigar o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do óleo de peixe (rico em DHA e EPA), assim como, examinar potenciais relações entre o óleo de peixe e síntese de BDNF em estruturas como córtex cerebral e hipocampo de animais suplementados durante as fases de gestação e lactação.

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar um possível envolvimento recíproco do sistema serotoninérgico e a expressão do BDNF no córtex cerebral e hipocampo em um paradigma de suplementação com AGPIs n-3.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da suplementação com óleo de peixe de forma indireta, durante as fases de gestação e lactação, sobre o comportamento de ratos adultos no teste de natação forçada modificado;

Avaliar através do teste do campo aberto, possíveis implicações da suplementação com óleo de peixe sobre a motricidade dos animais experimentais;

Analisar o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito da suplementação com óleo de peixe sobre o comportamento dos animais experimentais no teste de natação forçada modificado, através da inibição da síntese da 5-HT e do bloqueio do receptor 5-HT_{1A};

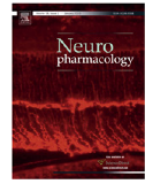
Dosar os níveis cortical e hipocampal de dopamina (DA) e de serotonina (5-HT) e seus respectivos metabólitos ácido 3,4-di-hidroxifenilacético (DOPAC), e ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) nos animais experimentais aos 21 e 90 dias de idade;

Quantificar os níveis de BDNF no hipocampo e córtex cerebral nos mesmos animais aos 21 e 90 dias de idade.

3 MÉTODOS E RESULTADOS

3.1 ARTIGO

Aparecida Vines, Ana Marcia Delattre, Marcelo M.S. Lima, Laís Soares Rodrigues, Deborah Suchecki, Ricardo B. Machado, Sergio Tufik, Sofia I.R. Pereira, Sílvia M. Zanata, Anete Curte Ferraz. **The role of 5-HT_{1A} receptors in fish oil-mediated increased BDNF expression in the rat hippocampus and cortex: A possible antidepressant mechanism.** *Neuropharmacology*, v.62, p.184-191, 2012.



The role of 5-HT_{1A} receptors in fish oil-mediated increased BDNF expression in the rat hippocampus and cortex: A possible antidepressant mechanism

Aparecida Vines^a, Ana Marcia Delattre^a, Marcelo M.S. Lima^a, Laís Soares Rodrigues^a, Deborah Suchecki^b, Ricardo B. Machado^b, Sergio Tufik^b, Sofia I.R. Pereira^c, Sílvia M. Zanata^c, Anete Curte Ferraz^{a,*}

^a Laboratório de Neurofisiologia, Departamento de Fisiologia, Universidade Federal do Paraná, 81.531-990 Curitiba, PR, Brazil

^b Departamento de Psicobiologia, Universidade Federal do São Paulo, 04024-002 São Paulo, SP, Brazil

^c Laboratório de Neurobiologia, Departamento de Patologia Básica, Universidade Federal do Paraná, C.P. 19.031, 81531-990 Curitiba, PR, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 April 2011
Received in revised form
14 June 2011
Accepted 17 June 2011

Keywords:

Polyunsaturated fatty acids
Fish oil
Depression
BDNF
Serotonin
5-HT_{1A} receptors

ABSTRACT

Epidemiological and dietary studies show that nutritional deficit of omega-3 polyunsaturated fatty acids (ω -3 PUFA) is directly related to the prevalence and severity of depression. Supplementation with docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) during critical periods of development (pregnancy and lactation) is essential for cortical maturation, synaptogenesis and myelination, and may also mitigate the risk for cognitive deficits and psychopathologies in young adults. The present study was performed to evaluate the involvement of serotonin (5-HT) receptors, particularly of 5-HT_{1A}, and hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression in the antidepressant effect of ω -3 PUFA supplementation. In Experiment 1, the antidepressant effects of fish oil were assessed by the modified forced swim test in adult rats. The data indicated a robust antidepressant effect produced by this supplementation and that treatment of the rats with WAY 100135 reversed this effect. In Experiment 2, cortical and hippocampal contents of BDNF, 5-HT, dopamine (DA) and its metabolites, 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), were determined in animals subjected to the same protocol. Increased BDNF expression in the cortex and hippocampus of both age groups was detected. In 90 day-old rats, 5-HT content in the hippocampus was increased, whereas 5-HIAA formation was diminished in the fish oil group. We suggest the occurrence of a reciprocal involvement of 5-HT_{1A} receptors activation and the hippocampal BDNF-increased expression mediated by fish oil supplementation. These data corroborate and expand the notion that supplementation with ω -3 PUFA produces antidepressant effects mediated by an increase in serotonergic neurotransmission, particularly in the hippocampus.

This article is part of a Special Issue entitled 'Anxiety and Depression'.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Major depression is the most prevalent life-long mental disorder affecting 2%–5% of the U.S. population and up to 20% of the population suffers from milder forms of the illness, thus representing a serious public health problem since the risk of suicide in depressive persons corresponds to 15% (Nestler et al., 2002; Ross, 2007). Omega-3 polyunsaturated fatty acids (ω -3 PUFA), such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), have been claimed to produce beneficial effects on mental health (Da Silva et al., 2008; Borsonelo and Galduroz, 2008). Numerous epidemiological and dietary studies show that supplementation with ω -3 PUFA is inversely related to the prevalence and severity of

depression (Bourre, 2007; Colangelo et al., 2009; Riemer et al., 2009). According to preclinical and clinical studies, DHA and EPA supplementation during critical periods of development (gestation and lactation) are essential for cortical maturation, synaptogenesis and myelination, and may also mitigate the risk for cognitive deficits and psychopathology in early adulthood (Mcnamara and Carlson, 2006; Eilander et al., 2007; Borsonelo and Galduroz, 2008). It has recently been reported that chronic fish oil supplementation (rich in DHA and EPA) exclusively during pre- and post-natal development decreases behavioral despair in the modified forced swim test (MFST) of the adult offspring, thus suggesting a long-term antidepressant effect of fish oil (Ferraz et al., 2011).

Depression is classically related to impairments in the monoaminergic systems that ultimately result in the manifestation of the whole clinical features of this disease (Ulak et al., 2010). Interestingly, serotonergic and dopaminergic metabolism is collectively affected by PUFA and by ω -3/ ω -6 ratio (Innis, 2000; Borsonelo and

* Corresponding author. Tel.: +55 41 3361 1722; fax: +55 41 3361 1714.
E-mail address: anete@ufpr.br (A. C. Ferraz).

Galduroz, 2008). Besides, increased serotonergic sensitivity is associated to increment of DHA membrane incorporation (Bodnar and Wisner, 2005) and diminished levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in different brain structures, such as frontal cortex and hippocampus, are associated with reduced content of ω -3 PUFA (Levant et al., 2008). In contrast, chronic supplementation with ω -3 PUFA induces antidepressant-like effects associated with increased hippocampal volume, induction of synaptogenesis and, particularly, BDNF up-regulation (Venna et al., 2009). In fact, these antidepressant-like effects may result from interactions among ω -3 PUFA, monoamines, specially serotonin (5-HT) and BDNF (Delion et al., 1997; Venna et al., 2009). Considering the evidence, the mechanism between the ω -3 PUFA-induced antidepressant-like effects and BDNF and 5-HT reciprocal modulation still remains obscure.

The present study was designed to evaluate the role of 5-HT_{1A} on ω -3 PUFA supplementation-induced hippocampal BDNF expression. Therefore, in the first experiment we investigated the effects of fish oil supplementation (from conception to weaning) on depressive-like behaviors and motor activity of 3-month old rats. To determine the involvement of serotonergic system on these effects promoted by fish oil, animals were pre-treated with a serotonergic biosynthesis inhibitor parachlorophenylalanine (PCPA) and with a 5-HT_{1A} antagonist (WAY 100135). We hypothesize that the administration of PCPA, and more particularly WAY 100135, decrease or even abolish the antidepressant effect attributed to the ω -3 PUFA supplementation. In the second experiment the potential relationship between monoaminergic neurotransmission and hippocampal and cortical BDNF expressions was investigated. The neurochemical analysis was carried out in 21- and 90 day-old offspring of ω -3 PUFA-treated dams, in order to quantify cortical and hippocampal levels of dopamine (DA) and 5-HT and their metabolites, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) and 5-hydroxyindoleacetic (5-HIAA). These neurotransmitters were selected because of their involvement with behaviors observed in the MFST; thus, immobility behavior is strongly correlated with dopaminergic activity (Santiago et al., 2010), whereas swimming is related to increased 5-HT levels (Cryan et al., 2005).

2. Methods

2.1. Animals

Male and female Wistar rats were kept under a 12 h light/12 h dark cycle (lights on at 07:00 am) in a controlled temperature room (21 ± 2 °C), with food (rat chow, Nuvital Nuvilab CR1 – Nuvital Nutrientes S/A, Colombo, Paraná, Brazil) and water *ad libitum*. All experiments were approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Universidade Federal do Paraná (# 400) and were performed

according to the Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care).

2.2. Experimental design

For Experiment 1, 10 week-old virgin female Wistar rats were used as matrices to obtain the male offspring for subsequent tests. The female rats were randomly distributed in 2 experimental groups: control group (C) and fish oil-supplemented group (FO). Females of the C group received regular chow diet, whereas those of the FO group were fed with the same chow, and a daily supplementation given orally (through pipette) with 3.0 g/kg of fish oil containing 12% of EPA and 18% of DHA (kindly donated by Laboratório Herbarium Botânico S/A, Colombo, Paraná, Brazil). The fatty acid composition of chow diet was the same as presented in a recent report from our group (Ferraz et al., 2011). The FO group was supplemented during an adaptation period (15 days), mating (8 days), pregnancy (21 days) and nursing (21 days). After weaning, the male offspring were kept in the animal facility, under the same environmental conditions as described above, until adulthood (90 days), and was not subjected to supplementation by any means, when they were used either in Experiment 1 or in Experiment 2.

In Experiment 1, the rats were randomly distributed in two subsets: Experiment 1A ($n = 32$) and 1B ($n = 56$). In experiment 1A groups C and FO were assessed for depressive-like and motor behaviors, by means of the MFST and open-field test. In Experiment 1B, animals from both groups were challenged with PCPA and WAY 100135 and the same behaviors were again assessed. These drugs were used due to their actions on 5-HT system; PCPA is a 5-HT synthesis inhibitor and WAY 100135 is an antagonist of 5-HT_{1A} receptors. In Experiment 2, immediate and long-term effects of ω -3 PUFA on BDNF, 5-HT, DA content and their metabolites were investigated. Immediately after weaning, at 21 days of age, rats ($n = 12$) were decapitated and the cortex and hippocampus were dissected. The long-term effects were assessed in 90 day-old offspring ($n = 12$). For more details of the complete experimental design see Fig. 1.

2.3. Drugs

PCPA (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA) was freshly prepared in 0.9% saline with two drops of Tween 80. The animals received PCPA (150 mg/kg, i.p.) once a day for 3 days (the last injection was administered 30 min before the MFST) or (S)-WAY 100135 dihydrochloride (Tocris, Ellisville, MO, USA) prepared in 0.9% saline. WAY 100135 (1 mg/kg, i.p) was administered 45 min before the MFST. The doses used were based on previous reports in the literature and were not related to altered locomotor activity (Zomkowski et al., 2004; Ulak et al., 2010).

2.4. Modified forced swim test

This test is a modified version of the Porsolt test (Porsolt et al., 1977) that was conducted as described previously (Detke et al., 1995; Cryan et al., 2002). Rats were placed in an opaque plastic cylinder (diameter 20 cm; height 50 cm) containing water up to 30 cm (24 ± 1 °C); on day 1 the rats remained in the cylinder for 15 min (training session) and 24 h later they were placed back and tested for 5 min (test session). The test session was video recorded via a camera positioned above the cylinder for subsequent analysis. The behaviors registered during the test session were: immobility (when the rat stopped all active behaviors and remained floating in the water with minimal movements, with its head just above the water), swimming (movements throughout the swim cylinder, including crossing into another quadrant) and climbing (upward directed movements of the forepaws along the cylinder walls). At each 5-s interval of the 300-s test session, the predominant

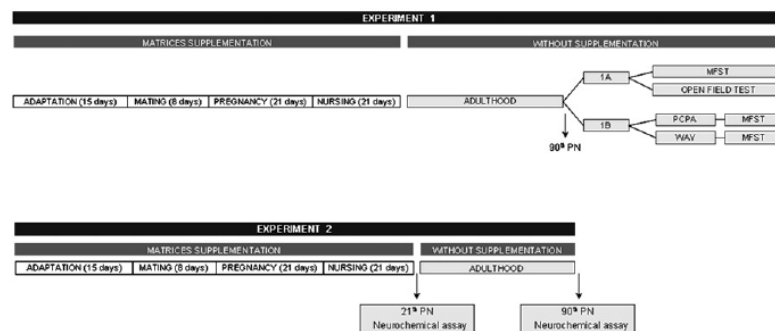


Fig. 1. Time line showing the experimental design. The bars are not represented in scale. PN: post-natal day; MFST: modified forced swim test; PCPA: parachlorophenylalanine; WAY: WAY 100135.

behavior was recorded. The water was changed and the cylinder rinsed with clean water after each rat. Following the training and the test sessions, the animals were dried and placed in their home cages.

2.5. Open-field test

The open-field test was performed in a circular arena (1 m diameter) limited by a 40 cm-high wall and illuminated by four 60 W lamps (Broadhurst, 1960). The arena's floor is divided in two circular areas, which in turn were subdivided in nine smaller areas, summing up a total of 19 segments. Subjects were individually placed in the central area of the arena and were allowed to freely explore the arena for 5 min. During this period of time, locomotion was measured based on the number of segments crossed and the exploratory behavior of rearing was also assessed (Lima et al., 2006). The open-field was washed with a 5% water–ethanol solution before behavioral testing to eliminate possible bias due to odors left by previous rats.

2.6. Neurochemical quantification

The animals were sacrificed by decapitation, their brains were removed and the cortex and hippocampus, separately, were dissected on a cold surface. The tissue samples were weighed individually and homogenized by sonication in 500 mL of extraction solution (0.1 M perchloric acid containing 0.4 mM sodium metabisulfite and 0.2 mM ethylenediaminetetraacetic acid). The homogenates were centrifuged at $20,000 \times g$ for 10 min, then filtered through 0.22 mm membrane and stored at -80°C for further analysis. Precipitates were dissolved in 0.1 N NaOH and assayed to protein estimation (Bicinchoninic acid method, Pierce Chemical, Rockford, IL). Supernatants were submitted to fast isocratic separation through a C18 HPLC reversed-phase column system (Spheri-5, C18, ODS, 5 mm, 25 cm, 4.6 mm column; linked to a New-Guard Cartridge Column, RP-18, 7 mm pre-column; Perkin Elmer Brownlee Columns, Shelton, CT) and electrochemically detected using an amperometric detector (L-ECD-6A, Shimadzu, Japan), by oxidation on glass carbon electrode at +850 mV in relation to an Ag–AgCl reference electrode (Machado et al., 2008). The mobile phase consisted of 0.163 M citric acid, 0.06 M sodium phosphate dibasic anhydrous, 0.69 mM octyl sodium sulfate, 12 mM ethylenediaminetetraacetic acid, acetonitrile 4%, tetrahydrofuran 1.7% and orthophosphoric acid sufficient to bring the pH to 2.85, diluted in double distilled water. The mobile phase was filtered through a 0.2 mm filter membrane, degassed under helium and delivered at a flow rate of 1.4 mL/min. Each sample was analyzed in duplicate for concentrations of dopamine (DA), serotonin (5-HT) and their non-conjugated metabolites 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanilic acid (HVA) and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA). The recovery of the analytes was determined by adding a fixed concentration of internal standard DHBA (dihydroxybenzylamine) before tissue homogenization. All standards and salts were purchased from Sigma (St. Louis, 1213 MO) and the solvents (HPLC grade) were purchased from Carlo Erba (Italy).

2.7. BDNF immunoassay

Quantification of endogenous BDNF was performed with a two-site enzyme-linked immunosorbent assay using the method of BDNF extraction from rat brain tissue described by Elfving and co-workers (Elfving et al., 2010). For this parameter, 4 or 5 animals from each experimental group were killed by decapitation and the hippocampus was rapidly dissected, placed on dry ice and stored at -80°C . Prior to analysis, the initial tissue homogenization (volume 1:10 w/v) with lysis buffer containing 100 mM Tris–HCl (pH 7.2), 400 mM NaCl, 4 mM ethylenediaminetetraacetic acid, 0.05% sodium azide, 0.5% gelatin, 0.2% Triton X 100, 2% BSA, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 1 mM N-ethyl-maleimide and 2.5 mM Phenanthroline was performed by short sonication pulses for 15 s. After 40 min on ice the homogenates were centrifuged ($11,000 \times g$, 20 min, 4°C) and the supernatant was collected. Different dilutions of hippocampus (1:12) and cortex (1:2) extracts were used for the analysis of BDNF concentration (Elfving et al., 2010) that was measured using the Promega BDNF Emax Immunoassay System (Promega Co., Madison, WY, USA) according to the manufacturer's instructions. Briefly, 96 wells polystyrene plates were coated with anti-BDNF monoclonal antibody (mAb) in carbonate buffer pH 9.2 overnight at 4°C . Unadsorbed mAbs were washed with phosphate buffer saline containing 0.05% Tween 20 (PBST) and plates were blocked with Promega Block and Sample Buffer for 1 h at room temperature. Next, 100 μl of each sample were added in triplicate and plates were incubated for 2 h at room temperature. After extensive washing with PBST, anti-human BDNF polyclonal antibody (pAbs) was added and further incubated for 2 h at RT. Finally, unbound pAbs were removed by washing with PBST and anti-IgY horseradish peroxidase conjugate was added for 1 h at room temperature. Reaction was developed using TMB One Solution and stopped with 1 M HCl. Absorbance was measured at 450 nm.

2.8. Statistical analysis

Differences between groups in behavioral and biochemical tests were analyzed by Student's *t*-test or two-way analysis of variance (ANOVA) - with supplementation as the between-subjects factor and drugs administration as the within-subjects factor - followed by the test of Duncan. The results are reported as mean \pm S.E.M. Differences were considered statistically significant when $p \leq 0.05$.

3. Results

3.1. Experiment 1A

3.1.1. Open-field test and modified forced swimming test

Fig. 2A and B show that the motor activity, measured by the number of crossed areas and rearing behavior, in open-field test

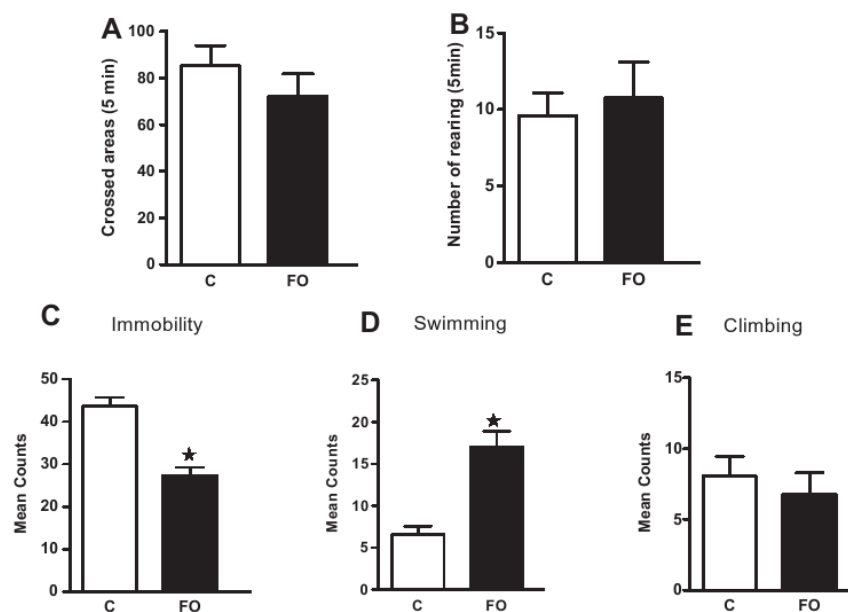


Fig. 2. Effect of fish oil supplementation in the open-field test (A) and (B), and in the modified forced swimming test (C), (D) and (E). Student's *t*-test. Values are expressed as mean \pm S.E.M. * $p < 0.0001$. Control (C) $n = 16$, Fish Oil supplementation (FO) $n = 16$.

was not significantly different between FO and C groups ($t = 0.32$, $df = 30$, n.s.) and ($t = 0.41$, $df = 30$, n.s.) respectively. Fig. 2C, D and E show the performance of rats in the MFST (test session) in terms of the three parameters analyzed (immobility, swimming and climbing). Regarding immobility, fish oil decreased the frequency of this behavior compared to control group ($t = 5.856$, $df = 30$, $p < 0.0001$). Similar to the immobility, the frequency of swimming was increased by fish oil supplementation ($t = 5.045$, $df = 30$, $p < 0.0001$). Regarding climbing behavior, there was no difference between the groups ($t = 0.633$, $df = 30$, n.s.).

3.2. Experiment 1B

Fig. 3 A, B and C show the influence of PCPA on the effect of fish oil supplementation in the MFST. An interaction between group and treatment was observed for immobility parameter ($F_{1,24} = 4.68$, $p < 0.04$). Duncan post-test indicated that FO reduced its frequency ($p < 0.05$).

The frequency of swimming was also influenced by fish oil supplementation ($F_{1,24} = 6.03$, $p < 0.02$) and PCPA administration ($F_{1,24} = 7.04$, $p < 0.01$), but without interaction between these factors ($F_{1,24} = 2.57$, n.s.). Post-hoc analysis showed an increase in swimming in the group supplemented with fish oil when compared to the others groups ($p < 0.008$). Besides that, FO group treated with PCPA (PFO) displayed similar frequency of this behavior to control animals (C and PC groups).

Regarding climbing behavior, there was no difference among all groups tested due to either supplementation ($F_{1,24} = 0.70$, n.s.) or to PCPA treatment ($F_{1,24} = 0.27$, n.s.) or any interaction between the factors ($F_{1,24} = 1.21$, n.s.). When the animals were challenged with WAY 100135 there was a main effect of fish oil on the frequency of immobility behavior ($F_{1,24} = 12.75$, $p < 0.001$), no effect of WAY 100135 ($F_{1,24} = 1.10$, n.s.) and an interaction between the factors ($F_{1,24} = 12.75$, $p < 0.001$). Duncan test indicated that fish oil produced a significant reduction on immobility frequency ($p < 0.001$) in comparison to the others groups.

Analysis of swimming behavior revealed effects of WAY 100135 ($F_{1,24} = 5.09$, $p < 0.03$), no effect of fish oil ($F_{1,24} = 2.20$, n.s.), and an

interaction between factors ($F_{1,24} = 4.26$, $p < 0.04$). Post-hoc analysis revealed that FO exhibited a significant increase of swimming frequency ($p < 0.01$) in comparison to the others groups. Treatment with WAY 100135 reversed the effects of fish oil in the MFST (immobility and swimming behaviors), since FO group treated with WAY 100135 was not different from control animals (C and WC groups). There were no fish oil ($F_{1,24} = 2.76$, n.s.), WAY 100135-related effects ($F_{1,24} = 0.45$, n.s.) nor an interaction between the factors ($F_{1,24} = 0.60$, n.s.) in climbing behavior.

3.3. Experiment 2

3.3.1. BDNF quantification and neurochemical data

Fig. 4A and B show, respectively, BDNF and neurochemical quantification in the hippocampus and cerebral cortex of 21 day-old animals. The results showed an increase of this neurotrophin in animals FO-supplemented animals both in hippocampus ($t = 3.066$, $df = 5$, $p < 0.03$) and in cerebral cortex ($t = 4.88$, $df = 4$, $p < 0.008$). Analysis of hippocampal neurotransmitters content (Fig. 4C) revealed that in 21 day-old animals, fish oil decreased both 5-HT and 5-HIAA concentrations ($t = 4.00$, $df = 10$, $p < 0.002$; $t = 3.43$, $df = 10$, $p < 0.006$, respectively). In contrast, fish oil supplementation did not alter DA ($t = 1.68$, $df = 10$, n.s.) and DOPAC concentrations ($t = 0.50$, $df = 9$, n.s.). Considering DA and 5-HT turnover, fish oil did not influence either DOPAC/DA ($t = 0.47$, $df = 9$, n.s.) or 5-HIAA/5-HT ratios ($t = 0.22$, $df = 10$, n.s.) (Fig. 4D).

Analysis of the cerebral cortex, showed no effect of fish oil supplementation on any parameter: 5-HT ($t = 0.66$, $df = 10$, n.s.), 5-HIAA ($t = 1.64$, $df = 10$, n.s.), DA ($t = 1.94$, $df = 10$, n.s.) and DOPAC concentrations ($t = 0.94$, $df = 10$, n.s.) (Fig. 4E). Regarding the turnover analysis, fish oil supplementation increased 5-HIAA/5-HT ratio ($t = 4.47$, $df = 10$, $p < 0.001$), but not DOPAC/DA ratio ($t = 0.82$, $df = 10$, n.s.) (Fig. 4F). A similar neurochemical pattern was observed in 90 day-old animals. There was an increase in BDNF concentration in the hippocampus ($t = 3.68$, $df = 4$, $p < 0.02$) and in the cerebral cortex ($t = 2.98$, $df = 6$, $p < 0.02$) in fish oil-supplemented rats (Fig. 5A and B).

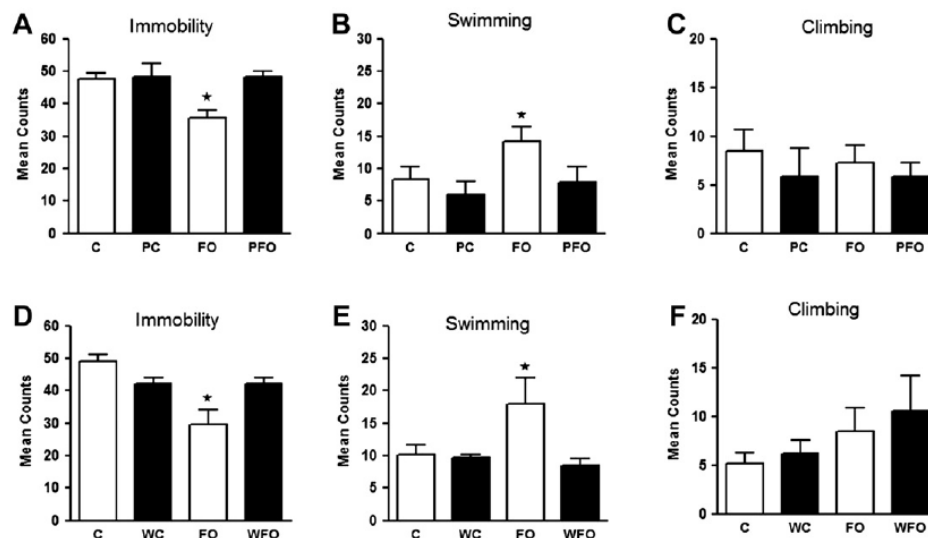


Fig. 3. Effects of fish oil supplementation in two drugs experiment: PCPA (A), (B) and (C) and WAY 100135 (D), (E) and (F) in the modified forced swimming test in control and fish oil-supplemented rats. Saline Control (C) $n = 7$, PCPA Control (PC) $n = 7$, Saline Fish Oil (FO) $n = 7$, PCPA Fish Oil (PFO) $n = 7$; Control (C) $n = 7$, WAY Control (WC) $n = 7$, Saline Fish Oil (FO) $n = 7$, WAY Fish Oil (WFO) $n = 7$. Two-way ANOVA followed by test of Duncan. Values are expressed as mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$ comparing FO and all groups.

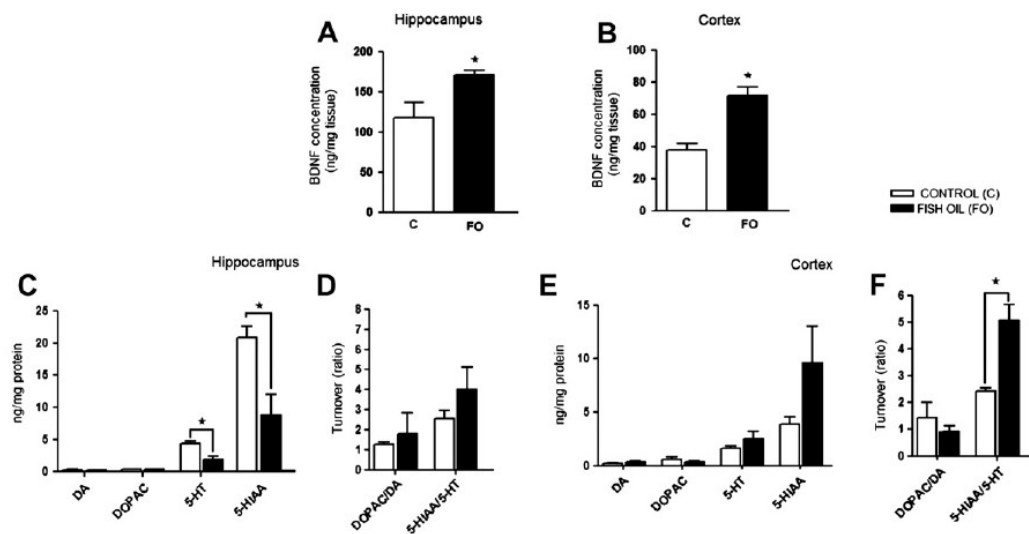


Fig. 4. BDNF concentration and neurochemical assessment in 21 day-old animals. Measurement of BDNF in the hippocampus (A) and cerebral cortex (B). Neurotransmitters content and their metabolites in the hippocampus (C) and cerebral cortex (E) and turnover rate (D) and (F), respectively. Student's *t*-test. Values are expressed as mean \pm S.E.M. BDNF, $n = 3-4$ per group and neurotransmitters, $n = 5-6$ per group. * $p < 0.05$.

Analysis of the neurotransmitter data in animals of 90 day-old (Fig. 5C) revealed that fish oil supplementation led to increased 5-HT ($t = 2.31$, $df = 10$, $p < 0.04$) and a decreased of 5-HIAA concentrations ($t = 2.70$, $df = 9$, $p < 0.02$) in the hippocampus. No change in DA ($t = 0.33$, $df = 9$, n.s.) or in DOPAC concentrations ($t = 0.56$, $df = 10$, n.s.) was observed between the experimental groups. Regarding DA and 5-HT turnover, fish oil did not alter either DOPAC/DA ($t = 0.89$, $df = 9$, n.s.) or 5-HIAA/5-HT ratios ($t = 2.08$, $df = 10$, n.s.) (Fig. 5D). In the cerebral cortex, fish oil supplementation led to increased of 5-HT ($t = 4.55$, $df = 9$, $p < 0.001$) and 5-HIAA concentrations ($t = 4.27$, $df = 8$, $p < 0.003$) and decrease DA ($t = 2.38$, $df = 10$, $p < 0.04$) and DOPAC concentrations ($t = 2.81$,

$df = 10$, $p < 0.02$) (Fig. 5E). There was not, however, any change in DOPAC/DA ($t = 0.22$, $df = 8$, n.s.) or in 5-HIAA/5-HT ratios ($t = 1.74$, $df = 8$, n.s.) (Fig. 5F).

4. Discussion

The present study was performed to investigate the involvement of the serotonergic system on the antidepressant effects of fish oil supplementation during pre- and post-natal brain developmental periods. The results demonstrated that fish oil-supplemented offspring displayed less depressive-like behaviors reflected by decreased immobility and increased swimming, and that these

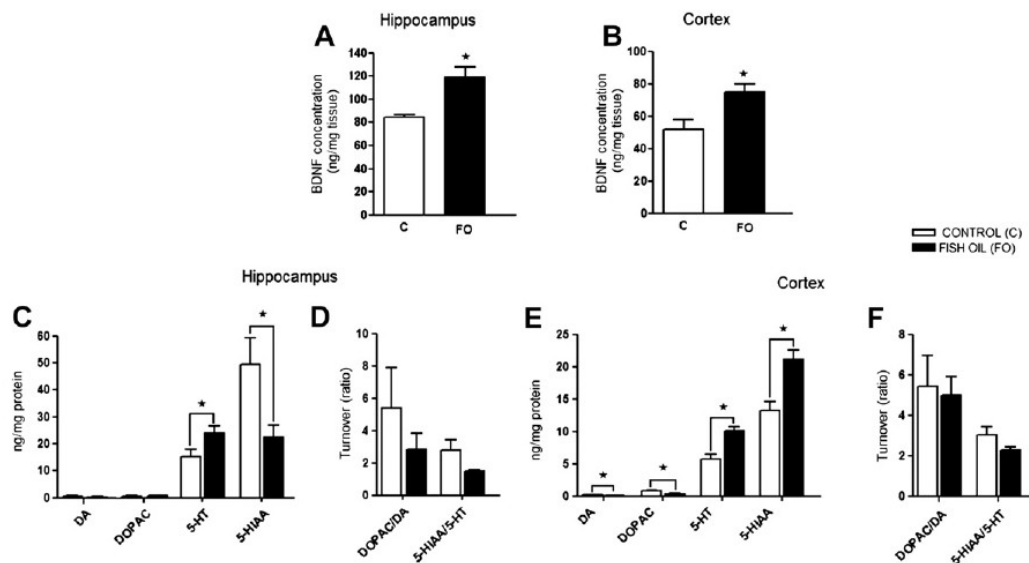


Fig. 5. BDNF concentration and neurochemical assessment in 90 day-old animals. BDNF content in the hippocampus (A) and cerebral cortex (B). Neurotransmitters and metabolites contents in the hippocampus (C) and in cerebral cortex (E) and turnover rate (D) and (F), respectively. Student's *t*-test. Values are expressed as mean \pm S.E.M. BDNF, $n = 3-4$ per group and neurotransmitters, $n = 5-6$ per group. * $p < 0.05$.

effects were reversed by anti-serotonergic drugs. Moreover, fish oil supplementation increased BDNF and 5-HT contents in the hippocampi and cortices of post-weaning and adult offspring, indicating a long-lasting influence and providing a possible explanation for fish oil's antidepressant effect.

The results of Experiment 1 showed that decreased immobility and increased swimming behaviors were not due to unspecific motor effects of fish oil, since no differences in the open-field was observed. These data are in accordance to previous studies that adopted similar supplementation protocols (during pregnancy and lactation or post-weaning phases) that indicate the absence of modifications of motor behaviors associated to the cortical and hippocampal ω -3 PUFA incorporation (Naliwaiko et al., 2004; Ferraz et al., 2008). The MFST is an interesting model for the screening of antidepressant drugs due to its ability to discriminate different mechanisms of action. For instance, selective inhibitors of serotonergic reuptake increase swimming behavior, whereas those of noradrenergic reuptake increase climbing behavior (Cryan et al., 2002, 2005). Indeed, the increase in swimming behavior observed in fish oil-supplemented rats can be attributed to augmented content of hippocampal 5-HT at the age of testing. Interestingly, this effect was prevented by the pre-treatment with two drugs that interfere with the activity of the serotonergic system by distinct mechanisms of action. The results demonstrated that inhibition of tryptophan hydroxylase, generated by PCPA, reversed the antidepressant effects produced by fish oil supplementation. Although treatment with PCPA produces significant inhibition of 5-HT biosynthesis (Page et al., 1999; Harkin et al., 2003), it only affects swimming behavior of animals, suggesting that 5-HT is more critically involved in mediating MFST responses, after treatment with fish oil or antidepressant drugs (e.g. fluoxetine), than in determining baseline responses in behavioral tests (Page et al., 1999). These results are in agreement with previous studies showing that 5-HT depletion, by PCPA or destruction of serotonergic neurons with the neurotoxin 5,7-dihydroxytryptamine, does not alter baseline behavioral response in the MFST (Wieland and Lucki, 1990; Cervo et al., 1991; Lucki, 1997).

To further investigate the participation of 5-HT on the effects of fish oil, we focused on the 5-HT_{1A} receptors, which are highly expressed in corticolimbic regions (e.g. frontal cortex, entorhinal cortex and hippocampus) and mainly implicated in mood and emotions (Albert and Francois, 2010). The use of WAY 100135, a 5-HT_{1A} antagonist and also a 5-HT_{1B} and 5-HT_{1D} partial agonist (Davidson et al., 1997; Svenningsson et al., 2006) reversed the antidepressant effects of fish oil supplementation, similarly to PCPA. Accordingly, we hypothesized that blockade of this particular receptor would prevent the antidepressant effects of fish oil supplementation during pregnancy and lactation periods. Importantly, the systemic administration of WAY 100135 presumably antagonizes both post-synaptic 5-HT_{1A} receptors (located in limbic areas) and 5-HT_{1A} autoreceptors, present in the dorsal raphe nucleus. Therefore, it would be expected that chronic fish oil supplementation increased 5-HT_{1A} receptor activity within the hippocampus and cortex, and decreased it in the raphe nucleus. Corroborating this idea, it has been shown that the direct activation of post-synaptic 5-HT_{1A} receptors ameliorates anti-depressive therapy (Savitz et al., 2009). In addition, over-expression of post-synaptic 5-HT_{1A} receptors in male transgenic mice is associated with an antidepressant-like phenotype observed in the forced swim test, as indicated by lower immobility compared to male wild-type mice (Gunther et al., 2011). An interesting experiment using ω -3 fatty acids in combination with additional dietary supplements in rats showed enhanced density of 5-HT_{1A} receptors in the hippocampus (Farkas et al., 2002). Moreover, several groups have previously reported an increase in extracellular 5-HT levels

following chronic serotonin-selective reuptake inhibitors (SSRI), while others have found no change (Popa et al., 2010). Chronic fluoxetine administration (Kreiss and Lucki, 1995) or other antidepressants (citalopram, paroxetine) (Gundlah et al., 1997; Hajos-Korcok et al., 2000; Wegener et al., 2003) produces an increase in extracellular 5-HT levels in the hippocampus, similar to the neurochemical effects induced by fish oil in our study. In contrast, other long-term SSRI (paroxetine, citalopram) failed to induce such an increase (Gardier et al., 2003; Keck et al., 2005).

The diverse regulation of these serotonergic receptors is also associated to the complexity of neurotrophins, particularly BDNF, and 5-HT signaling interaction. A recent report showed that central BDNF depletion does not impact 5-HT_{1A} receptor binding in the frontal cortex, although, 5-HT_{1A} binding and expression within the hippocampus are decreased in the BDNF knockout mice (Klein et al., 2010). In this context, we performed the second experiment intending to explore, mechanistically, the potential relationship between monoaminergic neurotransmission and hippocampal and cortical BDNF expressions. Fish oil supplementation produced a significant increase of BDNF expression in the cortex and hippocampus in both post-weaning and adult rats. However, in 21 day-old rats, both 5-HT and 5-HIAA hippocampal contents were reduced without changes in the turnover in the fish oil group. Conversely, the analysis of the cortex revealed an increased 5-HT turnover, corroborating the idea of a differential impact of BDNF in the hippocampus and cortex, possibly due to differences in the binding and expression of the 5-HT_{1A} receptors. A previous study found that different antidepressant treatments (i.e. with desipramine, fluoxetine and phenelzine) increased BDNF protein levels in the frontal cortex but not in the hippocampus (Balu et al., 2008). In addition, chronic electroconvulsive shock increased BDNF protein in the hippocampus and frontal cortex (Altar et al., 2003; Jacobsen and Mork, 2004) and chronic treatment with the monoamine oxidase inhibitor tranylcypamine increased protein in the frontal cortex but not in the hippocampus (Altar et al., 2003). Furthermore, several lines of evidence suggest that BDNF promotes the development, survival and plasticity of serotonergic neurons during hippocampal development as well as in adulthood, and this may be related to its role in depression (Yu and Chen, 2011). Considering the present results, we suggest that fish oil supplementation resulted, primarily, in the increase of cortical and hippocampal BDNF expressions, which mediate events of cell survival, growth and plasticity (Martinowich and Lu, 2008) culminating in the modulations of binding and expressions of 5-HT_{1A} receptors and perhaps preventing the degradation of 5-HT in hippocampal neurons. Thus, 5-HT_{1A} receptor antagonists preferentially enhance the effects of SSRI on extracellular 5-HT in rat brain regions innervated by the dorsal raphe such as the medial prefrontal cortex (Romero and Artigas, 1997; Hervas et al., 2000). This idea seemed to be more evident in 90 day-old rats, when fish oil supplementation produced an increase in the 5-HT content (hippocampus and cortex) associated to reduced 5-HIAA content in the hippocampus. Such convergence of phenomena, allied to the increased hippocampal BDNF expression denotes the occurrence of a resilient antidepressant effect induced by fish oil supplementation.

Furthermore, other receptors than 5-HT_{1A}, could be involved in these neurochemical alterations. Human 5-HT_{1D} receptors are equivalent of 5-HT_{1B} receptors in rodents as reviewed recently (Ruf and Bhagwagar, 2009). 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors are thought to be the main somatodendritic and terminal autoreceptors respectively, controlling synthesis, turnover and efflux of 5-HT in the brain (Hoyer et al., 1994; Ruf and Bhagwagar, 2009). Evidence from animal studies suggests that 5-HT_{1B} receptors may be involved in the mechanism of action of antidepressants (Clark and Neumaier, 2001). Fluoxetine and paroxetine treatments lead to down

regulation of the 5-HT_{1B} transcript expression in the raphe nucleus but not in the hippocampus of rats, and discontinuation of the SSRI results in a return to baseline levels of 5-HT_{1B} of the correspondent mRNA (Ruf and Bhagwagar, 2009). Furthermore, immunocytochemical studies showed that 5-HT_{2C} receptors are expressed in GABAergic neurons in the raphe and other brain regions (Pazos et al., 1985; Serrats et al., 2005). Hence, GABAergic neurons synapse upon 5-HT cells in the raphe (Wang et al., 1992) controlling their activity and firing (Gallager and Aghajanian, 1976) and, as a result promoting the alterations in the 5-HT content. However, we can not rule out the possibility that extra-raphe 5-HT receptors may also contribute (Cremers et al., 2007; Sharp et al., 2007). 5-HT levels could also be influenced by its synthesis, which seems to be up-regulated during adulthood (since PCPA inhibited fish oil effect on depressive-like behaviors). We also speculate that an additional explanation relies on a possible blockade promoted by fish oil on the 5-HT transporter, or even a reduction in the type A monoamine oxidase activity, both resulting in increased levels of 5-HT.

According to our results, mainly the 5-HT neurotransmission, rather than DA, was modulated by the fish oil supplementation. By inverse analogy, studies involving ω -3 PUFA-deficient diets (during brain maturation) indicate that such restriction may play a critical role in the dysregulation of serotonergic system which could ultimately, impact the pathophysiology of psychiatry disorders (Mcnamara and Carlson, 2006; Mcnamara et al., 2009).

In summary, the present data suggest that fish oil supplementation during pregnancy and lactation promotes a robust antidepressant effect (comparable to chronic SSRI treatment) that is possibly related to the induction of BDNF expression and increased 5-HT neurotransmission in the hippocampus and cortex. In addition, the results also showed that blockade of 5-HT_{1A} receptors reversed fish oil-induced antidepressant effects promoted by fish oil, indicating that these effects are mediated by activation of 5-HT_{1A} receptors mainly present in the hippocampus. Hence, we suggest the occurrence of a reciprocal involvement of 5-HT_{1A} receptors activation and hippocampal BDNF-increased expression mediated by fish oil supplementation.

5. Conclusion

These data corroborate and expand the notion that ω -3 PUFA supplementation is capable of eliciting antidepressant effects related to an increased serotonergic neurotransmission particularly in the hippocampus. Fish oil supplementation appears to mediate a reciprocal involvement of 5-HT_{1A} receptors activation and hippocampal BDNF-increased expression mediated by fish oil supplementation.

Acknowledgments

This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq. The authors are indebted to Dr. Roseli Boergen de Lacerda from the Pharmacology Department (UFPR), who gently provided the PCPA drug. Deborah Suchecki is the recipient of a research fellowship from CNPq.

References

Albert, P.R., Francois, B.L., 2010. Modifying 5-HT_{1A} receptor gene expression as a new target for antidepressant therapy. *Front. Neurosci.* 4, 35.
 Altar, C.A., Whitehead, R.E., Chen, R., Wortwein, G., Madsen, T.M., 2003. Effects of electroconvulsive seizures and antidepressant drugs on brain-derived neurotrophic factor protein in rat brain. *Biol. Psychiatry* 54, 703–709.
 Balu, D.T., Hoshaw, B.A., Malberg, J.E., Rosenzweig-Lipson, S., Schechter, L.E., Lucki, I., 2008. Differential regulation of central BDNF protein levels by antidepressant and non-antidepressant drug treatments. *Brain Res.* 1211, 37–43.

Bodnar, L.M., Wisner, K.L., 2005. Nutrition and depression: implications for improving mental health among childbearing-aged women. *Biol. Psychiatry* 58, 679–685.
 Borsonelo, E.C., Galduroz, J.C., 2008. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in development, aging and substance abuse disorders: review and propositions. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 78, 237–245.
 Bourre, J.M., 2007. Dietary omega-3 fatty acids for women. *Biomed. Pharmacother.* 61, 105–112.
 Broadhurst, P.L., 1960. Experiments in psychogenetics. In: Eysenck, H.J. (Ed.), *Experiments in Personality*. Routledge and Kegan Paul, London, pp. 52–71.
 Cervo, L., Grignaschi, G., Rossi, C., Samanin, R., 1991. Role of central serotonergic neurons in the effect of sertraline in rats in the forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.* 196, 217–222.
 Clark, M.S., Neumaier, J.F., 2001. The 5-HT_{1B} receptor: behavioral implications. *Psychopharmacol. Bull.* 35, 170–185.
 Colangelo, L.A., He, K., Whooley, M.A., Daviglius, M.L., Liu, K., 2009. Higher dietary intake of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids is inversely associated with depressive symptoms in women. *Nutrition* 25, 1011–1019.
 Cremers, T.L., Rea, K., Bosker, F.J., Wikstrom, H.V., Hogg, S., Mork, A., Westerink, B.H., 2007. Augmentation of SSRI effects on serotonin by 5-HT_{2C} antagonists: mechanistic studies. *Neuropsychopharmacology* 32, 1550–1557.
 Cryan, J.F., Page, M.E., Lucki, I., 2002. Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test. *Eur. J. Pharmacol.* 436, 197–205.
 Cryan, J.F., Valentino, R.J., Lucki, I., 2005. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 29, 547–569.
 Da Silva, T.M., Munhoz, R.P., Alvarez, C., Naliwaiko, K., Kiss, A., Andreatini, R., Ferraz, A.C., 2008. Depression in Parkinson's disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study of omega-3 fatty-acid supplementation. *J. Affect. Disord.* 111, 351–359.
 Davidson, C., Ho, M., Price, G.W., Jones, B.J., Stamford, J.A., 1997. (+)-WAY 100135, a partial agonist, at native and recombinant 5-HT_{1B/1D} receptors. *Br. J. Pharmacol.* 121, 737–742.
 Delion, S., Chalou, S., Guilloteau, D., Lejeune, B., Besnard, J.C., Durand, G., 1997. Age-related changes in phospholipid fatty acid composition and monoaminergic neurotransmission in the hippocampus of rats fed a balanced or an n-3 polyunsaturated fatty acid-deficient diet. *J. Lipid Res.* 38, 680–689.
 Detke, M.J., Rickels, M., Lucki, I., 1995. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl.)* 121, 66–72.
 Eilander, A., Hundscheid, D.C., Osendarp, S.J., Transler, C., Zock, P.L., 2007. Effects of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation on visual and cognitive development throughout childhood: a review of human studies. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 76, 189–203.
 Elfving, B., Plougmann, P.H., Wegener, G., 2010. Detection of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rat blood and brain preparations using ELISA: pitfalls and solutions. *J. Neurosci. Methods* 187, 73–77.
 Farkas, E., De Wilde, M.C., Kiliaan, A.J., Meijer, J., Keijser, J.N., Luiten, P.G., 2002. Dietary long chain PUFAs differentially affect hippocampal muscarinic 1 and serotonergic 1A receptors in experimental cerebral hypoperfusion. *Brain Res.* 954, 32–41.
 Ferraz, A.C., Delattre, A.M., Almendra, R.G., Sonagli, M., Borges, C., Araujo, P., Andersen, M.L., Tufik, S., Lima, M.M., 2011. Chronic omega-3 fatty acids supplementation promotes beneficial effects on anxiety, cognitive and depressive-like behaviors in rats subjected to a restraint stress protocol. *Behav. Brain Res.* 219, 116–122.
 Ferraz, A.C., Kiss, A., Araujo, R.L., Salles, H.M., Naliwaiko, K., Pamplona, J., Matheussi, F., 2008. The antidepressant role of dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids in two phases in the developing brain. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 78, 183–188.
 Gallager, D.W., Aghajanian, G.K., 1976. Effect of antipsychotic drugs on the firing of dorsal raphe cells. II. Reversal by picrotoxin. *Eur. J. Pharmacol.* 39, 357–364.
 Gardier, A.M., David, D.J., Jego, G., Przybylski, C., Jacquot, C., Durier, S., Gruwez, B., Douvier, E., Beauverie, P., Poisson, N., Hen, R., Bourin, M., 2003. Effects of chronic paroxetine treatment on dialysate serotonin in 5-HT_{1B} receptor knockout mice. *J. Neurochem.* 86, 13–24.
 Gundlach, C., Hjorth, S., Auerbach, S.B., 1997. Autoreceptor antagonists enhance the effect of the reuptake inhibitor citalopram on extracellular 5-HT: this effect persists after repeated citalopram treatment. *Neuropharmacology* 36, 475–482.
 Gunther, L., Rothe, J., Rex, A., Voigt, J.P., Millan, M.J., Fink, H., Bert, B., 2011. 5-HT_{1A}-receptor over-expressing mice: genotype and sex dependent responses to antidepressants in the forced swim-test. *Neuropharmacology*.
 Hajos-Korcsok, E., Mctavish, S.F., Sharp, T., 2000. Effect of a selective 5-hydroxytryptamine reuptake inhibitor on brain extracellular noradrenaline: microdialysis studies using paroxetine. *Eur. J. Pharmacol.* 407, 101–107.
 Harkin, A., Connor, T.J., Walsh, M., St John, N., Kelly, J.P., 2003. Serotonergic mediation of the antidepressant-like effects of nitric oxide synthase inhibitors. *Neuropharmacology* 44, 616–623.
 Hervas, I., Queiroz, C.M., Adell, A., Artigas, F., 2000. Role of uptake inhibition and autoreceptor activation in the control of 5-HT release in the frontal cortex and dorsal hippocampus of the rat. *Br. J. Pharmacol.* 130, 160–166.
 Hoyer, D., Clarke, D.E., Fozard, J.R., Hartig, P.R., Martin, G.R., Mylecharane, E.J., Saxena, P.R., Humphrey, P.P., 1994. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol. Rev.* 46, 157–203.

- Innis, S.M., 2000. The role of dietary n-6 and n-3 fatty acids in the developing brain. *Dev. Neurosci.* 22, 474–480.
- Jacobsen, J.P., Mork, A., 2004. The effect of escitalopram, desipramine, electroconvulsive seizures and lithium on brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the rat brain and the correlation to 5-HT and 5-HIAA levels. *Brain Res.* 1024, 183–192.
- Keck, M.E., Sartori, S.B., Welt, T., Muller, M.B., Ohl, F., Holsboer, F., Landgraf, R., Singewald, N., 2005. Differences in serotonergic neurotransmission between rats displaying high or low anxiety/depression-like behaviour: effects of chronic paroxetine treatment. *J. Neurochem.* 92, 1170–1179.
- Klein, A.B., Santini, M.A., Aznar, S., Knudsen, G.M., Rios, M., 2010. Changes in 5-HT_{2A}-mediated behavior and 5-HT_{2A}- and 5-HT_{1A} receptor binding and expression in conditional brain-derived neurotrophic factor knock-out mice. *Neuroscience* 169, 1007–1016.
- Kreiss, D.S., Lucki, I., 1995. Effects of acute and repeated administration of antidepressant drugs on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine measured in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 274, 866–876.
- Levant, B., Ozias, M.K., Davis, P.F., Winter, M., Russell, K.L., Carlson, S.E., Reed, G.A., Mccarson, K.E., 2008. Decreased brain docosahexaenoic acid content produces neurobiological effects associated with depression: interactions with reproductive status in female rats. *Psychoneuroendocrinology* 33, 1279–1292.
- Lima, M.M.S., Braga Reksidler, A., Marques Zanata, S., Bueno Machado, H., Tufik, S., Vital, M.A., 2006. Different parkinsonism models produce a time-dependent induction of COX-2 in the substantia nigra of rats. *Brain Res.* 1101, 117–125.
- Lucki, I., 1997. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav. Pharmacol.* 8, 523–532.
- Machado, R.B., Tufik, S., Suchecki, D., 2008. Chronic stress during paradoxical sleep deprivation increases paradoxical sleep rebound: association with prolactin plasma levels and brain serotonin content. *Psychoneuroendocrinology* 33, 1211–1224.
- Martinowich, K., Lu, B., 2008. Interaction between BDNF and serotonin: role in mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 33, 73–83.
- Mcnamara, R.K., Able, J., Liu, Y., Jandacek, R., Rider, T., Tso, P., Lipton, J.W., 2009. Omega-3 fatty acid deficiency during perinatal development increases serotonin turnover in the prefrontal cortex and decreases midbrain tryptophan hydroxylase-2 expression in adult female rats: dissociation from estrogenic effects. *J. Psychiatr. Res.* 43, 656–663.
- Mcnamara, R.K., Carlson, S.E., 2006. Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 75, 329–349.
- Naliwaiko, K., Araujo, R.L., Da Fonseca, R.V., Castilho, J.C., Andreatini, R., Bellissimo, M.I., Oliveira, B.H., Martins, E.F., Curi, R., Fernandes, L.C., Ferraz, A.C., 2004. Effects of fish oil on the central nervous system: a new potential antidepressant? *Nutr. Neurosci.* 7, 91–99.
- Nestler, E.J., Barrot, M., Dileone, R.J., Eisch, A.J., Gold, S.J., Monteggia, L.M., 2002. Neurobiology of depression. *Neuron* 34, 13–25.
- Page, M.E., Detke, M.J., Dalvi, A., Kirby, L.G., Lucki, I., 1999. Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology (Berl.)* 147, 162–167.
- Pazos, A., Cortes, R., Palacios, J.M., 1985. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res.* 346, 231–249.
- Popa, D., Cerdan, J., Reperant, C., Guiard, B.P., Guilloux, J.P., David, D.J., Gardier, A.M., 2010. A longitudinal study of 5-HT outflow during chronic fluoxetine treatment using a new technique of chronic microdialysis in a highly emotional mouse strain. *Eur. J. Pharmacol.* 628, 83–90.
- Porsolt, R.D., Le Pichon, M., Jalfre, M., 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266, 730–732.
- Riemer, S., Maes, M., Christophe, A., Rief, W., 2009. Lowered omega-3 PUFAs are related to major depression, but not to somatization syndrome. *J. Affect Disord.* 123, 173–180.
- Romero, L., Artigas, F., 1997. Preferential potentiation of the effects of serotonin uptake inhibitors by 5-HT_{1A} receptor antagonists in the dorsal raphe pathway: role of somatodendritic autoreceptors. *J. Neurochem.* 68, 2593–2603.
- Ross, B.M., 2007. Omega-3 fatty acid deficiency in major depressive disorder is caused by the interaction between diet and a genetically determined abnormality in phospholipid metabolism. *Med. Hypotheses* 68, 515–524.
- Ruf, B.M., Bhagwagar, Z., 2009. The 5-HT_{1B} receptor: a novel target for the pathophysiology of depression. *Curr. Drug Targets* 10, 1118–1138.
- Santiago, R.M., Barbiero, J., Lima, M.M., Dombrowski, P.A., Andreatini, R., Vital, M.A., 2010. Depressive-like behaviors alterations induced by intranigral MPTP, 6-OHDA, LPS and rotenone models of Parkinson's disease are predominantly associated with serotonin and dopamine. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 34, 1104–1114.
- Savitz, J., Lucki, I., Drevets, W.C., 2009. 5-HT_{1A} receptor function in major depressive disorder. *Prog. Neurobiol.* 88, 17–31.
- Serrats, J., Mengod, G., Cortes, R., 2005. Expression of serotonin 5-HT_{2C} receptors in GABAergic cells of the anterior raphe nuclei. *J. Chem. Neuroanat.* 29, 83–91.
- Sharp, T., Boothman, L., Raley, J., Queree, P., 2007. Important messages in the 'post': recent discoveries in 5-HT neurone feedback control. *Trends Pharmacol. Sci.* 28, 629–636.
- Svenningsson, P., Chergui, K., Rachleff, I., Flajolet, M., Zhang, X., El Yacoubi, M., Vaugeois, J.M., Nomikos, G.G., Greengard, P., 2006. Alterations in 5-HT_{1B} receptor function by p11 in depression-like states. *Science* 311, 77–80.
- Ulak, G., Mutlu, O., Tanyeri, P., Komsuoglu, F.I., Akar, F.Y., Erden, B.F., 2010. Involvement of serotonin receptor subtypes in the antidepressant-like effect of TRIM in the rat forced swimming test. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 95, 308–314.
- Venna, V.R., Deplanque, D., Allet, C., Belarbi, K., Hamdane, M., Bordet, R., 2009. PUFA induce antidepressant-like effects in parallel to structural and molecular changes in the hippocampus. *Psychoneuroendocrinology* 34, 199–211.
- Wang, Q.P., Ochiai, H., Nakai, Y., 1992. GABAergic innervation of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat studied by electron microscopy double immunostaining. *Brain Res. Bull.* 29, 943–948.
- Wegener, G., Bandpey, Z., Heiberg, I.L., Mork, A., Rosenberg, R., 2003. Increased extracellular serotonin level in rat hippocampus induced by chronic citalopram is augmented by subchronic lithium: neurochemical and behavioural studies in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* 166, 188–194.
- Wieland, S., Lucki, I., 1990. Antidepressant-like activity of 5-HT_{1A} agonists measured with the forced swim test. *Psychopharmacology (Berl.)* 101, 497–504.
- Yu, H., Chen, Z., 2011. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neuronal circuitry. *Acta Pharmacologica Sinica* 32, 3–11.
- Zomkowski, A.D.E., Rosa, A.O., Lin, J., Santos, A.R.S., Calixto, J.B., Rodrigues, A.L.S., 2004. Evidence for serotonin subtypes involvement in agmatine antidepressant-like effect in the mouse forced swimming test. *Brain Res.* 1023, 253–263.

CONCLUSÕES

Analisando os resultados obtidos neste trabalho, podemos concluir que os objetivos propostos inicialmente foram plenamente alcançados, a saber:

A suplementação com AGPIs n-3 nas fases iniciais e críticas do desenvolvimento do SNC (gestação e lactação) foi hábil em induzir o efeito antidepressivo sobre o comportamento em ratos aos 90 dias de vida submetidos ao teste de NFM. Esta afirmativa é fundamentada nos dados da avaliação dos comportamentos imobilidade e natação, onde os animais suplementados com óleo de peixe apresentaram diminuição da frequência de imobilidade e aumento na frequência de natação no teste de NFM em comparação com os animais controle.

No teste do campo aberto a ausência de resultados entre os grupos suplementados e controle exclui a possibilidade de falsos positivos, validando os resultados encontrados no teste da NFM, além de descartar a hipótese de que o óleo de peixe possa interferir no comportamento motor do animal.

A administração de duas drogas que interferem no sistema serotoninérgico, uma inibindo a enzima da biossíntese da 5-HT e a outra antagonizando o receptor 5-HT_{1A}, resultou na reversão dos efeitos antidepressivos induzidos pelo óleo de peixe sobre os comportamentos de natação e imobilidade no teste de NFM nos animais de 90 dias, o que sugere um envolvimento desse sistema de neurotransmissores, provavelmente através da mediação pela ativação dos receptores 5-HT_{1A} sobre o efeito antidepressivo do óleo de peixe.

O aumento da expressão de BDNF no córtex cerebral e hipocampo dos ratos do grupo OP, detectado tanto aos 21 quanto aos 90 dias de idade, sugere uma relação com o efeito antidepressivo desencadeado pelo óleo de peixe.

O efeito benéfico dos AGPIs n-3 (DHA e EPA) administrados em fases críticas do desenvolvimento do sistema nervoso central pode ser importante ao adequado funcionamento serotoninérgico e neurotrófico, proporcionando neuroproteção na vida adulta, o que ficou demonstrado em ratos aos 90 dias de idade.

REFERÊNCIAS

- Aan het ROT, M.; MATHEW, S. J.; CHARNEY, D. S. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. Review. **CMAJ**, v.180, n.3, p.305-313, 2009.
- ADAMS, P. B.; LAWSON, S.; SANIGORSKI, A.; SINCLAIR, A. J. Arachidonic acid to eicosapentaenoic acid ratio in blood correlates positively with clinical symptoms of depression. **Lipids**, v. 31, p.157–161, 1996.
- AHMAD, A.; MORIGUCHI, T.; SALEM, N. Jr. Decrease in neuron size in docosahexaenoic acid–deficient brain. **Pediatr Neurol**, v.26, p.210-18, 2002.
- AIRES, M. M., **Fisiologia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- ALBERT, P. R.; ZHOU, Q. Y.; VAN TOL, H. H. M.; BUNZOW, J. R.; CIVELLI, O. Cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of the rat 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor gene. **J Biol Chem**, v.265, p.5825-5832, 1990.
- ALBERT, P. R.; FRANÇOIS, B. L. Modifying 5-HT_{1A} receptor gene expression as a new target for antidepressant therapy. **Front Neurosci**, v.4, p.35, 2010.
- ALBERT, P. R.; FRANÇOIS, B. L.; MILLAR, A. M. Review. Transcriptional dysregulation of 5-HT_{1A} autoreceptors in mental illness. **Mol Brain**, v.4, p.21, 2011.
- ALCOCER, M. I. L-I. **Mecanismos serotoninérgicos in el trastorno obsesivo-compulsivo. Relacion con la co-morbilidad. Estudio neuroendocrino y de flujo sanguíneo cerebral**. 325f. Tese (Doutorado em Medicina e Cirurgia). Departamento de Psiquiatria y Psicología Médica. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, 1994.
- ALTAR, C. A.; WHITEHEAD, R. E.; CHEN, R.; WORTWEIN, G.; MADSEN, T. M. Effects of electroconvulsive seizures and antidepressant drugs on brain-derived neurotrophic factor protein in rat brain. **Biol Psych**, v.54, p.703-709, 2003.
- American Psychiatry Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. DSM-IV. 4.ed. Washington: **Am Psych Press**, 1994.
- AMIN, A. H.; CRAWFORD, T. B. B.; GADDUM, J. H. The distribution of substance p and 5-hydroxytryptamine in the central nervous system of the dog. **J Physiol**, v.126, p.596-618, 1954.
- ANDRADE, R.; MALENKA, R. C.; NICHOLL, R. A. A G-protein coupled serotonin and GABAB receptors to the same channel in hippocampus. **Science**, v.234, p.1261-1265, 1986.

ASBERG, M.; TRASKMAN, L.; THOREN, P. 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? **Arch Gen Psych**, v.33, p.1193-7, 1976.

ATTAR-BASHI, N.; SINCLAIR, A. J. DHA is a building block for the brain. 2004. Review unpublished. DHA update issue 1. Disponível em: www.nu-mega.com/public_downloads. Acesso em: 10/09/2011.

AZMITIA, E. C.; SEGAL, M. An autoradiographic analysis of differential ascending projections of the dorsal and medial raphe nuclei in the rat. **J Comp Neurol**, v.179, p.641-667, 1978.

AZMITIA, E. C.; WHITAKER-AZMITIA, P. M. Development and adult plasticity of serotonergic neurons and their target cells. In: BAUMGARTEN, H. G.; GOTHERT, M. (Eds.) **Handbook of Experimental Pharmacology**. Berlin: Springer, 1997. p.p. 1–39.

AZMITIA, E. C. Serotonin neurons, neuroplasticity and homeostasis of neural tissue. **Neuropsychopharm**, v.21, n.2s, p.33S – 45S, 1999.

AZMITIA, E. C. Modern views on an ancient chemical: serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. **Brain Res Bul**, v.56, n.5, p.413-424, 2001.

BALU, D.T.; HOSHAW, B. A.; MALBERT, J. E., ROSENZWEIG-LIPSON, S.; SCHECHTER, L. E.; LUCKI, I. Differential regulation of central BDNF protein levels by antidepressant and non-antidepressant drug treatments. **Brain Res**, v.1211, p.37-43, 2008.

BARNES, N. M.; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharm**, v.8, p.1083-1152, 1999.

BAUMEISTER, A. A ; HAWKINS, M. K. El papel de la “serendipity” en la ontogenia de la moderna psicofarmacología. In: LÓPEZ-MUÑOZ, F.; ALAMO, C. (Eds) **Historia de la Psicofarmacología. La consolidación de la psicofarmacología como disciplina científica: aspectos éticolegales y perspectivas de futuro**. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2007. p.p.1525-38.

BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica Médica**. São Paulo: Manole, 2000.

BENES, F. M.; TAYLOR, J. B.; CUNNINGHAM, M. C. Convergence and plasticity of monoaminergic systems in the medial prefrontal cortex during the postnatal period: implications for the development of psychopathology. Review. **Cereb Cortex**, v.10, n.10, p.1014-27, 2000.

BERGER, M.; GRAY, J. A ; ROTH, B. L. The expanded biology of serotonin. **Annu Rev Med**, v.60, p.355-366, 2009.

BERMAN, R. M.; NARASIMHAN, M.; MILLER, H. L.; ANAND, A ; CAPPIELLO, A . OREN, D. A ; HENINGER, G. R.; CHARNEY, D. S. Transient Depressive Relapse

Induced by Catecholamine Depletion Potential Phenotypic Vulnerability Marker? **Arch Gen Psych**, v.56, p.395-403, 1999.

BERTRAND, P. C.; O'KUSKY, J. R.; INNIS, S. M. Maternal dietary n-3 fatty acid deficiency alters neurogenesis in the embryonic rat brain. **J Nutr**, v.136, p.1570-1575, 2006.

BLAKELY, R. D.; DE FELICE, L. J.; HARTZELL, H. C. Molecular physiology of norepinephrine and serotonin transporters. Review. **J Exp Biol**, v.196, p.263-81, 1994.

BLIER, P.; de MONTIGNY, C. Current advances and trends in the treatment of depression. **Trends Pharm Sci**, v.15, p.220-6, 1994.

BLIER, P.; de MONTIGNY, C. Electrophysiological investigation of the adaptative response of the 5-HT system to the administration of 5-HT_{1A} receptor agonists. **J Cardio Pharm**, v.15, n.7, p.S42-8, 1995.

BOCKAERT, J.; CLAEYSEN, S.; BECAMEL, C.; DUMUIS, A.; MARIN, P. Neuronal 5-HT metabotropic receptors: fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation. **Cell Tis Res**, v.326, p.553-572, 2006.

BODNAR, L. M.; WISNER, K. L. Nutrition and depression: implications for improving mental health among childbearing-aged women. **Biol Psych**, v.58, p.679-685, 2005.

BOGDANSKI, D. F.; WEISSBACH, H.; UNDERFRIEND, S. The distribution of serotonin, 5-hydroxytryptophan decarboxylase, and monoamine oxidase in brain. **J Neuroch**, v.1, p.272-278, 1957.

BOMAN, B. L-tryptophan: a rational antidepressant and a natural hypnotic? Review. **Aust N Z J Psych**, v.22, n.1, p.83-97, 1988.

BORDUKALO-NIKSIC', T.; MOKROVIC', G.; JERNEJ, B.; CICIN-SAIN, L. Expression of 5HT-1A and 5HT-1B Receptor Genes in Brains of Wistar-Zagreb 5HT Rats. **Coll Antropol**, v.32, n.1, p.37-41, 2008.

BOROWSKY, B.; HOFFMAN, B. J. N. Neurotransmitter transporters: Molecular biology, function and regulation. **Int Rev Neurobiol**, v.38, p.139-199, 1995.

BORSONELO, E. C.; GALDUROZ, J. C. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in development, aging and substance abuse disorders: review and propositions. **Prostagl Leukot Essent Fatty Acids**, v.78, p.237-45, 2008.

BOURRE, J. M. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during ageing. **J Nutr Health Ag**, v.8, n.3, p.163-74, 2004.

BOURRE, J. M. Dietary omega-3 fatty acids for women. **Biomed Pharmacother**, v.61, p.105-112, 2007.

BRENNAN, J. T. Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v.5, n.2, p.127–132, 2002.

BROADHURST, P. L. Experiments in psychogenetics. In: EINSENK, H.J. (Ed.) **Experiments in Personality**. London: Routledge and Kegan Paul, 1960. p.p. 52-71.

BRODIE, B. B.; SHORE, P. A. A concept for a role of serotonin and norepinephrine as a chemical mediator in the brain. **Annu NY Acad Sci**, v.66, p.631-642, 1957.

BUHOT, M-C, WOLFF, M.; SEGU. Serotonin. In: RIEDEL, G.L and PLATT, B. **From messengers to molecules: memories are made of these. Neuroscience Intelligence Unit**. Kluwer Academic. New York: Plenum Publishers, 2004, p.p.125-141.

BUNNEY, W.E. Jr.; DAVIS, J. M. Norepinephrine in depressive reactions. **Arch Gen Psych**, v.13, p.483-94, 1965.

CALDER, P. C. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **Am J Clin Nutr**, v.83, p.1505S-1519S, 2006.

CALDERON, F.; KIM, H. Y. Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. **J Neuroch**, V.90, p.979–88, 2004.

CARLSON, S. E. Docosahexaenoic acid and arachidonic acid in infant development. **Seminars in Neonatol**, v.6, p.437-449, 2001.

CARLSON, N. R. **Fisiologia do comportamento**. 7.ed. São Paulo: Manole, 2002.

CARLSSON, A.; FUXE, K.; UNGERSTEDT, U. The effect of imipramine on central 5-hydroxytryptamine neurons. **J Pharm Pharmacol**, v.20, p.150-1, 1968.

CARRIÉ, I.; CLÉMENT, M.; JAVEL, D.; FRANCÈS H.; BOURRE J-M. Specific phospholipid fatty acid composition of brain regions in mice: effects of n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and phospholipid supplementation. **J Lipid Res**, v.41, p.465-472, 2000.

CELADA, P.; PUIG, M. V.; BOSCH, M. A; ADELL, A; ARTIGAS, F. The therapeutic role of 5-HT1A and 5-HT2A receptors in depression. **J Psych Neurosci** v.29, n.4, p.252-65, 2004.

CERVO, L.; GRIGNASCHI, G.; ROSSI, C.; SAMANIN, R. Role of central serotonergic neurons in the effect of sertraline in rats in the forced swimming test. **Eur J Pharm**, v.196, p.217-222, 1991.

CHALMERS, D. T.; WATSON, S. J. Comparative anatomical distribution of 5-HT_{1A} receptor mRNA and 5-HT_{1A} binding in rat brain – a combined in situ hybridisation/in vitro receptor autoradiographic study. **Brain Res**, v.561, p.51-60, 1991.

CHALON, S. Omega 3 fatty acids and monoamine neurotransmission. **Prostagl Leukot Essent Fatty Acids**. v.75, p.259–69, 2006.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica Ilustrada**. 2.ed. São Paulo: Artmed, 2002.

CHARNEY, D. S.; MENKES, D. B.; HENINGER, G. R. Receptor sensitivity and the mechanism of action of antidepressant treatment. **Arch Gen Psych**, v.38, n.10, p.1160-1180, 1981.

CHARNEY, D. S.; MANJI, H. K. Life stress, genes and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention. **Sci STKE**, v.5, p.225, 2004.

CHEN, Y.; PALM, F.; LESCH, K-P.; GERLACH, M.; MOESSNER, R.; SOMMER, C. 5-hydroxyindolacetic acid (5-HIAA), a main metabolite of serotonin, is responsible for complete Freund's adjuvant-induced thermal hyperalgesia in mice. **Molec Pain**, v.7, p.21, 2011.

CHIU, C-C.; LIU, J. P.; SU, K-P. The use of omega-3 fatty acids in treatment of depression. **PsychTimes**, v.25, p. 9, 2008.

CHOI, K. D.; AHN, S. B.; OH, Y. K.; RHIM, K. S.; MOON, B. Y. An autoradiographic study on metabolism of serotonin in cerebral nerves cells using 5-Hydroxytryptophan-C¹⁴. **Yonsei Med J**, v.8, 1967.

CHYTROVA, G.; YINGA, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Exercise contributes to the effects of DHA dietary supplementation by acting on membrane-related synaptic systems. **Brain Res**, v.1341, p. 32–40, 2010.

CLANDININ, M. T.; CHAPPELL, J. E.; LEONG. S.; HEIM T.; SWYER, P. R.; CHANCE, G. W. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. **Early Hum Dev**, v.4, p.121–9, 1980(a).

CLANDININ, M. T.; CHAPPELL, J. E.; LEONG. S.; HEIM, T.; SWYER, P. R.; CHANCE, G. W. Extrauterine fatty acid accretion in infant brain: implications for fatty acid requirements. **Early Hum Dev**, v.4, p.131–8, 1980(b).

CLARK, M. S.; NEUMAIER, J. F. The 5-HT_{1B} receptor: behavioral implications. **Psychopharm Bull**, v.35, p.170-185, 2001.

CLARK, M. S.; MCDEVITT, R.A.; NEUMAIER, J. F. Quantitative mapping of tryptophan hydroxylase-2, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} e serotonin transporter expression

across the anteroposterior axis of the rat dorsal and median raphe nuclei. **J Comp Neurol**, v.498, p.611–623, 2006.

COLANGELO, L. A.; HE, K.; WHOOLEY, M. A.; DAVIGLUS, M.; LIU, K. Higher dietary intake of long-chain w-3 polyunsaturated fatty acids is inversely associated with depressive symptoms in womem. **Nutr**, v.25, p.1011-1019, 2009.

CONTRERAS, M. A.; RAPOPORT, S. I. Recent studies on interactions between n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in brain and other tissues. **Curr Opin Lipids**, v.13, p.267–272, 2002.

COPPEN, A.; SHAW, D. M.; FARRELL, J. P. Potentiation of the antidepressive effect of a monoamine-oxidase inhibitor by tryptophan. **Lancet**, v.1, n.7272, p.79-81, 1963.

COPPEN, A. The biochemistry of affective disorders. **Br J Psych**, v.113, p. 1237-64, 1967.

COPPEN, A.; PRANGE, A.; WHYBROW, P.; NOGUERA, R. Abnormalities of indoleamines in affective disorders. **Arch Gen Psych**, v.26, p.474, 1972.

COPPEN, A.; ROWSELL, A. R.; TURNER, P.; PADGHAM, C. 5-Hydroxytryptamine (5-HT) in the whole-blood of patients with depressive illness. **Postgr Med J**, v.52, p.156-158, 1976.

CREMERS, T. I.; REA, K.; BOSKER, F. J.; WIKSTROM, H. V.; HOGG, S.; MORK, A., WESTERINK, B. H. Augmentation of SSRI effects on serotonin by 5-HT_{2C} antagonists: mechanistic studies. **Neuropsychopharm**, v.32, p.1550-1557, 2007.

CRYAN, J. F.; PAGE, M. E.; LUCKI, I. Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test. **Eur J Pharm**, v.436, p.197-205, 2002.

CRYAN, J. F.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neurosci Biobehav Rev**, v.29, p.547-569, 2005.

Da SILVA, T. M.; MUNHOZ, R. P.; ALVAREZ, C.; NALIWAIKO, K.; KISS, A.; ANDREATINI, R.; FERRAZ, A. C. Depression in Parkinson's disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study of omega-3 fatty acid supplementation, **J Affect Disord**, v.111, p.351-359, 2008.

DAHLSTROM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. **Acta Physiol Scand**, v.62, (S232), p.1–55, 1964.

DAVIDSON, J.; SJOERDSMA, A.; LOOMIS, L. N.; UDENFRIEND, S. Studies with the serotonin precursor, 5-hydroxy-tryptophan, in experimental animal and man. **J Clin Invest**, v.36, n.11, p.1594–1599, 1957.

DAVIDSON, C.; HO, M.; PRICE, G. W.; JONES, B. J.; STAMFORD, J. A. (+-) WAY 100135, a partial agonist, at native and recombinant 5-HT_{1B/1D} receptors. **Br J Pharm**, v.121, p.737-742, 1997.

DEAKIN, J. F.; PENNELL, I.; UPADHYAYA, A. J.; LOFTHOUSE, R., A neuroendocrine study of 5-HT function in depression: evidence for biological mechanisms of endogenous and psychosocial causation. **Psychopharm**, v.101,p.85-92, 1990.

DEL OLMO, E.; LÓPEZ-GIMÉNEZ, J. F.; VILARÓ, M. T.; MENGOD, G.; PALACIOS, J. M., PAZOS, A. Early localization of mRNA coding for 5-HT_{1A} receptors in human brain during development. **Mol Brain Res**, v.60, p.123–126, 1998.

DELION, S.; CHALON, S.; GUILLOTEAU, D.; LEJEUNE, B.; BESNARD, J. C.; DURAND, G. Age-related changes in phospholipid fatty acid composition and monoaminergic neurotransmission in the hippocampus of rats fed a balanced or an n-3 polyunsaturated fatty acid-deficient diet. **J Lipid Res**, v. 38, p.680-689, 1997.

DEMAR, J. C.; KIAZONG, M.; BELL, J. M.; IGARASHI, M.; GREENSTEIN, D.; RAPOPORT, S. I. One generation of n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation increases depression and aggression test scores in rats. **J Lipid Res**, V.47, p.172-180, 2006.

DETKE, M. J.; RICKELS, M.; LUCKI, I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. **Psychopharm**, v.121, p.66-72, 1995.

DE VRIESE, S. R. **Essential fatty acids and pregnancy**. Tese (Doutorado em Ciências Médicas)- Faculty of Medicine and Health Sciences. Ghent University, Belgica, 2003.

DE VRIESE, S. R.; CRISTOPHE, A. B.; MAES, M. Lowered serum n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) levels predict the occurrence of postpartum depression: Further evidence that lowered n-PUFAs are related to major depression. **L Sci**, v.73, p.3181-3187, 2003.

DUMAN, R. S.; HENINGER, G. R.; NESTLER, E. J. A molecular and cellular theory of depression. **Arch Gen Psych**, v.54, n.7, p.597-606, 1997.

DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biol Psych**, v.59, p.1116-27, 2006.

DUNLOP, B. W.; NEMEROFF, C. B. The Role of Dopamine in the Pathophysiology of Depression. **Arch Gen Psych**, v.64, p.327-337, 2007.

EATON, M. J.; GUDEHITHLU, K. P.; QUACH, T.; SILVA, C. P.; HADJI-CONSTANTINOU, M.; NEFF, N. H. Distribution of aromatic L-amino acid

decarboxylase mRNA in mouse brain by in situ hybridization histology. **J Comp Neurol**, v.337, n.4, p.640-54, 1993.

EDWARDS, R.; PEET, M.; SHAY, J.; HORROBIN, D. Omega-3 polyunsaturated fatty acid levels in the diet and in red blood cell membranes of depressed patients. **J Affect Disord**, v.48, n. 2-3, p.149-155, 1998.

EILANDER, A.; HUNDSCHIED, D. C.; OSENDARP, S. J.; TRANSLER, C.; ZOCK, P. L. Effects of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation on visual and cognitive development throughout childhood: a review of human studies. **Prostagl Leukot Essent Fatty Acids**, v.76, p.189-203, 2007.

ELFVING, B.; PLOUGMANN, P. H.; WEGENER, G. Detection of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rat blood and brain preparations using ELISA: pitfalls and solutions. **J Neurosci Methods** v.187, p.73-7, 2010.

ERSPAMER, V.; ASERO, B. Identification of Enteramine, the Specific Hormone of the Enterochromaffin Cell System, as 5-Hydroxytryptamine. **Nature**, v.169, p.800-801, 1952.

FARKAS, E.; WILDE, M. C.; KILIAAN, A. J.; MEIJER, J.; KEIJSER J. N.; LUITEN, P. G. M. Dietary long chain PUFAs differentially affect hippocampal muscarinic 1 and serotonergic 1A receptors in experimental cerebral hypoperfusion. **Brain Res**, v. 954, p. 32-41, 2002.

FAROOQUI, A. A.; HORROCKS, L. A.; FAROOQUI, T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, function, and involvement in neurological disorders. **Chem Phys Lipids**, v.106, p.1-29, 2000.

FEDOROVA, I.; SALEM JR., N. Omega-3 fatty acids and rodent behavior. **Prostagl Leukot Essent Fatty Acids**, v.75, p.271-289, 2006.

FERRAZ, A. C.; KISS, A.; ARAÚJO, R. L. F.; SALLES, H. M. R.; NALIWAIKO, K.; PAMPLONA, J.; MATHEUSSI, F. The antidepressant role of dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids in two phases in the developing brain. **Prostagl, Leukot Essent Fatty Acids**, v.78, p.183-188, 2008.

FERRAZ, A. C.; DELATRE, A. M.; ALMENDRA, R. G., SONAGLI, M., BORGES, C.; ARAUJO, P., ANDERSEN, M.; TUFIK, S.; LIMA, M. M. S. Chronic omega-3 fatty acids supplementation promotes beneficial effects on anxiety, cognitive and depressive-like behaviors in rats subjected to a restraint stress protocol. **Behav Brain Res**, v.219, p.116-22, 2011.

FREIS, E. D. Mental depression in hypertensive patients treated for long periods with large doses of reserpine. **N Engl J Med**, v.251, p.1006-8, 1954.

FREEMAN, M. P.; HIBBELN, J. R.; WISNER, K. L.; DAVIS, J. M.; MISCHOULON, D.; PEET, M.; KECK, P. E.; MARANGELL, L. B.; RICHARDSON, A. J.; LAKE, J.;

STOLL, A. L. Omega-3 fatty acids: evidence basis for treatment and future research in psychiatry. **J Clin Psych**, v.67, p.1954-67, 2006.

FRODL, T.; SCHÜLE, C.; SCHMIDT, G.; BORN, C.; BAGHAI, T.; ZILL, P.; BOTTLENDER, R.; RUPPRECHT, R.; BONDY, B.; REISER, M.; HANS-JÜRGEN, M.; MEISENZAHN, E. M. Association of the Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met Polymorphism With Reduced Hippocampal Volumes in Major Depression. **Arch Gen Psych**, v.64, p.410-416, 2007.

GADDUM, J. H. Tryptamine receptors. **J Physiol**, v.119, p.363-368, 1953.

GADDUM, J. H.; PICARELLI, Z. P. Two kinds of tryptamine receptor. **Brit J Pharm**, v.12, p.323, 1957.

GALLAGER, D. W.; AGHAJANIAN, G. K. Effect of antipsychotic drugs on the firing of dorsal raphe cells. II. Reversal by picrotoxin. **Eur J Pharm**, v.39, p.357-364, 1976.

GARDIER, A. M.; DAVID, D. J.; JEGO, G.; PRZYBYLSKI, C.; JACQUOT, C.; DURIER, S.; GRUWEZ, B.; DOUVIER, E.; BEAUVÉRIE, P.; POISSON, N.; HEN, R.; BOURIN, M. Effects of chronic paroxetine treatment on dialysate serotonin in 5-HT_{1B} receptor knockout mice. **J. Neurochem**, v.86, p.13-24, 2003.

GARDIER, A. M. Mutant mouse models and antidepressant drug research: focus on serotonin and brain-derived neurotrophic factor. Review. **Behav Pharm**, v.20, p.18-32, 2009.

GARLAND, M. R.; HALLAHAN, B.; McNAMARA, M.; CARNEY, P. A.; GRIMES, H.; HIBBELN, J. R.; HARKIN, A.; CONROY, R. M. Lipids and essential fatty acids in patients presenting with self-harm. **B J Psych**, v.190, p.112-7, 2007.

GASPAR, P.; CASES, O.; MAROTEAUX, L. The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. **Nat Rev Neurosci**, v.4, p.1002-1012, 2003.

GERSTER, H. Can adults adequately convert α -linolenic acid (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)? **Int J Vit Nutr Res**, v.68, n.3, p.159-173, 1998.

GHAVAMI, A.; STARK, K. L.; JAREB, M.; RAMBOZ, S.; SEGU, L.; HEN, R. Differential addressing of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in epithelial cells and neurons. **J Cell Sci**, v.112, p.967-976, 1999.

GLOWINSKI, J.; AXELROD, J. Inhibition of uptake of tritiated noradrenaline in the intact rat brain by imipramine and structurally related compounds. **Nature**, v.204, p.1318-9, 1964.

GÓMES-PINILLA, F. Brain foods: the effects of nutrients on brain function. **Sci Soc**, v.9, p.568-578, 2008.

GOODWIN, P. K.; BUNNEY, W. E. Depression following reserpine: a reevaluation. **Semin Psych**, v.3, p.435-48, 1971.

GRAEFF, F. G; GUIMARÃES, F. S.; ANDRADE, T. G. C. S.; DEAKIN, J. F. W. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. **Pharm Biochem Behav**, v.54, n.1, p. 129-141, 1996.

GRAHAME-SMITH, D. G. Tryptophan hydroxylation in brain. **Biochem Biophys Res Commun**, v.16, n.6, p.586-92, 1964.

GROSS, C.; ZHUANG, X.; STARK, K.; RAMBOZ, S.; OOSTING, R.; KIRBY, L.; SANTARELLI, L.; BECK, S.; HEN, R. Serotonin1A receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. **Nature**, v.416, p.396–400, 2002.

GUNDLAH, C.; HJORTH, S.; AUERBACH, S. B. Autoreceptor antagonists enhance the effect of the reuptake inhibitor citalopram on extracellular 5-HT: this effect persists after repeated citalopram treatment. **Neuropharm**, v.36, p.475-482, 1997.

GUNTHER, L.; ROTHE, J.; REX, A.; VOIGT, J. P.; MILLAN, M. J.; FINK, H., BERT, B. 5-HT(1A)-receptor over-expressing mice: genotype and sex dependent responses to antidepressants in the forced swim-test. **Neuropharm**, v.61, n.3, p.433-41, 2011.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Fisiologia Médica**. 10.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2002.

HAJOS-KORCSOK, E.; MCTAVISH, S. F.; SHARP, T. Effect of a selective 5-hydroxytryptamine reuptake inhibitor on brain extracellular noradrenaline: microdialysis studies using paroxetine. **Eur J Pharm**, v.407, p.101-107, 2000.

HALL, R. A.; PREMONT, R. T.; LEFKOWITZ, R. J. Heptahelical receptor signaling: beyond the G protein paradigm. **J Cell Biol**, v.145,p.927–932, 1999.

HANNON, J.; HOYER, D. Molecular biology of 5-HT receptors. **Behav Brain Res**, v.195, p.198-213, 2008.

HARKIN, A.; CONNOR, T. J.; WALSH, M.; ST JOHN, N.; KELLY, J. P. Serotonergic mediation of the antidepressant-like effects of nitric oxide synthase inhibitors. **Neuropharm**, v.44, p.616-623, 2003.

HASHIMOTO, M.; HOSSAIN, S.; SHIMADA, T.; SHIDO, O. Docosahexaenoic acid-induced protective effect against impaired learning in amyloid beta-infused rats is associated with increased synaptosomal membrane fluidity. **Clin Exp Pharm Physiol**, v.33, p.934–939, 2006.

HASHIMOTO, K. Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: An historical overview and future directions. Review **Psych Clin Neurosc**, v.64, p.341–357, 2010.

HENINGER, G. R.; DELGADO, P. L.; CHARNEY, D. S. The revised monoamine theory of depression: a modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. **Pharmacopsych**, v.29, n.1, p.2-11, 1996.

HENSLER, J.; DURGAM, H. Regulation of 5-HT_{1A} receptor-stimulated [³⁵S]-GTPγS binding as measured by quantitative autoradiography following chronic agonist administration. **Br J Pharm**, v.132, p.605 ± 611, 2001.

HERVAS, I.; QUEIROZ, C. M.; ADELL, A.; ARTIGAS, F. Role of uptake inhibition and autoreceptor activation in the control of 5-HT release in the frontal cortex and dorsal hippocampus of the rat. **Br J Pharm**, v.130, p.160-166, 2000.

HIBBELN, J. R.; SALEM Jr, N. Dietary polyunsaturated fatty acids and depression: when cholesterol does not satisfy. **Am J Clin Nutr**, v.62, p.1-9, 1995.

HIBBELN, J. R. Fish consumption and major depression. **Lancet**, v.351, p.1213, 1998.

HIBBELN, J. R.; UMHAU, J. C.; LINNOILA, M.; GEORGE, D. T.; RAGAN, P. W.; SHOAF, S. E.; VAUGHAN, M. R.; RAWLINGS, R.; SALEM Jr, N. A replication study of violent and nonviolent subjects: cerebrospinal fluid metabolites of serotonin and dopamine are predicted by plasma essential fatty acids. **Biol Psych**, v.44, p.243-249, 1998.

HOKFELT, T.; FUXE, K.; GOLDSTEIN, M. Immunohistochemical localization of aromatic L-amino acid decarboxylase (dopa decarboxylase) in central dopamine and 5-hydroxytryptamine nerve cell bodies of the rat. **Brain Res**, v.53, p.175-80, 1973.

HOLTJE, M.; von JAGOW, B.; PAHNER, I.; LAUTENSCHLAGER, M.; HORTNAGL, H.; NURNBERG, B.; JAHN, R.; AHNERT-HILGER, G. The Neuronal Monoamine Transporter VMAT2 Is Regulated by the Trimeric GTPase Go2. **J Neurosc**, v.20, n.6, p.2131–2141, 2000.

HORNUNG, J. P. The neuroanatomy of the serotonergic system. **Handbook of Behav Neurosci**, v.21, p.51-64, 2010.

HORROCKS, L. A.; FAROOQUI, A. A. Docosahexaenoic acid in the diet: its importance in maintenance and restoration of neural membrane function. **Prostagl Leukot Essent Fatty Acid**, v.70, p.361–372, 2004.

HOYER, D.; CLARKE, D. E.; FOZARD, J. R.; HARTIG, P. R.; MARTIN, G. R.; MYLECHARANE, E. J.; SAXENA, P. R.; HUMPHREY, P. P. International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). **Pharm Rev**, V.46, N.2, p.157-203, 1994.

HOYER, D; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharm Bioch Behav**, v.71, p.533-54, 2002.

HUAN, M.; HAMAZAKI, K.; SUN, Y.; ITOMURA, M.; LIU, H.; KANG, W.; WATANABE, S.; TERASAWA, K.; HAMAZAKI, T. Suicide attempt and n-3 fatty acid levels in red blood cells: a case control study in China. **Biol Psych**, v.56, p.490-6, 2004.

HULBERT, A. J.; TURNER, N.; STORLIEN, L. H.; ELSE, P. L. Dietary fats and membrane function: implication and metabolism disease. **Biol Rev**, v.80, p.155-169, 2005.

INNIS, S. M. The role of dietary n-6 and n-3 fatty acids in the developing brain. **Dev Neurosci**, v.22, p.474-480, 2000.

INNIS, S. M. Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. **J Pediatr**, v.143, p.51-58, 2003.

INNIS, S. M. Essential fatty acid metabolism during early development. In: **Biology of Metabolism in Growing Animals**. Burrin (Ed), Amsterdam: Elsevier Science, v. 3, p.p. 235–74, 2005.

INNIS, S. M. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. **J Nutr**, v.137, p.855–859, 2007.

JACOBS, B. L.; AZMITIA, E. C. Structure and function of the brain serotonin system. **Physiol Rev**, v.72, p.165–229, 1992.

JACOBS, B. L.; FORNAL, C. A. Activity of Serotonergic Neurons in Behaving Animals. **Neuropsychopharm**, v.21, n.2, p.9-15, 1999.

JACOBS, B. L.; van PRAAG, H.; GAGE, F. H. Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. **Mol Psych**, v.5., n.3, p.262-9, 2000.

JACOBSEN, J. P.; MORK, A. The effect of escitalopram, desipramine, electroconvulsive seizures and lithium on brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the rat brain and the correlation to 5-HT and 5-HIAA levels. **Brain Res**, v.1024, p.183-192, 2004.

JENSEN, C. L. Effects of n–3 fatty acids during pregnancy and lactation. **Am J of Clin Nutr**, v.83, (suppl), p.1452S-7S, 2006.

JORGENSEN, H. S. Studies on the neuroendocrine role of serotonin, Review. **Dan Med Bull**, v.54, p.266-88, 2007.

JOVANOVIC, H. **Pet evaluation of central serotonergic neurotransmission in women**. 44 f. Tese (Doutorado)- Departament of Clinical Neuroscience. Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden, 2008.

KAN, I.; MELAMED, E.; OFFEN, D.; GREEN, P. Docosahexaenoic acid and arachidonic acid are fundamental supplements for the induction of neuronal differentiation. **J Lipid Res**, v.48, p.513-517, 2007.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara e Koogan, 2005.

KECK, M. E.; SARTORI, S. B.; WELT, T.; MULLER, M. B.; OHL, F.; HOLSBOER, F.; LANDGRAF, R.; SINGEWALD, N. Differences in serotonergic neurotransmission between rats displaying high or low anxiety/depression-like behaviour: effects of chronic paroxetine treatment. **J Neurochem**, v.92, p.1170-1179, 2005.

KIM, H. Y. Novel metabolism of docosahexaenoic acid in neural cells. **J Biol Chem**, v.282, p.18661–18665, 2007.

KLEIN, A. B. **Brain-Derived neurotrophic factor (BDNF) Interactions with serotonergic systems and its potential as a biomarker in neurological and neuropsychiatric diseases**. 114f. Tese (Pós-Doutorado)- Faculty of Health Sciences. University of Copenhagen, Copenhagen, 2010.

KLEIN, A. B.; SANTINI, M. A.; AZNAR, S.; KNUDSEN, G. M.; RIOS, M. Changes in 5-HT_{2A}-mediated behavior and 5-HT_{2A}- and 5-HT_{1A} receptor binding and expression in conditional brain-derived neurotrophic factor knock-out mice. **Neurosci**, v.169, p.1007-1016, 2010.

KOBILKA, B. K.; FRIELLE, T.; COLLINS, S.; YANG-FENG, T.; KOBILKA, T. S.; FRANCKE, U.; LEFKOWITZ, R. J.; CARON, M. G. An intronless gene encoding a potential member of the family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. **Nature**, v.329, p.75-79, 1987.

KORNUM, B. R.; LICHT C. L.; WEIKOP, P.; KNUDSEN, G. M.; AZNAR, S. Central serotonin depletion affects rat brain areas differently: a qualitative and quantitative comparison between different treatment squemes. **Neurosci Letters**, v.392, p. 129-134, 2006.

KREISS, D. S.; LUCKI, I., Differential regulation of serotonin (5-HT) release in the striatum and hippocampus by 5-HT_{1A} autoreceptors of the dorsal and median raphe nuclei. **J Pharm Exp Ther**, v.269, p.1268–1279, 1994.

KREISS, D. S.; LUCKI, I. Effects of acute and repeated administration of antidepressant drugs on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine measured in vivo. **J Pharm Exp Ther**, v.274, p.866-876, 1995.

LACIVITA, E.; LEOPOLDO, M.; BERARDI, F.; PERRONE, R. 5-HT_{1A} Receptor, an Old Target for New Therapeutic Agents. **Current Topics in Med Chem**, v.8, p.1024-1034, 2008.

LAKHWANI, L.; TONGIA, S. K.; PAL, V. S.; AGRAWAL, R. P.; NYATI, P.; PHADNIS, P. Omega-3 fatty acids have antidepressant activity in forced swimming test in *wistar* rats. **Acta Pol Pharm**, v.64, n.3, p.271-6, 2007.

LANE, M. A.; BAILEY, S. J. Role of retinoid signaling in the adult brain. **Prog Neurobiol**, v.75, p.275–93, 2005.

LANFUMEY, L.; HAMON, M. Central 5-HT(1A) receptors: regional distribution and functional characteristics. Review. **Nucl Med Biol**, v.27, n.5, p.429-35, 2000.

LAPIN, J. P.; OXENKRUG, G. F. Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect. **Lancet**, v.1, p.132-6, 1969.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1998.

LEVANT, B.; OZIAS, M. K.; DAVIS, P. F.; WINTER, M.; RUSSELL, K. L.; CARLSON, S. E.; REED, G. A.; MCCARSON, K. E. Decreased brain docosahexaenoic acid content produces neurobiological effects associated with depression: interactions with reproductive status in female rats. **Psychoneuroendocrin**, v.33, p.1279-1292, 2008.

LEVANT, B. N-3 (Omega-3) Fatty Acids in Postpartum Depression: Implications for Prevention and Treatment. 2011. Review Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/drt/2011/467349/cta/> Acesso em: 17/10/2011.

LICINIO, J.; DONG, C.; WONG, M-L. Novel Sequence Variations in the Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene and Association With Major Depression and Antidepressant Treatment Response. **Arch Gen Psych**, v.66, p.488-497, 2009.

LIMA, M. M. S.; REKSIDLER, A. B; ZANATA, S. M.; MACHADO, H. B.; TUFIK, S.; VITAL, M. A. Different parkinsonism models produce a time-dependent induction of COX-2 in the substantia nigra of rats. **Brain Res**, v.1101, p.117-125, 2006.

LIN, P. Y.; SU, K. P. A meta-analytic review of double-blind, placebo-controlled trials of antidepressant efficacy of omega-3 fatty acids. **J Clin Psych**, v.68, 1056-61, 2007.

LOGAN, A. Neurobehavioral aspects of omega-3 fatty acids: possible mechanisms and therapeutic in major depression. **Altern Med Rev**, v.4, p.410-425, 2003.

LOGAN, A. C. Omega-3 fatty acids and major depression: A primer for the mental health professional ? Review. **Lip Health Dis**, v.3, p.25, 2004.

LÓPEZ-MUÑOZ, F.; ALAMO, C. Monoaminergic Neurotransmission: The History of the Discovery of Antidepressants from 1950s Until Today. **Current Pharm Des**, v.15, p.1563-1586, 2009.

LU, B.; GOTSCHALK, W. Modulation of hippocampal synaptic transmission and plasticity by neurotrophins. **Prog Brain Res**, v.128, p.231-241, 2000.

LUCKI, I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. **Behav Pharm**, v.8, p.523-532, 1997.

MACHADO, R. B.; TUFIK, S.; SUCHECKI, D. Chronic stress during paradoxical sleep deprivation increases paradoxical sleep rebound: association with prolactin plasma levels and brain serotonin content. **Psychoneuroendocrin**, v.33, p.1211-1224, 2008.

MAES, M.; SMITH, R.; CHRISTOPHE, A.; COSYNS, P.; DESNYDER, R.; MELTZER, H. Fatty acid composition in major depression: decreased w3 fractions in cholesteryl esters and increased C20:4w6/C20:5w3 ratio in cholesteryl esters and phospholipids. **J Affect Dis**, v.38, p.35-46, 1996.

MAES, M.; CHRISTOPHE, A.; DELANGHE, J.; ALTAMURA, C.; NEELS, H.; MELTZER, H. Y. Lowered omega-3 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients. **Psych Res**, v.85, p.275-291, 1999.

MAES, M.; YIRMYIA, R.; NORABERG, J.; BRENE, S.; HIBBELN, J. R.; PERINI, G.; KUBERA, M.; BOB, P.; LERER, B.; MAJ, M. The inflammatory and neurodegenerative (I and ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. **Metab Brain Dis**, v.24, p.27-53, 2009.

MAKRIDES, M.; GIBSON, R. A. Long chain polyunsaturated fatty acids requirements during pregnancy and lactation. **Am J Clin Nutr**, v.71 (suppl), p.307S-11S, 2000.

MAMOUNAS, L. A.; BLUE, M. E.; SIUCIAK, J. A.; ALTAR, A. Brain-Derived neurotrophic factor promotes the survival and sprouting of serotonergic axons in rat brain. **J Neurosci**, v.15, n.12, p.7929-39, 1995.

MANN, J. J. Role of the serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior. **Neuropsychopharm**, v.21, p.99-105, 1999.

MARRAZZI, A. S.; HART, E. R. Evoked cortical responses under the influence of hallucinogens and related drugs. *Electroenceph. clin.* **Neurophys**, v.7, p.146, 1955.

MARTINEZ, M. Developmental profiles of polyunsaturated fatty acids in the brain of normal infants and patients with peroxisomal diseases: severe deficiency of docosahexaenoic acid in Zellweger's and pseudo-Zellweger's syndromes. **World Review Nutr Dietet**, v.66, p.87-10, 1991.

MARTINEZ, M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. **J Pediatr**, v.120, p.S129-S138, 1992.

MARTINOWICH, K.; MANJI, H.; LU, B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. **Nat Neurosci**, v.10, p.1089-93, 2007.

MARTINOWICH, K.; LU, B. Interaction between BDNF and Serotonin: Role in Mood Disorders. *Rev. Neuropsychopharm*, v.33, p.73–83, 2008.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

MATTSON, M. P.; MAUDSLEY, S.; MARTIN, B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. **Trends Neurosci**, v.27, n.10, p.589-94, 2004.

MCNAMARA, R. K.; CARLSON, S. E. Role of Omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. **Prostagl Leukot Essent Fatty Acids**, v.75, p.329-349, 2006.

MCNAMARA, R. K.; ABLE, J.; LIU, Y.; JANDACEK, R.; RIDER, T.; TSO, P.; LIPTON, J. W. Omega-3 fatty acid deficiency during perinatal development increases serotonin turnover in the prefrontal cortex and decreases midbrain tryptophan hydroxylase-2 expression in adult female rats: dissociation from estrogenic effects. **J Psych Res**, v.43, p.656-663, 2009.

MERLIO, J.-P.; ERNFORS, P.; JABER, M.; PERSON, H. Molecular cloning of rat trkC and distribution of cells expressing messenger RNAs for members of the trk family in the rat central nervous system. **Neurosci**, v.51, p.513–532, 1992.

MILLER, H. E.; DEAKIN, J. F.; ANDERSON, I. M. Effect of acute tryptophan depletion on CO₂-induced anxiety in patients with panic disorder and normal volunteers. **Br J Psych**, v.176, p.182-8, 2000.

MORIGUCHI, T.; GEINER, R. S.; SALEM JR, N. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. **J Neurochem**, v.75, p.2563-2573, 2000.

MOSSNER, R.; MIKOVA, O.; OUTSILIERI, E.; SAOUD, M.; EHLIS, A-C.; MULLER, N.; FALLGATTER, A. J.; RIEDERER, P. Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers: Biological Markers in Depression. Review. **J Biol Psych**, v.8, n.3, p.141-174, 2007.

MURRAY, C. J. L.; LOPEZ, A. D. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: Global Burden of Disease Study. **Lancet**, v.349, p.1498–1504, 1997.

MUSKIET, F. A. J.; VAN GOOR, S. A.; KUIPERS, R. S.; VELZING-AARTS, F. V.; SMITA, E. N.; BOUWSTRA, H.; DIJCK-BROUWER, D. A. J.; BOERSMA, E. R.; HADDERS-ALGRA, M. Long-chain polyunsaturated fatty acids in maternal and infant nutrition. **Prostagl Leukot Essent Fatty Acid**, v.75, p.135–144, 2006.

NALIWAIKO, K.; ARAÚJO, R. L. F.; FONSECA, R. V.; CASTILHO, J. C.; ANDREATINI, R.; FERNANDES, L. C.; MARTINS, E. F.; BELLISSIMO, M. I.; OLIVEIRA, B. H.; CURI, R.; FERRAZ, A. C. Fish oil and central nervous system: a new potential antidepressant? **Nutr Neurosci**, v.7, n.2, p.91-99, 2004.

NESTLER, E.; BARROT, M.; DILEONE, R. J.; EISCH, A. J.; GOLD, S. J.; MONTEGGIA, L.M. Neurobiology of depression. **Neuron**, v.34, n.1, p.13-25, 2002.

NEURINGER, M.; CONNOR, W. E.; VAN PETTEN, C.; BARSTAD, L. Dietary omega-3 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkeys. **J Clin Invest**, v.73, n.1, p.272-6, 1984.

NEURINGER, M.; CONNOR, W. E.; LIN, D. S.; BARSTAD, L.; LUCK, S. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal w3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.83, p.4021-4025, 1986.

NIBUYA, M.; MORINOBU, S.; DUMAN, R. S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. **J Neurosci**, v.15, p.7539-7547, 1995.

NYMAN, E. S.; SULKAVA, S.; SORONEN, P.; MIETTUNEN, J.; LOUKOLA, A.; LEPPÄ, V.; JOUKAMAA, M.; MÄKI, P.; MARJO-RIITTA, J.; FREIMER, N.; PELTONEN, L.; VEIJOLA, J.; PAUNIO, T. Interaction of Early Environment, Gender and Genes of Monoamine Neurotransmission in the Etiology of Depression in a Large Population-Based Finnish Birth Cohort. 2011. Disponível em: <http://bmjopen.bmj.com/site/about/guidelines.xhtml> Acesso em: 03/09/2011.

OKEN, E.; KLEINMAN, K. P.; OLSEN, S. F.; RICH-EDWARDS, J. W.; GILLMAN, M. W. Associations of seafood and elongated n-3 fatty acids intake with fetal growth and length of gestation: results from a US pregnancy cohort. **Am J Epid**, v.160, p.774-783, 2004.

OKEN, E.; BELFORT, M. B. Fish, Fish Oil, and Pregnancy. **JAMA**, v.304, n.15, p.1717-1718, 2010.

OLIVEIRA, J. M.; AMARAL, J. R. **Princípios de Neurociência**. São Paulo:Tecnopress, 1997.

OLIVIER, B.; OORSCHOT, R. V. 5-HT_{1B} receptors and aggression. Review. **Eur J Pharm**, v.516, p.207-217, 2005.

PAGE, M. E.; DETKE, M. J.; DALVI, A.; KIRBY, L.G.; LUCKI, I. Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. **Psychopharm (Berl.)**, v.147, p.162-167, 1999.

PALACIOS, J. M.; WAEBER, C.; HOYER, D.; MENGOD, G. Distribution of serotonin receptors. **Ann N Y Acad Sci**, v.600, p.36-52, 1990.

PARKEL, S. **Ligand binding to 5-HT_{1A} receptors and its regulation by Mg²⁺ and Mn²⁺**. 58f. Tese(Doutorado Philosophy in Bioorganic Chemistry). Chimicae Universitatis Tartuensis. Institute of Chemistry, Faculty of Science and Technology, University of Tartu, Estonia, 2010.

PARKER, G.; GIBSON, N. A.; BROTCHE, H.; HERUC, G.; REES, A. M.; HADZI-PAVLOVIC, D. Omega-3 fatty acids and mood disorders. **Am J Psych**, v.163, p.959-78, 2006.

PAWLOSKY, R. J.; HIBBELN, J. R.; NOVOTNY, J. A ; SALEM Jr. N. Physiological compartmental analysis of α -linolenic acid metabolism in adult humans **J Lipid Res**, v.42, n.8, p.1257-1265, 2001.

PAZOS, A.; CORTES, R.; PALACIOS, J. M. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors. **Brain Res**. v.346, p. 231-249, 1985.

PEET, M.; MURPHY, B.; SHAY, J.; HORROBIN, D. Depletion of omega-3 fatty acid levels in red blood cell membranes of depressive patients. **Biol Psych**, v.43, n.5, p.315-9, 1998.

PEKKANEN, J.; NISSINEN, A.; PUNSAR, S.; KARVONEN, M. J. Serum cholesterol and risk of accidental or violent death in a 25-year follow-up. The finish cohorts of the seven countries study. **Arch Intern Med**, v.149, v.1589-1591, 1989.

PEROUTKA, S. J.; SNYDER, S. H. Multiple serotonin receptors and their physiological significance. **Fed Proc**, v.42, n.2, p. 213-217, 1983.

PLACIDI, G. P.; OQUENDO, M. A.; MALONE, K. M.; HUANG, Y. Y.; ELLIS, S. P.; MANN, J. J. Aggressivity, suicide attempts, and depression: relationship to cerebrospinal fluid monoamine metabolite levels. **Bio Psych**, v.50, p.783-91, 2001.

PLETSCHER, A.; SHORE, P. A.; BRODIE, B. B. Serotonin release as a possible mechanism of reserpine action. **Science**, v.122, p.374-5, 1956.

POMPEIANO, M.; PALACIOS, J. M.; MENGOD, G. Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5HT_{1A}, receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. **J Neurosci**, v.12, n.2, p. 440-453, 1992.

PONGRAC, J. L.; SLACK, P. J.; INNIS, S. M. Dietary Polyunsaturated Fat that Is Low in (n-3) and High in (n-6) Fatty Acids Alters the SNARE Protein Complex and Nitrosylation in Rat Hippocampus. The Journal of Nutrition Biochemical, Molecular, and Genetic Mechanisms. **J Nutr**, v.137, n.8, p.1852-6, 2007.

POPA, D.; CERDAN, J.; REPERANT, C.; GUIARD, B. P.; GUILLOUX, J. P.; DAVID, D. J.; GARDIER, A. M. A longitudinal study of 5-HT outflow during chronic fluoxetine treatment using a new technique of chronic microdialysis in a highly emotional mouse strain. **Eur J Pharm**, v.628, p.83-90, 2010.

PORCELLI, S.; DRAGO, A.; FABBRI, C.; SERRETTI, A. Mechanisms of antidepressant action: An integrated dopaminergic perspective. **Progr Neuro-Psychopharm & Biol Psych**, v.35, p.1532–1543, 2011.

PORSOLT, R. D.; Le PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**. v.266, p.730-2, 1977.

POST, R. M. Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: Clinical and theoretical implications. Review. **J Psych Res**, v.41, p.979–990, 2007.

POTTER, W. Z.; MANJI, H. K. Catecholamines in depression: an update. **Clin Chem**, v.40, n.2, p.279-287, 1994.

PUCADYIL, T. J.; KALIPATNAPU, S.; CHATTOPADHYAY, A. The Serotonin 1A Receptor: A Representative Member of the Serotonin Receptor Family. **Cel Mol Neurobiol**, v.25, p.3-4, 2005.

PYTLIAK, M.; VARGOVÁ, V.; MECHIROVÁ, V.; FELSOCI, M. Serotonin receptors- from molecular biology to clinical applications. Review. **Physiol Res**, v.60, p.15-25, 2011.

RAPPORT, M. M.; GREEN, A. A.; PAGE IH. Crystalline serotonin. **Science**, v.108, p.329-330, 1948 (a).

RAPPORT, M. M.; GREEN, A. A. ; PAGE, I. H. 1948 (b). Serum vasoconstrictor (serotonin) isolation and characterization. Disponível em: <http://www.jbc.org/content/176/3/1243.full.pdf> Acesso em 29/08/2011.

RIAD, M.; GARCIA, S.; WATKINS, K. C.; JODOIN, N.; DOUCET, E.; LANGLOIS, X.; EI MESTIKAWY, S.; HAMON, M.; DESCARRIES, L. Somatodendritic localization of 5-HT_{1A} and preterminal axonal localization of 5-HT_{1B} serotonin receptors in adult rat brain. **J Comp Neurol**, v.417, p.181–194, 2000.

RIEMER, S.; MAES, M.; CHRISTOPHE, A.; RIEF, W. Lowered omega-3 PUFAs are related to major depression, but not to somatization syndrome. **J Affect Dis**, v. 123, p.173-180, 2009.

RINGBOM, T.; HUSS, U.; STENHOLM, A.; FLOCK, S.; SKATTEBOL, L.; PERERA, P.; BOHLIN, L. Cox-2 inhibitory effects of naturally occurring and modified fatty acids. **J Nat Prod**, v.64, p.745–749, 2001.

ROMERO, L.; ARTIGAS, F. Preferential potentiation of the effects of serotonin uptake inhibitors by 5-HT_{1A} receptor antagonists in the dorsal raphe pathway: role of somatodendritic autoreceptors. **J Neurochem**, v.68, p.2593-2603, 1997.

ROSS, B. M. Omega-3 fatty acid deficiency in major depressive disorder is caused by the interaction between diet and a genetically determined abnormality in phospholipid metabolism. **Med Hypoth**, v.68, p.515-24, 2007.

RUF, B.M.; BHAGWAGAR, Z. The 5-HT_{1B} receptor: a novel target for the pathophysiology of depression. **Curr Drug Targets**, v.10, p.1118-1138, 2009.

RUPALLA, K.; JAKOB, R.; KRIEGLSTEIN, J. Effects of 5-HT_{1A} receptor agonists on the glutamate-induced rise in cytosolic calcium concentration as well as on calcium and potassium currents in hippocampal neurons. In: KRIEGLSTEIN, J.; OBERPICHLER-SCHWENK, H. (Eds.) **Pharmacology of Cerebral Ischemia**. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. p.p. 89–94.

RUXTON, C. H. S.; CALDER, P. C.; REED, S. C.; SIMPSON, M. J. A. The impact of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on human health. **Nutr Res Rev**, v.18, p.113–129, 2005.

SADOCK, B. J.; SADOCK, V. A. **Kaplan, Compêndio de psiquiatria. Ciência do comportamento e psiquiatria clínica**. 9.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

SALEM Jr, N., PAWLOSKEY, R. J.; WEGHER, B.; HIBBELN, J. R. In vivo conversion of linoleic acid to arachidonic acid in human adults. **Prostagl Leukot Essent Fatty Acids**, v.60, p.407–410, 1999.

SALEM Jr, N.; LITMAN, B.; KIM, H-Y.; GAWRISCH, K. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. **Lipids**, v.36, p.945-979, 2001.

SANDERS-BUSH, E.; MAYER, S. E. Agonistas e antagonistas dos receptores de 5-hidroxitriptamina (serotonina). In: BRUNTON, L. C.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman e Gilman, As Bases Farmacológicas da Terapêutica** 11.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

SANTIAGO, R. M.; BARBIEIRO, J.; LIMA, M. M.; DOMBROWSKI, P. A.; ANDREATINI, R.; VITAL, M. A. Depressive-like behaviors alterations induced by intranigral MPTP, 6-OHDA, LPS and rotenone models of Parkinson's disease are predominantly associated with serotonin and dopamine. *Prog. Neuropsychopharmacol.* **Biol Psych**, v.34, p.1104-1114, 2010.

SARGENT, J. R. Fish oils and human diet. **Br J Nutr**, v.78, p.S5-S13, 1997.

SAVITZ, J.; LUCKI, I.; DREVETS, W. C. 5-HT_{1A} receptor function in major depressive disorder. **Prog Neurobiol**, v.88, n.1, p.17–31, 2009.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Review.* **Am J Psych**, v.122, p.509-22, 1965.

SELIKOFF, I. J.; ROBITZEK, E. H.; ORNSTEIN, G. G. Treatment of pulmonary tuberculosis with hydrazine derivatives of isonicotinic acid. **JAMA**, v.150, p.973-80, 1952.

SEN, S.; DUMAN, R.; SANACORA, G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. **Biol Psych**, v.64, p.527-32, 2008.

SERRATS, J.; MENGOD, G.; CORTES, R. Expression of serotonin 5-HT_{2C} receptors in GABAergic cells of the anterior raphe nuclei. **J Chem Neuroanat**, v.29, p.83-91, 2005.

SHAIKH, S. R.; CHEREZOV, V.; CAFFREY, M.; STILLWELL, W.; WASSALL, S. R. Interaction of cholesterol with a docosahexaenoic acid-containing phosphatidylethanolamine: trigger for microdomain/raft formation? **Biochem**, v.42, p.12028-37, 2003.

SHARP, T.; BOOTHMAN, L.; RALEY, J.; QUEREE, P. Important messages in the 'post': recent discoveries in 5-HT neurone feedback control. **Trends Pharm Sci**, v.28, p.629-636, 2007.

SHAW, D. M.; CAMPS, F. E.; ECCLESTON, E. G. 5-Hydroxytryptamine in the hindbrain of depressive suicides. **British J Psych**, v.113, p.1407, 1967.

SIBILLE, E.; ARANGO, V.; GALFALVY, H. C.; PAVLIDIS, P.; ERRAJI-BENCHEKROUN, L.; ELLIS, S. P.; MANN, J. J. Gene Expression Profiling of Depression and Suicide in Human Prefrontal Cortex. **Neuropsychopharm**, v.29, p.351-361, 2004.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biom Pharmacoth**, v.56, p.8, p.365-379, 2002.

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. **Biom Pharmacoth**, 2006; v.60, n.9, p.502-507, 2006.

SIMOPOULOS, A. P. Genetic variants in the metabolism of omega-6 and omega-3 fatty acids: their role in the determination of nutritional requirements and chronic disease risk. **EBM**, v.235, p.785-795, 2010.

SINCLAIR, A. J. Long-chain polyunsaturated fatty acids in mammalian brain. **Proc Nutr Soc**, v.34, p.287-291, 1975.

SINCLAIR, A. ; BEGG, D.; MATHAI, M.; WEISINGER, R. Omega 3 fatty acids and the brain: review of studies in depression. Review. **Asia Pac J Clin Nutr**, v.16, n.1, p.391-397, 2007.

SMITH, J. A. The use of the isopropyl derivative of isonicotinyldihydrazone (Marsilid) in the treatment of mental disease. **Am Pract**, v.4, p.519-20, 1953.

SONG, C.; WANG, H. Cytokines mediated inflammation and decreased neurogenesis in animal models of depression. **Psychopharm Biol Psych**, v.35, n.3, p.760-8, 2011.

STEINBUSCH, H. W. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. **Neuroscience**, v.6, p.557-618, 1981.

STELT, H. M. **The olfactory bulbectomized rat model of depression: on the role of dietary tryptophan and serotonergic functioning**. 161 f. Tese (Doutorado)-Department of Psychiatry, University Medical Center Utrecht and at the Department of Psychopharmacology, Utrecht University, Amsterdam, Netherlands, 2004.

STILLWELL, W.; SHAIKH, S. R.; ZEROUGA, M.; SIDDIQUI, R.; WASSAL, S. R. Docosahexaenoic acid affects cell signaling by altering lipid rafts. **Reprod Nutr Develop**, v.45, n.5, p.559-579, 2005.

SU, K. P.; HUANG, S. Y.; CHIU, C. C.; SHEN, W. W. Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial. **Eur Neuropsychopharm**, v.13, p.267-271, 2003.

SUBLETTE, M. E.; HIBBELN, J. R.; GALFALVY, H.; OQUENDO, M. A.; MANN, J. J. Omega-3 polyunsaturated essential fatty acid status as a predictor of future suicide risk. **Am J Psyc**, v.163, p.1100-1102, 2006.

SVENNERHOLM L. Distribution and fatty acid composition of phosphoglycerides in normal human brain. **J. Lipid Res**, v.9, p.570-9, 1968.

SVENNINGSSON, P.; CHERGUI, K.; RACHLEFF, I.; FLAJOLET, M.; ZHANG, X.; EL YACOUBI, M.; VAUGEOIS, J. M.; NOMIKOS, G. G.; GREENGARD, P. Alterations in 5-HT_{1B} receptor function by p11 in depression-like states. **Science**, v.311, p.77-80, 2006.

TANSKANEN, A.; HIBBELN, J. R.; HINTIKKA, J.; HAATAINEN, K.; HONKALAMPI, K.; VIINAMAKI, H. Fish consumption, depression, and suicidality in a general population. **Arch Gen Psych**, v.58, p.512-513, 2001.

TEAGUE, W. E.; FULLER, N. L.; RAND, R. P. Gawrisch K. Polyunsaturated lipids in membrane fusion events. **Cell Mol Biol Lett**, v.7, p.262-264, 2002.

TORK, I., Anatomy of serotonergic system. **Ann N Y Acad Sci**, v.600, p.9-34, 1990.

TWAROG, B. M.; PAGE, I. H. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. **Am J Physiol**, v.175, p.157-161, 1953.

UAUY, R.; DANGOUR, A. D. Nutrition in brain development and aging: role of essential fatty acids. **Nutr Rev**, v.64, p.24–33, 2006.

ULAK, G.; MUTLU, O.; TANYERI, P.; KOMSUOGLU, F. I.; AKAR, F. Y.; ERDEN, B. F. Involvement of serotonin receptor subtypes in the antidepressant-like effect of TRIM in the rat forced swimming test. **Pharm Biochem Behav**, v.95, p.308-14, 2010.

VAIDYA, V. A.; DUMAN, R. S. Depression – emerging insights from neurobiology. **British Med Bull**, v.57, p.61–79, 2001.

VAN PRAAG, H. M.; HAAN, S. Central serotonin metabolism and frequency of depression. **Psych Res**, v.1, p.219-224, 1979.

VENNA, V. R.; DEPLANQUE, D.; ALLET, C.; BELARBI, K.; HAMDANE, M.; BORDET, R. PUFA induce antidepressant-like effects in parallel to structural and molecular changes in the hippocampus. **Psychoneuroendocrin**, v.34, p.199-211, 2009.

VERGE, D.; DRAVAL, G.; PATEY, A.; GOZLAN, H.; el MESTIKAWY, S.; HAMON, M. Presynaptic 5-HT autoreceptors on serotonergic cell bodies and/or dendrites but not terminals are of the 5-HT_{1A} subtype. **Eur J Pharm**, v.113, p.463–464, 1985.

VIEIRA, E. C.; GAZZINELLI, G.; MARES-GUIA, M. **Bioquímica celular e biologia molecular**. 2.ed. Belo Horizonte: Atheneu, 1996.

WAINWRIGHT, P. E.; BULMAN-FLEMING, M. B.; LEVESQUE, S.; MUTSAERS, L.; McCUTCHEON, D. A saturated-fat diet during development alters dendritic growth in mouse. **Nutr Neurosci**, v.1, p.49–58, 1998.

WANG, R. Y.; AGHAJANIAN, G. K. Inhibition of neurons in the amygdala by dorsal raphe stimulation: mediation through a direct serotonergic pathway. **Brain Res**, v.120, p.85–102, 1977.

WANG, Q. P.; OCHIAI, H.; NAKAI, Y. GABAergic innervation of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat studied by electron microscopy double immunostaining. **Brain Res Bull**, v.29, p.943-948, 1992.

WEGENER, G.; BANDPEY, Z.; HEIBERG, I. L.; MORK, A.; ROSENBERG, R. Increased extracellular serotonin level in rat hippocampus induced by chronic citalopram is augmented by subchronic lithium: neurochemical and behavioural studies in the rat. **Psychopharm (Berl)**, v.166, p.188-194, 2003.

WELSH, J. H. Possible neurohumoral agents: evidence obtained in lower animals. **Ann NY Acad Sci**, v.66, p.618-630, 1957.

WIDMAIER, E. P.; RAFF, H.; STRANG, K. T. **Fisiologia Humana**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

WIELAND, S.; LUCKI, I. Antidepressant-like activity of 5-HT_{1A} agonists measured with the forced swim test. **Psychopharm (Berl)**, v.101, p.497-504, 1990.

WILCZYNSKA-KWIATEK, A.; SING, R. B.; De MEESTER, F. Nutrition and behaviour: the role of ω -3 fatty acids. Review. **The Open Nutr J**, v.3, p.119-128, 2010.

WOOLEY, W.; SHAW, E. Some neurophysiological aspects of serotonin. **Br Med J**, v.2, p.122-126, 1954.

WOOLEY, M. A.; SIMON, G. E. Managing depression in medical outpatients. Primary care. Review. **NEJM**, v.343, n.26, p.1942-1950, 2000.

WU, A.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Docosahexaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition. **Neuroscience**, v.155, n.3, p.751-9, 2008.

YOUDIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **Int J Develop Neurosci**, v.18, p.383-399, 2000.

YU, H.; CHEN, Z. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neuronal circuitry. **Acta Pharm Sin**, v.32, p.3-11, 2011.

ZELLER, E. A.; BARSKY, J.; FOUTS, J. R.; KIRCHHEIMER, W. F.; VAN ORDEN, L. S. Influence of isonicotinic acid hydrazide (INH) and 1-isonicotinic-2-isopropylhydrazide (IIH) on bacterial and mammalian enzymes. **Exper**, v.8, p.349, 1952.

ZHOU, M.; ENGEL, K.; WANG, J. Evidence for Significant Contribution of a Newly Identified Monoamine Transporter (PMAT) to Serotonin Uptake in the Human Brain. **Biochem Pharm**. v.73, n.1, p.147-154, 2007.

ZIGMOND, M. J.; BLOOM, F. E.; LANDIS, S.C.; ROBERTS, J. L.; SQUIRE, L. R. **Fundamental Neuroscience**. San Diego: Academic Press, 1999.

ZIMMER, L.; VANCASSEL, S.; CANTAGREL, S.; BRETON, P.; DELAMANICHE, S.; GUILLOTEAU, D.; DURAND, G.; CHALON, S. The dopamine mesocorticolimbic pathway is affected by deficiency in n-3 polyunsaturated fatty acids. **Am J Clin Nutr**, v.75, p.662-77, 2002.

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

ANEXO 1



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comitê de Ética em Experimentação Animal
(CEEA)



Nº 400

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEEA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno do CEEA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEEA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".


PROCESSO: 23075.098538/2009-14

APROVADO: 27/10/2009 – R.O. 09/2009

TÍTULO: Investigação dos efeitos da suplementação com ácidos graxos poliinsaturados da família ômega-3 durante as fases de gestação e lactação sobre a depressão de ratos Wistar adultos

AUTORES: Anete Curte Ferraz, Aparecida Vines, Mariana Bordinhão Proença, Marina Sonagli, Ronaldo Regis Borges, Pedro Staziaki, Bárbara Cioni

DEPARTAMENTO: Fisiologia


Prof. Dr. Aleksander Roberto Zampronio
Coordenador do CEEA