

FERNANDO TAVARES CONSONI

**EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA LAMOTRIGINA NO MODELO DE
NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO EM RATOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Farmacologia, Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini

CURITIBA

2005

*Dedico a Deus e a todos que contribuíram
direta ou indiretamente para a realização deste
trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais José Otávio e Maria de Fátima, meus irmãos Ronaldo e Maurício, minha namorada Kelly, minhas cunhadas Simone e Cristine e minha afilhada Júlia e para toda minha família pela força, compreensão e ajuda nesta minha difícil jornada, mas compensadora.

Ao Prof. Dr. Roberto Andreatini, pela amizade, compreensão, pela excelente orientação e pelos seus ensinamentos em Farmacologia e Neurobiologia da Depressão que contribuíram em muito para realização deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Farmacologia pelos ensinamentos, e a farmacêutica Sílvia Nardi Cardozzo Genari pela ajuda no preparo das drogas, para os experimentos nos finais de semanas.

Aos professores e colegas do curso de farmácia da PUC-PR que contribuíram para a minha formação acadêmica,

Aos meus amigos do prédio, do Mestrado, da prefeitura Municipal de Curitiba e da Farmácia. – Valeu, pela ajuda!

Aos funcionários do biotério do Setor de Ciências Biológicas, que sempre deixaram os animais preparados nos finais de semana.

E a todos que tiveram uma participação, mesmo que pequena nesta longa caminhada.

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

Albert Einstein

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Lamotrigina	4
2.2 Glutamato e Depressão	10
2.3 Modelos Animais de Depressão	17
2.4 Objetivos	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Animais	21
3.2 Drogas	21
3.3 Metodologias	22
3.3.1 Teste de Natação Forçada Modificado	22
3.3.2 Avaliação da Atividade Locomotora	23
3.3.3 Avaliação da Habituação no Campo Aberto	23
3.4 Análise Estatística	24
4 RESULTADOS	24
4.1 Efeito da imipramina, paroxetina e nortriptilina no Teste de Natação Forçada Modificado	24
4.2 Efeito da Dizolcipina no Teste de Natação Forçada Modificado	26
4.3 Efeito da Lamotrigina no Teste de Natação Forçada Modificado	27
4.4 Efeito da Lamotrigina na Atividade Locomotora	29
4.5 Efeito da Lamotrigina na Habituação no Campo Aberto	30
5 DISCUSSÃO	31
6 CONCLUSÃO	37
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -EFEITO DA IMIPRAMINA NO MODELO DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO.....	25
FIGURA 2 -EFEITO DA PAROXETINA NO MODELO DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO.....	25
FIGURA 3 -EFEITO DA NORTRIPTILINA NO MODELO DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO.....	26
FIGURA 4 -EFEITO DA DIZOLCIPINA (MK-801) NO MODELO DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO.....	27
FIGURA 5 -EFEITO DA LAMOTRIGINA NO MODELO DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO.....	28
FIGURA 6 -AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DE RATOS TRATADOS COM IMIPRAMINA, PAROXETINA, NORTRIPTILINA, DIZOLCIPINA (MK-801) E LAMOTRIGINA.....	29
FIGURA 7 -AVALIAÇÃO DA HABITUAÇÃO NO CAMPO ABERTO DE RATOS TRATADOS COM LAMOTRIGINA	30

RESUMO

A Lamotrigina é uma droga anticonvulsivante que têm apresentado atividade antidepressiva em ensaios clínicos. Poucos estudos têm estudado o efeito da lamotrigina em modelos animais de depressão, e o mecanismo de ação de sua atividade antidepressiva permanece desconhecido. O presente trabalho avaliou o efeito da lamotrigina (5-20mg/kg) no Modelo de Natação Forçada Modificado, e comparou seus resultados com a imipramina (um inibidor da recaptação de noradrenalina e serotonina), paroxetina (um inibidor da recaptação de serotonina), nortriptilina (um inibidor da recaptação de noradrenalina) e dizolcipina (MK-801, um antagonista não competitivo do receptor glutamatérgico NMDA). Para excluir resultados falso-positivos, avaliou-se, também o efeito da lamotrigina na atividade locomotora e a habituação no campo aberto (avaliação da memória). Na dose de 10mg/kg a lamotrigina apresentou uma redução na imobilidade com aumento do comportamento de escalada, resultado similar ao da nortriptilina (20 mg/kg). Na dose de 20mg/kg, a lamotrigina diminuiu a imobilidade e aumentou a escalada e natação. Não houve alteração da atividade locomotora, nem prejuízo na habituação com o tratamento com lamotrigina 20mg/kg. Por outro lado, a imipramina 20 mg/kg, paroxetina 20 mg/kg e dizolcipina 0,1 mg/kg reduziram a imobilidade e aumentaram o comportamento de natação. A dizolcipina também reduziu o comportamento de escalada. Enquanto a dizolcipina apresentou aumento da atividade locomotora, a imipramina, a paroxetina e a nortriptilina não alteraram o comportamento dos animais no Campo Aberto. Portanto, excetuando-se a dizolcipina, os efeitos destas drogas no teste de natação forçada modificado não foram devido ao aumento na atividade locomotora. Nesta linha, embora o padrão comportamental da dizolcipina seja indicativo de uma ação serotoninérgica, na dose utilizada no presente estudo, este efeito deve ser considerado como falso positivo. Os resultados apresentados neste estudo indicam que o efeito anti-imobilidade da lamotrigina no teste de natação forçada modificado é, em dose baixa, provavelmente devido a uma ação noradrenérgica, e em dose mais elevada, a uma atividade dual (noradrenérgica e serotoninérgica).

Palavras-chave: Lamotrigina; Transtorno Bipolar; Depressão; Antidepressivo; Modelos Animais; Serotonina; Noradrenalina; Glutamato.

ABSTRACT

Lamotrigine is an anticonvulsant drug that exhibits antidepressant effects in clinical trials. Fewer studies have indicated the antidepressant effects of lamotrigine in animal model of depression and its mechanism of action is still unclear. The present study evaluated the effect of lamotrigine (5-20mg/kg) in the modified forced swim test and compared the pattern behavior with imipramine (a noradrenaline and serotonin reuptake inhibitor), paroxetine (a selective serotonin reuptake inhibitor), nortriptyline (a selective noradrenaline reuptake inhibitor) and dizolcipine (a non-competitive antagonist of NMDA glutamatergic receptor). The effect of lamotrigine also was evaluated on locomotor activity and in habituation on open field for exclude false-positive results. The lowest effective dose of lamotrigine (10 mg/kg) decreased immobility and increased climbing, a similar result of nortriptyline. As long as, the higher dose of lamotrigine (20 mg/kg) decreased immobility and increased climbing and swimming. Lamotrigine (20 mg/kg) did not change locomotion on the open-field test nor impair habituation. On the other hand, imipramine (20 mg/kg), paroxetine (20 mg/kg) and dizolcipine (0.1 mg/kg) decreased immobility and increased swimming. Dizolcipine also decreased climbing. However, while the effects of imipramine, paroxetine and nortriptyline on modified swim test was seen without effect on locomotor activity, the anti-immobility effect of dizolcipine was seen at a dose that also increased locomotor activity. Thus, although the behavioral pattern of dizolcipine in the modified forced swimming test suggests a serotonergic effect, it must be viewed as a false-positive result. In conclusion, the present study indicates that the antidepressant-like effect of lamotrigine at lower dose is probably related to noradrenergic action and at higher dose due to a dual effect (noradrenergic and serotonergic).

Key-words: Lamotrigine; Bipolar Disorders; Depression; Antidepressant; Animal Models; Serotonin; Noradrenaline; Glutamate.

1. INTRODUÇÃO

Depressão pode significar um sintoma que faz parte de inúmeros distúrbios emocionais sem ser exclusivo de nenhum deles, pode significar uma síndrome traduzida por vários sintomas somáticos ou ainda, pode significar uma doença, caracterizada por marcantes alterações afetivas. A distinção entre a tristeza, reação normal que ocorre por fatores estressantes do cotidiano, e a depressão patológica, está na profundidade e duração dos sintomas depressivos. Em alguns países desenvolvidos, acredita-se que a prevalência da depressão atinja 21% da população (Wong e Licinio, 2001). O número de mulheres acometidas pela doença é maior que o de homens (Boyd e Weissman, 1982). Segundo o DSM-IV, os transtornos afetivos do tipo depressivo podem se manifestar através de episódios depressivos. A característica essencial do episódio depressivo é a presença de humor deprimido e perda de interesse ou prazer em quase todas as atividades, durante um período de pelo menos duas semanas. Além destes sintomas, a pessoa pode experimentar alteração do apetite e peso, distúrbio do sono, sentimento de culpa, dificuldade de pensar, falta de energia e idéias suicidas. A depressão é uma doença que possui um alto índice de recorrência, sendo que pacientes que apresentam um primeiro episódio depressivo tem maior probabilidade de ter um segundo.

O tratamento da depressão se baseia, principalmente, na teoria monoaminérgica. Esta teoria postula que a depressão é causada por uma deficiência na transmissão de monoaminas (noradrenalina, dopamina e serotonina) no sistema nervoso central (Schildkraut, 1965; Coppen, 1969). As evidências que corroboram com esta teoria é que diversos fármacos utilizados no tratamento da depressão agem aumentando a concentração de monoaminas na fenda sináptica. Os principais antidepressivos utilizados na clínica são os inibidores da monoamino oxidase (ex: tranilcipromina, moclobemida), os inibidores não seletivos da recaptção de monoaminas (ex: tricíclicos, venlafaxina, duloxetina, bupropiona), os

inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ex: fluoxetina, paroxetina, citalopram) e os inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina: reboxetina, desipramina). Apesar disto, outras evidências são contrárias a esta teoria, como, por exemplo, drogas como a anfetamina, que aumentam a concentração de noradrenalina, serotonina e dopamina na fenda sináptica não apresentam atividade antidepressiva. Assim novas hipóteses foram propostas para explicar a depressão. Alguns estudos verificaram o papel do aminoácido excitatório, glutamato, nos distúrbios afetivos (Mauri e cols, 1998; Auer e cols, 2000; Berman e cols, 2000). As drogas antagonistas do glutamato apresentam efeito antidepressivo em modelos animais de depressão, e em humanos alguns resultados começam a ser promissores (Trullas e Skolnick, 1990; Maj e cols, 1991; Mantovani e cols, 1999; Skolnick, 1999; Berman e cols, 2000). Outra hipótese seria que a depressão levaria a diminuição de BDNF, *brain derived neurotrophic factor*, o qual está relacionado com a plasticidade neuronal (Duman e cols, 1997; Shimizu e cols, 2003). A administração crônica de drogas antidepressivas aumentaram a expressão de BDNF no hipocampo de ratos (Duman, 2004). O importante disto, é que as pesquisas atualmente têm se dedicado a encontrar um ponto em comum entre todas estas evidências.

Recentemente, houve um crescimento na utilização de drogas anticonvulsivantes para o tratamento de transtorno do humor. Vários ensaios clínicos mostram que alguns anticonvulsivantes possuem uma eficácia clínica similar as drogas atuais utilizadas na terapia (Calabrese e cols, 1999; Frye e cols, 2000; Bowden e cols, 2003). Isto representa um grande avanço na terapêutica dos transtornos do humor, pois uma parte significativa de pacientes são refratários à terapia padrão. Os principais anticonvulsivantes utilizados no tratamento dos transtornos de humor são a carbamazepina, a oxcarbazepina, o ácido valpróico e a lamotrigina (Li e cols, 2002). Todos têm sido estudados em ensaios clínicos de pacientes diagnosticados, na maioria das vezes, com transtorno bipolar. O transtorno bipolar caracteriza-se por uma alternância de períodos de mania, na qual

os sintomas são exaltação do humor e irritabilidade, e períodos de depressão. A lamotrigina, dentre os anticonvulsivantes, parece apresentar maior ação antidepressiva (Calabrese e cols, 2003). Trabalhos mostram que a lamotrigina reverte o episódio depressivo no transtorno bipolar (Calabrese e cols, 1999). O mecanismo de ação da lamotrigina como antidepressivo ainda é desconhecido. Uma das ações da lamotrigina é bloquear os canais de sódio voltagem dependente no seu estado refratário, o que levaria a diminuição da frequência de potenciais de ação do neurônio (Leach e cols, 1986; Waldemeier, 1996). Além disso, esta ação levaria a diminuição na liberação de glutamato, o que poderia explicar sua atividade antidepressiva nos modelos animais.

Através do Modelo de Natação Forçada Modificado, proposto por Detke e cols (1995), pode-se verificar se drogas que diminuem o tempo de imobilidade possuem uma atividade noradrenérgica, dopaminérgica ou serotoninérgica. O teste baseia-se em colocar o animal (rato) num cilindro com água do qual não consegue fugir. Inicialmente, o animal apresenta movimentos para tentar escapar do cilindro, como por exemplo: escalar e nadar de um lado para o outro, mas após um certo tempo, o animal desenvolve uma postura imóvel. As drogas noradrenérgicas e dopaminérgicas diminuem o tempo de imobilidade, aumentando o comportamento de escalada, enquanto as drogas serotoninérgicas diminuem a imobilidade, aumentando o comportamento de natação (Detke e cols, 1995; Lucki, 1997; Page e cols, 1999; Cryan e cols, 2001). Com este modelo é possível verificar se a atividade antidepressiva da lamotrigina, no modelo de depressão, possui atividade no sistema noradrenérgico, dopaminérgico ou serotoninérgico. Além disso, podemos verificar se as ações de drogas antagonistas glutamatérgicas exercem uma ação moduladora no sistema adrenérgico ou serotoninérgico.

A falta de estudos na literatura sobre o efeito da lamotrigina em modelos animais de depressão, despertou o interesse em verificar a ação desta droga em um destes modelos, bem como tentar delinear seu possível mecanismo de ação antidepressiva.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA:

2.1. Lamotrigina:

A lamotrigina (3,4-diamino-6-[2,3-diclorofenil]-1,2,4-triazino) é um anticonvulsivante pertencente à classe dos inibidores de canais de sódio voltagem dependente. Apresenta eficácia clínica em diversos tipos de epilepsia e atualmente tem sido empregado no tratamento de transtorno do humor (Calabrese e cols, 1999; Frye e cols, 2000; Barbosa e cols, 2003). Em ensaios clínicos, drogas estabilizadoras do humor como o lítio, valproato e carbamazepina apresentam maior eficácia nos episódios de mania no transtorno Bipolar, enquanto que a lamotrigina é mais eficaz na depressão bipolar. No aspecto farmacocinético, a lamotrigina apresenta uma absorção oral com 98% de biodisponibilidade, possui baixa ligação com proteínas plasmáticas (55%) e alcança um pico de concentração plasmática em 2,5 horas. A meia-vida da lamotrigina é longa, em média de 24 horas (Calabrese e cols, 1998), sendo afetada pela presença de indutores e inibidores enzimáticos. Quando a lamotrigina é administrada com o ácido valpróico, um inibidor enzimático, sua meia vida aumenta de 24 horas para aproximadamente 60 horas. O uso de indutores enzimáticos (ex: carbamazepina, fenitoína) reduzem sua meia-vida para perto de 15 horas (Yeun e Peck, 1987). Sua biotransformação é principalmente hepática, seus principais metabólitos são formados por reações de glicuronização e oxidação, com a formação dos metabólitos N-2- e N-5-glicuronídeos e outros N-Óxidos (Cohen e cols, 1987). Com o uso crônico ocorre aumento da biotransformação pela indução das enzimas responsáveis pelo seu metabolismo (Richens, 1992). A dose terapêutica para o tratamento de transtorno de humor varia de 200 a 400mg/dia (Calabrese e cols, 2002). Concentrações plasmática de 4 a 16µg/L estão associados com uma significativa eficácia clínica para o tratamento de epilepsia (Peck, 1991). Os principais efeitos adversos da lamotrigina são cefaléias,

náuseas, insônia, tremores e lesões cutâneas (*rash*) (Calabrese e cols, 2002).

A ação anticonvulsivante da lamotrigina consiste em reduzir a excitabilidade neuronal através da inibição dos canais de sódio voltagem-dependentes no estado inativado, impedindo seu retorno ao estado de repouso e consequentemente diminuindo o número de potenciais de ação. Este efeito sobre os canais de sódio resultaria numa diminuição na liberação de glutamato (Leach e cols, 1986; Waldmeier e cols, 1996), o qual está envolvido na patogenia das epilepsias e da depressão (Sporn e Sachs, 1997). Outro efeito observado com a lamotrigina foi a inibição de canais de cálcio voltagem-dependentes (Wegerer e cols, 1997). Vários estudos investigaram o efeito da lamotrigina na redução da liberação de aminoácidos excitatórios e inibitórios. Shagufta e cols (2004), verificaram o efeito da lamotrigina, em tratamento crônico e agudo, na liberação de glutamato, aspartato, taurina e GABA no hipocampo de ratos. A administração da lamotrigina (via intraperitoneal), na dose de 20mg/kg, reduziu a liberação de glutamato e aspartato, sem alterar a liberação de GABA e taurina. No mesmo experimento, a lamotrigina foi capaz de reduzir a liberação induzida por veratridina (agente que promove a abertura dos canais de sódio) dos quatro aminoácidos, sugerindo uma ação sobre os canais de sódio ou cálcio nos neurônios pré-sinápticos. Em fatias de córtex entorrinal de ratos, a lamotrigina (50 μ M) reduziu a frequência de correntes elétricas excitatórias pós-sinápticas mediada pelo glutamato. Este resultado foi devido a ação da lamotrigina na liberação de glutamato pelos neurônios pré-sinápticos, através da ação sobre os canais de sódio e cálcio (Cunningham e Jones, 2000). Estudos eletrofisiológicos na amígdala (Wang e cols, 1996) e estriado (Calabresi e cols, 1999) mostram que a lamotrigina reduziu potenciais excitatórios pós-sinápticos mediados pelo glutamato, efeito revertido quando se aplicou glutamato exógeno, resultado compatível com proposta de que a lamotrigina teria uma ação inibitória na liberação do glutamato.

A lamotrigina também apresenta uma ação neuroprotetora em cultura de células hipocâmpais submetidas à privação de oxigênio e glicose, efeito que pode

ser explicado pela inibição dos canais de cálcio (Rekling, 2003). Schulz e cols (1994), verificaram uma redução nas lesões do estriado provocado pela toxina 3-acetilpiridina em ratos tratados com lamotrigina. O pré-tratamento com lamotrigina preveniu a depleção de dopamina causado pela administração de MPTP no estriado de camundongos no Modelo de doença de Parkison (Jones-Humble e cols, 1994). A inibição da enzima glicogênio sintetase quinase, a qual contribui em muitas funções celulares incluindo apoptose, foi observada com o tratamento com a lamotrigina (Li e cols, 2002). Outra ação protetora neuronal observada com a lamotrigina foi a redução nos níveis de óxido nítrico após a indução de convulsão com pentilenotetrazol (Bashkatova et al., 2003). O óxido nítrico é responsável por várias ações nos neurônios, uma delas é aumentar a concentração de espécies reativas de oxigênios que causam lesões nas membranas neuronais.

Além dessas ações sobre os canais de sódio e cálcio voltagem-dependentes, trabalhos mostram uma atividade da lamotrigina sobre o sistema GABAérgico. Em estudo, utilizando técnica de ressonância magnética, constatou-se uma redução do GABA cerebral em pacientes com transtornos depressivos, mas não em pacientes com transtorno bipolar (Sanacora e cols, 1999). Analisando a concentração de aminoácidos excitatórios, aminoácidos inibitórios e de enzimas no hipocampo de ratos tratados cronicamente com lamotrigina 10mg/kg, Hassel e cols (2001), verificaram, nesta região, um aumento na concentração de GABA e da sua enzima de síntese, a ácido glutâmico descarboxilase. O aumento da concentração do GABA foi acompanhando pela elevação do aminoácido taurina, o qual exerce efeito inibitório no Sistema Nervoso Central (Tremblay e cols, 1996). O aumento da concentração extracelular de GABA apenas ocorreu com a administração crônica de lamotrigina, visto que a administração aguda de lamotrigina na dose de 5, 20 e 100mg/kg não alterou a concentração de GABA no hipocampo. Em cultura de células do córtex entorrinal, a lamotrigina aumentou a frequência de correntes elétricas inibitórias pós-sinápticas (IPSC), devido ao aumento da liberação de GABA pelos neurônios pré-sinápticos. Este efeito da lamotrigina foi independente de canais

de sódio, pois esta ação inibitória permaneceu após a administração de tetrodotoxina, um agente bloqueador dos canais de sódio (Cunninham, e cols, 2000). No entanto, estes trabalhos que relatam o aumento da liberação de GABA utilizaram doses excessivamente elevadas de lamotrigina, como por exemplo, no estudo de Cunninham e cols (2000) que usou uma concentração de 100 μ M administrada localmente em fatias de córtex entorrinal de ratos. Em estudo envolvendo expressões de genes, verificou-se aumento na concentração de mRNA da subunidade β -3 do receptor GABA-A e da expressão deste gene na região CA1, CA3 e no giro denteado de hipocampo de ratos (Wang e cols, 2002). Apesar destes resultados, que mostram um aumento na transmissão GABAérgica em regiões do SNC, alguns trabalhos indicam uma redução nesta atividade. Em experimentos in vitro, a lamotrigina reduziu a liberação de GABA mediado por veratridina em fatias de córtex cerebral de ratos (Waldmeier, 1995). Braga e cols (2002), demonstraram uma redução na transmissão sináptica mediado pelo GABA na amígdala basolateral. Em estudos em humanos saudáveis e sem histórico de doenças psiquiátricas, o tratamento com 100mg/dia durante uma semana não alterou a concentração plasmática de GABA (Shiah e cols, 2003).

A primeira observação de um possível efeito da lamotrigina no humor foi realizada por Smith et al. (1993). Estes autores observaram que a adição de lamotrigina ao tratamento (esquema duplo-cego, randomizado, comparativo com placebo) de pacientes com epilepsia parcial refratária acarretou uma melhora na qualidade de vida, particularmente no humor (Smith e cols, 1993). Mais recentemente, estudos têm mostrado a eficácia da lamotrigina no tratamento de Transtorno Bipolar¹ e na Depressão Bipolar² (Ghaemi e Gaughan, 2000; Bowden, 2002). Por exemplo, pacientes com transtorno bipolar tratados com lamotrigina

¹ Os transtornos Bipolares são classificados em: Transtorno Bipolar I, no qual existem alterações de episódios maníacos com episódios depressivos e Transtorno Bipolar II, que há alterações de episódios depressivos com quadros de hipomania.

² Depressão bipolar: episódio depressivo em paciente com transtorno bipolar

mostraram menor taxa de recaída que pacientes tratados com placebo (Calabrese e cols, 2003). No mesmo estudo, quando analisado o tempo para recaída de um quadro depressivo, a lamotrigina apresentou um efeito antidepressivo maior que lítio e o controle. Trinta pacientes internados com transtorno bipolar I, em fase de mania, foram divididos para receber lamotrigina administrada em dose única diária (25mg/dia por uma semana, 50mg/dia na segunda semana e 100mg/dia por pelo menos 2 semanas) ou lítio (800mg/dia) em um estudo duplo-cego de 4 semanas de duração. Ambos tratamentos levaram à melhora dos sintomas de mania, avaliada através da Escala de Avaliação de Mania e da Escala de Impressão Clínica Global para severidade e melhora, não ocorrendo diferença significativa entre os grupos (Ichim e cols, 2000). Vieta e cols (2003), verificaram a eficácia da lamotrigina em 17 pacientes com transtorno bipolar II¹ com história de resposta insuficiente ao lítio e outros estabilizadores do humor, em um período de 6 meses. Dos 17 pacientes, 12 pacientes completaram o estudo, havendo significativa melhora nos escores da Escala de Hamilton para Depressão e na sub-escala Clínica Global para Depressão no Transtorno Bipolar, confirmando o perfil antidepressivo da lamotrigina e sua efetividade no transtorno bipolar II. Em pacientes com depressão associada com epilepsia parcial, o tratamento com lamotrigina melhorou o humor e o estado depressivo destes pacientes (Sackellares e Sackellares, 2002). Calabrese e cols (1999) demonstraram que a lamotrigina foi eficaz no tratamento de transtorno Bipolar I, em pacientes que haviam apresentado um episódio depressivo recentemente. Usando a escala de Depressão de Montgomery-Asberg e Escala de Impressão Clínica Global as taxas de respostas com a lamotrigina 200mg/dia foram maiores que a observada com o placebo. Outro estudo avaliou a eficácia da lamotrigina em pacientes com transtorno do humor refratários a tratamentos com ácido valpróico, lítio e carbamazepina (Frye e cols, 2000). Na dose média de 274mg/dia a lamotrigina apresentou uma taxa de resposta ao tratamento maior que a gabapentina e o lítio, além de apresentar uma melhora significativa na Escala de 17-itens de Hamilton para Depressão.

Como terapia de manutenção a lamotrigina tem apresentado boa resposta em pacientes bipolares “cicladores rápidos”, os quais alteram ciclos de hipomania e depressão em curto intervalo de tempo, como por exemplo, mais de quatro ciclos em um ano (Calabrese e cols, 2000). Em 182 pacientes, foi administrado lamotrigina 100 – 500mg/dia (n=93) ou placebo (n=89) durante um período de 6 meses. Os pacientes tratados com lamotrigina apresentaram menores taxas de recaídas, comparado ao grupo placebo.

Em experimentos pré-clínicos, a lamotrigina apresentou efeito antimaníaco num modelo animal de mania (Arban e cols, 2005). Neste teste, foram administrados em camundongos uma solução contendo 1,25mg/kg de d-anfetamina com 6,25mg/kg de clordiazepóxido, a qual aumenta a atividade locomotora dos animais, e que representa um sintoma nos episódios maníacos em humanos, que é a hiperatividade. As drogas com ação estabilizadora de humor, como o lítio, diminuem a atividade locomotora provocada por esta solução, embora drogas antagonistas dopaminérgicas, como o haloperidol, também diminuem a locomoção dos animais. A lamotrigina foi capaz de reverter o aumento da atividade locomotora provocado pela solução de d-anfetamina com clordiazepóxido.

O mecanismo de ação da lamotrigina como antidepressivo e estabilizador de humor é desconhecido. A lamotrigina mostrou uma ação inibitória inespecífica na recaptação de monoaminas (noradrenalina, serotonina e dopamina) em plaquetas humanas e sinaptossomos de ratos (Southam e cols, 1998). Este efeito foi independente da ação sobre canais de sódio, pois não houve alteração na recaptação de serotonina na presença de tetrodoxina (bloqueador dos canais de sódio). A inibição da síndrome serotoninérgica induzida por *p*-cloroanfetamina em ratos sugerem que a lamotrigina também inibe a recaptação de serotonina *in vivo* (Southam e cols, 1998). Alterações em receptores serotoninérgicos pré-sinápticos 5-HT_{1A} também foram verificadas em cérebros de ratos após o tratamento com lamotrigina 5mg/kg (Vinod e Subhash, 2002). Os receptores pré-sinápticos 5-HT_{1A} parecem estar relacionados com os transtornos de humor (Stamford e cols, 2000).

Estes receptores estão localizados nos neurônios pré-sinápticos dos núcleos da rafe e em neurônios pós-sinápticos no hipocampo e córtex cerebral, estando acoplados a proteína G inibitória. A ativação dos receptores pré-sinápticos leva a inibição da liberação de serotonina, sendo que a dessensibilização destes receptores pré-sinápticos aumenta a liberação de serotonina, a qual exerce efeito antidepressivo, provavelmente atuando em receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos no hipocampo e córtex.

A ação antiglutamatérgica da lamotrigina também pode contribuir para seu efeito antidepressivo (Ketter et al., 2003), uma vez que o glutamato tem sido relacionado à depressão (Petrie et al., 2000; Rada et al., 2003) e que antagonistas de receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) (dizolcipina, ácido-7-fosfonoheptanóico, etc.) tem apresentado efeito tipo antidepressivo em modelos animais de depressão como o teste de natação forçada, o desamparo aprendido e a anedonia induzida por estresse brando repetido (Maj et al., 1992; Redmond et al., 1997; Skolnick, 1999; Petrie et al, 2000). Portanto, o possível efeito antidepressivo da lamotrigina pode ser mediado tanto por um ação monoaminérgica como glutamatérgica. É interessante notar ainda que a carbamazepina e a oxcarbazepina, anticonvulsivantes que como a lamotrigina também atuam sobre canais de sódio voltagem dependentes (Ketter et al., 2003), apresentaram um perfil antidepressivo em modelos animais de depressão (Barros e Leite, 1987; Bejjani e cols, 1998; Joca e cols, 2000).

2.2. Glutamato e Depressão:

O papel do glutamato e dos seus receptores nos diversos transtornos neurológicos vem sendo estudado há aproximadamente vinte anos (Meldrum, 1985). Pacientes com diagnóstico de depressão apresentaram maior concentração sérica de glutamato comparado com grupo controle (Kim e cols, 1982). Mauri e cols (1998) verificaram uma redução nos níveis de glutamato sérico de pacientes deprimidos

tratados com fluvoxamina. Entretanto, quando analisado a concentração de glutamato no SNC, os resultados são o contrário dos apresentados na concentração plasmática. Análise através de ressonância nuclear magnética mostrou uma redução nos níveis de glutamato no córtex cingulado anterior em pacientes com transtornos depressivos (Auer, e cols, 2000).

Atualmente trabalhos vêm se dedicando ao estudo do receptor NMDA nos transtornos do humor. O receptor NMDA consiste em um canal iônico regulado por ligantes e voltagem. No estado de repouso o fluxo de corrente iônica é bloqueado devido à ligação do íon magnésio no interior no canal. Quando há uma despolarização, geralmente causado por fluxo de sódio para o interior da célula, o magnésio é deslocado e promove a entrada de cálcio e sódio através do canal (Collingridge e cols, 1983). A modulação farmacológica do receptor pode ser feita através da ligação de agonistas e antagonistas em diferentes sítios reguladores presentes no canal. O glutamato se liga em sítio específico no receptor NMDA, ação que é bloqueada pela presença do antagonista ácido D-amino-5-fosfonopentanóico (Petrie e cols, 2000). O sítio modulador o qual se liga a glicina tem importante função na ativação do receptor NMDA. O receptor NMDA pode ser bloqueado, não competitivamente, por drogas que se ligam num sítio dentro do canal, conhecido como sítio PCP, devido à ligação da droga fenciclidina (Petrie e cols, 2000). Exemplo destas drogas são a fenciclidina, ketamina e dizocilpina (MK-801). A ligação dos antagonistas não competitivos pode ser potencializada pela modulação de poliaminas que se ligam em sítio específico no receptor NMDA, o *sítio de poliaminas* (Lodge e Jonhson, 1990).

Estudos *in vivo* e *ex vivo* indicam que o receptor NMDA pode ser um local de ação dos antidepressivos (Paul e cols, 1993). Baseado nesta hipótese, Trullas e Skolnick (1990) propuseram que antagonistas do receptor NMDA teriam atividade antidepressiva em modelos animais de depressão. Utilizando dizocilpina (MK-801), ácido-7-fosfonoheptanóico (AP-7) e ácido-1-aminociclopranocarboxílico (ACPC), antagonistas do receptor NMDA, notou-se que todos apresentavam efeito

antidepressivo no modelo de natação forçada em camundongos. O dizolcipina na dose de 0,1mg/kg reduziu o tempo de imobilidade no teste de natação forçada em ratos, mas ao mesmo tempo aumentou a atividade locomotora (Maj e cols, 1992). Várias drogas apresentam aumento na atividade locomotora e diminuição na imobilidade no teste de natação forçada, resultado considerado como falso positivo. Em outros trabalhos, tanto o AP7 como a dizolcipina reduziram o tempo de imobilidade em doses que não produziram aumento na atividade locomotora (Trullas e Skolnick, 1990; Mantovani e cols, 1999). A cetamina, antagonista do receptor NMDA, mostrou um efeito prolongado na imobilidade no teste de natação forçada (Yilmaz e cols, 2002). Quando a cetamina foi administrada na dose que produz anestesia (160mg/kg) dez dias antes do teste, a droga exibiu uma redução do tempo de imobilidade no teste de natação forçada que teve duração de aproximadamente dez dias. Em humanos, a administração intravenosa de cetamina (0,5mg/kg) induziu uma significativa melhora nos sintomas depressivos, o qual foi evidente após uma semana do tratamento (Berman e cols, 2000). O zinco, que atua como antagonista do receptor NMDA através do bloqueio do canal iônico, também apresentou efeito antidepressivo em ratos e camundongos submetidos ao teste de natação forçada, provavelmente através de uma ação em receptores NMDA (Krocicka e cols, 2001; Rosa e cols., 2003).

O efeito das drogas antagonistas do receptor NMDA em outros modelos de depressão, como o Modelo de Desamparo Aprendido (Seligman e Maier, 1967) e o Modelo de Anedonia (Willner e cols, 1992), também já foram avaliadas. Meloni e cols (1993), mostraram que ratos expostos a uma série de choques incontroláveis e imprevisíveis e depois colocados em locais onde existiam chances de escapar apresentavam maior falência em escapar que ratos não submetidos às sessões de choques. A administração de dizolcipina trinta minutos antes das sessões de choques incontroláveis, diminuiu o número de falhas em escapar do estímulo aversivo. A reversão do déficit no consumo de solução de sacarose em ratos expostos a estresse crônico também foi verificada com o tratamento crônico de

dizolcipina (Papp e Moryl, 1993), CGP 3789 e CGP 4011 (antagonistas do receptor NMDA) (Papp e Moryl, 1994). Estes resultados são indicativos de um efeito antidepressivo.

Estudos *in vitro* têm sugerido que os antidepressivos clássicos, como os tricíclicos, interagem diretamente com os receptores NMDA (Petrie e cols, 2000). Serenagor e cols (1989), mostraram que a desipramina, antidepressivo inibidor da recaptção de noradrenalina, bloqueava o fluxo iônico conduzido através do receptor NMDA em culturas de neurônios do hipocampo. Diversas classes de antidepressivos, incluindo os tricíclicos e os inibidores da recaptção de serotonina, inibiram a ligação do [³H]MK-801 ao receptor NMDA em membranas de cérebro de camundongo (Kitamura e cols, 1991). No trabalho de Paul e cols (1993), camundongos foram tratados cronicamente com antidepressivos utilizados na clínica e eletroconvulsoterapia. Após o tratamento, os camundongos foram sacrificados e com amostras do neocórtex examinou-se a potência da glicina em inibir a ligação do 5-7-ácido diclorokinurético (5-7-DCKA) no sítio da glicina insensível à estricnina, o qual está localizado no complexo receptor NMDA. O tratamento crônico com antidepressivo e eletroconvulsoterapia reduziram a potência da glicina em inibir a ligação do 5-7-DCKA no receptor. No entanto, drogas que apresentam efeitos falso-positivos no modelo de natação forçada não causaram nenhuma alteração. Os autores sugeriram que este modelo serviria como avaliação pré-clínica para drogas antidepressivas. Esses resultados mostraram que os antidepressivos provocam mudanças adaptativas na propriedade de ligação no receptor NMDA.

A ativação dos receptores do glutamato resulta no aumento dos níveis de cálcio intracelular nos neurônios pós-sinápticos. O cálcio estimula a proteína quinase cálcio-calmodulina dependente, a qual aumenta a atividade da enzima óxido nítrico sintase (NOS) (Southam e Garthwaite, 1993). A NOS é uma enzima responsável pela síntese de óxido nítrico, que ocorre a partir da conversão da L-arginina em L-citrulina. O óxido nítrico liberado é capaz de estimular a guanilato ciclase que leva a formação de proteína quinase dependente de GMPc (PKG). A PKG fosforila

receptores de glutamato e conseqüentemente estimula a atividade glutamatérgica (Paul e Skolnick, 2003). Outro efeito do óxido nítrico seria sua capacidade de atravessar a membrana plasmática e agir nos neurônios pré-sinápticos, aumentando a liberação de glutamato e a eficiência das sinapses. O glutamato e óxido nítrico estão implicados nos mecanismos celulares da memória e da plasticidade neuronal (Harvey, 1996).

O óxido nítrico parece estar envolvido nos distúrbios depressivos (Harvey, 1996). Antidepressivos inibiram a atividade da enzima óxido nítrico sintase neuronal (Wegener e cols, 2003). O antidepressivo paroxetina, inibidor seletivo da recaptação de serotonina, inibiu a NOS constitutiva em modelos animais e humanos (Finkel e cols, 1996). A inibição da NOS produz efeito tanto ansiolíticos com antidepressivos em modelos animais, como, por exemplo, no teste de natação forçada em ratos e camundongos (Harkin e cols, 1999; Jefferys e Funder, 1996; da Silva e cols, 2000). Estes efeitos são revertidos pela administração de substrato da enzima como L-arginina, o que indica a participação do óxido nítrico nas respostas comportamentais nos modelos de depressão (Harkin e cols, 1999; da Silva e cols, 2000). Estudos têm sugerido que a inibição das NOS poderia ter ação antidepressiva através da modulação na liberação de monoaminas e serotonina (Kiss, 2000). Harkin e cols (2002), demonstraram que inibidores da NOS, como as drogas L-NA (N^G -nitro-L-arginina) e 7-NI (7-nitroimidazole), diminuíram o tempo de imobilidade no teste de natação forçada em ratos. Este efeito foi revertido com o pré-tratamento com paraclorofenilalanina, um inibidor da enzima triptofano hidroxilase que leva a depleção de serotonina endógena, indicando a participação da serotonina neste efeito.

Um efeito fisiológico importante mediado pelos receptores NMDA é a indução de LTP (*long term potentiation*, potencial de longa duração). O LTP consiste no aumento da resposta de neurônios pela estimulação repetitiva de axônios que fazem sinapses com eles. Estes aumentos da excitabilidade dos neurônios duram vários dias, e são dependentes da ativação dos receptores AMPA e NMDA. A estimulação do receptor NMDA promove a entrada de cálcio para o interior do

neurônio e ativa várias enzimas proteínicas-quinases. Estas enzimas promovem a fosforilação de diversas proteínas, entre elas receptores de membrana. Duas destas proteínas-quinases, a CAMKII (proteína quinase dependente de cálcio-calmodulina II) e PKC (proteína quinase dependente de cálcio-diacilglicerol), fazem a fosforilação de receptores de glutamato, a qual leva a ativação dos mesmos. Outras proteínas quinases, como a MAPK (proteínas-quinases ativáveis por agentes mitógenos) e PKA (proteína-quinase dependente de AMPc) fosforilam fatores de transcrição de DNA. Um importante fator de transcrição ativado é o CREB (do inglês, *cAMP responsive-element binding protein*), o qual induz a síntese de diversos mRNA, e conseqüentemente a produção de diversas proteínas. Esta ação aumenta e fortalece as sinapses entres os neurônios envolvidos no LTP (Izquierdo, 2002).

O LTP é considerado como mecanismo das formações das memórias (Malenka, 1995). A maioria dos estudos focados no LTP se baseia no seu papel na aprendizagem e memória (Petrie e cols, 2000). Além destas funções, o LTP também pode ser importante nas patologias neuropsiquiátricas (Reid e Stewart, 1997). Trabalhos mostram uma redução na indução de LTP em animais que são expostos a estímulos estressantes. Há evidências que o excesso de estresse precedem os episódios depressivos em humanos (Petrie e cols, 2000). Birnstiel e Haas (1991) estudaram efeito agudo de antidepressivos no potencial pós-tetânico e no LTP na região CA1 do hipocampo de ratos. O potencial pós-tetânico é uma resposta em sinapses excitatórias à breves estímulos de alta freqüência, que consiste num aumento temporário na resposta pós-sinápticas. As fatias de hipocampos tratados com os antidepressivos, imipramina e levoprotalina, mostraram redução na indução de LTP em relação ao grupo controle, no potencial pós-tetânico não houve diferença significativa. Outro estudo, utilizando fatias de hipocampo, o tratamento crônico de ratos com imipramina, mostrou uma redução na indução de LTP (Massicotte e cols, 1993). A fluoxetina, antidepressivo inibidor seletivo da recaptação de serotonina, foi administrado durante quinze dias em ratos, sendo que após o tratamento os animais foram anestesiados com uretano e foi avaliada a indução de LTP medido no giro

denteado. O tratamento com antidepressivo reduziu a indução de LTP (Stewart e Reid, 2000). Uma provável explicação do efeito serotoninérgico na inibição de LTP, seria através de uma ação sobre receptores 5-HT_{1A}, o qual está acoplado a proteína G inibitória e que leva a redução de AMPc, importante mediador químico na formação de LTP. A lesão de neurônios da rafe com a droga 5,7 – hidroxitriptamina, aumentou a plasticidade neuronal de longa duração na via hipocampo-córtex pré-frontal medial em ratos, o que corrobora com o efeito inibitório da serotonina na formação de LTP (Ohashi e cols, 2003). Como o LTP está relacionado com os processos de memória e aprendizado, um possível efeito das drogas serotoninérgica seria a inibição da retenção de estímulos aversivos (Langosch e Walden, 2002).

Algumas evidências indicam que o hipocampo está implicado nas respostas neuroquímicas e comportamentais a estímulos aversivos (Guimarães e cols, 1993). Estudos mostram que ratos submetidos a uma sessão de estresse apresentam aumento dos níveis de mRNA de *c-fos* no hipocampo (Titze-de-Almeida e cols, 1994). Efeito que é revertido pela administração de AP-7, antagonista competitivo do receptor NMDA, o que indica o envolvimento de neurotransmissão glutamatérgica. O teste de natação forçada aumenta a concentração de glutamato extracelular no hipocampo (Moghaddam, 1993). A administração de AP-7 no hipocampo dorsal aumentou a latência do primeiro episódio de imobilidade no teste de natação forçada em ratos (Padovan e Guimarães, 2004). A redução da transmissão glutamatérgica no hipocampo também é realizada através da modulação pelos receptores serotoninérgicos (Varga e cols, 2002). Na maioria das regiões do hipocampo, incluindo as regiões CA1 e o giro denteado, a serotonina causa uma hiperpolarização via a ativação de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos (Colino e Halliwell, 1987).

Outra estrutura cerebral que estaria relacionando o papel do glutamato nos distúrbios afetivos seria o córtex pré-frontal. As administrações de drogas antidepressivas atualmente utilizadas na clínica alteram as propriedades de ligação dos receptores NMDA (Drevets e cols, 1998). Recentemente, tem sido verificado que

nos transtornos depressivos existe uma redução na contagem de células da glia no córtex pré-frontal. A redução no número de células da glia resulta na redução do metabolismo do glutamato, o que eleva sua concentração no córtex pré-frontal (Nowak e cols, 1995). Estes achados levaram a hipótese que a modulação da transmissão glutamatérgica no córtex pré-frontal poderia ser responsável pela ação dos antidepressivos inibidores de noradrenalina e serotonina (Pralong e cols, 2002).

2.3. Modelos Animais de Depressão:

Pesquisas pré-clínicas são essenciais para o desenvolvimento de novas terapias e para o estudo da neurobiologia dos transtornos mentais (Andreatini, 2002). Os modelos animais de depressão são um excelente método na identificação de novos antidepressivos, de seu mecanismo de ação e no estudo da neurobiologia da depressão.

O maior problema nestes métodos é a dificuldade de reproduzir certos sintomas da depressão, como: melancolia, sentimento de culpa e pensamentos suicidas, comportamentos essencialmente humanos. Há sete anos, Willner (1997) revisou os modelos animais de depressão e verificou que alguns comportamentos refletiam alguns sintomas humanos na depressão. Como exemplo, o modelo de estresse crônico pode induzir no animal uma condição similar a distímia em humanos, além de provocar anedonia (perda do prazer a estímulos anteriormente prazerosos) a qual é um dos sintomas da depressão. McKinney e Bunney (1969) propuseram que os modelos animais de depressão devem cumprir um mínimo de requisitos, entre eles: ter analogia com a depressão humana na sua manifestação ou sintomas; existir uma mudança comportamental no animal que possa ser controlada objetivamente; as mudanças comportamentais alteradas no animal devem ser revertidas pelo mesmo tratamento antidepressivo utilizado em seres humanos e ter

reprodutibilidade. Para Geyer e Markou (1995), o critério essencial para que o modelo animal tenha utilização na avaliação pré-clínica é possuir validade preditiva e reprodutibilidade entre laboratórios.

Os modelos de depressão comumente utilizados são diversos e foram desenvolvidos baseados nas alterações comportamentais produzidas pelo estresse, drogas ou lesões em estruturas cerebrais (Cryan e cols, 2002a). Muitos destes modelos têm sido submetidos a diversos melhoramentos para se manter atualizado com os contínuos avanços na terapia farmacológica. Os modelos de depressão mais utilizados na avaliação pré-clínica são: o modelo de desespero comportamental e o modelo de desamparo aprendido. Um exemplo de modelo de desespero comportamental seria o Teste de Natação forçada (Porsolt e cols, 1977), e para modelo de desamparo aprendido seria a Esquiva Ativa de duas vias após administração de choques inescapáveis e imprevisíveis (Sherman e cols., 1982).

O teste da natação forçada (TNF), desenvolvido por Porsolt e cols (1977), tem sido o mais empregado para avaliar a atividade antidepressiva pré-clínica, devido a sua fácil utilização, grande reprodutibilidade entre os laboratórios e a habilidade de detectar um grande espectro de agentes antidepressivos (Borsini e Meli, 1988; Cryan et al., 2002a). O teste consiste em colocar o animal (rato ou camundongo) em um cilindro com água do qual não consegue fugir. Inicialmente, o animal apresenta movimentos para tentar escapar do cilindro (por exemplo escalar o cilindro e nadar de um lado para o outro), mas após um certo tempo, o animal desenvolve uma postura quase imóvel. Este comportamento refletiria um fracasso na tentativa de escapar do estímulo estressante (comportamento de desespero), o qual equivaleria ao retardo psicomotor observado em muitos pacientes deprimidos (Willner, 1984). Outras interpretações seriam que a imobilidade pode ser um comportamento adaptativo do animal para a manutenção de energia, ou um estado de desesperança no qual o animal perde a expectativa de fuga (Preston e Weston, 1990). Os antidepressivos reduzem a duração da imobilidade do animal comparado ao veículo (Borsini e Meli, 1988). Entretanto, alguns problemas ocorrem com este

modelo: o tratamento antidepressivo com doses elevadas altera o tempo de imobilidade no curto período de tempo, enquanto no homem o mesmo antidepressivo leva semanas para produzir efeito; os inibidores seletivos da recaptção de serotonina não são detectados pelo procedimento original, consistindo, portanto, um importante grupo de drogas falso negativo (Cryan e cols, 2002a). Além disso, o modelo pode apresentar resultados falsos positivos, como por exemplo, com drogas estimulantes motoras ou amnésicas. Drogas estimulantes motoras, como a anfetamina, diminuem o tempo de imobilidade e não apresentam efeito antidepressivo na clínica; assim como drogas amnésicas, que podem diminuir o tempo de imobilidade por alterações nos mecanismos de consolidação da memória (Preston e West, 1990; Willner, 1984). Com isso, existe a necessidade de se realizar experimentos adicionais com modelos que avaliam a atividade locomotora e memória. Dois modelos que podem ser utilizados para esta finalidade seriam o teste no campo aberto, que avalia a atividade locomotora, e a habituação no campo aberto para avaliar o aprendizado e memória (Kelly, 1993).

Recentemente foi proposta uma alteração do modelo tradicional de natação forçada, que denominaremos neste trabalho de Teste de Natação Forçada Modificado, com a separação do comportamento do animal em: escalada, natação e imobilidade (Detke et al., 1995; Lucki, 1997; Cryan e cols, 2002a). O comportamento de escalada consiste em movimentos com os quais os animais tentam subir pelas paredes do cilindro com as patas dianteiras. A natação é caracterizada como movimentos horizontais, em que o animal nada de um quadrante para o outro. A imobilidade, como definido no teste de Porsolt, é considerada quando nenhuma atividade adicional é observada além daquelas requeridas para manter a cabeça do animal em cima da água. O principal avanço do Modelo de Natação Forçada Modificada sobre o modelo tradicional de Porsolt é que permite a detecção de drogas serotoninérgicas (anteriormente consideradas falso negativas), diferenciando-as de drogas noradrenérgicas (Detke et al., 1995; Lucki, 1997; Cryan, 2002a). As drogas catecolaminérgicas aumentam o tempo de escalada e drogas

serotoninérgicas aumentam o tempo de natação. A avaliação da atividade da noradrenalina e serotonina nos comportamentos de escalada e natação foram verificadas em alguns trabalhos (Page e cols, 1999; Cryan e cols, 2002b). A lesão de neurônios do feixe ventral noradrenérgico, o qual está localizado no tronco cerebral, com 6-hidroxidopamina reverteu o efeito anti-imobilidade e aumento da escalada da droga reboxetina, um inibidor seletivo da recaptação de noradrenalina (Cryan e cols, 2002b). Por outro lado, o pré-tratamento com p-clorofenilalanina, inibidor da triptofano hidroxilase que é uma enzima reguladora da síntese de serotonina, reverte o efeito de redução da imobilidade com aumento da natação provocada pela fluoxetina, inibidor seletivo da recaptação da serotonina (Page e cols, 1999).

Através do Teste de Natação Forçada Modificado é possível delinear possíveis mecanismos de ação de drogas antidepressivas por meio de seus efeitos sobre os comportamentos de escalada (sistema noradrenérgico e dopaminérgico) e natação (sistema serotoninérgico).

2.4. Objetivos:

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da lamotrigina, em tratamento agudo, no Modelo de Natação Forçada Modificado, e comparar seu resultado com drogas inibidoras seletivas da recaptação de noradrenalina, drogas inibidoras da recaptação de serotonina e drogas antagonistas glutamatérgicas. Além disto, avaliou-se o efeito da lamotrigina na atividade locomotora e habituação no campo aberto, para descartar resultado falso-positivo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS:

3.1. Animais:

Foram utilizados ratos machos Wistar de 90 a 120 dias, cedidos pelo Biotério do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. O animais foram mantidos em ambientes com temperatura controlada ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$), ciclo claro-escuro de doze horas (luzes ligadas às 7:00h), com água e comida a vontade e mantidos em grupos de cinco animais por caixa. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo comitê de ética para pesquisa em animais (protocolo n° 92, CEEA – Setor de Ciências Biológicas).

3.2. Drogas:

- Lamotrigina (Cristália) dissolvida em solução de 0,9% de álcool benzílico, 0,5% Tween 80 e 0,5% carboximetilcelulose. O tratamento foi na faixa de 5-20 mg/kg. O grupo controle recebeu a solução diluente.
- MK-801 (dizolcipina) (Sigma) na dose de 0,1 mg/kg dissolvida em salina. O grupo controle foi tratado com salina.
- Imipramina (Sigma) 20 mg/kg dissolvido em salina. O grupo controle foi tratado com salina.
- Nortriptilina (Novartis) 20 mg/kg dissolvido em salina. O grupo controle foi tratado com salina.
- Paroxetina (Eurofarma) 20 mg/kg dissolvido em salina. O grupo controle foi tratado com salina.

As drogas foram administradas por via intraperitoneal em volume de 1,0 ml/kg.

3.3. METODOLOGIAS:

3.3.1. Teste de Natação Forçada Modificado:

Neste trabalho, ratos machos Wistar foram colocados em cilindro de PVC (21x 46cm) preenchido de água (22-25°C) a uma profundidade de 30cm. A profundidade de 30cm evita que os ratos toquem no fundo do cilindro, levando a valores da linha de base menor e respostas aumentadas a antidepressivos serotoninérgicos e noradrenérgicos (Detke e Lucki, 1996). Os ratos foram colocados no cilindro para uma sessão de teste durante 15 minutos. Após 24 horas da primeira exposição, os animais foram novamente colocados no cilindro durante 5 minutos, e seus comportamentos foram monitorados por uma câmera localizada em cima do cilindro. Após a sessão treino os animais foram distribuídos randomicamente aos grupos experimentais e tratados com a droga testada (ou seu respectivo controle) por via intraperitoneal três vezes nas 24 h antes da segunda exposição ao teste (ou seja, 23, 5, 1 hora antes do teste). O comportamento predominante (escalada, natação ou imobilidade) do animal é verificado a cada 5 segundos, durante 5 minutos de teste (Detke e cols, 1995; Page e cols., 1999; Cryan e cols., 2002b). O comportamento de escalada consiste em movimentos verticais, no qual o animal tenta com as patas dianteiras fora da água escalar as paredes do cilindro. O comportamento de natação é definido como movimentos horizontais, no qual o animal realiza movimentos circulares e cruzamentos de um quadrante para o outro. A imobilidade é verificada quando não existe nenhum movimento adicional além daqueles necessários para manter a cabeça do animal fora da água.

3.3.2. Avaliação da Atividade Locomotora:

Este teste é utilizado para verificar a atividade locomotora do animal. O teste foi realizado numa arena retangular com 51cm de largura, 41 de comprimento e 60cm de altura, com o piso dividido em 20 quadrados de 10cm de lado. Os experimentos foram gravados por uma câmera apoiada na parte superior da arena. As paredes não permitem a visualização do observador pelo animal. Os animais foram colocados individualmente no centro do campo aberto (CA). Durante a observação foi registrado a frequência de locomoção (LC, entrar em uma divisão com as 4 patas). A arena foi limpa com solução de água-álcool 5% após cada animal ter sido submetido ao teste (Beijamini et al., 1998).

Com este teste é possível verificar se a diminuição do tempo de imobilidade, no Teste de natação Forçada, não se deve a um efeito estimulante da droga, a qual aumentaria a atividade locomotora do animal no Campo Aberto (Kelly, 1993).

3.3.3. Avaliação da Habituação no Campo Aberto:

O experimento foi realizado de acordo com a metodologia da Avaliação da Atividade Locomotora, sendo que o diferencial foi que os animais foram submetidos a duas passagens no Campo Aberto. Na primeira passagem os animais foram colocados no campo aberto e avaliou-se sua atividade locomotora durante 5 minutos. Em seguida, foi administrado lamotrigina ou veículo 23, 5 e 1 hora antes da segunda exposição ao campo aberto, na dose de 20mg/kg. Verificou-se a atividade locomotora na segunda passagem durante 5 minutos. A repetição do teste no Campo Aberto permite, através da habituação, avaliar o efeito dos tratamentos na memória (Kelly, 1993).

3.4. Análise estatística:

Os dados paramétricos (tempo de imobilidade, atividade locomotora na caixa de movimentação, etc.) foram analisados por meio do Teste t Student, Teste t Student pareado (habituação no campo aberto) ou ANOVA de uma via, seguido pelo teste post-hoc de Newman-Keuls. Foram considerados significativos os resultados com $p < 0,05$.

4. RESULTADOS:

4.1. Efeito da Imipramina, Paroxetina e Nortriptilina no Teste de natação Forçada Modificado:

O Teste de Natação Forçada Modificado foi realizado com três drogas antidepressivas com mecanismo de ação diferentes, imipramina (inibidor da recaptção de noradrenalina e serotonina), paroxetina (inibidor seletivo da recaptção de serotonina) e nortriptilina (inibidor da recaptção de noradrenalina), todas na dose de 20mg/kg, para validar o modelo em nosso laboratório e estabelecer o padrão comportamental de drogas seletivas da recaptção de noradrenalina e serotonina.

O efeito da imipramina no Teste de Natação Forçada Modificado é mostrado nas Figs 1. A imipramina na dose de 20mg/kg diminuiu o comportamento de imobilidade ($t=3,458$, $gl=12$, $p < 0,01$), e aumentou o comportamento de natação dos animais ($t=2,797$, $gl=12$, $p < 0,05$). O comportamento de escalada não apresentou diferença significativa entre os grupos ($t= 1,578$, $gl=12$).

O tratamento com paroxetina (20mg/kg) diminuiu o tempo de imobilidade

($t=5,072$, $gl=12$, $p<0,001$), e resultou no aumento do comportamento de natação($t=2,887$ $gl=12$, $p<0,05$) no teste. Os dois grupos não apresentaram diferenças significativas em relação ao comportamento de escalada ($t= 0,726$, $gl=12$) (Fig. 2).

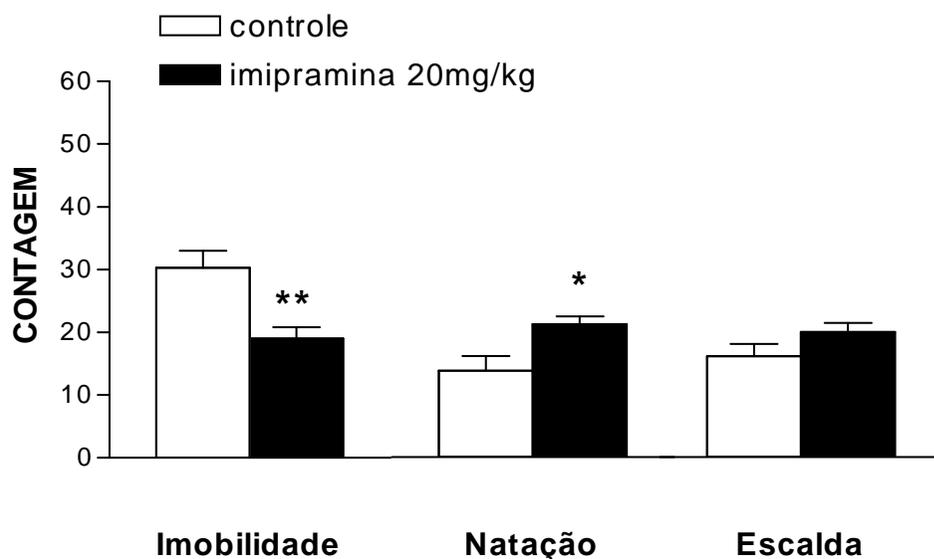


Fig 1. Efeito da Imipramina 20mg/kg nos comportamentos de escalada, natação e imobildade no Modelo de Natação Forçada Modificado. Os valores acima representam a média \pm SEM do número de escalada, natação e imobildade. $n = 7$ /grupo. Teste t Student, * $p<0,05$, ** $p<0,01$,.

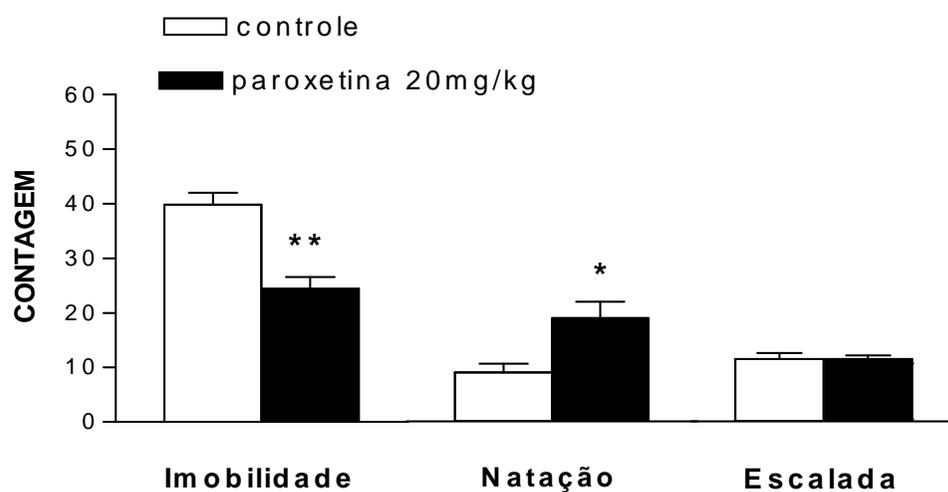


Fig 2. Efeito da paroxetina 20mg/kg, i.p., nos comportamentos de escalada, natação e imobildade no Modelo de Natação Forçada Modificado. Os valores acima

representam a média \pm erro padrão do número de escalada, natação e imobilidade. N=7/grupo. Teste t Student, *p<0,05, **p<0,001.

A nortriptilina (20mg/kg) reduziu a contagem de imobilidade no teste da Natação Forçada Modificado (t=7,007, gl=12, p<0,0001), com conseqüente aumento do número de escalada (t=6,121, gl=12, p<0,0001) não havendo diferença significativa no comportamento de natação (t=1,183, gl=12) (Fig. 3).

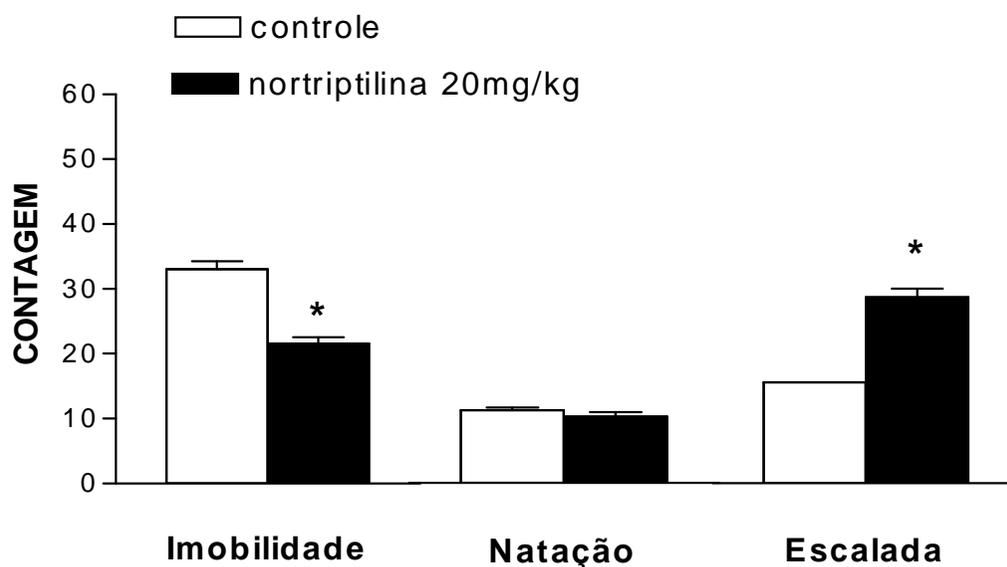


Fig 3. Efeito da Nortriptilina 20mg/kg, i.p., nos comportamentos de escalada, natação e imobilidade no Modelo de Natação Modificado. Os valores acima representam a média \pm erro padrão da média do número de escalada, natação e imobilidade. N=7/grupo. Teste t Student, *p<0,0001.

4.2. Efeito da Dizolcipina (MK-801) 0,1mg/Kg no Teste de Natação Forçada Modificado:

A Dizolcipina (0,1 mg/kg) reduziu a imobilidade (t=4,500, gl=19, p<0,001) no Teste de natação Forçada Modificado, com aumento do comportamento de natação (t=6,232, gl=19, p<0,0001). O grupo Dizolcipina apresentou uma

diminuição significativa no comportamento de escalada ($t=3,580$, $gl=19$, $p<0,01$) em relação ao controle (Fig. 4).

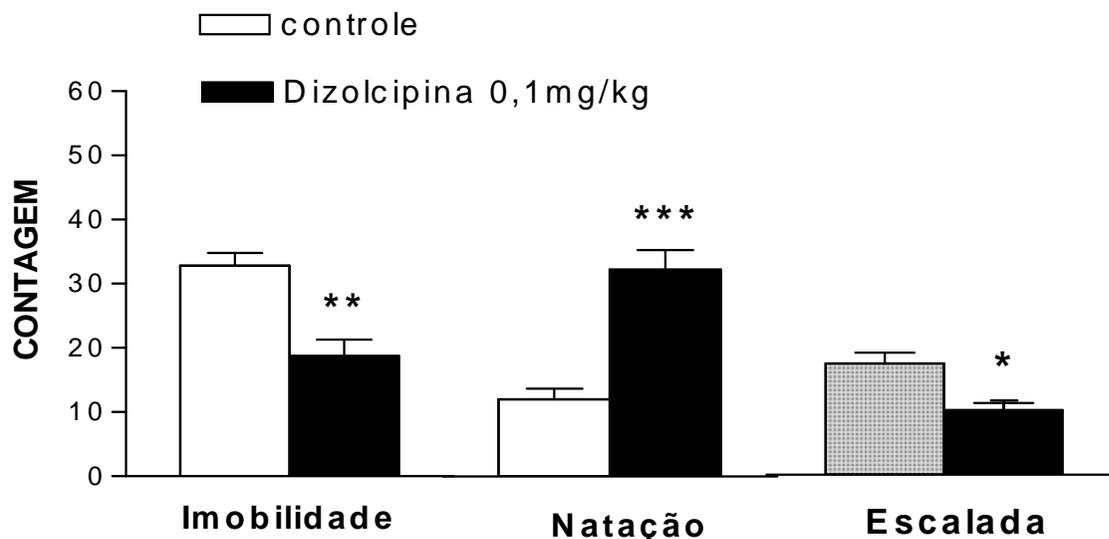


Fig 4. Efeito da Dizolcipina (MK-801) 0,1 mg/kg, i.p., nos comportamento de imobilidade, natação e escalada no Modelo de Natação Forçada Modificado. Os valores acima representam a média \pm erro padrão da média do número de escalada, natação e imobilidade. Grupo Dizolcipina (N=9) e Grupo Controle (N=12). Teste t Student, * $p<0,01$, ** $p<0,001$ e *** $p<0,0001$ em relação ao grupo controle.

4.3. Efeito da Lamotrigina no Modelo de Natação Forçada Modificado:

A lamotrigina foi testada no Modelo de Natação Forçada Modificado nas seguintes dosagens 5mg/kg, 10mg/kg e 20mg/kg (Fig. 5). Houve diferença significativa, em relação ao controle, no número de escalada [$F(3,35)=11,66$, $p<0,001$], na natação [$F(3,35)=4,669$, $p<0,01$] e na imobilidade [$F(3,35)=11,97$, $p<0,001$].

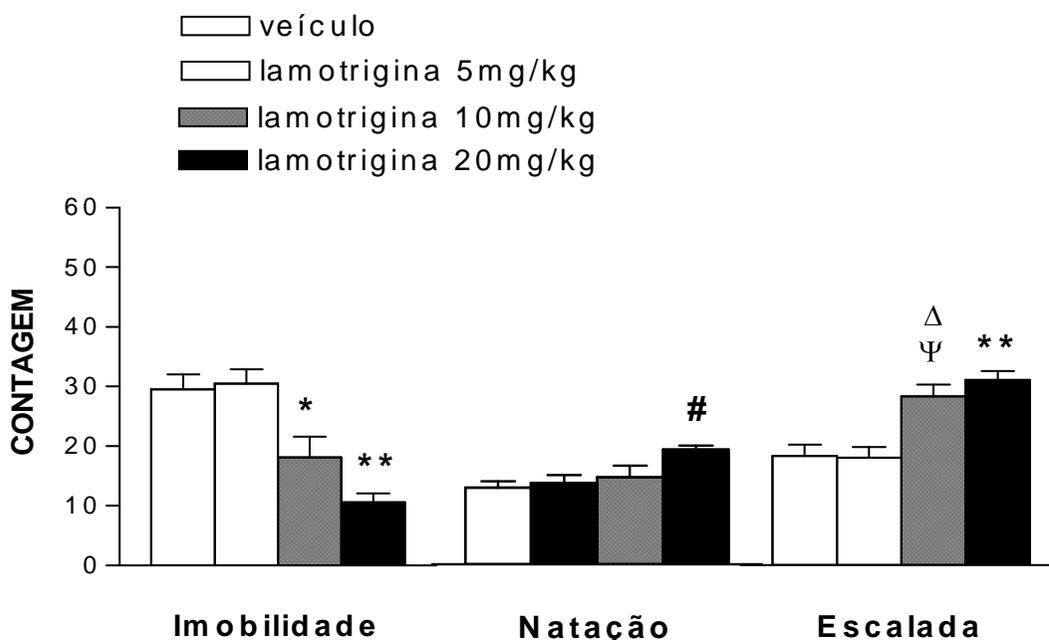


Fig 5. Efeito da Lamotrigina nas doses de 5, 10 e 20mg/kg, i.p., no Modelo de Natação Forçada Modificado. Os valores acima representam a média \pm erro padrão da média do número dos diferentes comportamentos: imobilidade, natação e escalada. Grupo veículo (N=15) e Grupos lamotrigina 5mg/kg, 10mg/kg e 20mg/kg (N=8). ANOVA, seguido do teste de Newmann-Kreuls, * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle e ao grupo lamotrigina 5mg/kg; ** $p < 0,001$ em relação ao grupo controle e ao grupo lamotrigina 5mg/kg; # $p < 0,05$ em relação aos demais grupos; Ψ $p < 0,01$ em relação ao grupo lamotrigina 5mg/kg e Δ $p < 0,001$ em relação ao grupo controle.

A administração de lamotrigina 5mg/kg i.p. não alterou nenhum comportamento. Os resultados com a lamotrigina 10mg/kg apresentaram diferença significativa em relação aos grupos controle e lamotrigina 5mg/kg nos parâmetros imobilidade ($p < 0,05$) e comportamento de escalada ($p < 0,001$, em relação ao grupo controle; $p < 0,01$, em relação ao grupo lamotrigina 5mg/kg). No parâmetro natação o grupo tratado com lamotrigina 10mg/kg não apresentou alteração neste comportamento em relação ao grupo controle.

A lamotrigina na dose de 20mg/kg reduziu a imobilidade ($p < 0,001$) e aumentou o comportamento de escalada ($p < 0,001$) e natação ($p < 0,05$) em relação aos grupos controle e lamotrigina 5mg/kg. Na natação a dose de 20mg/kg também

apresentou diferença significativa em relação ao grupo lamotrigina 10mg/kg ($p < 0,05$)

4.4. Efeito da Lamotrigina na Atividade Locomotora:

Observou-se uma diferença significativa na locomoção no campo aberto [$F(5,49)=14,79$, $p < 0,0001$] dos ratos tratados com os diferentes antidepressivos (Fig. 6). A lamotrigina na dose de 20mg/kg e os antidepressivos não mostraram diferença significativa na atividade locomotora em relação ao grupo controle. Entretanto, a dizolcipina na dose de 0,1mg/kg aumentou a atividade locomotora ($p < 0,001$).

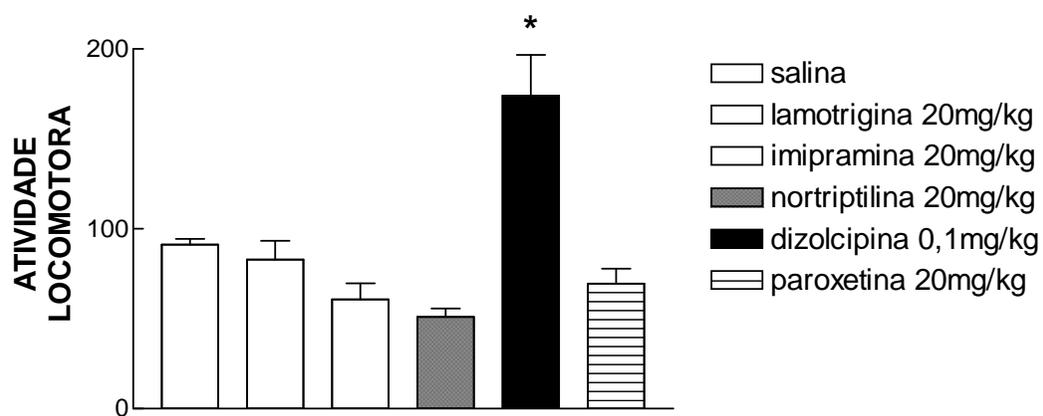


Fig 6. Avaliação da Atividade Locomotora em Campo Aberto de ratos tratados com salina (n=10), Imipramina 20mg/kg (N=10), Paroxetina 20mg/kg (N=8), Nortriptilina 20mg/kg (N=10), Dizolcipina (MK-801) 0,1mg/kg (N=8) e Lamotrigina 20mg/kg (N=10). Os valores representam a média \pm erro padrão da média. ANOVA de uma via, seguido do teste de Newmann-Keuls, * $p < 0,001$ em relação ao grupo controle.

4.5. Efeito da Lamotrigina na Habituação em Campo Aberto:

Observou-se habituação na segunda passagem no campo aberto tanto para o veículo como para a lamotrigina (Fig. 7). Os animais tratados com lamotrigina 20mg/kg apresentaram uma redução da atividade locomotora na segunda passagem ($t=7,084$, $gl=9$, $p<0,05$) no campo aberto, o mesmo ocorrendo com animais tratados com o veículo ($t=3,375$, $gl=7$, $p<0,05$) (Fig. 8).

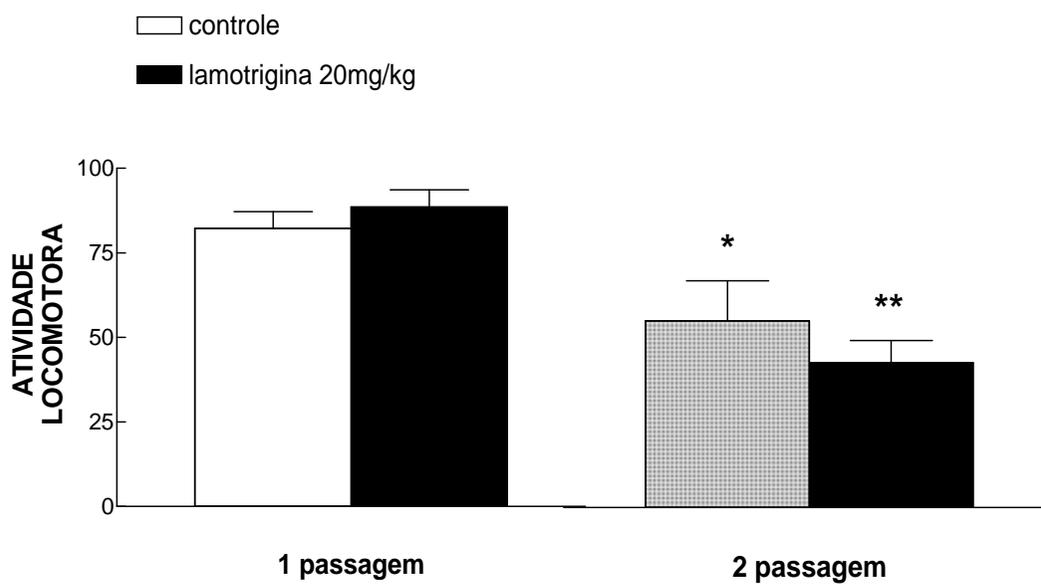


Fig 7. Avaliação da habituação no Campo Aberto de ratos tratados com veículo (grupo controle) ou lamotrigina 20mg/kg. Os valores representam a média \pm erro padrão da média. Grupo lamotrigina 20mg/kg (N=8) e grupo veículo (N=10). Teste t Student pareado, * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$ em relação a 1^o passagem do mesmo grupo.

5 . DISCUSSÃO:

Os primeiros resultados apresentados, utilizando antidepressivos de eficácia clínica comprovada, tiveram a finalidade de validar o Modelo de Natação Forçada Modificado (Detke e cols, 1995; Lucki, 1997; Page e cols, 1999; Cryan e cols, 2002a; Cryan e cols, 2002b). Antidepressivos que possuem atividade serotoninérgica diminuem a imobilidade e aumentam o comportamento de natação (Detke e cols, 1995; Lucki, 1997; Harkin e cols, 1999), resultado observado no experimento utilizando a paroxetina 20mg/kg. A paroxetina é um antidepressivo inibidor da recaptação de serotonina, sendo que seu efeito antidepressivo no teste de Natação Forçada Modificado já havia sido demonstrado (Detke e cols, 1995). Outras drogas inibidoras da recaptação de serotonina, como a fluoxetina, apresentaram o mesmo efeito da paroxetina no teste de natação forçada modificado (Page e cols, 1999). A administração de PCPA (ácido p-clorofenilalanina), reverteu o efeito de aumento da natação pela fluoxetina, indicando um papel importante da serotonina no comportamento de natação (Page e cols, 1999). O efeito apresentado com a nortriptilina, também corrobora a proposta do Modelo de Natação Forçada Modificado, pois a sua administração em ratos diminuiu a imobilidade e aumentou a escalada. A nortriptilina é um antidepressivo tricíclico, que possui maior afinidade pelas proteínas de recaptação de noradrenalina do que de serotonina (Richelson, 1994). A avaliação do sistema noradrenérgico no comportamento de escalada foi verificado no trabalho de Cryan e cols (2002b), no qual se realizou uma lesão no feixe noradrenérgico ventral com 6-hidroxidopamina, havendo com isso uma reversão dos efeitos anti-imobilidade e de aumento da escalada provocados pela reboxetina, um inibidor seletivo da recaptação de noradrenalina. Os resultados apresentados com a imipramina 20mg/kg, que diminuiu a imobilidade e aumentou o comportamento de natação, mostram uma possível predominância na atividade serotoninérgica da droga na dose utilizada. O uso de antagonistas dos receptores 5-

HT_{1B}, como isamoltane e GR127935, revertem a diminuição da imobilidade provocada pela imipramina no teste de natação forçada em camundongos, indicando a importância da neurotransmissão serotoninérgica no efeito anti-imobilidade da imipramina (O'Neill e Conway, 2001). Por outro lado, estudos *in vitro*, mostram que a imipramina possui maior potência em inibir a recaptção da noradrenalina que serotonina (Richelson, 1994), que seria representado no Teste de Natação Forçada Modificado por alteração no comportamento de escalada. Entretanto, como no presente estudo não foi realizado uma curva dose-resposta com a imipramina, não foi possível verificar se com dose mais altas não exista alteração do comportamento de escalada.

Quando utilizado a dizolcipina, antagonista não competitivo do receptor NMDA, o efeito apresentado foi a diminuição da imobilidade, e aumento do número de natação. As drogas antagonistas glutamatérgicas têm apresentado efeito antidepressivo em modelos animais de depressão (Evan e cols, 1982; Trullas e Skolnick, 1990). A dizolcipina apresentou efeito antidepressivo no Modelo de Natação Forçada, uma vez sua administração diminuiu o tempo de imobilidade (Maj e cols, 1992). Os dados apresentados neste estudo mostraram o mesmo resultado. O interessante neste trabalho foi verificar o efeito da dizolcipina no modelo da Natação Forçada modificado, mostrando uma diminuição da imobilidade e aumento do comportamento de natação. O aumento do comportamento de natação é um efeito verificado com drogas inibidoras da recaptção de serotonina, como a fluoxetina (Page e cols, 1999) e a paroxetina (Detke e cols, 1995; presente estudo). Portanto, o resultado com a dizolcipina indicaria na mediação serotoninérgica para o seu efeito anti-imobilidade. Nesta linha, a administração intraperitoneal de dizolcipina, em ratos, aumentou a concentração extracelular de serotonina no núcleo accumbens (Yan e cols, 1997). Além disto, Whitton e cols, (1992), verificaram um aumento na concentração extracelular de serotonina no hipocampo e estriado após a administração de dizolcipina (0,25 – 0,5mg/kg) em ratos. No trabalho de Eckeli e cols (2000), a administração de PCPA reverteu à diminuição da imobilidade causada

por dizolcipina em camundongos. Outro mecanismo que poderia estar envolvido no efeito antidepressivo da dizolcipina, no teste de natação forçada modificado, seria através da ação sobre a síntese de NO. A ativação de receptores NMDA induz a síntese de NO. Drogas que inibem a enzima óxido nítrico sintase, como o 7-NI, apresentam efeito anti-imobilidade com aumento do comportamento de natação no teste de natação forçada modificado, efeito que é revertido com o pré-tratamento com p-clorofenilalanina, que inibe a síntese de serotonina (Harkin e cols, 2003). A relação entre o sistema glutamatérgico e serotoninérgico poderia ser explicada através da seguinte proposta, a diminuição da atividade glutamatérgica reduziria a atividade da NO sintase, o que resultaria na redução dos níveis de NO com conseqüente aumento da transmissão serotoninérgica, a qual exerceria efeito antidepressivo. O aumento da atividade locomotora com a administração de dizolcipina pode indicar um resultado falso-positivo da droga, pois a redução da imobilidade poderia ser conseqüente do seu efeito estimulatório. O aumento da atividade locomotora da dizolcipina pode ser explicado pela sua ação em aumentar a liberação de dopamina no estriado e no núcleo accumbens (Bubser e cols, 1992; Loscher e cols, 1993). Alguns estudos mostram que o dizolcipina é capaz de reduzir o tempo de imobilidade no teste de natação forçada mesmo em dose que não aumentam a atividade locomotora (Mantovani e cols., 1999; Trullas e Skolnick, 1990). Portanto, é necessário a realização de uma curva dose-resposta com a dizolcipina no teste de natação forçada modificado, assim como na atividade locomotora para detectar se existe dissociação entre estes efeitos. E com isso, determinar se esta droga apresenta realmente um efeito tipo antidepressivo ou se constitui num resultado falso positivo.

O mecanismo de ação da lamotrigina como droga antidepressiva não é bem conhecido. Uma das hipóteses seria a diminuição de liberação de glutamato na fenda sináptica através do bloqueio de canais de sódio voltagem dependente (Leach e cols, 1986). Os resultados obtidos com a lamotrigina no Modelo de Natação Forçada Modificado mostram que na dose de 5mg/kg não houve alteração de

nenhum dos comportamentos analisados. Na dose de 10mg/kg houve uma redução na imobilidade, com aumento no comportamento de escalada, indicando uma ação predominantemente noradrenérgica. Com a dose de 20mg/kg, a lamotrigina reduziu a imobilidade e aumentou o comportamento de escalada e natação, o que mostra uma ação dual sobre os sistemas noradrenérgico e serotoninérgico. A lamotrigina mostrou uma ação de inibir a recaptção de noradrenalina, dopamina e serotonina em estudo *in vitro*, utilizando sinaptossomos de córtex de ratos (Southam e cols, 1998). Além disso, em modelos animais, a lamotrigina reverteu a síndrome serotoninérgica produzido por p-cloroanfetamina. A atenuação desta síndrome é reconhecida como um marcador da inibição de serotonina *in vivo* (Tricklebank, 1985). Algumas drogas inibidoras da recaptção de noradrenalina e serotonina foram analisadas no Modelo de Natação Forçada Modificado, entre elas a duloxetina e venlafaxina (Rénéric e Lucki, 1998). A duloxetina apresentou uma redução da imobilidade sem alteração da escalada ou da natação. A venlafaxina, na dose de 40mg/kg, apresentou uma redução da imobilidade com aumento da natação, um padrão de resposta de droga seletiva para a serotonina. Já com a dose de 80mg/kg foi observado uma diminuição da imobilidade, com aumento de natação e escalada, sugestivo de um efeito dual, noradrenérgico e serotoninérgico. Estes resultados obtidos no teste de natação forçada modificado são congruentes com os efeitos neuroquímicos observados com a venlafaxina, com maior atividade serotoninérgica em doses baixas e efeito dual em doses elevadas (Tran e cols. 2003). O resultado da maior dose de venlafaxina observado por Renéric e Lucki (1998) foi semelhante ao observado com lamotrigina 20mg/kg. Por outro lado, a escalada pode ser um comportamento predominante nas drogas inibidoras da recaptção de noradrenalina e serotonina, pois mesmo na administração de fluoxetina 10mg/kg (inibidora seletiva da recaptção de serotonina) com desipramina 3,2mg/kg (inibidora seletiva da recaptção de noradrenalina) o resultado observado foi uma diminuição da imobilidade com um aumento maior da escalada do que a natação. Estas drogas isoladamente apresentaram efeito anti-imobilidade com aumento da escalada

(desipramina) ou da natação (fluoxetina). Resultado similar ocorreu com a administração conjunta de bupropiona (droga inibidora da recaptação de dopamina e noradrenalina) com fluoxetina e com minalciprano, droga de ação noradrenérgica/serotonérgica (Rénéric e Lucki, 1998). Os resultados do teste do campo aberto e da habituação ao campo aberto indicam que o efeito da lamotrigina no teste de natação forçada modificado não é consequência de um efeito estimulante e nem de uma ação amnésica.

Um efeito sobre o sistema dopaminérgico também não pode ser descartado. Drogas inibidoras seletivas da recaptação de dopamina apresentam um efeito anti-imobilidade com aumento da escalada (Hemby e cols, 1997). A droga WF-11, que é um potente inibidor da recaptação de dopamina e fraco inibidor da recaptação de serotonina e noradrenalina, apresentou no teste de natação forçada modificado uma redução da imobilidade com aumento da natação e escalada (Hemby e cols, 1997), resultado semelhante ao observado no presente estudo com a lamotrigina 20mg/kg. Outra droga inibidora da recaptação de dopamina, denominada GBR-12909, reduziu a imobilidade com aumento da escalada (Hemby e cols, 1997). O problema destas drogas é que elas apresentaram aumento da atividade locomotora e ou estereotipia, o que representa um efeito falso-positivo no teste de natação forçada. A lamotrigina não apresentou alteração da atividade locomotora no campo aberto e, em observação naturalística, não apresentou sinais de estereotipia, diferenciando-a das drogas dopaminérgicas citadas acima e indicando que seu efeito anti-imobilidade provavelmente não é mediado pelo sistema dopaminérgico. Entretanto, algumas drogas anticonvulsivantes como a carbamazepina e oxcarbazepina, apresentaram um efeito antidepressivo no teste de natação forçada sem alterar a atividade locomotora (Barros e Leite, 1987; Beijamini e cols, 1998; Joca e cols, 2000), mostraram ter uma atividade dopaminérgica. O pré-tratamento de ratos com haloperidol (0,5mg/kg), que não alterou a locomoção do animal, reverteu o efeito anti-imobilidade da oxcarbazepina no teste de natação forçada (Joca e cols, 2000). Além disso, a oxcarbazepina intensificou o efeito da apomorfina na indução

de estereotipia em ratos, indicando uma provável atividade dopaminérgica (Joca e cols, 2000). Portanto, é necessário uma avaliação mais detalhada da participação da dopamina no efeito anti-imobilidade da lamotrigina.

Como descrito acima, a carbamazepina e a oxcarbazepina, duas drogas anticonvulsivantes que, como a lamotrigina, bloqueiam canais de sódio voltagem dependentes, também apresentam efeito anti-imobilidade no teste de natação forçada. Diante disto, pode-se especular se este efeito sobre canais de sódio voltagem dependentes participam do efeito antidepressivo da lamotrigina. Nesta linha, um recente estudo observou que a estimulação destes canais, com veratrina, reverteu o efeito ansiolítico da lamotrigina (Mirza e cols, 2005). Portanto, esta seria outra linha de investigação do mecanismo de ação antidepressiva da lamotrigina.

6. CONCLUSÃO GERAL:

A lamotrigina apresentou efeito tipo antidepressivo no Modelo de Natação Forçada Modificado. Na dose de 10mg/kg, seu efeito foi semelhante as drogas inibidoras seletivas de noradrenalina, havendo diminuição da imobilidade com aumento da escalada. Já na dose de 20mg/kg, a lamotrigina apresentou uma diminuição da imobilidade com aumento da escalada e da natação, indicando uma ação tanto noradrenérgica como serotoninérgica. Como a lamotrigina também apresenta uma ação inibitória sobre os canais de sódio voltagem-dependente, a qual leva uma diminuição na transmissão glutamatérgica, foi testado neste estudo, o efeito de uma droga antagonista glutamatérgica (dizolcipina) no teste de natação forçada modificado. Neste caso, o resultado apresentado com a dizolcipina foi a redução da imobilidade e escalada com aumento da natação, efeito diferente ao da lamotrigina. Entretanto, a dizolcipina aumentou a atividade locomotora, sendo portanto considerado um resultado falso-positivo. Estes resultados apresentados neste trabalho indicam que, provavelmente, o efeito anti-imobilidade da lamotrigina se deva a uma ação sobre a transmissão monoaminérgica.

Entretanto, existe a necessidade da realização de mais experimentos para demonstrar esta ação tanto noradrenérgica como serotoninérgica. Alguns experimentos que podem fortalecer esta hipótese são: a) lesões sobre o feixe ventral noradrenérgico com 6-hidroxidopamina, para avaliar o efeito noradrenérgico da lamotrigina; b) administração de p-clorofenilalanina, para avaliação a participação serotoninérgica na atividade da lamotrigina; c) administração de drogas que interfiram (p.ex. agonistas) nos canais de sódio voltagem dependentes. Outros testes que poderiam ser realizados a partir dos resultados do presente estudo seriam uma curva dose resposta com a dizolcipina e com a imipramina, para descartar possível efeito falso-positivo para a primeira droga e verificar uma possível atividade dual da segunda droga.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AHMAD, S.; FOWLER, L.; WHITTON, P. S. **Effects of acute and chronic lamotrigine treatment on basal and stimulated extracellular amino acids in the hippocampus of freely moving rats.** *Brain Research*, v. 1029, p. 41 – 47, 2004.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Mood Disorders. In: **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Revised.** Washington, DC: American Psychiatric Association. p. 317 – 345.

ANDREATINI, R. **A importância dos modelos animais em psiquiatria.** *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 24, n. 4., p.164, 2002.

ARBAN, R.; MARAIA, G.; BRACKENBOROUGH, K.; WINYARD, L.; WILSON, A.; GERRARD, P.; LARGE, C. **Evaluation of the effects of lamotrigine, valproate and carbamazepine in a rodent model of mania.** *Behavioural Brain Research*, v. 158, p. 123 – 132, 2005.

AUER, D.P. **Reduced glutamate in the anterior cingulate cortex in depression: na in vivo próton magnetic resonance spectroscopy study** *Biological Psychiatry*, v. 47, p. 305 – 315, 2000.

BARBOSA, L.; BERK, M.; VORSTER, M. **A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of augmentation with lamotrigine or placebo in patients concomitantly treated with fluoxetine for resistant major depression episodes.** *Journal of Clinical Psychiatry*, v. 64,p. 403-407, 2003.

BARROS, H.M.T.; LEITE, J.R. **The effects of carbamazepine on two animal models of depression.** *Psychopharmacology* (Berlin), v. 92, p. 340 - 342, 1987.

BASHKATOVA, V.; NARKEVICH, V.; VISKOVA, G.; VANIN, A. **The influence of anticonvulsant and antioxidant drugs on nitric oxide level and lipid peroxidation in the rat brain during pentylenetetrazole-induced epileptiform model seizures.** *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 27, p. 487 – 492, 2003.

BEIJAMINI, V.; SKALISZ, L. L.; JOCA, S. R. L.; ANDREATINI, R. **The effect of oxcarbazepine on behavioural despair and learned helplessness.** *European Journal of Pharmacology*, v. 347, p. 23 – 27, 1998.

BERMAN, R.M.; CAPPIELLO, A.; ANAND, A.; OREN, D.A.; HENINGER, G.R.; CHARNEY, D.S.; KRYSTAL, J.H. **Antidepressant Effects of Ketamine in Depressed Patients.** *Biological Psychiatry*, v. 47, p. 351 – 354, 2000.

BIRSTIEL, S.; HAAS, H.L. **Acute effects of antidepressant drugs on long-term potentiation (LTP) in rat hippocampal slices.** *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, v. 344, p. 79 – 83, 1991.

BORSINI F, MELI A. **Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity?** *Psychopharmacology (Berl)*.v.94, n. 2, p.147 – 60, 1988.

BOWDEN, C.L.; CALABRESE, J.R.; SACHS, G.; YATHAM, L.N.; ASGHAR, S.A.; HOMPLAND, M.; MONTGOMERY, P.; EARL, N.; SMOOT, T.M.; DE VEAUGH-GEISS, J. **A placebo-controlled 18-month trial of lamotrigine and lithium maintenance treatment in recently manic or hypomanic patients with bipolar I disorder.** *Archives in General Psychiatry*, v. 60, p. 392 – 400, 2003.

BOYD, J.H.; WEISSMAN, M.M. **Epidemiology: Handbook of Affective Disorders.** New York: Guilford press, 1982.

BRAGA, M.F.M.; ANDERJASKA, V.A.; POST, R.M.; LI, H. **Lamotrigine reduces spontaneous and evoked GABA_A receptor-mediated synaptic transmission in the basolateral amygdala: implications for its effects in seizure and affective disorders.** *Neuropharmacology*, v. 42, p. 522 – 529, 2002.

BUBSER, M.; KESEBERG, U.; NOTZ, P.K.; SCHMIDT, W.J. **Differential behavioural and neurochemical effects of competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists in rats.** *European Journal of Pharmacology*, v. 229, p. 75 – 82, 1992.

CALABRESE, J.R.; RAPPORT, D.J.; SHELTON, M.D.; KIMMEL, S.E. **Clinical studies on the use of lamotrigine in bipolar disorder.** *Neuropsychobiology*, v. 38, p.185 – 91, 1998.

CALABRESE, J.R.; BOWDEN, C.L.; SACHS, G.S.; ASCHER, J.A.; MONAGHAN, E.; RUDD, G.D. **A double-blind placebo-controlled study of lamotrigine monotherapy in outpatients with bipolar I depression. Lamictal 602 study Group.** *Journal of Clinical Psychiatry*, v. 60, p. 79 – 88, 1999.

CALABRESE, J.R.; SUPPES, T.; BOWDEN, C.L.; SACHS, G.S.; SWAM, A.C.; McELROY, S.L.; KUSUMAKAR, V.; ASCHER, J.A.; EARL, N.L.; GREENE, P.L.; MONAGHAN, E.T. **A double-blind, placebo-controlled, prophylaxis study of lamotrigine in rapid-cycling bipolar disorder.** *Journal of Clinical Psychiatry*, v. 61, p. 841 – 850, 2000.

CALABRESE, J.R.; SULLIVAN, J.R.; BOWDEN, C.L.; SUPPES, T.; GOLDBERG, J.F.; SACHS, G.S.; SHELTON, M.D.; GOODWIN, F.K.; FRYE, M.A.; KUSUMAKAR, V. **Rash in multicenter trials of lamotrigine in mood disorders: clinical relevance and management.** *Journal of Clinical Psychiatry*, v. 63, p. 1012 – 1019, 2002.

CALABRESE, J. R.; VIETA, E.; SHELTON, M. D. **Latest maintenance data on lamotrigine in bipolar disorder.** *European Neuropsychopharmacology*, v. 13, p. S57 - S66, 2003.

CALABRESI, P.; CENTONZE, D.; MARFIA, G.A.; PISANI, A.; BERNARDI, G. **An in vitro electrophysiological study on the effects of phenytoin, lamotrigine and gabapentin on striatal neurons.** *British Journal of Pharmacology*, v. 61, p. 689 – 696, 1999.

COHEN, A.; LANDS, G.; BRIEMER, D. **Lamotrigine, a new anticonvulsant: pharmacokinetics in normal humans.** *Clinical Pharmacology Therapeutic*, v. 42, p. 535 – 541, 1987.

COLINO, A.; HALLIWELL, J.V. **Differential modulation of three separate K-conductances in hippocampal CA1 neurons by serotonin.** *Nature*, v. 328, p. 73 – 77, 1987.

COLLINGRIDGE, G.L.; KEHL, S.J.; McLENNAN, H. **Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus.** *Journal of Physiology*, v. 334, p. 33 – 46, 1983.

COPPEN, A.J. **Biochemical aspects of depression.** *International Psychiatry Clinics*, v. 6, p. 53 – 81, 1969.

CRYAN, J.F.; MARKOU, A, LUCKI, I. **Assessing antidepressant activity in rodents: Recent developments and future needs.** *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 23, n. 5, p. 238 – 245, 2002a.

CRYAN, J.F.; PAGE, M.E.; LUCKI, I. **Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effect of reboxetine in a modified forced swim test.** *European Journal of Pharmacology*, v. 436, p. 197 – 205, 2002b.

CUNNINGHAM, M.O.; JONES, R.S.G. **The anticonvulsant lamotrigine decreases spontaneous glutamate release but increase spontaneous GABA release in the rat entorhinal cortex in vitro.** *Neuropharmacology*, v. 39, p. 2139 – 2146, 2000.

DA SILVA, G.D.; MATTEUSSI, A.S.; DOS SANTOS, A.R.; CALIXTO, J.B.; RODRIGUES, A.L. **Evidence for dual effects of nitric oxide in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice.** *Neuroreport*, v.11,n. 17, p. 3699 – 702, 2000.

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

DREVETS, W.C.; ONGUR, D.; PRICE, J.L. **Neuroimaging abnormalities in the subgenual prefrontal cortex: implications for the pathophysiology of familial mood disorders.** *Molecular Psychiatry*, v. 3, p. 220 – 226, 1998.

DUMAN, R.S.; HENINGER, G.R.; NESTLER, E.J. **A molecular and cellular theory of depression.** *Archives in General Psychiatry*, v. 54, n. 7, p. 597 – 606, 1997.

DUMAN, R.S. **Role of neurotrophic factors in the etiology and treatment of mood disorders.** *Neuromolecular Medicine*, v. 5, p. 11 – 25, 2004.

ECKELI, A.L.; DACH, F.; RODRIGUES, A.L. **Acute treatments with GMP produce antidepressant like effects in mice.** *Neuroreport*, v. 11, n. 9, p. 1839 – 1843, 2000.

FINKEL, M.S. et al. **Paroxetine is a novel nitric oxide synthase inhibitor.** *Psychopharmacology Bulletin*, v. 32, p. 653 – 658, 1996.

FRYE, M.A.; KETTER, T.A.; KIMBRELL, T.A.; DUNN, R.T.; SPEER, A.M.; OSUCH, E.A.; LUCKENBAUGH, D.A.; CORA-OCATELLI, G.; LEVERICH, G.S.; POST, R.M. **A placebo-controlled study of lamotrigine and gabapentin monotherapy in refractory mood disorders.** *Journal of Clinical Psychopharmacology*, v. 20, p. 607 – 614, 2000.

GUIMARÃES, F.S.; DEL BEL, E.A.; PADOVAN, C.M.; MENDONÇA NETO, S.; TITZE-DE-ALMEIDA, R. **Hippocampal 5-HT receptors and consolidation of stressful memories.** *Behavioural Brain Research*, v. 58, p. 133 – 139, 1993.

HARKIN, A.; BRUCE, K.H.; CRAFT, B.; PAUL, I.A. **Nitric oxide synthase inhibition have antidepressant-like properties in mice. 1. Acute treatments are active in the forced swim test.** *European Journal of Pharmacology*, v. 372, p. 207 – 213, 1999.

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.** *Neuropharmacology*. v. 44, p. 616 – 623, 2003.

HARVEY, B.E. **Affective disorders and nitric oxide: A role in pathway to relapse and refractoriness ?.** *Human Psychopharmacology*, v. 11, p. 309 – 319, 1996.

HASSEL, B.; TAUBOLL, E.; GJERSTAD, L. **Chronic lamotrigine treatment increase rat hippocampal GABA shunt activity and elevates cerebral taurine levels.** *Epilepsy Research*, v. 43, p. 153 – 163, 2001.

HEMBY, S.E.; LUCKI, I.; GATTO, G.; SINGH, C.; THORNLEY, J.; MATASI, J.; KONG, N.; SMITH, J.E.; DAVIES, H.M.L.; DWORKIN, S.I. **Potential Antidepressant Effects of Novel Tropane Compounds Selective for Serotonin or Dopamine Transporters.** *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 282, n. 2, p. 727 – 733, 1997.

HOLLIDAY, S.M.; BENFIELD, P. **Venlafaxine. A review of its pharmacology and therapeutic potential in depression.** *Drugs*, v. 49, n. 2, p. 280 – 294, 1995.

ICHIM, L.; BERK, M.; BROOK, S. **Lamotrigine compared with Lithium in mania: a double-blind randomized controlled trial.** *Annals of Clinical Psychiatry*, v. 12, n. 1, p. 5 –10, 2000.

IZQUIERDO, I. **Memória.** Porto Alegre: Artmed, 2002. 95p.

JEFFERYS, D.; FUNDER, J. **Nitric oxide modulates retention of immobility in the forced swim test in rats.** *European Journal of Pharmacology*, v. 295, p. 131 – 135, 1996.

JOCA, S. R. L., SKALISZ, L. L., BEIJAMINI, V., VITAL, M. A. B. F., ANDREATINI. **The antidepressive-like effect of oxcarbazepine: possible role of dopaminergic neurotransmission.** *European Neuropsychopharmacology*, v. 10, n. 4, p. 223 - 228, 2000.

JONES-HUMBLE, S.A.; MORGAN, P.F.; COOPER, B.R. **The novel anticonvulsant lamotrigine prevents dopamine depletion in C57 black mice in the MPTP animal of Parkinson's disease.** *Life Science*, v. 54, n. 4, p. 245 – 252, 1994.

KELLY, A. E., 1993. Locomotor activity and exploration. In: **Behavioural Neuroscience: a Practical Approach vol. II**. Oxford: Ed. A. Sahgal, 1993. p. 1 – 21.

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

KIM, J.S. **Increase serum glutamate in depressed patients**. *Archiv fur Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, v. 232, p. 299 – 304, 1982.

KISS, J.P. **Role of nitric oxide in regulation of monoaminergic neurotransmission**. *Brain Research Bulletin*, v. 52, p. 459 – 466, 2000.

KITAMURA, Y.; ZHAO, X.H.; TEKEI, M.; YONEMITSU, O.; NOMURA, Y. **Effects of antidepressants on the glutamatergic system in the mouse brain**. *Neurochemistry International*, v. 19, p. 247 – 253, 1991.

KROCZKA, B.; BRANSKI, P.; PALUCHA, A.; PILC, A.; NOWAK, G. **Antidepressant-like properties of zinc in rodent forced swim test**. *Brain Research Bulletin*, v. 55, n. 2, p. 297 – 300, 2001.

LANGOSCH, J.M.; WALDEN, J. **Effects of the atypical antidepressant trimipramine on neuronal excitability and long-term potentiation in guinea pig hippocampal slices**. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 26, p. 299 – 302, 2002.

LEACH, M.J.; MARDEN, C.M.; MILLER, A.A. **Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug: II. Neurochemical studies on the mechanism of action**. *Epilepsia*, v. 27, p. 490 – 497, 1986.

LI, X.; BIJUR, G.N.; JOPE, R.S. **Glycogen synthase kinase-3 β , mood stabilizers, and neuroprotection**. *Bipolar Disorder*, v. 4, p. 137 – 144, 2002.

LI, X.; KETTER, T.A.; FRYE, M.A. **Synaptic, intracellular and neuroprotective mechanisms of anticonvulsant: are they relevant for treatment and course of bipolar disorder?** *Journal of Affective Disorders*, v. 69, p. 1 – 14, 2002.

LODGE, D.; JOHNSON, K.M. **Noncompetitive excitatory amino acid receptor antagonists**. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 11, p. 81 – 86, 1990.

LOSCHER, W.; ANNIES, R.; HONACK, D. **Effects of the novel 5-HT_{1A} receptor antagonist, (+)-WAY 100135, on stereotyped behaviour induced by NMDA receptor antagonist dizolcipine in rats.** *European Journal of Pharmacology*, v. 242, p. 99 – 104, 1993.

LOISEAU, P.; YUEN, A.W.C.; DUCHÉ, B.; MÉNAGER, T.; ARNÉ-BÈS, M.C. **A randomised double-blind placebo-controlled crossover add-on trial of lamotrigine in patients with treatment-resistant partial seizures.** *Epilepsy Research*, v.43, p. 2284 – 2291,1990.

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

MAJ, I.; ROGOZ, Z.; SKUZA, G.; SOWINSKA, H. **Effects of MK-801 and antidepressant drugs the forced swimming test in rats.** *European Journal of Neuropsychopharmacology*, v. 2, p. 37 – 41, 1992.

MALENKA, R.C. **LTP and LTD: dynamic and interactive processes of synaptic plasticity.** *The Neuroscientist*, v. 1, p. 35 – 42, 1995.

MANTOVANI, M.; MATTEUSSI, AS.; RODRIGUES, AL. **Antidepressant-like effect of lead in adult mice.***Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 32, n.12, p.1555 – 1560, 1999.

MASSICOTTE, G.; BERNARD, J.; OHAYON, M. **Chronic effects of trimipramine, na atidepressant, on hippocampal synaptic plasticity.** *Behavioral and Neural Biology*, v. 59, p. 100 – 106.

MAURI, M.C. **Plasma and platelet amino acid concentrations in patients affected by major depression and under fluvoxamine treatment.** *Neuropsychobiology*, v.37, p. 124 – 129, 1998.

MCKINNEY, W.T.; BUNNEY, W.E. **Animal model of depression. I. Review of evidence: implications for research.** *Archives of General Psychiatry*, v. 21, p. 240 – 248, 1969.

MELDRUM, B. **Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters.** *Clinical Science*, v. 68, p. 113 – 122, 1985.

MELONI, D.; GAMBARANA, C.; DE MONTI, M.G.; DAL PRA, P.; TADDEI, I.; TAGLIAMONTE, A. **Dizocilpine antagonizes the effect of chronic imipramine on learned helplessness in rats.** *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 46, p. 423 – 426, 1993.

MIRZA, N.R.; BRIGHT, J.L.; STANHOPE, K.J.; WYATT, A.; HARRINGTON, N.R. **Lamotrigine has an anxiolytic-like profile in the rat conditioned emotional response test of anxiety: a potential role for sodium channels?.** *Psychopharmacology*, 2005.

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

NOWAK, G.; ORDWAY, G.A.; PAUL, I.A. **Alterations in the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor complex in the frontal cortex of suicide victims.** *Brain Research*, v. 675, p. 157 – 164, 1995.

OHASHI, S.; MATSUMOTO, M.; TOGASHI, H.; UENO, K.; YOSHIOKA, M. **The serotonergic modulation of synaptic plasticity in the rat hippocampo-medial prefrontal cortex pathway.** *Neuroscience Letters*, v. 342, p. 179 – 182, 2003.

O'NEILL, M.F.; CONWAY, M.W. **Role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} Receptors in the Mediation of Behavior in the Forced Swim Test in Mice.** *Neuropsychopharmacology*, v. 24, n. 4, p. 391 – 398, 2001.

PADOVAN, C.M.; GUIMARÃES, F.S. **Antidepressant-like effects of NMDA-receptor antagonist injected into dorsal hippocampus of rats.** *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 77, p. 15 – 19, 2004.

PAGE, M.E.; DETKE, M.J.; DALVI, A. KIRBY, L.G.; LUCKI, I. **Serotonergic mediation of effects of fluoxetine, but not desipramine, in rat forced swimming test.** *Psychopharmacology*, v. 167, p. 162 – 167, 1999.

PAPP, M.; MORYL, E. **New evidence for the antidepressant activity of MK-801, a non-competitive antagonist of NMDA receptors.** *Polish Journal of Pharmacology*, v. 45, p. 549 – 553, 1993.

PAPP, M.; MORYL, E. **Antidepressant activity of non-competitive and competitive NMDA receptor antagonists in a chronic mild stress model of depression.** *European Journal of Pharmacology*, v. 263, p. 1 – 7, 1994.

PAUL, I. A.; NOWAK, G.; LAYER, R. T.; POPIK, P.; SKOLNICK, P. **Adaptation of the N-Methyl-D-Aspartate Receptor Complex Following Chronic Antidepressant Treatments.** *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 269, n. 1, p. 95 – 102, 1993.

PAUL, I.A.; SKOLNICK, P. **Glutamate and Depression: Clinical and Preclinical Studies.** *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1003, p. 250 – 272, 2003.

PETRIE, R.X.A.; REID, I.C.; STEWART, C.A. **The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity, and depressive disorder: a critical review.** *Pharmacology Therapy*, v. 87, p. 11 – 25, 2000.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. **Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments.** *Nature*, v. 266, p. 730 – 732, 1977.

PRALONG, E.; MAGISTRETTI, P.; STOOP, R. **Cellular perspectives on the glutamate-monoamine interactions in limbic lobe structures and their relevance for some psychiatric disorders.** *Progress in Neurobiology*, v. 67, p. 173 – 202, 2002.

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

REID, I.C.; STEWART, C.A. **Seizures, memory and synaptic plasticity.** *Seizure*, v. 6, p. 351 – 359, 1997.

REKLING, J. **Neuroprotective effects of anticonvulsant in rat hippocampal slice cultures exposed to oxygen/glucose deprivation.** *Neuroscience Letters*, v. 335, p. 167 – 170, 2003.

RÉNÉRIC, J.P.; LUCKI, I. **Antidepressant behavioral effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat swimming test.** *Psychopharmacology*, v. 136, p. 190 – 197, 1998.

RICHELSON, E. **The pharmacology of Antidepressant at the Synapse: Focus on Newer Compounds.** *Journal of Clinical Psychiatry*, v. 54, n. 9, p. 34 – 39, 1994.

RICHENS, A. **Pharmacokinetics of Lamotrigine.** In *Clinical update on lamotrigine: a novel antiepileptic agent*. Ed. Richens A. 1992; p. 21 – 27. Kent: Wells Medical Limited.

ROSA, A.O.; LIN, J.; CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.; RODRIGUES, A.L. **Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitric oxide pathway in the antidepressant-like effects of zinc in mice.** *Behavioural Brain Research*, v. 144, n.1-2, p. 87 – 93, 2003.

SACKELLARES, D.K.; SACKELLARES, J.C. **Improvement in depression associated with partial epilepsy in patients treated with lamotrigine.** *Epilepsy & Behavior*, v. 3, p. 510 – 516, 2002.

SANACORA, G.; MASON, G.F.; ROTHMAN, D.L. et al. **Reduced cortical γ -aminobutyric acid levels in depressed patients determined by proton magnetic resonance spectroscopy.** *Archives in General Psychiatry*, v. 56, n. 11, p. 1043 – 1047, 1999.

SCHILDKRAUT, J.J. **The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence.** *American Journal of Psychiatry*, v. 122, p. 509 – 522, 1965.

SCHULZ, J.B.; HENSHAW, D.R.; JENKINS, B.G. **3-Acetylpyridine produces age-dependent excitotoxic lesions in rat striatum.** *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. v. 14, n. 6, p. 1024 – 1029, 1994.

SELIGMAN, M.; MAIER, S. **Failure to escape traumatic shock.** *Journal of Experimental Psychology*, v. 74, p. 1 –9, 1967.

SERNAGOR, E.; KUHN, D.; VYKLYCKY, L.; MAYER, M.L. **Open channel block of NMDA receptor responses evoked by tricyclic antidepressants.** *Neuron*, v. 4, p. 1221 – 1227, 1989.

SHERMAN, A.D.; SACQUITINE, J.L.; PETTY, F. **Specificity of the learned helplessness model of depression.** *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v.16, p. 449-454, 1982.

SHIAN, I.S.; YATHAM, L.N.; GAU, Y.C.; BAKER, G.B. **Effect of lamotrigine on plasma GABA levels in healthy humans.** *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 27, p. 419 – 423, 2003.

SHIMIZU, E.; HASHIMOTO, K.; OKAMURA, N.; KOIKE, K.; KOMATSU, N.; NAKAZATO, M.; WATANABE, H.; SHINODA, N.; OKADA, S.; IYO, M. **Alterations of serum levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressant.** *Biological Psychiatry*, v. 1, n. 54, p. 70 – 75, 2003.

SKOLNICK, P. **Antidepressant for the new millennium.** *European Journal of Pharmacology*, v. 375, n. 1-3, p. 31 – 40, 1999.

SMITH, D.; BAKER, G.; DAVIES, G.; DEWEY, M.; CHADWICK, D.W. **Outcomes of add-on treatment with lamotrigine in partial epilepsy.** *Epilepsia*, v. 34, p. 312 – 322, 1993.

SOUTHAM, E.; GARTHWAITE. **The nitric oxide-cyclic GMP signalling pathway in rat brain.** *Neuropharmacology*, v. 32, p. 1267 – 1277, 1993.

SOUTHAM, E.; KIRKBY, D.; HIGGINS, G.A.; HAGAN, R.M. **Lamotrigine inhibits monoamine uptake in vitro and modulates 5-hydroxytryptamine uptake in rats.** *European Journal of Pharmacology*, v. 358, p. 19 – 24, 1998.

SPORN, J.; SACHS, G. **The anticonvulsant lamotrigine in treatment-resistant maniac-depressive illness.** *Journal of Clinical Psychopharmacology*, v. 17, p. 185 – 189, 1997.

STAMFORD, J.A.; DAVIDSON, C.; MCLAUGHLIN, D.P.; HOPWOOD, S.E. **Control of dorsal raphé 5-HT function by multiple 5-HT₁ autoreceptors: parallel purposes or pointless plurality?.** *Trends in Neurosciences*, v. 23, p. 459 – 465, 2000.

STEWART, C.A.; REID, I.C. **Repeated ECS and fluoxetine administration have equivalent effects on hippocampal synaptic plasticity.** *Psychopharmacology*, v. 148, p. 217 – 223, 2000.

TITZE-DE-ALMEIDA, R.; LINO DE OLIVEIRA, C.; SHIDA, H.W. GUIMARÃES, F.S.; DEL BEL, E.A. **Midazolam and the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist 2-amino-7-phosphono-heptanoic acid (AP-7) attenuate stress-induced expression of c-fos mRNA in the dentate gyrus.** *Cellular and Molecular Neurobiology*, v. 14, p. 373 – 380, 1994.

TRAN, P.V.; BYMASTER, F.P.; McNAMARA, R.K.; POTTER, W.Z. **Dual monoamine modulation for improved treatment of major depressive disorder.** *Journal of Clinical Psychopharmacology*, v. 23, p. 78 - 86, 2003.

TREMBLAY, N.; WARREN, R.; DYKES, R.W. **The effects of strychnine on neurons in cat somatosensory cortex and its interaction with inhibitory amino acids, glycine, taurine and beta-alanine.** *Neuroscience*, v. 26, p. 745 – 762, 1988.

TRICKLEBANK, M.D. **The behavioural response to 5-HT receptor agonists and subtypes of the central 5-HT receptor.** *Trends in Pharmacological Science*, v. 6, p. 403 – 407, 1985.

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

VARGA, V.; SIK, A.; FREUND, T.F.; KOCSIS, B. **GABA (B) receptors in the median raphe nucleus: distribution and role in the serotonergic control of hippocampal activity.** *Neuroscience*, v. 109, p. 119 – 132, 2002.

VINOD, K. Y.; SUBHASH, M.N. **Lamotrigine induced selective changes in 5-HT_{1A} receptor mediated response in rat brain.** *Neurochemistry International*, v. 40, p. 315 – 319, 2002.

WALDMEIER, P.C.; MARTIN, P.; STOCKLIN, K.; PORTET, C.; SCHMUTZ, M. **Effect of carbamazepine, oxcarbazepine and lamotrigine on the increase in extracellular glutamate elicited by veratridine in rat cortex and striatum.** *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, v. 354, p. 164 – 172, 1996.

WALDMEIER, P.C.; BAUMANN, P.A.; WICKI, P.; FELDTRAUER, J.J.; STIERLIN, C.; SCHMUTZ, M. **Similar potency of carbamazepine, oxcarbazepine and lamotrigine in inhibiting the release of glutamate and others neurotransmitters.** *Neurology*, v. 45, p. 1907 – 1913, 1995.

WANG, S.J.; HUANG, C.C.; HSU, K.S.; TSAI, J.J.; GEAN, P.W. **presynaptic inhibition of excitatory neurotransmission by lamotrigine in the rat amygdalar neurons.** *Synapse*, v. 24, p. 248 – 255, 1996b.

WANG, J. F.; SUN, X.; CHEN, B.; YOUNG, L. T. **Lamotrigine Increase Gene Expression of GABA-A Receptor β 3 Subunit in Primary Cultured Rat Hippocampus Cells.** *Neuropsychopharmacology*, v. 26, n. 4, p. 415 – 421, 2002.

WEGERER, J.V.; HEßLINGER, B.; BERGER, M.; WALDEN, J. **A calcium antagonistic effect of the new antiepileptic drug lamotrigine.** *European Neuropsychopharmacology*, v. 7, p. 77 – 81, 1997.

WEGENER, G. et al. **Local but not systemic, administration of serotonergic antidepressant decreases hippocampal nitric oxide synthase activity.** *Brain Research*, v. 959, p. 128 – 134, 2003.

WHITTON, P.S.; BIGGS, C.S.; PEARCE, B.R.; FOWLER, L.J. **MK-801 increases extracellular 5-hydroxytryptamine in rat hippocampus and striatum in vivo.** *Journal of Neurochemistry*, v. 58, p. 1573 – 1575, 1992.

WILLNER, P. **The validity of animal models of depression.** *Psychopharmacology*, v.83, p. 1 – 6, 1984.

WONG, M.L.; LICINIO, J. **Research and treatment approaches to depression.** *Nat. Rev. Neuroscience*, v. 2, p. 343 – 351, 2001.

YAN, Q.S.; REITH, M.E.A.; JOBE, P.C.; DAILEY, J.W. **Dizocilpine (MK-801) increases not only dopamine but also serotonin and norepinephrine transmissons in the nucleus accumbens as measured by microdialysis in freely moving rats.** *Brain Research*, v. 765, p. 149 – 158, 1997.

YEUN, W.; PECK, A. **Lamotrigine pharmacokinetics: oral and IV infusion in man.** *Epilepsia*, v. 28, p. 582 – 586, 1987.

YILMAZ, A.; SCHULZ, D.; AKSOY, A.; CANBEYLI, R. **Prolonged effect of an anesthetic dose of ketamine on behavioral despair.** *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 71, p. 349 – 352, 2002.