

JOÃO CEZAR CASTILHO



**EFEITOS DE FOSFOLIPÍDEOS NO PARKINSONISMO
INDUZIDO PELA RESERPINA EM RATOS**

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida B. F. Vital

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini

CURITIBA

2004

JOÃO CEZAR CASTILHO

**EFEITOS DE FOSFOLIPÍDEOS NO PARKINSONISMO
INDUZIDO PELA RESERPINA EM RATOS**

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida B. F. Vital

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini

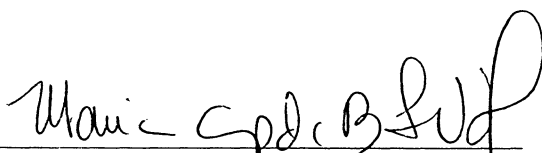
CURITIBA

2004

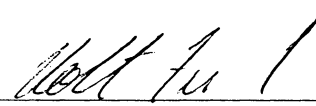


PARECER

A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado : **“EFEITOS DE FOSFOLIPÍDEOS NO PARKINSONISMO INDUZIDO PELA RESERPINA EM RATOS”**, de autoria do Pós-Graduando em Farmacologia **JOÃO CEZAR CASTILHO**, e composta pelos Professores Dr^a. Maria Aparecida Barbatto Frazão Vital (UFPR); Dr. Roberto Frussa Filho (UNIFESP), Dr^a. Maria Teresa de Barros Schutz (Fac. Evangélica do Paraná). De acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, o Pós-Graduando foi APROVADO. Para a devida publicação o trabalho deve sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas pela orientadora. Em Curitiba, 26 de fevereiro de 2004.



Dr^a. Maria Aparecida Barbatto Frazão Vital



Dr. Roberto Frussa Filho

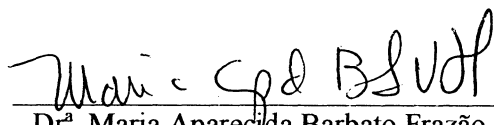


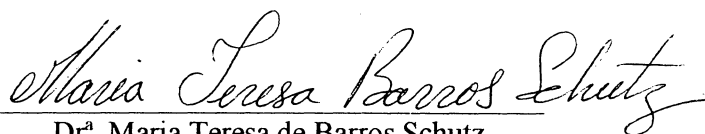
Dr^a. Maria Teresa de Barros Schutz

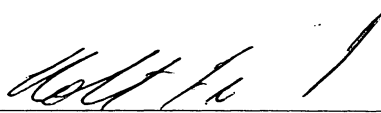


1 **ATA DO JULGAMENTO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

2 Ao vigésimo sexto dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e quatro, às 09:00 horas,
3 no anfiteatro 07 (sete) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do
4 Paraná, reuniu-se a Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado de autoria do
5 Pós-Graduando em Farmacologia, **JOÃO CEZAR CASTILHO**, intitulada: "Efeitos de
6 Fosfolípidos no Parkinsonismo Induzido pela Reserpina em Ratos", sob orientação da
7 Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida Barbato Frazão Vital, e composta pelos professores: Dr.
8 Roberto Frussa Filho (UNIFESP/EPM), e Dr.^a Maria Teresa de Barros Schutz (Fac.
9 Evangélica do Paraná). A Banca Examinadora iniciou os trabalhos. O candidato teve
10 quarenta e cinco minutos para expor oralmente seu trabalho, sendo em seguida argüido
11 durante quinze minutos por cada um dos membros da Banca, e tendo trinta minutos para
12 responder a cada uma das argüições. No final a Comissão Examinadora emitiu o
13 seguinte parecer: A PROVA DO. De acordo com o Regimento
14 Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, o Pós-Graduando foi
15 APROVADO. Para a publicação o trabalho deverá sofrer as
16 modificações sugeridas, que serão conferidas por sua orientadora. Nada mais havendo a
17 tratar, o Presidente deu por encerrada a sessão, da qual foi lavrada a presente ata, que
18 será assinada pelo Presidente e pelos demais Membros da Banca Examinadora, em
19 Curitiba, 26 de fevereiro de 2004.


Dr.^a Maria Aparecida Barbato Frazão Vital


Dr.^a Maria Teresa de Barros Schutz


Dr. Roberto Frussa Filho

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e por ter sempre abençoado e iluminado os meus caminhos.

À minha Família, a quem dedico esta tese, superando as dificuldades impostas pela distância souberam me alimentar de energia e força necessária para poder fazer realidade mais um de meus objetivos traçados, mas em especial aos meus pais Celina e Nilton, aos meus avós Mariana, Antônio e Maria, e à tia Lila pelo incentivo e apoio incondicional.

À Angela, pela paciência, compreensão, carinho e amor em todos os momentos.

À Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida B. F. Vital, por representar mais que uma orientadora, pela oportunidade de iniciar a carreira científica, mas principalmente pela amizade, bons conselhos, dedicação e incentivo nesta etapa da minha vida, sendo um exemplo de inteligência e perseverança, sem a qual esse trabalho não teria chegado ao final.

Ao Prof. Dr. Roberto Andreatini, pela co-orientação neste trabalho, sempre com sugestões importantes, mas especialmente pela amizade, incentivo e auxílio na minha formação.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, pela organização e seriedade do programa.

A todos os professores desse Curso de Pós-Graduação, pelas importantes contribuições para minha formação em Farmacologia, em especial ao Prof. Dr. Aleksander Roberto Zampronio por ter fornecido o teletermômetro contribuindo para alguns dados do nosso experimento.

A todos os meus colegas de curso, pelo companheirismo e paciência, mas especialmente à Juliana e ao Daniel, pela imensa ajuda em meus experimentos, por ter disponibilizado seu tempo para me ensinar vários métodos e testes laboratoriais, e pela nossa amizade.

Aos servidores técnico-administrativos do Departamento, mas especialmente a Silvia, a Lindacir e a Nair, por sempre auxiliar em meus experimentos e pela nossa amizade.

Aos funcionários do Biotério Central da UFPR, em especial a Dona Teresa, ao Luis e ao Candido.

À TRBpharma, por ter disponibilizado a fosfatidilserina.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro sem o qual seria impossível finalizar esta tese.

À farmácia MULTIFARMA e aos seus funcionários, por terem possibilitado eu trabalhar e realizar o mestrado durante estes dois últimos anos.

E a todas as pessoas que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	VIII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	XI
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVO.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPACÍFICOS.....	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1 ANIMAIS.....	16
3.2 DROGAS.....	16
3.3 TESTES COMPORTAMENTAIS.....	17
3.3.1 Natação forçada.....	17
3.3.2 Atividade geral.....	17
3.3.3 Catatonia.....	17
3.3.4 Ptose palpebral.....	18
3.4 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA CORPORAL.....	18
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
4 RESULTADOS.....	20
4.1 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA PS (50, 100 e 200 mg/kg) NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA. CURVA DOSE-REPOSTA.....	20
4.1.1 Delineamento experimental.....	20
4.1.2 Resultados.....	20
4.2 EFEITOS DA PS (50 mg/kg) NO MODELO ANIMAL DE PARKINSONISMO INDUZIDO POR RES E AVALIADOS NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA.....	21
4.2.1 Delineamento experimental.....	21
4.2.2 Resultados.....	21
4.3 PS (50 mg/kg) E GM1 (10 mg/kg): EFEITOS EM UM MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO ASSOCIADA À DP NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA.....	22
4.3.1 Delineamento experimental.....	22
4.3.2 Resultados.....	23
4.4 EFEITOS DA PS (50 mg/kg) E DO GM1 (10 mg/kg) EM UM MODELO ANIMAL DE PARKINSONISMO NO TESTE DO CAMPO ABERTO.....	24
4.4.1 Delineamento experimental.....	24
4.4.2 Resultados.....	25

4.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA RES NA TEMPERATURA RETAL, CATATONIA E PTOSE PALPEBRAL DOS RATOS: CURVA DOSE-REPOSTA.....	26
4.5.1 Delineamento experimental.....	26
4.5.2 Resultados.....	27
4.6 EFEITOS DA PS (50 mg/kg) NA HIPOTERMIA, CATATONIA E PTOSE PALPEBRAL INDUZIDOS POR RES (5 mg/kg).....	29
4.6.1 Delineamento experimental.....	29
4.6.2 Resultados.....	29
5 DISCUSSÃO.....	33
6 CONCLUSÃO.....	45
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ach	-	acetilcolina
DA	-	dopamina
DOPAC	-	ácido 3,4-dihidroxifenilacético
DP	-	Doença de Parkinson
GM1	-	gangliosídeo GM1
HVA	-	ácido homovanílico
IMI	-	imipramina
IMAO	-	inibidor da monoamina oxidase
i.p.	-	via intraperitoneal
i.v.	-	via intravenosa
MAO	-	monoamina oxidase
MPTP	-	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
NA	-	noradrenalina
PET	-	tomografia por emissão de pósitrons
PS	-	fosfatidilserina
RES	-	reserpina
SAL	-	salina
s.c.	-	subcutânea
SNC	-	Sistema Nervoso Central
SNpc	-	substância negra parte compacta
SNP	-	Sistema Nervoso Periférico
SSRs	-	inibidores seletivos da recaptção de serotonina
TH	-	tirosina hidroxilase
TNF- α	-	fator α de necrose tumoral
VEI	-	veículo da reserpina
v.o.	-	via oral
5-HT	-	5-hidroxitriptamina (serotonina)
Δ TC	-	variação da temperatura corporal

RESUMO

A Doença de Parkinson (DP) caracteriza-se por alterações motoras e cognitivas além de distúrbios afetivos. Aproximadamente 40% dos pacientes parkinsonianos apresentam sintomas depressivos. Assim, o objetivo do presente trabalho foi investigar o possível efeito antidepressivo da fosfatidilserina (PS), do gangliosídeo GM1 (GM1) e da associação de PS mais GM1 em modelos animais de parkinsonismo induzidos pela reserpina (RES) em ratos. Nossos resultados mostram que a PS nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, bem como o controle positivo empregado, imipramina (IMI, 25 mg/kg), reduziram significativamente o tempo de imobilidade dos ratos submetidos ao teste de natação forçada em comparação aos animais do grupo controle. Em uma etapa posterior, investigamos o efeito do parkinsonismo induzido pela RES no teste de natação forçada com o objetivo de estudar a depressão associada a este modelo animal de DP em ratos. Os dados mostram que a RES (1 mg/kg) apresentou um efeito depressor nos animais pois houve um aumento significativo do tempo de imobilidade em comparação ao grupo controle. Por outro lado, o tratamento dos animais com IMI (25 mg/kg) ou PS (50 mg/kg) foi eficaz na reversão dos efeitos depressores da RES neste teste. No terceiro experimento, avaliamos os efeitos da PS, do gangliosídeo GM1 e do possível sinergismo entre estes lipídeos, no modelo animal de parkinsonismo induzido por RES no teste de natação forçada. Os resultados indicam que a PS (50 mg/kg) reverteu o efeito depressor da RES (1 mg/kg) no teste de natação forçada corroborando nosso resultado encontrado no segundo experimento. Por outro lado, o GM1 (10 mg/kg) não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais. Finalmente, a administração concomitante de PS+GM1, não alterou o efeito da RES.

Em uma etapa posterior estudamos o efeito farmacológico da administração de PS (50 mg/kg), de GM1 (10 mg/kg) e da associação PS mais GM1 no modelo animal de parkinsonismo induzido por RES em ratos observados em um campo aberto. Os resultados mostram que a administração de RES reduziu significativamente as freqüências de locomoção e levantar e aumentou a duração de imobilidade em comparação aos ratos do grupo controle. A administração de PS não foi capaz de reverter os efeitos da RES neste teste. Entretanto, o GM1 reverteu a redução da atividade locomotora e o aumento da duração de imobilidade induzidos

pela RES. Em particular, quando se administrou concomitantemente PS+GM1 o efeito do GM1 não foi verificado.

Finalmente, investigou-se o efeito da administração aguda da PS (50 mg/kg) na hipotermia, catatonía e ptose palpebral, induzidos por RES (5 mg/kg). Os resultados confirmam a capacidade da RES em induzir hipotermia, catatonía e ptose palpebral nos animais corroborando com o estudo anterior. Mais ainda, estes dados sugerem que a IMI na dose de 25 mg/kg (10 h após a administração de RES) e a PS na dose de 50 mg/kg (24 h após a administração de RES) foram eficazes na reversão parcial da catatonía induzida por RES (5mg/kg).

Portanto, os dados acima sugerem que a RES (1 mg/kg) constitui um bom modelo animal para o estudo tanto das alterações motoras como da depressão associada à DP. Mais ainda, que a PS (50 mg/kg) reverteu os sinais depressivos no teste de natação forçada, mas não alterou a hipotermia induzida pela RES. O GM1 foi eficaz no bloqueio da hipolocomoção causada pela RES. Estes resultados sugerem novas possibilidades terapêuticas para o emprego da PS na depressão do paciente parkinsoniano e do GM1 no tratamento da DP.

ABSTRACT

Parkinson's disease is characterized by motor disturbances, cognitive alterations and affective disorders. Depressive symptoms are frequently observed in 27-70% of parkinsonian patients. Thus, the aim of the present study was to investigate the possible antidepressive effect of phosphatidylserine (PS) and ganglioside GM1 (GM1), and the synergism of both drugs in an animal model of parkinsonism induced by reserpine (RES).

The results showed that PS (50, 100 and 200 mg/kg) and the positive control imipramine (IMI, 25 mg/kg) reduced the immobility time in rats submitted to forced swimming test in comparison to control animals. Moreover, we also studied the RES effect in this test to evaluate the depression associated to this animal model of parkinsonism. The data indicated that RES (1 mg/kg) produced increase in the immobility time in the forced swimming test. On the other hand, the treatment with IMI (25 mg/kg) or PS (50 mg/kg) was able to reverse the RES effect.

In the third experiment we studied the PS and GM1 effects in reserpinized rats observed in the forced swimming test. The results showed that PS (50 mg/kg) did and GM1 did not reverse the effect of the RES in this test. Thus, the concomitant administration of PS and GM1 did not change the increase in the immobility time induced by RES.

The treatment of the rats with PS (50 mg/kg), GM1 (10 mg/kg) and the concomitant administration of both were also investigated in the open-field test. RES treated rats exhibited reduction in the locomotion and rearing frequency and increase in the immobility time. PS was not effective in the reversion of the RES effects. Moreover, GM1 counteracts the hypolocomotion induced by RES. In addition, when PS and GM1 were administered together these lipids did not change RES effects.

Finally we evaluated the PS effects in the hypothermia, catalepsy and ptosis induced by RES (5 mg/kg). The data indicated that both IMI (25 mg/kg) at 10 h after reserpine administration and PS (50 mg/kg) at 24 h after reserpine treatment reversed partially the catalepsy induced by RES.

The present data showed that RES (1mg/kg) was considered a good animal model to study either motor disturbances or depression that occurred in Parkinson's disease patients. Thus, PS (50 mg/kg) was able to reverse the depressive signs in the forced swimming test, but did not change the hypothermia induced by RES. The

GM1 ganglioside reduced the hypolocomotion induced by this alkaloid. This study suggests that both lipids may be considered as coadjuvants in the current treatment of Parkinson's disease.

1 INTRODUÇÃO

1. 1 DOENÇA DE PARKINSON

A Doença de Parkinson (DP) foi primeiramente descrita por James Parkinson no “*Essay on the Shaking Palsy*” em 1817 (MCAULEY, 2003). A doença inicialmente intitulada como Paralisia Agitante (MENEZES e TEIVE, 1996), foi caracterizada pela presença de tremor, alterações no andar e na postura, hipotonia, micrografia e sialorréia. Parkinson acreditava que a função intelectual e a consciência fossem poupadas, mas observou que muitos pacientes estavam “infelizes” provando o contrário do que ele acreditava (JANKOVIC, 1995). Dentre os estudos que contribuíram para um melhor entendimento desta patologia, destaca-se a participação de Jean Marie Charcot. Foi Charcot, que em homenagem a descrição clássica de James Parkinson, propôs que a enfermidade caracterizada como Paralisia Agitante, deveria ser chamada DP. Além disto, Charcot acrescentou outras informações à descrição do quadro clínico, no diagnóstico diferencial e no tratamento da doença (DUVOISIN *et al.*, 1991).

Em 1960, Oleh Hornykiewicz descobriu a origem neuroquímica da DP. Ele observou que amostras de cérebros *post-mortem* de pacientes com DP apresentavam baixos níveis de dopamina (DA), o que mais tarde foi correlacionado com a perda dos corpos celulares de neurônios dopaminérgicos da substância negra parte compacta (SNpc), e com a degeneração das terminações nervosas no estriado (HORNYKIEWICZ e KISH, 1986).

A DP, caracterizada principalmente pela presença de alterações motoras nos pacientes, é uma doença degenerativa do Sistema Nervoso Central (SNC) que afeta principalmente a população idosa, com início do quadro clínico geralmente entre 50 e 70 anos de idade (HUGHES *et al.*, 1993). Entretanto, em alguns casos, é observada em pacientes jovens com idade abaixo de 40 anos (GOLBE *et al.*, 1991). Além disso, no parkinsonismo de início precoce, o desenvolvimento da doença é mais lento do que nos pacientes idosos (CALNE, 2001).

Dados epidemiológicos demonstram que aproximadamente 0,15% da população em geral e 0,5% de indivíduos com idade superior a 50 anos são afetados pela DP (STOOF *et al.*, 1999). Além disso, a DP representa uma patologia relacionada a idade, e tem uma maior prevalência em homens (MAYEUX, 1992).

1. 2 FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE PARKINSON

A principal característica neuropatológica da DP é a progressiva redução dos neurônios dopaminérgicos da SNpc, evidenciada macroscopicamente por uma despigmentação na porção ventrolateral desta estrutura (STOOF *et al.*, 1999; BLANDINI *et al.*, 2000; BARZILAI e MELAMED, 2003; DAUER e PRZEDBORSKI, 2003; NOMOTO, 2003; LEV *et al.*, 2003). A morte destes neurônios gera várias alterações funcionais que afetam o processamento de informações nos gânglios da base (BLANDINI *et al.*, 2000). No estriado, ocorre uma redução dos níveis de DA devido à degeneração dos neurônios dopaminérgicos na SNpc (Área 9) que envia projeções para esta região (NAGATSU, 2002). Estas modificações representam o substrato neural para a expressão dos sintomas motores na DP (BLANDINI *et al.*, 2000).

Estudos adicionais mostram que os sinais e sintomas da DP aparecem após a depleção de aproximadamente 80% da DA estriatal e degeneração de cerca de 60% dos neurônios dopaminérgicos da SNpc (DAUER e PRZEDBORSKI, 2003).

As células lesadas na DP podem ser caracterizadas histologicamente pela formação de inclusões intracitoplasmáticas constituídas por várias estruturas de natureza protéica, denominadas corpos de *Lewy* (BRAAK *et al.*, 1995; NOMOTO, 2003; DAUER e PRZEDBORSKI, 2003). De 85 a 100% das autópsias realizadas em pacientes com DP observou-se a presença dos corpos de *Lewy* nos neurônios dopaminérgicos, porém estas inclusões também podem ser encontradas em alguns idosos não portadores desta patologia (GIBB, 1989).

Em adição à drástica redução da concentração da DA estriatal nos pacientes parkinsonianos (LINDER *et al.*, 1999), estudos demonstraram redução dos níveis de noradrenalina (NA) nos neurônios do *locus coeruleus* (STOOF *et al.*, 1999), perda de serotonina (5-HT) no núcleo da rafe, redução de acetilcolina (Ach) no núcleo basal de Meynert (CANDY *et al.*, 1983) e degeneração de neurônios dopaminérgicos na área tegmental ventral (AGID *et al.*, 1990). Também ocorreu redução nos níveis dos metabólitos de DA como o ácido 3,4-dihidróxifenilacético (DOPAC) e ácido homovanílico (HVA) no estriado (RIEDERER *et al.*, 1986).

Alguns autores observaram redução em torno de 60 a 85% da atividade da tirosina hidroxilase (TH) (JELLINGER, 1991; RAUSH *et al.*, 1988); mais ainda da

atividade da dopa-descarboxilase (LLOYD e HORNYKIEWICZ, 1970) e redução do número de sítios de captação da DA (MIZUKAWA *et al.*, 1993).

1. 3 ETIOLOGIA DA DOENÇA DE PARKINSON

Embora vários estudos foram realizados, a etiologia da DP ainda não é conhecida e o tratamento é basicamente sintomático. Entretanto, sabe-se que a doença está associada à degeneração neuronal. Os possíveis mecanismos envolvidos na morte dos neurônios dopaminérgicos podem estar relacionados com fatores genéticos e ambientais (BLUM *et al.*, 2001; BARZILAI e MELAMED, 2003; DAUER e PRZEDBORSKI, 2003). Mais ainda, estudos mostraram que 0,5% dos casos de DP ocorrem devido à mutação de genes específicos que codificam para as seguintes proteínas: α -sinucleína, parkina, ubiquitina L₁ hidroxilase C-terminal e DJ-1 (BARZILAI e MELAMED, 2003). Por outro lado, 99,5% dos casos de DP idiopática são causados pela ação de fatores ambientais e intrínsecos que provocam morte específica dos neurônios dopaminérgicos da SNpc. Em adição a estes fatores descritos anteriormente, a DA, a neuromelanina e o ferro também podem estar associados a etiologia da DP (BARZILAI *et al.*, 2001; BARZILAI e MELAMED, 2003).

A α -sinucleína junto com a ubiquitina, parkina e neurofilamentos são os maiores componentes dos corpos de Lewy, uma das principais características fisiopatológicas da DP (COLE e MURPHY, 2002; UVERSKY e FINK, 2002; DAUER e PRZEDBORSKI, 2003). Segundo BARZILAI e MELAMED (2003), é possível que o acúmulo de α -sinucleína, ubiquitina e outras proteínas nos corpos de Lewy poderia provocar a inibição da degradação de proteínas na SNpc de pacientes com DP idiopática, talvez contribuindo para morte neuronal. Por outro lado, a função da proteína DJ-1 ainda é desconhecida, mas alguns estudos sugerem que a DJ-1 está envolvida na resposta ao estresse oxidativo, provavelmente por estabilizar diretamente reações redox citosólicas e/ou modular a expressão gênica em níveis transcricional e pós-transcricional (BONIFATI *et al.*, 2002).

Em adição a participação da α -sinucleína na formação dos corpos de Lewy, XU *et al.* (2002) demonstraram que a neurotoxicidade da α -sinucleína poderia provir da interação com a DA nos neurônios dopaminérgicos. Além disto, uma inibição farmacológica da TH, a primeira enzima da biossíntese de DA, eliminou a

citotoxicidade da α -sinucleína nas células dopaminérgicas, sugerindo que a DA é o mediador chave da citotoxicidade causada pela α -sinucleína. Mais ainda, a α -sinucleína pode formar complexos com uma família de proteínas 14-3-3 antiapoptóticas, reduzindo os níveis destas e contribuindo para que ocorra a apoptose nos neurônios dopaminérgicos da SNpc (BARZILAI e MELAMED, 2003).

Assim, estudos sugerem que a morte neuronal na DP idiopática ocorra devido a um processo de apoptose (NAGATSU, 2002; NOMOTO, 2003; BARZILAI e MELAMED, 2003; LEV *et al.*, 2003). O processo de apoptose é causado por uma cascata de eventos nos quais uma família de proteases conhecida como caspases produzem a clivagem de vários substratos celulares. A morte celular por apoptose é caracterizada pela expressão de genes que estimulam a apoptose (ex., *bax*, *bcl-x*) e outros que inibem a apoptose (ex., *bcl-2*, *bcl-xL*) (SCHULZ e GERHARDT, 2001; LEV *et al.*, 2003). Segundo OO *et al.* (2002), a via de transdução pró-apoptótica, a qual é dependente da ativação do receptor do fator α de necrose tumoral (TNF- α), está induzida na DP, confirmando o envolvimento da apoptose na morte dos neurônios dopaminérgicos na SNpc. Além disto, a caspase-3, uma das principais enzimas envolvidas no processo de apoptose, está ativada em modelos experimentais de DP (OO *et al.*, 2002), e alguns estudos também demonstraram que a ativação desta enzima em neurônios dopaminérgicos é significativamente maior em pacientes com DP em relação ao grupo controle (HARTMANN *et al.*, 2000). A ativação da caspase-8 é significativamente maior nos neurônios dopaminérgicos em pacientes parkinsonianos quando comparado com o grupo controle (HARTMANN *et al.*, 2000; HARTMANN *et al.*, 2001b). Em adição, utilizando a hibridização *in situ*, HARTMANN *et al.* (2002) demonstraram um aumento na expressão do RNAm da proteína *bcl-xL* dos neurônio dopaminérgico em pacientes com DP, possivelmente refletindo a ativação do mecanismo de defesa nas células dopaminérgicas.

Alguns autores demonstraram um aumento no número de neurônios dopaminérgicos da SNpc positivos a *bax* (HARTMANN *et al.*, 2001a), como também um aumento na expressão neuronal da *bax* em pacientes parkinsonianos quando comparado com grupo controle (TATTON, 2000). Portanto, todos estes estudos sugerem que o processo de apoptose está ativado em tecidos *post-mortem* de pacientes com DP (DAUER e PRZEDBORSKI, 2003).

Outros autores sugerem que muitos outros fatores podem estar envolvidos na morte celular dos neurônios dopaminérgicos nigroestriatais na DP, incluindo estresse oxidativo e citotoxicidade às espécies reativas do oxigênio, distúrbios de homeostase do cálcio intracelular, toxinas endógenas e exógenas, e disfunções mitocôndrias (LEV *et al.*, 2003).

A principal hipótese para explicar a degeneração neuronal dopaminérgica na DP é a do estresse oxidativo (LEV *et al.*, 2003). Aproximadamente 100% do oxigênio molecular é consumido pela respiração mitocôndrial, e potentes oxidantes são produzidos como subprodutos, incluindo radicais superóxidos e peróxido de hidrogênio. Então, a inibição do complexo I da cadeia respiratória mitocôndrial aumenta a produção de radicais livres superóxidos, os quais podem formar radicais hidroxil tóxicos ou reagir com o óxido nítrico para formar o peroxinitrito. Estas moléculas podem causar danos celulares por reagir com ácidos nucleicos, proteínas e lipídios. Mais ainda, o alvo destas espécies reativas pode ser a própria cadeia de transporte de elétrons (COHEN, 2000), produzindo dano mitocôndrial e uma produção adicional de espécies reativas do oxigênio (DAUER e PRZEDBORSKI, 2003). Estudos demonstraram que vários marcadores biológicos de dano oxidativo estão elevados na SNpc de cérebros de pacientes parkinsonianos (PRZEDBORSKI e JACKSON-LEWIS, 2000).

As toxinas endógenas também podem ser responsáveis pela neurodegeneração que ocorre na DP. Uma fonte de toxinas endógenas pode ser o metabolismo normal da DA o qual gera espécies reativas do oxigênio (DAUER e PRZEDBORSKI, 2003).

Vários autores já demonstraram redução significativa da atividade do complexo I da cadeia de transporte de elétrons, sugerindo que o processo de excitotoxicidade tem participação importante na DP (SCHAPIRA *et al.*, 1990; BARZILAI e MELAMED, 2003).

Além disto, acredita-se que os neurônios dopaminérgicos da SNpc apresentam uma vulnerabilidade às espécies reativas do oxigênio, o que acarretaria na degeneração desta região durante a DP (BLUM *et al.*, 2001). Este fenômeno pode ser explicado pelo aumento nos níveis de radicais livres e redução de antioxidantes endógenos (BLUM *et al.*, 2001).

1. 4 SINTOMAS DA DOENÇA DE PARKINSON

A DP pode ser considerada como um distúrbio do movimento. Os sintomas clínicos da DP são rigidez muscular (resistência aumentada ao movimento passivo do membro), tremor em repouso (habitualmente começando nas mãos e resultando em movimentos em “rolagem de pílula”, que tendem a diminuir durante a atividade voluntária) e instabilidade postural (STOOF *et al.*, 1999; DAUER e PRZEDBORSKI, 2003; NOMOTO, 2003; SHIMOHAMA *et al.*, 2003). Bradicinesia (lentidão e pobreza nos movimentos), hipocinesia (redução na amplitude do movimento) e acinesia (ausência do movimento inconsciente normal) manifestam como uma variedade dos sintomas da DP (DAUER e PRZEDBORSKI, 2003).

Há várias evidências de que a degeneração de neurônios dopaminérgicos da SNpc e a síndrome resultante da deficiência da DA estriatal são responsáveis pelos sinais motores de acinesia e bradicinesia característicos da DP (GERLACH e RIEDERER, 1996).

Além de dificuldades de movimentação, os pacientes parkinsonianos podem apresentar outros sintomas como perda de expressividade facial, déficit postural, a marcha “*petit pas*”, “*freezing*” (incapacidade de iniciar um movimento voluntário), fala monótona, hipofônica e disártrica, micrografia (alteração na escrita) (DAUER e PRZEDBORSKI, 2003) e redução do sono (FÉNELON *et al.*, 2000). Mais ainda, nestes pacientes podem ainda ocorrer alterações autonômicas como hipersalivação, diminuição da atividade sexual (MATHIAS, 2002), diminuição da deglutição (DAUER e PRZEDBORSKI, 2003), alteração do peristaltismo intestinal, incontinência urinária, hipotensão ortostática, dores e perturbações sensitivas (FÉNELON *et al.*, 2000).

1. 5 DEPRESSÃO E DOENÇA DE PARKINSON

De acordo com o DSM-IV (*Diagnostic and Statical Manual of Mental Disorders*, 4. ed.), o *Episódio Depressivo Maior* pode ser caracterizado pela presença de cinco (ou mais) dos seguintes sintomas durante um período de 2 semanas: humor deprimido a maior parte do dia; perda do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades do dia; mudança significativa no peso corporal; insônia ou hipersônia; agitação ou retardo psicomotor; fadiga ou perda de energia; sentimento de inutilidade ou culpa inadequada; diminuição na capacidade de pensar ou se concentrar; e recorrentes pensamentos de morte ou idéias suicidas. Pelo

menos um dos cinco sintomas deve ser: humor deprimido a maior parte do dia ou perda do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades do dia.

A depressão é o distúrbio neuropsiquiátrico mais comum na DP (CHUNG *et al.*, 2003; MCDONALD *et al.*, 2003; ROJO *et al.*, 2003). Estudos anteriores têm concluído que aproximadamente 40% dos pacientes parkinsonianos apresentam sintomas depressivos (CUMMINGS, 1992). Além disto, alguns estudos demonstraram que a depressão é um dos fatores mais importantes que prejudica a qualidade de vida destes pacientes (SCHRAG *et al.*, 2000; KUOPIO *et al.*, 2000; CAAP-AHLGREN e DEHLIN, 2001).

O humor deprimido é comum nos pacientes parkinsonianos e com frequência evidencia-se deficiência da função cognitiva que, às vezes, resulta em demência. Em estudos realizados com estes pacientes, foi observada a presença de quadros de depressão e ansiedade (VALLDEORIOLA *et al.*, 1997), que provavelmente estejam associados ao estágio da doença (AARSLAND *et al.*, 1999).

Segundo BURN (2002), a depressão na DP não parece estar relacionada com o estágio da doença em alguns casos, e pode ter início antes do comprometimento motor da DP. Estudos anteriores têm demonstrado que episódios depressivos prévios são um fator de risco para o desenvolvimento da depressão na DP (MAYEUX *et al.*, 1981).

Atualmente, a fisiopatologia da depressão na DP não é conhecida. Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que alterações na neurotransmissão dopaminérgica (CANTELLO *et al.*, 1989), noradrenérgica (CHAN-PALAY e ASAN, 1989) e serotoninérgica (MAYEUX *et al.*, 1984) são as bases biológicas dos sintomas depressivos associados à DP. Segundo ROJO *et al.* (2003), a depressão na DP também pode estar associada à degeneração no sistema mesolímbico, área tegmental ventral, *locus coeruleus* e núcleos serotoninérgicos.

Estudos com a tomografia por emissão de pósitrons (PET), realizados por MAYBERG *et al.* (1990), demonstraram redução na atividade metabólica no caudado, córtex temporal anterior, e córtex frontal inferior-orbital em pacientes parkinsonianos com depressão quando comparado com pacientes com DP não deprimidos.

Alguns estudos *post-mortem* em pacientes parkinsonianos com histórico de depressão demonstraram uma redução do número de neurônios serotoninérgicos no

núcleo dorsal da rafe (PAULUS e JELLINGER, 1991) e de neurônios dopaminérgicos na área tegmental ventral (BROWN e GERSHON, 1993).

Segundo HOOGENDIJK *et al.* (1998), a ativação de neurônios que secretam o hormônio de liberação de corticotrofina no núcleo paraventricular hipotalâmico, observada na depressão idiopática, não exerce função importante na depressão associada à DP. Este dado provavelmente sugere que a depressão na DP tem uma etiologia diferente da depressão idiopática.

1. 6 MODELO ANIMAL DE PARKINSONISMO INDUZIDO POR RESERPINA

A DP pode ser estudada em animais de laboratório os quais são considerados modelos animais da DP. Através de lesões nos neurônios da via nigroestriatal ou bloqueio dos receptores de DA ou depleção quimicamente induzida de DA, estes animais nos mostram alguns sinais da doença que são estudados para melhor compreensão desta patologia com também para avaliar efeitos de drogas as quais poderão ser capazes de tratar alguns sintomas da DP.

Dentre vários modelos animais de parkinsonismo, podemos citar a Reserpina (RES), que é um alcalóide com estrutura química complexa e não possui nenhuma relação evidente com as catecolaminas e é derivada de um arbusto, a *Rauwolfia serpentina*. Esta planta foi amplamente utilizada para o tratamento da hipertensão e de distúrbios mentais (FOYE, 1995). A RES bloqueia o transporte das aminas nas vesículas sinápticas, através de sua ligação à proteína transportadora Mg-ATPase (LIU e EDWARDS, 1997). As vesículas de armazenamento são destruídas em consequência de sua interação com a RES, e as terminações nervosas perdem a sua capacidade de concentrar e armazenar NA e DA. As catecolaminas são liberadas no citoplasma, onde são destruídas pela monoamina oxidase (MAO) intraneuronal, com pouca ou nenhuma descarga do transmissor ativo pelas terminações nervosas quando estas sofrem despolarização. Verifica-se um processo semelhante nas vesículas de armazenamento da 5-HT (GERBER e NIES, 1991).

Segundo NEISEWANDER *et al.* (1994), a administração crônica de RES em animais provoca uma depleção de 64% dos níveis de DA estriatal.

Em ratos, a RES induz a uma redução da atividade motora (hipocinesia e catalepsia) e o tremor que caracterizam a DP (HAEFELY, 1978). Em adição, o efeito da RES sobre a atividade locomotora espontânea dos animais é freqüentemente

utilizado como um modelo do distúrbio motor da DP (COLPAERT, 1987; KAUR e STARR, 1995; MENZAGHI *et al.*, 1997) e várias drogas antiparkinsonianas utilizadas clinicamente têm demonstrado melhora deste prejuízo motor (MENZAGHI *et al.*, 1997).

Estudos conduzidos em nosso laboratório mostraram que a RES pode ser empregada como um modelo simples e eficaz de parkinsonismo. Em particular, utilizando este modelo verificamos que a RES produziu amnésia em ratos nos testes realizados 24 h e 1 semana após a injeção de RES e avaliados na esquiva passiva (ALVES *et al.*, 2001). De grande relevância para o presente estudo são os dados de SKALISZ *et al.* (2002). Neste trabalho, mostrou-se que o modelo de RES possui validade de face com o modelo de depressão associado à DP. Assim, verificamos que a RES administrada a camundongo induziu anedonia e decréscimo de atividade motora espontânea, que são consideradas sinais da depressão associada à DP.

Por outro lado, é relevante observar que a reversão de alguns efeitos produzidos pela administração de RES em ratos (por exemplo, catatonía, ptose e hipotermia) são utilizados para determinar a atividade antidepressiva de diversas drogas (BOURIN, 1990; ALMEIDA *et al.*, 1998).

Portanto, a RES administrada a ratos fornece um bom modelo animal de DP para estudo de drogas que revertem ou amenizam estes sinais da doença (SALAMONE e BASKIN, 1996).

1. 7 FOSFATIDILSERINA

Atualmente o tratamento da DP tem-se voltado ao desenvolvimento de drogas que reduzam os sintomas motores dos pacientes, dando-se pouca ênfase para os distúrbios afetivos decorrentes desta doença. Neste sentido, ocorre uma grande busca por drogas antidepressivas que produzam menos efeitos colaterais no paciente, já que a terapia convencional de casos de depressão com antidepressivos típicos e atípicos tem apresentado vários efeitos colaterais em pacientes com depressão (BALDESSARINI, 1996). Dentre estas drogas, encontram-se a fosfatidilserina (PS), uma droga nootrópica utilizada no tratamento de amnésia associada às demências, que de acordo com alguns autores pode atenuar alguns sintomas da depressão em humanos (BRAMBILLA *et al.*, 1995; BRAMBILLA *et al.*, 1996; BRAMBILLA e MAGGIONI, 1998; MAGGIONI *et al.*, 1990).

A PS ou 1,2-diacil-*sn*-glicerol-(3)-fosfoserina é um fosfolípido extraído e purificado do córtex de bovinos, conhecido pelos diversos efeitos no SNC (FAGIOLI *et al.*, 1989). Os fosfolípidos presentes nas membranas não estão relacionados somente com os componentes estruturais, mas também envolvidos direta e ativamente com a transdução da informação através das membranas. Tem-se demonstrado que este composto apresenta um importante papel em diversas ligações de membrana semelhante a ativação enzimática, a fusão de lipossomos e a permeabilidade de íons (SAMSON, 1987).

O mecanismo de ação deste fosfolípido está relacionado à alterações tanto em sistemas de neurotransmissores quanto ao aumento da atividade da enzima Na^+, K^+ -ATPase (CALDERINI *et al.*, 1985). Com relação aos neurotransmissores já foi demonstrado que a administração de PS foi capaz de restaurar os níveis de Ach (PEDATA *et al.*, 1985; CASAMENTI *et al.*, 1991). Além disto, esta droga pode atuar indiretamente aumentando a taxa de renovação da NA no hipotálamo e da DA no estriado (TOFFANO *et al.*, 1978).

Estudos realizados por GELBMANN e MÜLLER em 1991 mostraram que o tratamento com PS restaurou parcialmente a densidade dos receptores muscarínicos em várias regiões do cérebro de ratos idosos. Em adição, foi observado um efeito dose-dependente com aumento de 15 a 28% da densidade dos receptores em função das doses administradas de 10 e 40 mg de PS (i.p.), respectivamente.

Alguns trabalhos da literatura têm demonstrado que a administração prolongada de PS a pacientes idosos com DP melhorou parâmetros cognitivos, afetivos e comportamentais, e em especial a falta de atenção, deficiência de memória, desânimo, distúrbios do sono e do humor (FUNGELD e NEDWIDEK, 1987; GRANATA e DI MICHELE, 1987). Além disso, estudos mostram que a terapia prolongada com PS (300 mg/dia) durante 45 dias reduziu significativamente os sintomas de depressão em pacientes idosos. Mais ainda, observou-se nestes pacientes redução da ansiedade relacionada a estados depressivos (MAGGIONI *et al.*, 1990).

Segundo BRAMBILLA *et al.* (1995), o estudo realizado com 10 mulheres idosas com depressão maior não melancólica e tratadas com PS (200 mg/dia - v.o.)

durante 30 dias, mostrou uma significativa melhora nos sintomas depressivos quando estes foram avaliados pela escala de depressão de Hamilton.

Além disto, outros dois estudos realizados por BRAMBILLA *et al.* (1996) e BRAMBILLA e MAGGIONI (1998), com mulheres idosas com depressão maior, mostraram que a administração de PS (200 mg/dia - v.o.) e PS (600 mg/dia - v.o.) durante 30 dias atenuou os sintomas de depressão destas pacientes.

Portanto, os efeitos da PS na melhora da depressão são bem conhecidos em humanos, porém nós não encontramos na literatura nenhum estudo sobre os efeitos deste fosfolípídeo em modelos animais de depressão.

Nosso grupo já verificou que tanto a administração aguda (pré ou pós treino) como o tratamento prolongado (7 dias) com PS (25 mg/kg – i.p.) reverteu a amnésia induzida por RES em ratos nos testes realizados 24 h e 1 semana após o treino na esQUIVA passiva (ALVES *et al.*, 2000). Em adição, foi observado que a administração aguda de PS (25 mg/kg – i.p.) também foi capaz de reverter a amnésia induzida por RES em ratos na esQUIVA passiva (TAKEMATSU *et al.*, 2001).

1. 8 GANGLIOSÍDEO GM1

O gangliosídeo ou monossialotetraexosilgangliosídeo GM1 (GM1) é um glicoesfingolípídeo contendo ácido siálico e está presente nas membranas plasmáticas de todos os tecidos dos vertebrados (LEDEEN e YU, 1982). Os gangliosídeos são particularmente abundantes no sistema nervoso, onde representam cerca de 10% do conteúdo total dos lipídeos (LEDEEN, 1978, 1984).

Um grande número de estudos tem mostrado efeitos neuronotróficos e neuritogênicos para os gangliosídeos exógenos, tanto no SNC como no Sistema Nervoso Periférico (SNP), e em modelos experimentais de neuropatias (LEDEEN, 1984).

As funções biológicas dos gangliosídeos no SNC e SNP têm sido extensivamente investigadas utilizando-se diferentes estratégias (LEDEEN, 1989). Uma delas estudou as alterações no conteúdo de gangliosídeos durante o desenvolvimento e a diferenciação neuronal. A outra avaliou a capacidade dos gangliosídeos exógenos serem captados e incorporados às membranas plasmáticas neuronais.

Além disso, muitos autores já demonstraram a capacidade dos gangliosídeos em aumentar os processos de maturação neuronal (aumento da dendritogênese, arborização e sinaptogênese), sem interferência com aqueles ligados à proliferação celular (OBATA *et al.*, 1977; LEON *et al.*, 1982; MAHADIK e KARPIAK, 1986).

Outros estudos indicam que após a administração periférica, o GM1 liga-se à albumina plasmática atingindo estruturas diferentes. Quando é captado pelo cérebro, o GM1 é internalizado dentro dos neurônios, podendo ser metabolizado pela β -galactosidase lisossômica. Todavia, 2 h após a administração, uma parcela significativa do GM1 administrado encontra-se ainda ligado de maneira estável às membranas (TETTAMANTI *et al.*, 1981). Gangliosídeos exógenos podem ser espontaneamente incorporados à bicamada fosfolipídica, mostrando considerável mobilidade lateral (SHARON e GRANT, 1978). Mais ainda, os gangliosídeos, tanto endógenos como exógenos, podem concentrar-se na membrana dentro de *clusters*, (SAQR *et al.*, 1993). Observou-se que a concentração de gangliosídeos nas membranas do tecido nervoso é especialmente alta nas estruturas sinápticas, provavelmente devido à formação destes *clusters*. Como a formação de *clusters* depende da integridade da actina e como os gangliosídeos são capazes de restaurar o citoesqueleto de neurônios lesados, sugeriu-se que os efeitos dos gangliosídeos poderiam estar ligados às proteínas do citoesqueleto, onde exerceriam suas ações (SPERO e ROISEN, 1984).

A descoberta de que os gangliosídeos exógenos possuem propriedades neuritogênicas, que estão relacionadas à iniciação, alongamento e ramificação do neuroeixo, bem como de que possuem propriedades neuronotróficas, relacionadas à sobrevivência neuronal, afetando a diferenciação neuronal *in vitro*, foram marcos para o início de diversos estudos ligados aos efeitos que poderiam ter nos processos de regeneração neuronal *in vivo*. Assim, de 1979 a 1984, muitos autores avaliaram a capacidade dos gangliosídeos em induzir diferenciação em culturas de neurônios e regeneração *in vivo*. A administração de gangliosídeos foi capaz de estimular o *sprouting* neuronal tanto *in vitro*, como *in vivo*, aumentando a formação de junções neuromusculares e produzindo regeneração neuronal em modelos de neuropatia periférica (GORIO *et al.*, 1980). Por outro lado, coube a CECARELLI *et al.* (1976) a primeira indicação de que os gangliosídeos poderiam afetar o processo de

regeneração. Estes autores mostraram que a administração de GM1 foi capaz de aumentar os processos de recuperação da membrana nictitante desnervada de gato.

Os gangliosídeos também se mostraram efetivos na regeneração e no *sprouting* no SNC (ODERFELD-NOWAK *et al.*, 1981). Neste sentido, o GM1 administrado periféricamente penetrou no cérebro (TETTAMANTI *et al.*, 1981; OGURA e HANDA, 1988), em quantidades suficientes para interagir com os neurônios centrais (LEON *et al.*, 1988).

Dentre os diferentes mecanismos, através dos quais os gangliosídeos poderiam exercer seus efeitos, incluem-se possíveis alterações na atividade de diversas enzimas, incluindo-se aqui a Na⁺, K⁺-ATPase (LEON *et al.*, 1981), a adenilato ciclase (PARTINGTON e DALY, 1979), e as enzimas ligadas à fosforilação (GOLDENRING *et al.*, 1985). A capacidade dos gangliosídeos exógenos em afetar muitas enzimas ligadas à membrana sugere uma forma de modulação de proteínas por estes compostos.

De especial interesse, MOLINA *et al.* (1989) mostraram a capacidade do GM1 em potenciar a *down regulation* de receptores β adrenérgicos, após tratamento com desipramina. Neste experimento, ratos pré-tratados com GM1 (30 mg/kg) mostraram não apenas um aumento significativo do efeito anti-imobilidade no teste de natação forçada, após tratamento com desipramina (10 mg/kg - durante 7 dias), como também uma diminuição do *binding* dos receptores β , medido no córtex frontal dos animais tratados com GM1. Mais ainda, SILVA *et al.* (1996) demonstraram que o tratamento com GM1 (50 mg/kg – i.p.) por 7 dias foi capaz de melhorar prejuízos cognitivos de ratos velhos.

Além disso, diversos autores trabalhando com modelos experimentais da DP, como após o uso de 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), ou 6-hidroxidopamina, têm sugerido a utilização do GM1 na terapêutica desta patologia. Assim, HADJICONSTANTINOU *et al.* (1986) e HADJICONSTANTINOU e NEFF (1988 e 1990) mostraram que a administração de GM1 foi capaz de restaurar os níveis de DA estriatais após tratamento crônico com MPTP. De maneira semelhante, SCHNEIDER *et al.* (1992) também avaliaram o efeito do GM1 em lesões induzidas por MPTP, mas, no entanto, ao invés de roedores, estes autores utilizaram primatas. Os resultados que obtiveram mostraram que, nos animais tratados com o gangliosídeo, tanto os níveis de DA como os de seus principais metabólitos HVA e

DOPAC, estavam elevados no estriado ventromedial. Além deste aumento observaram, ainda, incremento dos níveis de TH. Finalmente, corroborando as evidências acima, SCHNEIDER *et al.* (1995) verificaram que a administração de uma dose alta de GM1 (1,0 g - i.v.), seguida de doses menores (200 mg/dia - s.c. por 18 semanas), promoveu melhora significativa de diversos parâmetros motores e cognitivos de pacientes portadores da DP.

Esses e outros experimentos mostram claramente a participação dos gangliosídeos em processos de regeneração, fato que sugere ser possível o uso destas substâncias como coadjuvantes no tratamento da DP.

Atualmente, tendo em vista que a DP é uma doença neurodegenerativa e que envolve distúrbios motores, cognitivos e comportamentais, verificamos que os tratamentos para a depressão associada a essa patologia ainda são pouco estudados. Considerando que a depressão pode prejudicar a sobrevida dos pacientes, a busca por drogas que possam ser úteis na reversão dos sintomas depressivos pode auxiliar na melhoria da qualidade de vida dos pacientes parkinsonianos. Sendo assim, observa-se a necessidade de avaliar drogas como a PS e o GM1 no intuito de verificar se estas substâncias possuem efeito na reversão de sintomas da depressão em modelos animais de parkinsonismo induzidos por RES.

2 OBJETIVO

2. 1 Objetivo Geral

O objetivo geral do presente trabalho foi investigar o efeito antidepressivo da PS, do gangliosídeo GM1 e da associação de PS mais o gangliosídeo GM1 em um modelo animal de parkinsonismo induzido pela RES. Além disso, também foi objetivo deste estudo, avaliar o efeito depressor da RES em animais submetidos ao teste de natação forçada.

2. 2 Objetivos Específicos

- Avaliar o possível efeito antidepressivo da administração da PS em ratos no teste de natação forçada;
- Verificar se a administração de PS, de gangliosídeo GM1 e da co-administração de PS mais GM1 apresentaria efeito antidepressivo no modelo animal de parkinsonismo induzido por RES em ratos, no teste de natação forçada;
- Investigar os efeitos da administração de PS, do gangliosídeo GM1 e da associação da PS mais GM1 no modelo animal de DP induzido pela RES em ratos, no teste do campo aberto;
- Avaliar os efeitos da curva dose-resposta de RES quanto à hipotermia, catatonía e ptose palpebral em ratos;
- Estudar os efeitos da administração de PS na hipotermia, catatonía e ptose palpebral induzidos por RES em ratos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados ratos machos Wistar de 3 meses de idade, de mesma linhagem, obtidos através de cruzamentos sucessivos de matrizes provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Os animais foram agrupados em número de cinco por gaiola, e foram mantidos em uma sala com umidade e temperatura controladas (22 ± 2 °C), com ciclo claro-escuro de 12 h (7:00-19:00 h). Água e comida foram fornecidas aos animais à vontade durante todo o experimento.

3.2 Drogas

- Ácido acético glacial - Sigma Chemical Company;
- Monossialotetraexosilgangliosídeo GM1 (10 mg/kg) - BROS[®]/TRB Pharma;
- Imipramina (IMI – 25 mg/kg);
- PS (50, 100 e 200 mg/kg) - BROS[®]/TRB Pharma;
- RES (1, 2,5 e 5 mg/kg) - Sigma Chemical Company;
- Salina (SAL - NaCl 0,9% - 1ml/kg).

A RES (1, 2,5 e 5 mg/kg) foi dissolvida em ácido acético glacial e diluída até concentração correta com água deionizada e levada a um sonicador, sendo administrada intraperitonealmente (i.p.) aos animais do grupo RES. O veículo (VEI – 1 ml/kg) era constituído por água deionizada, mais ácido acético glacial, e foi administrado i.p. aos animais.

A PS (50, 100 e 200 mg/kg) foi dissolvida em água e diluída até concentração correta com água deionizada; após isto a solução foi levada a um sonicador, permanecendo neste até completa dissolução, sendo posteriormente administrada i.p. aos animais do grupo PS.

O GM1 (10 mg/kg) e a IMI (25 mg/kg) foram dissolvidos em água deionizada até concentração desejada, sendo posteriormente administradas i.p. aos animais do grupo correspondente. A solução controle da PS, do GM1 e da IMI (SAL – 1 ml/kg) era constituído por salina, e foi administrado i.p. aos animais.

3. 3 Testes Comportamentais

3. 3. 1 Natação Forçada

O procedimento foi modificado a partir do teste descrito por PORSOLT *et al.* (1978). O teste de natação forçada consistiu de duas sessões de natação separadas por um período de 24 horas. Na primeira sessão (treino), os animais foram colocados em um aquário de (20x20x50 cm) com água (15 cm de altura, $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$) por 15 minutos. Após um período de intensa movimentação, os animais adquirem uma postura de imobilidade, com movimentos mínimos para manterem a cabeça fora da água. Na segunda sessão (teste), os animais foram submetidos ao mesmo procedimento por 5 minutos. Nesta sessão registrou-se o tempo de imobilidade, em segundos, de cada animal.

3. 3. 2 Atividade geral

Este teste foi realizado em uma arena circular de madeira com 1 m de diâmetro e 32,5 cm de altura, pintada de branco e dividida em três círculos, os quais são subdivididos por retas em 19 unidades. Na parte superior da caixa de madeira há uma cortina para que os animais não possam ver o observador, e ainda possui uma lâmpada de 40 watts.

Os animais foram colocados individualmente no centro do campo aberto e seu comportamento foi avaliado por 5 min. Durante a observação foram registrados as frequências de locomoção (quando o animal entrava em uma divisão com as 4 patas), de levantar (quando os animais ficavam apoiados somente com as patas traseiras e com o tronco perpendicular ao chão da arena) e a duração de imobilidade (duração de imobilidade, sem nenhuma atividade motora, permanecendo estático no que diz respeito à cabeça, tronco e patas). Foram utilizados cronômetros para controle da duração de imobilidade. A arena foi limpa com solução de água-álcool 5% após a observação de cada animal.

3. 3. 3 Catatonia

A catatonia é um efeito característico de drogas antipsicóticas típicas em animais de laboratório. Trata-se de um sinal motor caracterizado por posturas

anormais persistentes, tem sido considerado como um modelo de rigidez muscular associado à DP (LORENC-KOCI *et al.*, 1996).

Para realizar este teste foi utilizada uma barra de madeira com 0,5 cm de diâmetro apoiada em dois suportes, sendo que a barra se distanciava 9 cm de uma superfície de fórmica de cor neutra. Foi cronometrado o tempo que o animal permanecia apoiado com as patas dianteiras na barra, sendo que as patas traseiras ficam apoiadas na superfície de fórmica. O teste foi então repetido mais duas vezes. A latência do animal para retirar um membro anterior da barra foi mensurada e o resultado expresso pela soma dos três valores em segundos (CARLINI, 1973). A duração total de catatonia (cut-off) foi de 600 segundos.

3. 3. 4 Ptose palpebral

A ptose palpebral caracteriza-se por um relaxamento das pálpebras dos animais e conseqüente fechamento dos olhos. Para avaliar este parâmetro utilizou-se a escala proposta por RUBIN *et al.* (1957), a seguir descrita:

- Pontuação "0" para olhos completamente abertos;
- Pontuação "1" para olhos com uma abertura de 3/4;
- Pontuação "2" para olhos com uma abertura de 1/2;
- Pontuação "3" para olhos com uma abertura de 1/4;
- Pontuação "4" para olhos completamente fechados.

3. 4 Determinação da variação da temperatura corporal

Os animais foram mantidos dentro de suas respectivas gaiolas, e manuseados o mínimo possível durante as medidas. A temperatura corporal foi medida por inserção de uma sonda (YSI nº 400, EUA) de 3,0 cm de comprimento no reto dos animais, conectada a um teletermômetro (modelo 600-8525 BARNANT COMPANY, EUA). Os animais foram treinados às condições experimentais através da realização desse procedimento, no mínimo três vezes, no dia anterior ao experimento, com o objetivo de minimizar possíveis variações de temperatura ocasionadas por estresse do manuseio.

No dia do experimento, a temperatura corporal basal de cada animal foi determinada por 4 medidas com intervalos de 30 minutos antes de qualquer

tratamento. Somente foram utilizados os animais com temperatura estável e na faixa de 36,8 a 37,4 °C. Os experimentos foram conduzidos em uma sala com temperatura controlada (22 ± 2 °C). A determinação da temperatura corporal dos ratos foi realizada com a finalidade de mensurar a variação da temperatura corporal (ΔTC), em °C, dos animais em comparação a temperatura basal dos mesmos.

3. 5 Análise estatística

Os dados dos testes de natação forçada, do campo aberto, da variação da temperatura corporal e da catatonia dos animais foram analisados pela Análise de Variância (ANOVA – *one way*). O teste *post hoc* empregado foi o teste de Tukey quando apropriado. Os dados da ptose palpebral dos animais foram avaliados pela ANOVA de Kruskal-Wallis seguida do teste de Dunn. A probabilidade de $p \leq 0,05$ foi considerada como sendo capaz de revelar diferenças significantes.

4 RESULTADOS

4. 1 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA PS (50, 100 e 200 mg/kg) NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA. CURVA DOSE-REPOSTA.

4. 1. 1 Delineamento experimental

Cinquenta ratos foram divididos em 5 grupos iguais: SAL (i.p. – 1 ml/kg) (n=10); PS (i.p. – 50 mg/kg) (n=10); PS (i.p. – 100 mg/kg) (n=10); PS (i.p. – 200 mg/kg) (n=10); IMI (i.p. – 25 mg/kg) (n=10). Foi realizado um tratamento agudo com SAL, PS ou IMI. A administração de SAL, PS ou IMI foi realizada imediatamente após a sessão treino da natação forçada. Estes tratamentos foram repetidos 8 e 1 h antes da sessão teste da natação forçada. Nesta sessão foi avaliado o tempo de imobilidade (s) dos animais.

4. 1. 2 Resultados

Nossos resultados ilustrados na **Figura 1** mostram que a PS, nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais (156,1±11,1s; 140,7±8,9s e 138,4±14,3s; respectivamente) em comparação aos ratos do grupo controle (SAL, 201,2±6,0s) [$F(4,45)=12.43$; $p<0.05$]. Além disso, nos ratos do grupo controle positivo (IMI, 101,3±9,0s) ocorreu uma redução significativa do tempo de imobilidade em comparação com os animais dos grupos PS (50 mg/kg) e SAL. Finalmente, entre os grupos de animais que receberam a PS (50, 100 e 200 mg/kg) não houve diferença significativa no tempo de imobilidade.

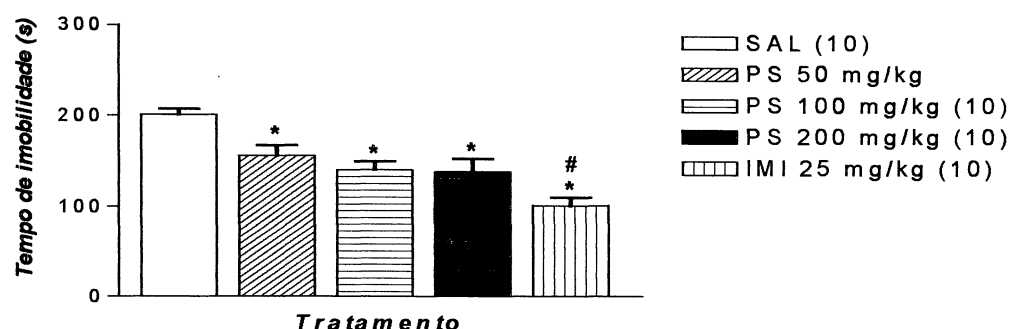


Figura 1. Efeitos da administração aguda de PS 50, 100 e 200 mg/kg e IMI 25 mg/kg no teste de natação forçada. Os valores estão representados pela média ± erro padrão da média. O n/grupo está descrito entre parênteses. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p<0.05$ em comparação aos animais do grupo SAL; # $p<0.05$ em comparação aos animais do grupo PS 50 mg/kg.

4. 2 EFEITOS DA PS (50 mg/kg) NO MODELO ANIMAL DE PARKINSONISMO INDUZIDO POR RES E AVALIADOS NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA.

4. 2. 1 Delineamento experimental

Setenta e um ratos foram divididos em 6 grupos: VEI (i.p. – 1 ml/kg)+SAL(i.p. – 1 ml/kg) (n=15); VEI+PS (i.p. – 50 mg/kg) (n=10); VEI+IMI (i.p. – 25 mg/kg) (n=10); RES (i.p. - 1mg/kg)+SAL (n=16); RES (1 mg/kg)+PS (50 mg/kg) (n=10); RES (1 mg/kg)+IMI (25 mg/kg) (n=10). A administração de RES ou VEI foi realizada imediatamente após a sessão treino da natação forçada. Após 1 h, os ratos receberam SAL, PS ou IMI. Estes tratamentos foram repetidos 8 e 1 h antes da sessão teste da natação forçada. Nesta sessão foi então medido o tempo de imobilidade (s) dos animais.

4. 2. 2 Resultados

Os dados, de acordo com a **Figura 2**, mostram que a RES (RES+SAL, 227,3±3,6s) aumentou significativamente o tempo de imobilidade no teste em comparação aos ratos do grupo controle (VEI+SAL, 199,9±3,2s) [$F(5,65)=21.34$; $p<0.05$], enquanto que no grupo controle positivo (VEI+IMI, 142,2±7,8s) houve diminuição significativa do tempo de imobilidade dos animais em relação ao grupo VEI+SAL. Além disso, nos ratos do grupo RES+IMI (139,6±13,8s) houve redução significativa do tempo de imobilidade em comparação aos grupos VEI+SAL e RES+SAL. Por outro lado, nos ratos dos grupos RES+PS (157,3±10,6s) e VEI+PS (171,2±7,8s) verificou-se redução significativa do tempo de imobilidade em comparação aos ratos do grupo RES+SAL. Finalmente, não foi observada diferença significativa entre o tempo de imobilidade dos ratos dos grupos VEI+PS e VEI+IMI.

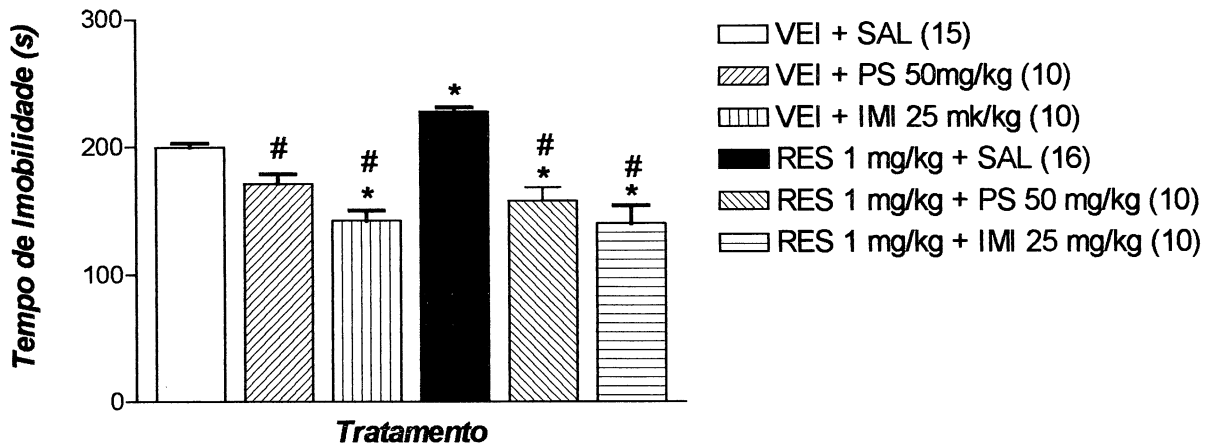


Figura 2. Efeitos da administração aguda de PS 50 mg/kg e IMI 25 mg/kg no modelo animal de parkinsonismo induzido por RES no teste de natação forçada. Os valores estão representados pela média \pm erro padrão da média. O *n*/grupo está descrito entre parênteses. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo VEI+SAL; # $p < 0.001$ em comparação aos ratos do grupo RES+SAL.

4. 3 PS (50 mg/kg) E GM1 (10 mg/kg): EFEITOS EM UM MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO ASSOCIADA À DP NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA.

4. 3. 1 Delineamento experimental

Cem ratos foram divididos em 10 grupos iguais: VEI (i.p. – 1 ml/kg)+SAL (i.p. – 1 ml/kg) ($n=10$); VEI+PS (i.p. – 50 mg/kg) ($n=10$); VEI+GM1 (i.p. – 10 mg/kg) ($n=10$); VEI+PS (50 mg/kg)+GM1 (10 mg/kg) ($n=10$); VEI+IMI (i.p. – 25 mg/kg) ($n=10$); RES (i.p. – 1 mg/kg)+SAL ($n=10$); RES (1 mg/kg)+PS (50 mg/kg) ($n=10$); RES (1 mg/kg)+GM1 (10 mg/kg) ($n=10$); RES (1 mg/kg)+PS (50 mg/kg)+GM1 (10 mg/kg) ($n=10$); RES (1 mg/kg)+IMI (25 mg/kg) ($n=10$). A administração de RES ou VEI foi realizada imediatamente após a sessão treino de natação forçada. Após 1 h, os ratos receberam SAL, IMI, PS, GM1 ou PS+GM1. Estes tratamentos foram repetidos 8 e 1 h antes da sessão teste da natação forçada. Nesta sessão foi então medido o tempo de imobilidade dos animais.

4. 3. 2 Resultados

Nossos resultados ilustrados na **Figura 3** mostram que a RES (RES+SAL, 221,8±5,5s) aumentou significativamente o tempo de imobilidade no teste em comparação aos ratos do grupo controle (VEI+SAL, 176,6±1,9s) [$F(9,90)=23.47$; $p<0.05$], enquanto que no grupo controle positivo (VEI+IMI, 76,4±8,3s) houve redução significativa do tempo de imobilidade dos animais em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL, VEI+PS (124,8±8,6s), VEI+GM1 (162,9±10,4s) e VEI+PS+GM1 (134,7±12,2s) [$F(9,90)=23.47$; $p<0.05$]. Além disso, no grupo RES+IMI (68,7±7,0s) houve diminuição significativa do tempo de imobilidade em comparação aos grupos VEI+SAL, VEI+PS, VEI+GM1, VEI+PS+GM1, RES+SAL, RES+PS (130,9±16,5s), RES+GM1 (182,9±6,7s) e RES+PS+GM1 (135,7±11,8s) [$F(9,90)=23.47$; $p<0.05$]. Nos ratos dos grupos VEI+PS e RES+PS verificou-se redução significativa do tempo de imobilidade em comparação aos ratos do grupo VEI+SAL e RES+SAL [$F(9,90)=23.47$; $p<0.05$]. Por outro lado, nos grupos VEI+GM1 e VEI+PS+GM1 não houve redução significativa do tempo de imobilidade em comparação ao grupo VEI+SAL. Finalmente, nos animais do grupo RES+PS+GM1 foi observada redução significativa no tempo de imobilidade em comparação aos do grupo RES+SAL [$F(9,90)=23.47$; $p<0.05$], o mesmo não foi observado quando comparou-se o tempo de imobilidade dos animais do grupo RES+GM1 com o do grupo RES+SAL.

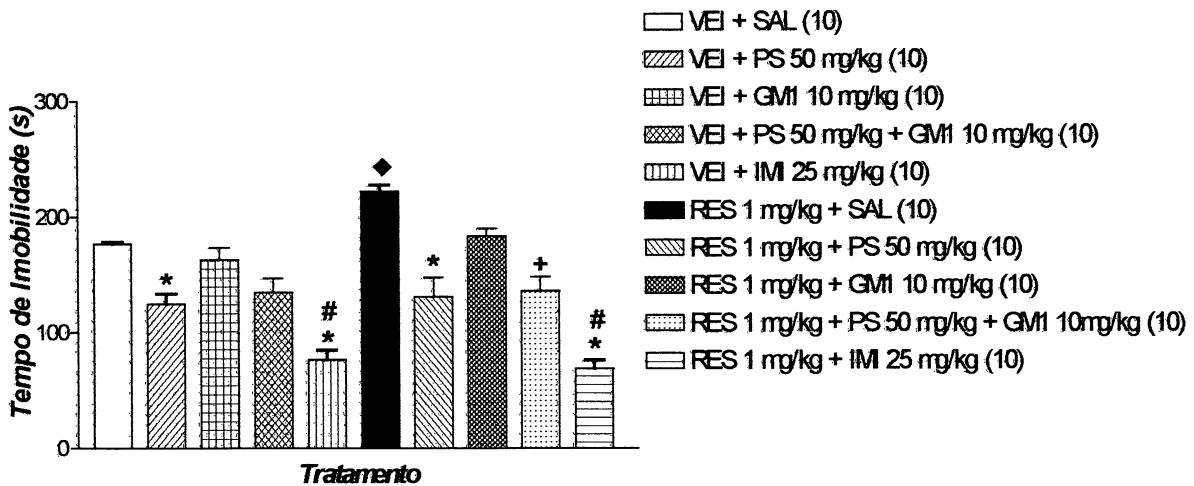


Figura 3. Efeitos da administração aguda de PS 50 mg/kg, GM1 10 mg/kg, PS+GM1 e IMI 25 mg/kg no modelo animal de parkinsonismo induzido por RES no teste de natação forçada. Os valores estão representados pela média \pm erro padrão da média. O n /grupo está descrito entre parênteses. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0.05$ em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL e RES+SAL; ♦ $p < 0.05$ em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL, VEI+PS, VEI+GM1 e VEI+PS+GM1; # $p < 0.05$ em comparação aos ratos dos grupos VEI+PS, VEI+GM1, VEI+PS+GM1, RES+PS, RES+GM1 e RES+PS+GM1; + $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo RES+SAL.

4. 4 EFEITOS DA PS (50 mg/kg) E DO GM1 (10 mg/kg) EM UM MODELO ANIMAL DE PARKINSONISMO NO TESTE DO CAMPO ABERTO.

4. 4. 1 Delineamento experimental

Oitenta ratos foram divididos em 8 grupos iguais: VEI (i.p. – 1 ml/kg)+SAL (i.p. – 1 ml/kg) ($n=10$); VEI+PS (i.p. – 50 mg/kg) ($n=10$); VEI+GM1 (i.p. – 10 mg/kg) ($n=10$); VEI+PS (50 mg/kg)+GM1 (10 mg/kg) ($n=10$); RES (i.p. – 1 mg/kg)+SAL ($n=10$); RES (1 mg/kg)+PS (50 mg/kg) ($n=10$); RES (1 mg/kg)+GM1 (10 mg/kg) ($n=10$); RES+PS (50 mg/kg)+GM1 (10 mg/kg) ($n=10$). A administração de RES ou VEI foi realizada 24 h antes do teste do campo aberto. Uma hora após a administração de RES ou VEI, os ratos receberam SAL, IMI, PS, GM1 ou PS+GM1. Estes tratamentos foram repetidos 8 e 1 h antes da sessão teste do campo aberto. Neste teste foram registrados as frequências de locomoção, de levantar e a duração de imobilidade durante 5 min.

4. 4. 2 Resultados

Os resultados, de acordo com a **Tabela 1**, mostram que a RES (RES+SAL, locomoção=24,7±10,4 e levantar=6,0±1,2) reduziu significativamente as frequências de locomoção e de levantar no campo aberto em comparação aos ratos do grupo controle (VEI+SAL, locomoção=68,7±8,4 e levantar=21,2±1,3) [$F(7,72)=6.89$ (locomoção) e $F(7,72)=6.28$ (levantar); $p<0.05$]. Além disso, houve um aumento significativo da duração de imobilidade do grupo RES+SAL (156,6±26,8s) em comparação ao grupo VEI+SAL (36,0s±8,1s) [$F(7,72)=8.25$; $p<0.05$]. Por outro lado, nos animais do grupo RES+GM1 (63,2±8,2) ocorreu um aumento significativo da frequência de locomoção em comparação aos do grupo RES+SAL. Nos ratos do grupo RES+GM1 (59,5±21,9s) também observou-se uma redução significativa da duração de imobilidade dos animais em comparação a do grupo RES+SAL. Ainda mais, não houve diferença significativa na frequência de levantar entre os grupos RES+GM1 (19,2±3,9) e RES+SAL. Nos grupos RES+PS (locomoção=26,9±10,1; levantar=7,7±3,9; duração de imobilidade=136,8±26,3s) e RES+PS+GM1 (locomoção=26,0±8,9; levantar=7,3±2,7; duração de imobilidade=146,4±23,8s) não ocorreu alteração significativa nas frequências de locomoção, de levantar e na duração de imobilidade quando estes ratos foram comparados com os animais do grupo RES+SAL. Finalmente, entre os animais dos grupos VEI+SAL, VEI+PS (locomoção=69,8±7,5; levantar=25,4±4,9; duração de imobilidade=32,3±11,1s), VEI+GM1 (locomoção=77,9±6,0; levantar=26,8±3,2; duração de imobilidade=40,8±11,3s) e VEI+PS+GM1 (locomoção=65,0±8,9; levantar=22,2±4,3; duração de imobilidade=41,4±12,5s) não houve diferença significativa nos parâmetros estudados.

Tabela 1. Efeitos da administração aguda de PS 50 mg/kg, GM1 (GM1) 10 mg/kg e PS+GM1 no modelo animal de DP induzido por RES sobre a atividade geral de ratos observados em um campo aberto.

Grupo (<i>n</i>)	Frequência de Locomoção	Frequência de Levantar	Duração de Imobilidade (s)
VEI + SAL (10)	68,7 ± 8,4	21,2 ± 1,3	36,0 ± 8,1
VEI + PS 50 mg/kg (10)	69,8 ± 7,5	25,4 ± 4,9	32,3 ± 11,1
VEI + GM1 10 mg/kg (10)	77,9 ± 6,0	26,8 ± 3,2	40,8 ± 11,3
VEI + PS + GM1 (10)	65,0 ± 8,9	22,2 ± 4,3	41,4 ± 12,5
RES 1 mg/kg + SAL (10)	24,7 ± 10,4*	6,0 ± 1,2*	156,6 ± 26,8*
RES 1 mg/kg + PS 50 mg/kg (10)	26,9 ± 10,1*	7,7 ± 3,9 [#]	136,8 ± 26,3*
RES 1 mg/kg + GM1 10 mg/kg (10)	63,2 ± 8,2 [♦]	19,2 ± 3,9	59,5 ± 21,9 [♦]
RES 1 mg/kg + PS + GM1 (10)	26,0 ± 8,9*	7,3 ± 2,7	146,4 ± 23,8*

Os valores estão representados pela média ± erro padrão da média. O *n*/grupo está descrito entre parênteses. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo VEI+SAL; # $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo VEI+PS; ♦ $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo RES+SAL.

4. 5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA RES NA TEMPERATURA RETAL, CATATONIA E PTOSE PALPEBRAL DOS RATOS: CURVA DOSE-REPOSTA.

4. 5. 1 Delineamento experimental

Em um grupo de animais, foi mensurada a temperatura coporal basal de cada animal antes de qualquer administração de drogas. Somente foram utilizados os animais com temperatura estável e na faixa de 36,8 a 37,4 °C. A seguir, estes ratos foram divididos em 3 grupos iguais: SAL (i.p. – 1 ml/kg) ($n=10$); RES (i.p. – 2,5 mg/kg) ($n=10$); RES (i.p. – 5 mg/kg) ($n=10$). Após 6, 10 e 24 h da administração de SAL, RES 2,5 mg/kg ou RES 5 mg/kg, foram avaliados a temperatura retal em °C, a catatonia (s) e a ptose palpebral dos animais. A determinação da temperatura retal dos ratos

foi realizada com a finalidade de mensurar a ΔTC ($^{\circ}C$) dos animais em comparação a temperatura basal dos mesmos.

4. 5. 2 Resultados

Em relação à ΔTC ($^{\circ}C$) dos animais 6, 10 e 24 h após o tratamento com SAL, RES 2,5 mg/kg e RES 5 mg/kg (**Figura 4**), a ANOVA de uma via demonstrou que a administração de RES 5 mg/kg reduziu significativamente a temperatura corporal dos animais 6, 10 e 24 h após administração da mesma ($\Delta TC = -0,66 \pm 0,21^{\circ}C$; $-0,68 \pm 0,16^{\circ}C$ e $-0,55 \pm 0,28^{\circ}C$; respectivamente) em comparação aos ratos do grupo controle (SAL; $\Delta TC = 0,02 \pm 0,04^{\circ}C$; $-0,02 \pm 0,06^{\circ}C$ e $-0,01 \pm 0,08^{\circ}C$; respectivamente) [$F(2,27)$ 6h = 6.41; $F(2,27)$ 10h = 9.60; $F(2,27)$ 24h = 3.85; $p < 0.05$]. Por outro lado, 6 e 24 h após os tratamentos, não ocorreu diferença significativa entre a ΔTC dos animais do grupo RES 2,5 mg/kg ($\Delta TC = -0,46 \pm 0,11^{\circ}C$ e $-0,07 \pm 0,10^{\circ}C$, respectivamente) e os outros grupos. Finalmente, 10 h após a injeção de RES 2,5 mg/kg, houve uma redução significativa da temperatura corporal dos ratos que receberam RES 2,5 mg/kg ($\Delta TC = -0,46 \pm 0,07^{\circ}C$) em comparação aos animais do grupo controle (SAL) [$F(2,27)$ 10h = 9.60; $p < 0.05$].

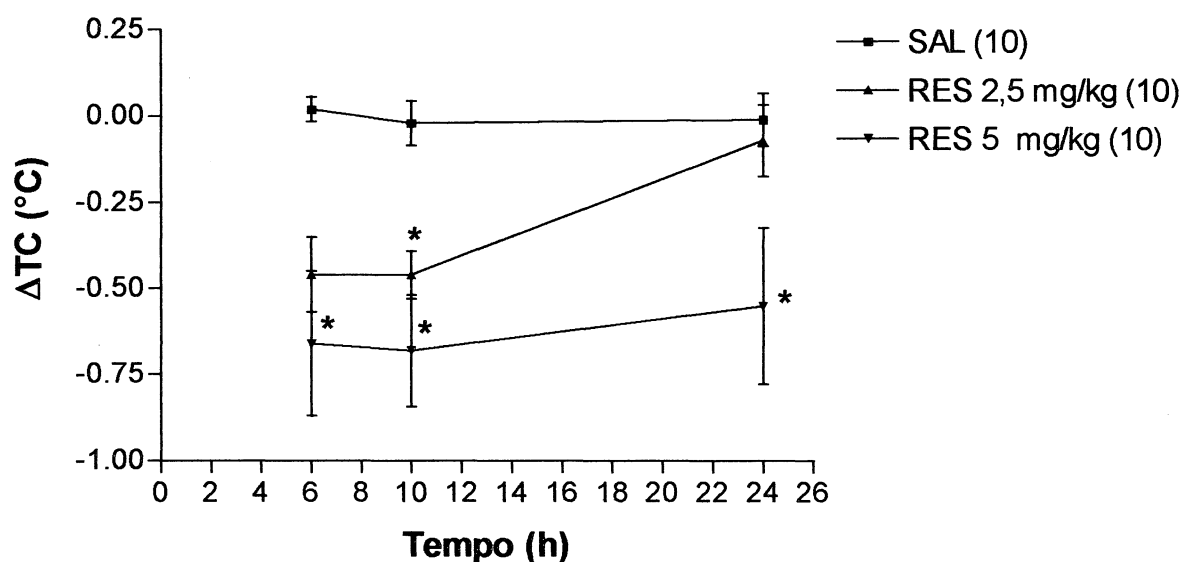


Figura 4. Efeitos da administração de RES 2,5 mg/kg e 5 mg/kg na ΔTC ($^{\circ}C$) de ratos após 6, 10 e 24 h da primeira injeção. Os valores estão representados pela média \pm erro padrão da média. O n /grupo está descrito entre parênteses. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo SAL.

A **Figura 5** mostra que 6, 10 e 24 h após a administração de RES 5 mg/kg ocorreu um aumento significativo na duração da catatonia dos animais ($205,7 \pm 73,7s$; $330,8 \pm 67,9s$ e $315,3 \pm 67,9s$; respectivamente) em comparação aos ratos dos grupos RES 2,5 mg/kg ($23,5 \pm 9,9s$; $62,5 \pm 22,0s$ e $21,4 \pm 10,4s$; respectivamente) e SAL ($0,6 \pm 0,3s$; $1,2 \pm 0,6s$ e $0 \pm 0s$; respectivamente) [$F(2,27)$ 6h = 6.86; $F(2,27)$ 10h = 18.07; $F(2,27)$ 24h = 15.13; $p < 0.05$]. Por outro lado, entre os grupos RES 2,5 mg/kg e SAL não houve diferença significativa na duração da catatonia dos animais 6, 10 e 24h após a primeira injeção.

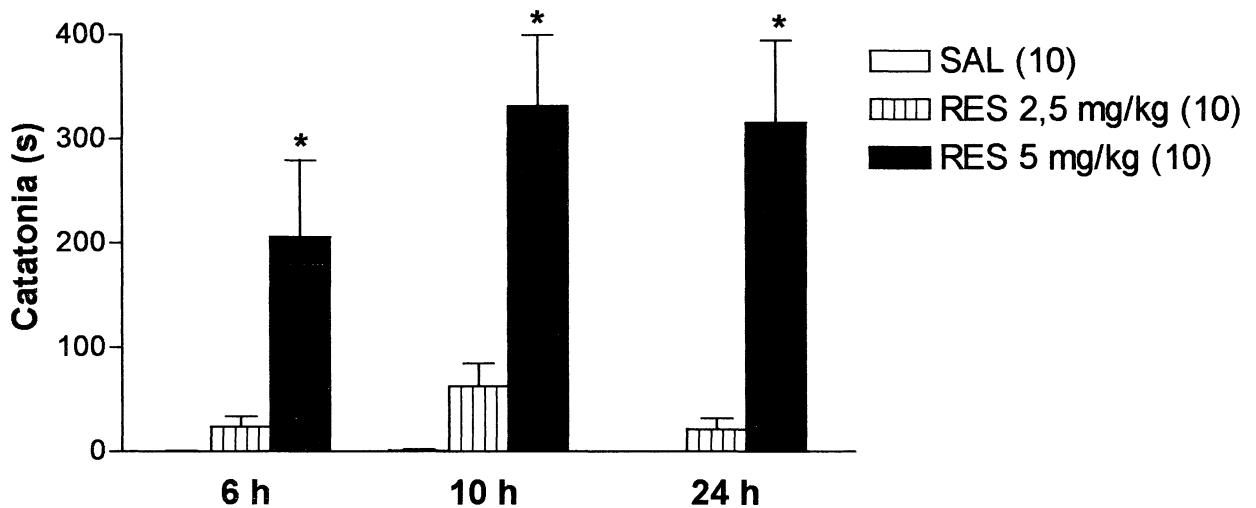


Figura 5. Efeitos da administração de RES 2,5 mg/kg e 5 mg/kg no tempo de duração da catatonia (s) dos animais após 6, 10 e 24 h da primeira injeção. Os valores estão representados pela média \pm erro padrão da média. O n /grupo está descrito entre parênteses. ANOVA seguido do teste de Tukey. * $p < 0.05$ em comparação aos ratos dos grupos SAL e RES 2,5 mg/kg.

Nossos resultados, ilustrados na **Tabela 2**, mostram que 6, 10 e 24 h após a injeção de RES 2,5 mg/kg e RES 5 mg/kg que houve um aumento significativo na ptose palpebral dos ratos dos grupos RES 2,5 mg/kg ($1,8 \pm 0,4$; $2,1 \pm 0,4$ e $1,5 \pm 0,3$; respectivamente) e RES 5 mg/kg ($2,7 \pm 0,3$; $3,1 \pm 0,3$ e $2,3 \pm 0,4$; respectivamente) em comparação aos animais do grupo SAL (0 ± 0 ; 0 ± 0 e 0 ± 0 ; respectivamente) [$H_{6h} = 18.23$; $H_{10h} = 19.97$; $H_{24h} = 17.10$; $p < 0.05$].

Tabela 2. Efeitos da administração de RES 2,5 mg/kg e 5 mg/kg na ptose palpebral de ratos após 6, 10 e 24 h da primeira injeção.

Grupo (n)	Ptose Palpebral		
	6 h	10 h	24 h
SAL (10)	0	0	0
RES 2,5 mg/kg (10)	1.8 ± 0.4*	2.1 ± 0.4*	1.5 ± 0.3*
RES 5 mg/kg (10)	2.7 ± 0.3*	3.1 ± 0.3*	2.3 ± 0.4*

Os valores estão representados pela média ± erro padrão da média. ANOVA de Kruskal-Wallis seguida do teste de Dunn. * $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo SAL.

4. 6 EFEITOS DA PS (50 mg/kg) NA HIPOTERMIA, CATATONIA E PTOSE PALPEBRAL INDUZIDOS POR RES (5 mg/kg).

4. 6. 1 Delineamento experimental

Antes da administração de VEI ou RES, foi determinada a temperatura retal basal de cada animal. Somente foram utilizados os animais com temperatura estável e na faixa de 36,8 a 37,4 °C. Estes ratos foram divididos em 6 grupos iguais: VEI (i.p. – 1 ml/kg)+SAL (i.p. – 1 ml/kg) (n=10); VEI+PS (i.p. – 50 mg/kg) (n=10); VEI+IMI (i.p. – 25 mg/kg) (n=10); RES (i.p. – 5 mg/kg)+SAL (n=10); RES (5 mg/kg)+PS (50 mg/kg) (n=10); RES (5 mg/kg)+IMI (25 mg/kg) (n=10). Após 30 min da injeção de VEI ou RES, administrou-se SAL, PS ou IMI. Estes tratamentos (SAL, PS ou IMI) foram repetidos 1 h antes de cada mensuração dos parâmetros em estudo. Decorridos 6, 10 e 24 h da administração de VEI ou RES, foram avaliados a temperatura retal (°C), a catatonia (s) e a ptose palpebral em cada animal. A determinação da temperatura retal foi realizada com a finalidade de mensurar a ΔTC (°C) dos animais em comparação a temperatura basal dos mesmos.

4. 6. 2 Resultados

Os dados, de acordo com a **Figura 6**, mostram que 6 h após a administração de VEI ou RES, ocorreu uma redução significativa da temperatura corporal dos animais do grupo RES+PS ($\Delta TC = -0,92 \pm 0,16^\circ C$) em comparação aos ratos dos grupos controle (VEI+SAL; $\Delta TC = -0,03 \pm 0,03^\circ C$), VEI+PS ($\Delta TC = -0,14 \pm 0,04^\circ C$),

VEI+IMI ($\Delta TC = -0,11 \pm 0,03^\circ C$) e RES+IMI ($\Delta TC = -0,29 \pm 0,20^\circ C$) [$F(5,54) = 8.11$; $p < 0.05$]. Decorridas 10 h após a injeção de VEI ou RES, observou-se uma redução significativa na temperatura corporal dos ratos dos grupos RES+SAL ($\Delta TC = -0,94 \pm 0,08^\circ C$), RES+PS ($\Delta TC = -0,86 \pm 0,15^\circ C$) e RES+IMI ($\Delta TC = -0,79 \pm 0,17^\circ C$) em comparação aos animais dos grupos VEI+SAL ($\Delta TC = -0,01 \pm 0,05^\circ C$), VEI+PS ($\Delta TC = -0,21 \pm 0,03^\circ C$) e VEI+IMI ($\Delta TC = -0,18 \pm 0,05^\circ C$) [$F(5,54) = 15.44$; $p < 0.05$]. Vinte e quatro horas após o tratamento com VEI ou RES, ainda foi observado uma redução significativa na temperatura corporal dos animais do grupo RES+SAL ($\Delta TC = -0,71 \pm 0,07^\circ C$) em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL ($\Delta TC = 0,01 \pm 0,03^\circ C$), VEI+PS ($\Delta TC = -0,17 \pm 0,05^\circ C$) e VEI+IMI ($\Delta TC = -0,13 \pm 0,06^\circ C$) [$F(5,54) = 8.78$; $p < 0.05$]. Nos ratos dos grupos RES+PS ($\Delta TC = -0,51 \pm 0,11^\circ C$) e RES+IMI ($\Delta TC = -0,46 \pm 0,17^\circ C$) ocorreu uma redução significativa da temperatura corporal em comparação aos ratos do grupo controle (VEI+SAL) [$F(5,54) = 8.78$; $p < 0.05$]. Finalmente, a administração de PS (VEI+PS) ou IMI (VEI+IMI) não alterou a temperatura corporal dos animais em comparação aos ratos do grupo controle (VEI+SAL) em nenhum dos tempos analisados (6, 10 e 24h).

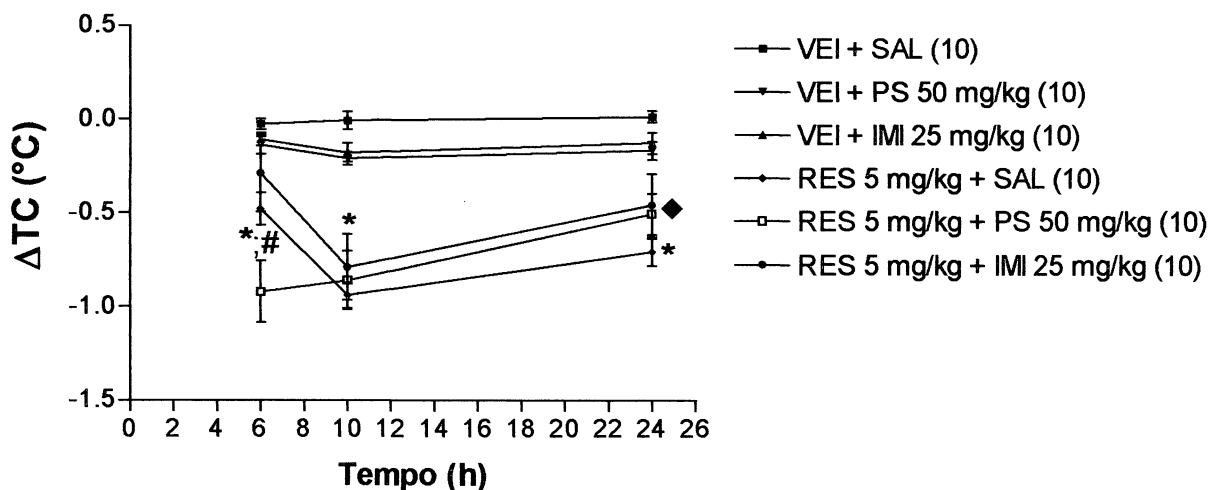


Figura 6. Efeitos da administração aguda de PS 50 mg/kg e IMI 25 mg/kg sobre a hipotermia induzida por RES 5 mg/kg em ratos após 6, 10 e 24 h. Os valores estão representados pela média \pm erro padrão da média. O n /grupo está descrito entre parênteses. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0.05$ em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL, VEI+PS e VEI+IMI; # $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo RES+IMI; \blacklozenge $p < 0.05$ em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL.

A Figura 7 mostra que 6, 10 e 24 h após a administração de RES 5 mg/kg houve aumento significativo na duração da catatonia dos animais dos grupos RES+SAL ($263,9 \pm 57,5s$; $445,9 \pm 55,2s$ e $437 \pm 57,2s$; respectivamente), RES+PS ($279,9 \pm 82,1s$; $349,4 \pm 72,0s$ e $231,4 \pm 62,6s$; respectivamente) e RES+IMI ($202,8 \pm 50,1s$; $243,6 \pm 65,3s$ e $342,8 \pm 74,6s$; respectivamente) em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL ($2,5 \pm 1,9s$; $2,5 \pm 1,3s$ e $1 \pm 0,8s$; respectivamente), VEI+PS ($0,5 \pm 0,3s$; $4,9 \pm 1,6s$ e $2,4 \pm 1,0s$; respectivamente) e VEI+IMI ($2,3 \pm 0,9s$; $4,3 \pm 1,8s$ e $1,8 \pm 1,1s$; respectivamente) [$F(5,54)$ 6h = 9.06; $F(5,54)$ 10h = 18.84; $F(5,54)$ 24h = 17.84; $p < 0.05$]. Por outro lado, dez horas após a injeção de VEI ou RES, a administração de IMI em ratos reserpinizados (RES+IMI) reduziu significativamente a duração da catatonia dos animais em relação aos ratos do grupo RES+SAL [$F(5,54)$ 10h = 18.84; $p < 0.05$]. Ainda mais, dado semelhante foi observado vinte e quatro horas após a administração de VEI ou RES, nos ratos que receberam RES+PS. Neste grupo, ocorreu uma redução significativa na duração da catatonia em comparação aos animais do grupo RES+SAL [$F(5,54)$ 24h = 17.84; $p < 0.05$]. Finalmente, entre os grupos VEI+SAL, VEI+PS e VEI+IMI não houve diferença significativa neste parâmetro em todos os tempos de análise (6, 10 e 24 h).

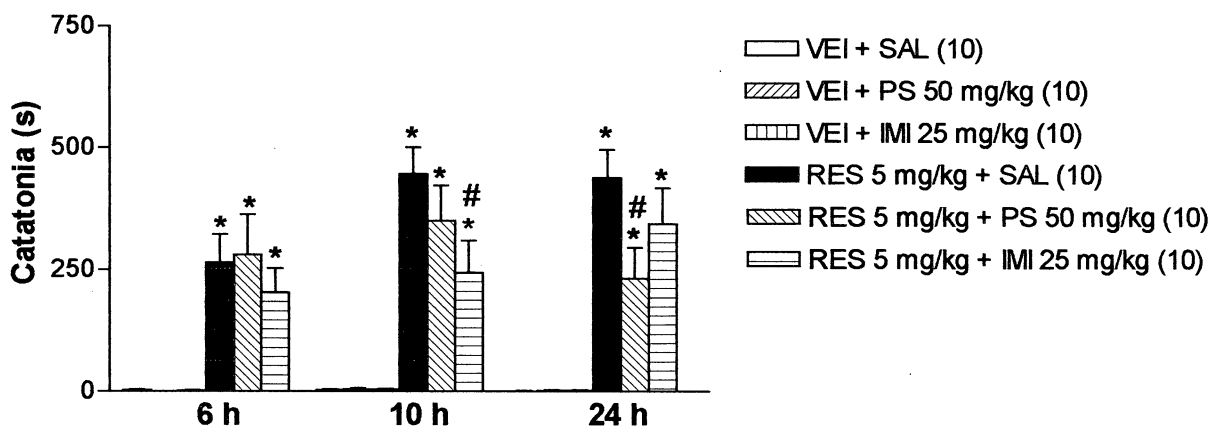


Figura 7. Efeitos da administração de PS 50 mg/kg e IMI 25 mg/kg sobre a catatonia induzida por RES 5 mg/kg em ratos após 6, 10 e 24 h. Os valores estão representados pela média \pm erro padrão da média. O *n*/grupo está descrito entre parênteses. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0.05$ em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL, VEI+PS e VEI+IMI; # $p < 0.05$ em comparação aos ratos do grupo RES+SAL.

Nossos resultados ilustrados na **Tabela 3** mostram que 6, 10 e 24 h após a administração de RES 5 mg/kg ocorreu um aumento significativo na ptose palpebral dos animais dos grupo RES+SAL ($2,8 \pm 0,3$; $3,5 \pm 0,2$ s e $3,0 \pm 0,3$ s; respectivamente), RES+PS ($2,7 \pm 0,3$; $3,2 \pm 0,4$ e $2,4 \pm 0,3$; respectivamente) e RES+IMI ($2,1 \pm 0,4$; $2,6 \pm 0,3$ e $2,5 \pm 0,4$; respectivamente) em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL ($0,0 \pm 0,0$ para ambos), VEI+PS ($0,0 \pm 0,0$ para ambos) e VEI+IMI ($0,0 \pm 0,0$ para ambos) [$H_{6h} = 49.64$; $H_{10h} = 50.30$; $H_{24h} = 49.43$; $p < 0.05$]. Finalmente, entre os grupos VEI+SAL, VEI+PS e VEI+IMI não houve diferença significativa na ptose palpebral em todos os tempos estudados (6, 10 e 24 h).

Tabela 3. Efeitos da administração de PS 50 mg/kg e IMI 25 mg/kg na ptose palpebral induzida por RES 5 mg/kg em ratos após 6, 10 e 24 h.

Grupo (n)	Ptose Palpebral		
	6 h	10 h	24 h
VEI+ SAL (10)	0	0	0
VEI + PS 50 mg/kg (10)	0	0	0
VEI + IMI 25 mg/kg (10)	0	0	0
RES 5 mg/kg + SAL (10)	$2.8 \pm 0.3^*$	$3.5 \pm 0.2^*$	$3.0 \pm 0.3^*$
RES 5 mg/kg + PS 50 mg/kg (10)	$2.7 \pm 0.3^*$	$3.2 \pm 0.4^*$	$2.4 \pm 0.3^*$
RES 5 mg/kg + IMI 25 mg/kg (10)	$2.1 \pm 0.4^*$	$2.6 \pm 0.3^*$	$2.5 \pm 0.4^*$

Os valores estão representados pela média \pm erro padrão da média. O n/grupo está descrito entre parênteses. ANOVA de Kruskal-Wallis seguida do teste de Dunn. $*p < 0.05$ em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL, VEI+PS e VEI+IMI.

5 DISCUSSÃO

Nossos resultados indicam que a PS apresentou um efeito antidepressivo no teste de natação forçada em ratos, caracterizado pela redução do tempo de imobilidade dos animais. Este efeito foi similar àquele encontrado para a IMI. Por outro lado, o GM1 não mostrou efeito antidepressivo neste teste, mas reverteu a hipolocomoção e imobilidade dos animais reserpinizados e avaliados em um campo aberto. Além disso, também verificamos que a administração de RES em animais submetidos ao teste de natação forçada e ao campo aberto apresenta uma validade de face da depressão associada à DP.

No primeiro experimento, analisamos o efeito antidepressivo da PS no teste de natação forçada. Os resultados ilustrados na **Figura 1**, mostram que a PS nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos ratos submetidos a este teste em comparação aos animais do grupo controle (SAL). Este resultado corrobora o efeito antidepressivo da PS descrito por outros autores em seres humanos (BRAMBILLA *et al.*, 1995; BRAMBILLA *et al.*, 1996; BRAMBILLA, 1998; MAGGIONI *et al.*, 1990). No presente trabalho, também verificamos que o controle positivo empregado, IMI (25 mg/kg), reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos ratos em comparação aos animais dos grupos controle (SAL) e PS (50 mg/kg), mas não em comparação aos ratos dos grupos PS (100 mg/kg) e PS (200 mg/kg). Este dado indica dois fatos relevantes, primeiro que o efeito antidepressivo da PS (50 mg/kg) nestas condições foi inferior ao da IMI (25 mg/kg); segundo que nas doses de 100 e 200 mg/kg, a PS mostrou um efeito similar ao deste antidepressivo. Finalmente, entre os grupos de animais que receberam PS (50, 100 e 200 mg/kg) não houve diferença no tempo de imobilidade dos animais.

Os efeitos da PS sobre parâmetros cognitivos, afetivos e comportamentais, têm sido estudados em pacientes com depressão maior. De acordo com MAGGIONI *et al.*, (1990) o tratamento com a PS (300 mg/dia – 45 dias) reduziu significativamente os sintomas depressivos em pacientes avaliados através da escala de depressão de Hamilton sendo que esta melhora não foi correlacionada a alterações nos níveis de monoaminas cerebrais. Além disso, BRAMBILLA *et al.* (1996) utilizando PS (200 mg/dia – 30 dias) e BRAMBILLA e MAGGIONI (1998) empregando a PS (600 mg/dia – 30 dias) em mulheres com depressão maior e faixa

etária média de 72 anos, também demonstraram que a administração de PS produziu melhora significativa dos sintomas depressivos nestes pacientes quando comparados ao grupo controle. Apesar dos resultados preliminares e positivos da PS em pacientes depressivos, a literatura não descreve os efeitos deste fosfolípídeo em modelos animais de depressão. Assim, nossos dados são os primeiros a indicar este efeito em um modelo animal de depressão.

O teste de natação forçada é bastante utilizado no estudo pré-clínico para avaliar a atividade antidepressiva das drogas (BORSINI e MELI, 1988; CRYAN *et al.*, 2002). Neste sentido, antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de NA, tais como a desipramina e a maprotilina, os inibidores da MAO (IMAOs) e muitos antidepressivos atípicos apresentam efeito antidepressivo neste teste (BORSINI e MELI, 1988; LUCKI, 1997). Por outro lado, diversos estudos indicam que os antidepressivos inibidores seletivos da recaptação da 5-HT (SSRIs) geralmente não apresentam atividade antidepressiva neste teste (PORSOLT *et al.*, 1978; BORSINI e MELI, 1988; BORSINI, 1995; PORSOLT *et al.*, 2000). Entretanto, outros trabalhos descrevem efeitos positivos, utilizando altas doses de SSRIs ou quando o teste foi realizado em camundongos (MALINGE *et al.*, 1988; NIXON *et al.*, 1994). Deste modo, a participação da 5-HT neste teste parece ser controversa e variável de acordo com a espécie animal e dose do SSRI empregada. Com relação à participação da DA no teste de natação forçada, efeitos falsos positivos podem ser induzidos por vários estimulantes dopaminérgicos utilizados em doses que aumentam a atividade exploratória do animal (ROGÓZ *et al.*, 2002).

De acordo com o exposto acima, uma possível explicação para o efeito da PS na redução do tempo de imobilidade no teste de natação forçada pode envolver alterações na neurotransmissão dopaminérgica, noradrenérgica e serotoninérgica. Entretanto, PERRY *et al.* (2004) mostraram que a administração prolongada de PS (50 mg/kg por 21 dias) a ratos com lesão na SNpc induzida pelo MPTP não resultou em alterações nas monoaminas estriatais. Em adição, como citado anteriormente, MAGGIONI *et al.* (1990) descreveram que a melhora dos sintomas depressivos em pacientes tratados com a PS não foi associada a mudanças nos níveis de monoaminas cerebrais. Deste modo, torna-se necessário investigar o efeito antidepressivo da PS apresentado no teste de natação forçada em outros modelos animais de depressão, na tentativa de entender o mecanismo de ação deste

composto, pois este efeito pode não estar associado ao aumento da neurotransmissão monoaminérgica cerebral.

No segundo experimento, avaliamos o efeito do parkinsonismo induzido pela RES no teste de natação forçada com o objetivo de estudar a depressão associada a este modelo animal de DP em ratos. Mais ainda, estudamos o efeito farmacológico da administração da PS (50 mg/kg) nestes animais. A **Figura 2** ilustra os efeitos destes tratamentos, e os resultados mostram que a RES (1 mg/kg) apresentou um efeito depressor nos animais pois houve um aumento significativo do tempo de imobilidade em comparação ao grupo controle. Por outro lado, no grupo controle positivo (VEI+IMI) houve redução significativa do tempo de imobilidade dos animais quando comparado com os ratos do grupo controle (VEI+SAL). Além disso, a IMI (25 mg/kg) reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais do grupo RES+IMI em comparação ao tempo de imobilidade dos ratos do grupo VEI+SAL e RES+SAL. Estes resultados confirmam o efeito antidepressivo clássico da IMI no teste de natação forçada (BOURIN *et al.*, 1981; BORSINI e MELI, 1988) e sugerem que a IMI (25 mg/kg) foi capaz de reverter o efeito da RES (1 mg/kg) neste teste. Em adição, a PS (50 mg/kg) reduziu o efeito depressor da RES (1 mg/kg), pois os animais que receberam VEI+PS e RES+PS mostraram redução significativa do tempo de imobilidade em comparação com o tempo de imobilidade dos animais do grupo RES+SAL. Finalmente, os dados mostram que não foi observada diferença significativa entre o tempo de imobilidade dos ratos dos grupos VEI+PS e VEI+IMI. Este dado sugere que o efeito antidepressivo da PS, nestas condições, foi similar ao da IMI.

De modo relevante, a RES produziu depressão nos animais avaliados no teste de natação forçada. Entretanto, de acordo com PORSOLT *et al.* (1979) e YATES *et al.* (1991), este alcalóide não apresentou efeito farmacológico neste modelo de depressão. Assim, nossos dados sugerem um novo método para estudo das possíveis drogas antidepressivas. Mais ainda, o aumento do tempo de imobilidade produzido pela RES (1mg/kg – 24hs antes do teste) no teste de natação forçada não parece estar correlacionado à hipolocomoção observada no campo aberto (**Tabela 1**). A explicação para esta assertiva advém dos resultados obtidos no experimento 4 com a PS. A PS (50 mg/kg) apresentou um efeito antidepressivo no teste de natação forçada (**Figura 1**) pois quando administrada a ratos reserpinizados (RES+PS)

reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais neste teste, indicando que este fosfolípídeo foi capaz de reverter a depressão induzida pela RES. Porém, a PS não foi capaz de reverter a hipolocomoção induzida por RES dos animais avaliados no campo aberto conforme mostra a **Tabela 1** (experimento 4).

O estado depressivo induzido pela RES em humanos foi inicialmente considerado como uma das principais evidências para explicar a hipótese monoaminérgica da depressão, embora mais recentemente tenha sido proposto que o efeito da RES é mais intenso na função motora do que no humor (BOURIN, 1990). A indução de hipolocomoção e rigidez muscular induzidas pela administração de RES são considerados sinais indicativos de parkinsonismo (COLPAERT, 1987; MENZAGHI *et al.*, 1997; DUTRA *et al.*, 2002). Além disso, trabalhos na literatura demonstraram que a administração de RES a camundongos produziu redução na preferência do consumo de sacarose, a qual pode ser considerada como um indicativo de anedonia e um aumento no estado depressivo (MONLEON *et al.*, 1995; WILLNER, 1997).

Nosso grupo observou que a administração de RES (1 e 2 mg/kg) a camundongos avaliados quanto ao consumo de sacarose (um modelo animal empregado para mimetizar os sintomas depressivos) e atividade locomotora espontânea mostra uma validade de face para estudo da depressão associada à DP em animais (SKALISZ *et al.*, 2002). Em adição, a validade preditiva deste modelo foi demonstrada no presente estudo, isto é, a IMI foi capaz de reverter o aumento do tempo de imobilidade no teste de natação forçada.

A depressão é o distúrbio neuropsiquiátrico mais comum na DP (CHUNG *et al.*, 2003; MCDONALD *et al.*, 2003; ROJO *et al.*, 2003). Segundo CUMMINGS (1992), aproximadamente 40% dos pacientes parkinsonianos apresentam sintomas depressivos. Os sintomas depressivos nestes pacientes surgem antes do aparecimento dos primeiros sintomas motores (SATAMARIA *et al.*, 1986). Outros fatores, como o sexo feminino, o início precoce da DP, a longa duração da doença e ansiedade, também podem estar relacionados ao aparecimento da depressão na DP (ROJO *et al.*, 2003). Segundo HOOGENDIJK *et al.* (1998), a ativação de neurônios que liberam o hormônio de liberação de corticotrofina no núcleo paraventricular hipotalâmico, observada na depressão idiopática, não ocorre na depressão

associada à DP. Estes dados indicam que a depressão nestes pacientes possui uma etiologia diferente da depressão idiopática.

Alguns estudos revelaram que os sintomas depressivos observados em pacientes parkinsonianos não são idênticos aos relatados em pacientes com depressão maior. Os pacientes parkinsonianos parecem apresentar mais disforia, tristeza, irritabilidade, pessimismo, e idéias suicidas. A depressão na DP pode ser distinguida de outras desordens depressivas por apresentar estados de ansiedade mais severos e menor sensação de culpa (CUMMINGS, 1992; CHUNG *et al.*, 2003). A comorbidade entre ansiedade e depressão foi descrita em 67% dos casos avaliados, enquanto a comorbidade entre ansiedade e depressão em parkinsonianos ocorre em 97% dos pacientes (BURN, 2002; KANNER e BARRY, 2003).

Diversos autores demonstraram uma relação entre distúrbio cognitivo e depressão na DP (MAYEUX *et al.*, 1981; STARKSTEIN *et al.*, 1990; TANDBERG *et al.*, 1996). Segundo TANDBERG *et al.* (1996), distúrbios cognitivos podem ser considerados como fatores de risco para o aparecimento da depressão no parkinsoniano. Além do mais, a relação entre depressão e cognição é bastante complexa. A depressão pode causar e agravar desordens cognitivas na DP (MAYEUX *et al.*, 1981; LARSEN *et al.*, 2000); sintomas depressivos são comuns em fases iniciais da demência; e ambas as síndromes poderiam ser explicadas pela mesma desordem neurodegenerativa e neuroquímica (ROJO *et al.*, 2003). Em adição, estudos anteriores mostraram que a depressão em pacientes com demência com DP é similar à depressão em pacientes sem distúrbios cognitivos (ROGERS *et al.*, 1987; TROSTER *et al.*, 1995). Nos pacientes com DP e depressão maior, prejuízos significantes são observados nos teste designados para avaliar o funcionamento executivo quando comparado com o grupo controle. Pacientes que possuem depressão menor não apresentam prejuízos cognitivos (STARKSTEIN *et al.*, 1989). Outro estudo demonstrou que prejuízos na formação da lógica são únicos do grupo com DP e depressão (KUZIS *et al.*, 1997).

Embora alguns autores descrevem que flutuações no humor na DP são resultados de várias flutuações motoras (HARDIE *et al.*, 1984; CANTELLO *et al.*, 1986; NISSENBAUM *et al.*, 1987; FRIEDENBERG e CUMMINGS, 1989), existem evidências de que alterações motoras e no humor podem ser fenômenos separados.

Em um estudo piloto, RICHARD *et al.* (2001) avaliaram 16 pacientes parkinsonianos com flutuações motoras, e mostraram que mudanças no humor e na ansiedade são freqüentes, entretanto, não houve correlação entre flutuações no humor e alterações motoras nestes pacientes. Mais ainda, um estudo utilizando a infusão intravenosa de levodopa em parkinsonianos confirmou a dissociação entre os sintomas motores e não motores da doença por demonstrar que as alterações no humor precederam as motoras (MARICLE *et al.*, 1995). Em adição, os tratamentos cirúrgicos para a DP como lesões no globo pálido interno têm melhorado as alterações motoras da doença sem influenciar nos sintomas de humor (GREEN *et al.*, 2002). Todavia, a estimulação da região abaixo do núcleo subtalâmico está associada à melhora do humor deprimido sem efeito sobre a função motora destes pacientes (BEJJANI *et al.*, 1999; BERNEY *et al.*, 2002).

Muitos estudos sugerem que alterações na neurotransmissão dopaminérgica (CANTELLO *et al.*, 1989), noradrenérgica (CHAN-PALAY e ASAN, 1989) e serotoninérgica (MAYEUX *et al.*, 1984) são as bases biológicas dos sintomas depressivos associados à DP. Estes dados explicam a preocupação do nosso grupo em estudar este distúrbio de humor na DP, como também seus possíveis tratamentos.

Nesta linha, os dados do presente trabalho mostram que o modelo da RES foi eficaz para investigar a depressão associada à DP, apesar deste alcalóide causar uma depleção monoaminérgica não específica. O presente trabalho nos permite inferir que a PS pode apresentar efeito antidepressivo na depressão associada à DP. Este fato abre uma nova perspectiva para o tratamento destes pacientes. Além disso, em estudos controlados realizados com este fosfolípideo não foram relatados efeitos colaterais nos pacientes (BRAMBILLA *et al.*, 1995; MAGGIONI *et al.*, 1990).

A terapia atual da depressão no paciente parkinsoniano envolve o uso de antidepressivos tricíclicos e SSRIs. Assim, sabe-se que o uso de antidepressivos tricíclicos pode agravar a hipotensão ortostática associada à DP, e os efeitos colaterais anticolinérgicos dos tricíclicos podem agravar problemas cognitivos, a constipação e boca seca nestes pacientes. Os SSRIs, como a fluvoxamina e o citalopram (CHUNG *et al.*, 2003), são melhor tolerados para o tratamento da depressão nos pacientes com DP, mas esta classe de medicamentos pode causar insônia, agitação, náusea, e redução da atividade sexual (MCDONALD *et al.*, 2003).

Mais ainda, alguns antidepressivos como os SSRIs podem agravar os sintomas motores da DP, o que inviabilizaria seu uso. Além disso, os SSRIs poderiam causar efeitos colaterais extrapiramidais por aumentar a inibição mediada por 5-HT do núcleo da rafe e diminuir a liberação de DA na via nigroestriatal (MELTZER *et al.*, 1979; JIMENEZ-JIMENEZ *et al.*, 1994; MCDONALD *et al.*, 2003). Finalmente, alguns autores sugerem que os estudos sobre a eficácia e segurança da terapia antidepressiva na DP têm que ser estudadas mais detalhadamente pois a maioria dos trabalhos da literatura provém de estudos com pequeno grupo amostral, população heterogênea e uso de escalas de depressão que são subjetivas (CHUNG *et al.*, 2003; MCDONALD *et al.*, 2003).

Ainda com relação ao tratamento da DP, drogas empregadas para redução do prejuízo motor como agonistas dopaminérgicos, a levodopa e a amantadina, possuem uma fraca atividade antidepressiva (MENZA *et al.*, 1990; MARICLE *et al.*, 1995), porém exacerbam os sintomas psiquiátricos (incluindo delírio, agitação, inquietação e alucinações). Considerando que a reposição de DA não melhora a depressão em todos os pacientes, é pouco provável que a deficiência de DA seja a única explicação para a etiologia da depressão na DP.

No terceiro experimento, avaliamos os efeitos da PS, do gangliosídeo GM1 e do possível sinergismo entre estes lipídeos, no modelo animal de parkinsonismo induzido por RES no teste de natação forçada. Os resultados, ilustrados na **Figura 3**, mostram que a RES (1 mg/kg), de modo semelhante ao experimento anterior, apresentou um efeito depressor nos animais pois ocorreu um aumento significativo do tempo de imobilidade dos animais em comparação aos animais do grupo controle (VEI+SAL). Por outro lado, no grupo controle positivo (VEI+IMI) houve redução significativa do tempo de imobilidade dos animais em comparação aos ratos dos grupos VEI+SAL, VEI+PS, VEI+GM1 e VEI+PS+GM1. Além disso, a IMI (25 mg/kg) reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais do grupo RES+IMI em comparação aos grupos VEI+SAL, VEI+PS, VEI+GM1, VEI+PS+GM1, RES+SAL, RES+PS, RES+GM1 e RES+PS+GM1, demonstrando seu efeito antidepressivo neste teste (BORSINI e MELI, 1988; BOURIN *et al.*; 1981) e sua capacidade de reduzir o efeito depressor da RES (1 mg/kg) como descrito anteriormente. Os dados acima indicam que a PS (50 mg/kg) reverteu o efeito depressor da RES (1 mg/kg) no teste de natação forçada corroborando nosso resultado encontrado no segundo

experimento. Entretanto, nesta etapa a PS (50 mg/kg) mostrou um efeito antidepressivo inferior ao da IMI no teste de natação forçada. Este dado é contrário ao obtido no experimento anterior o qual sugere que o efeito antidepressivo da PS (50 mg/kg) e IMI (25 mg/kg) foram similares neste teste. Por outro lado, o GM1 (10 mg/kg) não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais. Finalmente, a administração concomitante de PS+GM1, não reduziu significativamente o tempo de imobilidade dos animais do grupo VEI+PS+GM1 em comparação aos ratos do grupo controle (VEI+SAL). Porém, nos animais do grupo RES+PS+GM1 foi observado redução significativa no tempo de imobilidade em comparação aos do grupo RES+SAL, demonstrando um efeito antidepressivo provavelmente devido ao efeito da PS neste teste.

Os dados deste experimento mostram que nas nossas condições, não foi verificado sinergismo entre a PS e o GM1. Considerando que estes dois compostos aceleram a plasticidade neuronal, acreditávamos ser possível uma somação de efeitos. Mais ainda, já verificamos que o GM1 reduziu os efeitos da RES em um modelo animal de discinesia tardia (VITAL *et al.*, 1997).

De modo relevante, MOLINA *et al.* (1989) mostraram a capacidade do GM1 em potenciar a *down regulation* de receptores β adrenérgicos em ratos, após tratamento com desipramina. Neste experimento, ratos pré-tratados com GM1 (30 mg/kg) mostraram não apenas redução significativa do tempo de imobilidade no teste de natação forçada, após tratamento com desipramina (10 mg/kg - durante 7 dias), como também uma diminuição do *binding* dos receptores β , medido no córtex frontal destes animais. Assim, nas nossas condições experimentais, não verificamos o efeito antidepressivo do GM1. Uma possível explicação para a discrepância entre os resultados de MOLINA *et al.* (1989) e os presentes, pode estar relacionada ao esquema de tratamento, em particular, a dose empregada e a duração do tratamento.

Nesta linha de raciocínio, nosso grupo observou que o GM1 não alterou o *binding* dos receptores D₂ estriatais após tratamento prolongado com o haloperidol (VITAL *et al.*, 1998).

No quarto experimento, estudamos o efeito farmacológico da administração de PS (50 mg/kg), de GM1 (10 mg/kg) e da associação PS mais GM1 (PS+GM1) no modelo animal de parkinsonismo induzido por RES em ratos observados em um

campo aberto. Os resultados ilustrados na **Tabela 1** mostram que a administração de RES reduziu significativamente as freqüências de locomoção e levantar e aumentou a duração de imobilidade em comparação aos ratos do grupo controle. A administração de PS não foi capaz de reverter os efeitos da RES neste teste. De modo relevante, conforme citado anteriormente, a PS (50 mg/kg) reverteu o efeito depressor da RES (1 mg/kg) no teste de natação forçada, mas não a hipolocomoção induzida pela RES no campo aberto. Por outro lado, o GM1 reverteu a redução da atividade locomotora e o aumento da duração de imobilidade induzidos pela RES. Em particular, quando se administrou concomitantemente PS+GM1 o efeito do GM1 não foi verificado.

Este último dado sugere um antagonismo entre a PS e o GM1. Entretanto, não sabemos como explicar este efeito, talvez uma interferência nos mecanismos farmacocinéticos entre esses dois compostos possa ter ocorrido.

Os dados acima corroboram estudos que demonstraram que animais tratados com RES desenvolveram hipolocomoção, que é um indicativo da síndrome parkinsoniana (HAEFELY, 1978; COLPAERT, 1987; MENZAGHI *et al.*, 1997). Mais ainda, estes resultados confirmam o trabalho realizado por BLOKLAND *et al.* (1999), que demonstraram que a administração de PS (15 mg/kg – 7 dias) não alterou as freqüências de locomoção e levantar dos animais.

Com relação ao efeito do GM1 na reversão da hipolocomoção induzida pela RES, outros autores já encontraram efeitos similares para este glicoesfingolípídeo. Segundo HADJICONSTANTINO *et al.* (1986) e HADJICONSTANTINO e NEFF (1988 e 1990), a administração de GM1 foi capaz de restaurar os níveis de DA estriatal após lesão provocada pelo MPTP em ratos. Nas nossas condições experimentais, o GM1 reverteu a hipolocomoção e o aumento da duração de imobilidade induzidos pela RES no campo aberto. Este resultado corrobora a utilização do GM1 como coadjuvante no tratamento da DP sugeridos por diversos autores (SCHNEIDER *et al.* 1992; SCHNEIDER *et al.* 1995).

Diversos autores demonstraram que substâncias sem atividade antidepressiva como os agonistas dopaminérgicos reduzem o tempo de imobilidade dos animais no teste de natação forçada (PORSOLT *et al.*, 1977, 1979; BORSINI *et al.*, 1981; KITADA *et al.*, 1986), mas aumentam a atividade motora dos animais (BORSINI e MELI, 1988). Deste modo, podemos inferir que o efeito antidepressivo

da PS (50 mg/kg) observado no teste de natação forçada, não foi devido a um aumento da atividade locomotora dos animais, eliminando a possibilidade de um resultado falso positivo neste teste. Uma outra hipótese para explicar o efeito da PS na redução do tempo de imobilidade no teste de natação forçada poderia ser devido a um efeito amnésico. Porém, dados do nosso grupo demonstram que a administração de PS (50, 100 e 200 mg/kg) não exibiu um perfil de droga amnésica no labirinto aquático de Morris (CLARO *et al.*, 1999; CASTILHO *et al.*, 2004; PERRY *et al.*, 2004). Mais ainda, CROOK *et al.* (1991) trataram 149 pacientes com perda de memória associada a idade com PS (100 mg) ou placebo, por 12 semanas. Neste estudo, foi verificado que os pacientes tratados com PS obtiveram maior desempenho nos testes de aprendizado e tarefas de memória do cotidiano. Portanto, o efeito amnésico não ocorreu após o tratamento com a PS.

Os resultados obtidos neste trabalho até o momento, sugeriam a necessidade de se investigar o efeito antidepressivo da PS apresentado no teste de natação forçada em outros modelos animais de depressão. Nesta linha, o próximo experimento foi realizado com o intuito de padronizar um outro teste para avaliar o efeito deste fosfolípídeo na reversão dos efeitos da RES em ratos.

Apesar de existirem vários testes propostos para mostrar a ação antidepressiva de drogas em animais, o modelo da RES permanece como um dos mais utilizados devido ao baixo custo e facilidade de execução. Além disso, drogas que revertam alguns dos efeitos induzidos por RES em animais (hipotermia, ptose palpebral e acinesia) podem ter uma atividade antidepressiva em humanos. Esta afirmação é justificada pelo fato de que antidepressivos semelhantes à imipramina ou IMAOs, como também muitos dos novos antidepressivos possuem efeitos neste modelo (BOURIN, 1981; BOURIN, 1990). Entretanto, vários estudos adicionais têm que comprovar este efeito. Assim, dependendo do antagonismo exercido pela droga aos efeitos da RES, podemos sugerir seu provável mecanismo de ação. Dentre estes prováveis mecanismos podemos citar: (1) antagonismo da hipotermia, é indicativo de substâncias (mais freqüentemente antidepressivos) que possuem atividade β adrenérgica direta ou indireta; (2) antagonismo da ptose palpebral, é indicativo de agentes que possuem atividade α -adrenérgica (não antidepressiva) ou atividade serotoninérgica (possível antidepressivo); e (3) antagonismo da acinesia, é

indicativo de efeito dopaminérgico direto ou indireto, freqüentemente encontrados em antidepressivos que tem um efeito psicoestimulante (BOURIN *et al.*, 1983).

No quinto experimento, estudamos o efeito da administração de RES em diferentes doses (2,5 mg/kg e 5 mg/kg) na indução da hipotermia, catatonia e ptose palpebral nos animais. Este estudo foi realizado com o objetivo de selecionar uma dose de RES que, além de induzir catatonia e ptose, produzisse redução na temperatura corporal dos animais. Os resultados mostrados nas **Figuras 4, 5** e na **Tabela 2** indicam que a administração de 5 mg/kg de RES seria a dose ideal para realizar os experimentos seguintes para investigar o efeito da PS (50 mg/kg) em outros modelos animais de depressão, pois esta dose de RES induziu hipotermia, catatonia e ptose palpebral 6, 10 e 24 h após sua administração. O mesmo não foi observado com administração de RES (2,5 mg/kg).

No sexto experimento, ilustrado nas **Tabelas 3, 4** e na **Figura 6**, avaliamos o efeito da administração aguda da PS na hipotermia, catatonia e ptose palpebral induzidos por RES. Os resultados confirmam a capacidade da RES em induzir hipotermia, catatonia e ptose palpebral nos animais corroborando o estudo anterior. Mais ainda, estes dados sugerem que a IMI na dose de 25 mg/kg (10 h após a administração de RES) e a PS na dose de 50 mg/kg (24 h após a administração de RES) foram eficazes na reversão parcial da catatonia induzida por RES (5 mg/kg). Contudo, os tratamentos com PS e IMI não antagonizaram a hipotermia e a ptose palpebral induzidas por RES (5 mg/kg) nos animais.

Dados do nosso grupo não apresentados no presente trabalho confirmam aqueles de TAKEMATSU *et al.* (2001), e demonstram que a administração de PS (50 mg/kg) em ratos 1 h após a injeção de RES (i.p. – 1 mg/kg), 8 e 1 h antes da mensuração da ptose dos animais, foi capaz de reverter a ptose palpebral induzida por RES 24 h após a administração da mesma. A ausência de efeito da PS (50 mg/kg) na reversão da ptose palpebral induzida por RES no experimento corrente pode ser explicada pelo aumento da dose de RES (5 mg/kg).

Deste modo, a RES produziu hipotermia, ptose e catatonia nos animais. Entretanto, a PS não foi eficaz na reversão destes sinais depressivos. Assim, duas hipóteses podem explicar a ausência de efeitos da PS nestes últimos testes: a primeira estaria relacionada à dose de PS empregada, que poderia não ser suficiente para reverter os parâmetros alterados pela RES; a segunda, talvez os

efeitos da PS observados no teste de natação forçada não sejam devidos à um efeito no aumento do *turnover* de amins cerebrais.

De acordo com BOURIN *et al.* (1990), tanto os antidepressivos tricíclicos quanto os IMAOs são capazes de reverter os efeitos induzidos pela RES (hipotermia, ptose e acinesia). Deste modo, verificamos que no presente experimento tanto a IMI como PS não foram eficazes no antagonismo ao efeito deste alcalóide.

Tomados em conjunto, os dados do presente trabalho indicam que a RES constitui um bom modelo animal para o estudo da DP. A PS mostrou um efeito antidepressivo somente no teste de natação forçada mas não na reversão da hipotermia induzida pela RES. Talvez este efeito da PS possa estar associado a uma alteração nos sistemas de neurotransmissores cerebrais e não somente ao aumento do *turnover* das monoaminas. Finalmente, o GM1 foi eficaz na reversão da hipolocomoção induzida pela RES, corroborando dados da literatura que indicam sua eficácia no tratamento da DP. Os mecanismos de ação farmacológicos destes dois lipídeos ainda não foram elucidados. Futuros experimentos, alguns já em andamento, poderão auxiliar nestas respostas.

6 CONCLUSÃO

Os dados do presente trabalho nos permitem concluir que:

- A PS, nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, e a IMI, na dose de 25 mg/kg, administradas pós sessão treino, 8 e 1 h antes da sessão teste de natação forçada, reduziram o tempo de imobilidade dos ratos. Estes dados sugerem um efeito antidepressivo deste fosfolípídeo e confirmam a eficácia terapêutica da IMI como antidepressivo;
- A administração de RES (1 mg/kg), 24 h antes da sessão teste da natação forçada, aumentou o tempo de imobilidade dos ratos, constituindo um bom modelo animal de DP para estudar depressão;
- A IMI (25 mg/kg) administrada 1 h após administração de RES, 8 e 1 h antes da sessão teste da natação forçada, reduziu o tempo de imobilidade dos ratos neste teste, comprovando sua eficácia como antidepressivo.
- O tratamento com PS (50 mg/kg) 1 h após a injeção de RES, 8 e 1 h antes da sessão teste da natação forçada, reduziu o tempo de imobilidade dos animais sugerindo um efeito antidepressivo deste fosfolípídeo;
- A administração de GM1 (10 mg/kg) 1 h após o tratamento com RES ou VEI, 8 e 1 h antes da sessão teste da natação forçada, não reduziu o tempo de imobilidade dos animais, não demonstrando um efeito antidepressivo;
- A administração conjunta de PS+GM1 1 h após a injeção de RES, 8 e 1 h antes da sessão teste da natação forçada, reduziu o tempo de imobilidade dos animais, demonstrando um efeito antidepressivo provavelmente devido ao efeito da PS;
- A administração de RES (1 mg/kg), 24 h antes do teste do campo aberto, reduziu as freqüências de locomoção e levantar, e aumentou a duração de imobilidade dos animais constituindo um bom modelo animal de DP;
- A PS (50 mg/kg) não alterou os parâmetros analisados no campo aberto, sugerindo que o efeito antidepressivo deste fosfolípídeo na natação forçada não foi devido a um aumento da atividade locomotora;

- O tratamento com GM1 (10 mg/kg) 1 h após o tratamento com RES, 8 e 1 h antes do teste do campo aberto, reverteu a hipolocomoção e o aumento da duração de imobilidade produzidos por este alcalóide em animais, comprovando o seu efeito como coadjuvante terapêutico para o tratamento da DP;
- A administração concomitante de PS+GM1 1 h após a injeção de RES ou VEI, 8 e 1 h antes do teste do campo aberto, não alterou os parâmetros avaliados neste teste, sugerindo um antagonismo entre estes dois lipídeos;
- O tratamento com RES (5 mg/kg) produziu hipotermia, catatonia e ptose nos ratos 6, 10 e 24 h após a administração deste alcalóide;
- A administração de PS (50 mg/kg) reverteu parcialmente a catatonia induzida por RES 24 h após a administração deste alcalóide;
- O tratamento com IMI (25 mg/kg) reverteu parcialmente a catatonia induzida por RES 10 h após a injeção deste alcalóide;
- A PS (50 mg/kg) e a IMI (25 mg/kg) não reverteram a hipotermia e a ptose palpebral induzidas por RES (5 mg/kg) em animais, não demonstrando um efeito antidepressivo neste teste.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARSAND, D.; LARSEN, J.P.; LIM, N.G.; JANVIN, C.; KARLSEN, K; TANDBERG, E.; CUMMINGS, J.L. Range of neuropsychiatric disturbances in patients with Parkinson's disease. **Journal Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 67, p. 492-496, 1999.

AGID, Y.; RUBERG, M.; RAISMAN-VOZARI, R.; HIRSCH, E.C.; JAVOY-AGID, F. The biochemistry of Parkinson's disease. In: STERN, G.M. (Ed.). **Parkinson's disease**. London: Chapman & Hall, 1990. p. 99-125.

ALMEIDA, R.N.; NAVARRO, D.S.; DE ASSIS, T.S.; DE MEDEIROS, I.A.; THOMAS, G. Antidepressant effect of an ethanolic extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 63, p. 247-252, 1998.

ALVES, C.S.D.; ANDREATINI, R.; DA CUNHA, C.; TUFIK, S.; VITAL, M. A. B. F. Phosphatidylserine reverses reserpine-induced amnesia. **European Journal of Pharmacology**, v. 404 (1-2), p. 161-167, 2000.

BALDESSARINI, R.J. Fármacos e o tratamento de distúrbios psiquiátricos: depressão e mania. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. (Eds.). **Goodman & Gilman's As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill interamericana Editores, 1996. p. 314-334.

BARZILAI, A.; MELAMED, E.; SHIRVAN, A. Is there a rationale for neuroprotection against dopamine toxicity in Parkinson's disease? **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 21, p. 215-235, 2001.

BARZILAI, A.; MELAMED, E. Molecular mechanisms of selective dopaminergic neuronal death in Parkinson's disease. **TRENDS in molecular Medicine**, v. 9, p. 126-132, 2003.

BEJJANI, B.P.; DAMIER, P.; ARNULF, I.; THIVARD, L.; BONNET, A.M.; DORMONT, D.; CORNU, P.; PIDOUX, B.; SAMSON, B.; AGID, Y. Transient acute depression induced by high-frequency deep-brain stimulation. **The New England Journal of Medicine**, v. 340, p. 1476-1480, 1999.

BERNEY, A.; VINGERHOETS, F.; PERRIN, A.; GUEX, P.; VILLEMURE, J.G.; BURKHARD, P.R.; BENKELFAT, C.; GHUKA, J. Effect on mood of subthalamic DBS for Parkinson's disease: A consecutive series of 24 patients. **Neurology**, v. 59, p. 1427-1429, 2002.

BLANDINI, F.; NAPPI, G.; TASSORELLI, C.; MARTIGNONI, E. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 62, p. 63-88, 2000.

BLOKLAND, A.; HONIG, W.; BROUNS, F.; JOLLES, J. Cognition-enhancing properties of subchronic phosphatidylserine (PS) treatment in middle-aged rats: comparison of bovine cortex PS with egg PS and soybean PS. **Nutrition**, v. 15, p. 778-783, 1999.

BLUM, D.; TORCH, S.; LAMBENG, N.; NISSOU, M.F.; BENABID, A.L.; SADOUL, R.; VERNA, J.M. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 65, p. 135-172, 2001.

BONIFATI, V.; RIZZU, P.; VAN BAREN, M.J.; SCHAAP, O.; BREEDVELD, G.J.; KRIEGER, E.; DEKKER, M.C.; SQUITIERI, F.; IBANEZ, P.; JOOSSE, M.; VAN DONGEN, J.W.; VANACORE, N.; VAN SWIETEN, J.C.; BRICE, A.; MECO, G.; VAN DUIJN, C.M.; OOSTRA, B.A.; HEUTINK, P. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. **Science**, v. 299, p. 256-259, 2002.

BORSINI, F.; BENDOTTI, C.; VELKOV, V.; RECH, R.; SAMANIN, R. Immobility test: effects of 5-hydroxytryptaminergic drugs and role of catecholamines in the activity of some antidepressants. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 33, p. 33-37, 1981.

BORSINI, F.; MELI, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? **Psychopharmacology**, v. 94, p. 147-160, 1988.

BORSINI, F. Role of the serotonergic system in the forced swimming test. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 19, p. 377-395, 1995.

BOURIN, M.; PUECH, A. J.; CHERMAT, R.; DOARE, L.; PONCELET, M.; SIMON, P. Profils psychopharmacologiques des nouveaux antidépresseurs comparés aux antidépresseurs classiques. **Encéphale**, v. 7, p. 235-242, 1981.

BOURIN, M.; PONCELET, M.; CHERMAT, R.; SIMON, P. The value of the reserpine test in psychopharmacology. **Drug Research**, v. 33, p. 1173-1176, 1983.

BOURIN, M. Is it possible to predict the activity of a new antidepressant in animals with simple psychopharmacological test? **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 4, p. 49-64, 1990.

BRAAK, H.; BRAAK, E.; YILMAZER, D.; SCHULTZ, C.; DE VOS RAI; JANSEN, E. N.H. Nigral and extranigral pathology in Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**, Sup., v. 46, p. 15-31, 1995.

BRAMBILLA, F.; MAGGIONI, M.; CENACHI, T.; SACERDOTE, P.; PANERAI, A. R. T-lymphocyte proliferative response to mitogen stimulation in elderly depressed patients. **Journal of Affective Disorders**, v. 36, p. 51-56, 1995.

BRAMBILLA, F.; MAGGIONI, M.; PANERAI, A. E.; SACERDOTE, P.; CENACHI, T. Beta-endorphin concentration in peripheral blood mononuclear elderly depressed patients-effects of phosphatidylserine therapy. **Neuropsychobiology**, v. 34, p. 18-21, 1996.

BRAMBILLA, F.; MAGGIONI, M. Blood levels of cytokines in elderly patients with major depressive disorder. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 97, p. 309-313, 1998.

BROWN, R.G.; GERSHON, S. Dopamine and depression. **Journal of Neural Transmission. General Section**, v. 91, p. 75-109, 1993.

BURN, D.J. Beyond the iron mask: towards a better recognition and treatment of depression associated with Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 17, p. 445-454, 2002.

CAAP-AHLGREN, M.; DEHLIN, O. Insomnia and depressive symptoms in patients with Parkinson's disease. Relationship to health-related quality of life. An interview study of patients living at home. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 32, p. 23-33, 2001.

CALDERINI, G.; APORTI, F.; BELLINI, F.; BONETTI, A.C.; RUBINI, R.; TEOLATO, S.; XU, C.; ZANOTTI, A.; TOFFANO, G. Phospholipids as pharmacological tools in the aging brain. In: HORROCKS, L.A.; KANFER, J.N.; PORCELLATI, G. (Eds.). **Phospholipids in the nervous system**, v. 2. Physiological roles. New York: Raven Press, 1985. p. 11- 19.

CALNE, D.B. Parkinson's disease is not one disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 7, p. 3-7, 2001.

CANDY, J.M.; PERRY, R.H.; PERRY, E.K.; IRVING, D.; BLESSED, G.; FAIRBAIRN, A.F.; TOMLINSON, B.E. Pathological changes in the nucleus of Meynert in Alzheimer's and Parkinson's disease. **Journal of Neurology Science**, v. 59, p. 277-289, 1983.

CANTELLO, R.; GILLI, M.; RICCIO, A.; BERGAMASCO, B. Mood changes associated with “end-of-dose deterioration” in Parkinson’s disease: A controlled study. **Journal Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 49, p. 1182–1190, 1986.

CANTELLO, R.; AGUGGIA, M.; GILLI, M.; DELSEDIME, M.; CUTIN, I.C.; RICCIO, A.; MUTANI, R. Major depression in Parkinson’s disease and the mood response to intravenous methylphenidate: possible role of the “hedonic” dopamine synapse. **Journal Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 52, p. 724-731, 1989.

CARLINI, E.A. **Farmacologia Prática sem aparelhagem**. São Paulo: Sarvier, 1973.

CASAMENTI, F.; SCALI, C.; PEPEU, G. Phosphatidylserine reverses the age-dependent decrease in cortical acetylcholine release: a microdialysis study. **European Journal of Pharmacology**, v. 194, p. 11-16, 1991.

CASTILHO, J.C.; PERRY, J.C.; ANDREATINI, R.; VITAL, M.A.F.B. Phosphatidylserine: antidepressive or cognitive enhancer?. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, Submitted, 2004.

CECCARELLI, B.; APORTI, F.; FINESSO, M. Effects of brain gangliosides on functional recovery in experimental regeneration and reinnervation. In: PORCELLATI, G. ; CECCARELLI, B.; TETTAMANTI, G. (Eds.). **Ganglioside function**. New York: Plenum, 1976. p. 275-293.

CHAN-PALAY, V.; ASAN, E. Alterations in catecholamine neurons of the locus coeruleus in senile dementia of Alzheimer type and Parkinson’s disease with and without dementia and depression. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 287, p. 373-392, 1989.

CHUNG, T.H.; DEANE, K.H.O.; GHAZI-NOORI, S.; RICKARDS, H.; CLARKE, C.E. Systematic review of antidepressant therapies in Parkinson’s disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 10, p. 59-65, 2003.

CLARO, F.T.; SILVA, R.H.; FRUSSA-FILHO, R. Bovine brain phosphatidylserine attenuates scopolamine-induced amnesia. **Physiology & Behavior**, v. 67, n. 4, p. 551-554, 1999.

COHEN, G. Oxidative stress, mitochondrial respiration, and Parkinson’s disease. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 899, p. 112–120, 2000.

COLE, N.B.; MURPHY, D.D. The cell biology of α -synuclein: a sticky problem? **Neuromolecular Medicine**, v. 1, p. 95-109, 2002.

COLPAERT, F.C. Pharmacological characteristics of tremor, rigidity and hypokinesia induced by reserpine in rats. **Neuropharmacology**, v. 26, p. 1431-1440, 1987.

CROOK, T.H.; TINKLENBERG, J.; YESAVAGE, J.; PETRIE, W.; NUNZI, M.G.; MASSARI, D.C. Effects of phosphatidylserine in aged-associated memory impairment. **Neurology**, v. 41, p. 644-649, 1991.

CRYAN, J.F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **TRENDS in Pharmacological Sciences**, v. 23, p. 238-245, 2002.

CUMMINGS, J.L. Depression and Parkinson's disease: a review. **The American Journal of Psychiatry**, v.149, p.443-454, 1992.

DAUER, W.; PRZEDBORSKI, S. Parkinson's disease: mechanisms and models. **Neuron**, v. 39, p. 889-909, 2003.

Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4. ed. Washington, DC: American Psychiatric Press, 2000.

DUTRA, R.C.; ANDREAZZA, A.P.; ANDREATINI, R.; TUFIK, S.; VITAL, M.A.B.F. Behavioral effects of MK-801 on reserpine-treated mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 26, p. 487-495, 2002.

DUVOISIN, R.C. (Ed.). **Parkinson's disease**. Third Edition. New York: Raven Press, 1991.

FAGIOLI, S.; CASTELLANO, C.; OLIVERIO, A.; PAVONE, F.; POPULIN, R.; TOFFANO, G. Phosphatidylserine administration during postnatal development improves memory in adult mice. **Neuroscience Letters**, v. 101, p. 229-233, 1989.

FÉNELON, G.; MAHIEUX, F.; HUON, R.; ZIEGLER, M. Hallucinations in Parkinson's disease: prevalence, phenomenology and risk factors. **Brain**, v. 123, p. 733-745, 2000.

FOYE, W.O. Medicinals of plant origin: historical aspect. In: FOYE, W.O.; LAMKE, T.L.; WILLIAMS, D.A. (Eds.). **Medicinal chemistry**. 1. ed. New Delhi: Waverly Pvt. Ltd, 1995. p. 7-11.

FRIEDENBERG, D.L.; CUMMINGS, J.L. Parkinson's disease, depression, and the on-off phenomenon. **Psychosomatics**, v. 30, p. 94-99, 1989.

FUNGELD, E.W., NEDWIDEK, P. Neurohomologus phosphatidylserine in parkinsonian patients with associated disorders of cerebral metabolism. Results of a pilot study. **Clinical Trials Journal**, v. 24, p. 42-61, 1987.

GELBMANN, C.M.; MÜLLER, W.E. Chronic treatment with phosphatidylserine restores muscarinic cholinergic receptor deficits in the aged mouse brain. **Neurobiology of Aging**, v. 13, p. 45-50, 1991.

GERBER, J.G; NIES, A.S. Fármacos anti-hipertensivos e terapia medicamentosa da hipertensão. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. (Eds.). **Goodman & Gilman's As bases farmacológicas da terapêutica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 523.

GERLACH, M.; RIEDERER, P. Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. **Journal of Neural Transmission**, v. 103, p. 987-1041, 1996.

GIBB, W.R.G. Neuropathology in movement disorders. **Journal Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, Supl.**, p. 55-67, 1989.

GOLBE, L.I. Young-onset Parkinson's disease: a clinical review. **Neurology**, v. 41, p. 168-173, 1991.

GOLDERING, J.R.; OTIS, L.C.; YU, R.K.; DELORENZO, R.J. Calcium/ ganglioside-dependent protein kinase activity in rat brain membranes. **Journal of Neurochemistry**, v. 44, p. 1229-1234, 1985.

GORIO, A.; CARMIGNOTO, G.; FACCI, L.; FINESSO, M. Motor sprouting induced by ganglioside treatment. Possible implication for gangliosides on neuronal growth. **Brain Research**, v. 197, p. 236-241, 1980.

GRANATA, Q.; DI MICHELE, J. Phosphatidylserine in elderly patients. An open trial. **Clinical Trials Journal**, v. 24, p. 99-103, 1987.

GREEN, J.; MCDONALD, W.M.; VITEK, J.L.; HABER, M.; BARNHART, H.; BAKAY, R.A.; EVATT, M.; FREEMAN, A.; WAHLAY, N.; TRICHE, S.; SIROCKMAN, B.; DELONG, M.R. Neuropsychological and psychiatric sequelae of pallidotomy for PD: clinical trial findings. **Neurology**, v. 58, p. 858-865, 2002.

HADJICONSTANTINO, M.; ROSSETI, Z.L.; PAXTON, C.R.; NEFF, N.H. Administration of GM₁ ganglioside restores dopamine content in striatum after chronic treatment with MPTP. **Neuropharmacology**, v. 25, p. 1075-1077, 1986.

HADJICONSTANTINO, M.; NEFF, N.H. Treatment with GM₁ ganglioside restores striatal dopamine in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mouse. **Journal of Neurochemistry**, v. 51, p. 1190-1196, 1988.

HADJICONSTANTINO, M.; NEFF, N.H. Differential recovery of dopamine synthetic enzymes following MPTP and the consequences of GM₁ ganglioside treatment. **European Journal of Pharmacology**, v. 181, p. 137-139, 1990.

HAEFELY, W. Pharmakologische Modelle zur Wirkung von Antiparkinsonmitteln. In: FISCHER, P. A. (Ed.). **Langzeitbehandlung des Parkinson-Syndroms**. New York: Schattauer, Stuttgart, 1978. p. 53-64.

HARDIE, R.J.; LEES, A.J.; STERN, G.M. On-off fluctuations in Parkinson's disease. A clinical and neuropharmacological study. **Brain**, v. 107, p. 487-506, 1984.

HARTMANN, A.; HUNOT, S.; MICHEL, P.P.; MURIEL, M.P.; VYAS, S.; FAUCHEUX, B.A.; MOUATT-PRIGENT, A.; TURMEL, H.; SRINIVASAN, A.; RUBERG, M.; EVAN, G.I.; AGID, Y.; HIRSCH, E.C. Caspase-3: A vulnerability factor and final effector in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, p. 2875-2880, 2000.

HARTMANN, A.; MICHEL, P.P.; TROADEC, J.D.; MOUATT-PRIGENT, A.; FAUCHEUX, B.A.; RUBERG, M.; AGID, Y.; HIRSCH, E.C. Is Bax a mitochondrial mediator in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease? **Journal of Neurochemistry**, v. 76, p. 1785-1793, 2001a.

HARTMANN, A.; TROADEC, J.D.; HUNOT, S.; KIKLY, K.; FAUCHEUX, B.A.; MOUATT-PRIGENT, A.; RUBERG, M.; AGID, Y.; HIRSCH, E.C. Caspase-8 is an effector in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease, but pathway inhibition results in neuronal necrosis. **The Journal of Neuroscience**, v. 21, p. 2247-2255, 2001b.

HARTMANN, A.; MOUATT-PRIGENT, A.; VILA, M.; ABBAS, N.; PERIER, C.; FAUCHEUX, B.A.; VYAS, S.; HIRSCH, E.C. Increased expression and redistribution of the antiapoptotic molecule Bcl-xL in Parkinson's disease. **Neurobiology of Disease**, v. 10, p. 28-32, 2002.

HOOGENDIJK, W.J.G.; PURBA, J.S.; HOFMAN, M.A.; DE VOS, R.A.I.; JANSEN, E.N.H.; SWAAB, D.F. Depression in Parkinson's disease is not accompanied by more corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. **Biological Psychiatry**, v. 43, p. 913-917, 1998.

HORNYKIEWICZ, O.; KISH, S.J. Biochemical pathology of Parkinson's disease. **Advances in Neurology**, v. 45, p. 19-34, 183-190, 1986.

HUGHES, A.J.; DANIEL, S.E.; BLANKSON, S.; LEES, A.J. A clinico-pathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. **Archives of Neurology**, v.50, p. 140-148, 1993.

JANKOVIC, J. International classification of diseases, tenth revision: extrapyramidal and movement disorders. **Movement Disorders**, v. 10, p. 533-540, 1995.

JELLINGER, K.A. Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway. **Molecular and Chemical Neuropathology**, v. 14, p. 153-197, 1991.

JIMENEZ-JIMENEZ, F.J.; TEJEIRO, J.; MARTINEZ-JUNQUERA, G.; CABRERA-VALDIVIA, F.; ALARCON, J.; GARCIA-ALBEA, E. Parkinsonism exacerbated by paroxetine. **Neurology**, v. 44, p. 2406, 1994.

KAUR, S.; STARR, M.S. Antiparkinsonian action of dextramethorphan in the reserpine-treated mouse. **European Journal of Pharmacology**, v. 280, p. 159-166, 1995.

KANNER, A.; BARRY, J. The impact of mood disorders in neurological diseases: should neurologists be concerned? **Epilepsy & Behavior**, v. 4, p. S3-S13, 2003.

KITADA, Y.; MIYAUCHI, T.; KOSASA, T.; SATOH, S. The significance of b-adrenoceptor down regulation in the desipramine action in the forced swimming test. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 333, p. 31-35, 1986.

KUOPIO, A.M.; MARTTILA, R.J.; HELENIUS, H. TOIVONEN, M.; RINNE, U.K. The quality of life in Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 15, p. 216-223, 2000.

KUZIS, G.; SABE, L.; TIBERTI, C.; LEIGUARDA, R.; STARKSTEIN, S.E. Cognitive function in major depression and Parkinson's disease. **Archives of Neurology**, v. 54, p. 982-986, 1997.

LARSEN, J.P.; KARLSEN, K.; TANDBERG, E. Clinical problems in non-fluctuating patients with Parkinson's disease: a community-based study. **Movement Disorders**, v. 15, p. 826–829, 2000.

LEDDEN, R.W. Ganglioside structure and distribution: are they localized at the nerve ending? **Journal of Supramolecular Structure**, v. 8, p. 1-17, 1978.

LEDEEN, R.W.; YU, R.K. Gangliosides: structure, isolation and analysis. In: GINSBURG, V. (Ed.). **Methods in enzymology**. v. 83. New York: Academic Press, 1982. p. 139-191.

LEDEEN, R.W. Biology of gangliosides: neuritogenic and neuronotrophic properties. **Journal of Neuroscience Research**, v. 12, p. 147-159, 1984.

LEDEEN, R. W. Biosynthesis, metabolism and biological effects of gangliosides. In: MARGOLIS & MARGOLIS (Eds). **Neurobiology of glycoconjugates**. New York: Plenum Press, 1989, p. 43-83.

LEON, A.; FACCI, L.; BENVEGNO, D.; TOFFANO, G. Activation of Na⁺, K⁺-ATPase by nanomolar concentrations of GM₁ ganglioside. **Journal of Neurochemistry**, v. 37, p. 350-357, 1981.

LEON, A.; FACCI, L.; BENVEGNO, D.; TOFFANO, G. Morphological and biochemical effects of gangliosides in neuroblastoma cells. **Developmental Neuroscience**, v. 5, p. 108-114, 1982.

LEON, A.; DAL TOSO, R.; PRESTI, D.; BENVEGNO, D.; FACCI, L.; KIRSCHNER, G.; TETTAMANTI, G.; TOFFANO, G. Development and survival of neurons in dissociated fetal mesencephalic serum-free cell cultures: II. Modulatory effects of gangliosides. **The Journal of Neuroscience**, v. 8, p. 746-753, 1988.

LEV, N.; MELAMED, E.; OFFEN, D. Apoptosis and Parkinson's disease. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 27, p. 245-250, 2003.

LINDER, M.D.; CAIN, C.K.; PLONE, M.A.; FRYDEL, B.R.; BLANEY, T.J.; EMERICH, D.F.; HOANE, M.R. Incomplete nigrostriatal dopaminergic cell loss and partial reductions in striatal dopamine produce akinesia, rigidity, tremor and cognitive deficits in middle-aged rats. **Behavioural Brain Research**, v. 102, p. 1-16, 1999.

LIU, Y.; EDWARDS, R.H. The role of vesicular transport proteins in synaptic transmission and neural degeneration. **Annual Review of Neuroscience**, v. 20, p. 125-156, 1997.

LLOYD, K.G.; HORNYKIEWICZ, O. Parkinson's disease: activity of L-DOPA descarboxylase in discrete brain regions. **Science**, v. 170, p. 1212-1213, 1970.

LORENC-KOCI, E.; WOLFARTH, S.; OSSOWSKA, K. Haloperidol-increased muscle tone in rats as a model a parkinsonian rigidity. **Experimental Brain Research**, v. 109, p. 268-276, 1996.

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

MAGGIONI, M.; PICOTTI, G. B.; BONDILOTTI, G. P.; PANERAI, A.; CENACCHI, T.; NOBILE, P.; BRAMBILLA, F. Effects of phosphatidylserine therapy in geriatric patients with depressive disorders. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 81, p. 265-270, 1990.

MAHADIK, S.P.; KARPIAK, S.E. GM₁ ganglioside accelerates neonatal development: Increased neurochemical maturation. **Neurotoxicology**, v. 7, p. 155-162, 1986.

MALINGE, M.; BOURIN, M.; COLOMBEL, M.C.; LAROUSSE, C. Additive effect of clonidine and antidepressant drugs in the mouse forced-swimming test. **Psychopharmacology**, v. 96, p. 104-109, 1988.

MARICLE, R.A.; NUTT, J.G.; CARTER, J.H. Mood and anxiety fluctuation in Parkinson's disease associated with levodopa infusion: Preliminary findings. **Movement Disorders**, v. 10, p. 329-332, 1995.

MATHIAS, C.J. Neurodegeneration, parkinsonian syndromes and autonomic failure. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 96, p. 50-58, 2002.

MAYBERG, H.S.; STARKSTEIN, S.E.; SADZOT, B.; PREZIOSI, T.; ANDREZEJEWSKI, P.L.; DANNALS, R.F.; WAGNER, H.N.Jr.; ROBINSON, R.G. Selective hypometabolism in the inferior frontal lobe in depressed patients with Parkinson's disease. **Annals of Neurology**, v. 28, p. 57-64, 1990.

MAYEUX, R.; STERN, Y.; ROSEN, J.; LEVENTHAL, J. Depression, intellectual impairment and Parkinson's disease. **Neurology**, v. 31, p. 645-650, 1981.

MAYEUX, R.; STERN, Y.; COTE, L.; WILLIAMS, J.B. Altered serotonin metabolism in depressed patients with Parkinson's disease. **Neurology**, v. 34, p. 642-646, 1984.

MAYEUX, R.; DENARO, J.; HEMENEGILDO, N.; MARDER, K.; TANG, M.X.; COTE, L.J.; STERN, Y. A population-based investigation of Parkinson's disease with and without dementia. Relationship to age and gender. **Archives of Neurology**, v. 49, p. 492-497, 1992.

MCAULEY, J.H. The physiological basis of clinical deficits in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 69, p. 27-48, 2003.

MCDONALD, W.M.; RICHARD, I.H.; DELONG, M.R. Prevalence, etiology, and treatment of depression in Parkinson's disease. **Biological Psychiatry**, v. 54, p. 363-375, 2003.

MELTZER, H.Y.; YOUNG, M.; METZ, J.; FANG, V.S.; SCHYVE, P.M.; ARORA, R.C. Extrapyrmidal side effects and increased serum prolactin following fluoxetine, a new antidepressant. **Journal of Neural Transmission**, v. 45, p. 165-175, 1979.

MENEZES, M.S.; TEIVE, H.A.G. Histórico. In: MENEZES, M.S.; TEIVE, H.A.G. (Eds.). **Doença de Parkinson: aspectos clínicos e cirúrgicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 4-14.

MENZA, M.A.; SAGE, J.; MARSHALL, E.; CODY, R.; DUVOISIN, R. Mood changes and "on-off" phenomena in Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 5, p. 148-151, 1990.

MENZAGHI, F.; WHELAN, K.T.; RISBROUGH, V.B.; RAO, T.S.; LLOYD, G.K. Interactions between a novel cholinergic ion channel agonist, SIB-1765F and L-DOPA in the reserpine model of Parkinson's disease in rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 280, p. 393-401, 1997.

MIZUKAWA, K.; MCGEER, E.G.; MCGEER, P.L. Autoradiographic study on dopamine uptake sites and their correlation with dopamine levels and their striata from patients with Parkinson's disease, Alzheimer's disease, and neurologically normal controls. **Molecular and Chemical Neuropathology**, v. 18, p. 133-144, 1993.

MOLINA, V.A.; KELLER, E.A.; ORSINGHER, O.A. Gangliosides enhance behavioral and neurochemical effects induced by chronic desipramine (DMI) treatment. **European Journal of Pharmacology**, v. 160, p. 247-252, 1989.

MONLEON, S.; D'AQUILA, P.; PARRA, A.; SIMON, V.M.; BRAIN, P.F.; WILLNER, P. Attenuation of sucrose consumption in mice by chronic mild stress and its restoration by imipramine. **Psychopharmacology**, v. 117, p. 453-457, 1995.

NAGATSU, T. Amine-related neurotoxins in Parkinson's disease: past, present, and future. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 24, p. 1-5, 2002.

NEISEWANDER, J.L.; CASTANEDA, E.; DAVIS, D.A. Dose-dependent differences in the development of reserpine-induced oral dyskinesia in rats: support for a model of tardive dyskinesia. **Psychopharmacology**, v. 116, p. 79-84, 1994.

NISSENBAUM, H.; QUINN, N.P.; BROWN, R.G.; TOONE, B.; GOTHAM, A.M.; MARSDEN, C.D. Mood swings associated with the 'on-off' phenomenon in Parkinson's disease. **Psychological Medicine**, v. 17, p. 899-904, 1987.

NIXON, M.K.; HASCOET, M.; BOURIN, M.; COLOMBEL, M.C. Additive effects of lithium and antidepressants in the forced swimming test: further evidence for involvement of the serotonergic system. **Psychopharmacology**, v. 115, p. 59-64, 1994.

NOMOTO, M. Clinical pharmacology and neuroprotection in Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 9, p. S55-S58, 2003.

OBATA, K.; OIDE, M.; HANDA, S. Effects of glycolipids on in vitro development of neuromuscular junction. **Nature**, v. 266, p. 369-371, 1977.

ODERFELD-NOWAK, G.; WOJCIK, M.; VLAS, J.; POTEMPSKA, A. Effect of chronic ganglioside treatment on recovery processing in hypothalamus after brain lesions in rats. In: RAPPORT, M.M.; GORIO, A. (Eds.). **Gangliosides in neurological and neuromuscular function, development and repair**. New York: Raven Press, 1981. p.197-209.

OGURA, K.; HANDA, S. Metabolism of exogenous gangliosides GM₁ and chemically modified GM₁ in mice. **Journal of Biochemistry**, v. 104, p. 87-92, 1988.

OO, T.F.; SIMAN, R.; BURKE, R.E. Distinct nuclear and cytoplasmic localization of caspase cleavage products in two models of induced apoptotic death in dopamine neurons of the substantia nigra. **Experimental Neurology**, v. 175, p. 1-9, 2002.

PARTINGTON, C.R.; DALY, J.W. Effect of ganglioside on adenylate cyclase in rat cerebral cortical membranes. **Molecular Pharmacology**, v. 15, p. 484-491, 1979.

PAULUS, W.; JELLINGER, K. The neuropathologic basis of different clinical subgroups of Parkinson's disease. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 50, p. 743–755, 1991.

PEDATA, F.; GIOVANNELLI, L.; SPIGNOLI, G.; GIOVANNINI, M.G.; PEPEU, G. Phosphatidylserine increases acetylcholine release from cortical slices in aged rats. **Neurobiology of Aging**, v. 6, p. 337–339, 1985.

PERRY, J.C.; DA CUNHA, C.; ANSELMO-FRANCI, J.; ANDREATINI, R.; MIYOSHI, E.; TUFIK, S.; VITAL, M.A.B.F. Behavioural and neurochemical effects of phosphatidylserine in MPTP lesion of the substantia nigra of rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 484, p. 225–233, 2004.

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

PORSOLT, R.D.; ANTON, G.; BLAVET, N.; JALFRE, M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **European Journal of Pharmacology**, v. 47, p. 379–391, 1978.

PORSOLT, R.D.; BERTIN, A.; BLAVET, N.; JALFRE, M. Immobility induced by forced swimming in rats: effect of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. **European Journal of Pharmacology**, v. 57, p. 201–210, 1979.

PORSOLT, R.D. Animal models of depression: utility for transgenic research. **Reviews in the Neurosciences**, v. 11, p. 53–58, 2000.

PRZEDBORSKI, S.; JACKSON-LEWIS, V. ROS and Parkinson's disease: a view to a kill. In: POLI, G.; CADENAS, E.; PACKER, L (Eds.). **Free Radicals in Brain Pathophysiology**. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 273–290.

RAUSH, W.D.; HIRATA, Y.; NAGATSU, T.; JELLINGER, K. Human brain tyrosine hydroxylase: in vitro effects of iron and phosphorylating agents in the CNS of controls, Parkinson's disease and schizophrenia. **Journal of Neurochemistry**, v. 50, p. 202–228, 1988.

RICHARD, I.H.; JUSTUS, A.W.; KURLAN, R. Relationship between mood and motor fluctuations in Parkinson's disease. **The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 13, p. 35–41, 2001.

RIEDERER, P.; SOFIC, E.; KONRADI, C. Neurobiochemische aspekte zur progression der Parkinson-Krankheit: post-mortem-befunde und MPTP-modell. In: Fischer, P.A (Ed.). **Spätsyndrome der Parkinson-Krankheit**. Basel: Editiones (Roche), 1986. p. 37-49.

ROGERS, D.; LEES, A.J.; SMITH, E.; TRIMBLE, M.; STERN, G.M. Bradyphrenia in Parkinson's disease and psychomotor retardation in depressive illness. **Brain**, v. 110, p. 761-766, 1987.

ROGÓZ, Z.; SKUZA, G.; MAJ, J.; DANYSZ, W. Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. **Neuropharmacology**, v. 42, p. 1024-1030, 2002.

ROJO, A.; AGUILAR, M.; GAROLERA, M.T.; CUBO, E.; NAVAS, I.; QUINTANA, S. Depression in Parkinson's disease: clinical correlates and outcome. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 10, p. 23-28, 2003.

RUBIN, B.; MALONE, M.; WAUGH, M.; BURKE, J.C. Bioassay of *Rauwolfia* roots and alkaloids. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 120, p. 125-136, 1957.

SALAMONE, J.; BASKIN, P. Vacuous jaw movements induced by acute reserpine and low-dose apomorphine: possible model of Parkinsonian tremor. **Pharmacology Biochemistry and Behavioral**, v. 53, p. 179-183, 1996.

SAMSON, J.N. The biological basis of phosphatidylserine pharmacology. **Clinical Trials Journal**, v. 24, p. 1-8, 1987.

SANTAMARIA, J.; TOLOSA, E.; VALLÉS, A. Parkinson's disease with depression: a possible subgroup of idiopathic parkinsonism. **Neurology**, v. 36, p. 1130-1133, 1986.

SAQR, H.E.; PEARL, D.K.; YATES, A.J. A review and predictive models of ganglioside uptake by biological membranes. **Journal of Neurochemistry**, v. 61, p. 395-411, 1993.

SCHAPIRA, A.H.; COOPER, J.M.; DEXTER, D.; CLARK, J.B.; JENNER, P.; MARSDEN, C.D. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 54, p. 823-827, 1990.

SCHNEIDER, J.S.; POPE, A.; SIMPSON, K.; TAGGART, J.; SMITH, M.G.; DISTEFANO, L. Recovery from experimental parkinsonism in primates with GM₁ ganglioside treatment. **Science**, v. 256, p. 843-845, 1992.

SCHNEIDER, J. S.; ROELTGEN, D. P.; ROTHBLAT, D. S.; CHAPAS-CRILLY, J.; SERAYDARIAN, L.; RAO, J. GM₁ ganglioside treatment of Parkinson's disease: an open pilot study of safety and efficacy. **Neurology**, v. 45, p. 1149-1154, 1995.

SCHRAG, A.; JAHANSHAH, M.; QUINN, N. What contributes to quality of life in patients with Parkinson's disease? **Journal Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 69, p. 308-312, 2000.

SCHULZ, J.B.; GERHARDT, E. Apoptosis: its relevance to Parkinson's disease. **Clinical Neuroscience Research**, v. 1, p. 427-433, 2001.

SHARON, F.J.; GRANT, C.W.M. A model for ganglioside behavior in cell membranes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 507, p. 280-293, 1978.

SHIMOHAMA, S.; SAWADA, H.; KITAMURA, Y.; TANIGUCHI, T. Disease model: Parkinson's disease. **TRENDS in molecular Medicine**, v. 9, p. 360-365, 2003.

SILVA, R.H.; FELICIO, L.F.; NASELLO, A.G.; VITAL, M.A.B.F.; FRUSSA-FILHO, R. Effect of ganglioside (GM1) on memory in senescent rats. **Neurobiology of Aging**, v. 17, n. 4, p. 583-586, 1996.

SKALISZ, L.L.; BEIJAMINI, V.; JOCA, S.L.; VITAL, M.A.B.F.; DA CUNHA, C.; ANDREATINI, R. Evaluation of the face validity of reserpine administration as an animal model of depression-Parkinson's disease association. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 26, p. 879-883, 2002.

SPERO, D.A.; ROISEN, F.J. Ganglioside mediated enhancement of the cytoskeletal organization and activity in neuro-2a neuroblastoma cells. **Brain Research**, v. 13, p. 37-48, 1984.

STARKSTEIN, S.E.; BOLDUC, P.L.; PREZIOSI, T.J.; ROBINSON, R.G. Cognitive impairments in different stages of Parkinson's disease. **The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 1, p. 243-248, 1989.

STARKSTEIN, S.E.; PREZIOSI, T.J.; BOLDUC, P.L.; ROBINSON, R.G. Depression in Parkinson's disease. **The Journal of Nervous and Mental Disease**, v. 178, p. 27-31, 1990.

STOOF, J.C.; WINOGRODZA, A.; VAN MUISWINKEL, F.L.; WOLTERS, E.C.; VOORN, P.; GROENEWEGEN, H.J.; BOOIJ, J.; DRUKARCH, B. Leads for the development of neuroprotective treatment in Parkinson's disease and brain imaging methods for estimating treatment efficacy. **European Journal of Pharmacology**, v.375. p.75-86, 1999.

TAKEMATSU, M. M.; MIYOSHI, E.; PERRY, J. C.; ANDREATINI, R.; DA CUNHA, C; VITAL, M.A.B.F. A fosfatidilserina reverteu às alterações cognitivas e a ptose palpebral no modelo animal de parkinsonismo induzido por reserpina. **Anais da XVI Reunião Anual da Federação de Sociedades da Biologia Experimental**, p. 367, 2001.

TANDBERG, E.; LARSEN, J.P.; AARSLAND, D.; CUMMINGS, J.L. The occurrence of depression in Parkinson's disease. A community-based study. **Archives of Neurology**, v. 53, p. 175–179, 1996.

TATTON, N.A. Increased Caspase 3 and Bax immunoreactivity accompany nuclear GAPDH translocation and neuronal apoptosis in Parkinson's disease. **Experimental Neurology**, v. 166, p. 29–43, 2000.

TETTAMANTI, G.; VENERANDO, B.; ROBERTI, S.; CHIGORNO, V.; SONNINO, S.; GHIDONI, R.; ORLANDO, P.; MASSARI, P. The fate of exogenously administered brain gangliosides. In: RAPPORT, M. M.; GORIO, A. (Eds.). **Gangliosides in neurological and neuromuscular function, development and repair**. New York: Raven Press, 1981, p. 225.

TOFFANO, G.; LEON, A.; MAZZARI, S.; SAVOINI, G.; TEOLATO, S.; ORLANDO, P. Modification of noradrenergic hypothalamic system in rats injected with phosphatidylserine liposomes. **Life Science**, v. 23, p. 1093-1102, 1978.

TROSTER, A.I.; STALP, L.D.; PAOLO, A.M.; FIELDS, J.A.; KOLLER, W.C. Neuropsychological impairment in Parkinson's disease with and without depression. **Archives of Neurology**, v. 52, p. 1164–1169, 1995.

UVERSKY, V.N.; FINK, A.L. Amino acid determinants of α -synuclein aggregation: putting together pieces of the puzzle. **FEBS Letters**, v. 522, p. 9-13, 2002.

VALLDEORIOLA, F.; NOBBE, F.A.; TOLOSA, E. Treatment of behavioural disturbances in Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**, v. 51, p. 175-204, 1997.

VITAL, M.A.B.F.; FRUSSA-FILHO, R.; PALERMO-NETO, J. Effects of monosialoganglioside on a new model of tardive dyskinesia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 21, p. 1169-1179, 1997.

VITAL, M.A.B.F.; FLÓRIO, J.C.; FRUSSA-FILHO, R.; DE LUCIA, R.; TUFIK, S.; PALERMO-NETO, J. Effects of haloperidol and GM₁ ganglioside treatment on striatal D₂ receptor binding and dopamine turnover. **Life Sciences**, v. 62, n. 13, p. 1161-1169, 1998.

WILLNER, P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. **Psychopharmacology**, v. 134, p. 319-329, 1997.

XU, J.; KAO, S.Y.; LEE, F.J.; SONG, W.; JIN, L.W.; YANKNER, B.A. Dopamine-dependent neurotoxicity of alpha-synuclein: mechanism for selective neurodegeneration in Parkinson disease. **Nature Medicine**, v. 8, p. 600-606, 2002.

YATES, G.; PANKSEPP, J.; IKEMOTO, S.; NELSON, E.; CONNER, R. Social isolation effects on the "behavioral despair" forced swimming test: effect of age and duration of testing. **Physiology & Behavior**, v. 49, p. 347-353, 1991.