



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2009/2010

Ana Carolina Nunes Sales
Acção dos antidepressores sobre a
neurogénese no adulto

Junho, 2010

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Ana Carolina Nunes Sales
Acção dos antidepressores sobre a
neurogénese no adulto

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Farmacologia

**Trabalho efectuado sobre a Orientação de:
Professor Doutor Daniel Filipe Lima Moura**

Junho, 2010

FMUP

Nome: Ana Carolina Nunes Sales

Endereço electrónico: acarolinansales@hctua.ipt Telefone/Telemóvel: 966820928

Número do Bilhete de Identidade: 12950144

Título Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio:

Ação dos antidepressivos sobre a neurogênese no adulto

Nome completo do Orientador:

Prof. Dr. Daniel Filipe Lima Moura

Nome completo do Co-

Orientador: _____

Ano de conclusão: 2010

Designação da área do projecto de opção:

Farmacologia

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (FMUP) uma licença para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha Dissertação Científica, Monografia ou Relatório de Estágio, apresentada no âmbito do Curso de Mestrado Integrado em Medicina, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a FMUP a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e, sem alterar o seu conteúdo, converter a tese ou dissertação entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de arquivo e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, bem como o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio seja colocada no repositório da FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 21/4/2010

Assinatura: Ana Carolina Nunes Sales

Eu, Ana Carolina Nunes Sales, abaixo assinado, nº mecanográfico 040801195 aluno do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter actuado com absoluta integridade na elaboração deste projecto de opção.

Neste sentido, confirmo que NÃO incorri em plágio (acto pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 21/4/2010

Assinatura: Ana Carolina Nunes Sales

Título: Acção dos antidepressores sobre a neurogénese no adulto

Título abreviado: Antidepressores e neurogénese.

Title: Antidepressants actions on adult neurogenesis

Running title: Antidepressants and neurogenesis.

Ana Carolina Nunes Sales

Faculdade de Medicina Universidade do Porto

Contacto do autor: acarolinansales@hotmail.com

AGRADECIMENTOS

Ao professor Daniel Moura, pela dedicação, tempo dispensado, comentários, sugestões, e pela disponibilidade em orientar-me neste trabalho.

Contagem de palavras

Resumo: 248 palavras

Abstract: 247 palavras

Texto principal: 4672 palavras

RESUMO

A descoberta dos antidepressores foi fortuita. A partir de observações clínicas sagazes de que doentes tratados com iproniazida e imipramina melhoravam da sua perturbação depressivas, a medicina ganhou recursos terapêuticos de mecanismo desconhecido contra perturbações de causa molecular ou anatómica igualmente desconhecida. Por outro lado, só por conjectura filosófica é possível perguntar se um animal de laboratório estará deprimido. No entanto, por entre estas dificuldades, o conhecimento tem avançado. A invenção do teste da natação forçada em ratos provou que é possível provocar alterações comportamentais em animais de laboratório através de acontecimentos experimentalmente programados que são objectivas, semelhantes a manifestações humanas de depressão e que regridem sob acção dos mesmos fármacos que são antidepressores eficazes. É possível estabelecer correlações entre factos experimentais e clínicos. Fármacos que aumentem a noradrenalina ou a 5-HT na sinapse, melhoram os doentes deprimidos, e os que diminuem, provocam sintomas depressivos nos seres humanos. Actuam assim os inibidores selectivos ou mistos dos transportadores de 5-HT ou de noradrenalina, que são os antidepressores major. Porém, o início das acções farmacológicas destes fármacos é rápido enquanto que o da sua acção terapêutica e da sua acção sobre o comportamento animal é muito tardio e requer tratamento crónico. Descobertas recentes mostraram que os antidepressores previnem a redução da neurogénese hipocampal observada em modelos animais de depressão. O objectivo deste trabalho é discutir a hipótese de que esta redução da neurogénese contribui para a depressão clínica e que o seu bloqueio faz parte das acções farmacológicas dos antidepressores.

Palavras-chave: neurogénese, depressão, *stress*, antidepressores, modelos animais, serotonina, noradrenalina.

ABSTRACT

The discovery of antidepressant medications was unplanned. Astute clinical observations of improvement of the disabling conditions of patients treated with iproniazid and imipramine provided physicians with useful medicines of unknown mechanisms against a disorder of unknown molecular or anatomical cause. It is also unknown whether it will ever be possible to find that a laboratory animal is depressed. However amidst these difficulties advance in knowledge has been achieved. The invention of the forced swim test in the rat proved that behavioral changes in laboratory animals following experimentally controlled events can look like the human manifestations of depression can be monitored objectively; and are reversed by the same treatments that are effective in patients. Thus, correlations between experimental and clinical findings were made possible. Drugs that increase noradrenaline or serotonin in the synaptic cleft, improve depressed patients while drugs that decrease these monoamine neurotransmitters cause depression manifestations in human beings. Selective or mixed inhibitors of the serotonin transporter or the noradrenaline transporter increase monoamine synaptic levels and are major antidepressants medicines. Although the onset of these pharmacological actions is very fast, the beginning of clinical improvement or reversion of animal behavior takes longer and requires chronic treatment. Recent findings showed that antidepressant medications prevent the reduction of hippocampal neurogenesis observed in animal models of depressive-like behavior. The aim of this review is to discuss the hypothesis that reduction of neurogenesis contributes to depression and that reversal of impaired neurogenesis is part of the pharmacological action of antidepressant drugs.

Key-words: neurogenesis, depression, *stress*, antidepressants, animal model, serotonin, noradrenaline

ÍNDICE

Introdução.....	9
Neurogénesse no adulto: Perspectiva histórica.....	10
Regiões cerebrais neurogénicas.....	11
Significasdo biológico da neurogénesse	11
Neurogénesse: um processo complexo	11
Neurogénesse e depressão.....	12
Stress e estrutura do hipocampo. Diminuição do voluma hipocampal	13
Stress e função do hipocampo. Desregulação do eixo HHS	14
Serão as alterações da neurogénesse induzidas pelo stress, responsáveis pelos sintomas depressivos?	15
Acções farmacológicas dos antidepressores sobre a neurogénesse	15
Antidepressores e neurogénesse	15
Mecanismos de acção dos antidepressores	17
Receptor sigma.....	20
Plasticidade estrutural, depressão e antidepressores	21
Conclusão.....	22
Referências.....	23

INTRODUÇÃO

A descoberta dos fármacos antidepressores na década de 50 do século XX reforçou a hipótese de que haveria anomalias bioquímicas subjacentes à patogénese das perturbações depressivas. Estudos clínicos e laboratoriais identificaram dois neurotransmissores, a serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) e a noradrenalina, importantes para a acção da generalidade dos antidepressores. A teoria neuroquímica mais bem documentada considera que uma deficiência funcional de 5-HT ou de noradrenalina no cérebro é uma causa importante das perturbações depressivas (1-3). Como suporte desta teoria, está a propriedade geral que a maioria dos antidepressores usados clinicamente têm de aumentar os níveis sinápticos de 5-HT e noradrenalina. Esta hipótese não explica, no entanto, a falta de resposta clínica de vários doentes bem como o período de tempo longo que é necessário até que os antidepressores produzam as suas acções terapêuticas.

Outra teoria sugere que a patogénese e o tratamento da depressão estariam dependentes de modificações da plasticidade neuronal (4-7). A depressão surgiria quando o sistema nervoso não tivesse a plasticidade apropriada à resposta a circunstâncias adversas, fazendo com que a disfunção adaptativa, contribuísse para a patogénese da depressão. O tratamento antidepressor exerceria as suas acções terapêuticas quer revertendo as disfunções nas vias adaptativas quer estimulando uma nova plasticidade neuronal.

As descobertas iniciais sobre as acções farmacológicas dos antidepressores focaram-se nas alterações dos níveis de neurotransmissores catecol- e indoleamínicos, dos seus receptores e dos segundos mensageiros da activação desses receptores. Mais recentemente, e em favor da hipótese neuroplástica, demonstrou-se que a activação de receptores das aminas biogénicas estimula cascatas intracelulares de reacções que acabam por alterar a expressão de genes e exercer efeitos na plasticidade e sobrevivência neuronal. Actualmente supõe-se que as alterações da neuroplasticidade podem ser melhoradas pelos antidepressores revertendo-se uma a disfunção neuronal causada pela predisposição genética e exposição a factores de *stress* ou outros estímulos adversos.

NEUROGÉNESE NO ADULTO: PERSPECTIVA HISTÓRICA

No final do século XIX e início do século XX, Kölliker e His, estudando o processo de desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) em seres humanos e outros mamíferos, postularam que a estrutura cerebral permanecia fixa após o nascimento (8,9). Considerou-se que a neurogênese se restringia ao período pré-natal e pós-natal imediato, e que não se podiam formar novos neurónios no SNC do adulto (10). Em 1912, Ezra Allen fez a primeira observação da gênese de neurónios no tecido adulto ao identificar figuras de mitose nas paredes do ventrículo lateral de ratos albinos com mais de 120 dias de vida (11). No entanto, só a partir dos anos 1960 se obtiveram mais provas deste fenómeno em cérebros de ratos adultos. Joseph Altman e colaboradores (12-14), usando a [³H]-timidina, um marcador celular através do qual se visualiza a síntese de novo DNA nas células por autorradiografia (14,15), foram os primeiros a encontrar a formação pós-natal de novas células na zona subventricular (13) e a descrever com precisão a sua migração para o bulbo olfativo (16). Os resultados de Altman foram ignorados pela comunidade científica por não haver provas suficientes de que as células marcadas fossem neurónios. Quinze anos mais tarde, Michael Kaplan corroborou os resultados de Altman através de técnicas de microscopia electrónica que provaram a natureza neuronal das células marcadas com timidina radioactiva (17, 18). Já na década de 1990, Heather Cameron e Elizabeth Gould fizeram a terceira grande descoberta sobre a neurogênese no adulto em estudos do hipocampo de ratos (19,20). A aceitação geral do conceito da neurogênese no adulto muito ficou a dever aos grandes avanços tecnológicos da época, altura em que a 5-bromo-3'-desoxiuridina (BrdU) foi descoberta. A marcação por BrdU é conceptualmente a mesma da timidina, porque é um indicador de células mitoticamente activas (21,22). A grande diferença é que o BrdU é detectado por imunohistoquímica, pode ser combinado com marcadores neuronais ou gliais de modo a identificar o fenótipo celular através de microscopia confocal e pode ser administrado por via sistémica (10,23). Foi possível demonstrar que há neurogênese no adulto em répteis (24), anfíbios (25), aves (26), roedores (14,27), macacos (28-31) e em cérebros humanos (32). Quarenta anos após a descrição original de Altman, a neurogênese no adulto ficou solidamente provada.

REGIÕES CEREBRAIS NEUROGÉNICAS

Nos mamíferos adultos, a neurogénese ocorre primariamente em duas grandes zonas cerebrais, no sistema olfativo e no hipocampo (33,34). No sistema olfativo, as células precursoras residem na porção anterior da zona subventrilar, na parede dos ventrículos laterais, de onde migram para o bulbo olfativo, onde se diferenciam (35-39). No hipocampo, as células precursoras encontram-se na zona subgranulosa da circunvolução dentada, onde crescem e de onde migram para a camada de células granulosas. É já nesta camada que as novas células sofrem maturação (40-46). Nos seres humanos, a neurogénese só está bem identificada na zona subgranulosa (32). Noutras espécies animais há provas de formação neuronal noutras áreas cerebrais adultas como o neocórtex (47-49), o estriado (49,50), a amígdala (51), a substância negra (52), e o hipotálamo (51,53).

SIGNIFICADO BIOLÓGICO DA NEUROGÉNESE

A descoberta de que o cérebro adulto gera novos neurónios provocou grande entusiasmo na comunidade científica, uma vez que representa uma forma de plasticidade que previamente se desconhecia. A formação de novos neurónios parece ser importante para alguns tipos de aprendizagem, de memória e de adaptações dependentes da experiência. Existe igualmente esperança de que a neurogénese no adulto permita a regeneração de tecido nervoso após dano cerebral. Recentemente aumentou também o interesse em torno da associação entre a depressão e a neurogénese (54,55).

NEUROGÉNESE, UM PROCESSO COMPLEXO.

A produção de novos neurónios no cérebro adulto, é um processo complexo que se inicia com a proliferação das células progenitoras, seguida de maturação fenotípica, morfológica e fisiológica, culminando com a formação de um novo neurónio, funcionante e integrado na complexa rede neuronal pré-existente (56,57).

Uma célula estaminal do SNC é caracterizada pela sua capacidade proliferativa e capacidade de sucessivas mitoses. Trata-se como tal de uma célula pluripotente capaz de gerar várias linhagens neuroniais (58,59). No hipocampo adulto, as células progenitoras neuroniais são geralmente visualizadas em agregados ao longo da zona subgranulosa (60) e pertencem a duas grandes classes. A primeira, geralmente denominada de células do tipo I (61), ou B (62), são células com características electrofisiológicas semelhantes às dos astrócitos hipocampais (63), de aspecto radial, com o soma triangular e um prolongamento fino apical que atinge a camada granulosa, onde se ramifica densamente (64). Pensa-se que devido à sua morfologia ramificada e à extensa penetração por entre vasos sanguíneos, estas células se dividam apenas raramente (65), e, que quando o fazem, fazem-no assimetricamente, dando origem a outra célula estaminal e ao segundo tipo de células, as células do tipo II (61), ou D, com características mais próximas dos neurónios (62). As células do tipo II, dividem-se rapidamente e dão origem a neuroblastos pós-mitóticos, que migram depois para a camada de células granulosas onde se formam as células granulosas propriamente ditas, com sinapses funcionais (61,66,67).

O alongamento do axónio dá-se imediatamente no período pós-mitótico e as suas conexões com CA3 nos 4 a 10 dias seguintes (41). Durante este período a formação dendrítica continua (68). Sete semanas após a divisão, uma célula granulosa formada pode gerar potenciais de acção, exibir respostas electrofisiológicas e ser finalmente integrada nos circuitos do hipocampo (40). As células não recrutadas para maturação são eliminadas por apoptose (69,70).

A frequência com que os progenitores do tipo II originam neurónios, a diferenciação, maturação e duração dos novos neurónios formados são regulados por um conjunto de mecanismos extra e intracelulares, que não são analisados neste trabalho.

NEUROGÉNESE E DEPRESSÃO

A depressão é uma perturbação debilitante, muito frequente na população mundial e que contribui para altas taxas de suicídio (71). Estima-se que esta perturbação do humor esteja entre as três principais causas de incapacidade em 2020 (72). A depressão é provavelmente a perturbação mais comumente

relacionada com o *stress*, tido como alteração do meio externo ou interno que perturba a manutenção da homeostasia (73,74). No entanto, a etiologia da depressão é multifactorial, e resulta de uma interacção entre factores de *stress* ambientais e a predisposições genéticas (75,76). Apesar da perturbação depressiva ter sido relacionada há muito tempo com alterações neuroquímicas, estudos recentes sugerem que esteja também relacionada com alterações da plasticidade estrutural (77,78). Os principais sintomas da depressão são as alterações do humor (tristeza, anedonia, irritabilidade), dos comportamentos básicos de sobrevivência (alterações do sono e da alimentação) e da cognição (culpa, indecisão, pensamentos suicidas). Esta constelação de diversos sintomas indica que um diverso número de estruturas límbicas está subjacente à depressão (79), nomeadamente o córtex pré-frontal, o cíngulo, o hipocampo e a amígdala (80). Neste trabalho será dada especial atenção ao hipocampo uma vez para além de nele se processar a neurogénese, trata-se de uma estrutura que expressa grandes quantidades de receptores de glicocorticóides (81), a base do eixo hipotálamo-hipofisário-suprarrenal (HHS), um dos principais marcos neuroendócrinos da depressão (82,83). O hipocampo tornou-se o foco do estudo clínico e experimental do *stress*, tendo sido desenvolvidos vários estudos para demonstrar que o *stress*, através de elevados níveis de glicocorticóides afecta a estrutura e a função do hipocampo (84,85).

Stress e estrutura do hipocampo. Diminuição do volume hipocampal.

Diversos estudos associaram a depressão à diminuição do volume do hipocampo (84-103). Esta perda de volume, resultaria em alterações cognitivas, que são um dos sintomas da perturbação depressiva major. A ressonância magnética nuclear (RMN) tem sido muito usada mas uma metanálise recente de 17 estudos de RMN mostra que as conclusões são controversas (104,105). As discrepâncias entre os diversos estudos parecem dever-se especificamente à inclusão da amígdala nas medidas volumétricas do hipocampo, pois parece que a amígdala pode estar aumentada em doentes deprimidos (106). Para além disso, o grau de atrofia do hipocampo poderia aumentar com a frequência dos episódios depressivos e com o tempo durante a qual a depressão não foi tratada. (92,93,107) Deste modo, a inclusão nos estudos de doentes com os primeiros episódios de depressão ou de doentes com

depressão tratada há muito tempo pode reduzir as observações de perda de volume do hipocampo. Uma das explicações possíveis para a redução do volume do hipocampo induzido pelo *stress*, é a acção tóxica dos glicocorticóides no hipocampo (89) que leva a uma perda de neurónios particularmente grande nas subregiões CA3 e CA1 (108). As alterações volumétricas poderiam resultar do aumento da apoptose neuronal e da diminuição da neurogénese na circunvolução denteada (109). No entanto em estudos mais recentes não se encontraram sinais de perdas neuronais massivas após *stress* crónico ou administração crónica de glicocorticóides em indivíduos deprimidos (110-113). Algumas das alterações estruturais eventualmente provocadas pelo *stress* poderiam ser temporárias e desaparecerem no período de recuperação (114-115) ou quando os níveis de corticosteróides normalizam (116). Segundo alguns estudos clínicos (117) e laboratoriais (88,118), as alterações volumétricas podem dever-se a alterações no neutrópilo não envolvendo necessariamente a redução da proliferação celular (119), nem o aumento da apoptose (110,112). Além disso, é fundamental sublinhar que a atrofia do hipocampo, independentemente do mecanismo subjacente, pode ser observada, não só na depressão, mas também noutras perturbações psiquiátricas como a esquizofrenia, *stress* pós-traumático, demências e perturbações não depressivas da doença de Cushing (120).

Stress e função do hipocampo. Desregulação do eixo HHS.

A função alterada do hipocampo influencia a actividade de outras estruturas cerebrais, em particular o córtex pré-frontal e a amígdala que são áreas-chave na regulação emocional. Para além disso, uma vez que o hipocampo está na origem do *feed-back* negativo sobre o eixo HHS, uma alteração na função do hipocampo, contribui também para a desregulação deste, o que é comum em cerca de 50% dos doentes deprimidos (121-123). Um outro ponto a considerar é que o *stress* crónico ou os elevados níveis de glicocorticóides podem levar a atrofia ou perda de neurónios hipocámpais, o que por sua vez levam a maior perda de *feedback* negativo do eixo HHS (122-124). Apesar do efeito antineurogénico do *stress* no hipocampo estar bem estabelecido, o mecanismo exacto que lhe está subjacente permanece por definir (125). As hormonas do córtex suprarrenal podem ser importantes porque o hipocampo tem uma densidade grande de receptores dos glicocorticóides, que têm acção sobre a proliferação (126),

diferenciação (127) e a sobrevivência neuronal (128). O *stress* pode interferir com todos os estádios da renovação neuronal (129-132). A suprarrenalectomia, testada por Cameon and Gould, aumenta a neurogênese (133). Por outro lado, a administração exógena de corticosteróides reduz a neurogênese (19,134).

Serão as alterações da neurogênese induzidas pelo stress, responsáveis pelos sintomas depressivos?

Trabalhos recentes usando modelos ou testes animais têm ponderado a relação causal entre a redução da neurogênese e a produção de sintomas depressivos. Existem várias maneiras de avaliar a possível relação causal entre neurogênese e sintomas depressivos. Uma delas pode ser através do modelo de desamparo aprendido, outro, é através do bloqueio experimental da neurogênese em animais e posterior avaliação da produção ou não de sintomas depressivos. Um dos métodos é submeter o cérebro a baixas doses de radiação. A irradiação mata as células progenitoras em divisão alterando o microambiente da zona subgranulosa, de modo a que a neurogênese fica drasticamente reduzida ou mesmo anulada (135-137). O bloqueio da neurogênese pela irradiação, não tem efeito no desempenho de várias tarefas comportamentais, nomeadamente na latência da busca de alimento (*latency-to-feed*), nos testes do labirinto cruzado elevado (*elevated plus maze*) e no teste da escolha entre a claridade e obscuridade (*light-dark choice test*) (138). O bloqueio da neurogênese provoca efeitos directos sobre a memória e a aprendizagem (139-143), mas não há prova de que produza manifestações semelhantes às perturbações depressivas (144,145).

ACÇÕES FARMACOLÓGICAS DOS ANTIDEPRESSORES SOBRE A NEUROGÉNESE

Antidepressores e neurogênese

Apesar da neurogênese hipocampal não estar necessariamente envolvida na gênese da depressão, ela parece ser importante para os efeitos terapêuticos do tratamento com antidepressores (118,146-150).

Contrastando com a diminuição da neurogênese hipocampal induzida pelo *stress*, o tratamento antidepressor aumenta a proliferação celular e a neurogênese. A fluoxetina, um inibidor selectivo da do transportador da 5-HT (SERT, *serotonin transporter*), a reboxetina, inibidor selectivo do transportador da noradrenalina (NAT, *noradrenaline transporter*) e o rolipram, um inibidor da fosfodiesterase IV (PDE IV, *phosphodiesterase IV*) todos produzem este efeito. A administração aguda de fluoxetina (1 a 5 dias) não demonstrou efeito na proliferação celular. Este aumento só foi possível após 14 dias de tratamento (148). Esta informação sugere que é necessária administração crónica deste fármaco para aumentar a proliferação celular. Não existem diferenças de proliferação em grupos de animais tratados com 14 ou 28 dias de fluoxetina, o que indica que para este fármaco, se estabelece uma resposta máxima após os 14 dias de tratamento (148). De modo semelhante, uma dose única de rolipram não afecta a proliferação celular. Com este fármaco, foi necessário tratamento com 21 dias para promover um aumento da proliferação celular e da neurogênese (150). Este atraso no início de acção dos fármacos, corresponde ao tempo necessário para a acção terapêutica dos antidepressores (148).

A estimulação electroconvulsivante também aumenta a proliferação celular e a neurogênese no ratinho adulto (148, 151,152). Quando comparada com os fármacos antidepressores, a estimulação electroconvulsivante é mais potente como indutor da proliferação celular (148). Apesar de um estudo ter demonstrado que um único período de estimulação electroconvulsivante aumenta significativamente a proliferação celular, sabe-se que quanto maior for o número de períodos, maior é o incremento na proliferação celular (151).

Muitos dos estudos que permitiram concluir o aumento da proliferação celular e neurogênese após tratamento antidepressor, baseiam-se em estudos em animais que não foram expostos a *stress*. Pensa-se que os animais sob *stress* são melhores para estudo dos efeitos dos antidepressores sobre a neurogênese. Até à data, foram usados dois modelos animais: um modelo do *stress* psicossocial e um modelo do desamparo aprendido (153).

A exposição crónica ao conflito psicossocial produz uma diminuição na proliferação celular que pode ser revertida pelo tratamento antidepressor (129). No modelo animal do desamparo aprendido, a exposição a um factor inesperado produz défices comportamentais subsequentes que podem

igualmente ser revertidos pelo tratamento antidepressor (154). Num estudo recente utilizando este modelo animal (155), o tratamento com fluoxetina, para além de prevenir a diminuição da proliferação celular, reverteu igualmente os défices comportamentais, o que indica que o estímulo inesperado que produz uma diminuição da proliferação celular, pode ser revertido pelo tratamento com antidepressor. Surget e colaboradores estudaram o envolvimento da neurogénese hipocampal num modelo animal que preconizava a exposição a estímulos agressores moderados crónicos e imprevisíveis (156). Neste estudo, os ratinhos foram expostos a vários factores de *stress* durante 5 semanas, nomeadamente alterações das gaiolas onde habitavam, produção de sons de predadores e alterações do ciclo claridade/escuro. Assistiu-se a uma deterioração gradual nos cuidados de limpeza da pele do animal, com alterações na aparência do pêlo, um aumento da latência na busca de alimentação, quer em ratinhos irradiados quer em não irradiados. Neste mesmo estudo a partir da terceira semana, foi administrada fluoxetina a um grupo de ratinhos e um branco a outro, que serviu de controlo. Nos ratinhos não irradiados a fluoxetina promoveu efeitos positivos nos testes em estudo (melhoria do estado e do aspecto da pele, diminuição da latência na busca de alimentação). Nos ratinhos irradiados, a fluoxetina foi ineficaz. Com este estudo concluiu-se que a irradiação hipocampal anulou os efeitos da fluoxetina, confirmando a hipótese de que a neurogénese hipocampal é necessária para a sua acção. (156). As experiências foram repetidas com a imipramina e os resultados foram os mesmos obtidos com a fluoxetina.

Mecanismos de acção dos antidepressores.

Os antidepressores podem ter acções comportamentais e neurogénicas através de vias intracelulares de transdução de sinal que contribuem para a plasticidade neuronal. Estas vias podem ser classificadas em duas categorias, uma dependente de proteínas G e de cadeias de reacções intracelulares em que os segundos mensageiros são o AMPc, Ca^{2+} , entre outros, que é primariamente desencadeada por activação de receptores heptasegmentares situados na membrana celular, como são os das aminas e peptídeos neurotransmissores, e outra que está ligada à activação de receptores, monosegmentares e

localizados na membrana celular, ligados a cinases proteicas na tirosina (157), selectivos para citocinas e para factores de crescimento como as neurotrofinas.

De entre os segundos mensageiros, a cascata do AMPc parece ser a que tem um papel mais importante em mediar os efeitos dos antidepressores. Esta cascata é regulada pela activação de vários adrenoceptores e receptores da 5-HT que são alvos moleculares de várias classes de antidepressores. A activação de receptores leva à produção de AMPc através da estimulação da adenilciclase pela proteína Gs (158). O aumento de AMPc resulta na activação de cínases proteicas dependentes do AMPc (PKA protein kinase cAMP-dependent). De entre os substratos da PKA está o factor de transcrição CREB (*cAMP response element binding protein*) que na sua forma desfosforilada regula constitutivamente a transcrição genética, mas que na forma fosforilada aumenta grandemente a capacidade para regular a actividade transcripcional (159).

Evidências recentes apontam para um aumento (*up-regulation*) da produção de AMPc após a administração crónica de antidepressores. O tratamento crónico com antidepressores promove o aumento da actividade da PKA em certas zonas do cérebro (160). Esta enzima desloca-se para o núcleo da célula neuronal após a administração crónica do antidepressor, o que sugere que este tratamento necessita do AMPc para regular a expressão génica. A regulação do AMPc e a deslocação para o núcleo da PKA sugere que os antidepressores regulam genes específicos como por exemplo o gene que expressa a proteína CRE (*cAMP response element*). A identificação destes genes é actualmente uma área de investigação que procura avaliar a sua importância para as acções terapêuticas dos antidepressores.

Estudos que demonstram que os antidepressores aumentam a actividade da cascata do AMPc e a translocação nuclear de PKA, sugerem também que o tratamento antidepressor regula a CREB, influenciando a sua expressão genética. A administração crónica, mas não aguda de várias classes de antidepressores regula positivamente a expressão de mRNA CREB e, por consequência, da proteína CREB no hipocampo (161). Para além disso, o aumento da expressão de CREB não é imediato, o que é consistente com o tempo necessário ao aparecimento das acções terapêuticas dos antidepressores (161). Os mecanismos subjacentes ao aumento da expressão de mRNA CREB e sua proteína não estão

claramente estudadas *in vivo*, no entanto, a evidência dos estudos *in vitro* implica a activação do sistema AMPc na sua regulação (162).

Vários adrenoceptores e receptores da 5-HT contribuem para a regulação da CREB através da cascata do AMPc e da PKA. A activação de outros receptores desencadeia cascatas dependentes do fosfatidilinositol e que passam pela libertação de Ca^{2+} das reservas intracelulares. As cínases proteicas dependentes do cálcio (PKC) também fosforilam e activam a CREB (163). Parece então que a sinalização através de várias cascatas de transdução de sinal em resposta a diferentes antidepressores convergem para regular a expressão da CREB e activar vários genes alvo. A incapacidade para regular a expressão ou a função de CREB e induzir expressão génica contribui para a patogénese da depressão (164).

São necessários estudos futuros para determinar que genes são regulados por CREB e caracterizar o seu papel nas acções dos antidepressores. Dos genes regulados por CREB aquele que tem sido alvo de mais estudos é o factor neurotrófico obtido de cérebro (BDNF, *brain derived neurotrophic factor*) (161,165-172). O BDNF pertence a uma família de factores de crescimento, as neurotrofinas, e exerce uma grande influência no desenvolvimento, sobrevivência, manutenção e plasticidade dos neurónios quer no SNC imaturo, quer no adulto, e tal como as outras neurotrofinas, medeia os seus efeitos na função celular e plasticidade através da estimulação receptores TrK (*tropomyosin-related kinase*). Estudos recentes indicam que o BDNF é importante para a acção dos antidepressores. Tal como para a CREB, a administração crónica, e não a aguda, de antidepressores, aumenta a expressão de BDNF e do seu receptor TrKB no hipocampo (171). O tempo necessário para este processo é semelhante à demora da acção terapêutica dos antidepressores. A acção do AMPc no aumento da expressão de BDNF pelos antidepressores foi demonstrada por estudos com inibidores das PDE, nomeadamente o rolipram (161). Os inibidores das PDE, enzimas que degradam o AMPc, aumentam a expressão de BDNF e este aumento é mais evidente quando são co-administrados com um antidepressor. Além da regulação da expressão do BDNF pelo AMPc, uma via alternativa envolve o receptor 5-HT₂ que através da cínase proteica activada por mitogénios (MAPK, *mytogen-activated protein kinase*) pode influenciar a expressão de BDNF de um modo independente à cascata do AMPc.

Existem, portanto, várias linhas de evidência que sugerem um papel do BDNF na acção do tratamento antidepressor e na patogénese da depressão. Em primeiro lugar, o tratamento antidepressor crónico, mas não agudo, aumenta o mRNA BDNF hipocampal. Além disso, a pré-administração de antidepressores previne a diminuição do mRNA BDNF hipocampal. Mais ainda, a infusão directa de BDNF no mesencéfalo exerce um efeito antidepressor em dois modelos animais de depressão, o teste da natação forçada (*forced swim test*) e o modelo de desamparo aprendido (173). Por último, o BDNF exerce um forte efeito trófico nos neurónios serotoninérgicos e noradrenérgicos (174,175). Presume-se, assim, com base nestes resultados, que a expressão aumentada de BDNF resultante da administração crónica de antidepressores, desempenha um importante papel ao reverter e prevenir o dano neuronal consequente à exposição sustentada ao *stress* ou outros estímulos adversos. No seu conjunto, estes estudos indicam que os antidepressores aumentam a expressão de BDNF, e que este, por si só, exerce uma acção antidepressora, através dos receptores TrK, o que favorece a explicação neuroplástica das perturbações depressivas.

Receptor sigma

Apesar de ter sido originalmente proposto como um tipo de receptor opiáceo, o receptor sigma é actualmente classificado como receptor órfão porque não se lhe conhece um ligando endógeno. Os principais ligandos dos receptores sigma são os agonistas SKF-10047 e a pentazocina (PTZ), o antagonista NE-100 bem como diversas classes de psicotrópicos como a fenciclidina (PCP) e a cetamina (176-184). Os agonistas do receptor sigma 1 potenciam a os efeitos tróficos do factor de crescimento dos nervos (NGF, *nerve growth factor*) (185-187). Vários antidepressores competem com a pentazocina em estudos de radioligandos, com a seguinte ordem de afinidade: fluvoxamina > sertralina > fluoxetina > escitalopram > imipramina > paroxetina > desipramina. (188). A fluvoxamina parece comportar-se como uma agonista sigma o que pode contribuir para algumas acções paralelas à sua acção como inibidor do SERT.

Takebayashi e seus colaboradores estudaram a hipótese de que os receptores sigma 1 pudessem estar envolvidos na neuritogénese (*sprouting*) neuronal (186-187). Esta hipótese foi examinada usando

culturas de células de feocromocitoma, que têm sido extensivamente utilizadas para estudar o crescimento neuronal em resposta ao NGF e que expressam receptores sigma 1. A PTZ sem NGF não promove o *sprouting* neuronal, mas potencia muito o *sprouting* induzido pelo NGF. A administração do antagonista dos receptores sigma 1, NE-100, bloqueia a potenciação pela PTZ do *sprouting* induzido pelo NGF. Neste mesmo estudo, avaliaram-se também os efeitos de dois antidepressores que possuem afinidade para o receptor sigma 1 comprovada pela competição com a PTZ em estudos de radioligandos: um com maior afinidade (fluvoxamina) e outro com menor afinidade (imipramina). Quer a fluvoxamina quer a imipramina não promovem *sprouting*, mas potenciam, de forma directamente proporcional à afinidade para o receptor sigama 1 a acção do NGF. A potenciação pela fluvoxamina e pela imipramina foi, tal como a da PTZ, bloqueada pelo NE-100. Este estudo constitui a primeira demonstração de que os receptores sigma 1 estão relacionados com o *sprouting* neuronal e que os antidepressores com afinidade para estes receptores podem ter alguns efeitos terapêuticos, ao promoverem um aumento do *sprouting* neuronal induzido pelo NGF (186, 187). O modo como os receptores sigma 1 aumentam a acção do NGF não está esclarecido, mas parece que envolve a activação do receptor do NGF, o TrkA, e a cascata sinalizadora subsequente incluindo a via da MAPK, e as vias de mobilização de cálcio intracelular (189). Postula-se também que através desta última via, os receptores sigma 1 modulem o BDNF.

Plasticidade estrutural, depressão e antidepressores

Uma das grandes dificuldades em relacionar a neurogénese e a acção dos antidepressores, foi provar uma relação causal entre elas. A resposta a esta conjectura, foi dada em 2003 por Santareli e colaboradores (118) no mesmo estudo que procuraram encontrar também uma eventual relação causa-efeito entre redução da neurogénese e sintomas depressivos. Com baixas doses de irradiação com raios X, mataram selectivamente as células progenitoras no hipocampo de roedores, e eliminaram a acção da fluoxetina e da imipramida. Esta foi a primeira prova de que a neurogénese é necessária para as acções dos antidepressores em modelos animais (118). A atrofia neuronal e a morte celular induzidas

pelo *stress*, sugerem que os antidepressores, mediante influências adaptativas na plasticidade neural, podem reverter ou bloquear os efeitos deletérios do *stress* na morfologia e sobrevivência neuronais. A neurogênese é uma forma de plasticidade estrutural cuja redução em situações em que há atrofia e morte celular induzidas pelo *stress*, contribui para o défice funcional do hipocampo e para algumas perturbações depressivas. Os antidepressores administrados cronicamente contrariam a acção deletéria que a exposição a factores de *stress* tem sobre a neurogênese normal do adulto (124,149,190).

CONCLUSÃO

Há provas laboratoriais seguras de que a neurogênese no hipocampo de roedores e de outras espécies é um processo normal e activo no adulto e que pode ser quantificado de forma prática pela injeccção prévia de BrdU. As alterações de comportamento animal adquiridas pela exposição repetida a várias condições adversas são consistentes, objectivas e podem ser modificadas por fármacos de uma forma coincidente com as suas acções terapêuticas e adversas na clínica. Nestas experiências comportamentais em animal de laboratório há uma redução da neurogênese que é revertida pelo tratamento com antidepressores em tratamento prolongado. O trabalho de Santarelli e colaboradores (118) foi crucial para estabelecer um nexo de causa-efeito no que até então poderiam ser coincidências porque recorreu à irradiação com raios X do hipocampo para necrosar as células progenitoras e suprimir a neurogênese do hipocampo, interrompendo todos os fenómenos que dependem dela. Talvez agora seja o tempo da Psiquiatria, através da sagacidade clínica e do acompanhamento cuidadoso e paciente da evolução dos doentes com perturbações depressivas e da resposta aos tratamentos, retirar as implicações médicas destes resultados experimentais.

REFERÊNCIAS

- 1- Manji HK, Drevets WC, Charney DS. The cellular neurobiology of depression. *Nat Med* 2001; 7:541–7.
- 2- Schildkraut. The catecholamine hypothesis of affective disorder: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 1965; 122: 509–22.
- 3- Charney DS. Monoamine dysfunction and the pathophysiology and treatment of depression. *J Clin Psychiatry* 1998; 59: 11–4.
- 4- Duman RS, Malberg J, Thome J. Neural plasticity to *stress* and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 1999; 46: 1181–91.
- 5- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ. A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54: 597–606.
- 6- Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, et al. Neurobiology of depression. *Neuron* 2002; 34:13–25.
- 7- Coyle JT, Duman RS. Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. *Neuron* 2003; 38:157–60.
- 8- Kölliker A. *Handbuch der Gewebelehre des Menschen*. 5. Auflage [Manual de histologia humana. 5ª edição] Engelmann: Leipzig, 1867.
- 9- His W. *Die Entwicklung des menschlichen Gehirns während der ersten Monate* [Desenvolvimento do cérebro humano durante os primeiros meses] Hirzel: Leipzig; 1904.
- 10- Gross CG. Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nat Rev Neurosci* 2000; 1:67-73.
- 11- Allen E. The cessation of the mitosis in the central nervous system of the albino rat. *J Comp Neurol* 1912; 22: 547–68.
- 12- Altman J. Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. *Anat Rec* 1963; 145: 573–91.
- 13- Altman J, Das GD. Post-natal origin of microneurons in the rat brain. *Nature* 1965a; 207: 953–6.

- 14- Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* 1965b; 124: 319–35.
- 15- Kaplan MS, Hinds JW. Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs. *Science* 1977; 197: 1092-4.
- 16- Altman J. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *J Comp Neurol* 1969; 137: 433–57.
- 17- Kaplan MS, McNelly NA, Hinds JW. Population dynamics of adult-formed granule neurons of the rat olfactory bulb. *J Comp Neurol* 1985; 239: 117–25.
- 18- Kaplan M S. Neurogenesis in the 3-month-old rat visual cortex. *J Comp Neurol* 1981; 195:323-38
- 19- Gould E, Cameron HA, Daniels DC, Woolley CS, McEwen BS. Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus. *J Neurosci* 1992; 12: 3642–50.
- 20- Cameron HA, Woolley CS, McEwen BS, Gould E. Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience* 1993b; 56: 337–44.
- 21- Takahashi T, Nowakowski RS, Caviness VS. BrdU as an Sphase marker for quantitative studies of cytokinetic behaviour in the murine cerebral ventricular zone. *J Neurocytol* 1992; 21 Suppl 3: 185-97.
- 22- Miller MW, Nowakowski RS. Use of bromodeoxyuridine immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Res* 1988; 457 Suppl 1: 44-52.
- 23- Nowakowski RS, Lewin SB, Miller MW. Bromodeoxyuridine immunohistochemical determination of the lengths of the cell cycle and DNA-synthetic phase for an anatomically defined population. *J Neurocytol* 1989; 18 Suppl 3: 311-8.
- 24- Lopez-Garcia C, Molowny A, Garcia-Verduro JM, Ferrer I. Delayed postnatal neurogenesis in the cerebral cortex of lizards. *Brain Res* 1988; 471: 167-74.

- 25- Polenov AL, Chetverukhin VK. Ultrastructural radioautographic analysis of neurogenesis in the hypothalamus of adult frog, *Rana temporaria*, with special reference to physiological regeneration of the preoptic nucleus. *Cell Tissue Res* 1993; 271: 351-62.
- 26- Nottebohm F. From bird song to neurogenesis. *Sci Am* 1989; 260 (2): 74-9.
- 27- Cameron HA, McKay RD. Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *J Comp Neurol* 2001; 435: 406-17.
- 28- Gould E, Reeves AJ, Fallah M, Tanapat P, Gross CG, Fuchs E. Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999c; 96: 5263-7.
- 29- Kornack DR, Rakic P. Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 5768-73.
- 30- Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. Proliferation of granule cells precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by *stress*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: (6) 3168-71.
- 31- Eckenhoff MF, Ralic P. Nature and fate of proliferative cells in the hippocampal dentate gyrus during the life span of the rhesus monkey. *J Neurosci* 1988; 8:2729-47.
- 32- Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; 4: 1313-17.
- 33- Gage FH. Neurogenesis in the adult brain. *J Neurosci* 2002; 22 Suppl 3:612-3.
- 34- Gage FH. Structural plasticity of the adult brain. *Dialogues Clin Neurosci* 2004; 6:135-41.
- 35- Lois C, Alvarez-Buylla A. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2074-7.
- 36- Doetsch F, Caille I, Lim DA, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 1999; 97: 703-16.
- 37- Gritti A, Bonfanti L, Doetsch F, Caille I, Alvarez-Buylla A, Lim DA, et al. Multipotent neural stem cells reside into the rostral extension and olfactory bulb of adult rodents. *J Neurosci* 2002; 22:437-45.
- 38- Liu Z, Martin LJ. Olfactory bulb core is a rich source of neural progenitor and stem cells in adult rodent and human. *J Comp Neurol* 2003; 459: 368-91.

- 39- Pagano SF, Impagnatiello F, Girelli M, Cova L, Grioni E, Onofri M, et al. Isolation and characterization of neural stem cells from the adult human olfactory bulb. *Stem Cells* 2000; 18: 295–300.
- 40- Van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, Gage FH. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature* 2002; 415: 1030–4.
- 41- Markakis EA, Gage FH. Adult-generated neurons in the dentate gyrus send axonal projections to field CA3 and are surrounded by synaptic vesicles. *J Comp Neurol* 1999; 406 Suppl 4: 449–60.
- 42- Hastings NB, Gould E. Rapid extension of axons into the CA3 region by adult generated granule cells. *J Comp Neurol* 1999; 413: 146–54.
- 43- Stanfield BB, Trice JE. Evidence that granule cells generated in the dentate gyrus of adult rats extend axonal projections. *Exp Brain Res* 1988; 72: 399–406.
- 44- Gage FH, Kempermann G, Palmer TD, Peterson DA, Ray J. Multipotent progenitor cells in the adult dentate gyrus. *J Neurobiol* 1998; 36:249–66.
- 45- Kukekov VG, Laywell ED, Suslov O, Davies K, Scheffler B, Thomas LB, et al. Multipotent stem/progenitor cells with similar properties arise from two neurogenic regions of adult human brain. *Exp Neurol* 1999; 156: 333–44.
- 46- Palmer TD, Takahashi J, Gage FH. The adult rat hippocampus contains primordial neural stem cells. *Mol Cell and Neurosci* 1997; 8:389–404.
- 47- Gould E, Reeves AJ, Graziano MS, Gross CG. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* 1999a; 286: 548–52.
- 48- Gould E, Vail N, Wagers M, Gross CG. Adult-generated hippocampal and neocortical neurons in macaques have a transient existence. *Proc Nat Acad Sci USA* 2001; 98: 10910–17.
- 49- Dayer AG, Cleaver KM, Abouantoun T, Cameron HA. New GABAergic interneurons in the adult neocortex and striatum are generated from different precursors. *J Cell Biol* 2005; 168: 415–27.
- 50- Bedard A, Gravel C, Parent A. Chemical characterization of newly generated neurons in the striatum of adult primates. *Exp Brain Res* 2006; 170: 501–12.

- 51- Fowler CD, Liu Y, Ouimet C, Wang Z. The effects of social environment on adult neurogenesis in the female prairie vole. *J Neurobiol* 2002; 51: 115–28.
- 52- Zhao M, Momma S, Delfani K, Carlen M, Cassidy RM, Johansson CB, Brismar H, Shupliakov O, Frisen J, Janson AM. Neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 7925-30.
- 53- Kokoeva MV, Yin H, Flier J. Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance. *Science* 2005; 310: 679–83.
- 54- Doetsch F, Hen R. Young and excitable: the function of new neurons in the adult mammalian brain. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15: 121-8.
- 55- Leuner B, Gould E, Shors TJ. Is there a link between adult neurogenesis and learning? *Hippocampus* 2006; 16: 216-24.
- 56- Kempermann G. Adult hippocampal neurogenesis. *Adult neurogenesis: Stem cells and neuronal development in the adult brain*. New York: Oxford University Press; 2006. p. 168–91.
- 57- Balu DT, Lucki I. Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev* 2009; 33 (3): 232–52.
- 58- Sohur US, Emsley JG, Mitchell BD, Macklis JD. Adult neurogenesis and cellular brain repair with neural progenitors, precursors and stem cells. *Biol Sci* 2006; 361: 1477–97.
- 59- Loeffler M, Potten CS. Stem cells and cellular pedigrees – a conceptual introduction. In: Potten CS, editor. *Stem cells*. London: Academic; 1997. p. 1–27.
- 60- Encinas JM, Vaahtokari A, Enikolopov G. Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 8233– 8.
- 61- Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* 2004; 27: 447-52.
- 62- Seri B, Garcia-Verdugo JM, Collado-Morente L, McEwen BS, Alvarez-Buylla A. Cell types, lineage, and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *J Comp Neurol* 2004; 478: 359–378.

- 63- Fukuda S, Kato F, Tozuka Y, Yamaguchi M, Miyamoto Y, Hisatsune T. Two distinct subpopulations of nestin-positive cells in adult mouse dentate gyrus. *J Neurosci* 2003; 23: 9357-66.
- 64- Seri B, Garcia-Verdugo JM, McEwen BS, Alvarez-Buylla A. Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *J Neurosci* 2001; 21: 7153–60.
- 65- Kronenberg G, Reuter K, Steiner B, Brandt MD, Jessberger S, Yamaguchi M, Kempermann G. Subpopulations of proliferating cells of the adult hippocampus respond differently to physiologic neurogenic stimuli. *J Comp Neurol* 2003; 467: 455–63.
- 66- Abrous DN, Koehl M, Le Moal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. *Physiol Rev* 2005; 85:523–69.
- 67- Duan X, Kang E, Liu CY, Ming GL, Song H. Development of neural stem cell in the adult brain. *Curr Opin Neurobiol* 2008; 18:108 –15.
- 68- Zhao C, Teng EM, Summers Jr RG, Ming GL, Gage FH. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J Neurosci* 2006; 26: 3-11.
- 69- Biebl M, Cooper CM, Winkler J, Kuhn HG. Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neurosci Lett* 2000; 291: 17-20.
- 70- Dayer AG, Ford AA, Cleaver KM, Yassaee M, Cameron HA. Short-term and long-term survival of new neurons in the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol* 2003; 460 (4): 563–72.
- 71- Lopez AD, Murray CC. The global burden of disease, 1990–2020. *Nat Med* 1998; 4:1241–3.
- 72- Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *Public Library of Science Medicine*; 2006.
- 73- Leonard BE. The HPA and immune axes in *stress*: the involvement of the serotonergic system. *Eur Psychiatry* 2005; 20 Suppl 3: 302–6.
- 74- McEwen BS. The neurobiology of *stress*: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res* 2000; 886: 172–89.
- 75- Kessler RC. The effects of *stressful* life events on depression. *Annu Rev Psychol* 1997; 48: 191–214.

- 76- Kendler KS, Karkowsk LM, Prescott CA. Causal relationship between *stressful* life events and the onset of major depression. *Am J Psychiatry* 1999; 156: 837–41.
- 77- Castrén E. Is mood chemistry? *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 241–6.
- 78- Berton O, Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discoveries: beyond monoamines. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7: 137–51.
- 79- Drevets W. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol* 2001; 11:240–9.
- 80- Ressler KJ, Mayberg HS. Targeting abnormal neural circuits in mood and anxiety disorders: from the laboratory to the clinic. *Nat Neurosci* 2007; 10: 1116–24.
- 81- de Kloet R, Wallach G, McEwen BS. Differences in corticosterone and dexamethasone binding to rat brain and pituitary. *Endocrinology* 1975; 96: 598–609.
- 82- Holsboer F, Barden N. Antidepressants and hypothalamic-pituitary- adrenocortical regulation. *Endocr Rev* 1996; 17:187–205.
- 83- Gold P, Chrousos GP. Organization of the *stress* system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry* 2002; 7:254–75.
- 84- McEwen BS. Protective and damaging effects of *stress* mediators: central role of the brain. *Dialogues Clin Neurosci* 2006a; 8: 367–81.
- 85- Joëls M, Karst H, Krugers HJ, Lucassen PJ. Chronic *stress*; implications for neuron morphology, function and neurogenesis. *Front Neuroendocrinol* 2007; 28: 72–96.
- 86- Frodl T, Meisenzahl EM, Zetsche T, Born C, Groll C, Jager M, et al. Hippocampal changes in patients with a first episode of major depression. *Am J Psychiatry* 2002; 159:1112-8.
- 87- MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT, et al. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:1387–92.
- 88- McEwen BS. Glucocorticoids, depression, and mood disorders: Structural remodeling in the brain. *Metabolism* 2005; 54:20–3.
- 89- Sapolsky RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57: 925–35.

- 90- Sheline YI. Neuroimaging studies of mood disorder effects on the brain. *Biol Psychiatry* 2003; 54:338–52.
- 91- Steffens DC, Byrum CE, McQuoid DR, Greenberg DL, Payne ME, Blitchington TF, et al. Hippocampal volume in geriatric depression. *Biol Psychiatry* 2000; 48:301–9.
- 92- Sheline YI, Sanghavi M, Mintun MA, Gado MH. Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression. *J Neurosci* 1999; 19: 5034-43.
- 93- Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 3908-13.
- 94- Mervaala E, Fohr J, Kononen M, Valkonen-Korhonen M, Vainio P, Partanen K, Partanen J, Tiihonen J, Viinamaki H, Karjalainen AK, Lehtonen J. Quantitative MRI of the hippocampus and amygdala in severe depression. *Psychol Med* 2000; 30: 117-25.
- 95- Campbell S, Macqueen G. The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *J Psychiatry Neurosci* 2004; 29: 417-26.
- 96- Campbell S, Marriott M, Nahmias C, MacQueen GM. Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 598–607.
- 97- Videbech P, Ravnkilde B. Hippocampal volume and depression: a meta-analysis of MRI studies. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 1957–66.
- 98- Sheline YI. 3D MRI studies of neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of *stress* and medical comorbidity. *Biol Psychiatry* 2000; 48:791–800.
- 99- Bremner JD. Structural changes in the brain in depression and relationship to symptom recurrence. *CNS Spectr* 2002; 7: 129–30, 135–9.
- 100- Shah P, Ebmeier KP, Glabus MF, Goodwin GM. Cortical grey matter reduction associated with treatment-resistant chronic unipolar depression. *Br J Psychiatry* 1998; 172:527–32.
- 101- Bremner J, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry* 2000; 157:115–18.
- 102- Saarelainen T, Hendolin P, Lucas G, Koponen E, Sairanen M, MacDonald E, Agerman K, Haapasalo A, Nawa H, Aloyz R, Ernfors P, Castren E. Activation of the trkB neurotrophin

- receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects. *J Neurosci* 2003; 23:349–57.
- 103- Vermetten E, Vythilingam M, Southwick SM, Charney DS, Bremner JD. Long-term treatment with paroxetine increases verbal declarative memory and hippocampal volume in posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 2003; 54:693–702.
- 104- Axelson DA, Doraiswamy PM, McDonald WM, Boyko OB, Tupler LA, Patterson LJ, et al. Hypercortisolemia and hippocampal changes in depression. *Psychiatry Res* 1993; 47:163–73.
- 105- Vakili K, Pillay SS, Lafer B, Fava M, Renshaw PF, Bonello-Cintron CM, et al. Hippocampal volume in primary unipolar major depression: a magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry* 2000; 47: 1087–90.
- 106- Frodl T, Meisenzahl E, Zetsche T, Bottlender R, Born C, Groll C, Jager M, Leinsinger G, Hahn K, Moller HJ. Enlargement of the amygdala in patients with a first episode of major depression. *Biol Psychiatry* 2002; 51: 708-14.
- 107- Sheline YI, Gado MH, Kraemer HC. Untreated depression and hippocampal volume loss. *Am. J. Psychiatry* 2003; 160: 1516–8.
- 108- Sapolsky RM, Uno H, Rebert CS, Finch CE. Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *J Neurosci* 1990; 10: 2897–902.
- 109- Sahay A, Drew MR, Hen R. Dentate gyrus neurogenesis and depression. *Prog Brain Res* 2007; 163: 697–822.
- 110- Lucassen PJ, Müller MB, Holsboer F, Bauer J, Holtrop A, Wouda, J, Hoogendijk WJ, De Kloet ER, Swaab DF. Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. *Am J Pathol* 2001; 158: 453–68.
- 111- Lucassen PJ, Fuchs E, Czéh B. Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the tree shrew hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 789–96.
- 112- Müller MB, Lucassen PJ, Yassouridis A, Hoogendijk WJ, Holsboer F, Swaab DF. Neither major depression nor glucocorticoid treatment affects the cellular integrity of the human hippocampus. *Eur J Neurosci* 2001; 14: 1603–12.

- 113- Stockmeier CA, Mahajan GJ, Konick LC, Overholser JC, Jurjus GJ, Meltzer HY, Uylings HB, Friedman L, Rajkowska G. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biol Psychiatry* 2004; 56: 640–50.
- 114- Heine VM, Maslam S, Joels M, Lucassen PJ. Prominent decline of newborn cell proliferation, differentiation, and apoptosis in the aging dentate gyrus, in absence of an age-related hypothalamus–pituitary–adrenal axis activation. *Neurobiol Aging* 2004a; 25: 361–75.
- 115- Heine VM, Maslam S, Joels M, Lucassen PJ. Increased P27KIP1 protein expression in the dentate gyrus of chronically *stressed* rats indicates G1 arrest involvement. *Neuroscience* 2004b; 129: 593–601.
- 116- Starkman MN, Gebarski SS, Berent S, Scheingart DE. Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biol. Psychiatry* 1992; 32: 756–65.
- 117- Czéh B, Lucassen PJ. What causes the hippocampal volume decrease in depression? Are neurogenesis, glial changes and apoptosis implicated? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2007; 257: 250–60.
- 118- Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N, Lee J, Duman R., Arancio O, Belzung C, Hen R. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003; 301: 805–9.
- 119- Reif A, Fritzen S, Finger M, Strobel A, Lauer M, Schmitt A, Lesch KP. Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* 2006; 11: 514–22.
- 120- Arantes-Gonçalves F, Coelho R. Depressão e tratamento: Apoptose, neuroplasticidade e antidepressivos. *Acta Med Port* 2006; 19: 9-20.
- 121- Swaab DF, Bao AM, Lucassen PJ. The *stress* system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev* 2005; 4: 141–94.
- 122- Young E, Haskett RF, Murphy-Weinberg V, Watson SJ, Akil H. Loss of glucocorticoid feedback in depression. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48: 693–9.

- 123- Sapolsky R. Depression, antidepressants, and the shrinking hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 12320–2.
- 124- McEwen B. *Stress* and hippocampal plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 1999; 5:205–16.
- 125- Lucassen P, Meerlo, Naylor AS, van Dam AM Dayer AG, Fuchs E, Oomen CA, Czéh B. Regulation of adult neurogenesis by *stress*, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action. *Eur Neuropsychopharmacol* 2010; 20:1-17
- 126- Wong EY, Herbert J. Roles of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the regulation of progenitor proliferation in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 785–92.
- 127- Wong EY, Herbert J. Raised circulating corticosterone inhibits neuronal differentiation of progenitor cells in the adult hippocampus. *Neuroscience* 2006; 137: 83–92.
- 128- Wong EY, Herbert J. The corticoid environment: a determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 2491–8.
- 129- Czéh B, Michaelis T, Watanabe, T, Frahm J, de Biurrun G, van Kampen M, Bartolomucci A, Fuchs E. *Stress*-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 12796–801.
- 130- Czéh B, Welt T, Fischer AK, Erhardt A, Schmitt W, Muller MB, Toschi N, Fuchs E, Keck ME. Chronic psychosocial *stress* and concomitant repetitive transcranial magnetic stimulation: effects on *stress* hormone levels and adult hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 2002; 52: 1057–65.
- 131- Mirescu C, Gould E. *Stress* and adult neurogenesis. *Hippocampus* 2006; 16: 233–8.
- 132- Oomen CA, Mayer JL, de Kloet ER, Joëls M, Lucassen PJ. Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalizes the reduction in neurogenesis after chronic *stress*. *Eur J Neurosci* 2007; 26: 3395–01.
- 133- Cameron HA, Gould E. Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* 1994; 61: 203–9

- 134- Murray F, Smith DW, Hutson PH. Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *Eur J Pharmacol* 2008; 583: 115–27.
- 135- Monje ML, Mizumatsu S, Fike JR, Palmer TD. Irradiation induces neural precursor-cell dysfunction. *Nat Med* 2002; 8: 955-62.
- 136- Monje ML, Toda H, Palmer TD. Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science* 2003; 302: 1760-5.
- 137- Wojtowicz JM. Irradiation as an experimental tool in studies of adult neurogenesis. *Hippocampus* 2006; 16: 261-6.
- 138- Drew MR, Hen R. Adult hippocampal neurogenesis as target for the treatment of depression. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2007; 6: 205-18.
- 139- Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A, Zhao M, Rydel T, Gould E. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* 2001; 410: 372-6.
- 140- Shors TJ, Townsend DA, Zhao M, Kozorovitskiy Y, Gould E. Neurogenesis may relate to some but not all types of hippocampal-dependent learning. *Hippocampus* 2002; 12: 578-84.
- 141- Snyder JS, Hong NS, McDonald RJ, Wojtowicz JM. A role for adult neurogenesis in spatial long-term memory. *Neuroscience* 2005; 130: 843-52.
- 142- Saxe MD, Battaglia F, Wang J, Malleret G, David DJ, Monckton JE, Garcia ADR, Sofroniew MV, Kandel ER, Santarelli L, Hen R, Drew MR. Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 17501-6.
- 143- Winocur G, Wojtowicz JM, Sekeres M, Snyder JS, Wang S. Inhibition of neurogenesis interferes with hippocampus-dependent memory function. *Hippocampus* 2006; 16: 296-304.
- 144- Henn FA, Vollmayr B. Neurogenesis and depression: etiology or epiphenomenon? *Biol Psychiatry* 2004b; 56:146–50.
- 145- Sapolsky RM. Is impaired neurogenesis relevant to the affective symptoms of depression? *Biol Psychiatry* 2004; 56:137–9.

- 146- Sahay A, Hen R. Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nat Neurosci* 2007; 10: 1110-5.
- 147- Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LA, Fuchs E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial *stress* and NMDA receptor activation. *J Neurosci* 1997; 17: 2492–8.
- 148- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000; 20: 9104 –10.
- 149- Manev H, Uz T, Smalheiser NR, Manev R. Antidepressants alter cell proliferation in the adult brain in vivo and in neural cultures in vitro. *Eur J Pharmacol* 2001; 411:67–70.
- 150- Nakagawa S, Kim JE, Lee R, Malberg JE, Chen J, Steffen C, et al. Regulation of neurogenesis in adult mouse hippocampus by cAMP and the cAMP response element-binding protein. *J Neurosci* 2002; 22:3673–82.
- 151- Madsen TM, Treschow A, Bengzon J, Bolwig TG, Lindvall O, Tingstrom A. Increased neurogenesis in a model of electroconvulsive therapy. *Biol Psychiatry* 2000; 47(12):1043-9.
- 152- Hellsten J, Wennstrom M, Mohapel P, Ekdahl CT, Bengzon J, Tingstrom A. Electroconvulsive seizures increase hippocampal neurogenesis after chronic corticosterone treatment. *Eur J Neurosci* 2002; 16 Suppl 2:283-90.
- 153- Malberg JE. Adult hippocampal neurogenesis and depression. *Rev Psychiatr Neurosci* 2004; 29 Suppl 3: 196-205
- 154- Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23:238-45.
- 155- Malberg JE, Duman RS. Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable *stress*: reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology* 2003; 28:1562-71.
- 156- Surget A, Saxe M, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Chalon S, Griebel G, Hen R, Belzung C. Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psychiatry* 2008; 64:293–301.
- 157- Manji HK, Potter WC, Lenox RH. Signal transduction pathways. *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52: 531–43.

- 158- Nestler EJ, Duman RS. G-Proteins and cyclic nucleotides in the nervous system. In: Siegel G, Agranoff B, Albers RW, Molinoff P. editors. Basic Neurochemistry. 5th edition. New York: Raven; 1994. p. 429–48.
- 159- Duman RS, Nestler EJ. Signal transduction pathways for catecholamine receptors. In: Meltzer H. editors. Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress. New York: Raven, 1995. p. 303–20.
- 160- Perez J, Tinelli D, Brunello N, Racagni G. cAMP-dependent phosphorylation of soluble and crude microtubule fractions of rat cerebral cortex after prolonged desmethylimipramine treatment. Eur J Pharmacol 1989; 172: 305–16.
- 161- Nibuya M, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. J Neurosci 1996; 16: 2365-72.
- 162- Walker WH, Fucci L, Habener JF. Expression of the gene encoding transcription factor cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP) response element-binding protein (CREB): regulation by follicle stimulating hormone induced cAMP signaling in primary rat Sertoli cells. Endocrinology 1995; 136: 3534–45.
- 163- Lee KAW, Masson N. Transcriptional regulation by CREB and its relatives. Biochim Biophys Acta 1993; 1174: 221–33.
- 164- Dowlatsahi D, Macqueen GM, Wang JF, Young LT. Increased temporal cortex CREB concentrations and antidepressant treatment in major depression. Lancet 1998; 352: 1754-5.
- 165- Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for *stress*-related mood disorders. Biol Psychiatry 2006; 59: 1116–27.
- 166- Chen B, Dowlatsahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. Biol Psychiatry 2001; 50:260-5.
- 167- Kempermann G, Kronenberg G. Depressed new neurons?-Adult hippocampal neurogenesis and a cellular plasticity hypothesis of major depression (Neuroscience Perspectives). Biol Psychiatry 2003; 54:499-503.

- 168- Newton SS, Collier EF, Hunsberger J, Adams D, Terwilliger R, Selvanayagam E, Duman RS. Gene profile of electroconvulsive seizures: induction of neurotrophic and angiogenic factors. *J Neurosci* 2003; 23: 10841-51.
- 169- Altar CA, Laeng P, Jurata LW, Brockman JÁ, Lemire A, Bullard J, Bukhman YV, Young TA, Charles V, Palfreyman MG. Electroconvulsive seizures regulate gene expression of distinct neurotrophic signaling pathways. *J Neurosci* 2004; 24: 2667-77.
- 170- Altar CA, Whitehead RE, Chen R, Wortwein G, Madsen TM. Effects of electroconvulsive seizures and antidepressant drugs on brain-derived neurotrophic factor protein in rat brain. *Biol Psychiatry* 2003; 54: 703-9.
- 171- Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. Regulation of BDNF and trkB in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatment. *J Neurosci* 1995; 15: 7539-47.
- 172- Jacobsen JP, Mork A. The effect of escitalopram, desipramine, electroconvulsive seizures and lithium on brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the rat brain and the correlation to 5-HT and 5-HIAA levels. *Brain Res* 2004; 1024: 183-92.
- 173- Siuciak JA, Lewis DR, Wiegand SJ, Lindsay RM. Antidepressant-like effect of brain derived neurotrophic factor. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 56: 131-7.
- 174- Sklair-Tavron L, Nestler EJ. Opposing effects of morphine and the neurotrophins, NT-3, NT-4 and BDNF, on locus coeruleus neurons in vitro. *Brain Res* 1995; 702: 117-25.
- 175- Mamounas LA, Blue ME, Siuciak JA, Anthony AC. BDNF promotes the survival and sprouting of serotonergic axons in the rat brain. *J Neurosci* 1995; 15: 7929-39.
- 176- Hellewell SB, Bowen WD. A sigma-like binding site in rat pheochromocytoma (PC12) cells: decreased affinity for (+)- benzomorphans and lower molecular weight suggest a different sigma receptor form from that of guinea pig brain. *Brain Res* 1990; 527: 244-53.
- 177- Gundlach AL, Largent BL, Snyder SH. Autoradiographic localization of sigma receptor binding sites in guinea pig and rat central nervous system with (+)3H-3-(3-hydroxyphenyl)-N-(1-propyl) piperidine. *J Neurosci* 1986; 6: 1757-70.
- 178- Largent BL, Gundlach AL, Snyder SH. Pharmacological and autoradiographic discrimination of sigma and phencyclidine receptor binding sites in brain with (+)-[3H]SKF 10,047, (+)-[3H]-

- 3-[3-hydroxyphenyl]-N-(1-propyl)piperidine and [3H]-1-[1-(2-hienyl)cyclohexyl]piperidine. *J Pharmacol Exp Therap* 1986; 238: 739-48.
- 179- Largent BL, Gundlach AL, Snyder SH. Sigma receptors on NCB-20 hybrid neurotumor cells labeled with (+)[3H]SKF 10,047 and (+)[3H]3-PPP. *Eur J Pharmacol* 1986; 124: 183-7.
- 180- Quirion R, Bowen WD, Itzhak Y, Junien JL, Musacchio JM, Rothman RB, Su TP, Tam SW, Taylor DP. A proposal for the classification of sigma binding sites. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 3: 85-6.
- 181- Su TP. Evidence for sigma opioid receptor: binding of [3H]SKF-10047 to etorphine-inaccessible sites in guinea-pig brain. *J Pharmacol Exp Therap* 1982; 223: 284-90.
- 182- Tam SW. (+)-[3H]SKF 10,047, (+)-[3H]ethylketocyclazocine, mu, kappa, delta and phencyclidine binding sites in guinea pig brain membranes. *Eur J Pharmacol* 1985; 109: 33-41.
- 183- Vaupel DB. Naltrexone fails to antagonize the sigma effects of PCP and SKF 10,047 in the dog. *Eur J Pharmacol* 1983; 92: 269-74.
- 184- Hayashi T, Su TP. Sigma-1 receptor ligands: potential in the treatment of neuropsychiatric disorders. *CNS Drugs* 2004; 18: 269- 84.
- 185- Hayashi T, Su TP. Sigma-1 receptors at galactosylceramide- enriched lipid microdomains regulate oligodendrocyte differentiation. *Proc Nat Acad Sci USA* 2004; 101: 14949-54.
- 186- Takebayashi M, Hayashi T, Su TP. Nerve growth factor-induced neurite sprouting in PC12 cells involves sigma-1 receptors: implications for antidepressants. *J Pharmacol Exp Therap* 2002; 303: 1227-37.
- 187- Takebayashi M, Hayashi T, Su TP. Sigma-1 receptors potentiate epidermal growth factor signaling towards neuriteogenesis in PC12 cells: potential relation to lipid raft reconstitution. *Synapse* 2004; 53: 90-103.
- 188- Narita N, Hashimoto K, Tomitaka S, Minabe Y. Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with subtypes of sigma receptors in rat brain. *Eur J Pharmacol* 1996; 307: 117-9.
- 189- Kaplan DR, Miller FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 2000; 10:381-91.

190- Vaidya VA, Duman RS. Depression – emerging insights from neurobiology. Br Med Bull
2001; 57: 61–79.