



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

DANIEL MOREIRA ALVES DA SILVA

**ATIVIDADE DO CELECOXIBE EM MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO:
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS, INFLAMATÓRIOS,
OXIDATIVOS E REPERCUSSÕES EM ASTRÓCITOS E CÉLULAS PC12**

FORTALEZA, CE

2025

DANIEL MOREIRA ALVES DA SILVA

ATIVIDADE DO CELECOXIBE EM MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO:
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS, INFLAMATÓRIOS,
OXIDATIVOS E REPERCUSSÕES EM ASTRÓCITOS E CÉLULAS PC12

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Farmacologia.
Área de concentração:
Neuropsicofarmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa

Florenço de Sousa

Coorientador: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio

FORTALEZA, CE

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S579a Silva, Daniel Moreira Alves da.

Atividade do celecoxibe em modelo de neuroinflamação: avaliação de parâmetros comportamentais, inflamatórios, oxidativos e repercussões em astrócitos e células PC12 / Daniel Moreira Alves da Silva. – 2025.
182 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Francisca Cléa Florenço de Sousa.
Coorientação: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio.

1. Neuroinflamação. 2. Depressão. 3. Ansiedade. 4. Astrócitos. 5. Celecoxibe. I. Título.

CDD 615.1

DANIEL MOREIRA ALVES DA SILVA

ATIVIDADE DO CELECOXIBE EM MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO:
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS, INFLAMATÓRIOS,
OXIDATIVOS E REPERCUSSÕES EM ASTRÓCITOS E CÉLULAS PC12

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Farmacologia.
Área de concentração:
Neuropsicofarmacologia.

Aprovada em: 12 / 06 / 2025

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Janaína Serra Azul Monteiro Evangelista
Universidade Estadual do Ceará

Profa. Dra. Giovanna Riello Barbosa Correia
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Mariana Lima Vale
Universidade Federal do Ceará

Dra. Cristhyane Costa de Aquino

A Deus.
Aos meus pais, Naima e Airton.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo presente que é viver, pela proteção, pela sabedoria diária e por cada conquista e graça alcançada.

Aos meus pais, Naima e Airton, por serem meu principal exemplo de amor e cuidado. Durante toda a trajetória, suas orações, apoio e conselhos foram essenciais em cada tomada de decisão e desafio enfrentado. Não consigo traduzir em palavras o amor que sinto por vocês.

Ao meu irmão, Samuel, pela parceria e cuidado desde a infância. Sua presença e apoio continuam sendo fundamentais. Às minhas tias Anísia e Terezinha, ao meu tio Flávio e meu primo Lucas, assim como os demais membros da família.

Ao João Victor, pela amizade, parceria e por estar presente em muitos momentos importantes da minha vida. Seu apoio e escuta foram essenciais durante toda essa trajetória. Sou muito grato a Deus por ter me presenteado com sua amizade.

Aos meus amigos Ellyelson Américo, Juliana Monteiro, Rúbia Tôrres e Flávia Ribeiro, que, mesmo à distância, estiveram presentes e apoiaram cada fase desta jornada acadêmica.

À Luciana de Vasconcelos, Dulce Maria, Manoela Rebouças e Tiago Valentim, pela amizade de anos, apoio mútuo e parceria em diversos momentos essenciais dessa caminhada.

Aos amigos que a Neurofarmacologia trouxe para minha vida — e que permanecem muito além dos muros do laboratório: Iardja Stéfane, Larice Carvalho, Sheila Mara, Pedro Everson, Michele Jales, Victor Celso, Layla Alves e Raica Candeias.

À Jéssica Sales, Jéssica Pereira, Emanuel Victor, Ariadna Viana, Marisa Perdigão e Bárbara Colares, pela amizade e parceria.

À Sylvana Macêdo e Bruna Martins, pela confiança depositada em mim e por terem guiado e lapidado minha formação profissional inicial.

Aos amigos que a farmácia hospitalar me deu — e que continuam presentes em minha vida: Carlos Eduardo, Karinne Felício, Wallison Barbosa, Thiago Oliveira e Karynne Miranda.

Ao Emanuel Magalhães e à Izabell Teixeira, pela parceria na construção desta tese, em especial por todo o auxílio prestado nos experimentos relacionados ao cultivo celular.

À minha orientadora, Cléa Florenço, pela amizade, compreensão, parceria, escuta e apoio incondicional durante toda a minha trajetória acadêmica. Sou muito grato pela formação e pela confiança depositada.

Ao meu coorientador, Tiago Sampaio, pela abertura de seu laboratório e orientação. Agradeço por permitir enriquecer esta tese com sua expertise.

Aos membros desta banca — Cristhyane Costa, Janaína Serra Azul, Giovanna Riello e Mariana Vale — pelo aceite e pelas ricas contribuições no aperfeiçoamento deste trabalho.

À Universidade Federal do Ceará, minha *alma mater*, que faz parte da minha vida desde a graduação, pela qual sou extremamente grato por proporcionar crescimento profissional e pessoal, além de me permitir conhecer pessoas incríveis que fizeram — e fazem — parte da minha história de vida.

Aos membros do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, em especial à Laura Alves.

Às agências de fomento, em especial à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

A todas as demais pessoas não citadas aqui, mas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a construção da minha jornada: o meu muito obrigado.

“É justo que muito custe o que muito vale”.

Santa Teresa D'Ávila

RESUMO

A depressão e ansiedade são amplamente reconhecidas como alguns dos problemas de saúde mental mais urgentes. A neuroinflamação, seus marcadores de estresse oxidativo e o papel de células do sistema nervoso central (SNC) são personagens importantes na etiologia das doenças neuropsiquiátricas. Nessa perspectiva, emerge a busca por novos candidatos para a farmacoterapia através de um posicionamento de drogas já bem caracterizadas. Assim, surge o celecoxibe (CLX) como droga promissora já que estudos clínicos vêm demonstrando eficácia em seu uso no tratamento de doenças psiquiátricas, sem definir os mecanismos envolvidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do CLX sobre comportamentos, parâmetros inflamatórios, oxidativos e alterações celulares em modelos experimentais de neuroinflamação induzida por LPS. Foram utilizados camundongos C57BL/6 expostos por 10 dias a injeções intraperitoneais de LPS 0,5 mg/kg e tratados por via oral com CLX 20 mg/kg ou escitalopram 10 mg/kg do 6º ao 10º dia. Foram realizados testes comportamentais de avaliação da atividade locomotora (campo aberto), preditivos de comportando tipo-depressivo (nado forçado, preferência por sacarose, *splash test*), tipo-ansioso (placa perfurada, labirinto em cruz elevada) e avaliação da memória (labirinto em Y). Foram mensuradas IL-1 β , IL-6, TNF e marcadores de estresse oxidativo (nitrito, TBARS e GSH) no hipocampo e córtex pré-frontal. Nos ensaios *in vitro*, astrócitos e células PC12 foram desafiadas por LPS 50 μ g/ml e tratadas com CLX 62,5 e 31,2 μ g/mL. Foram realizadas avaliações de viabilidade por redução do MTT, dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio e Anexina V, de alterações morfológicas por meio de microscopia eletrônica de varredura, da produção de espécies reativas de oxigênio (ensaio com DCF) e do potencial transmembrânico mitocondrial (ensaio com Rodamina). Os resultados mostraram que CLX proporcionou melhora neurocomportamental, diminuição de espécies reativas de oxigênio (EROs) e neuroinflamação. CLX reduziu a morte astrócitos e células PC12, assim como reverteu alterações morfológicas promovidas por LPS. CLX reverteu a disfunção mitocondrial de astrócitos e diminuiu a produção de EROs em ambos os tipos celulares. Dessa forma, as repercussões neurocomportamentais e celulares da neuroinflamação e mecanismos de atuação do CLX foram melhor compreendidas, apontando um caminho promissor para a droga no tratamento dos transtornos de humor.

Palavras-chave: Neuroinflamação; Depressão; Ansiedade; Astrócitos; Células PC12; Celecoxibe.

ABSTRACT

CELECOXIB ACTIVITY IN A NEUROINFLAMMATION MODEL: EVALUATION OF BEHAVIORAL, INFLAMMATORY, OXIDATIVE PARAMETERS AND REPERCUSSIONS IN ASTROCYTES AND PC12 CELLS

Depression and anxiety are widely recognized as some of the most urgent mental health problems. Neuroinflammation, its oxidative stress markers, and the role of central nervous system (CNS) cells are important factors in the etiology of neuropsychiatric diseases. From this perspective, the search for new candidates for pharmacotherapy emerges through the repositioning of already well-characterized drugs. Thus, celecoxib (CLX) appears as a promising drug, as clinical studies have demonstrated its efficacy in the treatment of psychiatric disorders, although the mechanisms involved have not been defined. The objective of this work was to evaluate the effects of CLX on behavior, inflammatory and oxidative parameters, and cellular alterations in experimental models of LPS-induced neuroinflammation. C57BL/6 mice were exposed for 10 days to intraperitoneal injections of LPS 0.5 mg/kg and treated orally with CLX 20 mg/kg or escitalopram 10 mg/kg from the 6th to the 10th day. Behavioral tests were performed to assess locomotor activity (open field), predictive of depression-like behavior (forced swim, sucrose preference, splash test), anxiety-like behavior (hole board, elevated plus maze), and memory assessment (Y-maze). IL-1 β , IL-6, TNF, and oxidative stress markers (nitrite, TBARS, and GSH) were measured in the hippocampus and prefrontal cortex. In vitro assays, astrocytes and PC12 cells were challenged with LPS 50 μ g/mL and treated with CLX 62.5 and 31.2 μ g/mL. Viability was assessed by MTT reduction, mechanisms of cell death by Propidium Iodide and Annexin V staining, morphological alterations by scanning electron microscopy, production of reactive oxygen species (DCF assay), and mitochondrial membrane potential (Rhodamine assay). The results showed that CLX provided neurobehavioral improvement, reduction of reactive oxygen species (ROS), and neuroinflammation. CLX reduced astrocyte and PC12 cell death, as well as reversed morphological alterations induced by LPS. CLX also reversed mitochondrial dysfunction in astrocytes and decreased ROS production in both cell types. Therefore, the neurobehavioral and cellular repercussions of neuroinflammation and the mechanisms of CLX action were better understood, indicating a promising pathway for this drug in the treatment of mood disorders.

Keywords: Neuroinflammation; Depression; Anxiety; Astrocytes; PC12 Cells; Celecoxib.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Dados epidemiológicos do transtorno depressivo segundo a OMS	25
Figura 2 - Teorias mais aceitas sobre a fisiopatologia da depressão	28
Figura 3 - Principais agentes antidepressivos e ansiolíticos	35
Figura 4 - Mecanismos e consequências da neuroinflamação desencadeada por inflamação periférica	39
Figura 5 - Principais citocinas pró-inflamatórias relacionadas aos transtornos de humor e suas características	43
Figura 6 - Representação simplificada da estrutura do lipopolissacárido de bactérias Gram-negativas	46
Figura 7 - Representação meramente ilustrativa da morfologia de um neurônio (A) e astrócito (B) humanos que compõem o Sistema Nervoso Central	50
Figura 8 - Relações entre a mitocôndria, suas funções e transtornos do Sistema Nervoso Central	52
Figura 9 - Estrutura química do celecoxibe	54
Figura 10 - Delineamento experimental	63
Figura 11 - Teste do campo aberto	65
Figura 12 - Teste do nado forçado	66
Figura 13 - Teste da preferência por sacarose	68
Figura 14 - Teste do respingo ou <i>splash test</i>	70
Figura 15 - Teste da placa perfurada	71
Figura 16 - Teste do labirinto em cruz elevada	73
Figura 17 - Teste do labirinto em Y	74

Figura 18 - interpretação das marcações Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax) no contexto da morte celular	78
Figura 19 - Princípio do método de avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax)	80
Figura 20 - Princípio da avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial por detecção de Rho123	83
Figura 21 - Efeitos da exposição ao LPS e administração das drogas testes sobre a variação ponderal em camundongos	85
Figura 22 – Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de cruzamentos (<i>crossings</i>) (A) e o número de levantamentos verticais (<i>rearing</i>) (B) em camundongos expostos ao LPS	87
Figura 23 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o (A) número de entradas na zona central; (B) tempo na zona central e (C) distância percorrida na zona central em camundongos expostos ao LPS	88
Figura 24 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o (A) número de entradas na zona periférica e o (B) tempo na zona periférica em camundongos expostos ao LPS	89
Figura 25 – Trajeto dos animais (A) e mapa de calor (B) durante o teste nos tempos de 5, 10 e 15 segundos	90
Figura 26 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos expostos ao LPS	91
Figura 27 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a preferência por sacarose em camundongos expostos ao LPS	92
Figura 28 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o tempo e frequência de <i>grooming</i> no <i>splash test</i> em camundongos expostos ao LPS	94
Figura 29 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de <i>head dips</i> no teste da placa perfurada em camundongos expostos ao LPS	95
Figura 30 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o padrão exploratório no teste do labirinto em cruz elevada em camundongos expostos ao LPS	96
Figura 31 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de alternâncias corretas no teste do labirinto em Y em camundongos expostos ao LPS	97

Figura 32 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de nitrito (μ M/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	98
Figura 33 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (μ g/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	100
Figura 34 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de glutatona reduzida (GSH) (μ g/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	101
Figura 35 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de Interleucina-1 beta (IL-1 β) (pg/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	102
Figura 36 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de Interleucina-6 (IL-6) (pg/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	104
Figura 37 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração do Fator de Necrose Tumoral (TNF) (pg/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	105
Figura 38 - Ensaio de viabilidade celular de redução do MTT em astrócitos e PC12 tratados com celecoxibe (μ g/mL) por 12h em diferentes concentrações	106
Figura 39 - Avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax) em astrócitos e células PC12 desafiados por LPS e tratadas com celecoxibe	109
Figura 40 - Visualização de alterações morfológicas em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe	112
Figura 41 - Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio por fluorescência de DCF em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe	114
Figura 42 - Histogramas representativos dos ensaios com DCF avaliando a produção de espécies reativas de oxigênio em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe	115
Figura 43 - Avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe	116

Figura 44 - Histogramas representativos dos ensaios com Rho123 avaliando o potencial transmembrânico mitocondrial em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe 118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparativo entre os diagnósticos de TAG e TDM conforme DSM-5 ...	27
Tabela 2 - Resumo dos resultados obtidos após tratamento com celecoxibe e escitalopram em animais submetidos a um modelo de neuroinflamação por exposição ao LPS	139
Tabela 3 - Resumo dos principais resultados obtidos após tratamento com celecoxibe em células submetidas a um modelo de neuroinflamação por exposição ao LPS	141

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina
5-HT2	Receptores da serotonina tipo 2
ATC	Antidepressivos tricíclicos
ATP	Adenosina Trifosfato
AVC	Acidente vascular cerebral
Ax	Anexina V
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BHE	Barreira hemato-encefálica
CD14	Cluster de diferenciação quatorze
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
GCL	Glutamato-cisteína ligase
CLX	Celecoxibe
COVID-19	<i>Coronavírus Disease 2019</i>
COX-1	Ciclo-oxigenase-1
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
CPF	Côrtex pré-frontal
DA	Dopamina
DCF	Diclorofluoresceína
DCFH	Diclorodihidrofluoresceína
DCFH-DA	2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DSM-5	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico)
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ERO	Espécies reativas de oxigênio

ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
ESC	Escitalopram
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
FL	Fluorescência
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GDNF	Fator neurotrófico derivado de células gliais
GSH	Glutationa reduzida
HP	Hipocampo
HO-1	Heme oxigenase-1
HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-1ra	Receptor de interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMAO	Inibidor da monoamina oxidase
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
i.p.	Intraperitoneal
IRSN	Inibidor da recaptação da serotonina-norepinefrina
ISRS	Inibidor seletivo da recaptação da serotonina
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LBFBC	Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica
LBP	Proteína de Ligação ao Lipopolissacarídeo
LPS	Lipopolissacarídeo
MD-2	<i>Myeloid Differentiation factor 2</i>
MDA	Malondialdeído
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
MyD88	<i>Myeloid differentiation primary response 88</i>

NA	Noradrenalina
NEBA	Número de entradas nos braços abertos
NEBF	Número de entradas nos braços fechados
NF-κβ	Fator Nuclear kappa B
NGF	Fator de crescimento nervoso
NLRP3	<i>NOD-like receptor family, pyrin domain containing three</i>
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NRF2	Fator nuclear relacionado ao fator eritroide 2
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PC12	Célula de Feocromocitoma
PEBA	Percentual de Entradas nos Braços Abertos
PCR	Proteína C reativa
PGE2	Prostaglandina E2
PGI ₂	Prostaglandina I ₂
pH	Potencial de Hidrogênio
PI	Iodeto de propídio
PTBA	Percentual de Tempo nos Braços Abertos
RNS	Espécies reativas de nitrogênio
Rho123	Rodamina 123
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SAL	Solução salina
SNC	Sistema Nervoso Central
TAG	Transtorno de Ansiedade Generalizada
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético

TDM	Transtorno Depressivo Maior
TLR4	Toll-like 4
TNF	Fator de necrose tumoral
TOC	Transtorno obsessivo-compulsivo
TPBA	Tempo de permanência nos braços abertos
TPBF	Tempo de permanência nos braços fechados
TrkB	Quinase do receptor de tropomiosina B
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
v.o.	Via oral
WFSBP	Federação Mundial das Sociedades de Psiquiatria Biológica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 REFERENCIAL TEÓRICO	25
2.1 Aspectos gerais do transtorno depressivo maior (TDM) e do transtorno de ansiedade generalizada (TAG)	25
2.2 As bases neurobiológicas da depressão e da ansiedade: um olhar sobre as teorias	32
2.3 A farmacoterapia disponível para os transtornos de humor: das primeiras drogas às novas perspectivas	32
2.4 O papel da neuroinflamação e do estresse oxidativo nos transtornos de humor	37
2.5 O lipopolissacarídeo (LPS) na neuroinflamação: seu papel na ativação do sistema imunológico e nos modelos de transtorno de humor	46
2.6 O papel das células do Sistema Nervoso Central nos transtornos de humor: destaque para os neurônios e astrócitos	48
2.7 Disfunções mitocondriais sob o cenário dos transtornos de humor: perspectivas neurobiológicas e funcionais	51
2.8 A ciclooxygenase-2 e sua interface com os transtornos de humor de etiologia neuroinflamatória: o protagonismo do celecoxibe	57
3 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	57
4 OBJETIVOS	59
4.1 Objetivo geral	59
4.2 Objetivos específicos	59
5 MATERIAIS E MÉTODOS	61
5.1 Ensaio in vivo	61
5.1.1 <i>Animais utilizados</i>	61
5.1.1 <i>Substâncias utilizadas</i>	61
5.1.3 <i>Delineamento experimental</i>	62
5.1.4 <i>Eutanásia e dissecação das áreas cerebrais</i>	63
5.1.5 <i>Análise ponderal</i>	63

5.1.6 Testes comportamentais para avaliação da locomoção e exploração	64
5.1.6.1 Teste do campo aberto	64
5.1.7 Testes comportamentais para avaliação de comportamentos tipo-depressivos ..	65
5.1.7.1 Teste do nado forçado	65
5.1.7.2 Teste da preferência por sacarose	67
5.1.7.3 Teste do respingo ou splash test	69
5.1.8 Testes comportamentais para avaliação de comportamentos tipo-ansiosos ..	70
5.1.8.1 Teste da placa perfurada	70
5.1.8.2 Teste do labirinto em cruz elevada	72
5.1.9 Teste comportamental para avaliação de memória	73
5.1.9.1 Teste do labirinto em Y	73
5.1.10 Testes para avaliação de marcadores do estresse oxidativo e nitrosativo	74
5.1.10.1 Determinação da concentração de nitrito	74
5.1.10.2 Determinação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	75
5.1.10.3 Determinação da concentração de glutationa reduzida (GSH)	76
5.1.11 Determinação das concentrações de citocinas pró-inflamatórias	76
5.2 Ensaios <i>in vitro</i>	77
5.2.1 Substâncias e diluições utilizadas	77
5.2.2 Células utilizadas	77
5.2.3 Ensaio de viabilidade por redução do MTT	78
5.2.4 Avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax)	78
5.2.5 Visualização de alterações morfológicas e estruturais por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV)	81
5.2.6 Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio por fluorescência de DCF	81
5.2.7 Avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial por detecção de Rodamina 123 (Rho123)	82
5.3 Análise estatística	84

6 RESULTADOS	85
6.1 Testes <i>in vivo</i>	85
6.1.1 Acompanhamento ponderal dos animais durante protocolo experimental	85
6.1.2 Teste de avaliação da locomoção e exploração	86
6.1.2.1 Teste do campo aberto	86
6.1.3 Testes preditivos de comportamento tipo-depressivo	91
6.1.3.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos expostos ao LPS	91
6.1.3.2 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a preferência por sacarose em camundongos expostos ao LPS	92
6.1.3.3 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o splash test em camundongos expostos ao LPS	93
6.1.4 Testes preditivos de comportamento tipo-ansioso	94
6.1.4.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de head dips no teste da placa perfurada em camundongos expostos ao LPS	94
6.1.4.2 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o padrão exploratório no teste do labirinto em cruz elevada em camundongos expostos ao LPS	95
6.1.5 Teste de avaliação de memória	97
6.1.5.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de alternâncias corretas no teste do labirinto em Y em camundongos expostos ao LPS	97
6.1.6 Avaliação de marcadores do estresse oxidativo e nitrosativo	98
6.1.6.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de nitrito no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	98
6.1.6.2 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	99
6.1.6.3 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de glutationa reduzida (GSH) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS	100
6.1.7 Avaliação de citocinas pró-inflamatórias	102

<i>6.1.7.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de Interleucina-1 beta (IL-1β) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS</i>	102
<i>6.1.7.2 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de Interleucina-6 (IL-6) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS</i>	103
<i>6.1.7.3 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração do Fator de Necrose Tumoral (TNF) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS</i>	104
6.2 Testes <i>in vitro</i>	106
<i>6.2.1 Ensaio de viabilidade por redução do MTT em células tratadas com celecoxibe</i>	106
<i>6.2.2 Avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax) em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe</i>	107
<i>6.2.3 Visualização de alterações morfológicas em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe</i>	110
<i>6.2.4 Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio por fluorescência de DCF em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe</i>	113
<i>6.2.5 Avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe</i>	116
7 DISCUSSÃO	119
8 CONCLUSÕES	139
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	143
REFERÊNCIAS	144
ANEXO A	181

1 INTRODUÇÃO

Dentre os transtornos de humor que mais acometem o mundo, a depressão e a ansiedade se destacam como os mais prevalentes e, portanto, geram as consequências mais graves à saúde pública global (FAN *et al.*, 2025).

Muitos tratamentos para os transtornos mencionados estão disponíveis no mercado. Avanços recentes são observados, como por exemplo, o uso de cetamina com efeitos rápidos na depressão refratária (ANAND *et al.*, 2023) ou até mesmo a manipulação da microbiota humana para fins terapêuticos (GARZONE *et al.*, 2025).

De fato, o avanço da ciência na farmacoterapia de doenças que envolvem o Sistema Nervoso Central (SNC) tem contemplado e melhorado a vida de milhões de pessoas ao redor do mundo. Porém, apesar de todos os esforços, aproximadamente 30% dos pacientes com depressão ainda preenchem critérios para depressão resistente ao tratamento (MCINTYRE *et al.*, 2023) e 13,7% dos pacientes que sofrem de ansiedade retornam para novos tratamentos em até cinco anos (LORIMER *et al.*, 2023).

Tentar ultrapassar as novas fronteiras do conhecimento acerca dos transtornos que envolvem o SNC parece ser um objetivo comum entre farmacologistas e neurocientistas que se debruçam em explorar as teorias mais recentes da depressão e ansiedade, como a teoria neuroinflamatória.

Sabe-se que a inflamação se comporta como um agente que participa da etiologia de várias doenças (ASSLIH; DAMRI; AGAM, 2021), sendo um denominador comum quando se busca formas de modular ou suprimir suas ações exacerbadas. Assim, compreender melhor como a neuroinflamação (e todos os seus protagonistas moleculares) geram repercussões patológicas ao SNC parece ser uma das chaves para avançar no tratamento da depressão e ansiedade.

Diante de tudo isso, como superar o desafio da refratariedade ao tratamento pela exploração da teoria inflamatória? Como desenvolver novas drogas assertivas e menos dispendiosas em uma cadeia de produção que exige anos de empenho e financiamentos bilionários? Perguntas como essas instigam pesquisadores do mundo inteiro e não poderia ser diferente no Laboratório de Neuropsicofarmacologia da Universidade Federal do Ceará. Em 2024, publicamos um estudo que deu o pontapé inicial para a presente tese de doutorado: um screening dos efeitos de dois inibidores seletivos da enzima ciclooxygenase-2: o celecoxibe e o etoricoxibe em um modelo de neuroinflamação (SILVA *et al.*, 2024).

Os resultados promissores obtidos no estudo, o crescente número de ensaios clínicos que utilizam anti-inflamatórios para tratamento de doenças ligadas ao SNC (GONG *et al.*, 2025) e a possibilidade de reposicionar um medicamento já existente, resultaram na necessidade de continuar as pesquisas com esse tema.

A presente tese de doutorado possui como um dos objetivos aprimorar a compreensão das repercussões da neuroinflamação e do tratamento com celecoxibe nesse contexto. Para isso, foram avaliados comportamentos tipo-depressivos e ansiosos, mensurados parâmetros inflamatórios e oxidativos, além de destacar as avaliações dos impactos nos astrócitos e células semelhantes aos neurônios, incluindo suas organelas, como as mitocôndrias.

Desta forma, os próximos tópicos trazem um rico referencial teórico para embasar as metodologias, resultados e discussões obtidos neste trabalho. O conjunto de todos os objetos aqui elencados ratifica a relevância de estudar um tema tão contemporâneo, cujas perspectivas ainda precisam ser conhecidas.

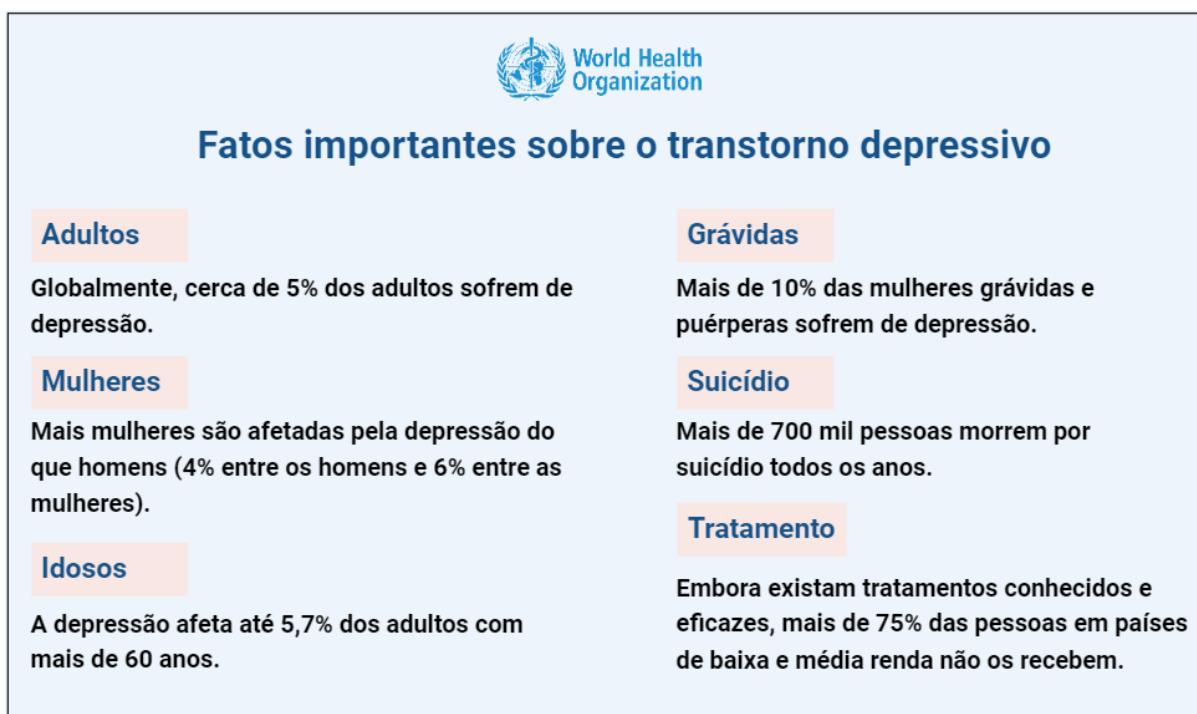
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais do transtorno depressivo maior (TDM) e do transtorno de ansiedade generalizada (TAG)

O transtorno depressivo maior (TDM) é amplamente reconhecido como um dos problemas de saúde mental mais urgentes na maioria dos países. O número de casos no mundo inteiro aumentou quase 50% nos últimos 30 anos e mais de 264 milhões de pessoas de todas as idades possuem a doença atualmente (LIU; HE; YANG; FENG; ZHAO; LYU, 2020).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a depressão é uma das principais causas de incapacidade física e mental no mundo, um dos principais contribuintes para a carga global de doenças, sendo que 5% dos adultos sofrem da doença (OMS, 2023). Além disso, gera impactos significativos na economia, os custos econômicos só nos Estados Unidos - país que possui dados mais claros - aumentaram 48% nos últimos 10 anos e agora ultrapassam os 325 mil milhões de dólares por ano (GREENBERG *et al.*, 2021). A figura 1 traz dados importantes sobre a doença reunidos pela OMS.

Figura 1 - Dados epidemiológicos do transtorno depressivo segundo a OMS



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) e dados adaptados da Organização Mundial da Saúde. Dados disponíveis em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em: 23 fev. 2024.

Os critérios clínicos de diagnóstico do TDM são definidos pelo Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) como um conjunto de sintomas somáticos e não somáticos, como insônia, alteração no apetite, retardo psicomotor, ideação suicida, anedonia ou sentimentos deprimidos de inutilidade que levam ao comprometimento funcional por pelo menos duas semanas (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Ignorar sintomas depressivos pode levar a alta mortalidade, uma vez que, a depressão está altamente associada à maioria dos suicídios, considerada até a segunda principal causa de morte entre adolescentes (SHOREY; NG; WONG, 2021).

Já o transtorno de ansiedade generalizada (TAG) é o transtorno de ansiedade mais frequente, afetando cerca de 5% dos adultos. Os indivíduos com TAG vivenciam um estado constante de preocupação e ansiedade na maioria dos dias, desproporcional aos estressores de sua vida, os transtornos de ansiedade não apenas criam um gasto econômico significativo ao diminuir a produtividade no trabalho, mas também impactam os próprios serviços de saúde, por elevarem os custos de tratamento psiquiátrico (HUH *et al.*, 2011).

O TAG e TDM são doenças prevalentes e debilitantes que frequentemente coexistem (SAHA *et al.*, 2020). Em casos graves, o TAG pode estar associado a sintomas incapacitantes, prejuízo social e ocupacional e até aumento do risco de suicídio, além de apresentar taxas baixas de resposta ao tratamento (REMES *et al.*, 2018). Sabe-se que em pacientes com um episódio depressivo maior, os sintomas coexistentes de ansiedade aumentam a gravidade da depressão, pioram o comprometimento funcional, reduzem a qualidade de vida e aumentam a carga econômica (CULPEPPER, 2016).

Além disso, os dois transtornos sempre levaram preocupações na saúde pública e durante a recente pandemia de COVID-19 (*Coronavírus Disease 2019*) provocada pelo vírus SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) a prevalência de depressão e ansiedade aumentou significativamente (ZHU *et al.*, 2022). As relevantes medidas de saúde pública adotadas, estresse e medo atingiram a vida de pessoas, sendo evidente que os efeitos psicológicos da pandemia afetaram a saúde mental, inclusive de crianças e adolescentes, podendo ter repercussões no futuro (MEHERALI *et al.*, 2021).

Existem ainda grandes desafios no tratamento desses transtornos, principalmente na depressão associada à ansiedade, porque embora existam tratamentos eficazes, muitos pacientes não respondem, são incapazes de tolerá-los ou apresentam sintomas de descontinuação quando o tratamento é interrompido (STRAWN *et al.*, 2018; GASPERSZ; NAWIJN; LAMERS;

PENNINX, 2018). A tabela 1, a seguir, mostra as principais diferenças clínicas em relação ao diagnóstico da TAG e TDM.

Tabela 1 - Comparativo entre os diagnósticos de TAG e TDM conforme DSM-5

Transtorno de ansiedade generalizada	Transtorno depressivo maior
Ansiedade excessiva e preocupação com vários eventos ocorreram mais dias do que nunca durante pelo menos 6 meses.	Sintomas principais (≥ 1 necessário para o diagnóstico): <ul style="list-style-type: none"> • Humor deprimido; • Anedonia ou diminuição acentuada do interesse ou prazer.
O indivíduo possui dificuldade de controlar a preocupação.	Sintomas adicionais: <ul style="list-style-type: none"> • Perda de peso clinicamente significativa ou aumento ou diminuição do apetite; • Insônia ou hipersonia; • Agitação ou retardo psicomotor; • Fadiga ou perda de energia; • Sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inadequada; • Capacidade diminuída de pensar ou concentrar-se, ou indecisão; • Pensamentos recorrentes de morte ou ideação suicida.
A ansiedade e a preocupação estão associadas a pelo menos três dos seis sintomas seguintes (apenas um sintoma é necessário em crianças): <ul style="list-style-type: none"> • Inquietação ou sensação de estar tenso ou “no limite”; • Estar facilmente cansado; • Tendo dificuldade em se concentrar; • Irritabilidade; • Tensão muscular; • Distúrbios de sono. 	Os sintomas causam sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo nas funções do indivíduo.
A ansiedade, a preocupação ou os sintomas físicos associados causam sofrimento ou prejuízo clinicamente significativo em áreas importantes das funções do indivíduo.	Os sintomas não são devidos a um fator médico/orgânico ou doença.
A perturbação ou distúrbio não é explicada pelo uso de substâncias, condição médica ou outro transtorno mental.	

Fonte: Adaptado de Goodwin e Stein (2021).

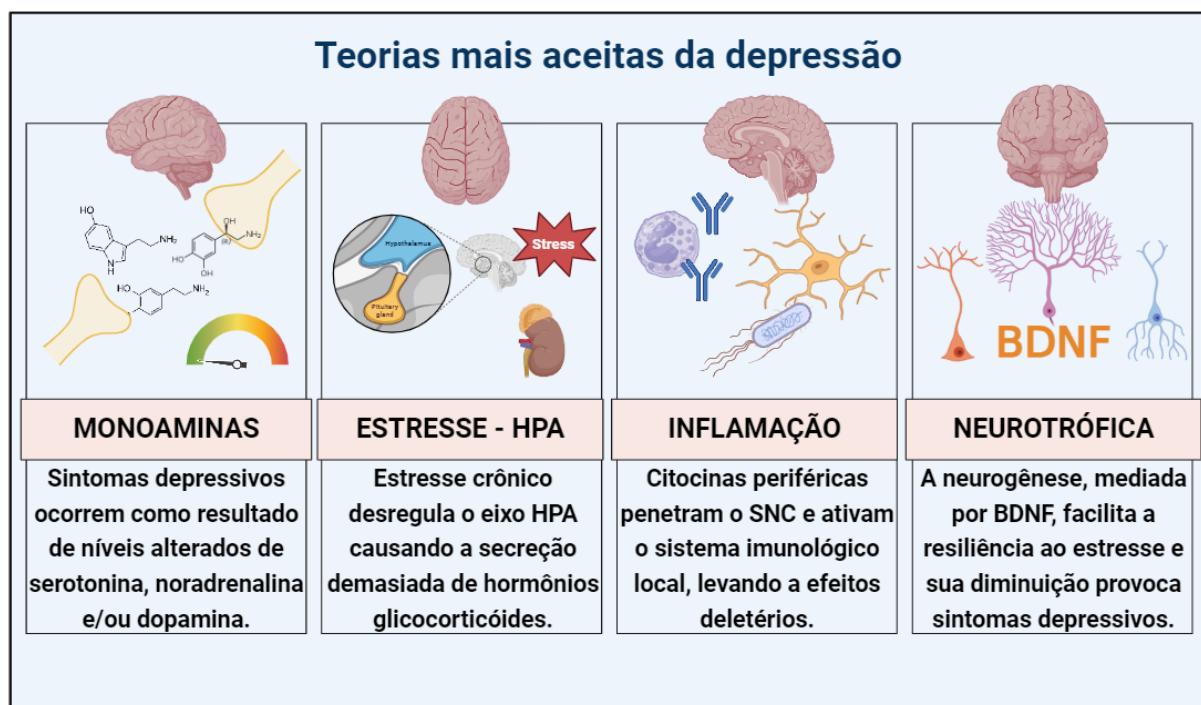
2.2 As bases neurobiológicas da depressão e da ansiedade: um olhar sobre as teorias

O TDM é considerado uma doença multifatorial, com diversas causas, que podem ser desde genéticas até teorias postuladas que envolvem estresse, inflamação, entre outras etiologias (SHADRINA; BONDARENKO; SLOMINSKY, 2018).

Além das teorias, já foram identificados também fatores de risco para depressão, que incluem história familiar da doença (aproximadamente 35% do risco pode ser considerado hereditário), abuso e negligência na infância, ser do sexo feminino e eventos estressores recentes. Algumas doenças também aumentam o risco de depressão, com taxas elevadas associadas a distúrbios metabólicos, doenças cardíacas e doenças autoimunes (BEUREL; TOUPS; NEMEROFF, 2020).

As teorias da depressão incluem a hipótese das monoaminas, a hipótese da depressão induzida pelo estresse, a hipótese da neuroinflamação e a da neuroplasticidade, cada uma delas possuem pontos fortes e fracos, mas não conseguem sozinhas elucidar completamente todos os processos e sintomas do TDM (FILATOVA; SHADRINA; SLOMINSKY, 2021). A figura 2 exemplifica resumidamente as teorias mais aceitas da depressão.

Figura 2 - Teorias mais aceitas sobre a fisiopatologia da depressão



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações adaptadas de Filatova, Shadrina e Slominsky (2021).

De acordo com a teoria da monoaminas, os sintomas depressivos ocorrem como resultado de níveis alterados dos neurotransmissores do tipo monoaminas, são eles: serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e /ou dopamina (DA) (PEREZ-CABALLERO *et al.*, 2019). Esta teoria foi postulada a partir das evidências que mostram que os antidepressivos aumentam a quantidade desses neurotransmissores na fenda sináptica (HAMON; BLIER, 2013).

Apesar de extensamente aceita, esta teoria não explica todas as causas dos sintomas depressivos, ficam lacunas principalmente na explicação da refratariedade na resposta à terapia medicamentosa por parte de alguns pacientes e o fato dos antidepressivos só conseguirem alcançar a remissão, mas não a recuperação completa (FILATOVA; SHADRINA; SLOMINSKY, 2021).

Além disso, não há evidências claras de que um neurotransmissor seja central na etiologia da depressão, inclusive as monoaminas não são as únicas substâncias envolvidas na fisiopatologia do TDM (VILLANUEVA, 2013). Dessa forma, um consenso crescente postula que a transmissão monoaminérgica alterada não é suficiente para explicar a etiologia dos transtornos depressivos (BOKU *et al.*, 2017).

A desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), causada principalmente por estresse e trauma, também tem sido implicada na patogênese do TDM, uma vez que, o estado de hiperatividade do eixo HPA é um dos achados mais consistentes na neuroendocrinologia dos transtornos de humor (IOB; KIRSCHBAUM; STEPTOE, 2019).

Apoiando essa teoria, diversos trabalhos do grupo de pesquisa em Neuropsicofarmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC) já demonstraram que o hormônio corticosterona em roedores (equivalente ao cortisol nos humanos) - que está relacionado ao estresse e a hiperativação do eixo HPA - induz comportamentos semelhantes aos da depressão em camundongos (LOPES *et al.*, 2018; CHAVES *et al.*, 2019; (CAPIBARIBE *et al.*, 2019; MALLMANN *et al.*, 2021; CHAVES *et al.*, 2020).

Isso ocorre porque o excesso de cortisol pode ser tóxico para células da glia e para os neurônios, podendo diminuir a neurogênese e a neuroplasticidade no córtex pré-frontal (CPF) e no hipocampo (HP), o que por sua vez, pode resultar em declínio cognitivo, perda do prazer e outros sintomas depressivos (RUSSO; NESTLER, 2013; OTTE *et al.*, 2016). É sabido, portanto, que o estresse crônico induz transtornos neuropsicológicos, incluindo depressão e ansiedade, por meio da hiperatividade do eixo HPA (LEE *et al.*, 2022).

Além das teorias descritas, trabalhos apontam também que o sistema imunológico desempenha um papel muito relevante na etiologia da depressão, postulando-se assim, a teoria da inflamação a partir do aumento de citocinas (MILENKOVIC *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2016).

Estudos em humanos e animais já demonstraram que citocinas pró-inflamatórias poderiam estar envolvidas no desenvolvimento do TDM (BEUREL; TOUPS; NEMEROFF, 2020). Níveis aumentados de marcadores pró-inflamatórios, como fator de necrose tumoral (TNF), interleucina 1 (IL-1 β) e 6 (IL-6) além da proteína C reativa (PCR), já foram detectados de forma aumentada no plasma de pacientes com sintomas depressivos (AZAR; MERCER, 2013). Outros fatos apoiam a teoria inflamatória da depressão: citocinas administradas em pacientes e animais induzem sintomas de depressão; comportamento depressivo ocorre frequentemente em pacientes que sofrem de doenças com componente inflamatório; alguns tipos de estressores induzem aumento da expressão de citocinas tanto no sangue periférico quanto no sistema nervoso central (SNC), alguns antidepressivos têm propriedades anti-inflamatórias e alguns anti-inflamatórios já demonstraram propriedades antidepressivas (YOUNG; BRUNO; POMARA, 2014; HU *et al.*, 2020; FILATOVA; SHADRINA; SLOMINSKY, 2021).

Neste contexto, a micróglia, considerada uma das principais células imunológicas residentes do SNC, desempenha um papel importante no desenvolvimento e progressão da depressão, porque consegue responder à neuroinflamação desencadeada pelo estresse e, através da liberação de citocinas pró-inflamatórias e seus produtos metabólicos, modula a função dos neurônios e astrócitos para regular a depressão (JIA; GAO; HU, 2020). Além disso, existe uma relação bidirecional entre estresse oxidativo e inflamação. O estresse oxidativo desempenha um papel importante do TDM e pesquisas recentes utilizando vários marcadores de estresse oxidativo demonstram que as defesas antioxidantes estão diminuídas e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio são elevadas na depressão (SIPAHI *et al.*, 2023).

Por sua vez, a teoria neurotrófica da depressão postula que a causa da doença pode ser explicada por um mau funcionamento do sistema neurotrófico do cérebro, a partir das ações do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), que desempenha um papel importante no crescimento, desenvolvimento e plasticidade neuronal e nas sinapses glutamatérgicas e GABAérgicas e, através da modulação da diferenciação neuronal, influencia a neurotransmissão serotoninérgica e dopaminérgica. O BDNF é considerado um mediador da plasticidade funcional e estrutural no SNC, influenciando a neurogênese no hipocampo (COLUCCI-D'AMATO; SPERANZA; VOLPICELLI, 2020).

Essa neurogênese, especialmente em adultos, pode aumentar o feedback negativo mediado por glicocorticoïdes no eixo HPA e facilitar a resiliência ao estresse, comprovando a importância do BDNF (EGELAND; ZUNZAIN; PARIANTE, 2015). Dessa forma, a diminuição da neurogênese pode ser a base para o desenvolvimento de sintomas semelhantes aos da depressão em situações que envolvam agentes estressores.

Corroborando a teoria neurotrófica, uma diminuição nos níveis de BDNF, seus pró-peptídeos, genes e receptores já foi detectada em pacientes com TDM (PANDEY *et al.*, 2010; KOJIMA; MATSUI; MIZUI, 2019). Além disso, já foi observado que o aumento do nível de cortisol inibiu BDNF, levando à neurodegeneração e, por consequência, ao desenvolvimento de sintomas depressivos (CHAUDHURY; LIU; HAN, 2015; KUNUGI *et al.*, 2010).

As teorias apresentadas propõem explicações não somente para os sintomas depressivos, mas também para a ansiedade patológica. A ansiedade, por si, é uma reação adaptativa e defensiva à ameaça entre espécies. Porém, a ansiedade excessiva pode interferir na qualidade de vida do indivíduo (ROBINSON *et al.*, 2019). A ansiedade e a depressão formam um grande grupo de transtornos psiquiátricos inter-relacionados e sobrepostos (GOODWIN; STEIN, 2021).

A exposição a fatores estressores tem sido fortemente implicadas na manifestação patológica da ansiedade. Na ansiedade aguda, a ativação do eixo HPA é adaptativa, uma vez que, o cortisol parece reduzir o medo. Já na ansiedade crônica, o desenvolvimento gradual de uma desconexão entre o estressor e as suas consequências comportamentais estabelece seu funcionamento normal. Porém, quando esse mecanismo falha, o eixo HPA persiste ativado e pode tornar-se prejudicial, diminuindo receptores de monoaminas do hipocampo, prejudicando os mecanismos de enfrentamento e induzindo uma baixa tolerância ao estresse crônico, contribuindo para a ansiedade patológica, assim como para sintomas depressivos (FARAVELLI *et al.*, 2012).

A diminuição da atividade de BDNF também parece estar relacionada ao comportamento semelhante ao da ansiedade em animais (LUCON-XICCATO *et al.*, 2023). Em relação à teoria das monoaminas, uma desregulação na atividade desses neurotransmissores também foi observada em transtornos de ansiedade, caracterizados principalmente por depleção de serotonina e hiperfunção noradrenérgica (CURRAN; CHALASANI, 2012; YAMAMOTO; SHINBA; YOSHII, 2013). Inclusive, por isso, há farmacoterapias eficazes tanto para o TAG quanto TDM, alguns inibidores seletivos de recaptura de monoaminas são recomendados

como terapias medicamentosas de primeira linha para a TAG (DEMARTINI; PATEL; FANCHER, 2019).

Vias fisiológicas que envolvem respostas inflamatórias e de estresse desempenham também um papel importante na etiologia da ansiedade (PEIRCE; ALVIÑA, 2019). Estudos de pacientes com transtornos de ansiedade relataram níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias em comparação com indivíduos saudáveis (DUIVIS *et al.*, 2013; O'DONOVAN *et al.*, 2010). Em ratos, já foi demonstrado que a ativação de uma resposta imune aumenta os comportamentos de ansiedade (SOMINSKY *et al.*, 2013). Também já foi observado que a atividade da IL-6 induzida pelo estresse altera a expressão gênica em monócitos e causa comportamento semelhante ao da ansiedade em camundongos (NIRAULA *et al.*, 2019).

2.3 A farmacoterapia disponível para os transtornos de humor: das primeiras drogas às novas perspectivas

Os transtornos depressivos e de ansiedade são doenças mentais graves que não devem ser confundidas com variações normais de humor (CUIJPERS; BEEKMAN; REYNOLDS, 2012), portanto, exigem tratamento. A psicoterapia é um tratamento não farmacológico de primeira linha para a depressão leve a moderada (CUIJPERS *et al.*, 2008), mas muitos pacientes também necessitam de farmacoterapia. Diversos tratamentos farmacológicos eficazes no TDM também são empregados para o TAG e outros transtornos de ansiedade, fazendo com que a escolha de um único tratamento farmacológico eficaz para o TDM e TAG seja uma estratégia sensata (FAGAN; BALDWIN, 2023).

Os inibidores da monoamina oxidase (IMAOs) foram a primeira classe bem estudada de drogas direcionados ao tratamento da depressão. São exemplos de IMAOs a fenelzina, trancilcipromina e a selegilina (BHAWNA *et al.*, 2022). Os IMAOs previnem a degradação das monoaminas (serotonina, norepinefrina e dopamina), porém, estão associados a um perfil de efeitos colaterais alto, o que resultou na sua utilização reduzida, sendo assim, não são mais considerados um tratamento de primeira linha para a depressão (GREENBERG; TESFAZION; ROBINSON, 2012).

Os antidepressivos tricíclicos (ATCs) foram originalmente comercializados para o tratamento da depressão e ansiedade, mas ao longo do tempo seu uso foi redirecionado para outras condições. Os ATCs inibem a recaptação de noradrenalina e serotonina, resultando no acúmulo desses neurotransmissores na fenda sináptica. Também conseguem bloquear os receptores pós-sinápticos de histamina, alfa-adrenérgicos e muscarínicos, causando muitos

efeitos adversos, incluindo boca seca, comprometimento cognitivo, hipotensão, ortostase, visão turva, retenção urinária, sonolência e sedação (OBATA, 2017).

Devido aos efeitos adversos citados e a alta taxa de letalidade em casos de overdose, ao longo do tempo essa classe foi amplamente substituída pelos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS) e inibidores da recaptação da serotonina-norepinefrina (IRSN) no tratamento da depressão. Os ATCs são empregados hoje no tratamento da dor neuropática, dor de cabeça, enxaqueca, síndromes gastrointestinais, fibromialgia, insônia e outras condições psiquiátricas além da depressão e ansiedade (SCHNEIDER; PATTERSON; JIMENEZ, 2019).

Atualmente, os ISRS e IRSN são considerados a primeira linha para o tratamento da depressão. ISRS, como por exemplo: fluoxetina, sertralina, paroxetina e citalopram atuam inibindo a recaptação do neurotransmissor serotonina. IRSN, como duloxetina e venlafaxina, atuam impedindo a recaptação de serotonina e norepinefrina (GREENBERG; TESFAZION; ROBINSON, 2012). As duas classes são amplamente utilizadas, porém, os seus efeitos podem ser variáveis e alguns efeitos adversos como diminuição de libido e aumento de peso podem reduzir a capacidade do paciente de tolerar o uso contínuo (FOURNIER *et al.*, 2010).

Há também a disponibilidade de uso dos antagonistas dos receptores da serotonina, cujo principal exemplo é trazodona, considerada uma fenilpiperazina e um derivado da triazolopiridina que atua como um antagonista dos receptores da serotonina tipo 2 (5-HT2) e dos receptores α -adrenérgicos, também consegue inibir a recaptação de 5-HT (KHOUZAM, 2016). Além de sua atividade antidepressiva, a trazodona é benéfica no tratamento da insônia, transtornos de ansiedade, transtorno de estresse pós-traumático, transtorno obsessivo-compulsivo, transtornos alimentares e alimentares, transtornos por uso de substâncias, distúrbios comportamentais associados à disfunção cognitiva e até distúrbios sexuais (BOSSINI *et al.*, 2015).

Para quadros de depressão moderada a grave, os medicamentos de primeira linha geralmente incluem ISRS, IRSN, bupropiona e mirtazapina (KENNEDY *et al.*, 2016). As classes mais antigas de antidepressivos, como os tricíclicos e os inibidores da monoamina oxidase, apresentam um perfil de risco maior do que os agentes mais novos, por isso são normalmente usados apenas se outros agentes forem ineficazes (PARK; ZARATE, 2019).

Para que ocorra a seleção de um antidepressivo são considerados os efeitos adversos conhecidos, os transtornos psiquiátricos coexistentes, sintomas específicos e histórico de tratamento (ZIMMERMAN *et al.*, 2004). Um dos objetivos ao escolher a farmacoterapia deve ser de minimizar os efeitos adversos, principalmente aqueles que podem exacerbar algum

sintoma já existente. Por exemplo, drogas que estão associadas ao aumento da sonolência, como mirtazapina e paroxetina, devem ter administração evitada durante o dia, por outro lado, para pacientes com insônia, esses medicamentos podem ser prescritos na hora de dormir. Já indivíduos com TAG associada são frequentemente tratados com ISRS ou IRSN. A escolha do tratamento também deve considerar o histórico anterior do paciente em relação às respostas farmacológicas e os custos e possibilidade de acesso do medicamento em um sistema de saúde público (SILVERMAN *et al.*, 2015).

De forma geral, os antidepressivos de primeira linha têm um perfil de efeitos colaterais mais tolerados. Um efeito adverso potencialmente grave associado aos ISRS e IRSN é a síndrome serotoninérgica, caracterizada por agitação, confusão, febre e tremores que podem evoluir para casos graves. Embora esta síndrome seja muito rara, o risco pode ser maior quando outros medicamentos que elevam a atividade serotoninérgica são usados em combinação com ISRSs e IRSNs (MAITLAND; BAKER, 2022).

Mais recentemente, reduções rápidas e robustas nos sintomas depressivos foram observadas após a administração da escetamina, um antagonista do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), inclusive em pacientes com depressão refratária (SMITH-APELDOORN *et al.*, 2022). Em um grande ensaio clínico publicado recentemente em pacientes com depressão resistente ao tratamento, utilizou-se uma apresentação de spray nasal de escetamina associada a um ISRS ou IRSN, concluindo que associação foi superior à quetiapina de liberação prolongada associada aos mesmos medicamentos (REIF *et al.*, 2023).

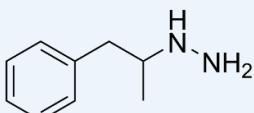
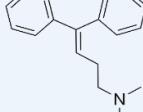
Apesar da promessa da escetamina, ainda há muitos desafios, incluindo o de garantir a resposta a longo prazo, preocupações em relação aos efeitos colaterais e o potencial de abuso da substância (JELEN; STONE, 2021). De fato, o tratamento com escetamina representa o primeiro agente não monoaminérgico com eficácia comprovada de início rápido no TDM, mas preocupações sobre a segurança, tolerabilidade e incertezas sobre infraestrutura e pessoal apropriados necessários para implementação de um tratamento competente e seguro são limitações importantes (MCINTYRE *et al.*, 2021).

Para driblar todas as questões limitadoras envolvendo um tratamento endovenoso com escetamina, foi aprovado no Brasil em 2020 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a escetamina via intranasal (vendida comercialmente como Spravato® da Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda) para depressão resistente ao tratamento. A administração via nasal tem, entre outras vantagens, maior conforto e simplicidade (CARVALHO; PIMENTA; SIMEONI, 2022).

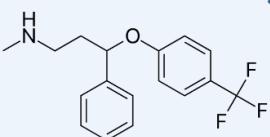
Já para o tratamento do TAG, as diretrizes da *World Federation of Societies of Biological Psychiatry* (WFSBP) aconselham como tratamento inicial o uso de inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS) ou inibidores de recaptação de serotonina-norepinefrina (IRSN) como primeira linha. Devido a possibilidade potencial de abuso, a pregabalina é sugerida como tratamento de segunda linha. Os benzodiazepínicos são recomendados apenas como tratamento de primeira linha se os ISRS ou IRSN não forem tolerados (FAGAN; BALDWIN, 2023).

As opções farmacológicas sugeridas após a falha na resposta ao tratamento inicial do TAG incluem a mudança para um ISRS ou IRSN diferente, pregabalina, agomelatina, vilazodona, buspirona, imipramina, hidroxizina, quetiapina e trazodona. Benzodiazepínicos como alprazolam, bromazepam, diazepam e lorazepam são sugeridos após a falha inicial do tratamento, desde que o paciente não tenha histórico de abuso por uso dessas substâncias. (BALDWIN *et al.*, 2014; BANDELOW *et al.*, 2022). O tratamento farmacológico combinado também pode ser sugerido, adicionando a olanzapina ao tratamento com fluoxetina, ou somando a pregabalina a um ISRS ou SNRI (FAGAN; BALDWIN, 2023; RICKELS *et al.*, 2012). A figura 3 traz os principais agentes antidepressivos e ansiolíticos discutidos neste tópico de forma sintetizada, com seus mecanismos farmacológicos e exemplos.

Figura 3 - Principais agentes antidepressivos e ansiolíticos

Principais classes de antidepressivos e ansiolíticos		
Inibidores da Monoaminoxidase (IMAOs)   Exemplo de estrutura: fenelzina	MECANISMOS A redução na atividade da enzima monoaminoxidase (MAO) - que degrada monoaminas - resulta em aumento na concentração de 5-HT, NA e DA na fenda sináptica.	EXEMPLOS Fenelzina, Tranilcipromina, Selegilina.
Antidepressivos Tricíclicos (ATCs)   Exemplo de estrutura: amitriptilina	MECANISMOS Bloqueiam de forma mista e variável os transportadores de NA e 5-HT. Como consequência, há maior disponibilidades dessas moléculas na fenda sináptica.	EXEMPLOS Amitriptilina, nortriptilina, imipramina, clomipramina.

Inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs)



Exemplo de estrutura: fluoxetina

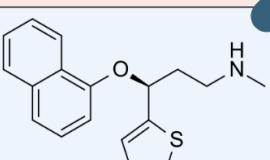
MECANISMOS

Bloqueiam de forma altamente seletiva o transportador de 5-HT, resultando em maior concentração da monoamina na fenda sináptica.

EXEMPLOS

Fluoxetina, citalopram, escitalopram, paroxetina, sertralina, fluvoxamina, vilazodona.

Inibidores da recaptação de serotonina - norepinefrina (IRSNs)



Exemplo de estrutura: duloxetina

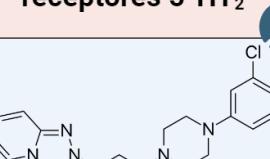
MECANISMOS

Há o bloqueio moderadamente seletivo dos transportadores de NA e 5-HT, causando maiores níveis dos neurotransmissores na fenda sináptica.

EXEMPLOS

Duloxetina, Venlafaxina, desvenlafaxina.

Antagonistas dos receptores 5-HT₂



Exemplo de estrutura: trazodona

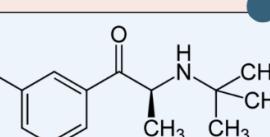
MECANISMOS

Inibem o receptor 5-HT_{2A}. A inibição de 5-HT_{2A} está associada a efeitos ansiolíticos, antidepressivos e até antipsicóticos.

EXEMPLOS

Trazodona, nefazodona.

Tetracíclicos e unicíclicos



Exemplo de estrutura: bupropiona

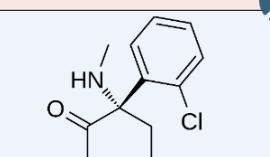
MECANISMOS

Diversos: aumento da atividade de NA e DA (bupropiona); inibição do transportador de NA (amoxapina e maprotilina); liberação aumentada de 5-HT (mirtazapina).

EXEMPLOS

Bupropiona, amoxapina, maprotilina, mirtazapina.

Antagonista de NMDA



Exemplo de estrutura: escetamina

MECANISMOS

Antagoniza NMDA, aumentando a liberação de glutamato, estimula o receptor AMPAR e aumenta a sinalização neurotrófica que restaura a função sináptica.

EXEMPLOS

Escetamina.

Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o BioRender (www.biorender.com) com informações adaptadas de Katzung (2014) e Corriger e Pickering (2019). As figuras alternadas de comprimidos e cápsulas são meramente ilustrativas e não representam a forma farmacêutica das drogas comercializadas.

2.4 O papel da neuroinflamação e do estresse oxidativo nos transtornos de humor

Estudos confirmam a associação entre inflamação, depressão, ansiedade e outros transtornos do humor, em especial em pacientes cujo tratamento é refratário a medicamentos convencionais (HAROON *et al.*, 2018; STRAWBRIDGE *et al.*, 2015; OSIMO *et al.*, 2020). Além disso, já foi observado que níveis elevados de marcadores inflamatórios estão presentes em indivíduos com depressão e o nível de inflamação se correlaciona diretamente com a gravidade dos sintomas (KOFOD *et al.*, 2022). Também já foi constatada liberação de marcadores pró-inflamatórios e ativação microglial nos cérebros de animais com sinais de ansiedade e depressão (MUNSHI *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2018).

Os mamíferos contam com a proteção do sistema imunológico contra agentes infecciosos e outros tipos de agressões. A inflamação representa o resultado da ativação imunológica, manifestando-se frequentemente como uma reação localizada desencadeada por irritações, lesões ou infecções. Essa resposta é caracterizada por sinais como aumento de temperatura, rubor, edema e dor, podendo ser acompanhada por febre. Diversas células e mecanismos imunológicos atuam de maneira coordenada para preservar a homeostase, contudo, a desregulação dessas ações frequentemente está associada ao desenvolvimento de doenças. Evidências sugerem que essa desregulação contribui para transtornos psiquiátricos, incluindo depressão e ansiedade (BEUREL; TOUPS; NEMEROFF, 2020).

Sabe-se, inclusive, que processos inflamatórios iniciados perifericamente podem ter implicações diretas no SNC. Citocinas pró-inflamatórias circulantes podem atingir o cérebro e ativar a micróglia, levando à neuroinflamação e causando transtornos de humor (HODES *et al.*, 2015; KÖHLER *et al.*, 2017).

A produção de citocinas pró-inflamatórias perifericamente pode ocorrer, por exemplo, a partir do contato de células com o LPS bacteriano, principalmente através da ativação do receptor Toll-like 4 (TLR4). O LPS, um componente da membrana externa de bactérias Gram-negativas, é reconhecido por um complexo que inclui TLR4, levando à ativação de vias de sinalização intracelulares que culminam na produção de citocinas pró-inflamatórias (BARKER; WEISS, 2019; VOSS *et al.*, 2016; GUIJARRO-MUÑOZ *et al.*, 2014).

As citocinas que foram liberadas perifericamente podem percorrer a circulação e chegar à barreira hemato-encefálica (BHE), podendo causar a desregulação das junções interendoteliais, como as proteínas de adesão e *tight junctions*, levando a um aumento da permeabilidade paracelular (ROCHFORT *et al.*, 2014). A presença de citocinas pró-

inflamatórias também pode promover a migração transendotelial de células imunes para o cérebro, exacerbando a inflamação local (LABUS *et al.*, 2018).

Nesse contexto, destaca-se no SNC, o papel da micróglia, que é uma célula imune especializada do cérebro com funções semelhantes às do macrógago, sendo ativada ao receber estímulos. É essencial na modulação sináptica e neurogênese, além de ser também ativada em muitas doenças neurodegenerativas e neuropsiquiátricas, promovendo neuroinflamação (YIRMIYA; RIMMERMAN; RESHEF, 2015).

A neuroinflamação, além de acarretar ativação microglial, também causa atrofia de astrócitos - célula essencial na sustentação e nutrição de neurônios - e esses eventos estão envolvidos na disfunção do sistema glutamatérgico encontrada na depressão (a chamada excitotoxicidade glutamatérgica), resultando em deficiências na neurogênese e sinaptogênese (RÉUS *et al.*, 2015; RÉUS *et al.*, 2018).

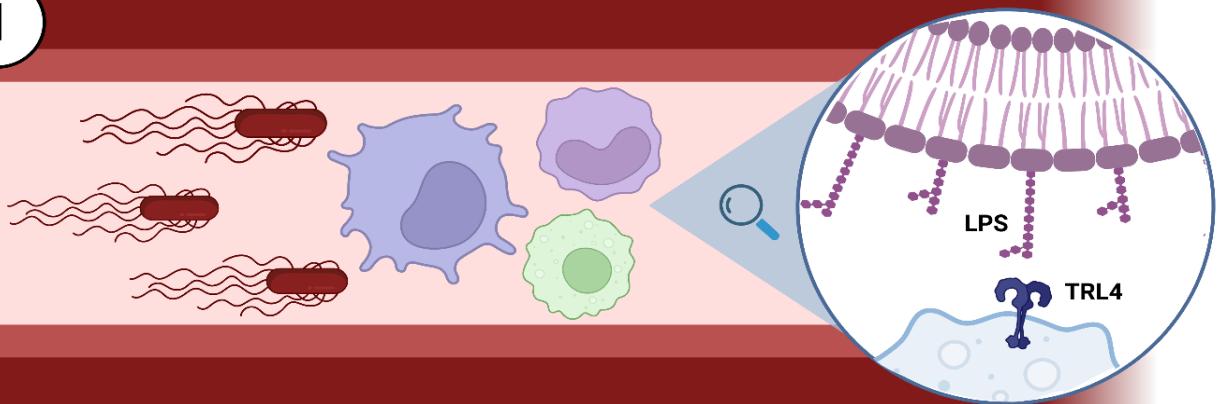
A elevação de citocinas pró-inflamatórias no SNC também está associada à consequências neuroendócrinas, como a hiperatividade do eixo HPA, além de disfunção do sistema glutamatérgico, comprometimento da neuroplasticidade e alterações no metabolismo do triptofano, um aminoácido essencial para a produção de serotonina (PATIL; GAWLI; BHATT, 2023; FRIES *et al.*, 2022). Já foi observado que alterações no eixo HPA estão associadas a um aumento de citocinas pró-inflamatórias (MALEK *et al.*, 2015). A presença de IL-6, por exemplo, aumenta a atividade do eixo HPA, que por sua vez, eleva os níveis de cortisol e induz quadros depressivos (ANDERSON *et al.*, 2013).

Além disso, é sabido que o metabolismo do triptofano e a via da quinurenina também estão envolvidos nos transtornos de humor (SIPAHI *et al.*, 2023). A via da quinurenina pode ser neuroprotetora por meio da produção de ácido quinurênico (um antagonista do receptor de N-metil-D-aspartato - NMDA - responsável pela neurotransmissão excitatória) ou neurotóxica por meio da geração de ácido quinolínico (um agonista do receptor NMDA), que pode levar à excitotoxicidade por glutamato (SCHWARCZ *et al.*, 2012; GUILLEMIN, 2012; BARONE, 2019).

Como citado, o neurotransmissor serotonina é sintetizado por meio do catabolismo do triptofano (COMAI *et al.*, 2020) e estudos mostram que a inflamação muda a via do catabolismo do triptofano para a via neurotóxica da quinurenina, resultando na diminuição da produção de serotonina, impactando diretamente no humor e nas emoções do indivíduo (OCONNOR *et al.*, 2009; HOCHSTRASSER *et al.*, 2011). A figura 4 traz um esquema ilustrativo mostrando os caminhos e consequências da inflamação iniciada na periferia até o SNC.

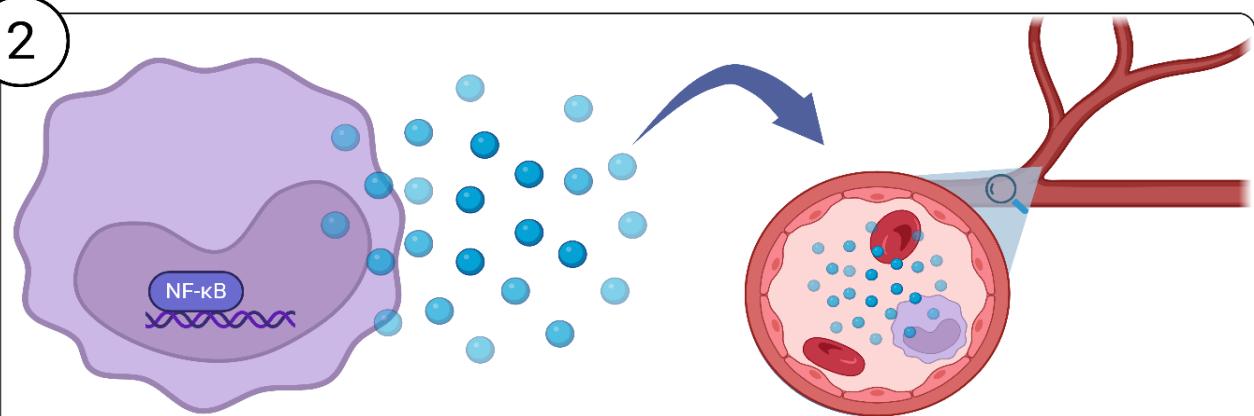
Figura 4 - Mecanismos e consequências da neuroinflamação desencadeada por inflamação periférica

1



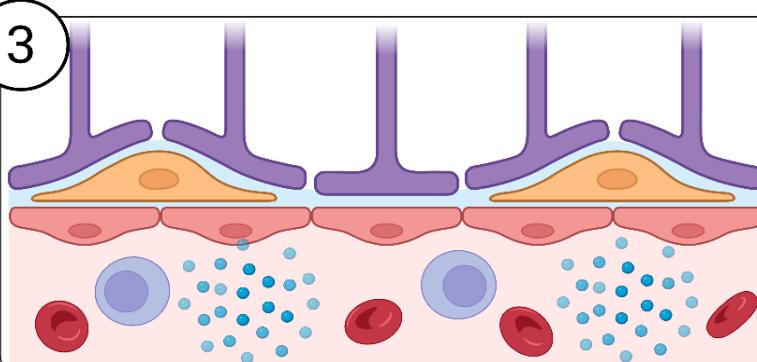
A bactéria *Escherichia coli* entra em contato com as células de defesa do indivíduo, seja por infecção bacteriana direta, translocação bacteriana intestinal ou outros meios. O contato é realizado a partir do lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano e do receptor *Toll-Like 4* (TLR4) da célula.

2



O contato do LPS com TLR4 leva à ativação de fatores de transcrição como NF-κB, resultando na produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF, IL-6 e IL-1 β) que, a depender da extensão da ativação e de outros fatores, conseguem alcançar a circulação sistêmica e atingir órgãos distantes.

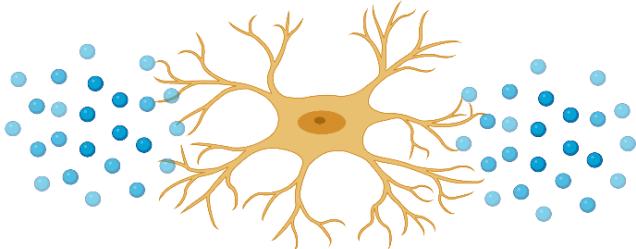
3



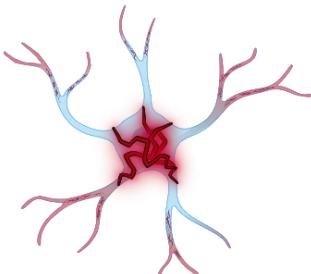
As citocinas podem chegar à barreira hemato-encefálica e causar desregulação das proteínas de adesão e *tight junctions*, levando a um aumento da permeabilidade e consequente migração dessas moléculas para o SNC.

4

MICRÓGLIA



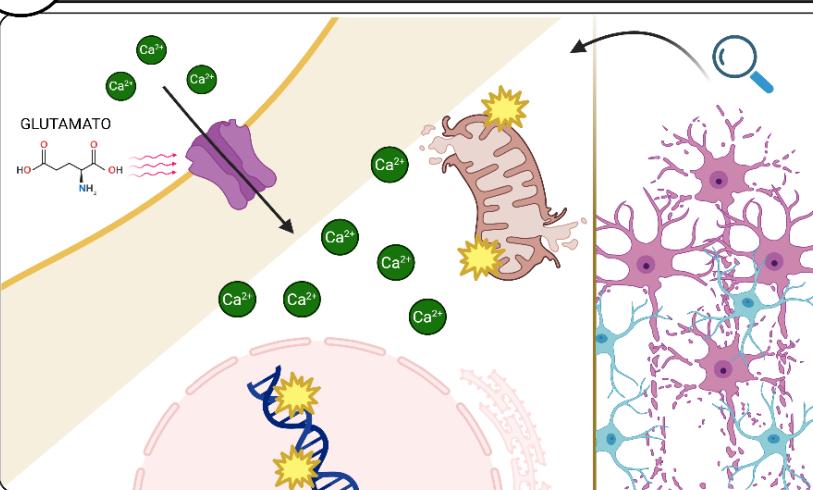
ASTRÓCITOS



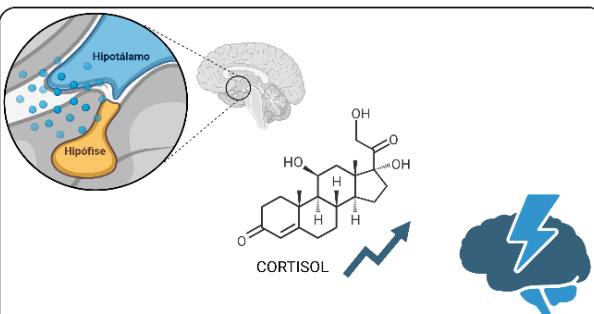
As citocinas no SNC ativam micróglia, causando mais liberação de mediadores inflamatórios. Pode ocorrer também a atrofia ou ativação dos astrócitos (passando a ser chamados de astrócitos reativos).

5

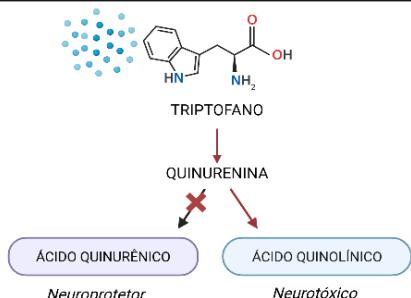
As principais consequências desses eventos são:



Astrócitos reativos tendem a facilitar a liberação de glutamato, induzindo um influxo intenso de Ca²⁺ via receptor NMDA, favorecendo ruptura da membrana mitocondrial, degradação de proteínas, lipídios e DNA e, por fim, contribuindo com a morte neuronal.



Citocinas pró-inflamatórias aumentam a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), elevando os níveis de cortisol, mecanismo envolvido na depressão induzida pelo estresse.



A neuroinflamação desencadeia uma mudança da via do catabolismo do triptofano para a via neurotóxica da quinurenina, resultando na diminuição da produção de serotonina.

Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o BioRender (www.biorender.com) com informações adaptadas de Kouba e colaboradores (2024).

Assim, é perceptível que as citocinas desencadeiam inúmeras consequências no SNC. A inflamação, seja aguda ou crônica, está ligada à depressão, pois a relação entre citocinas pró-inflamatórias e esse transtorno de humor tem sido estudada há muito tempo (HAAPAKOSKI *et al.*, 2015).

A IL-1 β foi a primeira citocina implicada na etiologia do *sickness behavior* (conjunto de mudanças comportamentais em resposta inflamatória do cérebro, causando fadiga, febre e apatia para economizar energia e facilitar a recuperação) e posteriormente associada ao transtorno depressivo juntamente com IL-6 e TNF (HARSANYI *et al.*, 2022).

Já foi demonstrado também que a administração periférica de IL-1 β em animais resultou em comportamentos ansiosos (MUNSHI; PARRILLI; ROSENKRANZ, 2019). A importância desta citocina nos transtornos de humor é mais uma vez ratificada porque a modulação da IL-1 β e de seus receptores, como o uso de antagonistas do receptor de IL-1 (IL-1ra), tem mostrado potencial para prevenir comportamentos semelhantes à depressão induzidos pelo estresse (LI *et al.*, 2023).

É relevante lembrar que a IL-1 β é um dos principais produtos do inflamassoma NLRP3 (*NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3*), um complexo multiproteico intracelular que desempenha um papel crucial na neuroinflamação, promovendo a maturação e liberação de citocinas pró-inflamatórias. Evidências indicam que indivíduos diagnosticados com TDM apresentam uma expressão aumentada dos componentes do inflamassoma NLRP3, bem como níveis elevados das citocinas produzidas, em comparação com indivíduos saudáveis (KOUBA; GIL-MOHAPEL; RODRIGUES, 2022; XIA *et al.*, 2023).

A ativação do inflamassoma NLRP3 e a consequente produção de IL1- β tem sido amplamente relacionada a processos inflamatórios no SNC, envolvendo a participação de neurônios, astrócitos e células da micróglia. Além disso, evidencia-se sua influência sobre o eixo microbiota-intestino-cérebro, apontando para um papel modulador na comunicação neuroimune. A disfunção desse inflamassoma também pode comprometer a integridade da BHE e da barreira epitelial intestinal, favorecendo a translocação de componentes pró-inflamatórios e, consequentemente, contribuindo para o desenvolvimento e manutenção da sintomatologia depressiva (JAHRAMI; RAZI; REZAEI, 2024).

Além disso, estudos têm demonstrado que mulheres com depressão pós-parto (DPP) apresentam níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias, em especial de IL-1 β na circulação periférica. Essa resposta inflamatória exacerbada pode estar associada à disfunção da BHE, possibilitando a entrada de citocinas ou células imunocompetentes no SNC. Esse

processo pode desencadear neuroinflamação, favorecendo o surgimento de sintomas depressivos nesse contexto específico (WANG *et al.*, 2024). Um estudo anterior também já demonstrou que a IL-1 β está envolvida na gênese da fadiga durante o período pós-parto — um sintoma frequentemente associado à depressão nesse período (CORWIN *et al.*, 2003).

A interleucina-6 (IL-6), por sua vez, também é uma citocina com propriedades pró-inflamatórias, cuja relevância tem sido amplamente reconhecida nos estudos sobre os transtornos do humor, especialmente a depressão. Evidências indicam que concentrações aumentadas de IL-6 estão correlacionadas com maior gravidade dos sintomas depressivos e podem desempenhar um papel significativo na modulação da evolução clínica desses sintomas ao longo do tempo (EDMONDSON-STAIT *et al.*, 2025).

Estudos sugerem que a IL-6 pode estar envolvida na patogênese da depressão por meio da ativação do eixo HPA, além de exercer influência sobre o metabolismo de neurotransmissores relacionados à regulação do humor. Adicionalmente, a IL-6 tem sido considerada um potencial biomarcador prognóstico para transtornos mentais, incluindo o transtorno depressivo, dada sua associação com alterações neurobiológicas observadas em indivíduos acometidos (TING; YANG; TSAI, 2020; GARCÍA-JUÁREZ; CAMACHO-MORALES, 2022).

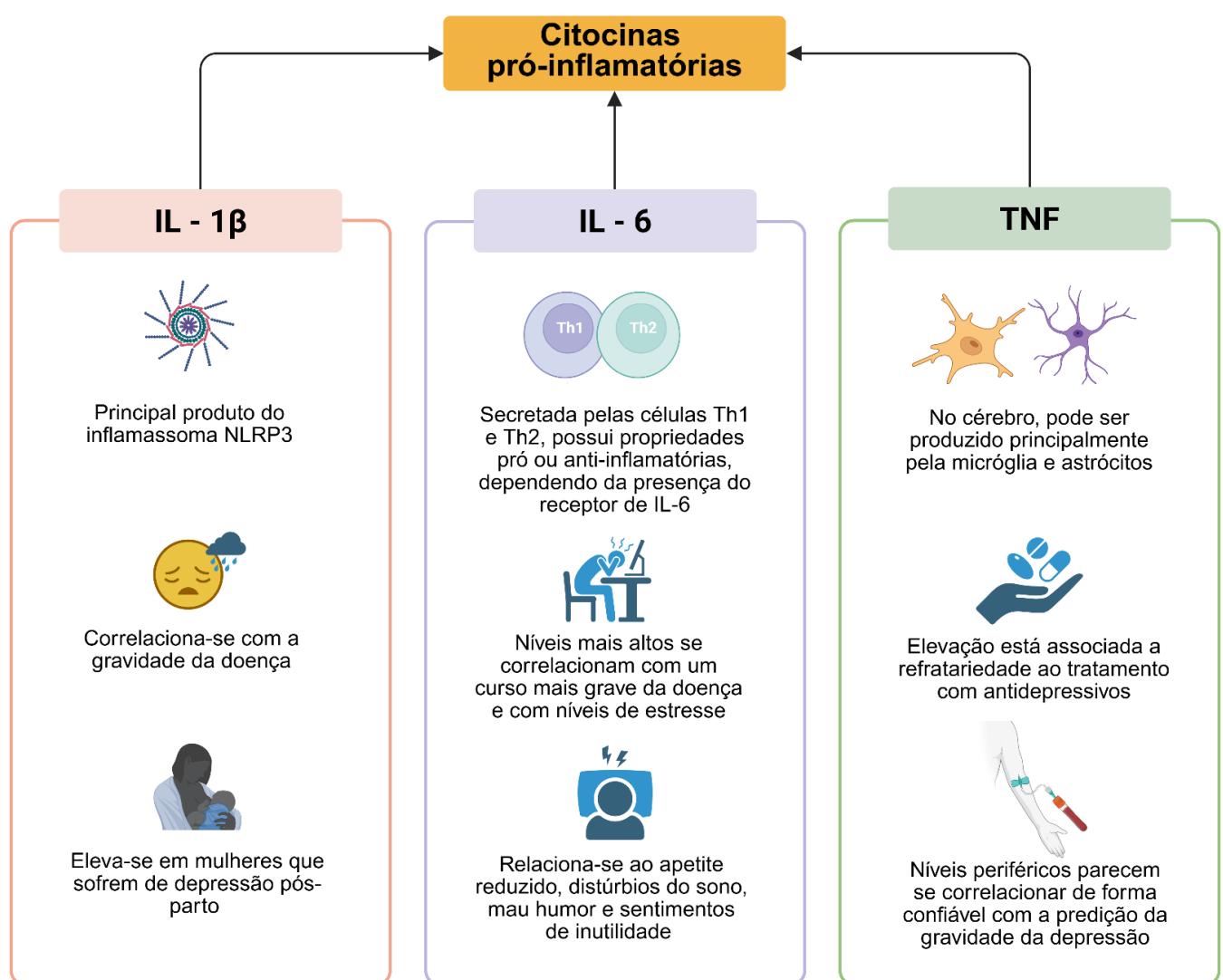
Além da IL-1 β e IL-6, níveis séricos elevados de TNF estão associados a uma maior probabilidade de transtorno depressivo maior (DAS *et al.*, 2021). Importante ressaltar que, em 1998, o nome oficial desta citocina foi alterado para TNF (sem a presença da letra grega alfa - α) (GRIMSTAD, 2016), termo oficial que será adotado nesta tese, embora a maioria dos trabalhos ainda use a terminologia desatualizada.

A literatura aponta que concentrações aumentadas de TNF estão associadas a alterações comportamentais e cognitivas, incluindo impacto na reatividade emocional e no agravamento de sintomas depressivos (UZZAN; AZAB, 2021). Inclusive, a utilização de antagonistas de TNF, como o infliximabe, tem se mostrado eficaz na atenuação de alterações comportamentais induzidas por mecanismos relacionados ao estresse e à inflamação. Esses achados reforçam o potencial terapêutico desses agentes no manejo de transtornos do humor, especialmente em subgrupos de pacientes com perfil inflamatório elevado (LU *et al.*, 2023).

Adicionalmente, investigações envolvendo receptores solúveis de TNF em transtornos psiquiátricos graves, como o transtorno bipolar e a depressão maior, têm demonstrado elevações significativas desses receptores. Esses achados fortalecem a hipótese de uma disfunção imunoinflamatória subjacente a esses quadros, sugerindo um envolvimento ativo do TNF nas

desordens do humor (GOH; TANG; TEE, 2023). A figura 5 traz as citocinas citadas e suas principais características frente aos transtornos de humor.

Figura 5 - Principais citocinas pró-inflamatórias relacionadas aos transtornos de humor e suas características



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o BioRender (www.biorender.com) com informações adaptadas de Harsanyi e colaboradores (2022).

Além das ações das citocinas liberadas pela inflamação, o estresse oxidativo também pode contribuir diretamente para o surgimento e piora dos transtornos de humor (SIPAHI *et al.*, 2023). O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre espécies reativas e defesas antioxidantes, o que leva à oxidação de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. Um maior nível de estresse oxidativo é indicativo de maiores espécies reativas de oxigênio circulando no corpo. O alto

estresse oxidativo está associado ao início e progressão de diabetes, aterosclerose, transtornos do humor e aumento da mortalidade (PALTA *et al.*, 2014).

A ação de radicais livres, como superóxido e radical hidroxila, ou de moléculas não radicalares, como o peróxido de hidrogênio e seus derivados — conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (RNS) — podem provocar danos às células e tecidos. Essas substâncias são geradas naturalmente no organismo durante processos metabólicos normais. Em níveis moderados, o estresse oxidativo e os radicais livres desempenham funções essenciais na regulação de diversas atividades biológicas, incluindo fagocitose, apoptose, fertilização do óvulo, ativação de determinados fatores de transcrição e participação em vias de sinalização celular (ĎURAčKOVÁ, 2014).

Na depressão e ansiedade são observadas concentrações reduzidas de antioxidantes e aumento dos níveis de estresse oxidativo (LEONARD; MAES, 2012). O estresse nitrosativo, marcado por níveis elevados de nitrito, está implicado em transtornos de humor, como depressão e ansiedade, por meio de diversos mecanismos patológicos. Estudos indicam que esse tipo de estresse promove a hiper-nitrosilação de proteínas, levando à inativação de enzimas essenciais e à disfunção mitocondrial, fatores que colaboraram para o desenvolvimento de transtornos, como a depressão (MORRIS *et al.*, 2016).

Pesquisas demonstram que níveis elevados de nitrito na saliva estão relacionados a um risco aumentado de desenvolvimento de depressão, apontando o nitrito como um possível biomarcador para a detecção precoce dessa condição (LIN; CHE; LI, 2025). Além disso, pacientes com depressão apresentam resposta autoimune dirigida ao óxido nítrico, o que também sugere que o estresse nitrosativo pode influenciar a modulação imunológica em transtornos do humor (SIMEONOVA *et al.*, 2021).

Já foi demonstrado que a nitrosilação de tirosina, um processo mediado por peroxinitrito, foi associada à depressão induzida por estresse, e a inibição desse processo conseguiu restaurar comportamentos normais em modelos animais (WILSON *et al.*, 2023). Também já é sabido que no cérebro, a expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) seguida de altos níveis de óxido nítrico (NO), aumentos nas citocinas pró-inflamatórias e alterações na morfologia cerebral estão entre os fatores que podem levar a doenças psiquiátricas (BISGAARD *et al.*, 2022).

Assim como o nitrito, outras espécies reativas são capazes de provocar danos. Uma das consequências desse estresse oxidativo descontrolado é a lesão de células, tecidos e órgãos. Há muito tempo se reconhece que altos níveis de radicais livres ou espécies reativas podem causar

danos diretos aos lipídios. Entre os diversos aldeídos que podem ser formados como produtos secundários durante essa peroxidação lipídica, o malondialdeído (MDA) se destaca por ser amplamente utilizado como um dos principais biomarcadores para peroxidação lipídica devido à sua fácil reação com ácido tiobarbitúrico (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014).

Evidências apontam que indivíduos com transtorno depressivo apresentam concentrações plasmáticas significativamente aumentadas de MDA em relação a indivíduos saudáveis, o que sugere o potencial uso do MDA como um biomarcador indicativo da depressão (A ALVAREZ-MON *et al.*, 2022; CAMKURT *et al.*, 2016). Uma meta-análise também já identificou que pacientes com transtornos bipolar possuem maior probabilidade de apresentar níveis mais elevados de MDA e os pacientes após o tratamento medicamentoso apresentaram níveis mais baixos do marcador em comparação com o valor basal (CAPUZZI *et al.*, 2022).

No contexto da ansiedade, concentrações elevadas de MDA também estão relacionadas à ansiedade pós-accidente vascular cerebral (AVC). Indivíduos que desenvolvem ansiedade após um AVC exibem níveis séricos de MDA significativamente superiores aos observados em pacientes sem sintomas ansiosos, sendo o MDA reconhecido como um preditor independente dessa condição. Esses achados indicam que a peroxidação lipídica com consequente liberação de MDA pode estar envolvida na gênese de sintomas ansiosos após eventos neurológicos agudos (LIU *et al.*, 2018).

Contrabalanceando as espécies reativas que provocam o estresse oxidativo, há a participação de principal defesa antioxidante celular, a glutationa reduzida (GSH), que pode atuar diretamente como antioxidante para proteger as células contra radicais livres e pró-oxidantes, e como cofator para enzimas antioxidantes e de desintoxicação, além do seu envolvimento em outros processos celulares, como o enovelamento de proteínas, a proteção de tios proteicos contra oxidação e reticulação, a degradação de proteínas com ligações dissulfeto e a regulação e proliferação do ciclo celular (AVERILL-BATES, 2023).

Por tudo que foi exposto, sabe-se que o estresse oxidativo exerce uma influência relevante na fisiopatologia da depressão. Nesse contexto, o GSH, principal antioxidante presente nos tecidos humanos, está fortemente associado à defesa antioxidante cerebral (ZALACHORAS *et al.*, 2020; GAWRYLUK *et al.*, 2010).

Um estudo que utilizou espectroscopia por ressonância magnética de prótons revelou alterações nos níveis de GSH em indivíduos diagnosticados com depressão, quando comparados a controles saudáveis (BELL *et al.*, 2024). Também já foi identificada uma redução nos níveis de GSH no córtex pré-frontal de pacientes com depressão e transtorno obsessivo-

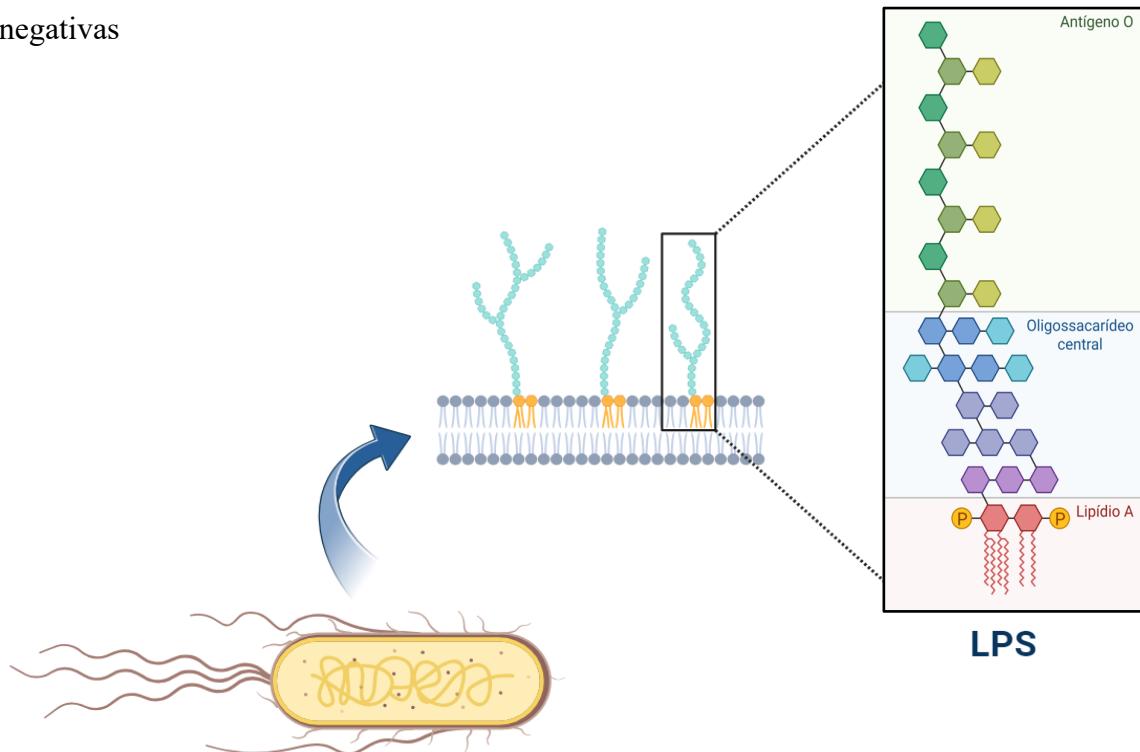
compulsivo (TOC) reforçando a hipótese do envolvimento do estresse oxidativo na fisiopatologia da depressão, além de uma correlação negativa entre os níveis de GSH e a gravidade dos sintomas depressivos e compulsivos (LEE *et al.*, 2025).

2.5 O lipopolissacarídeo (LPS) na neuroinflamação: seu papel na ativação do sistema imunológico e nos modelos de transtorno de humor

O lipopolissacarídeo (LPS) é um componente importante da membrana externa em bactérias Gram-negativas e desempenha um papel fundamental na patogênese desses microrganismos (MALDONADO; SÁ-CORREIA; VALVANO, 2016).

A molécula LPS tem uma estrutura compreendendo: (1) um lipídio A, a fração hidrofóbica que ancora o LPS à face externa da membrana bacteriana; (2) oligossacarídeo central, que junto com o lipídio A, contribui para manter a integridade da membrana externa e (3) o antígeno O, que é conectado ao oligossacarídeo central e consiste em um polímero feito de unidades de oligossacarídeos repetidas em contato direto com o meio externo (WHITFIELD; TRENT, 2014). A figura 06 traz a representação simplificada da estrutura do LPS.

Figura 6 - Representação simplificada da estrutura do lipopolissacarídeo de bactérias Gram-negativas



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o BioRender (www.biorender.com) com informações de Whitfield e Trent (2014).

O LPS pode ser reconhecido pelo receptor do tipo toll 4 (TLR4 - *Toll-like receptor 4*), presente na superfície de diferentes células imunes do hospedeiro, como monócitos, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. O TLR4 atua na forma de dímero e depende da proteína MD-2 (*Myeloid Differentiation factor 2*) para reconhecer o LPS. Outras proteínas, como CD14 (um tipo de receptor de reconhecimento de padrão) e da Proteína de Ligação ao Lipopolissacarídeo (LBP, do inglês *LPS-binding protein*), auxiliam na apresentação do LPS à MD-2. Após a ativação pelo LPS, o TLR4 recruta outras moléculas, como a MyD88 (*Myeloid differentiation primary response 88*) - uma proteína adaptadora intracelular essencial na transdução de sinais - para propagar o sinal. Essas moléculas adaptadoras, por sua vez, ativam outras proteínas intracelulares (incluindo do tipo quinases) amplificando o sinal e promovendo a indução de genes envolvidos na resposta inflamatória (WANG; QUINN, 2010).

Destaca-se a ativação do Fator Nuclear kappa B (NF- $\kappa\beta$ - *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), que é um regulador chave da expressão gênica relacionada à inflamação em células humanas, e o LPS pode estimular a expressão do NF- $\kappa\beta$ ligando-se ao TLR4 (XU *et al.*, 2021).

O LPS e as consequências da ativação do sistema imunológico por ele mediado, podem danificar a barreira hemato-encefálica (BHE) por meio de uma variedade de mecanismos, assim, a BHE danificada pode promover o desenvolvimento de múltiplas transtornos envolvendo o SNC (SWEENEY *et al.*, 2019).

Nesse sentido, a administração de LPS tem sido utilizada como modelo de indução de sintomas semelhantes à depressão e ansiedade em camundongos, sendo comumente usada para estudar os mecanismos dos transtornos de humor associados à inflamação e os efeitos terapêuticos de medicamentos. Existem vários modelos de indução de sintomas semelhantes aos depressivos e ansiosos induzidos por LPS em camundongos, diferindo a partir das características dos animais e dos parâmetros metodológicos (YIN *et al.*, 2023).

No geral, após a administração periférica de LPS, em cerca de 6 horas a produção de citocinas pró-inflamatórias leva aos comportamentos de doença (chamado de *sickness behavior*), incluindo febre, falta de apetite e redução da interação social, porém, esse comportamento é encerrado por moléculas anti-inflamatórias endógenas. No entanto, quando a produção de citocinas pró-inflamatórias continua e a quantidade de citocinas anti-inflamatórias produzidas é insuficiente para contrapor a quantidade de citocinas pró-inflamatórias, comportamentos semelhantes à depressão e ansiedade são induzidos e atingem o pico máximo em aproximadamente 24 horas após a exposição de LPS (SHIRAYAMA *et al.*, 2015).

Uma meta-análise realizada por Yan e colaboradores (2023) que analisou modelos de depressão induzidos por lipopolissacarídeos em camundongos incluiu 170 estudos publicados entre os anos de 2017 e 2022 e constatou uma diversidade de protocolos com tempos de administração de LPS diferentes. Alguns incluíam administração única e outros múltiplas injeções de LPS para induzir depressão. As doses de LPS de 0,5 mg/kg e 0,83 mg/kg administradas por via intraperitoneal foram as mais descritas na literatura. Um total de 6 sorotipos de LPS foram usados nos estudos, sendo o 055:B5 o sorotipo de LPS mais frequentemente usado.

2.6 O papel das células do Sistema Nervoso Central nos transtornos de humor: destaque para os neurônios e astrócitos

O SNC abriga células imunológicas especializadas denominadas micróglia, que representam aproximadamente 5% a 10% da população celular total do cérebro. Essas células desempenham funções análogas às dos macrófagos. Suas principais atribuições envolvem a preservação da homeostase cerebral e a atuação imediata frente a injúrias ou processos infecciosos. A micróglia é capaz de adotar diversos perfis de ativação em resposta a diferentes sinais ambientais. Além disso, sua ativação tem sido observada em diversas condições neurodegenerativas e transtornos neuropsiquiátricos, nos quais pode contribuir para a progressão da patologia por meio da indução de respostas neuroinflamatórias (BEUREL; TOUPS; NEMEROFF, 2020).

De fato, esse tipo de célula é considerada uma das mais importantes no contexto da neuroinflamação. No entanto, é válido lembrar que, embora citocinas pró-inflamatórias sejam produzidas predominantemente por células imunes, incluindo a microglia no SNC, outras células do SNC, como neurônios e astrócitos, também produzem essas substâncias, obtendo também um papel fundamental no contexto da neuroinflamação (MACGILLIVRAY; KOLLMANN, 2014).

Sabe-se que a toxicidade neural excitatória, a deficiência de monoaminas, a autofagia e a apoptose de neurônios são processos envolvidos no início da depressão (SHU *et al.*, 2019; LUDKA *et al.*, 2016). Nesse contexto, a autofagia consiste em um mecanismo celular essencial pelo qual componentes citoplasmáticos, como proteínas e organelas danificadas, são degradados e reciclados através da via lisossomal. Esse processo contribui para a geração de energia, preservação da homeostase celular e regulação de eventos fundamentais como a sobrevivência e a morte celular (FLEMING; RUBINSZTEIN, 2020).

A morte por apoptose de células neuronais atenua a neurogênese hipocampal adulta e induz comportamentos depressivos e defeitos cognitivos, sugerindo que a autofagia aberrante e a consequente apoptose de neurônios é um gatilho para o surgimento do comportamento depressivo (JUNG *et al.*, 2019). A autofagia hipocampal, inclusive, é capaz de diminuir a expressão de BDNF e induzir comportamento depressivo em animais experimentais (ZHANG *et al.*, 2020).

Nesse sentido, para estudar os mecanismos de morte celular de neurônios é muito comum utilizar experimentos *in vitro* em laboratório. A linhagem celular PC12 (PC - *Pheochromocytoma Cells*) é uma das mais comumente usadas em pesquisas em neurociência, incluindo estudos sobre neurotoxicidade, neuroproteção, neurosecreção, neuroinflamação e sinaptogênese (WIATRAK *et al.*, 2020).

As células de feocromocitoma de rato PC12 oferecem um modelo amplamente utilizado em neurobiologia, pois exibem algumas características de neurônios dopamínergicos maduros (WANG *et al.*, 2015). Embora essas linhas celulares se originem de um feocromocitoma da medula adrenal de rato, elas foram amplamente caracterizadas para neurosecreção (catecolaminas, dopamina e norepinefrina) e a presença de canais iônicos e receptores de neurotransmissores (WESTERINK; EWING, 2007).

Além dos neurônios, os astrócitos também possuem papel relevante nas funções do SNC. Por muitos anos, a principal função dos astrócitos foi considerada apenas de suporte passivo dos neurônios. Porém, atualmente, sabe-se que os astrócitos têm um papel importante tanto no funcionamento normal do SNC quanto no desenvolvimento de diversas patologias (VERKHRATSKY *et al.*, 2019). Ao contrário de um suporte passivo, os astrócitos participamativamente no processamento de informações através da interação com neurônios e sinapses. Um dos mecanismos mais estudados desta interação é a liberação de suas próprias moléculas de sinalização, denominadas gliotransmissores (DURKEE *et al.*, 2021).

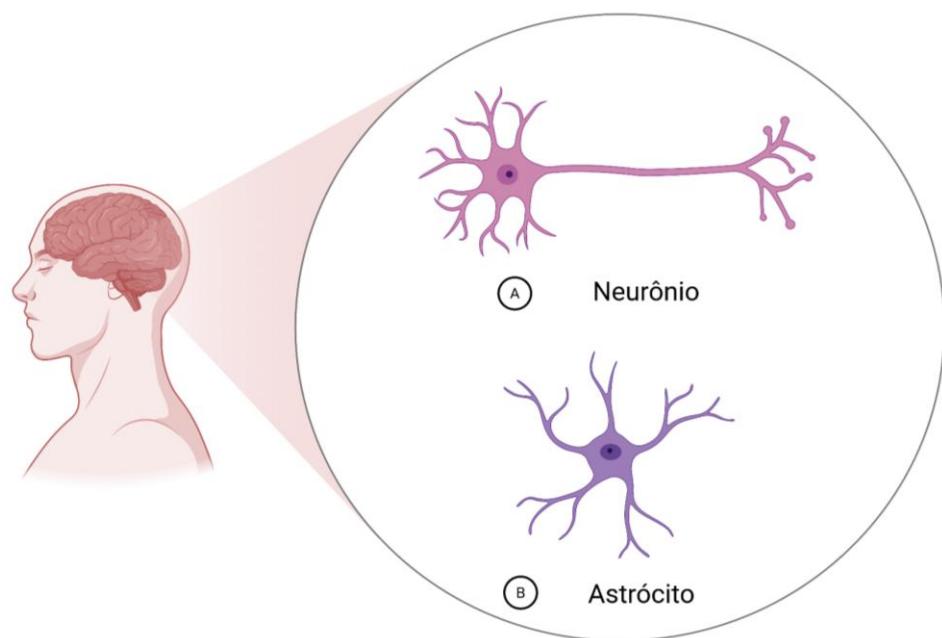
Especialmente no córtex pré-frontal, os astrócitos estão criticamente envolvidos no desenvolvimento da depressão. O estresse pode alterar a função dos astrócitos, podendo resultar em sua apoptose. O sistema BDNF-TrkB (via de sinalização neurotrófica em que o BDNF se liga ao seu receptor TrkB, promovendo neuroplasticidade, sobrevivência neuronal e função sináptica) não só desempenha um papel fundamental na depressão e na normalização da resposta ao estresse, como também parece ser um fator importante no funcionamento dos astrócitos (DOLOTOV *et al.*, 2022).

Além disso, os astrócitos são uma fonte de fatores neurotróficos, podendo regular a transmissão sináptica e os níveis de neurotransmissores na fenda sináptica. Assim, os astrócitos são atores-chave nos processos, cuja desregulamentação é considerada um componente importante da patogênese da depressão. (QUESSEVEUR; GARDIER; GUIARD, 2013; MURPHY-ROYAL; GORDON; BAINS, 2019; ZHOU *et al.*, 2019).

Entre as funções mais relevantes dos astrócitos, além de fornecerem suporte estrutural aos neurônios, destaca-se a expressão e secreção de fatores neurotróficos que regulam o funcionamento e a viabilidade dos neurônios, como já citado o BDNF, mas também o FGF (fator de crescimento de fibroblastos) o NGF (fator de crescimento nervoso) e o GDNF (fator neurotrófico derivado de células gliais) (PÖYHÖNEN; ER; DOMANSKYI; AIRAVAARA, 2019).

Sendo assim, os astrócitos também estão diretamente envolvidos na regulação do humor e, quando seu funcionamento é prejudicado devido a neuroinflamação, podem surgir sintomas semelhantes aos da depressão. Além disso, o estresse pode causar uma resposta inflamatória primária própria dos astrócitos, o que também pode contribuir para o desenvolvimento de transtornos do humor, como depressão e ansiedade (DOLOTOV *et al.*, 2022). A figura 7 abaixo demonstra de forma ilustrativa o neurônio e astrócito no SNC.

Figura 7 - Representação ilustrativa da morfologia de um neurônio (A) e astrócito (B) humanos que compõem o Sistema Nervoso Central



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o BioRender (www.biorender.com).

2.7 Disfunções mitocondriais sob o cenário dos transtornos de humor: perspectivas neurobiológicas e funcionais

As mitocôndrias são organelas celulares encontradas em quase todas as células eucarióticas. São mais conhecidas por desempenhar um papel fundamental na produção de energia e por estarem envolvidas em atividades fisiológicas essenciais, como metabolismo energético e sobrevivência celular (IWATA *et al.*, 2023).

Sabe-se que a disfunção mitocondrial não apenas prejudica a produção de energia, mas também pode estar relacionada a distúrbios metabólicos e neuropsiquiátricos, como a depressão e ansiedade (BÜTTIKER *et al.*, 2023).

As mitocôndrias desempenham um papel fundamental na preservação da integridade dos neurônios, exercendo diversas funções cruciais, especialmente na regulação do metabolismo celular e na mediação de mecanismos que determinam a sobrevivência ou morte celular. Assim, lesões mitocondriais ou falhas funcionais estão fortemente relacionadas ao desenvolvimento de distúrbios neurológicos (BADER; WINKLHOFER, 2020).

Sabe-se também que a disfunção mitocondrial induz inflamação, enquanto a inflamação também resulta em disfunção mitocondrial (WILKINS; SWERDLOW, 2015). Além disso, a disfunção da mitocôndria está diretamente associada ao aumento dos níveis de estresse oxidativo (VAVÁKOVÁ; ĎURAčKOVÁ; TREBATICKÁ, 2015).

Inclusive, o estresse promove a ativação do eixo HPA, resultando em níveis elevados de glicocorticoides que exercem efeitos deletérios sobre a função mitocondrial. Esse impacto negativo inclui danos ao DNA mitocondrial, disfunções na cadeia transportadora de elétrons e aumento na geração de espécies reativas de oxigênio. Tais alterações desencadeiam cascatas inflamatórias e comprometem a neuroplasticidade, processos fundamentais na fisiopatologia dos transtornos do humor (MORELLA; BRAMBILLA; MORÈ, 2022).

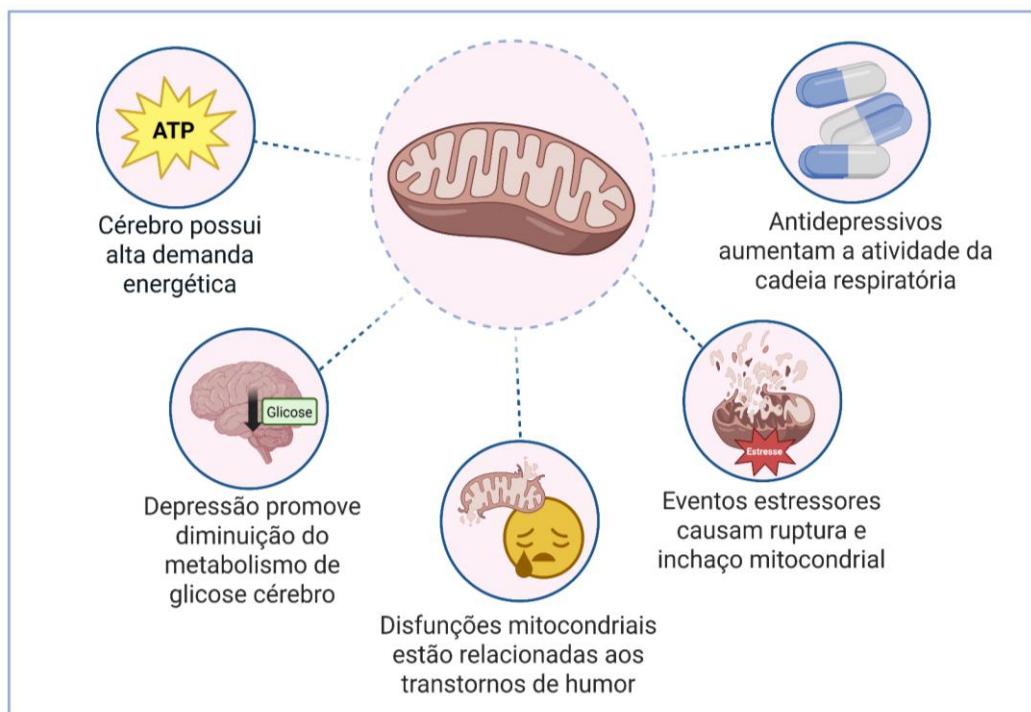
É importante destacar que as mitocôndrias desempenham um papel essencial no funcionamento cerebral, uma vez que o cérebro possui uma elevada demanda energética e uma capacidade limitada de armazenar energia na forma de glicogênio. Considerando que mais de 95% do ATP cerebral é gerado a partir do metabolismo da glicose, torna-se plausível a hipótese de que a redução nos níveis de ATP, decorrente de disfunções mitocondriais, esteja profundamente associada ao desenvolvimento de diversas enfermidades neurológicas, incluindo a depressão (WANG *et al.*, 2023; GŁOMBIK *et al.*, 2023).

Interessante destacar que alguns estudos demonstram que pacientes com diabetes têm maior risco de depressão, e a ocorrência de diabetes mellitus e depressão pode estar associada ao metabolismo anormal da glicose e à subsequente diminuição do ATP no cérebro, mostrando também a importância do metabolismo energético e das mitocôndrias em doenças ligadas ao SNC (DELANOGARE *et al.*, 2022; RUEGSEGGER *et al.*, 2019).

De fato, a dinâmica mitocondrial — compreendida como os processos de fusão, fissão, biogênese e mitofagia — é crucial para a manutenção de uma população mitocondrial saudável. Disfunções nesses processos levam ao acúmulo de mitocôndrias danificadas, aumento do estresse oxidativo e inflamação, todos implicados na patogênese da depressão e ansiedade (PAPAGEORGIOU; FILIOU, 2024).

Dessa forma, a literatura sustenta que a disfunção mitocondrial contribui de forma multifatorial para a etiologia e manutenção dos transtornos do humor, afetando desde a bioenergética e a dinâmica mitocondrial até a regulação do estresse oxidativo, inflamação e neurotransmissão. A restauração da função mitocondrial emerge como um alvo terapêutico promissor para depressão e ansiedade (CIUBUC-BATCU *et al.*, 2024). A figura 8 resume os principais fatos relacionados às mitocôndrias e os transtornos que afetam o SNC.

Figura 8 - Relações entre a mitocôndria, suas funções e transtornos do Sistema Nervoso Central



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o BioRender (www.biorender.com) com informações de Jiang, Wang e Sheng (2024).

2.8 A ciclooxygenase-2 e sua interface com os transtornos de humor de etiologia neuroinflamatória: o protagonismo do celecoxibe

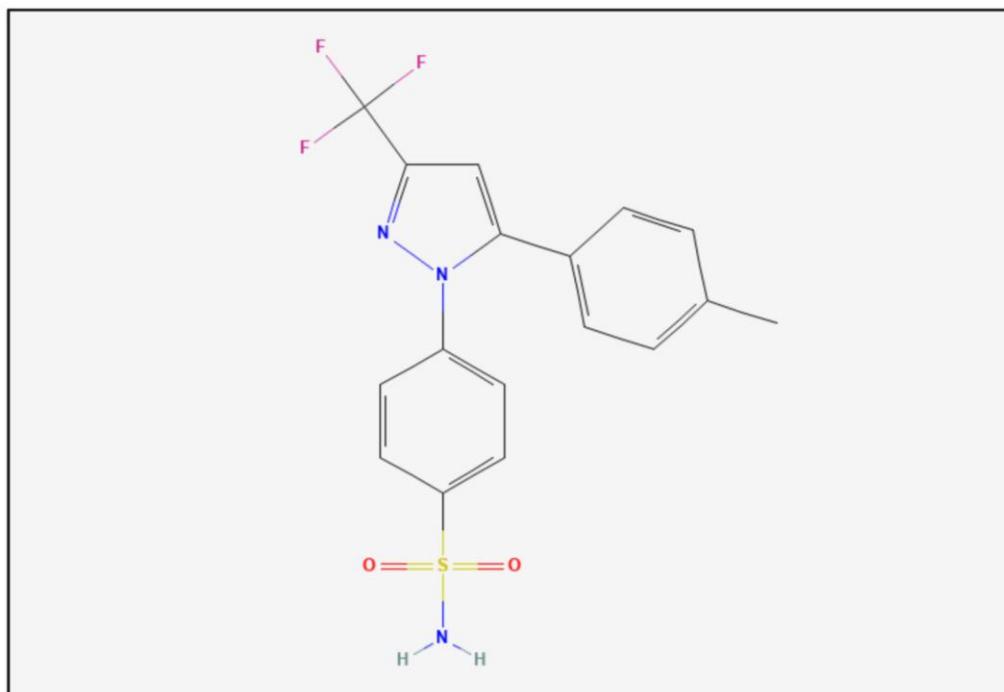
A inflamação no SNC está geralmente associada à atuação de duas isoformas da enzima ciclooxygenase: COX-1 e COX-2. A COX-1 encontra-se constitutivamente expressa em neurônios localizados no córtex pré-frontal e no hipocampo, enquanto a COX-2 é induzida e amplamente superexpressa em resposta a processos inflamatórios, tanto na microglia quanto em neurônios ativados. Durante a neuroinflamação, diversos mediadores inflamatórios promovem a ativação da COX-2, que, por sua vez, catalisa a síntese e liberação de prostaglandinas através da via metabólica do ácido araquistônico. Entre essas prostaglandinas, destaca-se a prostaglandina E2 (PGE2), cuja atuação é particularmente relevante na ativação da microglia e dos macrófagos. Além disso, os receptores de PGE2 são expressos majoritariamente nas células da microglia, reforçando o papel central dessa via na amplificação das respostas neuroinflamatórias (SIL; GHOSH, 2016).

A enzima COX-2 desempenha um papel fundamental na mediação de processos inflamatórios e está intimamente relacionada à neurobiologia dos transtornos do humor. Estudos experimentais e translacionais demonstram que a elevação da expressão de COX-2 no SNC, particularmente nas regiões do hipocampo e córtex, correlaciona-se com maior vulnerabilidade ao estresse, anedonia e manifestações comportamentais depressivas em modelos animais (STREKALOVA *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2014).

O aumento da atividade da COX-2 leva à elevação de prostaglandinas pró-inflamatórias, como PGE2, e à ativação de vias neuroinflamatórias, que contribuem para disfunção sináptica, redução de neurogênese e alterações em neurotransmissores relacionados ao humor (HE *et al.*, 2022).

Nesse contexto, o celecoxibe (CLX) é um anti-inflamatório não esteroidal (AINE) que bloqueia seletivamente a atividade da COX-2, reduzindo assim a superativação de mediadores inflamatórios que causam neuroinflamação (DEARDORFF; GROSSBERG, 2016). Do ponto de vista químico, o CLX é um composto pirazol com nome IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry* - União Internacional de Química Pura e Aplicada) de 4-[5-(4-metilfenil)-3-(trifluormetil)pirazol-1-il]benzenossulfonamida. A seletividade da COX-2, a atividade anti-inflamatória e a eficácia *in vivo* são definidas pela presença de uma fração sulfonamida em sua estrutura (HASSAN *et al.*, 2024). Sua estrutura química está representada na figura 9.

Figura 9 - Estrutura química do celecoxibe



Fonte: Adaptado de *National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 2662, Celecoxib* (2025). Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Celecoxib>>. Acesso em maio de 2025.

O CLX apresenta elevada afinidade por proteínas plasmáticas, principalmente pela albumina, com uma taxa de ligação em torno de 97%. Sua biotransformação ocorre predominantemente no fígado, mediada pelas enzimas do citocromo P450, especialmente CYP2C9 e CYP3A4. Os metabólitos hepáticos resultantes da sua degradação são compostos inativos, incluindo derivados hidroxilados, carboxilados e conjugados, os quais são eliminados principalmente pela urina e fezes (BAK; KRUPA, 2023).

No final de 1998, o CLX foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento sintomático da osteoartrite e da artrite reumatoide em adultos. Este fármaco demonstrou eficácia analgésica comparável à de outros anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), como o diclofenaco e o ibuprofeno. No entanto, destaca-se por apresentar um perfil de segurança gastrointestinal mais favorável, com menor incidência de efeitos adversos em comparação aos AINEs tradicionalmente utilizados (SIMON *et al.*, 1999).

O CLX é amplamente utilizado na clínica, porém, é conhecida a sua associação com risco aumentado de eventos cardiovasculares trombóticos, incluindo infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral, especialmente com uso crônico e em pacientes com doença cardiovascular pré-existente ou fatores de risco cardiovascular. Este risco é uma preocupação

de classe para todos os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), tanto seletivos quanto não seletivos, embora o perfil de risco varie entre os diferentes agentes (WHELTON *et al.*, 2006).

O principal mecanismo proposto para explicar a cardiototoxicidade dos inibidores seletivos da COX-2 envolve principalmente a inibição da produção de prostaciclina (PGI_2), um eicosanoide com propriedades vasodilatadoras, antiagregantes plaquetárias e protetoras contra trombose e aterogênese. A inibição da COX-2 reduz a síntese de PGI_2 no endotélio vascular, removendo esse efeito protetor e favorecendo um ambiente pró-trombótico, com maior risco de eventos cardiovasculares como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (ARORA *et al.*, 2020). Além disso, a inibição da prostaciclina no rim pode levar à retenção de sódio e água, causando hipertensão (SOORIAKUMARAN, 2006).

No entanto, embora o CLX seja conhecido como medicamento cardiotóxico, estudos randomizados de grande escala, como o estudo PRECISION, indicaram que o CLX, quando administrado em doses moderadas próximas a 200 mg/dia, apresenta risco cardiovascular comparável ao ibuprofeno e ao naproxeno. Esses achados referem-se à incidência de eventos cardiovasculares graves — incluindo morte cardiovascular, infarto do miocárdio não fatal e acidente vascular cerebral não fatal — em pacientes portadores de osteoartrite ou artrite reumatoide com risco cardiovascular elevado. A ocorrência absoluta desses eventos foi semelhante entre os grupos tratados com CLX, naproxeno e ibuprofeno, o que sugere que, dentro das doses aprovadas, o CLX não implica um risco cardiovascular superior ao de outros anti-inflamatórios não esteroidais comumente utilizados (NISSEN *et al.*, 2016; SOLOMON *et al.*, 2018).

Mais recentemente, outros usos clínicos do CLX foram estudados. Trabalhos experimentais sugerem que a inibição farmacológica da COX-2, por meio de CLX, pode diminuir alguns comportamentos relacionados aos transtornos de humor em modelos animais submetidos a estresse ou inflamação sistêmica (MORGAN *et al.*, 2020; GAMBLE-GEORGE *et al.*, 2016). Além da depressão e ansiedade, já foi estudado os efeitos do CLX na esquizofrenia, demonstrando efeitos benéficos principalmente nos estágios iniciais da doença (MARINI *et al.*, 2016). No entanto, em todos os casos, mecanismos celulares e mecanismos de ação ainda não foram completamente definidos.

Um trabalho recente do Laboratório de Neurofarmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC) demonstrou que dois inibidores da COX-2 (celecoxibe e etoricoxibe) foram capazes de reduzir sintomas semelhantes aos da depressão e ansiedade em camundongos Swiss,

sugerindo que a depleção do estresse oxidativo e das citocinas pró-inflamatórias seriam a chave para o sucesso terapêutico das drogas estudadas (SILVA *et al.*, 2024).

Os dados de uma meta-análise indicaram que a administração de 400 mg diários de CLX pode exercer efeitos benéficos no tratamento da depressão. O fármaco foi utilizado em regime de coadministração com antidepressivos, incluindo sertralina (50 a 200 mg/dia), fluoxetina (40 mg/dia), escitalopram (20 mg/dia) ou reboxetina (4 a 10 mg/dia). Contudo, os autores ressaltaram que nem todos os indivíduos tratados apresentavam níveis anormalmente elevados de citocinas pró-inflamatórias, sendo provável que, nesses casos, o CLX não proporcionou melhora significativa do quadro depressivo, estando condicionado seu sucesso terapêutico aos quadros depressivos associados à inflamação (WANG; WU; WANG, 2022).

No transtorno bipolar, o CLX também já foi testado e uma revisão concluiu que era mais provável atingir a remissão clínica após 6 a 8 semanas de administração adjuvante de CLX nesse transtorno (BARTOLI *et al.*, 2021). No transtorno obsessivo compulsivo (TOC), já foi demonstrado que a combinação de 400 mg de CLX com 20 mg de fluoxetina por dia mostrou uma melhora nos sintomas obsessivos e compulsivos (SAYYAH *et al.*, 2011).

Dessa forma, inibição seletiva da COX-2 abre vários caminhos para novos alvos terapêuticos, uma vez que a inflamação é a fonte de múltiplas doenças neuropsiquiátricas. No entanto, esses avanços na farmacoterapia somente serão possíveis após compreender os possíveis mecanismos de ação nos transtornos do humor, a atuação da droga a nível celular, dentre outros aspectos (BAK; KRUPA, 2023).

3 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Considerando a alta prevalência dos transtornos de humor, em especial da depressão e ansiedade no mundo, suas consequências na saúde pública global e na economia, além do aumento de casos durante e após a recente pandemia de COVID-19 (ZHOU *et al.*, 2025; LIU *et al.*, 2024), é essencial que a comunidade científica faça esforços para produzir estudos que possam compreender cada vez melhor essas doenças. Consequentemente, o entendimento mais amplo proporciona o advento de mais opções terapêuticas.

Assim, a busca por novas drogas para depressão e ansiedade é essencial, tendo em vista, ainda, que a falha na resposta ou remissão ao tratamento farmacológico inicial é comum nesses transtornos e já foi estimada em 40-50% em geral (ROY-BYRNE, 2015).

Nesse sentido, é sabido que o desenvolvimento de novas drogas é um processo que demora muitos anos e necessita de uma robusta aplicação financeira. Dessa forma, o reposicionamento de fármacos, também denominado reperfilamento ou redescoberta, configura-se como uma das estratégias mais promissoras para agilizar o desenvolvimento de novas aplicações clínicas para medicamentos já conhecidos. Diversos exemplos bem-sucedidos de redescoberta ou de substituição terapêutica de moléculas previamente consideradas ineficazes ou inseguras em ensaios iniciais reforçam o interesse na exploração de novas vias terapêuticas para esses compostos (BAK; KRUPA, 2023).

Nessa perspectiva, emerge a busca por novos candidatos para a farmacoterapia da depressão e da ansiedade através de um reposicionamento de drogas já bem caracterizadas. A descoberta de novos medicamentos com ação sobre a teoria neuroinflamatória é fundamental para abordar a heterogeneidade desses transtornos, melhorar as taxas de resposta, tratar sintomas refratários e avançar para uma farmacoterapia baseada nesses mecanismos (PATIL; GAWLI; BHATT, 2023).

Nesse cenário, surge o celecoxibe como droga promissora a ser redirecionada para o tratamento desses transtornos. Primeiro, devido ao fato de que estudos clínicos vêm demonstrando eficácia no uso de celecoxibe no tratamento de doenças psiquiátricas (GEDEK *et al.*, 2023; KÖHLER *et al.*, 2014), no entanto, sem definir os reais mecanismos envolvidos no potencial sucesso terapêutico.

Além disso, nosso grupo de pesquisa no Laboratório de Neuropsicofarmacologia da Universidade Federal do Ceará, publicou em 2024 um estudo rastreando os efeitos do celecoxibe e do etoricoxibe em um modelo de neuroinflamação. O trabalho foi realizado em camundongos Swiss e além da melhora dos parâmetros dos testes comportamentais sugestivos

de depressão e ansiedade, as drogas testadas também diminuíram os indicadores inflamatórios e relacionados ao estresse oxidativo (SILVA *et al.*, 2024). Resolveu-se, portanto, no presente trabalho, dar continuidade a este estudo, mudando o cenário e adicionando metodologias mais robustas, principalmente relacionadas aos efeitos celulares da droga.

Já é conhecido que a linhagem de camundongos C57BL/6 é mais suscetível ao comportamento depressivo, ao mesmo tempo, parece fornecer dados mais precisos da eficácia de medicamentos testados (LUCKI; DALVI; MAYORGA, 2001). Assim, para compreender melhor as ações do celecoxibe, optou-se por mudar a linhagem dos animais, incluir mais testes comportamentais (*in vivo*) e de cultura celular (*in vitro*) de duas importantes células do Sistema Nervoso Central: os neurônios e astrócitos. Além disso, estudamos as repercussões da neuroinflamação e da droga nas mitocôndrias dessas células, organelas essenciais na homeostase do SNC (BÜTTIKER *et al.*, 2023).

Importante destacar que o uso de modelos animais de indução de comportamentos semelhantes à depressão e ansiedade, baseados em neuroinflamação, é ideal para elucidar melhor o mecanismo de ação de potenciais drogas antidepressivas (YIN *et al.*, 2023). Por esse motivo, é relevante o uso de lipopolissacarídeo como modelo de neuroinflamação neste trabalho.

Portanto, por tudo que foi exposto, compreender melhor como o celecoxibe e o próprio lipopolissacarídeo desempenham seus efeitos nos transtornos de humor e suas implicações nos neurônios e astrócitos é essencial para avançar no entendimento dessas doenças e propor novas farmacoterapias.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos do celecoxibe (CLX) sobre comportamentos tipo-depressivos e ansiosos, bem como parâmetros inflamatórios, oxidativos e alterações celulares do Sistema Nervoso Central em modelos experimentais de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo (LPS) *in vivo* e *in vitro*.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a variação ponderal provocada pelo CLX e LPS nos animais submetidos ao modelo de neuroinflamação;
- Mensurar os efeitos do CLX nos parâmetros relacionados à locomoção e exploração de animais submetidos ao modelo de neuroinflamação por LPS;
- Analisar os efeitos do CLX no comportamento do tipo-depressivo de animais submetidos ao modelo de neuroinflamação por LPS;
- Aferir os efeitos do CLX no comportamento do tipo-ansioso de animais submetidos ao modelo de neuroinflamação por LPS;
- Determinar os efeitos do CLX sobre a memória espacial de trabalho nos animais submetidos ao modelo de neuroinflamação por LPS;
- Verificar os efeitos do CLX em marcadores inflamatórios de áreas cerebrais de animais submetidos ao modelo de neuroinflamação por LPS;
- Definir os efeitos do CLX sobre marcadores de estresse oxidativo de áreas cerebrais de animais submetidos ao modelo de neuroinflamação por LPS;
- Estimar os efeitos do CLX sobre a viabilidade de astrócitos e células PC12;
- Conhecer os efeitos do CLX sobre os mecanismos de morte celular em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS;
- Visualizar os efeitos do CLX na morfologia estrutural de astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS;
- Identificar os efeitos do CLX sobre a produção de espécies reativas de oxigênio em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS;

- Entender os efeitos de CLX sobre o potencial transmembrânico mitocondrial em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Ensaios *in vivo*

5.1.1 Animais utilizados

Foram utilizados camundongos machos da linhagem C57BL/6, com peso variando entre 17 e 25 g, provenientes do Biotério Prof. Eduardo Torres, vinculado à Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram mantidos em grupos de seis indivíduos por caixa, alojados em gaiolas de polipropileno com dimensões de 42 x 20,5 x 20 cm, e receberam alimentação padrão e água filtrada à vontade. As condições ambientais foram controladas, com temperatura média de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e ciclo claro/escuro de 12 horas.

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos conforme normas éticas para o uso de animais em pesquisa, com aprovação prévia da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o número 7728040422 (ANEXO A). O manejo dos animais seguiu os princípios éticos estabelecidos pelo Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório do *National Institutes of Health* (NIH, 2011). Todos os esforços foram realizados para minimizar o sofrimento e reduzir o número de animais utilizados nos experimentos.

5.1.1 Substâncias utilizadas

O celecoxibe - CLX (Celebra®, Viatris Pharmaceuticals LLC, Vega Baja, Porto Rico) foi diluído em solução salina a 0,9%, formando uma suspensão e administrada por via oral através de gavagem, na concentração de 20 mg/kg. A concentração escolhida já foi descrita em trabalhos anteriores que utilizaram modelos semelhantes de neuroinflamação (FAN *et al.*, 2013; KAIZAKI *et al.*, 2013).

O escitalopram - ESC (Oxalato de escitalopram, Sanofi Medley Farmacêutica Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) também foi preparado em solução salina a 0,9%, formando uma suspensão e administrada por via oral através de gavagem, na concentração de 10 mg/kg. A escolha da concentração foi baseada em estudos anteriores que utilizaram a droga em modelos de depressão (BUSSMANN *et al.*, 2024; MELLO *et al.*, 2021; DIONISIE *et al.*, 2021; DRAGON *et al.*, 2025). Todas as suspensões e soluções orais foram administradas em um volume de 0,1 ml a cada 10 g de peso corporal do animal.

Para a indução da neuroinflamação, foi utilizado lipopolissacarídeo (LPS) extraído de *Escherichia coli*, sorotipo 055:B5 (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, EUA), na

concentração de 0,5 mg/kg, diluído em solução salina estéril a 0,9% e administrado por via intraperitoneal (i.p.) conforme modelo publicado por Silva e colaboradores (2024).

5.1.3 Delineamento experimental

Antes de iniciar o protocolo experimental, os animais foram recebidos no biotério e permaneceram por quatorze dias em adaptação. Isso significa que foram mantidas caixas com seis camundongos que se ambientalizaram entre si antes do início do modelo. Além disso, foi garantida a permanência dos mesmos roedores na mesma caixa durante todo protocolo. Esse procedimento possui como objetivo a ambientalização entre animais.

Após o período de adaptação, foram realizadas administrações intraperitoneais (i.p.) de LPS, uma vez por dia durante o período da manhã, por dez dias consecutivos. Do 6º ao 10º dia do protocolo, foi incluída a administração oral (v.o.) por gavagem das demais substâncias, uma hora após a administração do LPS. A figura 10 mostra o delineamento experimental detalhado.

Os grupos experimentais foram divididos da seguinte forma:

I) Grupo CONTROLE (SAL + SAL): Injeções intraperitoneais (i.p.) de solução salina estéril a 0,9% (SAL) durante dez dias consecutivos e, paralelamente, a partir do 6º até o 10º dia, administração oral (v.o) por gavagem de solução salina 0,9% (SAL);

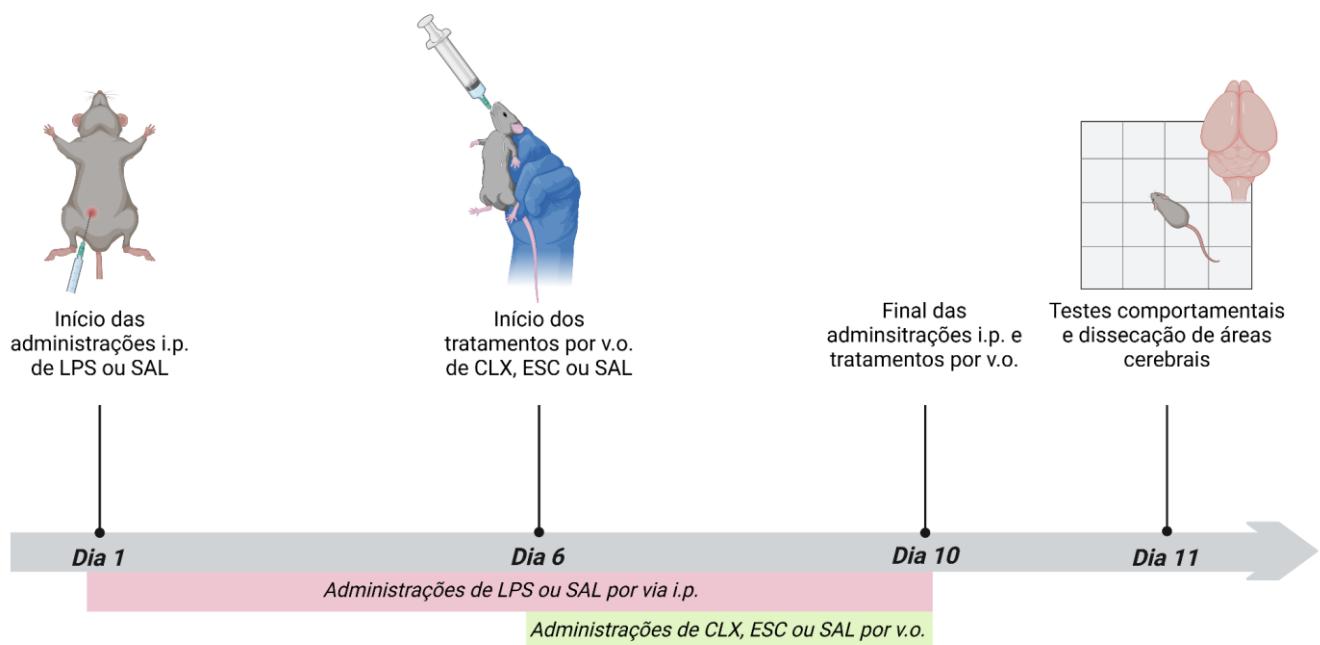
II) Grupo LPS (LPS + SAL): Injeções intraperitoneais (i.p.) de solução de LPS 0,5 mg/kg durante dez dias consecutivos e, paralelamente, a partir do 6º até o 10º dia, administração oral (v.o) por gavagem de solução salina 0,9% (SAL);

III) Grupo CLX (LPS + CLX): Injeções intraperitoneais (i.p.) de solução de LPS 0,5 mg/kg durante dez dias consecutivos e, paralelamente, a partir do 6º até o 10º dia, administração oral (v.o) por gavagem de suspensão de CLX 20 mg/kg;

IV) Grupo ESC (LPS + ESC): Injeções intraperitoneais (i.p.) de solução de LPS 0,5 mg/kg durante dez dias consecutivos e, paralelamente, a partir do 6º até o 10º dia, administração oral (v.o) por gavagem de suspensão de ESC 10 mg/kg.

Vinte e quatro horas após a administração da última substância por via oral, os animais passaram pelos testes comportamentais e suas áreas cerebrais foram dissecadas, conforme descrito nos próximos tópicos.

Figura 10 – Delineamento experimental



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) conforme modelo experimental publicado por Silva e colaboradores (2024). Abreviaturas: SAL: solução salina 0,9%; CLX: celecoxibe 20 mg/kg; ESC: escitalopram 10 mg/kg; i.p.: intraperitoneal; v.o.: via oral.

5.1.4 Eutanásia e dissecação das áreas cerebrais

Os animais foram eutanasiados por decapitação utilizando guilhotinagem e os cérebros retirados e, rapidamente, colocados sobre papel alumínio em uma placa de gelo. A partir disso, o hipocampo e córtex pré-frontal foram dissecados e as áreas armazenadas em microtubos de centrifugação de plástico devidamente identificados, pesados e conservados a - 80°C. Posteriormente, as áreas foram descongeladas e realizados homogenatos dos tecidos para utilização nas determinações de citocinas e marcadores de estresse oxidativo.

5.1.5 Análise ponderal

Ao longo de todo o experimento, a massa corporal dos animais foi cuidadosamente monitorada, sendo aferida antes de cada administração das substâncias e registrada diariamente.

A variação relativa do peso foi expressa em percentual, calculada por meio da seguinte fórmula:
$$\frac{\text{(Peso do dia} \times 100)}{\text{Peso inicial}}$$

5.1.6 Testes comportamentais para avaliação da locomoção e exploração

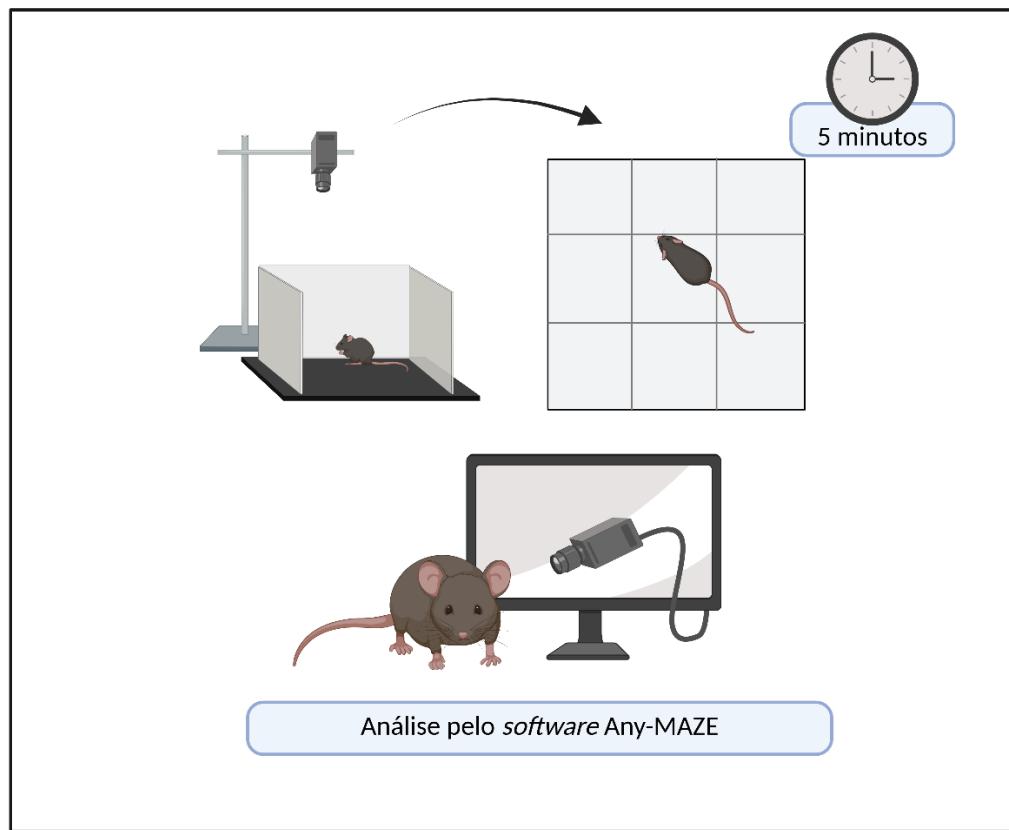
5.1.6.1 Teste do campo aberto

O teste do campo aberto é amplamente utilizado para a avaliação da atividade locomotora e de aspectos relacionados à ansiedade em animais. Por meio desse teste, é possível investigar comportamentos semelhantes à ansiedade com base na tendência dos camundongos a evitarem áreas abertas, percebidas como potencialmente ameaçadoras. Esse comportamento, conhecido como trigmotaxia, refere-se à inclinação dos animais em se orientar e locomover preferencialmente em contato com superfícies ou objetos, buscando maior sensação de segurança (SEIBENHENER; WOOTEN, 2015; LAMA *et al.*, 2022).

O protocolo foi realizado em uma caixa de paredes transparentes, com fundo preto, divididos em 9 quadrantes. Durante a realização do teste, os camundongos foram posicionados no centro da base do aparato e permaneceram livres para explorar o ambiente por um período de 5 minutos. Todos os deslocamentos foram registrados em vídeo e posteriormente analisados utilizando o *software* ANY-Maze (Stoelting Co, Wood Dale, Illinois, EUA).

As variáveis analisadas incluíram: número total de cruzamentos (*crossing*), número de levantamentos verticais (*rearing*), número de entradas na zona central, tempo na zona central, distância percorrida na zona central, número de entradas na zona periférica e o tempo na zona periférica. Após cada sessão, o fundo do aparato foi higienizado com álcool a 20% para evitar interferências relacionadas a odores residuais. A figura 11 ilustra o teste do campo aberto.

Figura 11 - Teste do campo aberto



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Kraeuter, Guest e Sarnyai (2018).

5.1.7 Testes comportamentais para avaliação de comportamentos tipo-depressivos

5.1.7.1 Teste do nado forçado

O teste de nado forçado é amplamente empregado em pesquisas nas áreas de psicologia e neurociência como modelo preditivo para a investigação de comportamentos associados à depressão, permitindo avaliar as respostas comportamentais dos animais frente a situações de estresse e desamparo (ARMARIO, 2021).

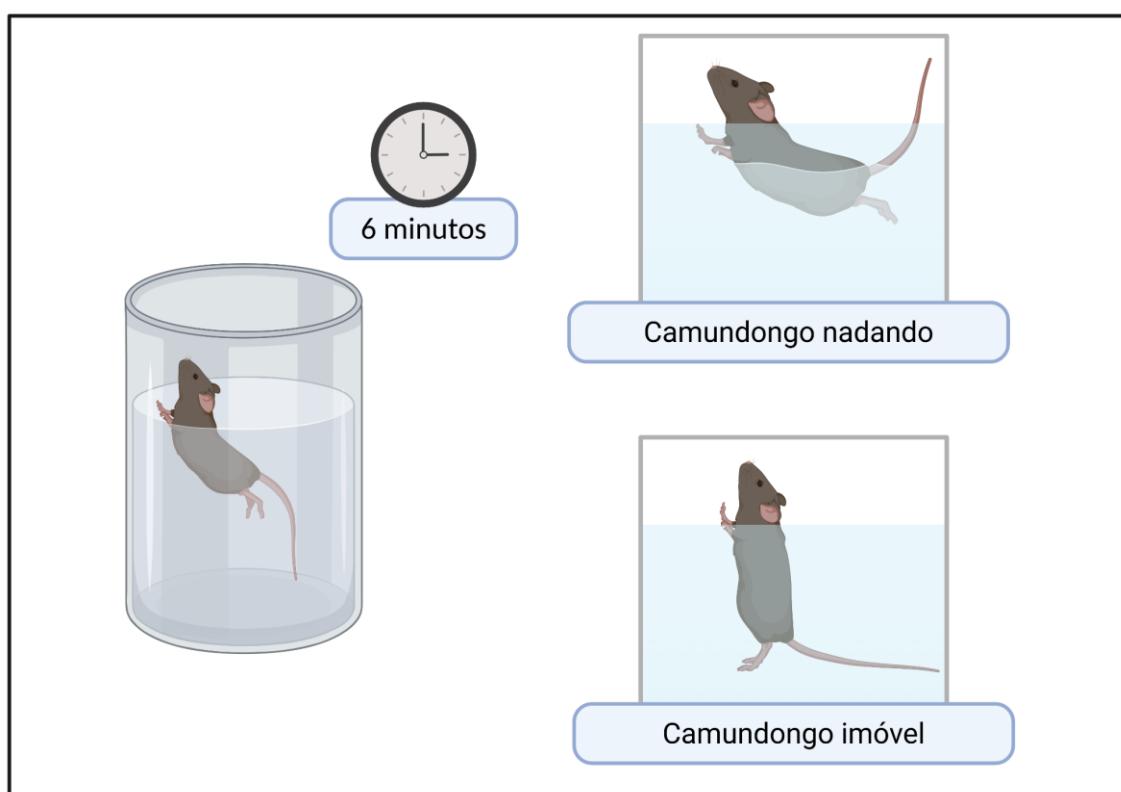
O protocolo utilizado seguiu a padronização descrita por Porsolt, Bertin e Jalfre (1978), no qual os animais foram colocados em um recipiente contendo volume de água suficiente para impedir o apoio das patas ao fundo, induzindo-os à natação. Inicialmente, observam-se tentativas ativas de fuga, seguidas, após determinado tempo, pela adoção de um comportamento de imobilidade, caracterizado por flutuação passiva com movimentos mínimos, suficientes

apenas para manter a cabeça fora da água. Esse período de imobilidade é interpretado como um marcador comportamental de desamparo e resignação, fenômenos considerados análogos aos sintomas depressivos em humanos (BOGDANOVA *et al.*, 2013).

O teste teve duração total de 6 minutos, sendo os primeiros 2 minutos destinados à adaptação ao ambiente aquático. A imobilidade foi cronometrada (em segundos) nos 4 minutos finais, por um observador previamente cegado quanto à distribuição dos grupos experimentais. Considerou-se como estado de imobilidade a permanência passiva na água, permitindo-se apenas discretos movimentos necessários para a sustentação da cabeça acima da superfície.

Conforme orientação de uma meta-análise que analisou protocolos de exposição ao LPS no comportamento semelhante ao depressivo, o teste do nado forçado foi o último a ser realizado nos dias de testes comportamentais (YIN *et al.*, 2023). A figura 12 ilustra o teste do nado forçado.

Figura 12 - Teste do nado forçado



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Porsolt, Bertin e Jalfre (1978).

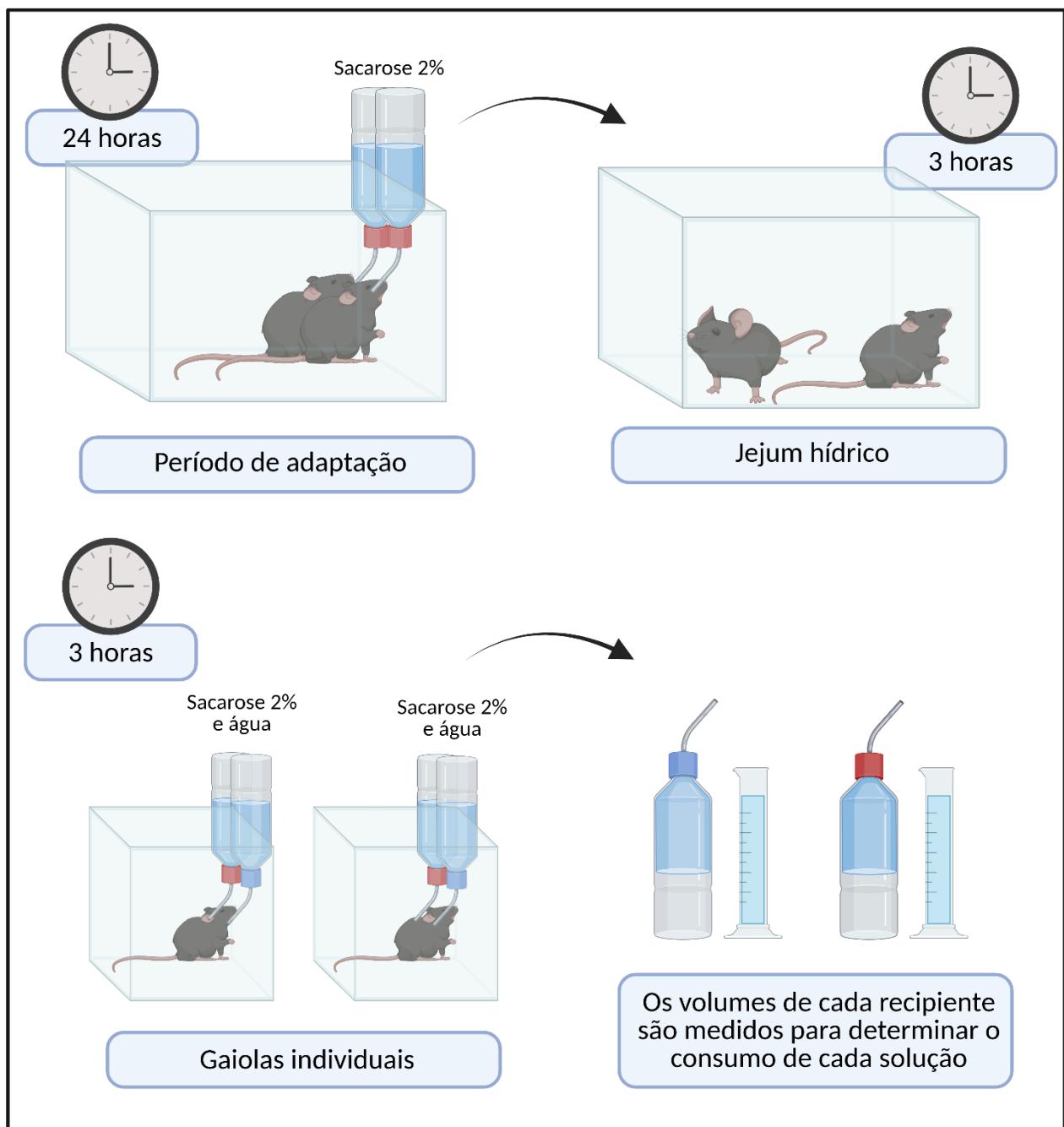
5.1.7.2 Teste da preferência por sacarose

A anedonia corresponde à redução ou incapacidade de experimentar sensações associadas a atividades prazerosas, sendo considerada um dos principais sintomas característicos do transtorno depressivo maior. Para a avaliação desse comportamento em roedores, utiliza-se amplamente o teste de preferência por sacarose, considerado um método comportamental confiável e validado. Esse teste baseia-se em um paradigma de escolha entre duas garrafas, permitindo mensurar a preferência dos animais por uma solução adocicada em comparação à água, como um indicativo de anedonia (PRIMO *et al.*, 2023).

Para a realização deste teste, inicialmente, os animais foram submetidos a uma fase de adaptação, na qual tiveram livre acesso, por 24 horas, a duas garrafas contendo solução de sacarose a 2%. Em seguida, os camundongos foram mantidos em jejum hídrico por um período de 3 horas, ainda agrupados em suas respectivas caixas. Após esse período, foram transferidos para gaiolas individuais, onde receberam duas garrafas idênticas, uma contendo solução de sacarose a 2% e outra com água, ambas com volume de 100 mL (WULFF *et al.*, 2023; PRIMO *et al.*, 2023).

Após 3 horas de exposição, as garrafas foram retiradas e o volume consumido de cada líquido foi aferido utilizando provetas graduadas, possibilitando o cálculo do consumo relativo. Posteriormente, os animais foram retornados às suas respectivas gaiolas coletivas. A figura 13 ilustra a metodologia do teste.

Figura 13 - Teste da preferência por sacarose



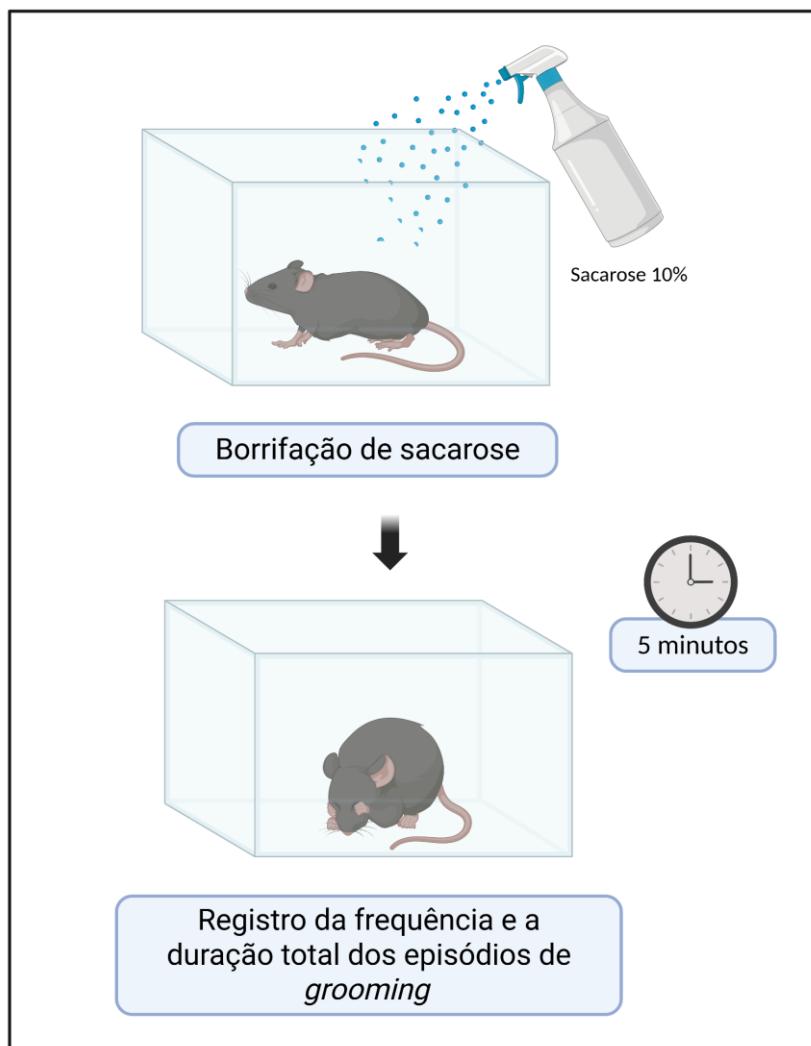
Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Primo e colaboradores (2023).

5.1.7.3 Teste do respingo ou splash test

O teste do respingo ou *splash test* é um teste comportamental utilizado em modelos animais, especialmente em roedores, para avaliar sintomas depressivos, com foco em aspectos de autocuidado e motivação. O teste consiste em borrisfar uma solução de sacarose diluída no dorso do animal, o que normalmente induz o comportamento de *grooming* (auto limpeza). Em animais com fenótipo depressivo, observa-se aumento da latência para iniciar o grooming e/ou redução do tempo total gasto nesse comportamento, refletindo apatia, anedonia e prejuízo do auto-cuidado, sintomas clássicos da depressão em humanos (HU *et al.*, 2017; DEBLER *et al.*, 2024).

Assim, uma solução de sacarose a 10% foi borrifada uma única vez sobre a região dorsal de cada camundongo individualizados em caixas. O teste teve duração de 5 minutos após a aplicação da solução, durante os quais foram registradas a frequência e a duração total dos episódios de *grooming*. Para evitar a interferência de odores residuais entre os animais experimentais, o aparato foi higienizado com solução de etanol a 20% após cada sessão. A figura 14 ilustra o teste.

Figura 14 - Teste do respingo ou *splash test*



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Debler e colaboradores (2024).

5.1.8 Testes comportamentais para avaliação de comportamentos tipo-ansiosos

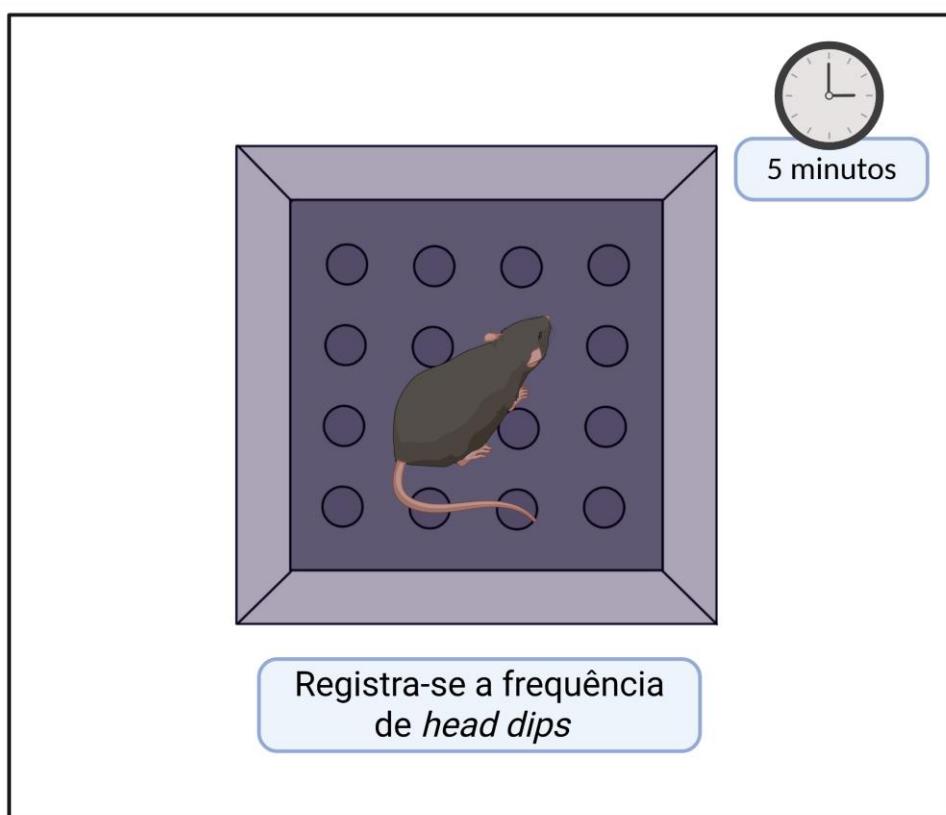
5.1.8.1 Teste da placa perfurada

O teste da placa perfurada é amplamente utilizado para investigar comportamentos exploratórios e indicativos de ansiedade em camundongos expostos a ambientes novos. Nesse procedimento, os animais são posicionados em uma arena contendo uma plataforma com orifícios distribuídos de maneira uniforme, permitindo múltiplas oportunidades de exploração. O parâmetro comportamental central analisado neste teste é a frequência de inserções da cabeça

nos orifícios, comportamento conhecido como *head dips*. Esse tipo de exploração é considerado um indicativo da propensão exploratória do animal. De modo geral, uma maior incidência desse comportamento está associada a níveis reduzidos de ansiedade, enquanto uma menor frequência sugere um aumento nos estados ansiosos (CASARRUBEA *et al.*, 2023).

Para a realização do experimento, foi utilizado um dispositivo contendo 16 orifícios, com os camundongos sendo inicialmente posicionados no centro da plataforma. O principal parâmetro avaliado, como mencionado, foi a frequência de *head dips* contabilizada durante um intervalo de 5 minutos (PISULA *et al.*, 2021). A quantificação desse comportamento foi realizada por avaliadores cegos quanto à alocação dos grupos experimentais, a fim de garantir a imparcialidade das análises. A figura 15 ilustra o teste.

Figura 15 - Teste da placa perfurada



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o BioRender (www.biorender.com) com informações de Pisula e colaboradores (2021).

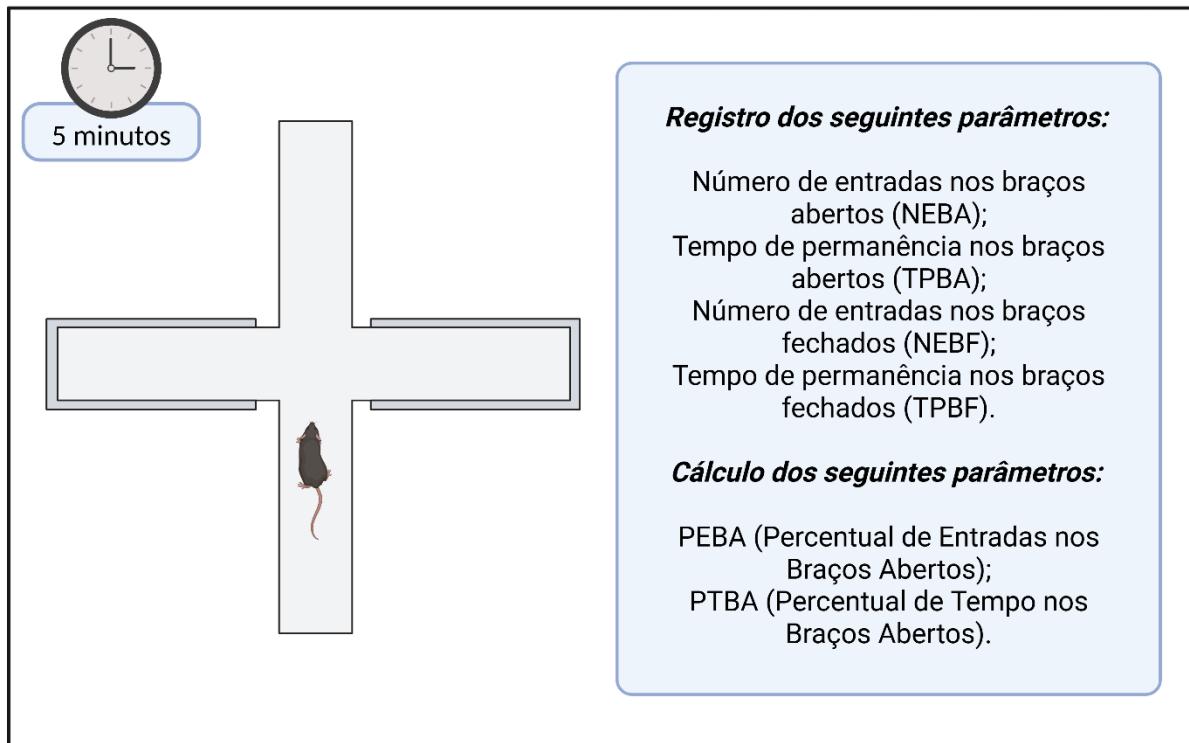
5.1.8.2 Teste do labirinto em cruz elevada

O Teste do Labirinto em Cruz Elevado é amplamente reconhecido como um dos procedimentos comportamentais mais utilizados e de fácil execução para a avaliação de comportamentos relacionados à ansiedade em roedores. Este modelo experimental é empregado para analisar respostas comportamentais associadas à indução do medo, funcionando como um indicativo de estados ansiosos. Além disso, o teste permite a triagem rápida e eficiente de substâncias com potencial efeito ansiolítico ou ansiogênico, dispensando a necessidade de protocolos complexos ou treinamentos prévios para os animais (HIMANSHU *et al.*, 2020).

Este ensaio tem como finalidade analisar a influência do padrão exploratório sobre o comportamento de risco e os níveis de ansiedade em roedores, conforme descrito por Pellow e colaboradores (1985). O dispositivo experimental é composto por uma estrutura elevada a 45 cm do solo, formada por dois braços abertos (30×5 cm) e dois braços fechados, delimitados por paredes laterais ($30 \times 5 \times 15$ cm), interligados por uma plataforma central (5×5 cm). Cada animal foi posicionado no centro do labirinto e monitorado por um período de 5 minutos, durante o qual foram registrados o tempo de permanência em cada um dos braços e o número de entradas tanto nos braços abertos quanto nos fechados.

Assim, as medidas comportamentais registradas foram: número de entradas nos braços abertos (NEBA), tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), número de entradas nos braços fechados (NEBF) e tempo de permanência nos braços fechados (TPBF), e a partir dessas informações, foram determinados o PEBA (Percentual de Entradas nos Braços Abertos) a partir da fórmula PEBA: $NEBA \times 100 / (NEBA + NEBF)$ e o PTBA (Percentual de Tempo nos Braços Abertos) a partir da fórmula: $PTBA: TPBA \times 100 / (TPBA + TPBF)$. Os resultados foram expressos em porcentagem (%). A figura 16 demonstra o aparato utilizado no teste.

Figura 16 - Teste do labirinto em cruz elevada



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Pellow e colaboradores (1985).

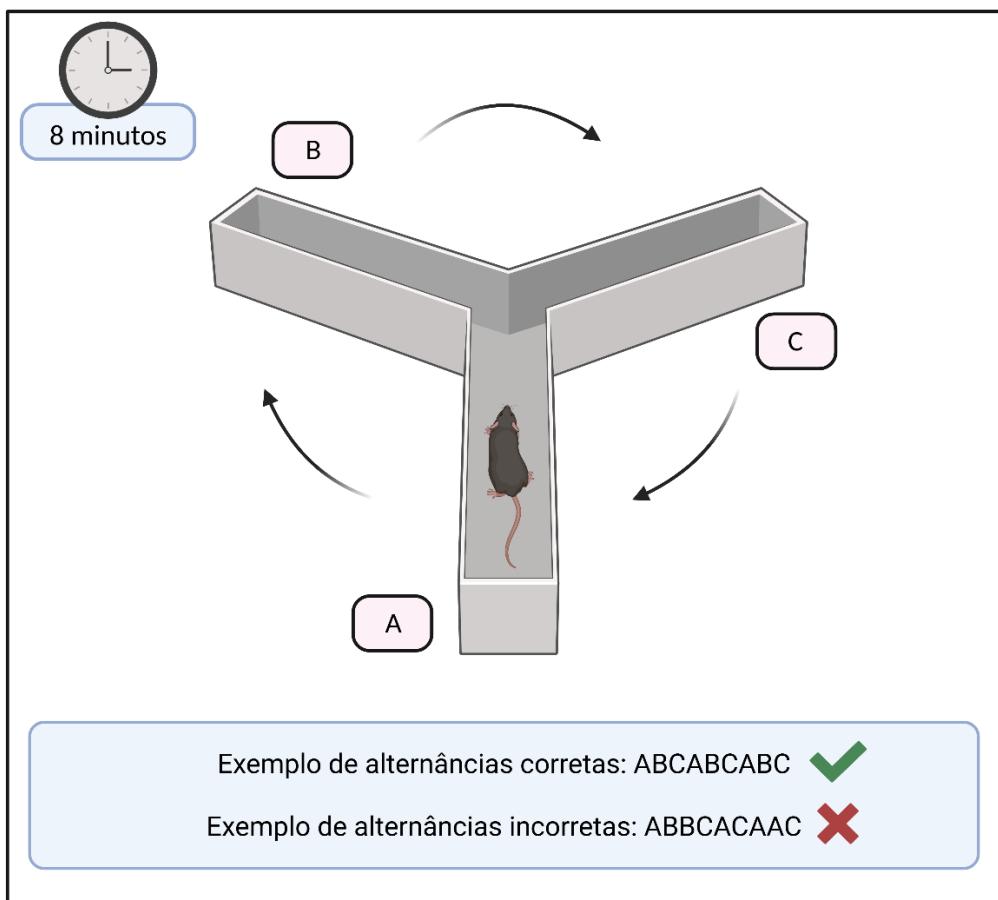
5.1.9 Teste comportamental para avaliação de memória

5.1.9.1 Teste do labirinto em Y

A avaliação da memória de trabalho foi realizada utilizando o teste do labirinto em Y, conforme descrito por Sarter, Bodewitz e Stephens (1988) com modificações. O aparato experimental é composto por três braços idênticos (designados A, B e C), cada um medindo 40 cm de comprimento, 25 cm de altura e 6 cm de largura, dispostos de forma a convergirem em ângulos iguais. Cada animal foi inicialmente posicionado no centro do aparato e liberado para explorar o ambiente livremente por um período de 8 minutos. Durante essa exploração, foi registrada a sequência de entradas nos diferentes braços. Posteriormente, os dados foram analisados com o objetivo de identificar o número de entradas em braços distintos, ou seja, sem repetição imediata. Considerou-se como alternância correta toda vez que o camundongo ingressava em um braço diferente daquele visitado na entrada anterior, sem retornar ao braço previamente explorado. Para o resultado, utilizou-se a seguinte fórmula:

Alternâncias corretas (%) = (número de alternâncias corretas × 100) ÷ (número total de entradas - 2). A figura 17 ilustra o aparato do teste.

Figura 17 - Teste do labirinto em Y



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Sarter, Bodewitz e Stephens (1988)

5.1.10 Testes para avaliação de marcadores do estresse oxidativo e nitrosativo

5.1.10.1 Determinação da concentração de nitrito

Foram utilizadas as áreas cerebrais dissecadas (hipocampo e córtex pré-frontal) em forma de homogenatos para execução do teste. Com o intuito de investigar os efeitos do tratamento farmacológico e da exposição ao LPS sobre a produção de óxido nítrico (NO), procedeu-se à quantificação dos níveis de nitrito nos homogenatos teciduais, utilizando o método descrito por Green, Tannenbaum e Goldman (1981). Para tal, adicionaram-se 100 µL do reagente de Griess — composto por ácido fosfórico a 5%, sulfanilamida a 1% em ácido

fosfórico a 5%, NEED a 0,1% e água destilada — a um volume igual do sobrenadante do homogenato. As amostras foram incubadas por 10 minutos à temperatura ambiente.

A curva padrão foi preparada a partir de soluções de nitrito de sódio (NaNO_2), com concentrações variando de 0,75 a 100 μM , sob as mesmas condições experimentais. Amostras controle (branco) foram obtidas pela adição de 100 μL do reagente de Griess a 100 μL do tampão fosfato de potássio monobásico (50 mM, pH 7,4), utilizado na preparação dos homogenatos.

Como não há uma etapa de redução do nitrato a nitrito (geralmente feita com nitratase ou outro agente redutor), então a metodologia quantifica apenas nitrito (NO_2^-). A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro para microplacas, com comprimento de onda de 540 nm. Os resultados foram expressos como micromoles de nitrito por grama de tecido ($\mu\text{M/g}$ de tecido).

5.1.10.2 Determinação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, do inglês *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) é realizada principalmente por meio do ensaio de TBARS, que é amplamente utilizado para estimar a peroxidação lipídica, especialmente pela quantificação de malondialdeído (MDA), um dos principais produtos finais da oxidação de lipídios (LEON; BORGES, 2020).

Para a determinação dos produtos resultantes da peroxidação lipídica, empregou-se a reação do ácido tiobarbitúrico com os homogenatos cerebrais (hipocampo e córtex pré-frontal). As amostras foram preparadas a partir de homogenatos a 10% em tampão fosfato de potássio monobásico, 50 mM, pH 7,4. Para a análise das TBARS, volumes de 63 μL do homogenato foram misturados com 100 μL de ácido perclórico a 35% em microtubos de centrifugação, seguidos de centrifugação a 10.000 rpm por 10 minutos, mantida a temperatura de 4°C. Após a centrifugação, as alíquotas de 150 μL do sobrenadante foram combinadas com 50 μL de solução de ácido tiobarbitúrico a 1,2%, sendo então submetidas a incubação em banho-maria a 95°C por 30 minutos.

A incubação permite que o MDA, presente na amostra, reagisse com o ácido tiobarbitúrico, formando um complexo estável de coloração rosa-avermelhada (MDA-TBA₂).

A intensidade dessa coloração está diretamente relacionada à concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) na amostra (PAPASTERGIADIS *et al.*, 2012).

Posteriormente, 150 µL da mistura reacional foram transferidos para uma placa de microtitulação de 96 poços, procedendo-se à leitura espectrofotométrica da absorbância a 535 nm. Os resultados foram expressos em microgramas por grama de tecido (µg/g de tecido).

5.1.10.3 Determinação da concentração de glutationa reduzida (GSH)

A quantificação da glutationa reduzida (GSH) nas regiões cerebrais visa analisar o estado antioxidante e o equilíbrio redox do tecido nervoso, sendo considerada um importante marcador indireto do estresse oxidativo no cérebro. A GSH desempenha um papel central como principal antioxidante intracelular no sistema nervoso central, atuando na neutralização de espécies reativas de oxigênio e contribuindo para a manutenção da homeostase redox neural (LEE *et al.*, 2025).

Com o intuito de avaliar a capacidade antioxidante das amostras, os níveis de glutationa reduzida (GSH) foram mensurados por meio de um método que explora a interação de grupos tiol livres com o reagente de Ellman (DTNB). As amostras de tecido cerebral foram homogeneizadas em tampão EDTA 0,02 M (10% p/v) e, posteriormente, tratadas com ácido tricloroacético (TCA) a 50% para precipitação de proteínas. Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm, durante 15 minutos.

O sobrenadante resultante foi adicionado a uma solução de tampão Tris-HCl 0,4 M, pH 8,9, juntamente com DTNB a 0,01 M, promovendo a formação de um complexo colorido. A absorbância deste produto foi medida em espectrofotômetro a 412 nm (BOTTINO *et al.*, 2021). A concentração de GSH nas amostras foi calculada a partir de uma curva padrão construída com glutationa, sendo os resultados expressos em microgramas por grama de tecido (µg/g de tecido).

5.1.11 Determinação das concentrações de citocinas pró-inflamatórias

As áreas cerebrais coletadas (hipocampo e córtex pré-frontal) foram homogeneizadas em uma solução tampão PBS contendo inibidores de protease (EMD Biosciences), na proporção de 1:8 (peso/volume). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos, e o sobrenadante resultante foi utilizado para as análises subsequentes. As concentrações das citocinas IL-1β, IL-6 e TNF foram mensuradas em 50 µL

dessas amostras por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando kits comerciais da R&D® Systems (Minneapolis, Minnesota, EUA), seguindo as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em pg por grama de tecido (pg/g de tecido).

5.2 Ensaios *in vitro*

5.2.1 Substâncias e diluições utilizadas

O celecoxibe utilizado foi o mesmo usado para os testes *in vivo* já descritos. Para uso na cultura de células, a droga foi diluída em solução salina tampão fosfato estéril (PBS) com objetivo de obter as concentrações desejadas (especificadas adiante no teste do MTT). Já o lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli*, sorotipo 055:B5 também foi o mesmo utilizado nos testes *in vivo* descritos. A concentração de LPS empregada dos testes *in vitro* foi de 50µg/ml, dissolvido em PBS. A concentração de LPS utilizada foi selecionada com base em dado prévio da literatura (SANGARAN *et al.*, 2021).

5.2.2 Células utilizadas

Neste estudo, foram utilizadas duas linhagens celulares: a linhagem de feocromocitoma de rato PC12 (APABCAM, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e uma linhagem de astrócitos murinos, previamente isolada e gentilmente cedida pelo grupo de pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

As células foram cultivadas em frascos de polietileno para cultura celular, com capacidade de 250 mL, utilizando os meios de cultura *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) e *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM), ambos suplementados com 10% de soro fetal bovino (SFB).

As culturas celulares foram mantidas sob condições controladas, em estufa com atmosfera umidificada a 37°C e 5% de gás carbônico (CO₂), sendo o crescimento monitorado diariamente por microscopia invertida. Quando as culturas atingiram aproximadamente 80% de confluência, as células foram destacadas utilizando solução de tripsina a 0,05% em EDTA a 0,53 mM.

Posteriormente, realizou-se a contagem celular com auxílio de uma câmara de Neubauer, e a viabilidade foi avaliada através do método de exclusão com corante azul de Tripan. As células viáveis foram então semeadas em placas de 24 ou 96 poços, conforme o protocolo experimental a ser executado.

Os experimentos envolvendo as células, assim como suas manutenções, foram realizados em parceria com o Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica (LBFBC) da Universidade Federal do Ceará.

5.2.3 Ensaio de viabilidade por redução do MTT

O ensaio de viabilidade celular utilizando o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) fundamenta-se na capacidade das células metabolicamente ativas de converter o sal de tetrazólio MTT, de coloração amarela e solúvel em água, em cristais insolúveis de formazan, com tonalidade púrpura. Esse processo ocorre principalmente por ação de enzimas mitocondriais, notadamente as NAD(P)H-oxidoredutases, sendo um indicativo da atividade metabólica e, consequentemente, da viabilidade celular. Assim, a quantidade de formazan gerada é proporcional ao número de células viáveis na amostra (SURIN *et al.*, 2017; VAN MEERLOO; KASPERS; CLOOS, 2011).

Para a realização do ensaio, as culturas celulares foram previamente tratadas com concentrações seriadas de CLX: 500, 250, 125, 62,5, 31,2, 15,6 e 7,8 µg/mL. Após um período de incubação de 12 horas, o meio foi substituído por 200 µL de solução de MTT a 5 mg/mL, sendo as culturas mantidas em incubação por mais 3 horas. Em seguida, o meio foi cuidadosamente removido e adicionados 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) puro, com o objetivo de promover a lise celular e a completa solubilização dos cristais de formazan formados. As placas foram agitadas por 30 minutos em agitador orbital e, posteriormente, a absorbância foi determinada em leitor de microplacas, com comprimento de onda de 595 nm.

5.2.4 Avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax)

A identificação dos diferentes estágios de morte celular foi realizada utilizando a coloração combinada com iodeto de propídio (PI) e anexina V, uma abordagem consolidada para discriminar entre células viáveis, apoptóticas (em fases distintas) e necróticas, especialmente em ensaios de citometria de fluxo (KUMAR; SANEJA; PANDA, 2021).

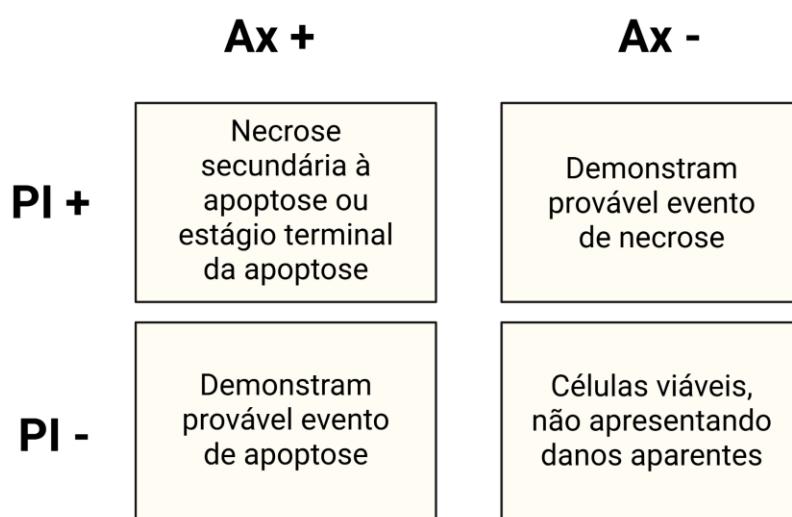
Essa metodologia fundamenta-se em dois eventos celulares principais. O primeiro corresponde à exposição da fosfatidilserina, normalmente confinada à face citoplasmática da membrana plasmática, que é translocada para a superfície externa durante a fase inicial da apoptose. A anexina V, frequentemente conjugada a um fluoróforo como a fluoresceína

isotiocianato (FITC), possui elevada afinidade por esse fosfolipídeo, permitindo, na presença de cálcio, a identificação de células apoptóticas (WORSLEY; VEALE; MAYNE, 2022; KABAKOV; KUDRYAVTSEV; GABAI, 2011).

O segundo aspecto envolve a integridade da membrana plasmática. O PI é um corante que se intercala com o DNA, mas somente atravessa membranas celulares comprometidas, característica típica de células em apoptose tardia ou necrose. Assim, células viáveis ou em apoptose precoce permanecem impermeáveis ao PI (RIEGER *et al.*, 2011).

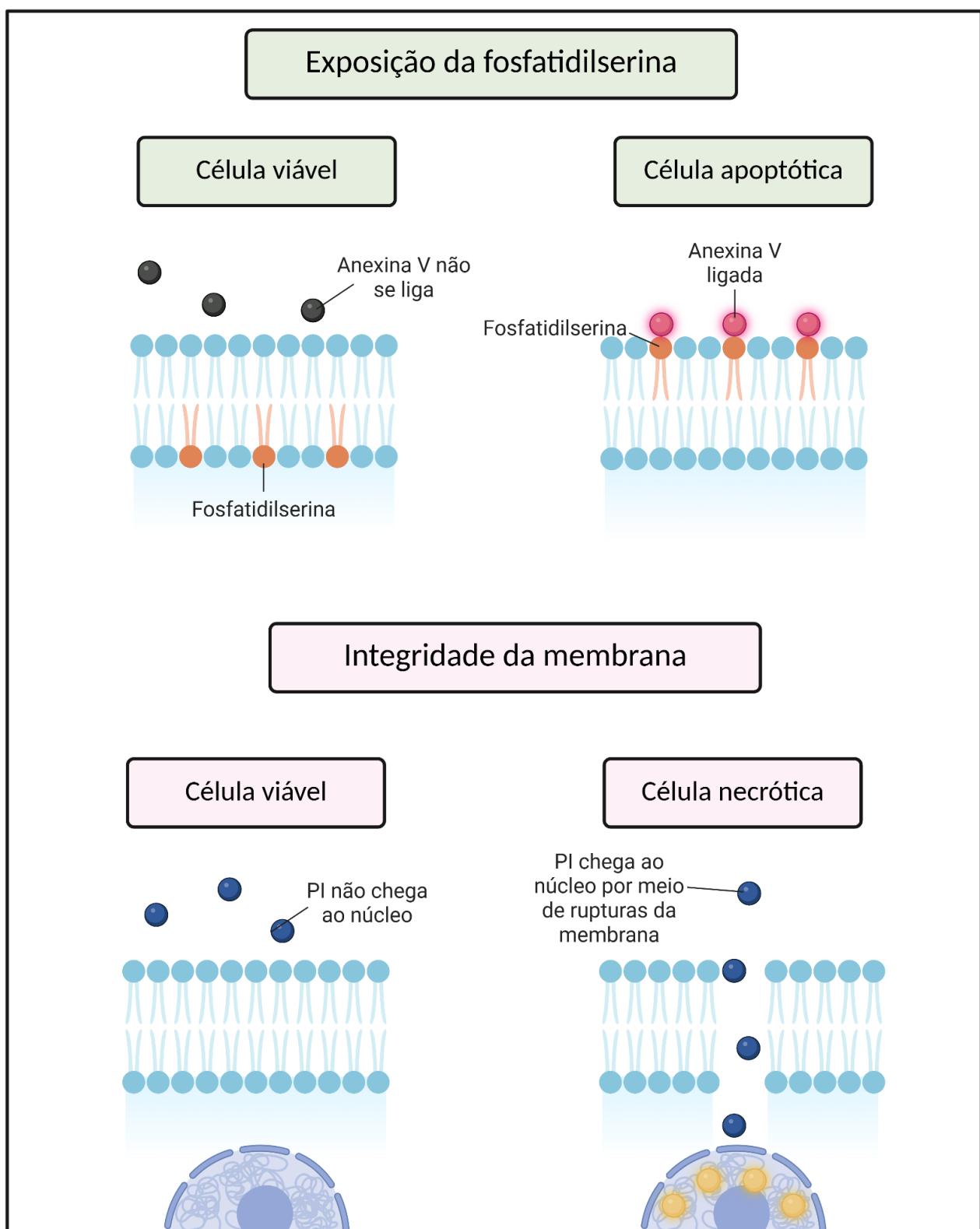
Para a realização do ensaio, as células foram ressuspensas em 100 µL de tampão de ligação, seguido da adição de 5 µL de iodeto de propídio e 5 µL de anexina V, ambos utilizados em concentrações de 0,5 mg/mL. A coloração foi realizada com o auxílio de um kit comercial (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, EUA). Após incubação de 15 minutos em ambiente protegido da luz, foram adicionados 400 µL de tampão de ligação. A aquisição e análise dos eventos celulares foram realizadas por citometria de fluxo, utilizando o equipamento FACSCalibur (BD Biosciences). As populações celulares foram discriminadas com base na ausência de marcação, marcação exclusiva por anexina V ou PI, bem como marcação simultânea por ambos os reagentes. A figura 18 demonstra as interpretações das marcações de PI e Ax no contexto da morte celular. Já a figura 19 ilustra o princípio da metodologia empregada na avaliação da morte celular por marcação de PI e Ax.

Figura 18 - Interpretação das marcações Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax) no contexto da morte celular



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Kumar, Saneja e Panda (2021). A ordem dos quadrantes na figura não representa necessariamente a ordem dos quadrantes no gráfico de dispersão da citometria.

Figura 19 - Princípio do método de avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax)



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Worsley, Veale e Mayne (2022) e Rieger e colaboradores (2011).

5.2.5 Visualização de alterações morfológicas e estruturais por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma técnica sofisticada de análise morfológica, que proporciona imagens de alta resolução das superfícies amostrais. Neste estudo, a MEV foi empregada com o propósito de examinar os danos induzidos pelo lipopolissacarídeo (LPS) e verificar os efeitos protetores promovidos pelo CLX.

Diferentemente da microscopia óptica, a MEV utiliza um feixe de elétrons, em vez de luz visível, para gerar imagens. Esses elétrons são produzidos a partir de um cátodo e focalizados sobre a superfície da amostra. A interação do feixe primário com o material resulta na dispersão de elétrons, cuja detecção possibilita a reconstrução de imagens tridimensionais da morfologia amostral por meio de softwares específicos (FISCHER *et al.*, 2024).

Para a realização desse procedimento, culturas de células PC12 e astrócitos foram mantidas sobre lamínulas de vidro circulares, previamente esterilizadas. Posteriormente, as amostras foram fixadas com glutaraldeído a 2,5% em tampão de 0,1 M (pH 7,2), permanecendo nesta solução por 2 horas, à temperatura ambiente. O processo de desidratação foi conduzido através de uma série crescente de concentrações de etanol. Após a desidratação, as amostras receberam um revestimento metálico de ouro, com espessura de aproximadamente 20 nm, utilizando um sistema de pulverização iônica (QT150 ES-Quorum). Finalmente, a avaliação morfológica foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura modelo Quanta 450 FEG- FEI (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA).

Os experimentos com o MEV foram realizados em parceria com a Central Analítica da Universidade Federal do Ceará.

5.2.6 Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio por fluorescência de DCF

A quantificação intracelular de espécies reativas de oxigênio foi realizada utilizando o corante 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCFH-DA), um método amplamente empregado para essa finalidade em diversos modelos celulares (ROBLES *et al.*, 2020).

O DCFH-DA é um composto lipofílico e não fluorescente, capaz de atravessar livremente a membrana plasmática. Uma vez no interior da célula, sofre hidrólise enzimática por esterases citosólicas, que removem os grupos acetato e convertem o DCFH-DA na forma polar de diclorodihidrofluoresceína (DCFH). Esta molécula permanece no citosol, onde é

subsequentemente oxidada por EROs — principalmente peróxidos, como o H₂O₂ — gerando o composto fluorescente diclorofluoresceína (DCF). A intensidade de fluorescência emitida é diretamente proporcional ao nível de EROs presentes na célula (VAGLIENTI *et al.*, 2022; GRIENDLING *et al.*, 2016).

Para a marcação celular, 5 µL da solução estoque de DCFH-DA (obtendo uma concentração final de 20 µM) foram adicionados aos poços de uma placa de 24 poços, contendo as culturas celulares, 3 horas após o início do tratamento com CLX. Após completar 12 horas de incubação, as células foram cuidadosamente lavadas com tampão PBS, removidas por tripsinização e o pellet celular preparado para análise em citômetro de fluxo.

Durante a citometria, foi mensurada a intensidade média de fluorescência verde, resultante da oxidação do DCFH durante a explosão respiratória. A análise baseou-se na intensidade relativa de fluorescência, obtida a partir dos valores absolutos de emissão fluorescente. Esses dados foram expressos como média geométrica, sendo atribuído o valor 1,0 ao grupo controle. Os demais grupos experimentais receberam valores proporcionais em relação a este parâmetro de referência.

5.2.7 Avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial por detecção de Rodamina 123 (Rho123)

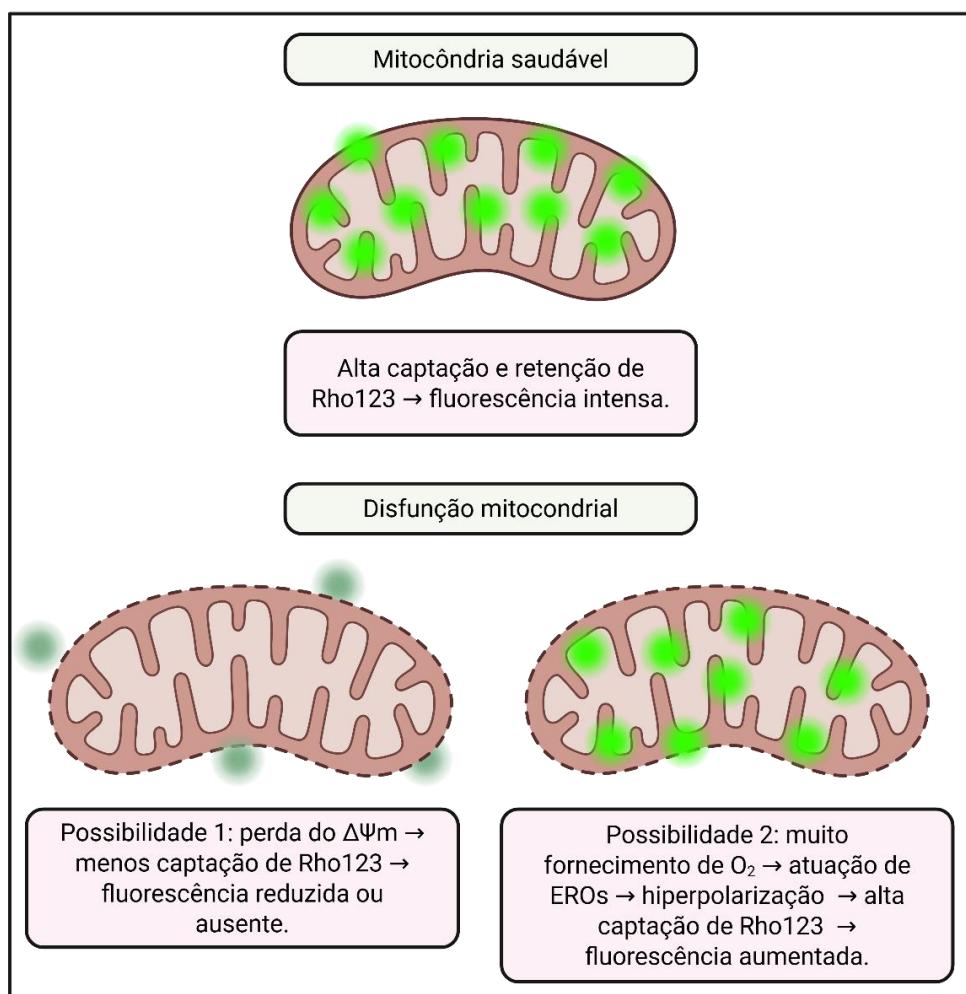
A determinação do potencial transmembrânico mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) foi realizada utilizando o corante catiônico lipofílico Rodamina 123 (Rho123), que se acumula de forma seletiva na matriz mitocondrial, impulsionado pelo gradiente eletroquímico estabelecido pela cadeia transportadora de elétrons. Essa técnica é amplamente utilizada para avaliação funcional mitocondrial em células vivas ou mitocôndrias isoladas, com análise por citometria de fluxo (ESTERAS *et al.*, 2020).

O princípio do método baseia-se na capacidade da Rho123 de atravessar as membranas celulares e se concentrar nas mitocôndrias de maneira diretamente proporcional ao $\Delta\Psi_m$, sendo que um potencial elevado favorece maior acúmulo do corante. Quando há disfunção mitocondrial, ocorre despolarização da membrana interna, ou seja, o gradiente eletroquímico diminui ou desaparece. Sem o gradiente, a força motriz para o acúmulo do corante se perde, resultando na redução da concentração de Rho123 dentro das mitocôndrias (ZOROVA *et al.*, 2022). Na disfunção mitocondrial também pode ocorrer o aumento do fornecimento de oxigênio, impactando significativamente a função da organela, incluindo o $\Delta\Psi_m$. A exposição

a níveis elevados de oxigênio pode aumentar o $\Delta\Psi_m$, ou seja, causar hiperpolarização e também retenção de Rho123 (DUGUEZ *et al.*, 2012).

Na execução do experimento, após o tratamento com CLX por 24 horas, as culturas celulares foram lavadas com tampão fosfato salino (PBS), dissociadas por tripsinização e centrifugadas para obtenção do pellet celular. A seguir, as células foram incubadas com Rho123, na concentração final de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, durante 30 minutos, protegidas da luz. Posteriormente, as amostras foram processadas em citômetro de fluxo, utilizando excitação a 488 nm e detecção da emissão no espectro de 563 a 606 nm, possibilitando a quantificação da fluorescência relacionada ao acúmulo mitocondrial de Rho123 e, consequentemente, a avaliação do $\Delta\Psi_m$. A figura 20 mostra o princípio da avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial por detecção de Rho123.

Figura 20 - Princípio da avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial por detecção de Rho123



Fonte: Figura criada pelo próprio autor utilizando o *BioRender* (www.biorender.com) com informações de Zorova e colaboradores (2022) e Duguez e colaboradores (2012).

5.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados utilizando o software GraphPad Prism, versão 8.0 para Windows (GraphPad Software®, San Diego, CA, EUA). Inicialmente, foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk, com o objetivo de avaliar a distribuição normal das amostras. Para as variáveis que apresentaram distribuição paramétrica, realizou-se a análise de variância (*one-way* ANOVA), seguida do teste *post hoc* de Tukey. Para resultados não paramétricos foi utilizado Kruskall-Walis seguido do teste *post hoc* de Dunn.

Os resultados dos dados paramétricos foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM). Os dados não paramétricos foram representados como mediana e intervalo interquartil. O nível de significância adotado em todas as análises foi de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

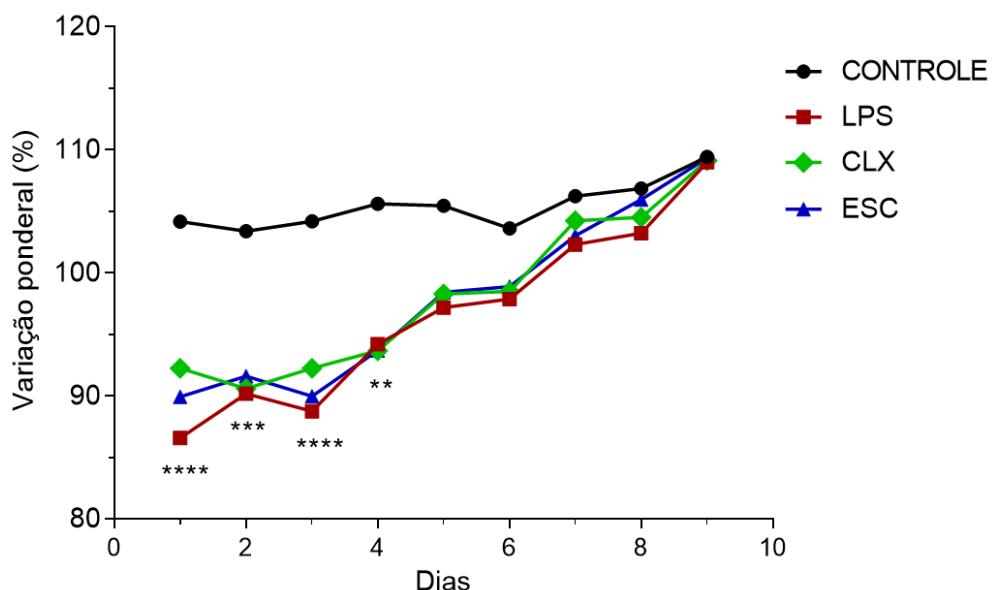
6.1 Testes *in vivo*

6.1.1 Acompanhamento ponderal dos animais durante protocolo experimental

Houve diferenças significativas na variação de peso dos animais expostos ao LPS quando comparados ao grupo controle até o quinto dia de administração. Após esse marco, não houve mais diferenças entre os grupos.

Destaca-se que até o quinto dia, conforme delineamento experimental, não ocorreu administração das drogas testes. A partir do sexto dia, CLX e ESC foram administrados diariamente e se observa ausência de diferenças ponderais entre os grupos. A figura 21 ilustra a variação ponderal entre os grupos estudados.

Figura 21 - Efeitos da exposição ao LPS e administração das drogas testes sobre a variação ponderal em camundongos



Os resultados são expressos com a média ± erro padrão da média (n=8-10 animais/grupo). A variação ponderal é apresentada em porcentagem (%). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ***p<0,0001; **p<0,001 e **p <0,01. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

6.1.2 Teste de avaliação da locomoção e exploração

6.1.2.1 Teste do campo aberto

No teste do campo aberto, realizado para avaliar o comportamento animal nos parâmetros de locomoção e exploração em um novo ambiente, foram observados os seguintes critérios: *crossing* (número de cruzamentos de linha), *rearing* (número de levantamento vertical), o tempo dentro da zona central e da zona periférica, o número de entradas na zona central e periférica e a distância percorrida na zona central.

O número de *crossing* (figura 22A), reduziu no grupo de animais expostos ao LPS ($180,7 \pm 22,65$), quando comparado ao grupo controle ($332 \pm 22,97$). O tratamento com o CLX ($325,7 \pm 52,89$), mas não por ESC, foi capaz de reverter esse parâmetro. A quantidade de levantamentos verticais, ou seja, o *rearing* (figura 22B), diminuiu de forma significativa nos animais expostos ao LPS ($2,33 \pm 1,05$), quando comparado aos animais do grupo controle ($9,00 \pm 2,58$). Não houve diferenças significativas neste parâmetro em relação ao grupo tratado com CLX e ESC.

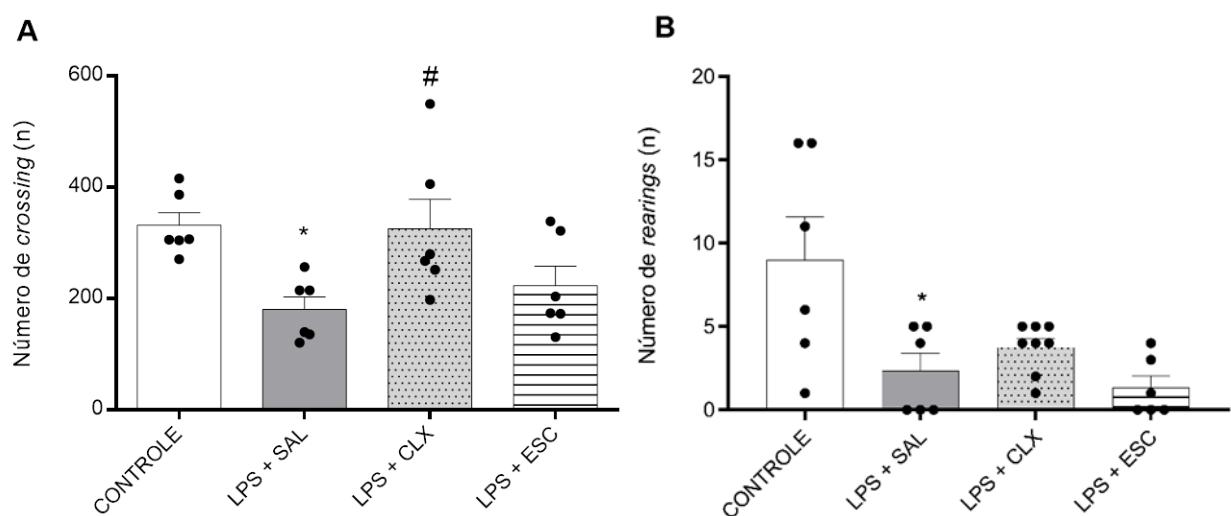
Os parâmetros referentes à zona central do aparato, estão demonstrados na figura 23, representando o número de entradas na zona central (A), o tempo na zona central (B) e a distância percorrida na zona central (C). Quanto ao número de entradas, observou-se que a exposição ao LPS ($7,00 \pm 1,64$) proporcionou redução deste número quando comparado ao grupo controle ($20,83 \pm 1,04$), enquanto isso, o tratamento com CLX ($12,83 \pm 1,01$) foi capaz de reverter a diminuição. No tempo da zona central, verificou-se que não houve diferença entre os grupos, porém, na distância percorrida na zona central, houve uma redução no grupo submetido ao LPS ($3,33 \pm 0,65$) ao comparar com o grupo controle ($8,79 \pm 2,35$), além disso, os animais que receberam tratamento com o CLX ($8,36 \pm 1,02$) obtiveram valores próximos ao grupo controle. Não foram observadas diferenças estatísticas em relação ao grupo tratado com ESC.

Na zona periférica, verificou-se o número de entradas (figura 24A) e o tempo (figura 24B). No primeiro parâmetro, foi observado aumento de entrada nos animais expostos ao LPS ($19,83 \pm 2,28$) quando comparados ao grupo controle $10,80 \pm 3,36$. O tratamento com o CLX ($4,60 \pm 1,16$) e ESC ($9,25 \pm 1,64$) proporcionou uma redução relevante quando comparado ao grupo LPS + SAL. Quanto ao tempo na zona periférica, foi observado que o grupo exposto ao LPS ($287,8 \pm 1,36$) obteve um aumento de tempo quando comparado com o grupo controle

($169,4 \pm 44,88$), e ambos os tratamentos, com CLX ($165,6 \pm 20,70$) e ESC ($211,1 \pm 38,90$) conseguiram reverter o aumento deste tempo na zona periférica.

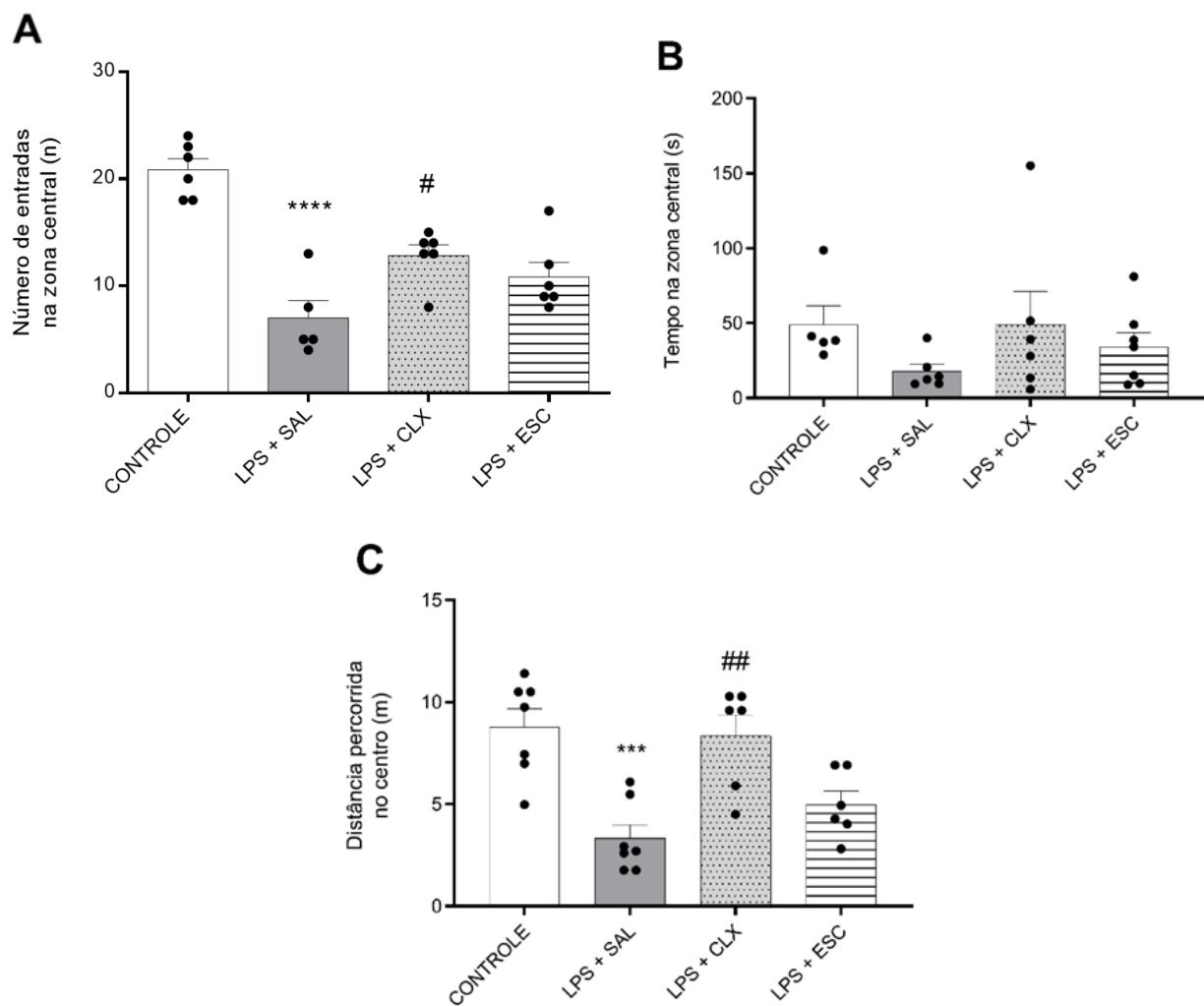
De forma complementar, a figura 25 representa o trajeto do animal durante o teste do campo aberto (A), e o gráfico mostra um mapa de calor do ponto central do animal, em três momentos: 5 segundos (s), 10 segundos (s) e 15 segundo (s), demonstrando seu percurso e comportamento no teste.

Figura 22 – Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de cruzamentos (*crossings*) (A) e o número de levantamentos verticais (*rearing*) (B) em camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média ($n= 6 - 8$ animais/grupo). O número de crossing e rearing são apresentados em números absolutos (n). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: # $p < 0,05$ e * $p < 0,05$. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

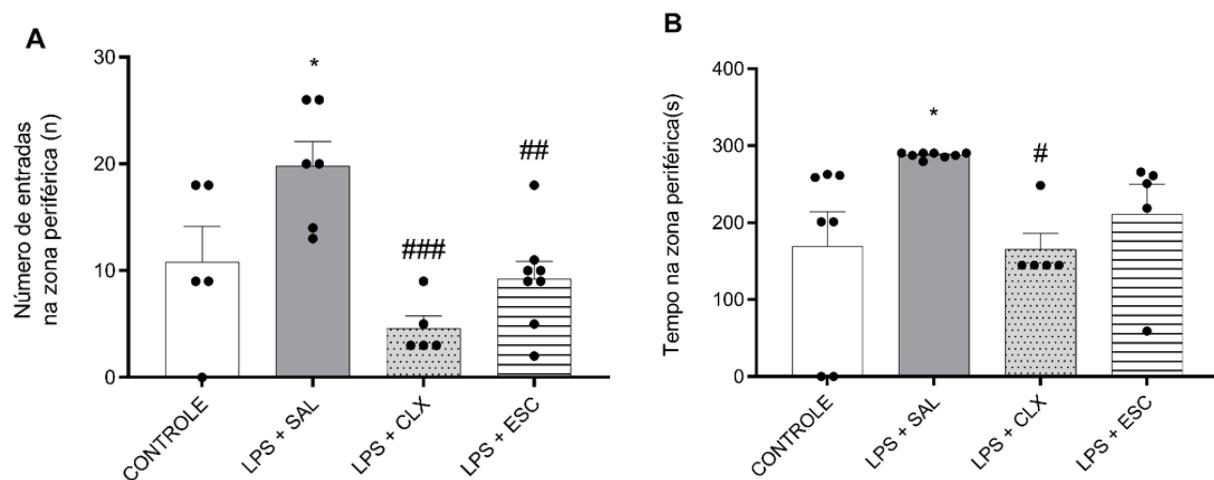
Figura 23 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o (A) número de entradas na zona central; (B) tempo na zona central e (C) distância percorrida na zona central em camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média ($n= 6 - 8$ animais/grupo). O número de entradas na zona central é apresentado em números absolutos (n), o tempo na zona central é apresentado em segundos (s) e a distância percorrida na zona central é apresentada em metros (m). A análise estatística foi realizada por one-way ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: *** $p<0,0001$; # $p <0,05$; ** $p<0,001$; ##### $p<0,0001$ e ## $p <0,01$. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e

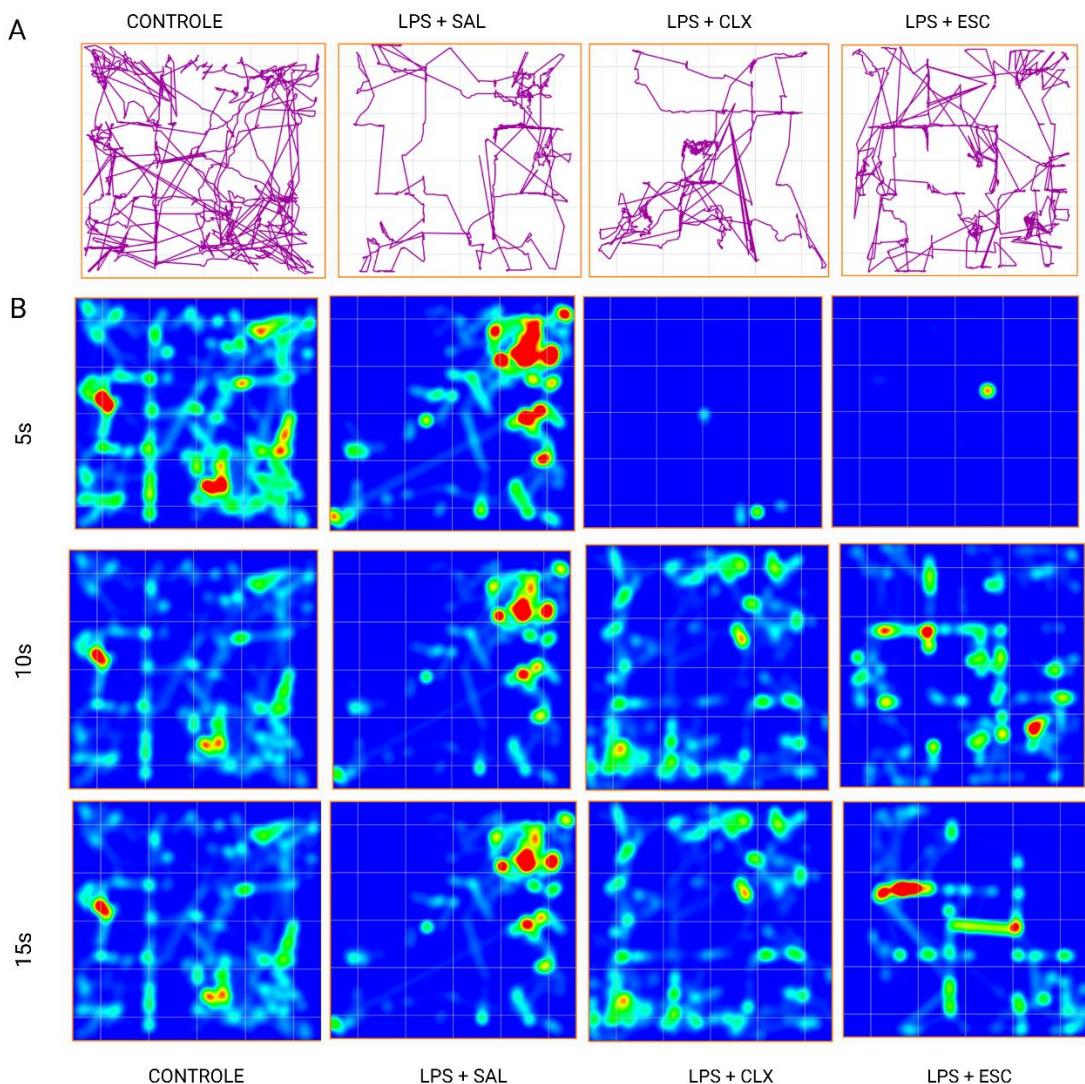
celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

Figura 24 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o (A) número de entradas na zona periférica e o (B) tempo na zona periférica em camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média ($n= 6 - 8$ animais/grupo). O número de entradas na zona periférica é apresentado em números absolutos (n) e o tempo na zona periférica é apresentado em segundos (s). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ***p<0,0001; #p <0,05; **p<0,001; #####p<0,0001 e ##p <0,01. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

Figura 25 – Trajeto dos animais (A) e mapa de calor (B) durante o teste nos tempos de 5, 10 e 15 segundos.



O gráfico mostra um mapa de calor do ponto central do animal, durante toda a duração do teste, e usa a escala mostrada abaixo:



Fonte: Gráficos extraídos do software Anymaze.

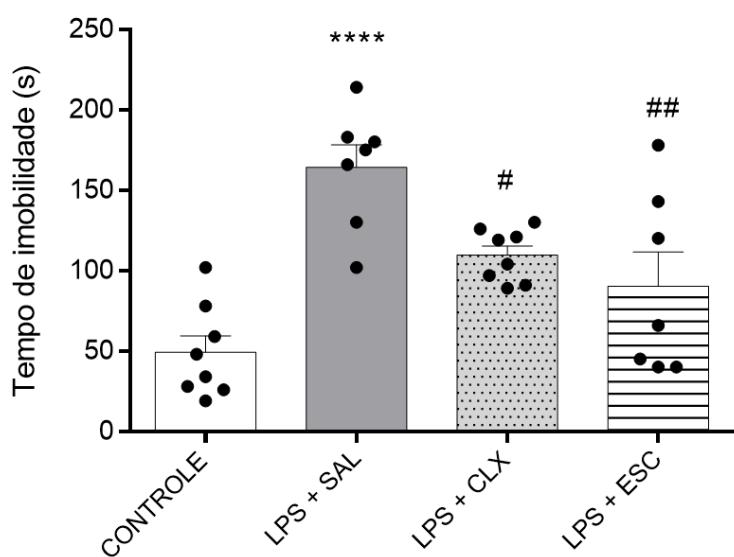
Legenda de cores: quanto mais próximo ao vermelho (cores quentes), maior permanência na área indicada.

6.1.3 Testes preditivos de comportamento tipo-depressivo

6.1.3.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos expostos ao LPS

O LPS provocou aumento ($164,3 \pm 14,01$) no tempo de imobilidade dos animais quando se compara com o grupo controle ($49,25 \pm 10,22$). Por outro lado, a administração de celecoxibe conseguiu reverter o efeito do LPS, resultando em uma redução no tempo de imobilidade ($109,6 \pm 5,76$). O escitalopram, como droga padrão, também conseguiu reduzir o tempo de imobilidade ($90,29 \pm 21,30$).

Figura 26 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos expostos ao LPS

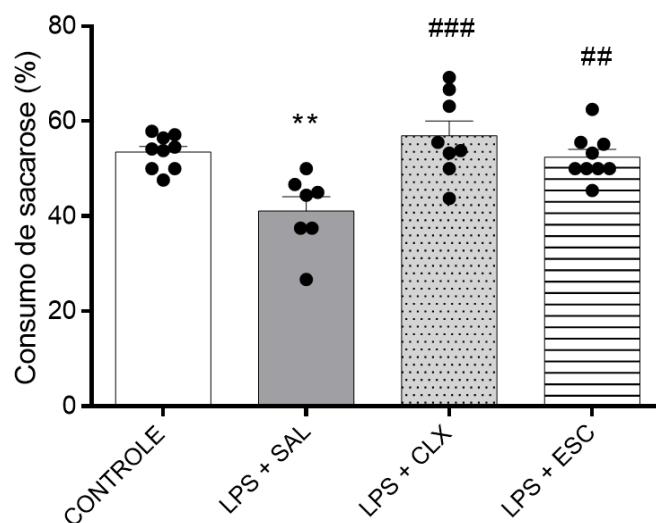


Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). A média do tempo de imobilidade é apresentada em segundos (s). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ***p<0,0001; #p <0,05 e ##p <0,01. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

6.1.3.2 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a preferência por sacarose em camundongos expostos ao LPS

Na avaliação do comportamento tipo anedônico pelo teste de preferência por sacarose, a exposição ao LPS diminuiu a preferência pela solução de sacarose ($41,11 \pm 2,97$) quando se compara ao grupo controle ($53,53 \pm 1,19$). O celecoxibe ($56,94 \pm 3,07$) e o escitalopram ($52,45 \pm 1,63$) conseguiram recuperar a preferência dos animais pelo consumo da solução de sacarose, evidenciando o fim do comportamento anedônico causado pela exposição ao LPS.

Figura 27 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a preferência por sacarose em camundongos expostos ao LPS



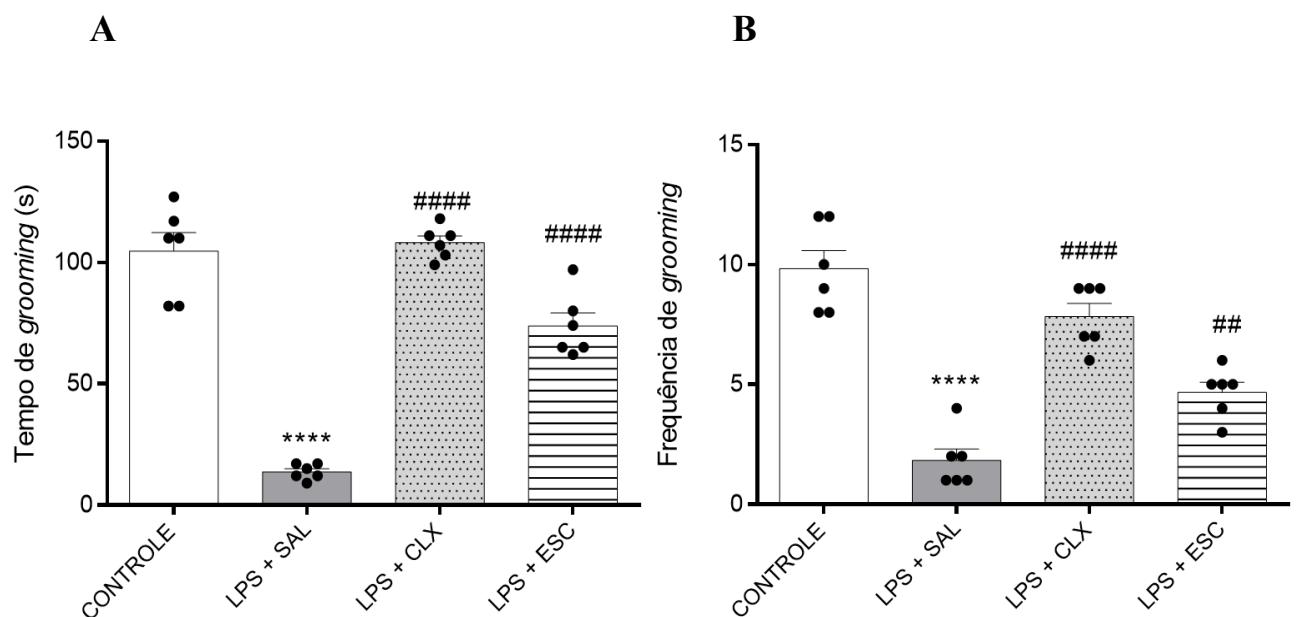
Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). O consumo de sacarose é apresentado em porcentagem (%). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: **p<0,01; ###p <0,001 e ##p <0,01. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

6.1.3.3 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o splash test em camundongos expostos ao LPS

O *splash test* (“teste do respingo” em tradução literal) ou teste de borrifação de sacarose, avalia o comportamento de autolimpeza caracterizado pela ação de *grooming* no animal quando este recebe uma borrifação de solução de sacarose na pelagem. Em relação ao tempo (em segundos) do comportamento de *grooming*, o grupo que recebeu LPS ($13,67 \pm 1,30$) apresentou redução no tempo quando comparado ao grupo controle ($104,7 \pm 7,60$). A administração de CLX aumentou o tempo de *grooming* ($108,2 \pm 2,73$) assim como a administração de ESC ($73,83 \pm 5,38$) quando comparados ao grupo LPS + SAL. Os resultados do tempo de *grooming* são expressos na figura 28A.

Além do tempo (em segundos), a média da frequência de *grooming* foi contabilizada e expressa em número absolutos, sendo representada na figura 28B. A exposição ao LPS causou diminuição na frequência de *grooming* ($1,83 \pm 0,47$) quando se compara ao grupo controle ($9,83 \pm 0,74$). Os tratamentos com CLX ($7,83 \pm 0,54$) e ESC ($4,66 \pm 0,42$) aumentaram a frequência desse tipo de comportamento.

Figura 28 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o tempo e frequência de *grooming* no *splash test* em camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média ± erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). 28A - O tempo de *grooming* é apresentado em segundos (s). 28B - frequência de *grooming* é apresentada em números absolutos. A análise estatística foi realizada por *one-way ANOVA*, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ***p<0,0001, #####p<0,0001 e ##p<0,01. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

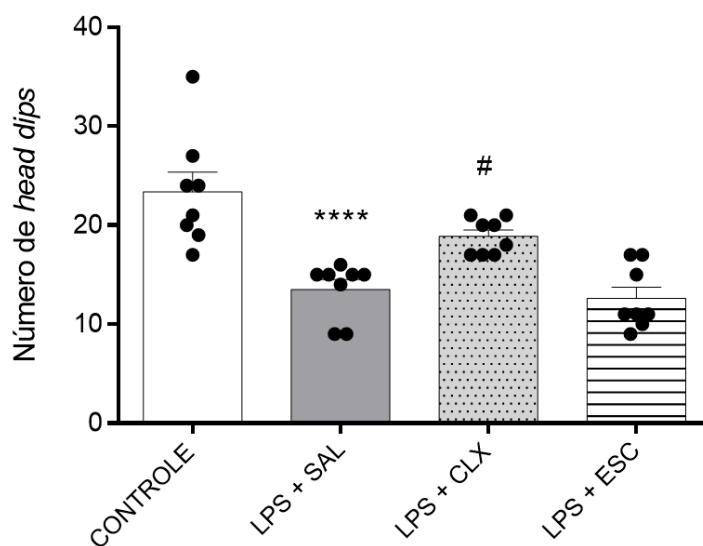
6.1.4 Testes preditivos de comportamento tipo-ansioso

6.1.4.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de head dips no teste da placa perfurada em camundongos expostos ao LPS

No teste da placa perfurada, o comportamento tipo-ansioso é avaliado através da quantidade de *head dips* (“mergulhos de cabeça”, em tradução literal), que ocorre quando o camundongo insere completamente sua cabeça em dos orifícios do aparato. A exposição ao LPS diminuiu de forma significativa o número de mergulhos ($13,50 \pm 1$) quando comparado ao

grupo controle ($23,38 \pm 2$). O tratamento com CLX conseguiu aumentar a quantidade de mergulhos ($18,88 \pm 0,63$), porém, ESC não obteve diferenças estatísticas ($12,63 \pm 1,13$).

Figura 29 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de *head dips* no teste da placa perfurada em camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). A frequência de *head dips* é apresentada em números absolutos. A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ****p<0,0001 e #p<0,05. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

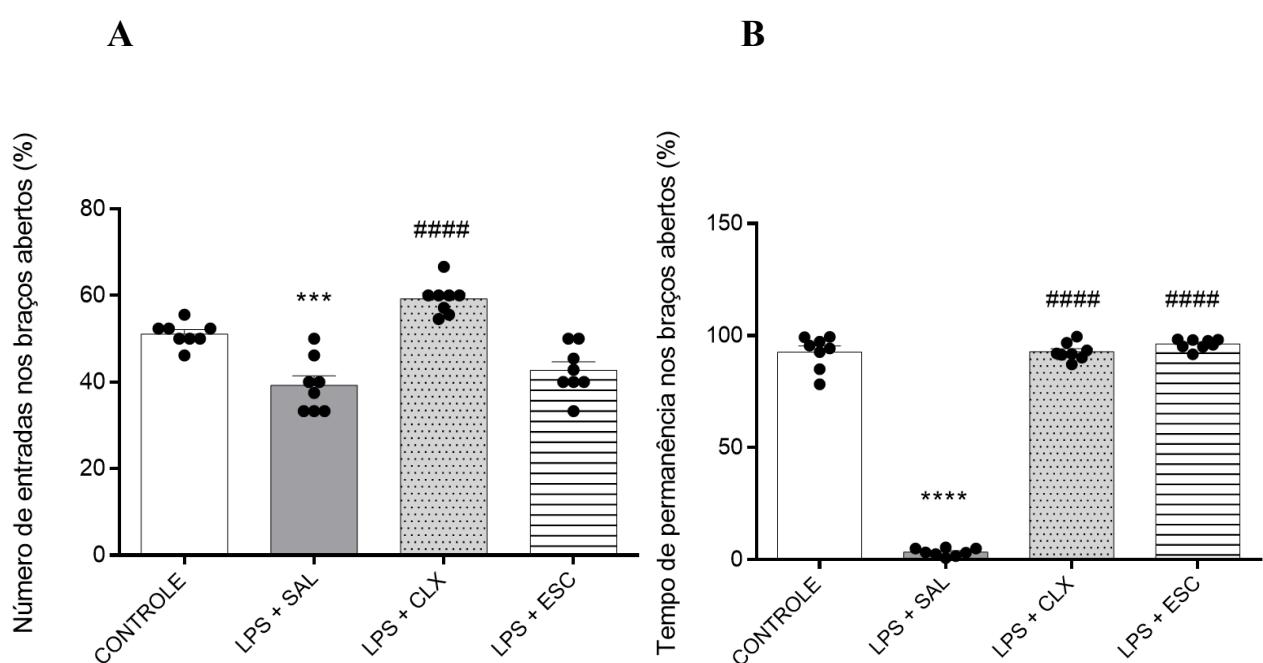
6.1.4.2 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o padrão exploratório no teste do labirinto em cruz elevada em camundongos expostos ao LPS

O primeiro parâmetro avaliado no teste foi o percentual do número de entradas nos braços abertos do aparato (PEBA). O LPS causou diminuição do PEBA ($39,21 \pm 2,2$) quando se compara aos animais do grupo controle ($51,11 \pm 0,97$). O tratamento com CLX conseguiu

aumentar o PEBA ($59,24 \pm 1,31$), porém, não foi observado o mesmo padrão com o tratamento de ESC ($42,70 \pm 19,99$). Os dados estão representados na figura 30A.

O segundo parâmetro avaliado foi o percentual do tempo de permanência dos animais nos braços abertos do aparato (PTBA). Os animais que receberam apenas LPS e salina permaneceram menos tempo nos braços abertos ($3,42 \pm 0,61$) quando comparados aos animais do grupo controle ($92,75 \pm 2,63$). CLX ($92,82 \pm 1,36$) e ESC ($96,27 \pm 0,81$) conseguiram reverter esse padrão e aumentar o PTBA. Os resultados estão na figura 30B.

Figura 30 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o padrão exploratório no teste do labirinto em cruz elevada em camundongos expostos ao LPS



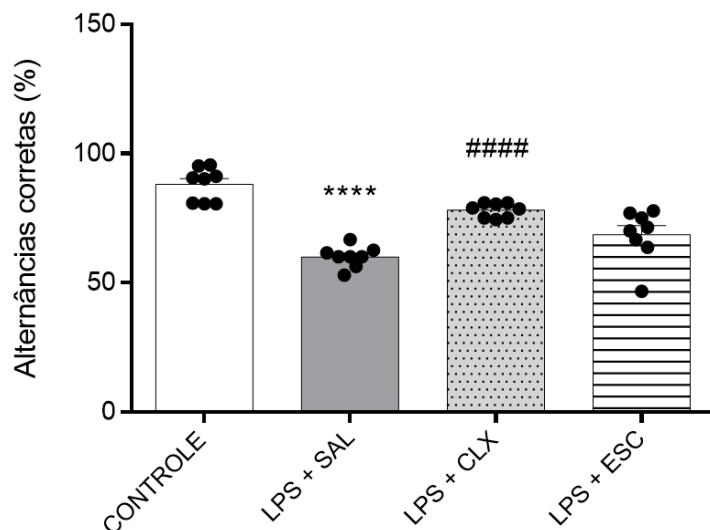
Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). 30A- A porcentagem do número de entradas nos braços abertos (%) (PEBA) é originada a partir do cálculo: número de entrada nos braços abertos x 100 / número de entradas nos braços abertos + número de entrada nos braços fechados. 30B - A porcentagem do tempo de permanência dos animais nos braços abertos (PTBA) é originada a partir do cálculo: tempo de permanência nos braços abertos x 100 / tempo de permanência nos braços abertos + tempo de permanência nos braços fechados. A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ***p<0,001; ****p<0,0001; #####p<0,0001. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

6.1.5 Teste de avaliação de memória

6.1.5.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de alternâncias corretas no teste do labirinto em Y em camundongos expostos ao LPS

Foi observado que os animais do grupo LPS + SAL ($59,99 \pm 1,44$) obtiveram prejuízos na memória ao realizarem um número de alternâncias corretas significativamente inferior ao grupo controle ($88,08 \pm 2,28$). Esse prejuízo foi revertido com o tratamento com CLX ($78,04 \pm 0,99$), no qual os animais realizaram um maior número de alternâncias corretas — resultado que, no entanto, não foi observado com o tratamento com ESC ($68,51 \pm 3,57$).

Figura 31 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre o número de alternâncias corretas no teste do labirinto em Y em camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). A porcentagem de alternâncias corretas é originada a partir do cálculo: (número de alternâncias corretas / número total de entradas - 2) x 100. A análise estatística foi realizada por one-way ANOVA, seguido pelo teste post hoc de Tukey. Valores significativos: ***p<0,0001; #####p<0,0001. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacárido 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

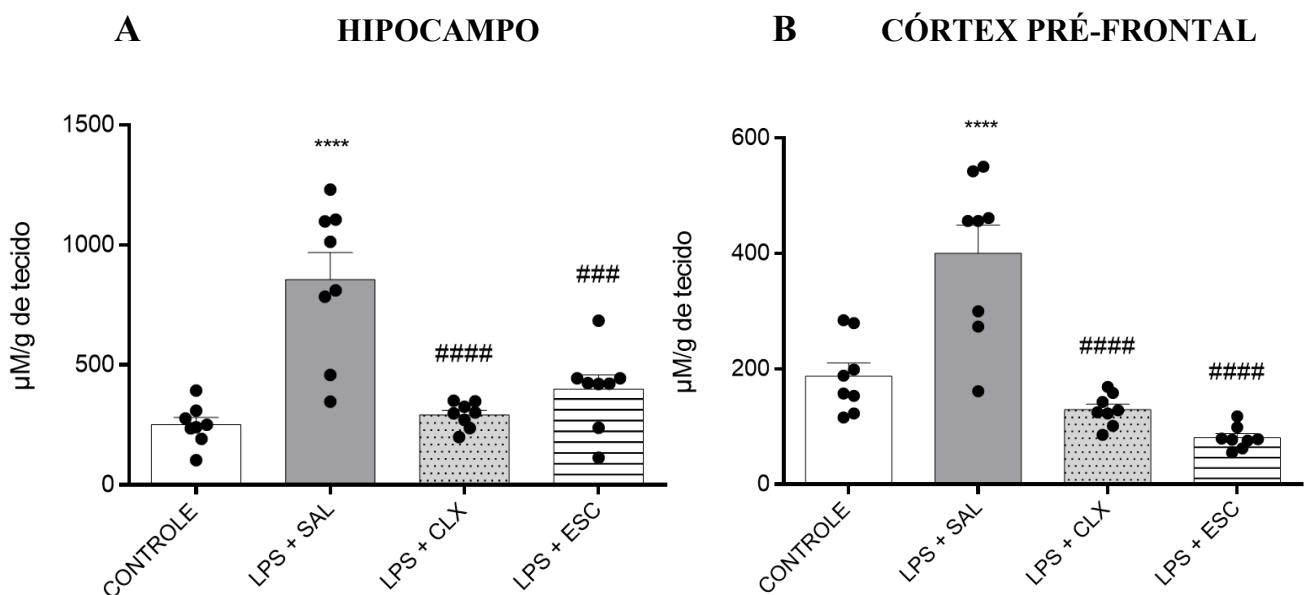
6.1.6 Avaliação de marcadores do estresse oxidativo e nitrosativo

6.1.6.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de nitrito no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS

No hipocampo, a exposição ao LPS causou aumento nas concentrações de nitrito ($855,9 \pm 112,6$) quando se compara ao grupo controle ($250,1 \pm 29,90$). Os tratamentos com CLX ($291,5 \pm 18,85$) e ESC ($399 \pm 58,94$) conseguiram diminuir os níveis de nitrito na área cerebral. O gráfico é demonstrado na figura 32A.

Em relação ao córtex pré-frontal, o LPS também incrementou os níveis de nitrito ($400 \pm 49,28$) em relação ao grupo controle ($187,5 \pm 22,92$). Os tratamentos com CLX ($129 \pm 9,78$) e ESC ($80,55 \pm 6,98$) conseguiram diminuir o estresse nitrosativo na área cerebral. Os resultados são representados no gráfico da figura 32B.

Figura 32 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de nitrito ($\mu\text{M/g}$ de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média ($n= 6 - 8$ animais/grupo). 32A - Concentração de nitrito no hipocampo. 32B - Concentração de nitrito no córtex pré-frontal. A concentração de nitrito é expressa em micromolar por grama ($\mu\text{M/g}$) de tecido cerebral (hipocampo ou córtex pré-frontal). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: **** $p<0,0001$; ##### $p<0,0001$; #### $p<0,001$. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo

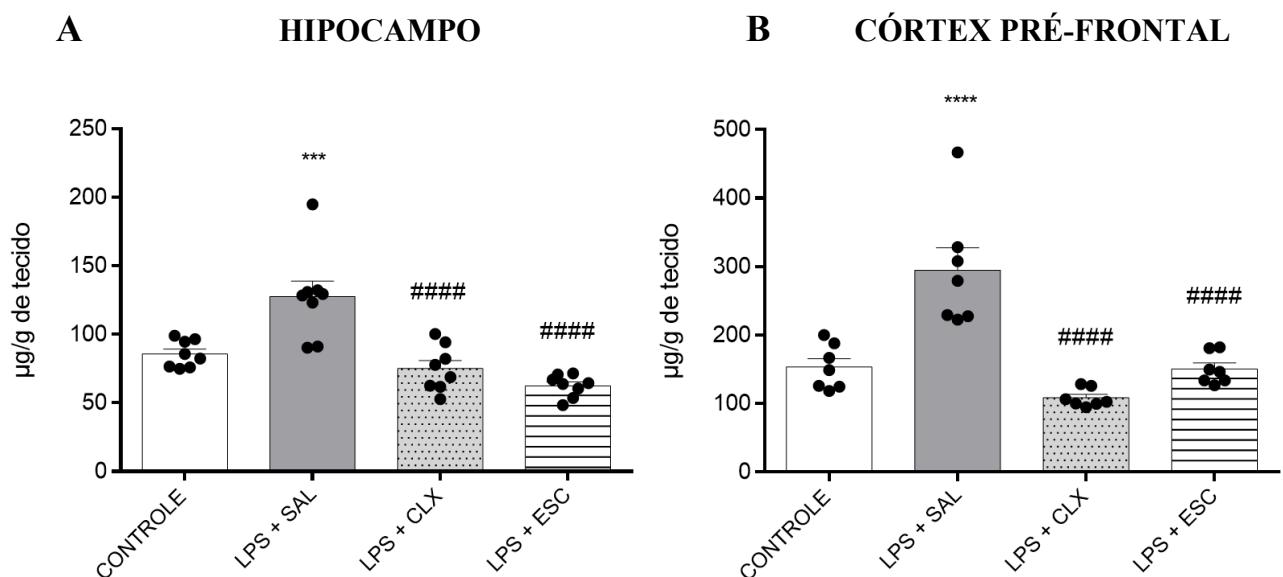
LPS + SAL *versus* grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC *versus* LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

6.1.6.2 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS

O ensaio para medir as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, do inglês *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) revelou que, no hipocampo, o LPS causou aumento das TBARS ($127,5 \pm 11,42$) em comparação ao grupo controle ($85,72 \pm 3,49$). Os tratamentos com CLX ($75,06 \pm 5,86$) e ESC ($62,48 \pm 2,85$) conseguiram diminuir a concentração das substâncias. O gráfico pode ser observado na figura 33A.

Resultado semelhante foi observado no córtex pré-frontal, notou-se um aumento das TBARS provocado pelo LPS ($294,7 \pm 32,80$) em comparação aos animais do grupo controle ($153,4 \pm 12,32$). Os camundongos que receberam CLX ($108,3 \pm 5,05$) ou ESC ($150,6 \pm 8,57$) tiveram as TBARS diminuídas na área cerebral estudada. Os resultados são apresentados na figura 33B.

Figura 33 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) ($\mu\text{g/g}$ de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS



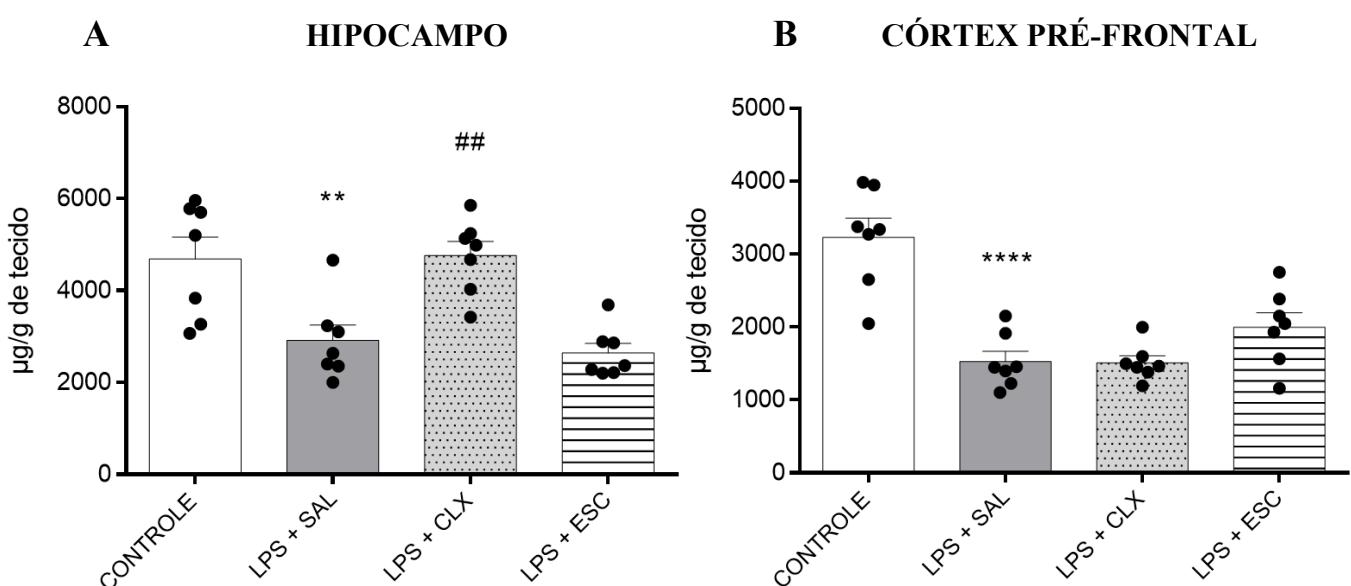
Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). 33A - Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no hipocampo. 33B - Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no córtex pré-frontal. A concentração das TBARS é expressa em microgramas por grama ($\mu\text{g/g}$) de tecido cerebral (hipocampo ou córtex pré-frontal). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ***p<0,001; #####p<0,0001; ****p<0,0001. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

6.1.6.3 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de glutationa reduzida (GSH) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS

A dosagem de glutationa reduzida (GSH - do inglês *Glutathione, Sulfur, Hydrogen*) no hipocampo, demonstrou que a exposição ao LPS diminuiu os níveis da enzima (2915 ± 334) quando se compara ao grupo controle ($4691 \pm 474,7$). O tratamento com CLX conseguiu reverter os níveis de GSH ($4765 \pm 306,9$), enquanto ESC não proporcionou reversão desse declínio ($2645 \pm 206,4$). A figura 34A mostra os resultados.

No córtex pré-frontal, o LPS também causou diminuição dos níveis de GSH ($1527 \pm 141,5$) quando se compara ao grupo controle ($3232 \pm 260,4$). Os tratamentos com CLX ($1511 \pm 93,84$) e ESC ($1999 \pm 197,5$) não conseguiram reverter a diminuição da enzima. Os resultados podem ser encontrados expressos na figura 34B.

Figura 34 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de glutationa reduzida (GSH) ($\mu\text{g/g}$ de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média ($n= 6 - 8$ animais/grupo). 34A - Concentração de glutationa reduzida (GSH) no hipocampo. 34B - Concentração de glutationa reduzida (GSH) no córtex pré-frontal. A concentração de GSH é expressa em microgramas por grama ($\mu\text{g/g}$) de tecido cerebral (hipocampo ou córtex pré-frontal). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ** $p<0,01$; ## $p<0,01$; **** $p<0,0001$. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL *versus* grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC *versus* LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral).

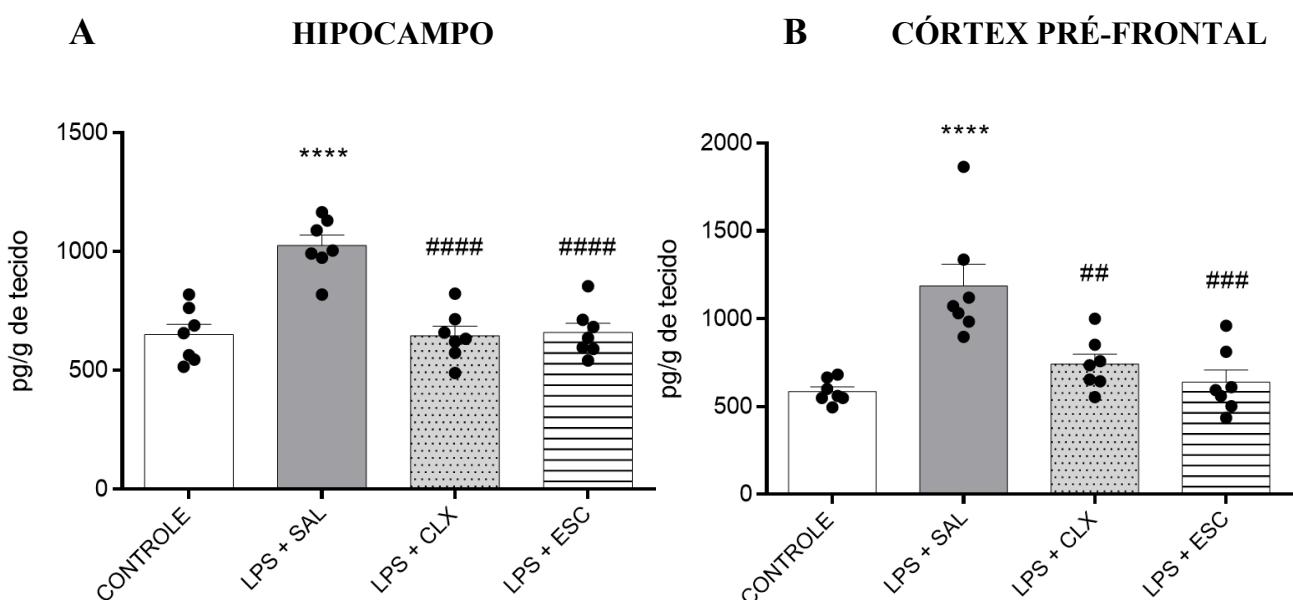
6.1.7 Avaliação de citocinas pró-inflamatórias

6.1.7.1 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de Interleucina-1 beta (IL-1 β) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS

No hipocampo, a exposição ao LPS provocou um aumento significativo de IL-1 β ($1025 \pm 44,02$) quando se compara ao grupo controle ($650,7 \pm 43,46$). Os tratamentos com CLX ($645,4 \pm 39,84$) e ESC ($659,5 \pm 39,09$) conseguiram reverter o aumento da citocina na área cerebral estudada. Os resultados são demonstrados na figura 35A.

No córtex pré-frontal, LPS também provocou aumento de IL-1 β ($1187 \pm 124,3$) em comparação ao grupo controle ($586,5 \pm 25,63$). Foi observado que as administrações de CLX ($743,2 \pm 56,18$) e ESC ($639,7 \pm 69,47$) diminuíram os níveis da citocina pró-inflamatória. A figura 35B traz os resultados.

Figura 35 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de Interleucina-1 beta (IL-1 β) (pg/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). 35A - Concentração de Interleucina-1 beta (IL-1 β) no hipocampo. 35B - Concentração de Interleucina-1 beta (IL-1 β) no córtex pré-frontal. A concentração de IL-1 β é expressa em picograma por grama (pg/g) de tecido cerebral (hipocampo ou córtex pré-frontal). A análise estatística foi realizada por one-way ANOVA, seguido pelo teste post hoc de Tukey.

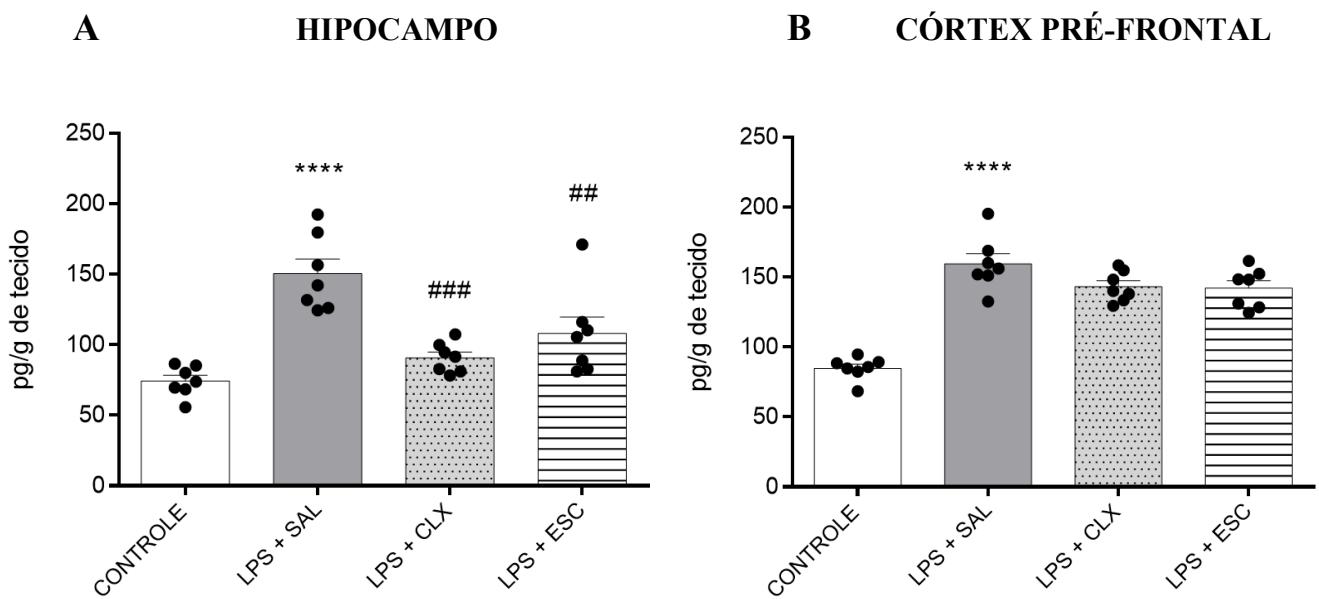
Valores significativos: ****p<0,0001; #####p<0,0001; ###p<0,001; ##p<0,01. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL *versus* grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC *versus* LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral)

6.1.7.2 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de Interleucina-6 (IL-6) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS

Em relação a quantificação da concentração de Interleucina-6 (IL-6), observou-se que no hipocampo, a exposição ao LPS aumentou de forma significativa sua presença ($150,5 \pm 10,16$) quando se compara ao grupo controle ($74,24 \pm 4,09$). Os tratamentos com CLX ($90,80 \pm 4,05$) e ESC ($108 \pm 11,75$) conseguiram diminuir os níveis da citocina pró-inflamatória estudada. Os resultados dessa análise podem ser observados na figura 36A.

No córtex pré-frontal, os animais que receberam LPS obtiveram aumento da concentração de IL-6 ($159,5 \pm 7,29$) em comparação ao grupo controle ($84,77 \pm 3,11$). Observou-se que os tratamentos com CLX ($143,2 \pm 4,12$) e ESC ($142,1 \pm 5,29$) não conseguiram diminuir a concentração da citocina pró-inflamatória. A figura 36B mostra os resultados obtidos.

Figura 36 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração de Interleucina-6 (IL-6) (pg/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média ± erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). 36A - Concentração de Interleucina-6 (IL-6) no hipocampo. 36B - Concentração de Interleucina-6 (IL-6) no córtex pré-frontal. A concentração de IL-6 é expressa em picograma por grama (pg/g) de tecido cerebral (hipocampo ou córtex pré-frontal). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ***p<0,0001; ###p<0,001; ##p<0,01. O símbolo asterisco (*) representa diferença estatística na comparação entre o grupo LPS + SAL versus grupo CONTROLE. O símbolo cerquilha (#) representa diferença estatística na comparação entre os grupos LPS + CLX ou LPS + ESC versus LPS + SAL. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral)

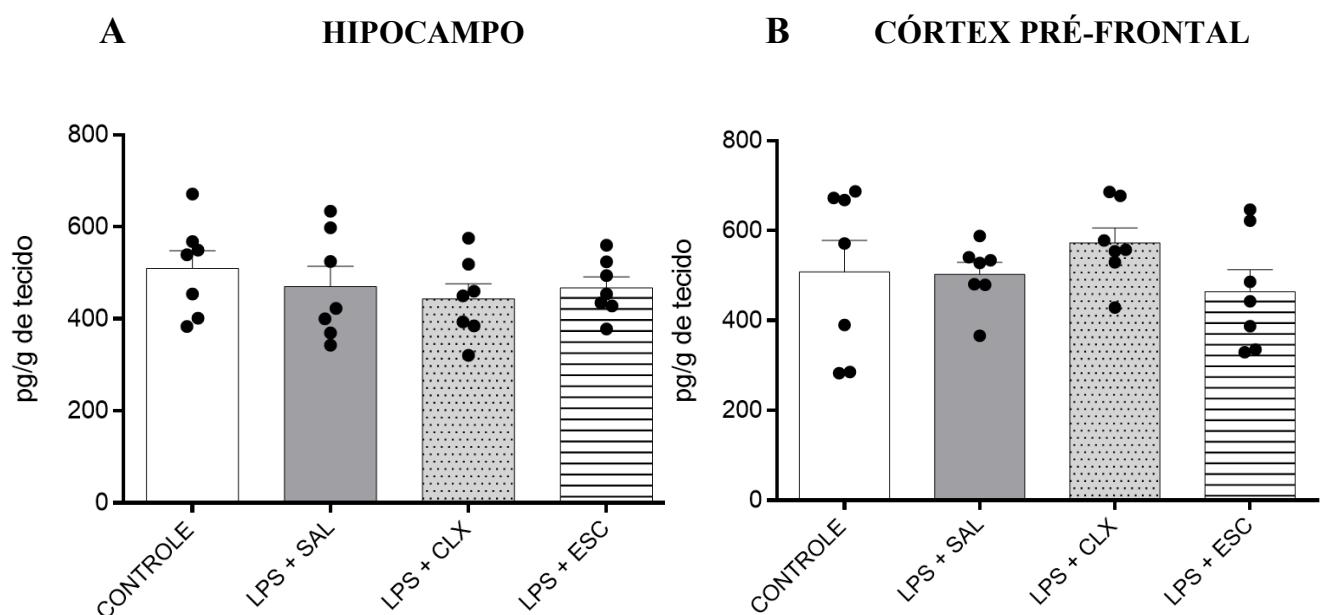
6.1.7.3 Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração do Fator de Necrose Tumoral (TNF) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS

A quantificação das concentrações do Fator de Necrose Tumoral (TNF) no hipocampo revelou que a exposição ao LPS não aumentou de forma significativa a citocina ($470,5 \pm 43,59$) quando se compara ao grupo controle ($509,9 \pm 38,65$). Além disso, não se obteve diferenças

significativas em relação aos animais tratados com CLX ($443,6 \pm 32,52$) e ESC ($467,9 \pm 23,53$). A figura 37A demonstra os resultados.

No córtex pré-frontal, a análise também demonstrou ausência de diferença estatística entre os animais expostos apenas ao LPS ($502,7 \pm 26,76$) e o grupo controle ($508,5 \pm 69,59$). De forma semelhante ao hipocampo, no córtex pré-frontal os tratamentos com CLX ($573,2 \pm 33,43$) e ESC ($464,4 \pm 48,80$) não proporcionaram diferenças estatísticas na concentração de TNF. Os resultados estão presentes na figura 37B.

Figura 37 - Efeito da administração de celecoxibe (20 mg/kg) sobre a concentração do Fator de Necrose Tumoral (TNF) (pg/g de tecido) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média (n= 6 - 8 animais/grupo). 37A - Concentração do Fator de Necrose Tumoral (TNF) no hipocampo. 37B - Concentração do Fator de Necrose Tumoral (TNF) no córtex pré-frontal. A concentração do TNF é expressa em picograma por grama (pg/g) de tecido cerebral (hipocampo ou córtex pré-frontal). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Os valores seriam significativos se $p < 0,05$. Abreviaturas: CONTROLE (cloreto de sódio 9mg/mL por via intraperitoneal e via oral); LPS + SAL (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e cloreto de sódio 9mg/mL por via oral); LPS + CLX (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e celecoxibe 20 mg/kg por via oral); LPS + ESC (lipopolissacarídeo 0,5mg/kg por via intraperitoneal e escitalopram 10 mg/kg por via oral)

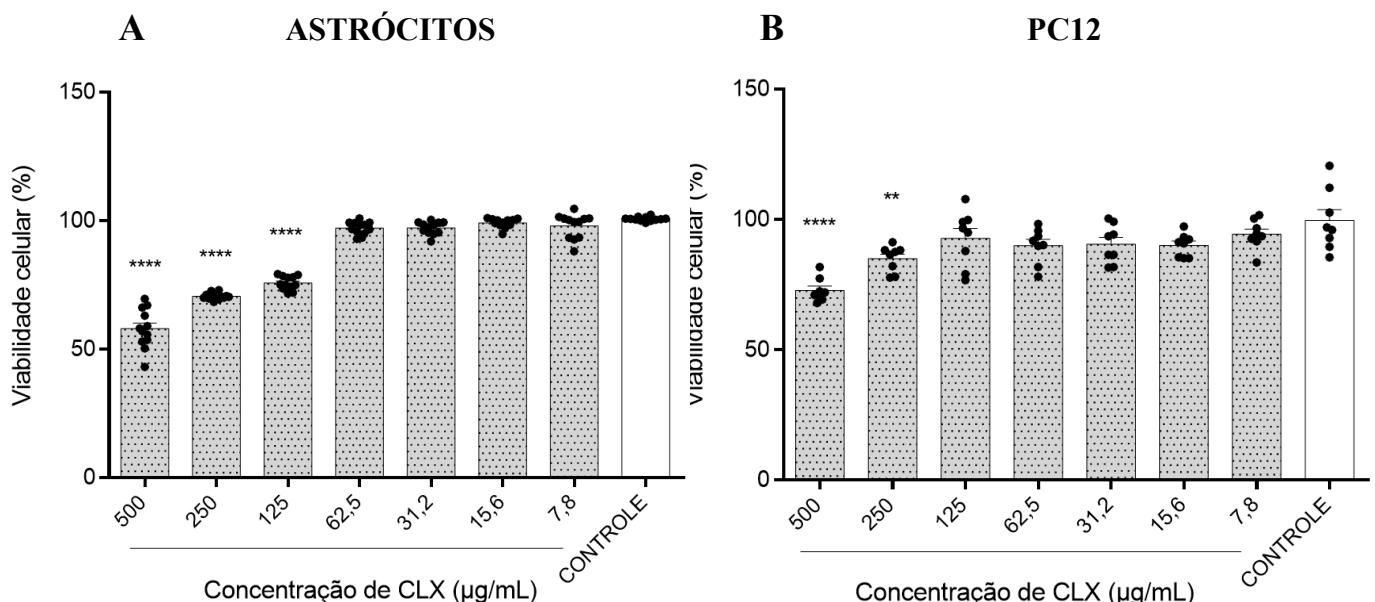
6.2 Testes *in vitro*

6.2.1 Ensaio de viabilidade por redução do MTT em células tratadas com celecoxibe

Em relação aos astrócitos, nas concentrações de celecoxibe estudadas, verificou-se diferenças significativas de viabilidade celular em relação ao grupo controle ($100,7 \pm 0,23$) nas concentrações de $500 \mu\text{g/mL}$ ($57,96 \pm 2,20$), $250 \mu\text{g/mL}$ ($70,54 \pm 0,37$) e $125 \mu\text{g/mL}$ ($75,76 \pm 0,76$), com diminuição da viabilidade celular no ensaio. As concentrações de $62,5 \mu\text{g/mL}$ ($97,11 \pm 0,71$), $31,2 \mu\text{g/mL}$ ($97,15 \pm 0,71$), $15,6 \mu\text{g/mL}$ ($99,13 \pm 0,52$) e $7,8 \mu\text{g/mL}$ ($97,95 \pm 1,39$) não obtiveram diferenças de viabilidade quando comparados com o grupo controle. Os resultados são demonstrados na figura 38A.

Nas células PC12, as concentrações de celecoxibe de $500 \mu\text{g/mL}$ ($72,73 \pm 1,62$) e $250 \mu\text{g/mL}$ ($84,93 \pm 1,78$) foram as únicas a diminuir a viabilidade celular quando comparadas ao grupo controle ($99,54 \pm 4,17$). As concentrações de $125 \mu\text{g/mL}$ ($92,72 \pm 3,79$), $62,5 \mu\text{g/mL}$ ($89,90 \pm 2,41$), $31,2 \mu\text{g/mL}$ ($90,45 \pm 2,62$), $15,6 \mu\text{g/mL}$ ($90,07 \pm 1,57$) e $7,8 \mu\text{g/mL}$ ($94,30 \pm 2,0$) não foram capazes de reduzir a viabilidade celular no ensaio. A figura 38B mostra os resultados obtidos em PC12.

Figura 38 - Ensaio de viabilidade celular de redução do MTT em astrócitos e PC12 tratados com celecoxibe ($\mu\text{g/mL}$) por 12h em diferentes concentrações



Os resultados são expressos com a média \pm erro padrão da média ($n=12$ poços/grupo em astrócitos e 8 poços/grupo em PC12). 38A - Viabilidade celular de astrócitos tratados por 12h com celecoxibe ($\mu\text{g/mL}$) em diferentes

concentrações no teste de redução por MTT. 38B - Viabilidade celular de PC12 tratados por 12h com celecoxibe ($\mu\text{g/mL}$) em diferentes concentrações no teste de redução por MTT. A viabilidade das células é expressa em porcentagem (%). A análise estatística foi realizada por *one-way* ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: *** $p<0,0001$; ** $p<0,01$.

6.2.2 Avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídeo (PI) e Anexina V (Ax) em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe

Com o objetivo de avaliar os mecanismos de morte celular, as células foram expostas ao LPS (50 $\mu\text{g/ml}$) e, 12 horas depois, tratadas por mais 12 horas com celecoxibe na concentração de 62,5 $\mu\text{g/mL}$ (concentração escolhida no ensaio de viabilidade celular de redução do MTT - maior concentração que, em ambos tipos celulares, não diminuiu a viabilidade celular).

Verificou-se em astrócitos e células PC12 quatro marcações distintas, com as seguintes interpretações: 1) células não marcadas (PI - ; Ax -): células viáveis, não apresentando danos aparentes; 2) células marcadas apenas com anexina V (PI - ; Ax +): demonstrando provável evento de apoptose; 3) células marcadas apenas com iodeto de propídeo (PI + ; Ax -): provável evento de necrose e 4) células com dupla marcação (PI +; Ax +): compatíveis com células apoptóticas em estágio avançado ou necrose secundária à apoptose.

Nos astrócitos (figura 39A), verificou-se que nas células não marcadas (PI - ; Ax -) o grupo LPS obteve menor número de eventos ($52,09 \pm 6,79$) quando comparado ao grupo controle ($98,43 \pm 0,36$), enquanto o grupo desafiado por LPS e tratado com CLX conseguiu aumentar a porcentagem de eventos ($95,71 \pm 1,76$) em comparação ao grupo LPS, demonstrando células sem danos aparentes após o tratamento com CLX.

Nas células marcadas com PI (PI + ; Ax -), indicando provável evento de necrose, observou-se maior porcentagem de eventos no grupo LPS ($24,05 \pm 4,23$) quando comparado com controle ($1,47 \pm 0,35$). O grupo de células expostas ao LPS e tratado com CLX obteve uma diminuição de eventos com essa marcação ($3,90 \pm 1,66$).

Em relação à dupla marcação (PI +; Ax +), o grupo LPS obteve significativo aumento de eventos ($12,12 \pm 2,45$) quando comparado ao grupo controle (0 ± 0 - nenhum evento). O grupo de células tratadas com CLX após a exposição ao LPS obteve mínimos eventos ($0,04 \pm 0,03$) em comparação ao grupo LPS, demonstrando diminuição significativa e quase nulidade de eventos relacionados a apoptose em estágio avançado ou necrose secundária nas células tratadas com CLX.

Nas células marcadas apenas com Ax (PI - ; Ax +), foi observado no grupo LPS aumento da porcentagem de eventos ($11,73 \pm 0,93$) quando comparado ao grupo controle ($0,09 \pm 0,01$), demonstrando prováveis eventos apoptóticos provocados pelo LPS. O tratamento das células após exposição ao LPS com CLX ($0,32 \pm 0,12$) conseguiu diminuir a porcentagem desses eventos em comparação ao grupo LPS.

Nas células PC12 (figura 39B), seguindo a mesma interpretação das marcações descritas anteriormente, observou-se que nas células duplamente não marcadas (PI - ; Ax -) que o grupo LPS obteve menor porcentagem de eventos ($74,49 \pm 1,52$) quando comparado ao grupo controle ($97,89 \pm 0,52$). O tratamento com CLX nas células expostas ao LPS aumentou a quantidade de eventos ($97,70 \pm 0,45$) quando se compara ao grupo LPS.

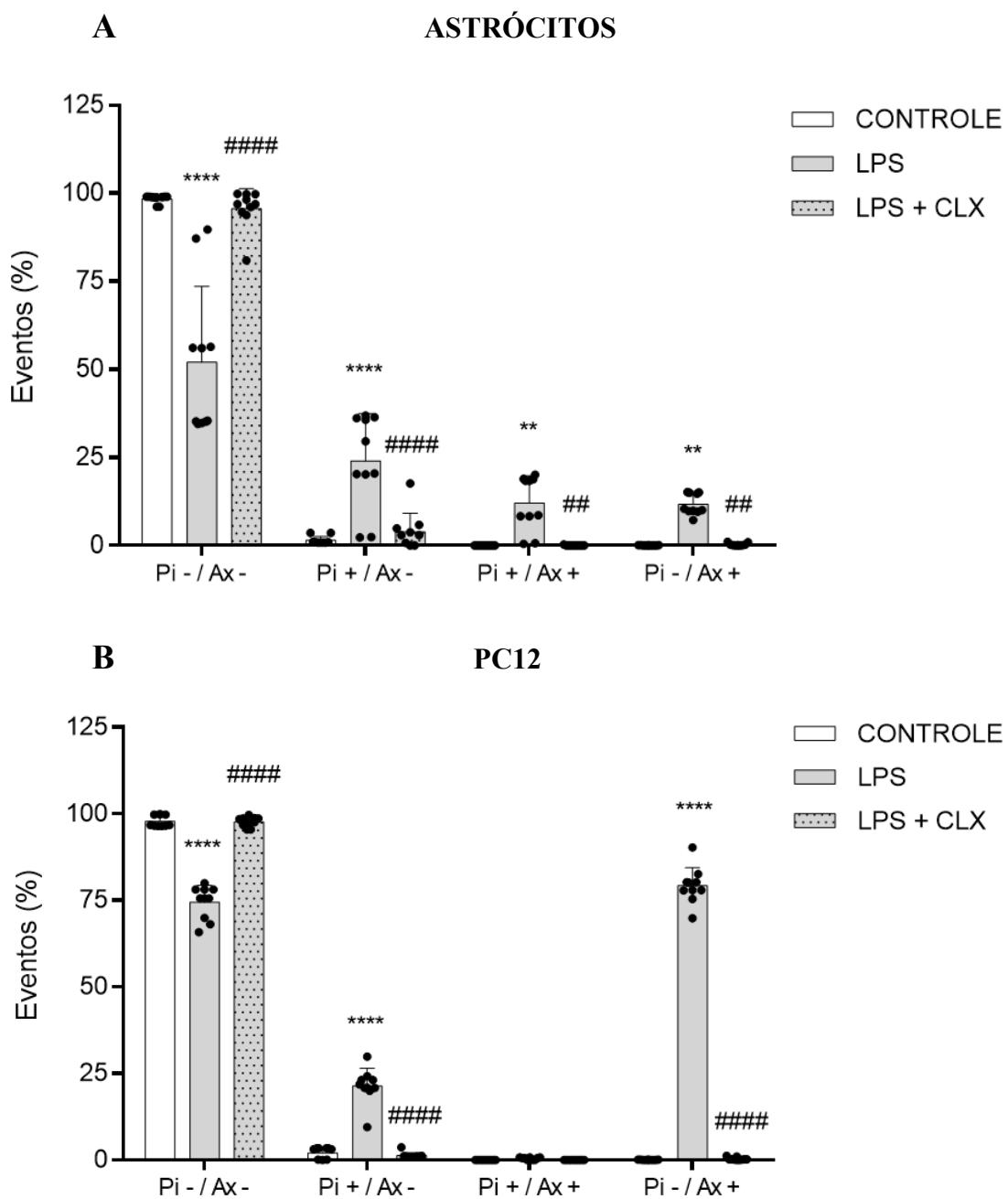
As células marcadas apenas com PI (PI + ; Ax -), verificou-se aumento na porcentagem de eventos no grupo LPS ($21,44 \pm 1,59$) quando comparado ao grupo controle ($2,03 \pm 0,53$). O CLX promoveu diminuição na porcentagem de eventos ($1,28 \pm 0,26$) nas células expostas ao LPS ao se comparar ao grupo LPS.

Nas células duplamente marcadas (PI +; Ax +) não houve diferenças significativas nas comparações entre os grupos LPS ($0,42 \pm 0,11$) *versus* controle (0 ± 0 - nenhum evento) e entre os grupos LPS + CLX ($0,01 \pm 0$) *versus* LPS.

Em relação às células marcadas apenas com Ax (PI - ; Ax +), obteve-se maior número de eventos no grupo LPS ($79,27 \pm 1,64$) quando comparado ao grupo controle ($0,07 \pm 0$). As células do grupo tratado com CLX após a exposição ao LPS obtiveram diminuição na porcentagem de eventos ($0,35 \pm 0,13$) quando se compara ao grupo LPS.

Não foi possível obter os gráficos representativos de densidade por limitação técnica.

Figura 39 - Avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax) em astrócitos e células PC12 desafiados por LPS e tratadas com celecoxibe



Os resultados são expressos com a média ± erro padrão da média (n=10 poços/grupo). 39A - Avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax) em astrócitos desafiados por LPS e tratadas com celecoxibe 39B - Avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax) em células PC12 desafiados por LPS e tratadas com celecoxibe. Os eventos são expressos em porcentagem (%). A análise estatística foi realizada por ANOVA, seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Valores significativos: ****p<0,0001; #####p<0,0001; **p<0,01; ##p<0,01. (*) comparação entre LPS

versus CONTROLE e (#) comparação entre LPS + CLX *versus* LPS. Abreviaturas: LPS lipopolissacarídeo 50 µg/ml; CLX: celecoxibe 62,5 µg/mL.

6.2.3 Visualização de alterações morfológicas em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe

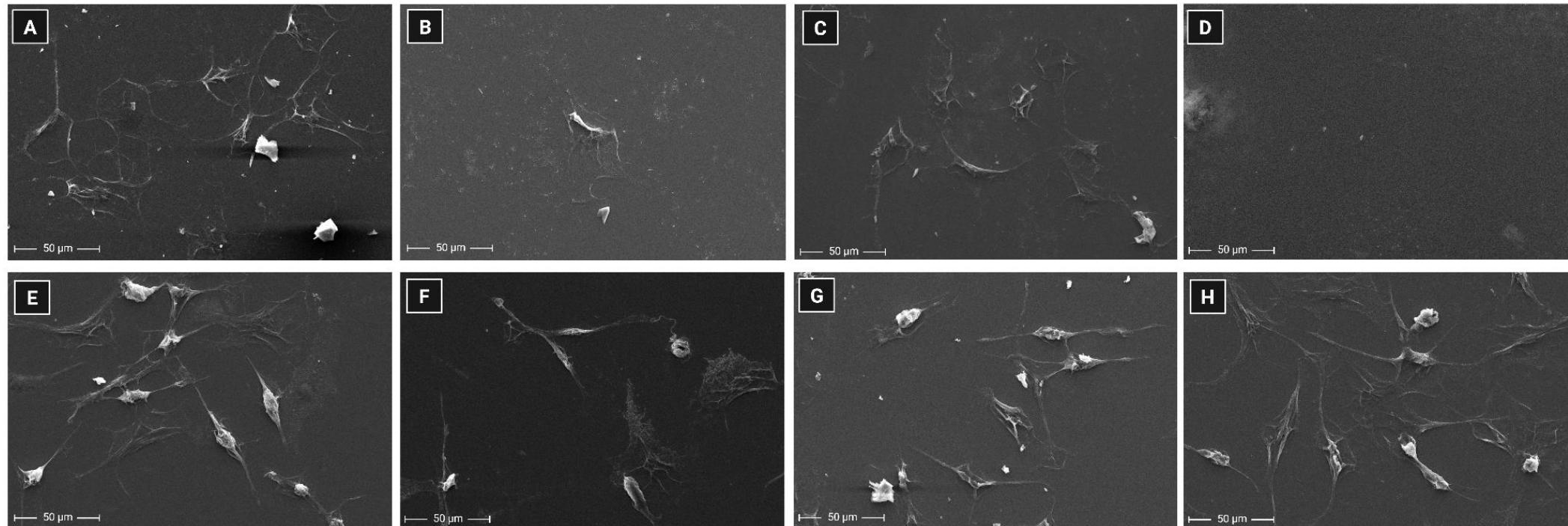
Com o objetivo de associar os resultados celulares, especialmente os referentes aos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax), os astrócitos e células PC12 foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A figura 40 mostra os dois tipos celulares mencionados em diferentes cenários. (A) astrócitos do grupo controle; (B) astrócitos expostos ao LPS 50 µg/ml; (C) astrócitos expostos ao LPS 50 µg/ml e tratados com CLX 31,2 µg/mL; (D) astrócitos expostos ao LPS 50 µg/ml e tratados com CLX 62,5 µg/mL. Na segunda linha: (E) células PC12 do grupo controle; (F) células PC12 expostas ao LPS 50 µg/ml; (G) células PC12 expostas ao LPS 50 µg/ml e tratadas com CLX 31,2 µg/mL e (H) células PC12 expostas ao LPS 50 µg/ml e tratadas com CLX 62,5 µg/mL.

Observa-se que os astrócitos do grupo controle (A) possuem ramificações íntegras e de grande comprimento, maioria do volume preservado e morfologia habitual. A exposição ao LPS (B) provoca nítida diminuição de corpos celulares no campo e morfologia anormal dos astrócitos, cuja membrana parece sofrer retração e as ramificações da célula possuem tamanho diminuído. O tratamento com CLX 31,2 µg/mL (C) parece reverter a maioria das alterações morfológicas provocadas por LPS, com a recuperação de número de células e das características morfológicas e estruturais dos astrócitos, recuperação do volume celular e da integridade das ramificações. Não foi possível visualizar células nos poços contendo astrócitos expostos ao LPS 50 µg/ml e tratados com CLX 62,5 µg/mL (D). Dentre os motivos, é provável que tenha ocorrido falha de processamento da amostra, uma vez que, um resultado compatível com apoptose não é sinérgico aos resultados de avaliação de morte celular anteriormente expostos.

Em relação às células PC12, observa-se que o grupo controle (E) possui células bem aderidas, com formato poligonal, volume citoplasmático preservado e grandes ramificações dendríticas em contato entre as células. A exposição ao LPS 50 µg/ml (F) provoca nítida desorganização do citoplasma das células, com diminuição do volume citoplasmático, retração das ramificações dendríticas e uma provável formação de corpos apoptóticos. Os tratamentos com CLX nas concentrações de 31,2 µg/mL (G) e mais pronunciadamente 62,5 µg/mL (H) foram capazes de reverter parcialmente as alterações provocadas pelo LPS. Nota-se nas figuras G e H a recuperação do volume celular e da morfologia estrutural habitual da célula PC12

descrita no grupo controle. Mais fortemente percebe-se na figura H a aderência das células (característica própria da PC12) e uma maior quantidade de ramificações dendríticas em interação.

Figura 40 - Visualização de alterações morfológicas em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe



Fonte: imagens obtidas pelo Microscópio de Varredura Eletrônica Quanta 450 FEG-FEI ($\times 50.000$). Legendas: (A) astrócitos do grupo controle; (B) astrócitos expostos ao LPS 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$; (C) astrócitos expostos ao LPS 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ e tratados com CLX 31,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$; (D) astrócitos expostos ao LPS 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ e tratados com CLX 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; (E) células PC12 do grupo controle; (F) células PC12 expostas ao LPS 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$; (G) células PC12 expostas ao LPS 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ e tratadas com CLX 31,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e (H) células PC12 expostas ao LPS 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ e tratadas com CLX 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

6.2.4 Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio por fluorescência de DCF em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe

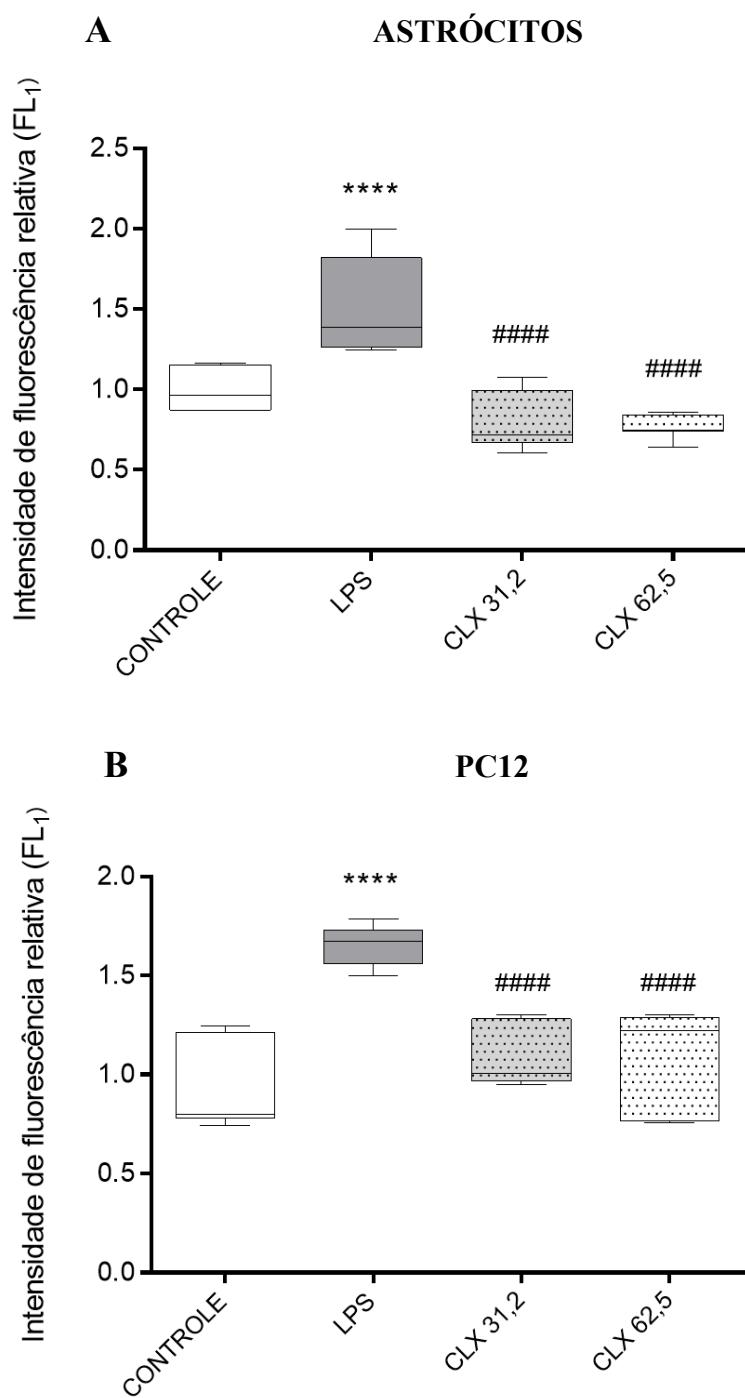
Para avaliar a atividade antioxidante de CLX em células PC12 e astrócitos, foi realizada a aferição da fluorescência gerada pela oxidação do DCFH-DA que, uma vez desacetilado e oxidado, se converte na forma fluorescente DCF por espécies reativas de oxigênio. A técnica utilizada foi a citometria. Optou-se por utilizar duas concentrações de CLX definidas a partir do ensaio de MTT anteriormente realizado (31,2 µg/mL e 62,5 µg/mL). As células foram expostas ao LPS (50 µg/ml) por um período de 12 horas e tratadas por mais 12 horas com CLX nas duas concentrações distintas.

Nos astrócitos, a exposição ao LPS aumentou a intensidade de fluorescência relativa ($1,50 \pm 0,10$) quando comparada ao grupo controle ($1 \pm 0,04$). Tanto a concentração de CLX 31,2 µg/mL ($0,78 \pm 0,06$) quanto a de CLX 62,5 µg/mL ($0,76 \pm 0,02$) foram capazes de reduzir a intensidade de fluorescência de DCF.

Resultado semelhante foi observado nas células PC12, sendo observado aumento da intensidade de fluorescência nas células expostas ao LPS ($1,65 \pm 0,03$) quando comparadas ao grupo controle ($0,95 \pm 0,07$). Os tratamentos com CLX nas concentrações de 31,2 µg/mL ($1,09 \pm 0,04$) e 62,5 µg/mL ($1,08 \pm 0,07$) reduziram a produção das espécies reativas de oxigênio.

A figura 41 mostra os gráficos dos ambos os tipos celulares e a figura 42 apresenta os histogramas representativos.

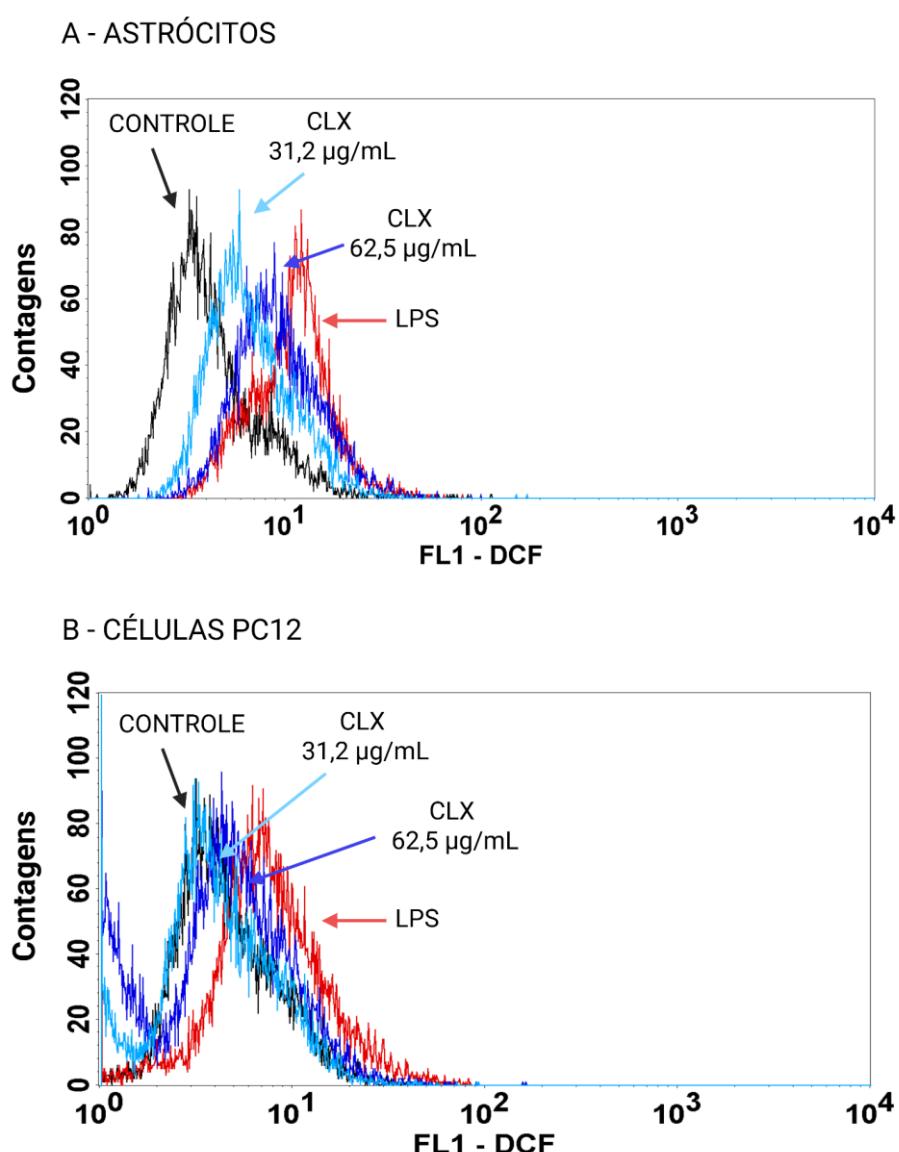
Figura 41 - Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio por fluorescência de DCF em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe



Os resultados são com mediana e intervalo interquartil. (n= 8-10 poços/grupo). 41A - Avaliação da intensidade de fluorescência relativa em astrócitos desafiados por LPS e tratadas com celecoxibe 41B - Avaliação da intensidade de fluorescência relativa em células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe. A intensidade de fluorescência relativa é expressa em média geométrica. As células foram expostas ao LPS (50 µg/ml) por um

período de 12 horas e tratadas por mais 12 horas com CLX nas duas concentrações distintas (CLX 31,2 µg/mL ou CLX 62,5 µg/mL). A análise estatística foi realizada por Kruskall-Walis seguido do teste *post hoc* de Dunn. Valores significativos: ****p<0,0001 e #####p<0,0001. (*) comparação entre LPS versus CONTROLE e (#) comparação entre CLX (31,2 µg/mL ou 62,5 µg/mL) versus LPS. Abreviaturas: LPS lipopolissacarídeo 50 µg/ml; CLX: celecoxibe.

Figura 42 - Histogramas representativos dos ensaios com DCF avaliando a produção de espécies reativas de oxigênio em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe



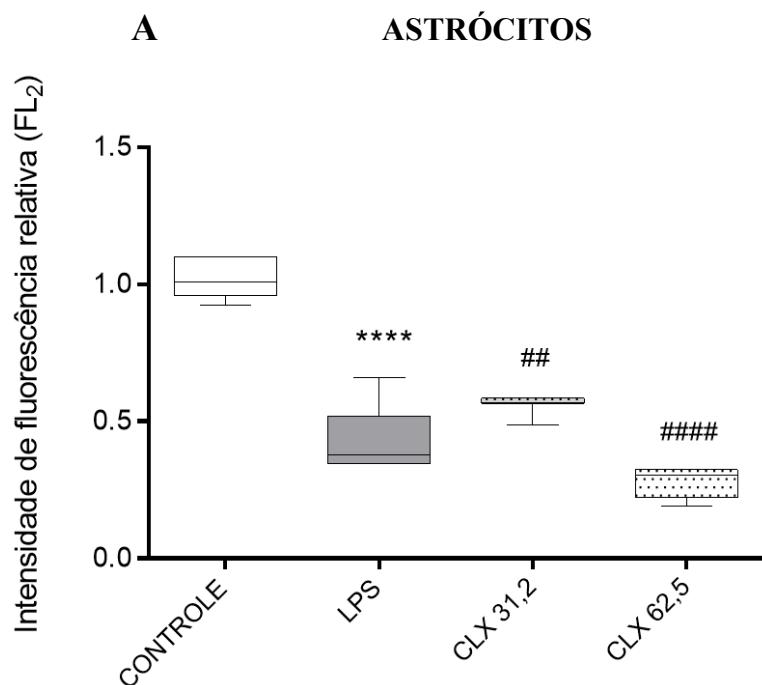
6.2.5 Avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe

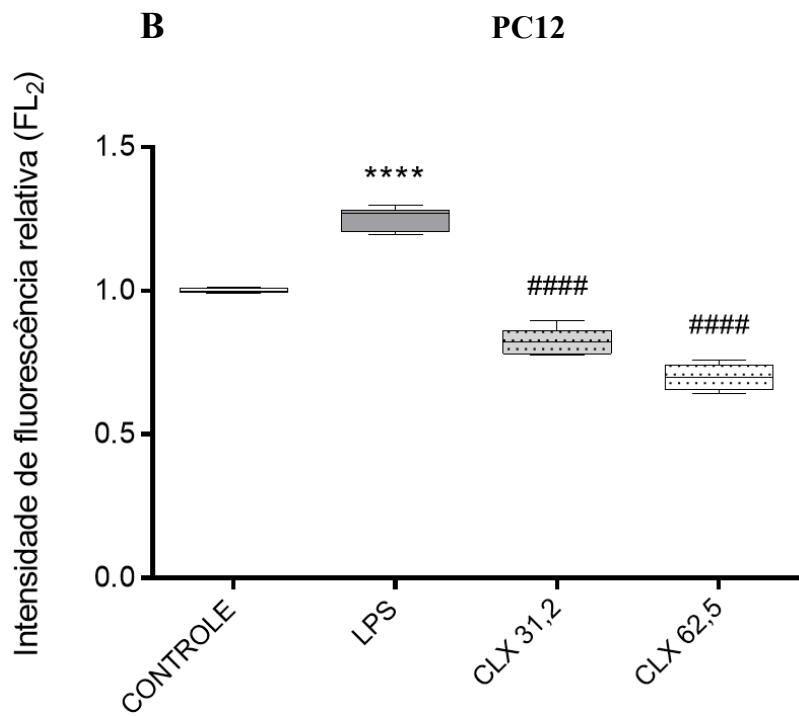
A Figura 43A apresenta os resultados da intensidade relativa de fluorescência da rodamina 123, indicador do potencial transmembrânico mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) em astrócitos. Verificou-se que a exposição ao LPS promoveu uma redução na intensidade de fluorescência ($0,43 \pm 0,03$), sugerindo uma diminuição no $\Delta\Psi_m$, quando comparado ao grupo controle ($1,01 \pm 0,02$). O CLX na concentração de $31,2 \mu\text{g/mL}$ aumentou a fluorescência ($0,56 \pm 0$) quando se compara ao grupo LPS. A concentração de $62,5 \mu\text{g/mL}$, no entanto, diminuiu a fluorescência ($0,27 \pm 0,01$) em relação ao grupo LPS.

Nas células PC12, cujos resultados estão representados na figura 43B, curiosamente as células expostas ao LPS obtiveram aumento da intensidade de fluorescência relativa ($1,25 \pm 0,01$) quando comparado às células do grupo controle (1 ± 0). O tratamento com CLX na concentração de $31,2 \mu\text{g/mL}$ diminuiu a fluorescência ($0,82 \pm 0,01$), assim como o CLX $62,5 \mu\text{g/mL}$ ($0,70 \pm 0,01$).

A figura 44 ilustra os histogramas de ambos os tipos celulares.

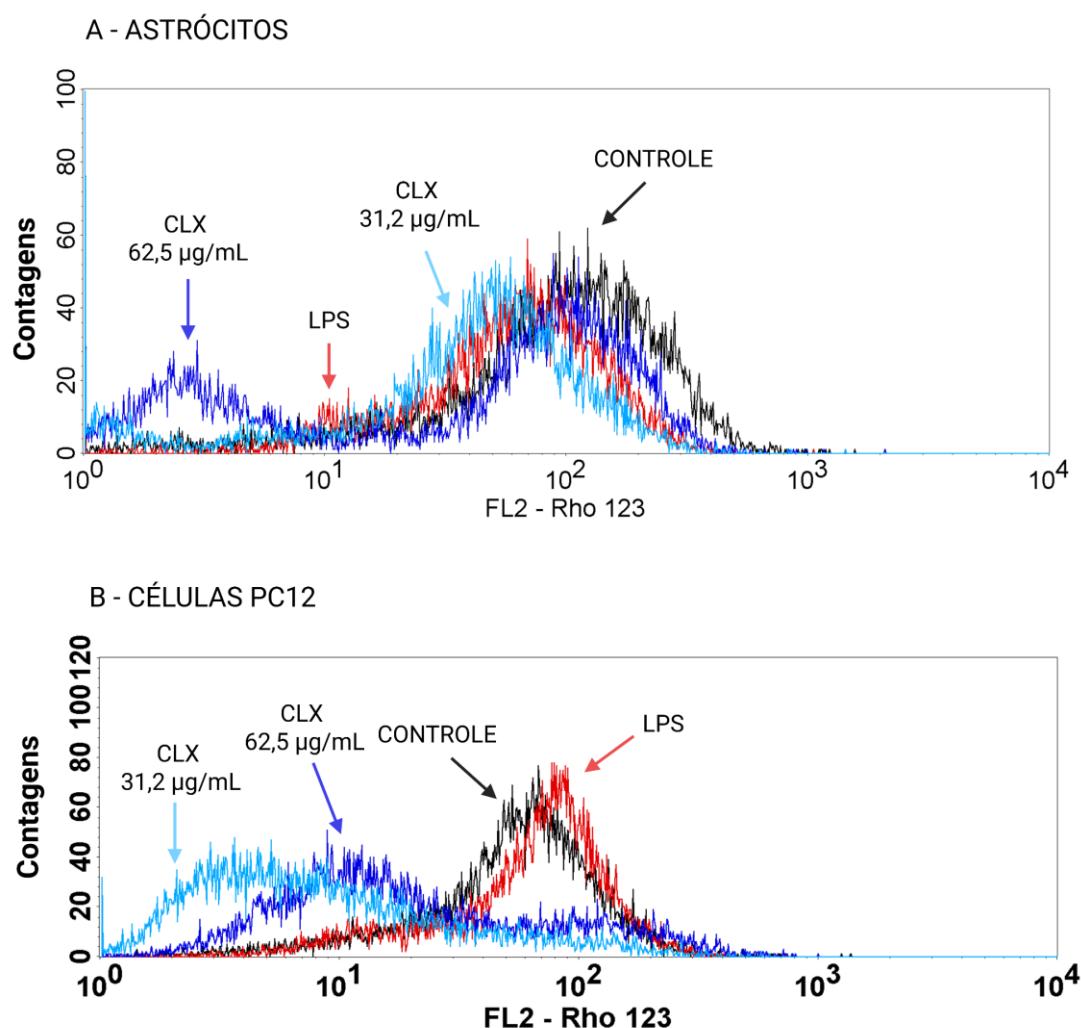
Figura 43 - Avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial em células desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe





Os resultados são expressos com mediana e intervalo interquartil. (n= 8-10 poços/grupo). 43A - Avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial em astrócitos desafiados por LPS e tratadas com celecoxibe 43B - Avaliação da intensidade do potencial transmembrânico mitocondrial em células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe. A intensidade de fluorescência relativa é expressa em média geométrica. As células foram expostas ao LPS (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) por um período de 12 horas e tratadas por mais 12 horas com CLX nas duas concentrações distintas (CLX 31,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ou CLX 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$). A análise estatística foi realizada por Kruskall-Walis seguido do teste *post hoc* de Dunn. Valores significativos: ***p<0,0001; #####p<0,0001 e ##p<0,01. (*) comparação entre LPS versus CONTROLE e (#) comparação entre CLX (31,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ou 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) versus LPS. Abreviaturas: LPS lipopolissacárido 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$; CLX: celecoxibe.

Figura 44 - Histogramas representativos dos ensaios com Rho123 avaliando o potencial transmembrânico mitocondrial em astrócitos e células PC12 desafiadas por LPS e tratadas com celecoxibe



Histogramas obtidos a partir da leitura da fluorescência de Rho123 em astrócitos (A) e células PC12 (B). O grupo controle é representado na cor preta, LPS em vermelho, CLX 31,2 µg/mL em azul claro e CLX 62,5 µg/mL em azul escuro. Os picos representam a contagem de eventos (células) que apresentam a respectiva fluorescência.

7 DISCUSSÃO

A relação entre transtornos do humor e neuroinflamação é amplamente documentada na literatura. Sabe-se que indivíduos com depressão e ansiedade frequentemente exibem elevação de marcadores inflamatórios, incluindo citocinas pró-inflamatórias, detectáveis tanto na circulação sistêmica quanto, em determinadas situações, no Sistema Nervoso Central (SNC), apontando para uma ativação do eixo neuroimune (RÉUS *et al.*, 2023).

A interação entre esses fenômenos é de via dupla: enquanto a neuroinflamação desempenha um papel importante no desencadeamento e na persistência dos sintomas depressivos, o estado depressivo, por sua vez, pode intensificar as respostas inflamatórias, estabelecendo um ciclo autosustentável que dificulta a obtenção da remissão clínica (SĂLCUDEAN *et al.*, 2025; BEUREL; TOUPS; NEMEROFF, 2020).

Tentar translacionar doenças neuropsiquiátricas para modelos animais é um desafio. Não há possibilidade de reproduzir completamente sintomas tipicamente humanos em roedores, ainda mais se tratando de doenças multifatoriais. Nessa perspectiva, o modelo de exposição sistêmica ao lipopolissacarídeo (LPS) é um dos mais utilizados porque consegue recrutar componentes no sistema imunológico e produzir sintomas semelhantes aos depressivos e ansiosos (SILVA *et al.*, 2024; MELLO *et al.*, 2021).

O LPS, componente abundante da membrana externa das bactérias Gram-negativas, desempenha um papel crucial na interação entre o patógeno e o hospedeiro, além de contribuir para o desenvolvimento de infecções crônicas. Sua virulência está associada tanto à atividade endotóxica do lipídio A quanto à função do núcleo e do antígeno O, que conferem resistência bacteriana frente aos mecanismos de defesa do hospedeiro (MALDONADO; SÁ-CORREIA; VALVANO, 2016).

O LPS atua como um potente agente pró-inflamatório, promovendo a ativação de monócitos, macrófagos, células endoteliais e epiteliais. Essa ativação desencadeia cascatas de sinalização intracelular que resultam na elevação dos níveis de diversas citocinas e mediadores inflamatórios (CAVAILLON, 2018). Os sinais inflamatórios originados na periferia alcançam o SNC através das células endoteliais ou pela atuação de segundos mensageiros que atravessam a BHE, promovendo assim uma resposta neuroinflamatória (YAN *et al.*, 2020). Dessa forma, a administração de LPS, seja por via periférica ou central, é capaz de ativar a microglia e desencadear uma cascata de respostas inflamatórias no sistema nervoso central, contribuindo para o desenvolvimento de sintomas depressivos (MARIANI *et al.*, 2022).

Já foi demonstrado que a atuação de NF-κβ e da ciclooxygenase-2 está envolvida no processo de dano da BHE por LPS de *E. coli*, e a inibição da COX-2 impediu os danos causados por LPS, mostrando uma diminuição na permeabilidade da BHE (KIKUCHI *et al.*, 2019).

Para as diferentes linhagens de camundongos, camundongos C57BL/6 parecem ser a escolha ideal para protocolos de indução de comportamentos depressivos e ansiosos, pois apresentam maior homogeneidade e podem refletir de forma mais precisa as mudanças comportamentais na depressão. Quanto à dose de LPS, a literatura mostra de forma evidente que 0,5 mg/kg de LPS pode induzir comportamento depressivo e ansioso em camundongos de forma sustentada (YIN *et al.*, 2023).

No presente trabalho foi realizado o acompanhamento ponderal dos animais durante o protocolo experimental, sendo observadas diferenças significativas na variação de peso dos animais expostos ao LPS quando comparados ao grupo controle até o quinto dia de administração. A partir do sexto dia de protocolo, não houve mais diferenças entre os grupos. A administração das drogas não ocasionou diferenças ponderais entre os grupos.

De fato, esse dado corrobora com a literatura, uma vez que, a inflamação aguda é tradicionalmente vinculada à perda de peso, especialmente em cenários de infecção, trauma ou outras condições inflamatórias sistêmicas. Esse processo é mediado, principalmente, pela liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1β, IL-6 e TNF, que exercem efeitos tanto sobre o SNC quanto nos tecidos periféricos, promovendo anorexia, intensificando o catabolismo e modificando o metabolismo energético e já foi descrito há bastante tempo (ALENNIE, 1998).

Em modelos experimentais, a indução de inflamação aguda provoca anorexia e perda de peso que são proporcionais à intensidade do estímulo inflamatório. A diminuição da ingestão alimentar é mediada por citocinas pró-inflamatórias e por alterações em vias reguladoras hipotalâmicas, como a melanocortina e a leptina. Além da redução no consumo calórico, a inflamação aguda estimula a mobilização das reservas energéticas, especialmente do tecido adiposo, através do aumento da lipólise e da remodelação adiposa — processos nos quais a infiltração de células imunes e a elevação local de citocinas exercem um papel central (WANG *et al.*, 2024; LACERDA *et al.*, 2019).

Quanto ao tratamento com CLX, é sabido que esse medicamento não está associado a ganho de peso significativo em indivíduos e quando ocorre, geralmente é secundário à retenção hídrica e não ao aumento de massa adiposa. O uso prolongado de antiinflamatórios pode causar retenção de sódio e água devido à inibição da síntese de prostaglandinas, levando à reabsorção

aumentada de sódio e água nos rins, resultando em edema periférico, mas não aumento de gordura (WHELTON *et al.*, 2006).

Em humanos, a literatura mostra um ensaio clínico randomizado conduzido por White e colaboradores (2002) com pacientes hipertensos, que demonstrou que o uso de CLX em dose elevada (200 mg duas vezes ao dia) por quatro semanas não resultou em mudanças significativas no peso corporal em comparação ao placebo.

Nesse contexto, é importante destacar que uma parte relevante da incapacidade provocada por alguns transtornos neuropsiquiátricos na saúde é causada por mudanças no apetite e no peso corporal, já que os sintomas como falta de apetite e diminuição do peso e, na outra direção, ganho de peso e obesidade mórbida levam a cursos mais graves de depressão. Enquanto as mudanças no apetite são sintomas-chave na depressão e ansiedade, nem todos os pacientes experimentam as mesmas alterações. A depressão melancólica parece ser caracterizada por perda grave de apetite e peso, enquanto a depressão atípica é caracterizada pelo inverso, resultando em aumento do apetite e ganho de peso (KROEMER *et al.*, 2022).

Na avaliação da locomoção e capacidade exploratória dos animais, foi utilizado o teste do campo aberto. Foi observado que o número de *crossing* reduziu no grupo de animais expostos ao LPS quando comparado ao grupo controle e o tratamento com o CLX foi capaz de reverter esse parâmetro. A quantidade de levantamentos verticais (*rearing*) diminuiu de forma significativa nos animais expostos ao LPS quando comparado aos animais do grupo controle, mas as drogas testes não conseguiram reverter esse parâmetro.

A diminuição de *rearing* e *crossing* provocada pelo LPS é justificada pelo fato da neuroinflamação provocada por essa molécula causar redução significativa da atividade locomotora e da exploração do ambiente através de chamado “comportamento doentio” causado pela inflamação (FOSTER *et al.*, 2021), revertido parcialmente pelo CLX.

O fato da diminuição do comportamento de *rearing* não ter sido revertida ao utilizar CLX pode ser contextualizada com a própria dificuldade de interpretação desse parâmetro. É reconhecido que o comportamento de *rearing* tende a se intensificar em contextos de incerteza, quando a motivação para explorar o ambiente se equivale ao nível de ameaça percebido. Por outro lado, essa resposta comportamental tende a ser menos frequente em situações nas quais há uma predominância clara de uma das opções, seja em ambientes percebidos como altamente seguros ou, inversamente, como extremamente perigosos. (STURMAN; GERMAIN; BOHACEK, 2018).

O teste do campo aberto simula um ambiente novo (inseguro para o animal) para avaliar seu comportamento autônomo e revelar o nível de tensão no camundongo. Quando os roedores têm medo de um novo ambiente, eles tendem a se mover ao redor da área da borda da caixa do aparato e raramente na área central (YIN *et al.*, 2023).

A exposição ao LPS proporcionou redução do número de entradas e a distância percorrida na zona central, enquanto o tratamento com CLX conseguiu aumentar esses números. O padrão comportamental do animal em relação à zona central é amplamente utilizado como um parâmetro clássico na avaliação de ansiedade e comportamento exploratório. Roedores, por exemplo, tendem a evitar a área central devido à sua característica de maior exposição, preferindo permanecer na periferia, que proporciona uma sensação de maior segurança (ALSTOTT; TIMBERLAKE, 2009; KULIKOV; TIKHONOVA; KULIKOV, 2008).

Corroborando com os resultados na zona central, na zona periférica do aparato foi observado maior número de entrada e tempo de permanência dos animais expostos ao LPS e os tratados com CLX obtiveram menor tempo de permanência e número de entrada na periferia. Como já demonstrado, um aumento no tempo de permanência ou na frequência de entradas na zona central é interpretado como indicativo de menor comportamento ansioso e maior propensão à exploração, enquanto a evitação dessa área (ou seja, preferência pela zona periférica) é geralmente associada a níveis mais elevados de ansiedade.

Corroborando com os achados deste trabalho, já foi demonstrado que a administração de CLX promove um aumento da atividade locomotora e intensifica o comportamento exploratório em roedores no teste do campo aberto, efeitos que são atribuídos à modulação dos sistemas monoaminérgicos centrais, com destaque para a elevação da atividade dopamínérgeca e serotoninérgica (NAPORA *et al.*, 2023).

No mapa de trajeto dos animais e de calor, percebeu-se maior movimentação dos grupos controles e dos animais tratados com CLX e ESC, evidenciando menor distância percorrida pelos animais expostos ao LPS. Resultado semelhante foi observado em animais desafiados com LPS em um modelo de Parkinson (YAN *et al.*, 2023) e em modelo de neuroinflamação que utilizou a fluoxetina para reverter a diminuição da distância percorrida (ZHANG *et al.*, 2022).

Nos testes preditivos de comportamento depressivo, a administração de LPS provocou aumento no tempo de imobilidade dos animais no teste do nado forçado, enquanto CLX e ESC revertem esse parâmetro. O tempo de imobilidade é tradicionalmente considerado um

marcador de comportamento passivo frente a um estressor agudo, sendo amplamente empregado como modelo experimental para a triagem de substâncias com potencial antidepressivo (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018).

Os testes do nado forçado, assim como o teste de suspensão de cauda, possuem uma base teórica semelhante e avaliam a mesma medida de tempo gasto imóvel em um ambiente inescapável, sendo o estado de imobilidade o reflexo de comportamentos inibitórios, indicando um importante de retardo psicomotor depressivo (UNAL; CANBEYLI, 2019).

Dessa forma, já é documentado que o LPS provoca um aumento do tempo de imobilidade no teste, inclusive já foi relatado em modelo de desafio imune neonatal com LPS, que sua administração pode induzir alterações comportamentais de longo prazo, repercutindo inclusive ao realizar esse teste na vida adulta nesses animais (LUO *et al.*, 2021). O CLX também já conseguiu reverter esse parâmetro em camundongos heterogênicos desafiados pelo menos modelo (SILVA *et al.*, 2024), refletindo a potencialidade da droga frente aos sintomas do tipo-depressivo.

No teste da preferência por sacarose, que avalia a anedonia (incapacidade de sentir prazer em atividades que antes eram consideradas gratificantes), o LPS provocou diminuição no consumo da solução de sacarose, enquanto CLX e ESC revertem esse comportamento.

Já foi relatado que o LPS afeta severamente a atividade neuronal e a liberação de dopamina em regiões cerebrais relacionadas à recompensa, resultando em motivação reduzida e anedonia (FELGER *et al.*, 2015). Infere-se assim, a possibilidade de CLX e ESC regularem o sistema recompensa por meio de um provável fornecimento normalizado de dopamina.

Em um modelo experimental de obesidade associada à depressão em camundongos, a administração crônica de celecoxibe (15 mg/kg, por via oral, durante 28 dias) promoveu um aumento significativo no consumo de sacarose, indicando uma reversão do comportamento anedônico. Esse achado sugere uma possível ação antidepressiva do celecoxibe nesse contexto, possivelmente mediada pela modulação de vias inflamatórias e metabólicas alteradas em função da obesidade (KURHE; MAHESH; GUPTA, 2014).

No *splash test* ou teste do respingo, o grupo exposto ao LPS diminuiu o tempo e a frequência de *grooming*, ou seja, os animais negligenciaram a limpeza da pelagem quando comparados ao grupo controle. CLX e ESC conseguiram reverter os dois parâmetros estudados.

A diminuição do autocuidado e da higiene, observado no *splash test*, pode ser interpretado como uma perda de comportamento motivacional, considerado um sintoma importante de depressão (HU *et al.*, 2017).

O fato de CLX, assim como ESC, terem aumentado a frequência e duração do grooming é resultado importante, uma vez que, a diminuição do *grooming* no *splash test* é sensível a tratamentos antidepressivos, o que reforça sua validade preditiva para triagem de potenciais fármacos antidepressivos (DEBLER *et al.*, 2024).

Em relação aos testes comportamentais preditivos de ansiedade, LPS diminuiu o número de *head dips* no teste da placa perfurada, enquanto CLX reverteu esse comportamento. Uma maior incidência desse mergulho de cabeça nos orifícios do aparato está associada a níveis reduzidos de ansiedade, enquanto um número menor sugere mais ansiedade (CASARRUBEA *et al.*, 2023).

Esse resultado é interessante porque no trabalho de SILVA e colaboradores (2024) que também executou esse teste em modelo de LPS, não foram observadas diferenças significativas no número de *head dips*. Pode-se considerar como fatores diferenciais no presente estudo, em comparação ao citado, o aumento da dose (de 15 mg/kg para 20 mg/kg) e o fato de que camundongos isogênicos como o C57BL/6 refletem de forma mais precisa as mudanças comportamentais, além de apresentar valores mais reproduutíveis (YIN *et al.*, 2023).

No teste do labirinto em cruz elevada, tanto o número de entradas quanto o tempo de permanência nos braços abertos foram diminuídos por LPS e o tratamento com CLX conseguiu reverter ambos os parâmetros, enquanto ESC reverteu apenas a diminuição do tempo de permanência nos braços abertos.

Esse teste permite a análise de respostas comportamentais associadas ao medo, servindo como um indicativo de estados de ansiedade, na situação na qual os animais evitam a entrada e permanência nos braços abertos pela exposição maior. Além disso, destaca-se por possibilitar a triagem rápida e eficiente de compostos com potencial efeito ansiolítico (HIMANSHU *et al.*, 2020).

Os resultados obtidos aqui também estão de acordo com um estudo que utilizou um modelo de estresse crônico e observou que CLX foi capaz de reverter o comportamento ansioso induzido, aumentando a exploração dos braços abertos do aparato (GARABADU; KUMAR, 2019).

Em relação ao teste de avaliação de memória, a administração de LPS provocou diminuição das alternâncias corretas no teste do labirinto em Y, enquanto CLX, mas não ESC, conseguiu reverter esse resultado. De fato, um estudo já demonstrou que a administração de LPS faz com que camundongos apresentem prejuízos no teste do labirinto em Y para detectar

memória espacial além de, induzir atrofia dendrítica no córtex pré-frontal e nos neurônios piramidais do hipocampo (ANO *et al.*, 2019)

No presente trabalho CLX foi eficaz na reversão do prejuízo de memória provocado pela neuroinflamação e esse dado corrobora com a literatura em outros testes que avaliam cognição, memória e aprendizado. O CLX tem se mostrado eficaz na prevenção de alterações cognitivas e comportamentais em modelos experimentais de neurodegeneração e neuroinflamação. Em avaliações como o teste de reconhecimento de objetos e o labirinto aquático de Morris, observou-se a preservação das funções relacionadas à memória e ao aprendizado. Esses resultados sustentam a possibilidade de que CLX contribua para o desempenho em tarefas que exigem memória espacial e de trabalho, como o labirinto em Y, especialmente diante de desafios neurotóxicos ou inflamatórios (MHILLAJ *et al.*, 2018; BORRE *et al.*, 2012).

É de extrema relevância analisar a performance de potenciais drogas no tratamento de transtornos de humor - como o CLX - na memória e cognição, porque as habilidades dos antidepressivos para melhorar os déficits cognitivos em pacientes que sofrem de depressão, especialmente deficiências de memória, não foram avaliadas suficientemente durante seus desenvolvimentos (PAN *et al.*, 2018).

De fato, nem todos os antidepressivos possuem efeitos significativos na recuperação da memória ou aprendizado. Nosso trabalho demonstrou que ESC não conseguiu o desempenho de CLX. Em indivíduos saudáveis, um estudo controlado traz evidências de que a administração aguda de ESC pode comprometer tanto a aprendizagem quanto a flexibilidade cognitiva (SKANDALI *et al.*, 2018). Em idosos com depressão, o tratamento com ESC apresentou efeitos restritos e de instalação gradual sobre a cognição e a psicomotricidade, sendo que a melhora do humor costuma anteceder possíveis benefícios cognitivos (BEHEYDT *et al.*, 2015).

Curiosamente, outros antiinflamatórios demonstraram efeitos positivos na memória e aprendizado. Resultados de uma coorte observacional contínua, em todo o Reino Unido, composta por mais de meio milhão de participantes constatou que o uso de ibuprofeno pela população está associado a efeitos cognitivos benéficos consistentes (PINILLA *et al.*, 2025).

Para prosseguir com os testes para avaliação de marcadores do estresse oxidativo, nitrosativo e citocinas pró-inflamatórias, foram dissecadas duas importantes áreas cerebrais: o hipocampo e córtex pré-frontal.

O hipocampo é uma das regiões cerebrais mais frequentemente investigadas em estudos sobre depressão, devido à sua relevância tanto estrutural quanto funcional. Inserido no sistema

límico, o hipocampo estabelece conexões neurais com áreas cerebrais envolvidas na regulação emocional, como o córtex pré-frontal e a amígdala. Essa região é particularmente sensível a alterações induzidas pelo estresse, uma vez que apresenta alta densidade de receptores de glicocorticoides e de glutamato, além de desempenhar um papel central na modulação do eixo HPA. Essas características contribuem para sua vulnerabilidade em condições depressivas (PITTENGER; DUMAN, 2007).

Sabe-se que a área mais afetada em pacientes com depressão e ansiedade é o hipocampo (SCHMAAL *et al.*, 2015) uma região envolvida em processos importantes nos transtornos do humor, como a regulação do estresse e o processamento emocional (KANDOLA *et al.*, 2019).

Já o córtex pré-frontal, é reconhecido como uma região-chave na regulação de processos cognitivos superiores e do comportamento, também desempenhando um papel relevante na fisiopatologia da depressão. Alterações estruturais e funcionais nessa área têm sido consistentemente associadas a déficits em funções executivas, tomada de decisão e controle emocional, características frequentemente observadas em indivíduos com transtorno depressivo (TREADWAY *et al.*, 2015).

Já foi documentado que a redução do volume do córtex pré-frontal pode ser resultado da apoptose e atrofia de neurônios e células da glia na depressão, conforme também observado no hipocampo (DUMAN; AGHAJANIAN, 2012; MCEWEN *et al.*, 2012)..

Nesse sentido, observou-se que o LPS aumentou a concentração de nitrito nas duas áreas cerebrais analisadas, e que tanto o CLX quanto o ESC foram capazes de modular esses níveis, promovendo sua redução.

Pesquisas realizadas com modelos animais indicam que a administração de LPS pode elevar os níveis de nitrito e nitrato no cérebro, particularmente em regiões como o hipocampo e o córtex pré-frontal, de maneira dependente da dose e do tempo de exposição, fenômeno atribuído principalmente à indução da óxido nítrico sintase induzível (iNOS), uma enzima responsável pela produção de óxido nítrico (NO) que, por sua vez, possui como produto secundário do metabolismo o nitrito (ANAEIGOUDARI *et al.*, 2016).

Um estudo também já revelou que o tratamento de células endoteliais microvasculares cerebrais humanas com LPS de *E. coli* levou a um aumento anormal em espécies reativas de oxigênio e dano da BHE (ZHAO *et al.*, 2014)

Os resultados aqui encontrados também corroboram com a literatura, uma vez que, em modelos animais experimentais de hipóxia-reoxigenação, o CLX também foi capaz de atenuar o aumento dos níveis de nitrito cerebral, indicando uma redução do estresse nitrosativo

(LÓPEZ-VILLODRES *et al.*, 2012). Em humanos, há evidências de que a inibição da COX-2 pelo CLX pode atenuar a produção de metabólitos do óxido nítrico, entretanto, esses achados referem-se a concentrações plasmáticas (PIALOUX *et al.*, 2017).

Aliado a esses dados, já foi demonstrado que a inibição da COX-2 e iNOS é considerada eficaz na melhora da neuroinflamação em pacientes com doença de Alzheimer (BRONZUOLI *et al.*, 2018)

Em relação à concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), LPS também aumentou seus níveis no hipocampo e córtex pré-frontal, enquanto o tratamento com CLX ou ESC reverteu esse aumento.

A peroxidação lipídica consiste em um processo no qual radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, interagem com as duplas ligações carbono-carbono presentes nos lipídios. Esse mecanismo envolve inicialmente a remoção de um átomo de hidrogênio de um carbono, seguida pela adição de uma molécula de oxigênio. Como resultado, ocorre a formação de uma variedade de compostos complexos, incluindo radicais peroxila lipídicos e hidroperóxidos, considerados produtos primários, além de produtos secundários importantes, como o malondialdeído (MDA) e o 4-hidroxinonenal (TSIKAS, 2017).

Quando aplicado e interpretado corretamente, o ensaio TBARS é geralmente considerado um bom indicador dos níveis gerais de estresse oxidativo em uma amostra (LEON; BORGES, 2020).

Os resultados obtidos neste trabalho vão em direção a relatos que a administração de LPS, de fato, promove um aumento significativo nas concentrações das TBARS no tecido cerebral, indicando uma intensificação do estresse oxidativo e da peroxidação lipídica nessa região. Esse fenômeno foi evidenciado em modelos experimentais, nos quais a aplicação sistêmica ou local de LPS resultou em elevação dos níveis de TBARS e de MDA, este último reconhecido como um marcador clássico da peroxidação lipídica, em distintas regiões do encéfalo, incluindo o hipocampo e outras estruturas (GORĄCA; ASŁANOWICZ-ANTKOWIAK, 2009; HRITCU; CIOBICA, 2013).

Em relação ao CLX, os dados refletem um achado na literatura que já mostrou em culturas de células neuronais que o CLX é capaz de reduzir a geração de ERO ao modular a expressão da heme oxigenase-1 (HO-1), um processo mediado pela ativação do fator de transcrição NRF2. Esse mecanismo contribui para a atenuação do dano oxidativo provocado

pela peroxidação lipídica induzida pelo β -amiloide, o que se evidencia pela diminuição dos níveis das TBARS (MHILLAJ *et al.*, 2020).

Os resultados da peroxidação lipídica provocada pelo LPS e revertida por CLX obtidos nesta tese podem estar associados a degradação da membrana causada pela morte de células, como neurônios e astrócitos, revelam dados que serão discutidos adiante.

Ao dosar os níveis da enzima glutationa reduzida (GSH) foi observado que a exposição ao LPS causou diminuição de GSH quando comparado ao grupo controle, enquanto o tratamento com CLX, mas não com ESC, reverteu essa diminuição no hipocampo. No córtex pré-frontal também foi observada diminuição da enzima, porém, nenhum tratamento com as drogas testadas foi capaz de reverter essa diminuição.

A neuroinflamação provocada por LPS diminui os níveis da GSH, uma das mais importantes enzimas antioxidantes e defesa celular. Pesquisas indicam que a exposição ao LPS, tanto em contextos agudos quanto crônicos, resulta na redução dos níveis de GSH em diferentes áreas do cérebro, incluindo o córtex cerebral, o estriado e o hipocampo (SCHIRMBECK *et al.*, 2023; SEMINOTTI *et al.*, 2020; ZHU; CARVEY; LING, 2007).

O LPS parece comprometer a síntese de glutationa, principalmente ao suprimir a expressão da enzima chave da sua via biossintética, a glutamato-cisteína ligase (GCL). Esse efeito é observado tanto em modelos *in vivo* quanto *in vitro*, sendo associado à regulação negativa da transcrição dos genes que codificam as subunidades catalítica e modificadora da GCL. Tal regulação envolve, frequentemente, alterações na sinalização de fatores de transcrição, como o Nrf2 e o NF- κ B (TOMASI *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2020).

Silva e colaboradores (2024) também obtiveram resultado semelhante nas dosagens de GSH e nos efeitos de CLX nessas áreas cerebrais. A droga não reverteu o decréscimo de GSH no córtex pré-frontal causado por LPS, conseguindo apenas no hipocampo. O estudo mostrou correlações estatísticas importantes, especialmente envolvendo a ação do CLX na atenuação de comportamentos semelhantes à depressão por meio da melhora de GSH no hipocampo.

Não é possível afirmar que o hipocampo ou o córtex pré-frontal apresentem, de modo geral, defesas antioxidantes superiores um em relação ao outro; ambas as regiões são reconhecidamente vulneráveis aos efeitos do estresse oxidativo, porém, há evidências indicando que determinadas sub-regiões do hipocampo, especialmente as áreas CA2-4 e o giro denteadoo, exibem uma ativação mais pronunciada de mecanismos antioxidantes quando comparado a outras regiões (LEWCZUK *et al.*, 2022).

Os resultados obtidos nesta tese em relação aos marcadores de estresse oxidativo, de maneira geral, corrobora uma meta-análise de estudos observacionais que demonstrou um aumento nos níveis de marcadores de estresse oxidativo e diminuição no *status* antioxidante com maiores sintomas depressivos (PALTA *et al.*, 2014).

A depressão é uma doença crônica caracterizada por níveis persistentes de marcadores inflamatórios, por esse motivo, modelos de depressão foram derivados por injeções repetidas de LPS para imitar a inflamação persistente (WICKENS; DONCK; MACKENZIE; BAILEY, 2018).

Assim, ao dosar as principais citocinas pró-inflamatórias, o LPS aumentou os níveis de IL-1 β no hipocampo e córtex pré-frontal e o tratamento com CLX ou ESC conseguiu reverter esse aumento.

A dosagem dessa citocina é de extrema importância no contexto dos transtornos de humor e as ações do CLX em sua diminuição demonstram o potencial da droga nesse contexto, uma vez que, a IL-1 β é o principal mediador inflamatório do SNC e, quando aumentado, é comumente acompanhado pela ativação da microglia (LIU; QUAN, 2018), sabe-se que a neuroinflamação contínua pode induzir comportamentos depressivos (ZHANG *et al.*, 2022). A produção aumentada de IL-1 β em astrócitos, inclusive, está associada à patogênese do transtorno depressivo (LENG *et al.*, 2018)

Esses resultados parecem ser complementares às pesquisas já realizadas em ratos neonatos que demonstram que o CLX é capaz de reduzir significativamente o aumento dos níveis de IL-1 β no cérebro após a exposição sistêmica ao LPS. Além disso, o fármaco atenua a ativação de microglia e astrócitos, protege contra a lesão de oligodendrócitos e parece mitigar os déficits comportamentais associados à inflamação cerebral (FAN *et al.*, 2013; KAIZAKI *et al.*, 2013).

Quanto à dosagem de IL-6 foi observado que LPS aumentou a concentração desta citocina em ambas as áreas cerebrais e CLX e ESC conseguiram diminuir esses níveis no hipocampo, mas não no córtex pré-frontal.

A associação entre a IL-6 e a depressão pode estar relacionada a alterações morfológicas cerebrais. Evidências demonstram que concentrações elevadas de IL-6 estão correlacionadas com redução da espessura cortical na região do córtex pré-frontal em indivíduos com diagnóstico de depressão, o que sugere uma possível contribuição desta citocina para modificações estruturais no cérebro ligadas à fisiopatologia do transtorno (KAKEDA *et al.*, 2018). Além disso, há indícios de que a IL-6 possa modular a vulnerabilidade à depressão em

resposta a eventos estressores, possivelmente mediada por alterações na integridade da rede de substância branca (LI *et al.*, 2022).

A diminuição desta citocina no hipocampo é de importância significativa porque a inflamação hipocampal está intimamente relacionada ao surgimento de sintomas de depressão e ansiedade, tanto em modelos experimentais quanto em estudos com humanos. Evidências indicam que a ativação de vias inflamatórias no hipocampo, caracterizada principalmente pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , TNF e IL-6, pode desencadear comportamentos análogos à ansiedade e à depressão (MATSUURA *et al.*, 2023; HAJ-MIRZAIAN *et al.*, 2017; TANG *et al.*, 2016; CHENG *et al.*, 2025).

Quanto à dosagem de TNF, não houve diferenças significativas entre os grupos. Sabe-se que a regulação da expressão do TNF é fortemente influenciada pelo tipo celular, pelo estímulo envolvido e por mecanismos pós-indutivos específicos. Por exemplo, em determinados contextos, a sustentação de níveis elevados de mRNA de TNF após o estímulo inflamatório frequentemente depende de mecanismos adicionais, que nem sempre são ativados, o que pode resultar na ausência de um aumento significativo na expressão de TNF (TSYTSYKOVA *et al.*, 2007).

Outro aspecto relevante é a presença de mecanismos de tolerância e retroalimentação negativa mediados pelo próprio TNF. A exposição prévia a esse fator pode induzir um estado de tolerância cruzada em células do sistema imunológico, diminuindo a produção subsequente de citocinas inflamatórias diante de novos estímulos, como a exposição ao LPS (PARK *et al.*, 2011).

O conjunto de resultados no contexto das citocinas dosadas é promissor para CLX, que conseguiu modular de forma relevante as principais citocinas no contexto da neuroinflamação. Em modelos de doença de Alzheimer em ratos induzidos com a doença, o CLX também reduziu a neuroinflamação ao diminuir a expressão da proteína COX-2 no cérebro dos roedores (MHILLAJ *et al.*, 2018).

Um relato de caso já demonstrou que o uso de CLX melhorou os sintomas depressivos da depressão pós-parto ao diminuir citocinas pró-inflamatórias e aumentar BDNF (ESALATMANESH; KASHANI; AKHONDZADEH, 2023). Durante processos de neuroinflamação, o BDNF pode modular a expressão gênica pró-inflamatória mediada pelo fator de transcrição NF- κ B, embora os mecanismos subjacentes a essa regulação ainda não estejam completamente elucidados. A ativação de citocinas pró-inflamatórias induz, de forma direta, a produção de diversos fatores neurotóxicos, incluindo espécies reativas de oxigênio,

bem como a amplificação da resposta inflamatória por meio da síntese adicional de citocinas, como a IL-1 β , IL-6, TNF e quimiocinas (SOCHAL *et al.*, 2022; MEHTEROV *et al.*, 2022).

No estudo *in vitro*, foi demonstrado que CLX nas concentrações de 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 31,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ foram as maiores concentrações que não foram tóxicas em ambas as células estudadas (astrócitos e células PC12).

A estimulação com LPS constitui um método clássico e altamente eficaz para induzir respostas inflamatórias em modelos celulares *in vitro*. Esse protocolo tem sido amplamente empregado para ativar a microglia, promovendo, consequentemente, a indução de astrócitos com características fenotípicas semelhantes ao perfil reativo A1 (JOSHI *et al.*, 2019; LIDDELOW *et al.*, 2017).

As concentrações escolhidas a partir do teste do MTT para prosseguir com os demais estudos *in vitro* não são facilmente encontradas na literatura disponível até o momento. No entanto, os dados disponíveis mostram que CLX já foi utilizado em cultura de células em concentrações que variam de 0,29 $\mu\text{g}/\text{mL}$ até 38,14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (convertendo μM em $\mu\text{g}/\text{mL}$), dependendo do objetivo experimental e do tipo celular estudado (COSTELA-RUIZ *et al.*, 2019; PYRKO; KARDOSH; SCHÖNTHAL, 2008; MAIER *et al.*, 2009). Portanto, os dados obtidos no presente trabalho demonstram uma faixa de concentração maior nos tipos celulares estudados.

A avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax) pode ser correlacionada aos resultados obtidos na microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Em relação aos astrócitos, observou-se que LPS diminuiu o número de células viáveis, enquanto o tratamento com CLX aumentou esse número. LPS parece ter aumentado a quantidade de eventos relacionados à necrose e o tratamento com CLX proporcionou a diminuição, assim como os prováveis eventos relacionados à apoptose que foram aumentados a partir da exposição a LPS e diminuídos a partir do tratamento com CLX.

Os resultados são complementares com a análise morfológica por MEV, que demonstra que a exposição ao LPS provocou nítida diminuição de corpos celulares no campo e morfologia anormal dos astrócitos, com membrana retráida e ramificações de tamanho diminuído. A concentração de CLX de 31,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ reverteu a maioria das alterações morfológicas provocadas por LPS (recuperação do número e volume celular e da integridade das ramificações dendríticas).

A investigação das ações de CLX em astrócitos é essencial, porque essas células gliais são as mais abundantes no SNC e regulam as funções cerebrais envolvidas na patologia de doenças psiquiátricas e neurodegenerativas (LI *et al.*, 2022).

Estudos anteriores identificaram dois tipos diferentes de astrócitos: astrócitos neurotóxicos (A1) que podem causar morte neuronal e astrócitos neurotróficos (A2) que promovem a sobrevivência neuronal e o reparo tecidual (LI *et al.*, 2022). Os astrócitos também podem ser uma fonte de níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias em várias regiões do cérebro, incluindo no hipocampo. Já foi demonstrado que o estresse agudo causa um aumento nos níveis de IL-1 β nos astrócitos, mas não na microglia e nos neurônios (SUGAMA *et al.*, 2011a; SUGAMA *et al.*, 2011b).

O que pode explicar, em parte, os achados de morte celular no protocolo estudado é que a exposição ao LPS leva os astrócitos ao estado reativo, no qual perdem sua capacidade de manter a homeostase do glutamato, tendendo a facilitar a liberação dessa molécula. Consequentemente, um aumento substancial de glutamato no meio extracelular induz um influxo intenso de íons cálcio (Ca^{2+}) principalmente via receptores N-metil D-aspartato (NMDA). Esse influxo iônico favorece um comprometimento no gradiente iônico da membrana mitocondrial e do retículo endoplasmático. A ruptura dessas organelas, por sua vez, induz a liberação de cálcio desses estoques intracelulares. O aumento resultante na concentração intracelular de cálcio resulta na ativação de enzimas que degradam proteínas, lipídios e DNA. Esses mecanismos também favorecem a morte neuronal apoptótica (KOUBA *et al.*, 2024).

Os resultados com CLX são importantes na medida que, sendo alvos do estresse e dos glicocorticoides, os astrócitos são um alvo promissor para o tratamento da depressão (DOLOTOV *et al.*, 2022). O presente estudo ao destacar que LPS pode causar apoptose de astrócitos mostra que isso acarreta provável perda da homeostase do SNC, que pode ser relacionada aos dados comportamentais aqui demonstrados anteriormente, já que evidências crescentes sugerem que o número, a morfologia e a função dos astrócitos são prejudicados no cérebro deprimido (ZHAO *et al.*, 2022). Os astrócitos ainda são importantes ao facilitar a comunicação cruzada entre a imunidade periférica e o parênquima do SNC devido ao contato próximo entre essas células e componentes da BHE (LINNERBAUER; WHEELER; QUINTANA, 2020).

Além disso, a enzima quinurenina aminotransferase (KAT) é expressa principalmente por astrócitos e é responsável pela conversão de quinurenina em ácido quinurênico (SCHWARCZ *et al.*, 2012). Portanto, a perda de astrócitos observada nos resultados aqui

apresentados pode comprometer a síntese de ácido quinurênico (GOSSELIN et al., 2009; OLEARY; MECHAWAR, 2021). Além disso, a excitotoxicidade mediada por ácido quinolínico (QA, um agonista do receptor NMDA), resulta ainda na morte astrocitária no cérebro na depressão (BARONE, 2019; SZALARDY *et al.*, 2012).

Evidências experimentais indicam um aumento da apoptose no giro denteadoo hipocampo de ratos submetidos à separação materna, um modelo também amplamente utilizado para simular estresse precoce. Essa condição tem sido associada a prejuízos na memória e à manifestação de alterações comportamentais compatíveis com sintomas depressivos e ansiosos, sugerindo um possível vínculo entre apoptose neuronal e disfunções cognitivas e emocionais (SUNG *et al.*, 2010). Esse fato foi plenamente demonstrado a partir dos resultados dos testes comportamentais e de morte celular verificados nesta tese.

É interessante que os resultados comportamentais aqui apresentados também podem ser relacionados ao fato de que astrócitos reativos neuroinflamatórios A1 demonstraram ser destrutivos para sinapses. De fato, foi demonstrado que os astrócitos no perfil A1 são prejudiciais e tóxicos para os neurônios e, por isso, podem afetar os comportamentos animais (LIDDELOW; BARRES, 2017).

Ao observar a ocorrência de dupla marcação positiva de Iodeto de Propídio e Anexina V, indicando uma apoptose não imediata nas células desafiadas por LPS, pode-se contextualizar que, como já discutido, de maneira análoga às células microgliais, os astrócitos podem ser induzidos a um fenótipo reativo neurotóxico, denominado A1. Esse processo, conhecido como astrocitose, desempenha um papel essencial na resposta a agressões imunológicas, doenças neurodegenerativas crônicas ou traumas agudos, contribuindo tanto para a contenção do dano (WU; ZHANG, 2023). No entanto, sob certas circunstâncias, esses astrócitos reativos podem prejudicar a plasticidade neural adaptativa (SOFRONIEW, 2020). Isso significa que uma provável apoptose dos astrócitos pode não ocorrer de forma imediata e sim sua ativação para combater danos.

É provável que a exposição ao LPS no protocolo aqui discutido resultou na mudança do perfil de astrócito para A1. Um estudo já concluiu que a estimulação com LPS fez com que os astrócitos produzissem mais fatores pró-inflamatórios e diminuição de sua capacidade fagocítica e provável mudança para esse perfil (ZHANG *et al.*, 2020).

A diminuição de apoptose a partir da administração de CLX corrobora um estudo que utilizou CLX também na concentração de 20 mg/kg em um modelo experimental de

hidrocefalia que demonstrou uma redução nas células imunomarcadas para caspase-3 no tecido cerebral dos animais tratados com a droga (DUTRA *et al.*, 2023).

A caspase-3 é uma proteína amplamente expressa e reconhecida por sua função central na execução da apoptose, mediada por estímulos extrínsecos ou intrínsecos. Classificada como caspase efetora, sua ativação ocorre na via apoptótica, promovendo o desmantelamento celular por meio da clivagem de diversos substratos intracelulares (ESKANDARI; EAVES, 2022).

E, considerando que: 1) a apoptose pela sinalização de caspase-3 pode ser desencadeada tanto por fatores intracelulares (como disfunção mitocondrial), mas também com fatores extracelulares (como citocinas) (ARAM; YACOBI-SHARON; ARAMA, 2017) e 2) conforme achados desta tese, as citocinas têm seus níveis aumentado a partir da exposição ao LPS e moduladas negativamente pelo CLX, acredita-se que o CLX pode reduzir ou prevenir a progressão da cascata de morte celular por atuar impedindo, em parte, as ações da caspase-3.

Por fim, os poços com a concentração de 62,5 µg/mL de CLX não continham células processadas para visualização a partir da técnica empregada. A dificuldade em visualizar células por meio de MEV geralmente decorre de uma combinação de fatores, incluindo preparação inadequada da amostra, baixo contraste, danos provocados pelo feixe de elétrons, limitações relacionadas ao campo de visão, bem como desafios associados à imobilização e ao revestimento das células (OGURA, 2012; WOHLMANN, 2024).

Em relação às células PC12, é importante destacar que, quando expostas ao fator de crescimento nervoso (NGF), essas células sofrem diferenciação, adquirindo morfologia e características funcionais semelhantes às de neurônios, incluindo a extensão de axônios e dendritos (TOMINAM *et al.*, 2024; HARADA; MATSUOKA; INOUE, 2025).

Os resultados demonstraram que LPS diminuiu a viabilidade das células PC12, mas, o tratamento com CLX reverteu esse parâmetro. Resultado semelhante foi observado nos eventos que podem ser interpretados como necrose e apoptose: LPS induziu a morte celular e CLX atenuou os danos.

Na microscopia, os dados corroboram os achados da citometria, uma vez que, LPS provocou alterações morfológicas importantes nas células PC12, como desorganização do citoplasma, diminuição do volume citoplasmático, retração das ramificações dendríticas e formação de corpos apoptóticos. Os tratamentos com as duas concentrações de CLX foram capazes de reverter parcialmente as alterações provocadas pelo LPS.

Testar CLX em células PC12 (que se diferenciam com características neuronais) é essencial, porque os neurônios são unidades fundamentais que integram e transmitem sinais em

resposta a informações intrínsecas e extrínsecas. As funções neuronais são altamente dinâmicas e refletem a capacidade do sistema nervoso de responder e se adaptar a diversos estímulos, incluindo sinais do ambiente externo, estados emocionais e eventos lesivos. Esses processos envolvem complexos mecanismos de sinalização celular e plasticidade sináptica, fundamentais para a regulação da atividade cerebral em condições fisiológicas e patológicas (WAINWRIGHT; GALEA, 2013). De fato, já foi demonstrado que a depressão e o estresse podem induzir apoptose hipocampal em mamíferos não humanos e humanos (LUCASSEN *et al.*, 2006).

O desenvolvimento da depressão está associado a alterações no metabolismo de neurônios e células gliais, bem como a disfunções na transmissão sináptica entre neurônios. A exposição prolongada a fatores adversos pode culminar em degeneração neuronal em regiões específicas do cérebro. Evidências recentes atribuem aos neurônios e astrócitos um papel central não apenas na manutenção da homeostase e do funcionamento normal do sistema nervoso central, mas também na gênese e progressão de diversas patologias neurológicas e psiquiátricas (MURPHY-ROYAL; GORDON; BAINS, 2019; ZHOU *et al.*, 2019).

Na literatura, já foi demonstrado que LPS provoca danos nas células PC12 (ZHOU *et al.*, 2021), assim como observado no presente estudo. Os resultados de CLX na restauração da viabilidade celular corroboram um estudo que concluiu que celecoxibe, indometacina e ibuprofeno previnem a morte de células PC12 induzida por 6-hidroxidopamina por meio da inibição da via NF-κβ (RAMAZANI; TAYARANI-NAJARAN; FEREIDONI, 2019).

Já os resultados da avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio por fluorescência de DCF, mostraram que nas duas células, LPS provocou aumento das EROS e CLX nas duas concentrações estudadas reverteu o estresse oxidativo. Esses resultados estão em consonância com os achados no modelo *in vivo*, que mostrou CLX atuando na redução dos níveis de nitrito e TBARS.

Esses resultados em conjunto, como já discutido, são importantes porque quadros de depressão e ansiedade estão associados à diminuição das concentrações de antioxidantes, concomitante ao aumento dos níveis de estresse oxidativo (LEONARD; MAES, 2012) e o estresse oxidativo também contribui diretamente com a piora dos sintomas nos transtornos de humor (SIPAHI *et al.*, 2023).

Em relação a avaliação do potencial transmembrânico mitocondrial, foi observado que a exposição ao LPS promoveu uma redução do potencial transmembrânico mitocondrial nos astrócitos e CLX na concentração de 31,2 µg/mL reverteu essa redução.

Esses resultados podem ser relacionados aos dados referentes à apoptose aqui já demonstrados. Geralmente, a mitofagia (processo de autofagia seletiva que se concentra na remoção e reciclagem de mitocôndrias danificadas ou desnecessárias pelas células) excessiva causa comprometimento mitocondrial e desencadeia ainda mais a apoptose dos neurônios do hipocampo. A autofagia pode gerar, por consequência, a apoptose do neurônio (LIU *et al.*, 2021).

Também é possível relacionar os achados da disfunção mitocondrial e tratamento com CLX aos resultados comportamentais também aqui já apresentados, uma vez que, a literatura mostra que roedores altamente ansiosos exibem também comportamento mais grave semelhante à depressão e apresentam múltiplas disfunções mitocondriais (GEBARA *et al.*, 2021).

As citocinas aumentadas podem estar relacionadas às disfunções mitocondriais provocadas pelo LPS e a ação do CLX em suprimir essas citocinas também pode manter relação com suas ações na reversão desses danos na mitocôndria. Já foi demonstrado que disfunções mitocondriais podem contribuir de forma direta com a neuroinflamação: os lisados mitocondriais induzem a expressão de RNA mensageiro para a tradução de TNF e IL-8, ou seja, componentes mitocondriais podem imitar um patógeno e levar a uma resposta de dano (WILKINS *et al.*, 2015).

O estresse, inclusive, pode resultar em morfologia mitocondrial anormal, causando ruptura e inchaço mitocondrial, comprometimento dos astrócitos do hipocampo e diminuição da densidade da matriz mitocondrial também no hipocampo (SHU *et al.*, 2019; LING-HU *et al.*, 2021).

Um estudo demonstrou que a exposição pré-natal à dexametasona leva a comportamento semelhante à depressão e dano mitocondrial no hipocampo, mostrando a estreita ligação entre a morfologia mitocondrial anormal e o desenvolvimento dos transtornos do humor (WU *et al.*, 2019).

A atuação de CLX na diminuição de possíveis danos mitocondriais demonstrado neste trabalho está em consonância com o fato de que, como a anormalidade mitocondrial está intimamente associada à patogênese da depressão, evidências sugerem que os antidepressivos podem amenizar o comportamento semelhante à depressão, aumentando a atividade da cadeia respiratória mitocondrial e a produção de ATP (JIANG; WANG; SHENG, 2024). Assim, é esperado que drogas que atuem como potenciais antidepressivos ou ansiolíticos mantenham essa característica.

Nas células PC12 expostas ao LPS, obteve-se aumento da intensidade de fluorescência quando comparado às células do grupo controle. O tratamento com CLX nas duas concentrações estudadas diminuiu a fluorescência. A concentração de 62,5 µg/mL nos astrócitos também diminuiu a fluorescência.

Modelos experimentais têm indicado que a exposição a concentrações elevadas de oxigênio pode induzir um aumento no potencial de membrana mitocondrial e aumentar a fluorescência de rodamina, caracterizando um estado de hiperpolarização em determinados tipos celulares. Em mioblastos de camundongos cultivados sob 20% de oxigênio — condição considerada de alta concentração de oxigênio em comparação ao ambiente fisiológico habitual — foi observado um incremento do $\Delta\Psi_m$, acompanhado por elevação de EROS (DUGUEZ *et al.*, 2012).

De maneira análoga, cardiomiócitos submetidos à oxigenação hiperbárica apresentaram aumento do $\Delta\Psi_m$ e intensificação do consumo mitocondrial de oxigênio, sugerindo que a hiperpolarização da membrana mitocondrial constitui uma resposta inicial ao suprimento excessivo de oxigênio (YOUNG *et al.*, 2025).

Além disso, a literatura demonstra que as células PC12 são mais vulneráveis a agentes que induzem estresse oxidativo, disfunção da cadeia respiratória e alterações na permeabilidade mitocondrial (LAMARCHE *et al.*, 2017). Já foi observado, por exemplo, que a exposição ao manganês resulta em disfunção importante da cadeia respiratória mitocondrial em células PC12, efeito que não foi observado em células gliais, sugerindo uma susceptibilidade aumentada das células PC12 ao dano mitocondrial (GALVANI; FUMAGALLI; SANTAGOSTINO, 1995).

Em suma, abordagens farmacológicas que visam a impedir a disfunção mitocondrial, a neuroinflamação ou ambas podem provar ser benéficas para o tratamento de doenças do SNC (WILKINS; SWERDLOW, 2015). Esses resultados, em conjunto, reforçam as conclusões de que algumas substâncias podem exercer seus efeitos antidepressivos e ansiolíticos, pelo menos em parte, melhorando o metabolismo energético mitocondrial no cérebro.

Os resultados expostos aqui são promissores ao reconhecerem o CLX como uma droga multifacetada, que melhora os parâmetros comportamentais tipo-depressivos e ansiosos, além de preservar a memória. Ao mesmo tempo demonstra ser uma substância que age diminuindo inflamação, estresse oxidativo e, de maneira geral, protege importantes células do SNC da morte celular e de disfunções mitocondriais.

Os efeitos comportamentais associados aos inibidores da COX podem não estar exclusivamente vinculados à sua ação anti-inflamatória, mas também podem decorrer de efeitos

diretos que o CLX exerce sobre a neurotransmissão e a função neuronal (WESTWELL-ROPER *et al.*, 2022). Efeitos estes demonstrados neste trabalho, a partir do conjunto de testes que se complementam e possuem relações importantes entre si.

8 CONCLUSÕES

O celecoxibe atua revertendo os comportamentos tipo-depressivos e ansiosos, além de preservar a memória em camundongos expostos a um modelo de neuroinflamação por LPS. Além disso, celecoxibe modula de forma benéfica os parâmetros inflamatórios, oxidativos e as alterações provocadas por LPS em astrócitos, células PC12 e suas mitocôndrias.

A seguir, a tabela 2 contém um resumo dos principais achados do modelo *in vivo* e a tabela 3 do modelo *in vitro* descritos e discutidos na presente tese.

Tabela 2 - Resumo dos resultados obtidos após tratamento com celecoxibe e escitalopram em animais submetidos a um modelo de neuroinflamação por exposição ao LPS

Testes comportamentais e neuroquímicos	Grupo LPS	Grupo LPS + CLX	Grupo LPS + ESC
Análise ponderal	↓ variação ponderal até 5º dia	NS	NS
Teste do campo aberto - crossing	↓ <i>crossing</i>	↑ <i>crossing</i>	NS
Teste do campo aberto - rearing	↓ <i>rearing</i>	NS	NS
Teste do campo aberto - zona central	↓ nº de entradas NS tempo ↓ distância percorrida	↑ nº de entradas NS tempo ↑ distância percorrida	NS nº de entradas NS tempo NS distância percorrida
Teste do campo aberto - zona periférica	↑ nº de entradas ↑ tempo	↓ nº de entradas ↓ tempo	↓ nº de entradas NS tempo
Teste do nado forçado	↑ tempo de imobilidade	↓ tempo de imobilidade	↓ tempo de imobilidade

Teste da preferência por sacarose	↓ consumo de sacarose	↑ consumo de sacarose	↑ consumo de sacarose
Splash test ou teste do respingo	↓ tempo de grooming ↓ frequência de grooming	↑ tempo de grooming ↑ frequência de grooming	↑ tempo de grooming ↑ frequência de grooming
Teste da placa perfurada	↓ head dips	↑ head dips	NS head dips
Labirinto em cruz elevada	↓ PEBA ↓ PTBA	↑ PEBA ↑ PTBA	NS PEBA ↑ PTBA
Labirinto em Y	↓ Alternâncias corretas	↑ Alternâncias corretas	NS Alternâncias corretas
Nitrito	↑ HP ↑ CPF	↓ HP ↓ CPF	↓ HP ↓ CPF
TBARS	↑ HP ↑ CPF	↓ HP ↓ CPF	↓ HP ↓ CPF
GSH	↓ HP ↓ CPF	↑ HP NS CPF	NS HP NS CPF
IL-1β	↑ HP ↑ CPF	↓ HP ↓ CPF	↓ HP ↓ CPF
IL-6	↑ HP ↑ CPF	↓ HP NS CPF	↓ HP NS CPF

TNF	NS HP NS CPF	NS HP NS CPF	NS HP NS CPF
------------	-----------------	-----------------	-----------------

Fonte: próprio autor. Resumo dos resultados obtidos após tratamento com celecoxibe e escitalopram em animais submetidos a um modelo de neuroinflamação por exposição ao LPS. Legenda: ↑ aumento significativo ($p<0,05$); ↓ diminuição significativa ($p<0,05$); NS: não significativo; LPS: lipopolissacarídeo; CLX: celecoxibe; ESC: escitalopram; CPF: córtex pré-frontal; HP: hipocampo; PEBA: Percentual de Entradas nos Braços Abertos; PTBA: Percentual de Tempo nos Braços Abertos. Comparações: grupo LPS *versus* controle; grupo CLX ou ESC *versus* LPS.

Tabela 3 - Resumo dos principais resultados obtidos após tratamento com celecoxibe em células submetidas a um modelo de neuroinflamação por exposição ao LPS

Ensaios	Grupo: LPS	Grupo CLX 62,5 µg/mL	Grupo CLX 31,2 µg/mL
Mecanismos de morte celular - Astrócitos	↓ (PI - ; Ax -) ↑ (PI + ; Ax -) ↑ (PI +; Ax +) ↑ (PI - ; Ax +)	↑ (PI - ; Ax -) ↓ (PI + ; Ax -) ↓ (PI +; Ax +) ↓ (PI - ; Ax +)	NR
Mecanismos de morte celular - PC12	↓ (PI - ; Ax -) ↑ (PI + ; Ax -) NS (PI +; Ax +) ↑ (PI - ; Ax +)	↑ (PI - ; Ax -) ↓ (PI + ; Ax -) NS (PI +; Ax +) ↓ (PI - ; Ax +)	NR
Produção de espécies reativas de oxigênio - Astrócitos	↑ Fluorescência	↓ Fluorescência	↓ Fluorescência
Produção de espécies reativas de oxigênio - PC12	↑ Fluorescência	↓ Fluorescência	↓ Fluorescência

<i>Potencial transmembrânico mitocondrial - Astrócitos</i>	↓ Fluorescência	↑ Fluorescência	↓ Fluorescência
<i>Potencial transmembrânico mitocondrial - PC12</i>	↑ Fluorescência	↓ Fluorescência	↓ Fluorescência

Fonte: próprio autor. Resumo dos principais resultados obtidos após tratamento com celecoxibe em células submetidas a um modelo de neuroinflamação por exposição ao LPS. Legenda: ↑ aumento significativo ($p<0,05$); ↓ diminuição significativa ($p<0,05$); NS: não significativo; NR: não realizado; LPS: lipopolissacarídeo; CLX: celecoxibe. Comparações: grupo LPS *versus* controle; grupo CLX *versus* LPS. Não foram incluídos os dados dos ensaios de viabilidade de MTT e da visualização de alterações morfológicas por microscopia eletrônica de varredura.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho contribuem significativamente para o entendimento dos mecanismos subjacentes à ação do celecoxibe no contexto da neuroinflamação e dos transtornos de humor. Demonstrou-se que o celecoxibe não apenas promoveu efeitos neurocomportamentais benéficos, reduzindo manifestações associadas à depressão e à ansiedade, como também atuou diretamente sobre parâmetros inflamatórios e oxidativos, atenuando a produção de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio, além de preservar a integridade celular e mitocondrial. Esses achados reforçam a hipótese de que o reposicionamento do celecoxibe como adjuvante na farmacoterapia de doenças neuropsiquiátricas representa uma estratégia promissora, especialmente em quadros associados à neuroinflamação. Assim, este estudo amplia a compreensão sobre as interfaces entre inflamação, estresse oxidativo e comportamento, destacando o potencial translacional do celecoxibe e abrindo novas perspectivas para futuras investigações clínicas e não clínicas no campo da neuropsicofarmacologia.

Como limitações deste estudo pode-se citar, dentre outros pontos, a ausência do gráfico de densidade na avaliação dos mecanismos de morte celular por marcação de Iodeto de Propídio (PI) e Anexina V (Ax). A inclusão de animais fêmeas também seria essencial para avaliar os efeitos das drogas testes em diferentes sexos, tendo em vista a variabilidade hormonal e de outros aspectos funcionais. Uma perspectiva interessante seria realizar um grupo adicional para avaliar o sinergismo do celecoxibe com um antidepressivo clássico. Isso poderia resultar na diminuição ainda mais robusta da dose de celecoxibe e potencialização dos efeitos antidepressivos e ansiolíticos da combinação. A repetição da citometria com rodamina também poderia ser considerada para garantir a reproduzibilidade do resultado obtido, especialmente nas células PC12.

É sempre importante destacar que, embora os resultados sejam promissores, não é possível neste momento translacionar esses dados para humanos sem uma avaliação criteriosa de segurança e de outros componentes. O celecoxibe, assim como todos os medicamentos, possuem riscos, efeitos adversos e colaterais, e, portanto, seu uso racional deve ser sempre assegurado.

REFERÊNCIAS

- A ALVAREZ-MON, Miguel; A ORTEGA, Miguel; GARCÍA-MONTERO, Cielo; FRAILE-MARTINEZ, Oscar; LAHERA, Guillermo; MONSERRAT, Jorge; GOMEZ-LAHOZ, Ana M; MOLERO, Patricio; GUTIERREZ-ROJAS, Luis; RODRIGUEZ-JIMENEZ, Roberto. Differential malondialdehyde (MDA) detection in plasma samples of patients with major depressive disorder (MDD): a potential biomarker. **Journal Of International Medical Research**, [S.L.], v. 50, n. 5, p. 1-9, maio 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/03000605221094995>.
- A LENNIE, Terry. Relationship of body energy status to inflammation-induced anorexia and weight loss. **Physiology & Behavior**, [S.L.], v. 64, n. 4, p. 475-481, jun. 1998. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9384\(98\)00103-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9384(98)00103-6).
- ALSTOTT, Jeff; TIMBERLAKE, William. Effects of rat sex differences and lighting on locomotor exploration of a circular open field with free-standing central corners and without peripheral walls. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 196, n. 2, p. 214-219, jan. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.09.001>.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (Estados Unidos). **Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders, Fifth Edition**: (DSM-5-TR). 5. ed. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>. Acesso em: 23 fev. 2024.
- ANAEIGOUDARI, Akbar; SOUKHTANLOO, Mohammad; REISI, Parham; BEHESHTI, Farimah; HOSSEINI, Mahmoud. Inducible nitric oxide inhibitor aminoguanidine, ameliorates deleterious effects of lipopolysaccharide on memory and long term potentiation in rat. **Life Sciences**, [S.L.], v. 158, p. 22-30, ago. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2016.06.019>.
- ANAND, Amit; MATHEW, Sanjay J.; SANACORA, Gerard; MURROUGH, James W.; GOES, Fernando S.; ALTINAY, Murat; ALOYSI, Amy S.; ASGHAR-ALI, Ali A.; BARNETT, Brian S.; CHANG, Lee C.. Ketamine versus ECT for Nonpsychotic Treatment-Resistant Major Depression. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 388, n. 25, p. 2315-2325, 22 jun. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa2302399>.
- ANDERSON, George; KUBERA, Marta; DUDA, Weronika; LASOŃ, Władysław; BERK, Michael; MAES, Michael. Increased IL-6 trans-signaling in depression: focus on the tryptophan catabolite pathway, melatonin and neuroprogression. **Pharmacological Reports**, [S.L.], v. 65, n. 6, p. 1647-1654, nov. 2013. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s1734-1140\(13\)71526-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71526-3).
- ANO, Yasuhisa; OHYA, Rena; KITA, Masahiro; TANIGUCHI, Yoshimasa; KONDO, Keiji. Theaflavins Improve Memory Impairment and Depression-Like Behavior by Regulating Microglial Activation. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 3, p. 467, 28 jan. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24030467>.
- ARAM, Lior; YACOBI-SHARON, Keren; ARAMA, Eli. CDPs: caspase-dependent non-lethal cellular processes. **Cell Death & Differentiation**, [S.L.], v. 24, n. 8, p. 1307-1310, 10 jul. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2017.111>.

ARMARIO, Antonio. The forced swim test: historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 128, p. 74-86, set. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.014>.

ARORA, Mohit; CHOUDHARY, Shalki; SINGH, Pankaj Kumar; SAPRA, Bharti; SILAKARI, Om. Structural investigation on the selective COX-2 inhibitors mediated cardiotoxicity: a review. **Life Sciences**, [S.L.], v. 251, p. 117631, jun. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117631>.

ASSLIH, Serena; DAMRI, Odeya; AGAM, Galila. Neuroinflammation as a Common Denominator of Complex Diseases (Cancer, Diabetes Type 2, and Neuropsychiatric Disorders). **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 11, p. 6138, 7 jun. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22116138>.

AVERILL-BATES, Diana A.. The antioxidant glutathione. **Vitamins And Hormones**, [S.L.], p. 109-141, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.vh.2022.09.002>.

AYALA, Antonio; MUÑOZ, Mario F.; ARGÜELLES, Sandro. Lipid Peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2014, p. 1-31, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>.

AZAR, Rima; MERCER, Darren. Mild Depressive Symptoms Are Associated with Elevated C-Reactive Protein and Proinflammatory Cytokine Levels During Early to Midgestation: a prospective pilot study. **Journal Of Women's Health**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 385-389, abr. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/jwh.2012.3785>.

BADER, Verian; WINKLHOFER, Konstanze F.. Mitochondria at the interface between neurodegeneration and neuroinflammation. **Seminars In Cell & Developmental Biology**, [S.L.], v. 99, p. 163-171, mar. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.028>.

BALDWIN, David s; ANDERSON, Ian M; NUTT, David J; ALLGULANDER, Christer; BANDELOW, Borwin; BOER, Johan A Den; CHRISTMAS, David M; DAVIES, Simon; FINEBERG, Naomi; LIDBETTER, Nicky. Evidence-based pharmacological treatment of anxiety disorders, post-traumatic stress disorder and obsessive-compulsive disorder: a revision of the 2005 guidelines from the british association for psychopharmacology. **Journal Of Psychopharmacology**, [S.L.], v. 28, n. 5, p. 403-439, 8 abr. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0269881114525674>.

BANDELOW, Borwin; ALLGULANDER, Christer; BALDWIN, David S.; COSTA, Daniel Lucas da Conceição; DENYS, Damiaan; DILBAZ, Nesrin; DOMSCHKE, Katharina; ERIKSSON, Elias; FINEBERG, Naomi A.; HÄTTENSCHWILER, Josef. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for treatment of anxiety, obsessive-compulsive and posttraumatic stress disorders – Version 3. Part I: anxiety disorders. **The World Journal Of Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 79-117, 28 jul. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/15622975.2022.2086295>.

BĄK, Urszula; KRUPA, Anna. Challenges and Opportunities for Celecoxib Repurposing. **Pharmaceutical Research**, [S.L.], v. 40, n. 10, p. 2329-2345, 8 ago. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-023-03571-4>.

BARKER, Jason H; WEISS, Jerrold P. Detecting lipopolysaccharide in the cytosol of mammalian cells: lessons from MD-2/TLR4. **Journal Of Leukocyte Biology**, [S.L.], v. 106, n. 1, p. 127-132, 29 jan. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jlb.3mir1118-434r>.

BARONE, Pascal. The ‘Yin’ and the ‘Yang’ of the kynurenone pathway: excitotoxicity and neuroprotection imbalance in stress-induced disorders. **Behavioural Pharmacology**, [S.L.], v. 30, n. 23, p. 163-186, abr. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/fbp.0000000000000477>.

BARTOLI, Francesco; CAVALERI, Daniele; BACHI, Bianca; MORETTI, Federico; RIBOLDI, Ilaria; CROCAMI, Cristina; CARRÀ, Giuseppe. Repurposed drugs as adjunctive treatments for mania and bipolar depression: a meta-review and critical appraisal of meta-analyses of randomized placebo-controlled trials. **Journal Of Psychiatric Research**, [S.L.], v. 143, p. 230-238, nov. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.09.018>.

BEUREL, Eléonore; TOUPS, Marisa; NEMEROFF, Charles B.. The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: double trouble. **Neuron**, [S.L.], v. 107, n. 2, p. 234-256, jul. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2020.06.002>.

BEHEYDT, Lieve Lia; SCHRIJVERS, Didier; DOCX, Lise; BOUCKAERT, Filip; HULSTIJN, Wouter; SABBE, Bernard. Cognitive and psychomotor effects of three months of escitalopram treatment in elderly patients with major depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, [S.L.], v. 188, p. 47-52, dez. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2015.08.041>.

BHAWNA; KUMAR, Ashwani; BHATIA, Meenakshi; KAPOOR, Archana; KUMAR, Parvin; KUMAR, Sunil. Monoamine oxidase inhibitors: a concise review with special emphasis on structure activity relationship studies. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 242, p. 114655, nov. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114655>.

BISGAARD, Tania H.; ALLIN, Kristine H.; KEEFER, Laurie; ANANTHAKRISHNAN, Ashwin N.; JESS, Tine. Depression and anxiety in inflammatory bowel disease: epidemiology, mechanisms and treatment. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [S.L.], v. 19, n. 11, p. 717-726, 22 jun. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41575-022-00634-6>.

BOGDANOVA, Olena V.; KANEKAR, Shami; D'ANCI, Kristen E.; RENSHAW, Perry F.. Factors influencing behavior in the forced swim test. **Physiology & Behavior**, [S.L.], v. 118, p. 227-239, jun. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.05.012>.

BOKU, Shuken; NAKAGAWA, Shin; TODA, Hiroyuki; HISHIMOTO, Akitoyo. Neural basis of major depressive disorder: beyond monoamine hypothesis. **Psychiatry And Clinical Neurosciences**, [S.L.], v. 72, n. 1, p. 3-12, 19 out. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/pnc.12604>.

BORRE, Yuliya; LEMSTRA, Susan; WESTPHAL, Koen G.C.; MORGAN, Mary E.; OLIVIER, Berend; OOSTING, Ronald S.. Celecoxib delays cognitive decline in an animal model of neurodegeneration. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 234, n. 2, p. 285-291, out. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2012.07.007>.

BOSSINI, Letizia; COLUCCIA, Anna; CASOLARO, Ilaria; BENBOW, Jim; AMODEO, Giovanni; GIORGI, Riccardo de; FAGIOLINI, Andrea. Off-Label Trazodone Prescription: evidence, benefits and risks. **Current Pharmaceutical Design**, [S.L.], v. 21, n. 23, p. 3343-3351, 23 jul. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/138161281666150619092236>.

BOTTINO, Francesca; LUCIGNANI, Martina; NAPOLITANO, Antonio; DELLEPIANE, Francesco; VISCONTI, Emiliano; ESPAGNET, Maria Camilla Rossi; PASQUINI, Luca. In Vivo Brain GSH: mrs methods and clinical applications. **Antioxidants**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 1407, 1 set. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox10091407>.

BRONZUOLI, Maria Rosanna; IACOMINO, Aniello; STEARDO, Luca; SCUDERI, Caterina. Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease. **Journal Of Inflammation Research**, [S.L.], v. 9, p. 199-208, nov. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/jir.s86958>.

BUSSMANN, Hendrik; BREMER, Swen; HERNIER, Anne Marie; DREWE, Jürgen; HÄBERLEIN, Hanns; FRANKEN, Sebastian; FREYTAG, Virginie; BOONEN, Georg; BUTTERWECK, Veronika. St. John's Wort Extract Ze 117 and Escitalopram Alter Plasma and Hippocampal Lipidome in a Rat Model of Chronic-Stress-Induced Depression. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 25, n. 23, p. 12667, 26 nov. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms252312667>.

BÜTTIKER, Pascal; WEISSENBERGER, Simon; ESCH, Tobias; ANDERS, Martin; RABOCH, Jiri; PTACEK, Radek; KREAM, Richard M.; STEFANO, George B.. Dysfunctional mitochondrial processes contribute to energy perturbations in the brain and neuropsychiatric symptoms. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 13, p. 1-12, 5 jan. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.1095923>.

CAMKURT, Mehmet Akif; FİNDİKLİ, Ebru; İZCI, Filiz; KURUTAŞ, Ergül Belge; TUMAN, Taha Can. Evaluation of malondialdehyde, superoxide dismutase and catalase activity and their diagnostic value in drug naïve, first episode, non-smoker major depression patients and healthy controls. **Psychiatry Research**, [S.L.], v. 238, p. 81-85, abr. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2016.01.075>.

CAPIBARIBE, Victor Celso Cavalcanti; MALLMANN, Auriana Serra Vasconcelos; LOPES, Iardja Stéfane; OLIVEIRA, Iris Cristina Maia; OLIVEIRA, Natalia Ferreira de; CHAVES, Raquell de Castro; FERNANDES, Mariana Lima; ARAÚJO, Mariana Albuquerque de; DA SILVA, Daniel Moreira Alves; VALENTIM, José Tiago; CHAVES FILHO, Adriano José Maia; MACÊDO, Danielle Silveira; VASCONCELOS, Silvânia Maria Mendes de; CARVALHO, Alyne Mara Rodrigues de; DE SOUSA, Francisca Cléa Florenço. Thymol reverses depression-like behaviour and upregulates hippocampal BDNF levels in chronic corticosterone-induced depression model in female mice. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, [S.L.], v. 71, n. 12, p. 1774-1783, 14 out. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jphp.13162>.

CAPUZZI, Enrico; OSSOLA, Paolo; CALDIROLI, Alice; AUXILIA, Anna Maria; BUOLI, Massimiliano. Malondialdehyde as a candidate biomarker for bipolar disorder: a meta-analysis. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 113, p. 110469, mar. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110469>.

CARVALHO, Ana Júlia; PIMENTA, Stéfany Bruna de Brito; SIMEONI, Adélia Rocha. Uso da escetamina intranasal no tratamento da depressão resistente: uma revisão de literatura. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 11, n. 16, p. 1-9, 18 dez. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i16.38613>.

CASARRUBEA, Maurizio; GIOVANNI, Giuseppe di; AIELLO, Stefania; CRESCIMANNO, Giuseppe. The hole-board apparatus in the study of anxiety. **Physiology & Behavior**, [S.L.], v. 271, p. 114346, nov. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2023.114346>.

CAVAILLON, Jean-Marc. Exotoxins and endotoxins: inducers of inflammatory cytokines. **Toxicon**, [S.L.], v. 149, p. 45-53, jul. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.10.016>.

CHAUDHURY, Dipesh; LIU, He; HAN, Ming-Hu. Neuronal correlates of depression. **Cellular And Molecular Life Sciences**, [S.L.], v. 72, n. 24, p. 4825-4848, 5 nov. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-015-2044-6>.

CHAVES, Raquell de Castro; MALLMANN, Auriana Serra Vasconcelos; OLIVEIRA, Natália Ferreira; OLIVEIRA, Iris Cristina Maia; CAPIBARIBE, Victor Celso Cavalcanti; SILVA, Daniel Moreira Alves da; LOPES, Iardja Stéfane; VALENTIM, José Tiago; CARVALHO, Alyne Mara Rodrigues de; MACÊDO, Danielle Silveira; VASCONCELOS, Silvânia Maria Mendes; GUTIERREZ, Stanley Juan Chaves; BARBOSA FILHO, José Maria; DE SOUSA, Francisca Cléa Florenço. Reversal effect of Riparin IV in depression and anxiety caused by corticosterone chronic administration in mice. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, [S.L.], v. 180, p. 44-51, maio 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2019.03.005>.

CHAVES, Raquell de Castro; MALLMANN, Auriana Serra Vasconcelos; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CAPIBARIBE, Victor Celso Cavalcanti; SILVA, Daniel Moreira Alves da; LOPES, Iardja Stéfane; VALENTIM, José Tiago; BARBOSA, Giovanna Riello; CARVALHO, Alyne Mara Rodrigues de; FONTELES, Marta Maria de França; GUTIERREZ, Stanley Juan Chavez; BARBOSA FILHO, José Maria; DE SOUSA, Francisca Cléa Florenço. The neuroprotective effect of Riparin IV on oxidative stress and neuroinflammation related to chronic stress-induced cognitive impairment. **Hormones And Behavior**, [S.L.], v. 122, p. 104758, jun. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104758>.

CHEN, Qi; LUO, Ying; KUANG, Shengnan; YANG, Yang; TIAN, Xiaoyan; MA, Jie; MAI, Shaoshan; XUE, Lai; YANG, Junqing. Cyclooxygenase-2 Signalling Pathway in the Cortex is Involved in the Pathophysiological Mechanisms in the Rat Model of Depression. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-12, 28 mar. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-00609-7>.

CHENG, Yu-Wei; ZOU, Zhi-Hui; LOU, Chen-Lu; TONG, Ming-Rui; LI, Jin-Kai; ZHU, Wen-Hui; LU, Yu-Lin; ZHU, De-Fa; XU, Qi; XU, Yong-Xia. Hippocampal NLRP1

inflammasome mediates anxiety-like behavior in mice with hypothyroidism. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-11, 9 maio 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-025-00979-3>.

CIUBUC-BATCU, M.T.; STAPELBERG, N.J.C.; HEADRICK, J.P.; RENSHAW, G.M.C.. A mitochondrial nexus in major depressive disorder: integration with the psycho-immunoendocrine network. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular Basis Of Disease**, [S.L.], v. 1870, n. 2, p. 166920, fev. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadiis.2023.166920>.

COLUCCI-D'AMATO, Luca; SPERANZA, Luisa; VOLPICELLI, Floriana. Neurotrophic Factor BDNF, Physiological Functions and Therapeutic Potential in Depression, Neurodegeneration and Brain Cancer. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 20, p. 7777, 21 out. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21207777>.

COMAI, Stefano; BERTAZZO, Antonella; BRUGHERA, Martina; CROTTI, Sara. Tryptophan in health and disease. **Advances In Clinical Chemistry**, [S.L.], p. 165-218, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.acc.2019.08.005>.

CORRIGER, Alexandrine; PICKERING, Gisèle. Ketamine and depression: a narrative review. **Drug Design, Development And Therapy**, [S.L.], v. 13, p. 3051-3067, ago. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/dddt.s221437>.

CORWIN, Elizabeth J.; BOZOKY, Ingrid; PUGH, Linda C.; JOHNSTON, Nancy. Interleukin-1 β elevation during the postpartum period. **Annals Of Behavioral Medicine**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 41-47, jan. 2003. DOI: http://dx.doi.org/10.1207/s15324796abm2501_06.

COSTELA-RUIZ, Víctor J.; MELGUIZO-RODRÍGUEZ, Lucia; ILLESCAS-MONTES, Rebeca; RAMOS-TORRECILLAS, Javier; MANZANO-MORENO, Francisco J.; RUIZ, Concepción; BERTOS, Elvira de Luna-. Effects of Therapeutic Doses of Celecoxib on Several Physiological Parameters of Cultured Human Osteoblasts. **International Journal Of Medical Sciences**, [S.L.], v. 16, n. 11, p. 1466-1472, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.7150/ijms.37857>.

CUIJPERS, Pim; BEEKMAN, Aartjan T. F.; REYNOLDS, Charles F.. Preventing Depression. **Jama**, [S.L.], v. 307, n. 10, p. 1033, 14 mar. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2012.271>.

CUIJPERS, Pim; VAN STRATEN, Annemieke; ANDERSSON, Gerhard; VAN OPPEN, Patricia. Psychotherapy for depression in adults: a meta-analysis of comparative outcome studies.. **Journal Of Consulting And Clinical Psychology**, [S.L.], v. 76, n. 6, p. 909-922, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1037/a0013075>.

CULPEPPER, Larry. Impact of Anxious Symptoms and Comorbid Anxiety Disorders on Functional Impairment in Depressed Patients. **The Journal Of Clinical Psychiatry**, [S.L.], v. 77, n. 05, p. 604-604, 25 maio 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4088/jcp.14076tx1c>.

CURRAN, Kevin P.; CHALASANI, Sreekanth H.. Serotonin circuits and anxiety: what can invertebrates teach us?. **Invertebrate Neuroscience**, [S.L.], p. 81-92, 24 ago. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10158-012-0140-y>.

DAS, Rajesh; EMON, Md. Prova Zaman; SHAHRIAR, Mohammad; NAHAR, Zabun; ISLAM, Sardar Mohammad Ashraful; BHUIYAN, Mohiuddin Ahmed; ISLAM, Sheikh Nazrul; ISLAM, Md. Rabiul. Higher levels of serum IL-1 β and TNF- α are associated with an increased probability of major depressive disorder. **Psychiatry Research**, [S.L.], v. 295, p. 113568, jan. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113568>.

DEARDORFF, William James; GROSSBERG, George T. Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease: evidence for nsails and novel therapeutics. **Expert Review Of Neurotherapeutics**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 17-32, 24 jun. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/14737175.2016.1200972>.

DEBLER, Roanna A.; GALLEGOS, Paula L.; OJEDA, Alexandra C.; PERTTULA, Andrea M.; LUCIO, Ashley; CHAPKIN, Robert S.; SAFE, Stephen; EITAN, Shoshana. TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin) induces depression-like phenotype. **Neurotoxicology**, [S.L.], v. 103, p. 71-77, jul. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2024.05.010>.

DELANOOGARE, Eslen; BULLICH, Sebastien; BARBOSA, Lucas Antônio dos Santos; BARROS, Wellington de Medeiros; BRAGA, Sara Pereira; KRAUS, Scheila Iria; KASPROWICZ, Júlia Nahir; SANTOS, Gustavo Jorge dos; GUIARD, Bruno Pierre; MOREIRA, Eduardo Luiz Gasnhar. Metformin improves neurobehavioral impairments of streptozotocin-treated and western diet-fed mice: beyond glucose :lowering effects. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 94-106, 31 ago. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/fcp.12825>.

DEMARTINI, Jeremy; PATEL, Gayatri; FANCHER, Tonya L.. Generalized Anxiety Disorder. **Annals Of Internal Medicine**, [S.L.], v. 170, n. 7, p. 49-64, 2 abr. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.7326/aitc201904020>.

DIONISIE, Vlad; CIOBANU, Adela Magdalena; TOMA, Vlad Alexandru; MANEA, Mihnea Costin; BALDEA, Ioana; OLTEANU, Diana; SEVASTRE-BERGHIAN, Alexandra; CLICHICI, Simona; MANEA, Mirela; RIGA, Sorin. Escitalopram Targets Oxidative Stress, Caspase-3, BDNF and MeCP2 in the Hippocampus and Frontal Cortex of a Rat Model of Depression Induced by Chronic Unpredictable Mild Stress. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 14, p. 7483, 13 jul. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22147483>.

DOLOTOV, Oleg V.; INOZEMTSEVA, Ludmila S.; MYASOEDOV, Nikolay F.; GRIVENNIKOV, Igor A.. Stress-Induced Depression and Alzheimer's Disease: focus on astrocytes. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 9, p. 4999, 30 abr. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23094999>.

DRAGON, Jonasz; GOŁYSZNY, Miłosz; ZIELIŃSKI, Michał; POPIOŁEK-BARCZYK, Katarzyna; STAROWICZ, Katarzyna; OBUCHOWICZ, Ewa. Escitalopram reverses anxiety-like and despair behavior and affects endocannabinoid-related genes expression in the brain of adolescent male rats subjected to early life stress. **Neuroscience**, [S.L.], v. 567, p. 96-108, fev. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2025.01.001>.

DUGUEZ, Stephanie; DUDDY, William J.; GNOCHI, Viola; BOWE, James; DADGAR, Sherry; PARTRIDGE, Terence A.. Atmospheric Oxygen Tension Slows Myoblast Proliferation via Mitochondrial Activation. **Plos One**, [S.L.], v. 7, n. 8, p. 43853, 24 ago. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0043853>.

DUIVIS, Hester E.; VOGELZANGS, Nicole; KUPPER, Nina; JONGE, Peter de; PENNINX, Brenda W.J.H.. Differential association of somatic and cognitive symptoms of depression and anxiety with inflammation: findings from the netherlands study of depression and anxiety (NESDA). **Psychoneuroendocrinology**, [S.L.], v. 38, n. 9, p. 1573-1585, set. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.01.002>.

DUMAN, Ronald S.; AGHAJANIAN, George K.. Synaptic Dysfunction in Depression: potential therapeutic targets. **Science**, [S.L.], v. 338, n. 6103, p. 68-72, 5 out. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1222939>.

ĎURAČKOVÁ, Zdeňka. Free Radicals and Antioxidants for Non-Experts. **Systems Biology Of Free Radicals And Antioxidants**, [S.L.], p. 3-38, 2014. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-30018-9_2.

DURKEE, Caitlin; KOFUJI, Paulo; NAVARRETE, Marta; ARAQUE, Alfonso. Astrocyte and neuron cooperation in long-term depression. **Trends In Neurosciences**, [S.L.], v. 44, n. 10, p. 837-848, out. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2021.07.004>.

DUTRA, Maurício; SILVA, Stephanya Covas da; MARQUES, Pâmella da Silva Beggiora; AMARAL, Izadora Oliveira; SOUZA, Stephanie Naomi Funo de; DUTRA, Luiz Antônio; SANTOS, Marcelo Volpon; MACHADO, Hélio Rubens; LOPES, Luiza da Silva. Celecoxib attenuates neuroinflammation, reactive astrogliosis and promotes neuroprotection in young rats with experimental hydrocephalus. **Journal Of Chemical Neuroanatomy**, [S.L.], v. 133, p. 102344, nov. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchemneu.2023.102344>.

EDMONDSON-STAIT, Amelia J.; DAVYSON, Ella; SHEN, Xueyi; ADAMS, Mark James; KHANDAKER, Golam M.; MIRON, Veronique E.; MCINTOSH, Andrew M.; LAWRIE, Stephen M.; KWONG, Alex S.F.; WHALLEY, Heather C.. Associations between IL-6 and trajectories of depressive symptoms across the life course: evidence from ALSPAC and UK Biobank cohorts. **European Psychiatry**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 1-15, 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1192/j.eurpsy.2025.7>.

EGELAND, Martin; ZUNSZAIN, Patricia A.; PARIANTE, Carmine M.. Molecular mechanisms in the regulation of adult neurogenesis during stress. **Nature Reviews Neuroscience**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 189-200, 20 mar. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3855>.

ESALATMANESH, Sophia; KASHANI, Ladan; AKHONDZADEH, Shahin. Celecoxib in Treatment of Postpartum Depression: a case report. **Archives Of Iranian Medicine**, [S.L.], v. 26, n. 5, p. 275-278, 1 maio 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.34172/aim.2023.42>.

ESKANDARI, Ebrahim; EAVES, Connie J.. Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis. **Journal Of Cell Biology**, [S.L.], v. 221, n. 6, p. 1-13, 12 maio 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.202201159>.

ESTERAS, Noemí; ADJOBO-HERMANS, Merel J.W.; ABRAMOV, Andrey Y.; KOOPMAN, Werner J.H.. Visualization of mitochondrial membrane potential in mammalian cells. **Methods In Cell Biology**, [S.L.], p. 221-245, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.mcb.2019.10.003>.

FAGAN, Harry A.; BALDWIN, David S.. Pharmacological Treatment of Generalised Anxiety Disorder: current practice and future directions. **Expert Review Of Neurotherapeutics**, [S.L.], v. 23, n. 6, p. 535-548, 15 maio 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/14737175.2023.2211767>.

FAN, L.-W.; KAIZAKI, A.; TIEN, L.-T.; PANG, Y.; TANAKA, S.; NUMAZAWA, S.; BHATT, A.J.; CAI, Z.. Celecoxib attenuates systemic lipopolysaccharide-induced brain inflammation and white matter injury in the neonatal rats. **Neuroscience**, [S.L.], v. 240, p. 27-38, jun. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.02.041>.

FAN, Yangyan; FAN, Ahui; YANG, Zhiping; FAN, Daiming. Global burden of mental disorders in 204 countries and territories, 1990–2021: results from the global burden of disease study 2021. **Bmc Psychiatry**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 1-14, 15 maio 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12888-025-06932-y>.

FARAVELLI, Carlo; LOSAURO, Carolina; LELLI, Lorenzo; PIETRINI, Francesco; LAZZERETTI, Lisa; GODINI, Lucia; BENNI, Laura; FIORAVANTI, Giulia; TALAMBA, Gabriela Alina; CASTELLINI, Giovanni. The Role of Life Events and HPA Axis in Anxiety Disorders: a review. **Current Pharmaceutical Design**, [S.L.], v. 18, n. 35, p. 5663-5674, 8 out. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/138161212803530907>.

FELGER, J C; LI, Z; HAROON, E; WOOLWINE, B J; JUNG, M y; HU, X; MILLER, A H. Inflammation is associated with decreased functional connectivity within corticostriatal reward circuitry in depression. **Molecular Psychiatry**, [S.L.], v. 21, n. 10, p. 1358-1365, 10 nov. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2015.168>.

FILATOVA, Elena V.; SHADRINA, Maria I.; SLOMINSKY, Petr A.. Major Depression: one brain, one disease, one set of intertwined processes. **Cells**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 1283, 21 maio 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells10061283>.

FISCHER, Elizabeth R.; HANSEN, Bryan T.; NAIR, Vinod; HOYT, Forrest H.; SCHWARTZ, Cindi L.; DORWARD, David W.. Scanning Electron Microscopy. **Current Protocols**, [S.L.], v. 4, n. 5, p. 1-91, maio 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/cpz1.1034>.

FLEMING, Angeleen; RUBINSZTEIN, David C.. Autophagy in Neuronal Development and Plasticity. **Trends In Neurosciences**, [S.L.], v. 43, n. 10, p. 767-779, out. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2020.07.003>.

FOURNIER, Jay C.; DERUBEIS, Robert J.; HOLLON, Steven D.; DIMIDJIAN, Sona; AMSTERDAM, Jay D.; SHELTON, Richard C.; FAWCETT, Jan. Antidepressant Drug Effects and Depression Severity. **Jama**, [S.L.], v. 303, n. 1, p. 47, 6 jan. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.1943>.

FRIES, Gabriel R.; SALDANA, Valeria A.; FINNSTEIN, Johannes; REIN, Theo. Molecular pathways of major depressive disorder converge on the synapse. **Molecular Psychiatry**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 284-297, 6 out. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41380-022-01806-1>.

GARABADU, Debapriya; KUMAR, Vivek. Celecoxib potentiates the antianxiety and anticomulsive-like activity of fluoxetine against chronic unpredictable mild stress in experimental animals. **Behavioural Pharmacology**, [S.L.], v. 30, n. 23, p. 251-259, abr. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/fbp.0000000000000468>.

GARCÍA-JUÁREZ, Martín; CAMACHO-MORALES, Alberto. Defining the Role of Anti- and Pro-inflammatory Outcomes of Interleukin-6 in Mental Health. **Neuroscience**, [S.L.], v. 492, p. 32-46, jun. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.03.020>.

GASPERSZ, Roxanne; NAWIJN, Laura; LAMERS, Femke; PENNINX, Brenda W.J.H.. Patients with anxious depression. **Current Opinion In Psychiatry**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 17-25, jan. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/yco.0000000000000376>.

GAWRYLUK, Jeremy W.; WANG, Jun-Feng; ANDREAZZA, Ana C.; SHAO, Li; YOUNG, L. Trevor. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. **The International Journal Of Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 14, n. 01, p. 123-130, 16 jul. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/s1461145710000805>.

GEBARA, Elias; ZANOLETTI, Olivia; GHOSAL, Sriparna; GROSSE, Jocelyn; SCHNEIDER, Bernard L.; KNOTT, Graham; ASTORI, Simone; SANDI, Carmen. Mitofusin-2 in the Nucleus Accumbens Regulates Anxiety and Depression-like Behaviors Through Mitochondrial and Neuronal Actions. **Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 89, n. 11, p. 1033-1044, jun. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.12.003>.

GŁOMBIK, Katarzyna; KUKLA-BARTOSZEK, Magdalena; CURZYTEK, Katarzyna; DETKA, Jan; BASTA-KAIM, Agnieszka; BUDZISZEWSKA, Bogusława. The Effects of Prenatal Dexamethasone Exposure on Brain Metabolic Homeostasis in Adulthood: implications for depression. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 1156, 6 jan. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24021156>.

GALVANI, Pietro; FUMAGALLI, Pietro; SANTAGOSTINO, Angela. Vulnerability of mitochondrial complex I in PC12 cells exposed to manganese. **European Journal Of Pharmacology**: Environmental Toxicology and Pharmacology, [S.L.], v. 293, n. 4, p. 377-383, dez. 1995. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0926-6917\(95\)90058-6](http://dx.doi.org/10.1016/0926-6917(95)90058-6).

GAMBLE-GEORGE, Joyonna Carrie; BALDI, Rita; HALLADAY, Lindsay; KOCHARIAN, Adrina; HARTLEY, Nolan; SILVA, Carolyn Grace; ROBERTS, Holly; HAYMER, Andre; MARNETT, Lawrence J; HOLMES, Andrew. Cyclooxygenase-2 inhibition reduces stress-induced affective pathology. **Elife**, [S.L.], v. 5, p. 1-20, 10 maio 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.7554/elife.14137>.

GARZONE, Stefania; CHARITOS, Ioannis Alexandros; MANDORINO, Manuela; MAGGIORE, Maria Elena; CAPOZZI, Loredana; CAKANI, Bujar; LOPES, Gabriel César Dias; BOCCCHIO-CHIAVETTO, Luisella; COLELLA, Marica. Can We Modulate Our

Second Brain and Its Metabolites to Change Our Mood? A Systematic Review on Efficacy, Mechanisms, and Future Directions of “Psychobiotics”. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 26, n. 5, p. 1972, 25 fev. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms26051972>.

GeVDEK, Adam; SZULAR, Zofia; ANTOSIK, Anna Z.; MIERZEJEWSKI, Paweł; DOMINIĄK, Monika. Celecoxib for Mood Disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 3497, 16 maio 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm12103497>.

GOH, Xue Xin; TANG, Pek Yee; TEE, Shiao Foon. Meta-analysis of soluble tumour necrosis factor receptors in severe mental illnesses. **Journal Of Psychiatric Research**, [S.L.], v. 165, p. 180-190, set. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2023.07.014>.

GONG, Hong; SU, Wen-Jun; DENG, Shi-Long; LUO, Jing; DU, Zhu-Lin; LUO, Yi; LV, Ke-Yi; ZHU, Dong-Mei; FAN, Xiao-Tang. Anti-inflammatory interventions for the treatment and prevention of depression among older adults: a systematic review and meta-analysis. **Translational Psychiatry**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-15, 1 abr. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41398-025-03317-3>.

GOODWIN, Guy M.; STEIN, Dan J.. Generalised Anxiety Disorder and Depression: contemporary treatment approaches. **Advances In Therapy**, [S.L.], v. 38, n. 2, p. 45-51, 21 ago. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12325-021-01859-8>.

GORĄCA, Anna; ASŁANOWICZ-ANTKOWIAK, Katarzyna. Prophylaxis with α -lipoic acid against lipopolysaccharide-induced brain injury in rats. **Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis**, [S.L.], v. 57, n. 2, p. 141-146, 31 mar. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00005-009-0015-z>.

GOSSELIN, R.-D.; GIBNEY, S.; O'MALLEY, D.; DINAN, T.G.; CRYAN, J.F.. Region specific decrease in glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in the brain of a rat model of depression. **Neuroscience**, [S.L.], v. 159, n. 2, p. 915-925, mar. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.10.018>.

GUIJARRO-MUÑOZ, Irene; COMPTE, Marta; ÁLVAREZ-CIENFUEGOS, Ana; ÁLVAREZ-VALLINA, Luis; SANZ, Laura. Lipopolysaccharide Activates Toll-like Receptor 4 (TLR4)-mediated NF- κ B Signaling Pathway and Proinflammatory Response in Human Pericytes. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 289, n. 4, p. 2457-2468, jan. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m113.521161>.

GUILLEMIN, Gilles J.. Quinolinic acid, the inescapable neurotoxin. **The Febs Journal**, [S.L.], v. 279, n. 8, p. 1356-1365, 27 mar. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-4658.2012.08485.x>.

GREEN, Laura C.; TANNENBAUM, Steven R.; GOLDMAN, Peter. Nitrate Synthesis in the Germfree and Conventional Rat. **Science**, [S.L.], v. 212, n. 4490, p. 56-58, 3 abr. 1981. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.6451927>.

GREENBERG, Jeffrey; TESFAZION, Anderson A.; ROBINSON, Christopher S.. Screening, Diagnosis, and Treatment of Depression. **Military Medicine**, [S.L.], v. 177, n. 8, p. 60-66, ago. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.7205/milmed-d-12-00102>.

GREENBERG, Paul E.; FOURNIER, Andree-Anne; SISITSKY, Tammy; SIMES, Mark; BERMAN, Richard; KOENIGSBERG, Sarah H.; KESSLER, Ronald C.. The Economic Burden of Adults with Major Depressive Disorder in the United States (2010 and 2018). **Pharmacoconomics**, [S.L.], v. 39, n. 6, p. 653-665, 5 maio 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s40273-021-01019-4>.

GRIENDLING, Kathy K.; TOUYZ, Rhian M.; ZWEIER, Jay L.; DIKALOV, Sergey; CHILIAN, William; CHEN, Yeong-Renn; HARRISON, David G.; BHATNAGAR, Aruni. Measurement of Reactive Oxygen Species, Reactive Nitrogen Species, and Redox-Dependent Signaling in the Cardiovascular System. **Circulation Research**, [S.L.], v. 119, n. 5, p. 343-351, 19 ago. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/res.0000000000000110>.

GRIMSTAD, Øystein. Tumor Necrosis Factor and the Tenacious α . **Jama Dermatology**, [S.L.], v. 152, n. 5, p. 557, 1 maio 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jamadermatol.2015.4322>.

HAAPAKOSKI, Rita; MATHIEU, Julia; EBMEIER, Klaus P.; ALENIUS, Harri; KIVIMÄKI, Mika. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior, And Immunity**, [S.L.], v. 49, p. 206-215, out. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2015.06.001>.

HAMON, Michel; BLIER, Pierre. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. **Progress In Neuro-Psychopharmacology And Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 45, p. 54-63, ago. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.04.009>

HAJ-MIRZAIAN, Arya; AMIRI, Shayan; AMINI-KHOEI, Hossein; HOSSEINI, Mir-Jamal; HAJ-MIRZAIAN, Arvin; MOMENY, Majid; RAHIMI-BALAEI, Maryam; DEHPOUR, Ahmad Reza. Anxiety- and Depressive-Like Behaviors are Associated with Altered Hippocampal Energy and Inflammatory Status in a Mouse Model of Crohn's Disease. **Neuroscience**, [S.L.], v. 366, p. 124-137, dez. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.10.023>.

HARADA, Keita; MATSUOKA, Hidetada; INOUE, Masumi. Expression of Mitochondrial Uncoupling Proteins and GABA Signaling Molecules in Unstimulated and Nerve Growth Factor-Stimulated PC12 Cells: models for chromaffin cells and sympathetic neurons. **Journal Of Histochemistry & Cytochemistry**, [S.L.], p. 1-16, 28 abr. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1369/00221554251332981>

HAROON, Ebrahim; DAGUANNO, Alexander W.; WOOLWINE, Bobbi J.; GOLDSMITH, David R.; BAER, Wendy M.; WOMMACK, Evanthisia C.; FELGER, Jennifer C.; MILLER, Andrew H.. Antidepressant treatment resistance is associated with increased inflammatory markers in patients with major depressive disorder. **Psychoneuroendocrinology**, [S.L.], v. 95, p. 43-49, set. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.05.026>.

HARSANYI, Stefan; KUPCOVA, Ida; DANISOVIC, Lubos; KLEIN, Martin. Selected Biomarkers of Depression: what are the effects of cytokines and inflammation?. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 578, 29 dez. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24010578>.

HE, Ying; HAN, Yuanshan; LIAO, Xiaolin; ZOU, Manshu; WANG, Yuhong. Biology of cyclooxygenase-2: an application in depression therapeutics. **Frontiers In Psychiatry**, [S.L.], v. 13, p. 1-13, 10 nov. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpsyg.2022.1037588>.

HIMANSHU; DHARMLA; SARKAR, Deepa; NUTAN. A Review of Behavioral Tests to Evaluate Different Types of Anxiety and Anti-anxiety Effects. **Clinical Psychopharmacology And Neuroscience**, [S.L.], v. 18, n. 3, p. 341-351, 31 ago. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.9758/cpn.2020.18.3.341>.

HOCHSTRASSER, T.; ULLRICH, C.; SPERNER-UNTERWEGER, B.; HUMPEL, C.. Inflammatory stimuli reduce survival of serotonergic neurons and induce neuronal expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in rat dorsal raphe nucleus organotypic brain slices. **Neuroscience**, [S.L.], v. 184, p. 128-138, jun. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.03.070>.

HODES, Georgia e; KANA, Veronika; MENARD, Caroline; MERAD, Miriam; RUSSO, Scott J. Neuroimmune mechanisms of depression. **Nature Neuroscience**, [S.L.], v. 18, n. 10, p. 1386-1393, 25 set. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nn.4113>.

HRITCU, Lucian; CIOBICA, Alin. Intranigral lipopolysaccharide administration induced behavioral deficits and oxidative stress damage in laboratory rats: relevance for parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 253, p. 25-31, set. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2013.07.006>.

HUH, John; GOEBERT, Deborah; TAKESHITA, Junji; LU, Brett Y.; KANG, Mark. Treatment of Generalized Anxiety Disorder. **The Primary Care Companion For CNS Disorders**, [S.L.], p. 1-9, 24 mar. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.4088/pcc.08r00709>.

HU, Congli; LUO, Ying; WANG, Hong; KUANG, Shengnan; LIANG, Guojuan; YANG, Yang; MAI, Shaoshan; YANG, Junqing. Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. **Plos One**, [S.L.], v. 12, n. 9, p. 0185129, 20 set. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0185129>.

HU, Kejia; SJÖLANDER, Arvid; LU, Donghao; WALKER, Adam K.; SLOAN, Erica K.; FALL, Katja; VALDIMARSDÓTTIR, Unnur; HALL, Per; SMEDBY, Karin E.; FANG, Fang. Aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs and depression, anxiety, and stress-related disorders following a cancer diagnosis: a nationwide register-based cohort study. **Bmc Medicine**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 1-12, 9 set. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12916-020-01709-4>.

IOB, Eleonora; KIRSCHBAUM, Clemens; STEPTOE, Andrew. Persistent depressive symptoms, HPA-axis hyperactivity, and inflammation: the role of cognitive-affective and somatic symptoms. **Molecular Psychiatry**, [S.L.], v. 25, n. 5, p. 1130-1140, 21 ago. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41380-019-0501-6>.

IWATA, Ryohei; CASIMIR, Pierre; ERKOL, Emir; BOUBAKAR, Leïla; PLANQUE, Mélanie; LÓPEZ, Isabel M. Gallego; DITKOWSKA, Martyna; GASPARIUNAITÉ, Vaiva; BECKERS, Sofie; REMANS, Daan. Mitochondria metabolism sets the species-specific tempo of neuronal development. **Science**, [S.L.], v. 379, n. 6632, p. 1-10, 10 fev. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.abn4705>.

JAHROMI, Ghazaleh Ghaffaripour; RAZI, Sepideh; REZAEI, Nima. NLRP3 inflammatory pathway. Can we unlock depression? **Brain Research**, [S.L.], v. 1822, p. 148644, jan. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2023.148644>.

JELEN, Luke A.; STONE, James M.. Ketamine for depression. **International Review Of Psychiatry**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 207-228, 11 fev. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09540261.2020.1854194>.

JIA, Xiaoning; GAO, Zhihua; HU, Hailan. Microglia in depression: current perspectives. **Science China Life Sciences**, [S.L.], v. 64, n. 6, p. 911-925, 14 out. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11427-020-1815-6>.

JOSHI, Amit U.; MINHAS, Paras S.; LIDDELOW, Shane A.; HAILESELASSIE, Bereketeab; ANDREASSON, Katrin I.; DORN, Gerald W.; MOCHLY-ROSEN, Daria. Fragmented mitochondria released from microglia trigger A1 astrocytic response and propagate inflammatory neurodegeneration. **Nature Neuroscience**, [S.L.], v. 22, n. 10, p. 1635-1648, 23 set. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41593-019-0486-0>.

JUNG, Seonghee; CHOE, Seongwon; WOO, Hanwoong; JEONG, Hyeonjeong; AN, Hyun-Kyu; MOON, Hyewon; RYU, Hye Young; YEO, Bo Kyoung; LEE, Ye Won; CHOI, Hyosun. Autophagic death of neural stem cells mediates chronic stress-induced decline of adult hippocampal neurogenesis and cognitive deficits. **Autophagy**, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 512-530, 24 jun. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/15548627.2019.1630222>.

KABAKOV, Alexander E.; KUDRYAVTSEV, Vladimir A.; GABAI, Vladimir L.. Determination of Cell Survival or Death. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 231-244, 2011. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-61779-295-3_17.

KAIZAKI, Asuka; TIEN, Lu-Tai; PANG, Yi; CAI, Zhengwei; TANAKA, Sachiko; NUMAZAWA, Satoshi; BHATT, Abhay J; FAN, Lir-Wan. Celecoxib reduces brain dopaminergic neuronaldysfunction, and improves sensorimotor behavioral performance in neonatal rats exposed to systemic lipopolysaccharide. **Journal Of Neuroinflammation**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-14, 5 abr. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1742-2094-10-45>.

KAKEDA, Shingo; WATANABE, Keita; KATSUKI, Asuka; SUGIMOTO, Koichiro; IGATA, Natsuki; UEDA, Issei; IGATA, Ryohei; ABE, Osamu; YOSHIMURA, Reiji; KOROGI, Yukunori. Relationship between interleukin (IL)-6 and brain morphology in drug-naïve, first-episode major depressive disorder using surface-based morphometry. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-9, 3 jul. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-28300-5>.

KANDOLA, Aaron; ASHDOWN-FRANKS, Garcia; HENDRIKSE, Joshua; SABISTON, Catherine M.; STUBBS, Brendon. Physical activity and depression: towards understanding

the antidepressant mechanisms of physical activity. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 107, p. 525-539, dez. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.09.040>.

KATZUNG, Bertram G. (org.). **Farmacologia Básica e Clínica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda., 2014. 1228 p.

KENNEDY, Sidney H.; LAM, Raymond W.; MCINTYRE, Roger S.; TOURJMAN, S. Valérie; BHAT, Venkat; BLIER, Pierre; HASNAIN, Mehrul; JOLLANT, Fabrice; LEVITT, Anthony J.; MACQUEEN, Glenda M.. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) 2016 Clinical Guidelines for the Management of Adults with Major Depressive Disorder. **The Canadian Journal Of Psychiatry**, [S.L.], v. 61, n. 9, p. 540-560, 11 ago. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0706743716659417>.

KHOZAM, Hani Raoul. A review of trazodone use in psychiatric and medical conditions. **Postgraduate Medicine**, [S.L.], v. 129, n. 1, p. 140-148, 28 out. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/00325481.2017.1249265>.

KIKUCHI, Daniel S.; CAMPOS, Ana Carolina P.; QU, Hongyan; FORRESTER, Steven J.; PAGANO, Rosana L.; LASSÈGUE, Bernard; SADIKOT, Ruxana T.; GRIENDLING, Kathy K.; HERNANDES, Marina S.. Poldip2 mediates blood-brain barrier disruption in a model of sepsis-associated encephalopathy. **Journal Of Neuroinflammation**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1-12, 28 nov. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-019-1575-4>.

KOFOD, Joakim; ELFVING, Betina; NIELSEN, Elisabeth Handberg; MORS, Ole; KÖHLER-FORSSBERG, Ole. Depression and inflammation: correlation between changes in inflammatory markers with antidepressant response and long-term prognosis. **European Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 54, p. 116-125, jan. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2021.09.006>.

KÖHLER, C. A.; FREITAS, T. H.; MAES, M.; ANDRADE, N. Q. de; LIU, C. S.; FERNANDES, B. S.; STUBBS, B.; SOLMI, M.; VERONESE, N.; HERRMANN, N.. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: a meta :analysis of 82 studies. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, [S.L.], v. 135, n. 5, p. 373-387, 25 jan. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/acps.12698>.

KÖHLER, Ole; BENROS, Michael E.; NORDENTOFT, Merete; FARKOUH, Michael E.; IYENGAR, Rupa L.; MORS, Ole; KROGH, Jesper. Effect of Anti-inflammatory Treatment on Depression, Depressive Symptoms, and Adverse Effects. **Jama Psychiatry**, [S.L.], v. 71, n. 12, p. 1381, 1 dez. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2014.1611>.

KOJIMA, Masami; MATSUI, Konomi; MIZUI, Toshiyuki. BDNF pro-peptide: physiological mechanisms and implications for depression. **Cell And Tissue Research**, [S.L.], v. 377, n. 1, p. 73-79, 10 maio 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00441-019-03034-6>.

KOURA, Bruna R.; BORBA, Laura de Araujo; SOUZA, Pedro Borges de; GIL-MOHAPPEL, Joana; RODRIGUES, Ana Lúcia S.. Role of Inflammatory Mechanisms in Major Depressive Disorder: from etiology to potential pharmacological targets. **Cells**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 423, 28 fev. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells13050423>.

KOUBA, Bruna R.; GIL-MOHAPEL, Joana; RODRIGUES, Ana Lúcia S.. NLRP3 Inflammasome: from pathophysiology to therapeutic target in major depressive disorder. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 133, 21 dez. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24010133>.

KRAEUTER, Ann-Katrin; GUEST, Paul C.; SARNYAI, Zoltán. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 99-103, 11 dez. 2018. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_9.

KROEMER, Nils B.; OPEL, Nils; TECKENTRUP, Vanessa; LI, Meng; GROTEGERD, Dominik; MEINERT, Susanne; LEMKE, Hannah; KIRCHER, Tilo; NENADIĆ, Igor; KRUG, Axel. Functional Connectivity of the Nucleus Accumbens and Changes in Appetite in Patients With Depression. **Jama Psychiatry**, [S.L.], v. 79, n. 10, p. 993, 1 out. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2022.2464>.

KULIKOV, Alexander V.; TIKHONOVA, Maria A.; KULIKOV, Victor A.. Automated measurement of spatial preference in the open field test with transmitted lighting. **Journal Of Neuroscience Methods**, [S.L.], v. 170, n. 2, p. 345-351, maio 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.01.024>.

KUMAR, Robin; SANEJA, Ankit; PANDA, Amulya K.. An Annexin V-FITC—Propidium Iodide-Based Method for Detecting Apoptosis in a Non-Small Cell Lung Cancer Cell Line. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 213-223, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-0716-1278-1_17.

KUNUGI, Hiroshi; HORI, Hiroaki; ADACHI, Naoki; NUMAKAWA, Tadahiro. Interface between hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain-derived neurotrophic factor in depression. **Psychiatry And Clinical Neurosciences**, [S.L.], v. 64, n. 5, p. 447-459, 28 set. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1819.2010.02135.x>.

KURHE, Yeshwant; MAHESH, Radhakrishnan; GUPTA, Deepali. Effect of a Selective Cyclooxygenase Type 2 Inhibitor Celecoxib on Depression Associated with Obesity in Mice: an approach using behavioral tests. **Neurochemical Research**, [S.L.], v. 39, n. 7, p. 1395-1402, 11 maio 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11064-014-1322-2>.

LABUS, Josephine; WÖLTJE, Kerstin; STOLTE, Kim Natalie; HÄCKEL, Sonja; KIM, Kwang Sik; HILDMANN, Annette; DANKER, Kerstin. IL-1 β promotes transendothelial migration of PBMCs by upregulation of the FN/ α 5 β 1 signalling pathway in immortalised human brain microvascular endothelial cells. **Experimental Cell Research**, [S.L.], v. 373, n. 1-2, p. 99-111, dez. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.10.002>.

LACERDA, Débora Romualdo; COSTA, Kátia Anunciação; SILVEIRA, Ana Letícia Malheiros; RODRIGUES, Débora Fernandes; SILVA, Albena Nunes; SABINO, Josiana Lopes; PINHO, Vanessa; MENEZES, Gustavo Batista; SOARES, Danusa Dias; TEIXEIRA, Mauro Martins. Role of adipose tissue inflammation in fat pad loss induced by fasting in lean and mildly obese mice. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [S.L.], v. 72, p. 108208, out. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.06.006>.

LAMA, Adriano; PIROZZI, Claudio; SEVERI, Ilenia; MORGSESE, Maria Grazia; SENZACQUA, Martina; ANNUNZIATA, Chiara; COMELLA, Federica; PIANO, Filomena

del; SCHIAVONE, Stefania; PETROSINO, Stefania. Palmitoylethanolamide dampens neuroinflammation and anxiety-like behavior in obese mice. **Brain, Behavior, And Immunity**, [S.L.], v. 102, p. 110-123, maio 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2022.02.008>.

LAMARCHE, Frederic; COTTET-ROUSSELLE, Cecile; BARRET, Luc; FONTAINE, Eric. Protection of PC12 cells from cocaine-induced cell death by inhibiting mitochondrial permeability transition. **Neurochemistry International**, [S.L.], v. 109, p. 34-40, out. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2017.04.010>.

LEE, Ming Tatt; PENG, Wei-Hao; KAN, Hung-Wei; WU, Cheng-Chun; WANG, Deng-Wu; HO, Yu-Cheng. Neurobiology of Depression: chronic stress alters the glutamatergic system in the brain.:focusing on ampa receptor. **Biomedicines**, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 1005, 27 abr. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10051005>.

LEE, Sang Won; KIM, Seungho; CHANG, Yongmin; CHA, Hyunsil; NOESKE, Ralph; CHOI, Changho; LEE, Seung Jae. Quantification of Glutathione and Its Associated Spontaneous Neuronal Activity in Major Depressive Disorder and Obsessive-Compulsive Disorder. **Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 97, n. 3, p. 279-289, fev. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2024.08.018>.

LENG, Lige; ZHUANG, Kai; LIU, Zeyue; HUANG, Changquan; GAO, Yuehong; CHEN, Guimiao; LIN, Hui; HU, Yu; WU, Di; SHI, Meng. Menin Deficiency Leads to Depressive-like Behaviors in Mice by Modulating Astrocyte-Mediated Neuroinflammation. **Neuron**, [S.L.], v. 100, n. 3, p. 551-563, nov. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.031>.

LEON, Jesús Aguilar Diaz de; BORGES, Chad R.. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. **Journal Of Visualized Experiments**, [S.L.], n. 159, p. 1-22, 12 maio 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3791/61122>.

LEONARD, Brian; MAES, Michael. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 36, n. 2, p. 764-785, fev. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.12.005>.

LEWCZUK, Anita; ZABLOCKA, Barbara; BERESWICZ-HALLER, Małgorzata. Is Nrf2 Behind Endogenous Neuroprotection of the Hippocampal CA2-4,DG Region? **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 60, n. 3, p. 1645-1658, 22 dez. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-022-03166-x>.

LI, Mingxing; HAN, Li; XIAO, Junli; ZHANG, Song; LIU, Guangya; SUN, Xuejiao. IL-1ra treatment prevents chronic social defeat stress-induced depression-like behaviors and glutamatergic dysfunction via the upregulation of CREB-BDNF. **Journal Of Affective Disorders**, [S.L.], v. 335, p. 358-370, ago. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2023.05.049>.

LI, Shanshan; FANG, Yinquan; ZHANG, Yihe; SONG, Mengmeng; ZHANG, Xilin; DING, Xiao; YAO, Hang; CHEN, Miaomiao; SUN, Yiming; DING, Jianhua. Microglial NLRP3 inflammasome activates neurotoxic astrocytes in depression-like mice. **Cell Reports**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 111532, out. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111532>.

LI, Yang; XIE, Yuhang; XU, Yuhao; XIAN, Xian; WANG, Ranchao; CAI, Lili; LI, Guohai; LI, Yuefeng. Interleukin-6-white matter network differences explained the susceptibility to depression after stressful life events. **Journal Of Affective Disorders**, [S.L.], v. 305, p. 122-132, maio 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2022.03.003>.

LIN, Yafan; CHE, Xiangming; LI, Tianzuo. Investigation of the relationship between salivary nitrate levels and perinatal anxiety and postpartum depression. **The Journal Of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 2463402, 13 fev. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/14767058.2025.2463402>.

LIDDELOW, Shane A.; BARRES, Ben A.. Reactive Astrocytes: production, function, and therapeutic potential. **Immunity**, [S.L.], v. 46, n. 6, p. 957-967, jun. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006>.

LIDDELOW, Shane A.; GUTTENPLAN, Kevin A.; CLARKE, Laura E.; BENNETT, Frederick C.; BOHLEN, Christopher J.; SCHIRMER, Lucas; BENNETT, Mariko L.; MÜNCH, Alexandra E.; CHUNG, Won-Suk; PETERSON, Todd C.. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. **Nature**, [S.L.], v. 541, n. 7638, p. 481-487, jan. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nature21029>.

LING-HU, Ting; LIU, Shao-Bo; GAO, Yao; HAN, Yu-Mei; TIAN, Jun-Sheng; QIN, Xue-Mei. Stable Isotope-Resolved Metabolomics Reveals the Abnormal Brain Glucose Catabolism in Depression Based on Chronic Unpredictable Mild Stress Rats. **Journal Of Proteome Research**, [S.L.], v. 20, n. 7, p. 3549-3558, 2 jun. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jproteome.1c00155>.

LINNERBAUER, Mathias; WHEELER, Michael A.; QUINTANA, Francisco J.. Astrocyte Crosstalk in CNS Inflammation. **Neuron**, [S.L.], v. 108, n. 4, p. 608-622, nov. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2020.08.012>.

LIU, Celina S.; ADIBFAR, Alexander; HERRMANN, Nathan; GALLAGHER, Damien; LANCTÔT, Krista L.. Evidence for Inflammation-Associated Depression. **Inflammation-Associated Depression: Evidence, Mechanisms and Implications**, [S.L.], p. 3-30, 2016. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/7854_2016_2.

LIU, Jian; LIU, Lin; HAN, Yuan-Shan; YI, Jian; GUO, Chun; ZHAO, Hong-Qing; LING, Jia; WANG, Yu-Hong. The molecular mechanism underlying mitophagy-mediated hippocampal neuron apoptosis in diabetes-related depression. **Journal Of Cellular And Molecular Medicine**, [S.L.], v. 25, n. 15, p. 7342-7353, 2 jul. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jcmm.16763>.

LIU, Junjiao; LIU, Yueyang; MA, Wenjun; TONG, Yan; ZHENG, Jianzhong. Temporal and spatial trend analysis of all-cause depression burden based on Global Burden of Disease (GBD) 2019 study. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-17, 29 maio 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-024-62381-9>.

LIU, Qingqing; HE, Hairong; YANG, Jin; FENG, Xiaojie; ZHAO, Fanfan; LYU, Jun. Changes in the global burden of depression from 1990 to 2017: findings from the global burden of disease study. **Journal Of Psychiatric Research**, [S.L.], v. 126, p. 134-140, jul. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.08.002>.

LIU, Xiaoyu; QUAN, Ning. Microglia and CNS Interleukin-1: beyond immunological concepts. **Frontiers In Neurology**, [S.L.], v. 9, p. 1-11, 23 jan. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2018.00008>.

LIU, Zhihua; CAI, Yan; ZHANG, Xingru; ZHU, Zhuoing; HE, Jincai. High serum levels of malondialdehyde and antioxidant enzymes are associated with post-stroke anxiety. **Neurological Sciences**, [S.L.], v. 39, n. 6, p. 999-1007, 6 mar. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-018-3287-4>.

LOPES, Iardja Stéfane; OLIVEIRA, Iris Cristina Maia; CAPIBARIBE, Victor Celso Cavalcanti; VALENTIM, José Tiago; DA SILVA, Daniel Moreira Alves; DE SOUZA, Alana Gomes; DE ARAÚJO, Mariana Albuquerque; CHAVES, Raquell de Castro; GUTIERREZ, Stanley Juan Chaves; BARBOSA FILHO, José Maria; MACEDO, Danielle Silveira; DE SOUSA, Francisca Cléa Florenço. Riparin II ameliorates corticosterone-induced depressive-like behavior in mice: role of antioxidant and neurotrophic mechanisms. **Neurochemistry International**, [S.L.], v. 120, p. 33-42, nov. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2018.07.007>

LÓPEZ-VILLODRES, Juan Antonio; LACRUZ, José Pedro de; MUÑOZ-MARIN, Javier; GUERRERO, Ana; REYES, José Julio; GONZÁLEZ-CORREA, José Antonio. Cytoprotective effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs in rat brain slices subjected to reoxygenation after oxygen–glucose deprivation. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 45, n. 5, p. 624-631, abr. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2012.01.001>.

LORIMER, Ben; KELLETT, Stephen; GIESEMANN, Julia; LUTZ, Wolfgang; DELGADILLO, Jaime. An investigation of treatment return after psychological therapy for depression and anxiety. **Behavioural And Cognitive Psychotherapy**, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 149-162, 11 ago. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/s1352465823000322>.

LUCASSEN, Paul; HEINE, Vivi; MULLER, Marianne; BEEK, Eline van Der; WIEGANT, Victor; KLOET, E. Ron de; JOELS, Marian; FUCHS, Eberhard; SWAAB, Dick; CZEH, Boldizsar. Stress, Depression and Hippocampal Apoptosis. **Cns & Neurological Disorders - Drug Targets**, [S.L.], v. 5, n. 5, p. 531-546, 1 out. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/187152706778559273>.

LUCKI, Irwin; DALVI, Ashutosh; MAYORGA, Arthur. Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. **Psychopharmacology**, [S.L.], v. 155, n. 3, p. 315-322, 25 maio 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s002130100694>.

LUCON-XICCATO, Tyrone; TOMAIN, Marco; D'ANIELLO, Salvatore; BERTOLUCCI, Cristiano. Bdnf loss affects activity, sociability, and anxiety-like behaviour in zebrafish.

Behavioural Brain Research, [S.L.], v. 436, p. 114115, jan. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2022.114115>.

LUDKA, Fabiana K.; DAL-CIM, Tharine; BINDER, Luisa Bandeira; CONSTANTINO, Leandra Celso; MASSARI, Caio; TASCA, Carla I.. Atorvastatin and Fluoxetine Prevent Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction Evoked by Glutamate Toxicity in Hippocampal Slices. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 54, n. 5, p. 3149-3161, 6 abr. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-016-9882-6>.

LUO, Owen D.; KWIECIEN-DELANEY, Bryce; MARTIN, Patrick; FOSTER, Jane A.; SIDOR, Michelle M.. The effect of early life immune challenge on adult forced swim test performance and hippocampal neurogenesis. **Journal Of Neuroimmunology**, [S.L.], v. 354, p. 577530, maio 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2021.577530>.

MACGILLIVRAY, Duncan M.; KOLLMANN, Tobias R.. The Role of Environmental Factors in Modulating Immune Responses in Early Life. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 5, p. 1-12, 12 set. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2014.00434>.

MAIER, Thorsten J.; SCHIFFMANN, Susanne; WOBST, Ivonne; BIROD, Kerstin; ANGIONI, Carlo; HOFFMANN, Marika; LOPEZ, Jakob J.; GLAUBITZ, Clemens; STEINHILBER, Dieter; GEISSLINGER, Gerd. Cellular membranes function as a storage compartment for celecoxib. **Journal Of Molecular Medicine**, [S.L.], v. 87, n. 10, p. 981-993, 30 jul. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00109-009-0506-8>.

MAITLAND, Stuart; BAKER, Mark. Serotonin syndrome. **Drug And Therapeutics Bulletin**, [S.L.], v. 60, n. 6, p. 88-91, 12 maio 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/dtb.2021.000032>.

MALDONADO, Rita F.; SÁ-CORREIA, Isabel; VALVANO, Miguel A.. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. **Fems Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 480-493, 12 abr. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/femsre/fuw007>.

MALEK, Hamed; EBADZADEH, Mohammad Mehdi; SAFABAKHSH, Reza; RAZAVI, Alireza; ZARINGHALAM, Jalal. Dynamics of the HPA axis and inflammatory cytokines: insights from mathematical modeling. **Computers In Biology And Medicine**, [S.L.], v. 67, p. 1-12, dez. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compbiomed.2015.09.018>.

MALLMANN, Auriana Serra Vasconcelos; OLIVEIRA, Iris Cristina Maia; CAPIBARIBE, Victor Celso Cavalcanti; LOPES, Iardja Stéfane; LOPES, Vitória Karoline Silva; SILVA, Daniel Moreira Alves da; VALENTIM, José Tiago; CHAVES, Raquell de Castro; FERNANDES, Mariana Lima; DE SOUSA, Francisca Cléa Florenço. Is Riparin III a promising drug in the treatment for depression? **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 162, p. 105824, jul. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105824>.

MARIANI, Nicole; EVERSON, James; PARIANTE, Carmine M; BORSINI, Alessandra. Modulation of microglial activation by antidepressants. **Journal Of Psychopharmacology**, [S.L.], v. 36, n. 2, p. 131-150, 29 jan. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/02698811211069110>.

MARINI, Stefano; BERARDIS, Domenico de; VELLANTE, Federica; SANTACROCE, Rita; ORSOLINI, Laura; VALCHERA, Alessandro; GIRINELLI, Gabriella; CARANO, Alessandro; FORNARO, Michele; GAMBI, Francesco. Celecoxib Adjunctive Treatment to Antipsychotics in Schizophrenia: a review of randomized clinical add-on trials. **Mediators Of Inflammation**, [S.L.], v. 2016, p. 1-8, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3476240>.

MATSUURA, Sumire; NISHIMOTO, Yuki; ENDO, Akane; SHIRAKI, Hirono; SUZUKI, Kanzo; SEGI-NISHIDA, Eri. Hippocampal Inflammation and Gene Expression Changes in Peripheral Lipopolysaccharide Challenged Mice Showing Sickness and Anxiety-Like Behaviors. **Biological And Pharmaceutical Bulletin**, [S.L.], v. 46, n. 9, p. 1176-1183, 1 set. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.b22-00729>.

MCEWEN, Bruce S.; EILAND, Lisa; HUNTER, Richard G.; MILLER, Melinda M.. Stress and anxiety: structural plasticity and epigenetic regulation as a consequence of stress. **Neuropharmacology**, [S.L.], v. 62, n. 1, p. 3-12, jan. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.07.014>.

MCINTYRE, Roger S.; ALSUWAIDAN, Mohammad; BAUNE, Bernhard T.; BERK, Michael; DEMYTTEAERE, Koen; GOLDBERG, Joseph F.; GORWOOD, Philip; HO, Roger; KASPER, Siegfried; KENNEDY, Sidney H.. Treatment-resistant depression: definition, prevalence, detection, management, and investigational interventions. **World Psychiatry**, [S.L.], v. 22, n. 3, p. 394-412, 15 set. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/wps.21120>.

MCINTYRE, Roger S.; ROSENBLAT, Joshua D.; NEMEROFF, Charles B.; SANACORA, Gerard; MURROUGH, James W.; BERK, Michael; BRIETZKE, Elisa; DODD, Seetal; GORWOOD, Philip; HO, Roger. Synthesizing the Evidence for Ketamine and Esketamine in Treatment-Resistant Depression: an international expert opinion on the available evidence and implementation. **American Journal Of Psychiatry**, [S.L.], v. 178, n. 5, p. 383-399, 1 maio 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.20081251>.

MEHERALI, Salima; PUNJANI, Neelam; LOUIE-POON, Samantha; RAHIM, Komal Abdul; DAS, Jai K.; SALAM, Rehana A.; LASSI, Zohra S.. Mental Health of Children and Adolescents Amidst COVID-19 and Past Pandemics: a rapid systematic review. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 18, n. 7, p. 3432, 26 mar. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph18073432>.

MEHTEROV, Nikolay; MINCHEV, Danail; GEVEZOVA, Maria; SARAFIAN, Victoria; MAES, Michael. Interactions Among Brain-Derived Neurotrophic Factor and Neuroimmune Pathways Are Key Components of the Major Psychiatric Disorders. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 59, n. 8, p. 4926-4952, 3 jun. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-022-02889-1>.

MELLO, Bruna Stefânia Ferreira; CHAVES FILHO, Adriano José Maia; CUSTÓDIO, Charllyany Sabino; RODRIGUES, Patrícia de Araújo; CARLETTI, Jaqueline V.; VASCONCELOS, Silvânia Maria Mendes; SOUSA, Francisca Cléa Florenço de; SANDERS, Lia Lira Olivier; MACEDO, Danielle S.. Doxycycline at subantimicrobial dose combined with escitalopram reverses depressive-like behavior and neuroinflammatory hippocampal

alterations in the lipopolysaccharide model of depression. **Journal Of Affective Disorders**, [S.L.], v. 292, p. 733-745, set. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2021.05.083>.

MHILLAJ, Emanuela; MORGSESE, Maria Grazia; TUCCI, Paolo; FURIANO, Anna; LUONGO, Livio; BOVE, Maria; MAIONE, Sabatino; CUOMO, Vincenzo; SCHIAVONE, Stefania; TRABACE, Luigia. Celecoxib Prevents Cognitive Impairment and Neuroinflammation in Soluble Amyloid β -treated Rats. **Neuroscience**, [S.L.], v. 372, p. 58-73, fev. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.12.046>.

MHILLAJ, Emanuela; PAPI, Massimiliano; PACIELLO, Fabiola; SILVESTRINI, Andrea; ROLESI, Rolando; PALMIERI, Valentina; PERINI, Giordano; FETONI, Anna Rita; TRABACE, Luigia; MANCUSO, Cesare. Celecoxib Exerts Neuroprotective Effects in β -Amyloid-Treated SH-SY5Y Cells Through the Regulation of Heme Oxygenase-1: novel insights for an old drug. **Frontiers In Cell And Developmental Biology**, [S.L.], v. 8, p. 1-14, 29 set. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2020.561179>.

MILENKOVIC, Vladimir M.; STANTON, Evan H.; NOTHDURFTER, Caroline; RUPPRECHT, Rainer; WETZEL, Christian H.. The Role of Chemokines in the Pathophysiology of Major Depressive Disorder. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 9, p. 2283, 9 maio 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20092283>.

MORELLA, Ilaria M.; BRAMBILLA, Riccardo; MORÈ, Lorenzo. Emerging roles of brain metabolism in cognitive impairment and neuropsychiatric disorders. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 142, p. 104892, nov. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104892>.

MORGAN, Amanda; GAULDEN, Andrew; ALTEMUS, Megan; WILLIFORD, Kellie; CENTANNI, Samuel; WINDER, Danny; PATEL, Sachin. Cyclooxygenase-2 inhibition prevents stress induced amygdala activation and anxiety-like behavior. **Brain, Behavior, And Immunity**, [S.L.], v. 89, p. 513-517, out. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2020.07.046>.

MORRIS, Gerwyn; BERK, Michael; KLEIN, Hans; WALDER, Ken; GALECKI, Piotr; MAES, Michael. Nitrosative Stress, Hypernitrosylation, and Autoimmune Responses to Nitrosylated Proteins: new pathways in neuroprogressive disorders including depression and chronic fatigue syndrome. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 54, n. 6, p. 4271-4291, 23 jun. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-016-9975-2>.

MUNSHI, Soumyabrata; LOH, Maxine K.; FERRARA, Nicole; DEJOSEPH, M. Regina; RITGER, Alexandra; PADIVAL, Mallika; RECORD, Matthew J.; URBAN, Janice H.; ROSENKRANZ, J. Amiel. Repeated stress induces a pro-inflammatory state, increases amygdala neuronal and microglial activation, and causes anxiety in adult male rats. **Brain, Behavior, And Immunity**, [S.L.], v. 84, p. 180-199, fev. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2019.11.023>.

MUNSHI, Soumyabrata; PARRILLI, Victoria; ROSENKRANZ, J. Amiel. Peripheral anti-inflammatory cytokine Interleukin-10 treatment mitigates interleukin-1 β - induced anxiety and sickness behaviors in adult male rats. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 372, p. 112024, out. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112024>.

MURPHY-ROYAL, Ciaran; GORDON, Grant R.; BAINS, Jaideep S.. Stress-induced structural and functional modifications of astrocytes—Further implicating glia in the central response to stress. **Glia**, [S.L.], v. 67, n. 10, p. 1806-1820, 19 mar. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/glia.23610>.

NAPORA, Paweł; KOBRZYCKA, Anna; PIERZCHAŁA-KOZIEC, Krystyna; WIECZOREK, Marek. Effect of selective cyclooxygenase inhibitors on animal behaviour and monoaminergic systems of the rat brain. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 438, p. 114143, fev. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2022.114143>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 2662, Celecoxib. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Celecoxib>. Acesso em: 25 maio 2025.
NIRaula, Anzela; WITCHER, Kristina G.; SHERIDAN, John F.; GODBOUT, Jonathan P.. Interleukin-6 Induced by Social Stress Promotes a Unique Transcriptional Signature in the Monocytes That Facilitate Anxiety. **Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 85, n. 8, p. 679-689, abr. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.09.030>.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. *Guide for the care and use of laboratory animals*. 8th ed. Washington, DC: National Academies Press, 2011. DOI: <https://doi.org/10.17226/12910>.

NISSEN, Steven E.; YEOMANS, Neville D.; SOLOMON, Daniel H.; LÜSCHER, Thomas F.; LIBBY, Peter; HUSNI, M. Elaine; GRAHAM, David Y.; BORER, Jeffrey S.; WISNIEWSKI, Lisa M.; WOLSKI, Katherine E.. Cardiovascular Safety of Celecoxib, Naproxen, or Ibuprofen for Arthritis. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 375, n. 26, p. 2519-2529, 29 dez. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1611593>.

OBATA, Hideaki. Analgesic Mechanisms of Antidepressants for Neuropathic Pain. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 18, n. 11, p. 2483, 21 nov. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18112483>.

O'CONNOR, Jason C.; ANDRÉ, Caroline; WANG, Yunxia; LAWSON, Marcus A.; SZEGEDI, Sandra S.; LESTAGE, Jacques; CASTANON, Nathalie; KELLEY, Keith W.; DANTZER, Robert. Interferon- γ and Tumor Necrosis Factor- α Mediate the Upregulation of Indoleamine 2,3-Dioxygenase and the Induction of Depressive-Like Behavior in Mice in Response to Bacillus Calmette-Guérin. **The Journal Of Neuroscience**, [S.L.], v. 29, n. 13, p. 4200-4209, 1 abr. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.5032-08.2009>.

O'DONOVAN, Aoife; HUGHES, Brian M.; SLAVICH, George M.; LYNCH, Lydia; CRONIN, Marie-Therese; O'FARRELLY, Cliona; MALONE, Kevin M.. Clinical anxiety, cortisol and interleukin-6: evidence for specificity in emotion and biology relationships. **Brain, Behavior, And Immunity**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 1074-1077, out. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2010.03.003>.

OGURA, Toshihiko. High-Contrast Observation of Unstained Proteins and Viruses by Scanning Electron Microscopy. **Plos One**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 46904, 8 out. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0046904>.

O'LEARY, Liam Anuj; MECHAWAR, Naguib. Implication of cerebral astrocytes in major depression: a review of fine neuroanatomical evidence in humans. **Glia**, [S.L.], v. 69, n. 9, p. 2077-2099, 18 mar. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/glia.23994>.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (Ge) (org.). **Depressive disorder (depression)**. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>. Acesso em: 23 fev. 2024.

OSIMO, Emanuele F.; PILLINGER, Toby; RODRIGUEZ, Irene Mateos; KHANDAKER, Golam M.; PARIANTE, Carmine M.; HOWES, Oliver D.. Inflammatory markers in depression: a meta-analysis of mean differences and variability in 5,166 patients and 5,083 controls. **Brain, Behavior, And Immunity**, [S.L.], v. 87, p. 901-909, jul. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2020.02.010>.

OTTE, Christian; GOLD, Stefan M.; PENNINX, Brenda W.; PARIANTE, Carmine M.; ETKIN, Amit; FAVA, Maurizio; MOHR, David C.; SCHATZBERG, Alan F.. Major depressive disorder. **Nature Reviews Disease Primers**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 1-20, 15 set. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2016.65>.

PALTA, Priya; SAMUEL, Laura J.; MILLER, Edgar R.; SZANTON, Sarah L.. Depression and Oxidative Stress. **Psychosomatic Medicine**, [S.L.], v. 76, n. 1, p. 12-19, jan. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/psy.0000000000000009>.

PANDEY, Ghanshyam N.; DWIVEDI, Yogesh; RIZAVI, Hooriyah S.; REN, Xinguo; ZHANG, Hui; PAVULURI, Mani N.. Brain-derived neurotrophic factor gene and protein expression in pediatric and adult depressed subjects. **Progress In Neuro-Psychopharmacology And Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 34, n. 4, p. 645-651, maio 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.03.003>.

PAN, Zihang; PARK, Caroline; BRIETZKE, Elisa; ZUCKERMAN, Hannah; RONG, Carola; MANSUR, Rodrigo B.; FUS, Dominika; SUBRAMANIAPILLAI, Mehala; LEE, Yena; MCINTYRE, Roger S.. Cognitive impairment in major depressive disorder. **CNS Spectrums**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 22-29, 23 nov. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/s1092852918001207>.

PAPAGEORGIOU, Maria P.; FILIOU, Michaela D.. Mitochondrial dynamics and psychiatric disorders: the missing link. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 165, p. 105837, out. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2024.105837>.

PAPASTERGIADIS, Antonios; MUBIRU, Edward; VAN LANGENHOVE, Herman; MEULENAER, Bruno de. Malondialdehyde Measurement in Oxidized Foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 60, n. 38, p. 9589-9594, 17 set. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf302451c>.

PARK, Lawrence T.; ZARATE, Carlos A.. Depression in the Primary Care Setting. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 380, n. 6, p. 559-568, 7 fev. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmcp1712493>.

PARK, Sung Ho; PARK-MIN, Kyung-Hyun; CHEN, Janice; HU, Xiaoyu; IVASHKIV, Lionel B. Tumor necrosis factor induces GSK3 kinase-mediated cross-tolerance to endotoxin in macrophages. **Nature Immunology**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 607-615, 22 maio 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ni.2043>.

PATIL, Chandragauda R.; GAWLI, Chandrakant Suryakant; BHATT, Shvetank. Targeting inflammatory pathways for treatment of the major depressive disorder. **Drug Discovery Today**, [S.L.], v. 28, n. 9, p. 103697, set. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103697>.

PEIRCE, Jason M.; ALVIÑA, Karina. The role of inflammation and the gut microbiome in depression and anxiety. **Journal Of Neuroscience Research**, [S.L.], v. 97, n. 10, p. 1223-1241, 29 maio 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.24476>.

PELLOW, Sharon; CHOPIN, Philippe; FILE, Sandra E.; BRILEY, Mike. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal Of Neuroscience Methods**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 149-167, ago. 1985. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7).

PEREZ-CABALLERO, L.; TORRES-SANCHEZ, S.; ROMERO-LÓPEZ-ALBERCA, C.; GONZÁLEZ-SAIZ, F.; MICO, J. A.; BERROCOSO, Esther. Monoaminergic system and depression. **Cell And Tissue Research**, [S.L.], v. 377, n. 1, p. 107-113, 10 jan. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00441-018-2978-8>.

PIALOUX, Vincent; POULIN, Marc J.; HEMMELGARN, Brenda R.; MURUVE, Daniel A.; CHIRICO, Erica N.; FAES, Camille; SOLA, Darlene Y.; AHMED, Sofia B.. Cyclooxygenase-2 Inhibition Limits Angiotensin II-Induced DNA Oxidation and Protein Nitration in Humans. **Frontiers In Physiology**, [S.L.], v. 8, p. 1-8, 10 mar. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2017.00138>.

PINILLA, Marta Suárez; STONER, Charlotte R.; KNAPP, Martin; NACHEV, Parashkev; ROSSOR, Martin. The Cognitive Footprint of Medication Use. **Brain And Behavior**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-16, jan. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/brb3.70200>.

PISULA, Wojciech; MODLINSKA, Klaudia; GONCIKOWSKA, Katarzyna; CHRZANOWSKA, Anna. Can the Hole-Board Test Predict a Rat's Exploratory Behavior in a Free-Exploration Test? **Animals**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 1068, 9 abr. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ani11041068>.

PITTINGER, Christopher; DUMAN, Ronald s. Stress, Depression, and Neuroplasticity: a convergence of mechanisms. **Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 88-109, 12 set. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1301574>.

PORSOLT, Roger D.; BERTIN, Anne; JALFRE, Maurice. "Behavioural despair" in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. **European Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 291-294, out. 1978. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0014-2999\(78\)90414-4](http://dx.doi.org/10.1016/0014-2999(78)90414-4).

PÖYHÖNEN, Suvit; ER, Safak; DOMANSKYI, Andrii; AIRAVAARA, Mikko. Effects of Neurotrophic Factors in Glial Cells in the Central Nervous System: expression and properties

in neurodegeneration and injury. **Frontiers In Physiology**, [S.L.], v. 10, p. 1-20, 26 abr. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2019.00486>.

PRIMO, Maria João; FONSECA-RODRIGUES, Diana; ALMEIDA, Armando; TEIXEIRA, Pedro M.; PINTO-RIBEIRO, Filipa. Sucrose preference test: a systematic review of protocols for the assessment of anhedonia in rodents. **European Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 77, p. 80-92, dez. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2023.08.496>.

PYRKO, Peter; KARDOSH, Adel; SCHÖNTHAL, Axel H.. Celecoxib transiently inhibits cellular protein synthesis. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 75, n. 2, p. 395-404, jan. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.029>.

QUESSEVEUR, Gaël; GARDIER, Alain; GUIARD, Bruno. The Monoaminergic Tripartite Synapse: a putative target for currently available antidepressant drugs. **Current Drug Targets**, [S.L.], v. 14, n. 11, p. 1277-1294, 1 set. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/13894501113149990209>.

RAMAZANI, Elham; TAYARANI-NAJARAN, Zahra; FEREIDONI, Masoud. Celecoxib, indomethacin and ibuprofen prevent 6-hydroxydopamine-induced PC12 cell death through the inhibition of NF κ B and SAPK/JNK pathways. **Iranian Journal Of Basic Medical Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 1-8, maio 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.22038/ijbms.2019.34011.8091>.

REIF, Andreas; BITTER, Istvan; BUYZE, Jozefien; CEBULLA, Kerstin; FREY, Richard; FU, Dong-Jing; ITO, Tetsuro; KAMBAROV, Yerkebulan; LLORCA, Pierre-Michel; OLIVEIRA-MAIA, Albino J.. Esketamine Nasal Spray versus Quetiapine for Treatment-Resistant Depression. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 389, n. 14, p. 1298-1309, 5 out. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa2304145>.

REMES, Olivia; WAINWRIGHT, Nicholas; SURTEES, Paul; LAFORTUNE, Louise; KHAW, Kay-Tee; BRAYNE, Carol. Generalised anxiety disorder and hospital admissions: findings from a large, population cohort study. **BMJ Open**, [S.L.], v. 8, n. 10, p. 018539, out. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018539>.

RÉUS, Gislaine Z.; MANOSSO, Luana.M.; QUEVEDO, João; CARVALHO, André F.. Major depressive disorder as a neuro-immune disorder: origin, mechanisms, and therapeutic opportunities. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 155, p. 105425, dez. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105425>.

RÉUS, Gislaine Z.; NACIF, Marcos Paulo; ABELAIRA, Helena M.; TOMAZ, Débora B.; SANTOS, Maria Augusta B. dos; CARLESSI, Anelise S.; LUZ, Jaine R. da; GONÇALVES, Renata C.; VUOLO, Francieli; DAL-PIZZOL, Felipe. Ketamine ameliorates depressive-like behaviors and immune alterations in adult rats following maternal deprivation. **Neuroscience Letters**, [S.L.], v. 584, p. 83-87, jan. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.022>.

RÉUS, Gislaine Z.; SILVA, Ritele H.; MOURA, Airam B. de; PRESA, Jaqueline F.; ABELAIRA, Helena M.; ABATTI, Mariane; VIEIRA, Andriele; PESCADOR, Bruna; MICHELS, Monique; IGNÁCIO, Zuleide M.. Early Maternal Deprivation Induces Microglial Activation, Alters Glial Fibrillary Acidic Protein Immunoreactivity and Indoleamine 2,3-

Dioxygenase during the Development of Offspring Rats. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 56, n. 2, p. 1096-1108, 5 jun. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-018-1161-2>.

RICKELS, Karl; SHIOVITZ, Thomas M.; RAMEY, Tanya S.; WEAVER, Jerry J.; KNAPP, Lloyd E.; MICELI, Jeffrey J.. Adjunctive therapy with pregabalin in generalized anxiety disorder patients with partial response to SSRI or SNRI treatment. **International Clinical Psychopharmacology**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 142-150, maio 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/yic.0b013e328350b133>.

RIEGER, Aja M.; NELSON, Kimberly L.; KONOWALCHUK, Jeffrey D.; BARREDA, Daniel R.. Modified Annexin V/Propidium Iodide Apoptosis Assay For Accurate Assessment of Cell Death. **Journal Of Visualized Experiments**, [S.L.], n. 50, p. 2597, 24 abr. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.3791/2597>.

ROBINSON, Oliver J; PIKE, Alexandra C; CORNWELL, Brian; GRILLON, Christian. The translational neural circuitry of anxiety. **Journal Of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, [S.L.], p. 1353-1360, 29 jun. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp-2019-321400>.

ROBLES, Vanesa; RIESCO, Marta F.; MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, Juan M.; VALCARCE, David G.. Flow Cytometry and Confocal Microscopy for ROS Evaluation in Fish and Human Spermatozoa. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 93-102, 29 ago. 2020. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-0716-0896-8_8.

ROCHFORT, Keith D.; COLLINS, Laura E.; MURPHY, Ronan P.; CUMMINS, Philip M.. Downregulation of Blood-Brain Barrier Phenotype by Proinflammatory Cytokines Involves NADPH Oxidase-Dependent ROS Generation: consequences for interendothelial adherens and tight junctions. **Plos One**, [S.L.], v. 9, n. 7, p. 101815, 3 jul. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0101815>.

ROY-BYRNE, Peter. Treatment-refractory anxiety; definition, risk factors, and treatment challenges. **Dialogues In Clinical Neuroscience**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 191-206, 30 jun. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.31887/dcns.2015.17.2/probyrne>.

RUEGSEGGER, Gregory N.; VANDERBOOM, Patrick M.; DASARI, Surendra; KLAUS, Katherine A.; KABIRAJ, Parijat; MCCARTHY, Christina B.; LUCCHINETTI, Claudia F.; NAIR, K. Sreekumaran. Exercise and metformin counteract altered mitochondrial function in the insulin-resistant brain. **Jci Insight**, [S.L.], v. 4, n. 18, p. 1-18, 19 set. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1172/jci.insight.130681>.

RUSSO, Scott J.; NESTLER, Eric J.. The brain reward circuitry in mood disorders. **Nature Reviews Neuroscience**, [S.L.], v. 14, n. 9, p. 609-625, 14 ago. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3381>.

SĂLCUDEAN, Andreea; POPOVICI, Ramona-Amina; PITIC, Dana Emanuela; SÂRBU, Diana; BOROGHINA, Adela; JOMAA, Mohammad; SALEHI, Matin Asad; KHER, Alsayed Ahmad Mhd; LICA, Maria Melania; BODO, Cristina Raluca. Unraveling the Complex Interplay Between Neuroinflammation and Depression: a comprehensive review. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 1645, 14 fev. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms26041645>.

SAHA, Sukanta; LIM, Carmen C. W.; CANNON, Danielle L.; BURTON, Lucinda; BREMNER, Monique; COSGROVE, Peter; HUO, Yan; MCGRATH, John. Co-morbidity between mood and anxiety disorders: a systematic review and meta :analysis. **Depression And Anxiety**, [S.L.], v. 38, n. 3, p. 286-306, 22 nov. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/da.23113>.

SANGARAN, Pushpa Gandi; IBRAHIM, Zaridatul Aini; CHIK, Zamri; MOHAMED, Zahirin; AHMADIANI, Abolhassan. Lipopolysaccharide Pre-conditioning Attenuates Pro-inflammatory Responses and Promotes Cytoprotective Effect in Differentiated PC12 Cell Lines via Pre-activation of Toll-Like Receptor-4 Signaling Pathway Leading to the Inhibition of Caspase-3/Nuclear Factor- κ B Pathway. **Frontiers In Cellular Neuroscience**, [S.L.], v. 14, p. 1-29, 22 jan. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fncel.2020.598453>.

SARTER, Martin; BODEWITZ, Geert; STEPHENS, David N.. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist β -carbolines. **Psychopharmacology**, [S.L.], v. 94, n. 4, p. 491-495, abr. 1988. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00212843>.

SAYYAH, Mehdi; BOOSTANI, Hatam; PAKSERESHT, Siroos; MALAYERI, Alireza. A preliminary randomized double-blind clinical trial on the efficacy of celecoxib as an adjunct in the treatment of obsessive-compulsive disorder. **Psychiatry Research**, [S.L.], v. 189, n. 3, p. 403-406, out. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2011.01.019>.

SCHMAAL, L; VELTMAN, D J; VAN ERP, T G M; SÄMANN, P G; FRODL, T; JAHANSHAD, N; LOEHRER, E; TIEMEIER, H; A HOFMAN,. Subcortical brain alterations in major depressive disorder: findings from the enigma major depressive disorder working group. **Molecular Psychiatry**, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 806-812, 30 jun. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2015.69>.

SCHNEIDER, Joanne; PATTERSON, Mary; JIMENEZ, Xavier F.. Beyond depression: other uses for tricyclic antidepressants. **Cleveland Clinic Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 86, n. 12, p. 807-814, dez. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.3949/ccjm.86a.19005>.

SEIBENHENER, Michael L.; WOOTEN, Michael C.. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. **Journal Of Visualized Experiments**, [S.L.], n. 96, p. 52434, 6 fev. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.3791/52434>.

SEMINOTTI, Bianca; AMARAL, Alexandre Umpierrez; GRINGS, Mateus; RIBEIRO, César Augusto João; LEIPNITZ, Guilhian; WAJNER, Moacir. Lipopolysaccharide-Elicited Systemic Inflammation Induces Selective Vulnerability of Cerebral Cortex and Striatum of Developing Glutaryl-CoA Dehydrogenase Deficient (GCDH $^{-/-}$) Mice to Oxidative Stress. **Neurotoxicity Research**, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 1024-1036, 1 out. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12640-020-00291-0>.

SCHIRMBECK, Gabriel Henrique; SEADY, Marina; FRÓES, Fernanda Telles; TADAY, Jéssica; RÉ, Carollina da; SOUZA, Jéssica Maria; GONÇALVES, Carlos Alberto; LEITE, Marina Concli. Long-term LPS systemic administration leads to memory impairment and disturbance in astrocytic homeostasis. **Neurotoxicology**, [S.L.], v. 99, p. 322-331, dez. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2023.11.009>.

SCHWARCZ, Robert; BRUNO, John P.; MUCHOWSKI, Paul J.; WU, Hui-Qiu. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. **Nature Reviews Neuroscience**, [S.L.], v. 13, n. 7, p. 465-477, 8 jun. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3257>.

SHADRINA, Maria; BONDARENKO, Elena A.; SLOMINSKY, Petr A.. Genetics Factors in Major Depression Disease. **Frontiers In Psychiatry**, [S.L.], v. 9, p. 1-18, 23 jul. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpsyg.2018.00334>.

SHIRAYAMA, Yukihiko; YANG, Chun; ZHANG, Ji-Chun; REN, Qian; YAO, Wei; HASHIMOTO, Kenji. Alterations in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its precursor proBDNF in the brain regions of a learned helplessness rat model and the antidepressant effects of a TrkB agonist and antagonist. **European Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 25, n. 12, p. 2449-2458, dez. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.09.002>.

SHOREY, Shefaly; NG, Esperanza Debby; WONG, Celine H. J.. Global prevalence of depression and elevated depressive symptoms among adolescents: a systematic review and meta :analysis. **British Journal Of Clinical Psychology**, [S.L.], v. 61, n. 2, p. 287-305, 26 set. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/bjcp.12333>.

SHU, Xiaodong; SUN, Yiming; SUN, Xiyang; ZHOU, Yuanzhang; BIAN, Yaqi; SHU, Zhaoma; DING, Jianhua; LU, Ming; HU, Gang. The effect of fluoxetine on astrocyte autophagy flux and injured mitochondria clearance in a mouse model of depression. **Cell Death & Disease**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 1-16, 2 ago. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-019-1813-9>.

SIL, Susmita; GHOSH, Tusharkanti. Role of cox-2 mediated neuroinflammation on the neurodegeneration and cognitive impairments in colchicine induced rat model of Alzheimer's Disease. **Journal Of Neuroimmunology**, [S.L.], v. 291, p. 115-124, fev. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.12.003>.

SILVA, Daniel Moreira Alves da; SALES, Iardja Stéfane Lopes; OLIVEIRA, João Victor Souza; DOS SANTOS JÚNIOR, Manuel Alves; REBOUÇAS, Manoela de Oliveira; VALENTIM, José Tiago; VALE, Larice de Carvalho; CAPIBARIBE, Victor Celso Cavalcanti; DE CARVALHO, Michele Albuquerque Jales; DE AQUINO, Pedro Everson Alexandre; MACÊDO, Danielle Silveira; DE SOUSA, Francisca Cléa Florenço. Cyclooxygenase-2 inhibitors alleviated depressive and anxious-like behaviors in mice exposed to lipopolysaccharide: involvement of oxidative stress and neuroinflammation. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [S.L.], v. 240, p. 173778, jul. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2024.173778>.

SILVERMAN, Joel J.; GALANTER, Marc; JACKSON-TRICHE, Maga; JACOBS, Douglas G.; LOMAX, James W.; RIBA, Michelle B.; TONG, Lowell D.; WATKINS, Katherine E.; FOCHTMANN, Laura J.; RHOADS, Richard S.. The American Psychiatric Association Practice Guidelines for the Psychiatric Evaluation of Adults. **American Journal Of Psychiatry**, [S.L.], v. 172, n. 8, p. 798-802, ago. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.2015.1720501>.

SIMEONOVA, Denitsa; STOYANOV, Drozdstoy; LEUNIS, Jean-Claude; MURDJЕVA, Marianna; MAES, Michael. Construction of a nitro-oxidative stress-driven, mechanistic model of mood disorders: a nomothetic network approach. **Nitric Oxide**, [S.L.], v. 106, p. 45-54, jan. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2020.11.001>.

SIMON, Lee S.; WEAVER, Arthur L.; GRAHAM, David Y.; KIVITZ, Alan J.; LIPSKY, Peter E.; HUBBARD, Richard C.; ISAKSON, Peter C.; VERBURG, Kenneth M.; YU, Shawn S.; ZHAO, William W.. Anti-inflammatory and Upper Gastrointestinal Effects of Celecoxib in Rheumatoid Arthritis. **Jama**, [S.L.], v. 282, n. 20, p. 1921, 24 nov. 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.282.20.1921>.

SIPAHI, Hande; MAT, Ayse Feruze; OZHAN, Yagmur; AYDIN, Ahmet. The Interrelation between Oxidative Stress, Depression and Inflammation through the Kynurenine Pathway. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 23, n. 6, p. 415-425, mar. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1568026623666221223111309>.

SKANDALI, Nikolina; ROWE, James B.; VOON, Valerie; DEAKIN, Julia B.; CARDINAL, Rudolf N.; CORMACK, Francesca; PASSAMONTI, Luca; BEVAN-JONES, William R.; REGENTHAL, Ralf; CHAMBERLAIN, Samuel R.. Dissociable effects of acute SSRI (escitalopram) on executive, learning and emotional functions in healthy humans. **Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 43, n. 13, p. 2645-2651, 26 set. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41386-018-0229-z>.

SMITH-APELDOORN, Sanne y; VERAART, Jolien Ke; SPIJKER, Jan; KAMPHUIS, Jeanine; A SCHOEVERS, Robert. Maintenance ketamine treatment for depression: a systematic review of efficacy, safety, and tolerability. **The Lancet Psychiatry**, [S.L.], v. 9, n. 11, p. 907-921, nov. 2022. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s2215-0366\(22\)00317-0](http://dx.doi.org/10.1016/s2215-0366(22)00317-0).

SOCHAL, Marcin; DITMER, Marta; GABRYELSKA, Agata; BIAŁASIEWICZ, Piotr. The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Immune-Related Diseases: a narrative review. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 20, p. 6023, 12 out. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm11206023>.

SOFRONIEW, Michael V.. Astrocyte Reactivity: subtypes, states, and functions in CNS innate immunity. **Trends In Immunology**, [S.L.], v. 41, n. 9, p. 758-770, set. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2020.07.004>.

SOLOMON, Daniel H.; HUSNI, M. Elaine; WOLSKI, Katherine E.; WISNIEWSKI, Lisa M.; BORER, Jeffrey S.; GRAHAM, David Y.; LIBBY, Peter; LINCOFF, A. Michael; LÜSCHER, Thomas F.; MENON, Venu. Differences in Safety of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs in Patients With Osteoarthritis and Patients With Rheumatoid Arthritis. **Arthritis & Rheumatology**, [S.L.], v. 70, n. 4, p. 537-546, 29 mar. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.40400>.

SOMINSKY, Luba; FULLER, Erin A.; BONDARENKO, Evgeny; ONG, Lin Kooi; AVERELL, Lee; NALIVAIKO, Eugene; DUNKLEY, Peter R.; DICKSON, Phillip W.; HODGSON, Deborah M.. Functional Programming of the Autonomic Nervous System by Early Life Immune Exposure: implications for anxiety. **Plos One**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 57700, 6 mar. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0057700>.

SOORIAKUMARAN, P. COX-2 inhibitors and the heart: are all coxibs the same?. **Postgraduate Medical Journal**, [S.L.], v. 82, n. 966, p. 242-245, 1 abr. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/pgmj.2005.042234>.

STRAWBRIDGE, R.; ARNONE, D.; DANESE, A.; PAPADOPoulos, A.; VIVES, A. Herane; CLEARE, A.J.. Inflammation and clinical response to treatment in depression: a meta-analysis. **European Neuropsychopharmacology**, [S.L.], v. 25, n. 10, p. 1532-1543, out. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.06.007>.

STRAWN, Jeffrey R.; GERACIOTI, Laura; RAJDEV, Neil; CLEMENZA, Kelly; LEVINE, Amir. Pharmacotherapy for generalized anxiety disorder in adult and pediatric patients: an evidence-based treatment review. **Expert Opinion On Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 19, n. 10, p. 1057-1070, 3 jul. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/14656566.2018.1491966>.

STREKALOVA, Tatyana; PAVLOV, Dmitrii; TROFIMOV, Alexander; ANTHONY, Daniel C.; SVISTUNOV, Andrei; PROSHIN, Andrey; UMRIUKHIN, Aleksei; LYUNDUP, Alexei; LESCH, Klaus-Peter; CESPUGLIO, Raymond. Hippocampal Over-Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) Is Associated with Susceptibility to Stress-Induced Anhedonia in Mice. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 2061, 13 fev. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23042061>.

STURMAN, Oliver; GERMAIN, Pierre-Luc; BOHACEK, Johannes. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. **Stress**, [S.L.], v. 21, n. 5, p. 443-452, 16 fev. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/10253890.2018.1438405>.

SUGAMA, Shuei; TAKENOUCHI, Takato; FUJITA, Masayo; KITANI, Hiroshi; HASHIMOTO, Makoto. Cold stress induced morphological microglial activation and increased IL-1 β expression in astroglial cells in rat brain. **Journal Of Neuroimmunology**, [S.L.], v. 233, n. 1-2, p. 29-36, abr. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.11.002>.

SUGAMA, S.; TAKENOUCHI, T.; SEKIYAMA, K.; KITANI, H.; HASHIMOTO, M.. Immunological responses of astroglia in the rat brain under acute stress: interleukin 1 beta co-localized in astroglia. **Neuroscience**, [S.L.], v. 192, p. 429-437, set. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.06.051>.

SUNG, Yun-Hee; SHIN, Mal-Soon; CHO, Sehyung; BAIK, Hyung-Hwan; JIN, Byung-Kwan; CHANG, Hyun-Kyung; LEE, Eun-Kyu; KIM, Chang-Ju. Depression-like state in maternal rats induced by repeated separation of pups is accompanied by a decrease of cell proliferation and an increase of apoptosis in the hippocampus. **Neuroscience Letters**, [S.L.], v. 470, n. 1, p. 86-90, fev. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2009.12.063>.

SURIN, A. M.; SHARIPOV, R. R.; KRASIL'NIKOVA, I. A.; BOYARKIN, D. P.; LISINA, O. Yu.; GORBACHEVA, L. R.; AVETISYAN, A. V.; PINELIS, V. G.. Disruption of functional activity of mitochondria during MTT assay of viability of cultured neurons. **Biochemistry (Moscow)**, [S.L.], v. 82, n. 6, p. 737-749, jun. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1134/s0006297917060104>.

SWEENEY, Melanie D.; ZHAO, Zhen; MONTAGNE, Axel; NELSON, Amy R.; ZLOKOVIC, Berislav V.. Blood-Brain Barrier: from physiology to disease and back.

Physiological Reviews, [S.L.], v. 99, n. 1, p. 21-78, 1 jan. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00050.2017>.

SZALARDY, Levente; ZADORI, Denes; TOLDI, Jozsef; FULOP, Ferenc; KLIVENYI, Peter; VECSEI, Laszlo. Manipulating Kynurenic Acid Levels in the Brain – On the Edge Between Neuroprotection and Cognitive Dysfunction. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 12, n. 16, p. 1797-1806, 13 nov. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1568026611209061797>.

TANG, Ming-Ming; LIN, Wen-Juan; PAN, Yu-Qin; GUAN, XI-Ting; LI, Ying-Cong. Hippocampal neurogenesis dysfunction linked to depressive-like behaviors in a neuroinflammation induced model of depression. **Physiology & Behavior**, [S.L.], v. 161, p. 166-173, jul. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.04.034>.

TING, Emily Yi-Chih; YANG, Albert C.; TSAI, Shih-Jen. Role of Interleukin-6 in Depressive Disorder. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 2194, 22 mar. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21062194>.

TOMASI, Maria Lauda; RYOO, Minjung; YANG, Heping; ARA, Ainhoa Iglesias; KO, Kwang Suk; LU, Shelly C.. Molecular mechanisms of lipopolysaccharide-mediated inhibition of glutathione synthesis in mice. **Free Radical Biology And Medicine**, [S.L.], v. 68, p. 148-158, mar. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.11.018>.

TOMINAMI, Kanako; KUDO, Tada-Aki; NOGUCHI, Takuya; HAYASHI, Yohei; LUO, You-Ran; TANAKA, Takakuni; MATSUSHITA, Ayumu; IZUMI, Satoshi; SATO, Hajime; GENGYO-ANDO, Keiko. Physical Stimulation Methods Developed for In Vitro Neuronal Differentiation Studies of PC12 Cells: a comprehensive review. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 772, 7 jan. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms25020772>.

TREADWAY, Michael T.; WASKOM, Michael L.; DILLON, Daniel G.; HOLMES, Avram J.; PARK, Min Tae M.; CHAKRAVARTY, M. Mallar; DUTRA, Sunny J.; POLLI, Frida E.; IOSIFESCU, Dan V.; FAVA, Maurizio. Illness Progression, Recent Stress, and Morphometry of Hippocampal Subfields and Medial Prefrontal Cortex in Major Depression. **Biological Psychiatry**, [S.L.], v. 77, n. 3, p. 285-294, fev. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.06.018>.

TSIKAS, Dimitrios. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges. **Analytical Biochemistry**, [S.L.], v. 524, p. 13-30, maio 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021>.

TSYTSYKOVA, Alla V.; FALVO, James V.; SCHMIDT-SUPPRIAN, Marc; COURTOIS, Gilles; THANOS, Dimitris; GOLDFELD, Anne E.. Post-induction, Stimulus-specific Regulation of Tumor Necrosis Factor mRNA Expression. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 282, n. 16, p. 11629-11638, abr. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m611418200>.

UNAL, Gunes; CANBEYLI, Resit. Psychomotor retardation in depression: a critical measure of the forced swim test. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 372, p. 112047, out. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112047>.

UZZAN, Sarit; AZAB, Abed N.. Anti-TNF- α Compounds as a Treatment for Depression. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 8, p. 2368, 19 abr. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26082368>.

VAGLIENTI, María V.; SUBIRADA, Paula V.; BARCELONA, Pablo F.; BONACCI, Gustavo; SANCHEZ, María C.. Quantification of Reactive Oxygen Species Using 2',7'-Dichlorofluorescein Diacetate Probe and Flow-Cytometry in Müller Glial Cells. **Journal Of Visualized Experiments**, [S.L.], n. 183, p. 1, 13 maio 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3791/63337>.

VAN MEERLOO, Johan; KASPERS, Gertjan J. L.; CLOOS, Jacqueline. Cell Sensitivity Assays: the mtt assay. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 237-245, 2011. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-61779-080-5_20.

VAVÁKOVÁ, Magdaléna; ĎURAČKOVÁ, Zdeňka; TREBATICKÁ, Jana. Markers of Oxidative Stress and Neuroprogression in Depression Disorder. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2015, p. 1-12, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/898393>.

VERKHRATSKY, Alexei; PARPURA, Vladimir; VARDJAN, Nina; ZOREC, Robert. Physiology of Astroglia. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [S.L.], p. 45-91, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_3.

VILLANUEVA, Rosa. Neurobiology of Major Depressive Disorder. **Neural Plasticity**, [S.L.], v. 2013, p. 1-7, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/873278>.

VOSS, Oliver H.; MURAKAMI, Yousuke; PENA, Mirna Y.; LEE, Ha-Na; TIAN, Linjie; MARGULIES, David H.; STREET, Jonathan M.; YUEN, Peter S.T.; QI, Chen-Feng; KRZEWSKI, Konrad. Lipopolysaccharide-Induced CD300b Receptor Binding to Toll-like Receptor 4 Alters Signaling to Drive Cytokine Responses that Enhance Septic Shock. **Immunity**, [S.L.], v. 44, n. 6, p. 1365-1378, jun. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jimmuni.2016.05.005>.

WAINWRIGHT, Steven R.; GALEA, Liisa A. M.. The Neural Plasticity Theory of Depression: assessing the roles of adult neurogenesis and psa-ncam within the hippocampus. **Neural Plasticity**, [S.L.], v. 2013, p. 1-14, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/805497>.

WANG, Bin; SHI, Haixia; YANG, Bo; MIAO, Zhigang; SUN, Miao; YANG, Hao; XU, Xingshun. The mitochondrial Ahi1/GR participates the regulation on mtDNA copy numbers and brain ATP levels and modulates depressive behaviors in mice. **Cell Communication And Signaling**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 1-14, 23 jan. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12964-022-01034-8>.

WANG, Shusheng; ZHAO, Yan; YANG, Zhicheng; LIU, Yujun; XU, Ru; TU, Ruoxin; LIU, Songping; ZOU, Xin; ZHANG, Lan; HAO, Jie. 919 granules improve postpartum depression

through the regulation of abnormal peripheral blood IL-1 β . **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 174, p. 116623, maio 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116623>.

WANG, Wei-Li; DUAN, Xiao-Hua N; WANG, Wei-Li; DAI, Rong; YAN, Han-Wen; HAN, Chun-Ni; LIU, Li-Song. Current Situation of PC12 Cell Use in Neuronal Injury Study. **International Journal Of Biotechnology For Wellness Industries**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 61-66, 28 jul. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.6000/1927-3037.2015.04.02.3>.

WANG, Xiaoyuan; QUINN, Peter J.. Lipopolysaccharide: biosynthetic pathway and structure modification. **Progress In Lipid Research**, [S.L.], v. 49, n. 2, p. 97-107, abr. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2009.06.002>.

WANG, Ya-Lin; HAN, Qiu-Qin; GONG, Wen-Qing; PAN, Dong-Hui; WANG, Li-Zheng; HU, Wei; YANG, Min; LI, Bing; YU, Jin; LIU, Qiong. Microglial activation mediates chronic mild stress-induced depressive- and anxiety-like behavior in adult rats. **Journal Of Neuroinflammation**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-14, 17 jan. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-018-1054-3>.

WANG, Zhi; WU, Qiao; WANG, Qing. Effect of celecoxib on improving depression: a systematic review and meta-analysis. **World Journal Of Clinical Cases**, [S.L.], v. 10, n. 22, p. 7872-7882, 6 ago. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.12998/wjcc.v10.i22.7872>.

WANG, Ziyin; CUTHBERTSON, Leah F.; THOMAS, Chubicka; SALLAH, Hadijatou J; MOSSCROP, Lucy G.; LI, Haoyuan; TALTS, Tiina; KUMAR, Kartik; MOFFATT, Miriam F.; TREGONING, John S.. IL-1 α is required for T cell-driven weight loss after respiratory viral infection. **Mucosal Immunology**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 272-287, abr. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mucimm.2024.02.005>.

WESTERINK, R. H. S.; EWING, A. G.. The PC12 cell as model for neurosecretion. **Acta Physiologica**, [S.L.], v. 192, n. 2, p. 273-285, 15 nov. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-1716.2007.01805.x>.

WESTWELL-ROPER, Clara; BEST, John R; ELBE, Dean; MACFADDEN, Megan; BAER, Susan; TUCKER, Lori; AU, Antony; NAQQASH, Zainab; LIN, Boyee; LU, Cynthia. Celecoxib versus placebo as an adjunct to treatment-as-usual in children and youth with obsessive-compulsive disorder: protocol for a single-site randomised quadruple-blind phase II study. **BMJ Open**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 054296, jan. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2021-054296>.

WHELTON, A.; LEFKOWITH, J.L.; WEST, C.R.; VERBURG, K.M.. Cardiorenal effects of celecoxib as compared with the nonsteroidal anti-inflammatory drugs diclofenac and ibuprofen. **Kidney International**, [S.L.], v. 70, n. 8, p. 1495-1502, out. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5001766>.

WHITE, William B.; KENT, Jeffrey; TAYLOR, Addison; VERBURG, Kenneth M.; LEFKOWITH, James B.; WHELTON, Andrew. Effects of Celecoxib on Ambulatory Blood Pressure in Hypertensive Patients on ACE Inhibitors. **Hypertension**, [S.L.], v. 39, n. 4, p. 929-934, abr. 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/01.hyp.0000014323.99765.16>.

WHITFIELD, Chris; TRENT, M. Stephen. Biosynthesis and Export of Bacterial Lipopolysaccharides. **Annual Review Of Biochemistry**, [S.L.], v. 83, n. 1, p. 99-128, 2 jun. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-biochem-060713-035600>.

WIATRAK, Benita; KUBIS-KUBIAK, Adriana; PIWOWAR, Agnieszka; BARG, Ewa. PC12 Cell Line: cell types, coating of culture vessels, differentiation and other culture conditions. **Cells**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 958, 14 abr. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells9040958>.

WICKENS, Robin A.; DONCK, Luc Ver; MACKENZIE, Amanda B.; BAILEY, Sarah J.. Repeated daily administration of increasing doses of lipopolysaccharide provides a model of sustained inflammation-induced depressive-like behaviour in mice that is independent of the NLRP3 inflammasome. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 352, p. 99-108, out. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2017.07.041>.

WILKINS, Heather M.; SWERDLOW, Russell H.. Relationships Between Mitochondria and Neuroinflammation: implications for Alzheimer's disease. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 16, n. 8, p. 849-857, 11 nov. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1568026615666150827095102>.

WILSON, Gregory C.; KEITSCH, Simone; SODDEMANN, Matthias; WILKER, Barbara; EDWARDS, Michael J.; GULBINS, Erich. Role of Tyrosine Nitrosylation in Stress-Induced Major Depressive Disorder: mechanisms and implications. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 19, p. 14626, 27 set. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms241914626>.

WOHLMANN, Jens. Expanding the field of view – a simple approach for interactive visualisation of electron microscopy data. **Journal Of Cell Science**, [S.L.], v. 137, n. 20, p. 1-11, 15 out. 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.262198>.

WORSLEY, Catherine M.; VEALE, Rob B.; MAYNE, Elizabeth S.. Inducing apoptosis using chemical treatment and acidic pH, and detecting it using the Annexin V flow cytometric assay. **Plos One**, [S.L.], v. 17, n. 6, p. 0270599, 29 jun. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0270599>.

WU, Anbiao; ZHANG, Jiyan. Neuroinflammation, memory, and depression: new approaches to hippocampal neurogenesis. **Journal Of Neuroinflammation**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 1-20, 27 nov. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-023-02964-x>.

WU, Tianwen; HUANG, Yan; GONG, Yuxiang; XU, Yongjun; LU, Jianqiang; SHENG, Hui; NI, Xin. Treadmill Exercise Ameliorates Depression-Like Behavior in the Rats With Prenatal Dexamethasone Exposure: the role of hippocampal mitochondria. **Frontiers In Neuroscience**, [S.L.], v. 13, p. 1-10, 26 mar. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fnins.2019.00264>.

WULFF, Andreas B.; COOPER, Phylicia; KODJO, Emmanuel; ABEL, Eliana; THOMPSON, Scott M.. How Sucrose Preference Is Gained and Lost: an in-depth analysis of drinking behavior during the sucrose preference test in mice. **Eneuro**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 0195-23.2023, set. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1523/eneuro.0195-23.2023>.

XIA, Cong-Yuan; GUO, Yu-Xuan; LIAN, Wen-Wen; YAN, Yu; MA, Bing-Zhi; CHENG, Yung-Chi; XU, Jie-Kun; HE, Jun; ZHANG, Wei-Ku. The NLRP3 inflammasome in depression: potential mechanisms and therapies. **Pharmacological Research**, [S.L.], v. 187, p. 106625, jan. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106625>.

XU, Zhiguo; LIU, Chao; WANG, Rui; GAO, Xiren; HAO, Chao; LIU, Chongbin. A combination of lycopene and human amniotic epithelial cells can ameliorate cognitive deficits and suppress neuroinflammatory signaling by choroid plexus in Alzheimer's disease rat. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [S.L.], v. 88, p. 108558, fev. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108558>.

YAMAMOTO, Ken-Ichi; SHINBA, Toshikazu; YOSHII, Mitsunobu. Psychiatric symptoms of noradrenergic dysfunction: a pathophysiological view. **Psychiatry And Clinical Neurosciences**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 1-20, 29 dez. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/pcn.12126>.

YAN, Tingxu; WANG, Nizhi; LIU, Bing; WU, Bo; XIAO, Feng; HE, Bosai; JIA, Ying. Schisandra chinensis ameliorates depressive-like behaviors by regulating microbiota-gut-brain axis via its anti-inflammation activity. **Phytotherapy Research**, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 289-296, 5 ago. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.6799>.

YAN, Yi-Qun; ZHENG, Ran; LIU, Yi; RUAN, Yang; LIN, Zhi-Hao; XUE, Nai-Jia; CHEN, Ying; ZHANG, Bao-Rong; PU, Jia-Li. Parkin regulates microglial NLRP3 and represses neurodegeneration in Parkinson's disease. **Aging Cell**, [S.L.], v. 22, n. 6, p. 1-14, 7 abr. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/acel.13834>.

YIN, Run; ZHANG, Kailing; LI, Yingming; TANG, Zilei; ZHENG, Ruiyu; MA, Yue; CHEN, Zonghan; LEI, Na; XIONG, Lei; GUO, Peixin. Lipopolysaccharide-induced depression-like model in mice: meta-analysis and systematic evaluation. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 14, p. 1-15, 8 jun. 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1181973>.

YIRMIYA, Raz; RIMMERMAN, Neta; RESHEF, Ronen. Depression as a Microglial Disease. **Trends In Neurosciences**, [S.L.], v. 38, n. 10, p. 637-658, out. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2015.08.001>.

YOUNG, Ha-Yeong; LEE, Sunchul; CHOI, Yeo-Eun; NAM, Sang-Hoon; CHA, Seung-Kuy; JEONG, Yangsik; KIM, Hyun; SHIN, Tae-Min; PARK, Kyu-Sang. Hyperbaric Oxygen Increases Mitochondrial Biogenesis and Function with Oxidative Stress in HL-1 Cardiomyocytes. **Journal Of Applied Physiology**, [S.L.], p. 1, 22 maio 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/japplphysiol.00428.2024>.

YOUNG, Juan Joseph; BRUNO, Davide; POMARA, Nunzio. A review of the relationship between proinflammatory cytokines and major depressive disorder. **Journal Of Affective Disorders**, [S.L.], v. 169, p. 15-20, dez. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2014.07.032>.

ZALACHORAS, Ioannis; HOLLIS, Fiona; RAMOS-FERNÁNDEZ, Eva; TROVO, Laura; SONNAY, Sarah; GEISER, Eveline; PREITNER, Nicolas; STEINER, Pascal; SANDI, Carmen; MORATÓ, Laia. Therapeutic potential of glutathione-enhancers in stress-related

psychopathologies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 114, p. 134-155, jul. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.03.015>.

ZHANG, He-Yang; WANG, Yan; HE, Youdi; WANG, Ting; HUANG, Xiao-Hui; ZHAO, Chang-Ming; ZHANG, Lei; LI, Si-Wei; WANG, Changyong; QU, Yan-Nv. A1 astrocytes contribute to murine depression-like behavior and cognitive dysfunction, which can be alleviated by IL-10 or fluorocitrate treatment. **Journal Of Neuroinflammation**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1-13, 1 jul. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-020-01871-9>.

ZHANG, Hongqiao; ZHANG, Sarah (Jiuqi); LYN, Natalie; FLORENTINO, Abigail; LI, Andrew; DAVIES, Kelvin J.A.; FORMAN, Henry Jay. Down regulation of glutathione and glutamate cysteine ligase in the inflammatory response of macrophages. **Free Radical Biology And Medicine**, [S.L.], v. 158, p. 53-59, out. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.06.017>.

ZHANG, Jing; XUE, Bing; JING, Bin; TIAN, Huiling; ZHANG, Naiwen; LI, Mengyuan; LU, Lihua; CHEN, Lin; DIAO, Huaqiong; CHEN, Yufei. LPS activates neuroinflammatory pathways to induce depression in Parkinson's disease-like condition. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 13, p. 1-14, 6 out. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.961817>.

ZHANG, Jing; ZHANG, Naiwen; LEI, Jianfeng; JING, Bin; LI, Mengyuan; TIAN, Huiling; XUE, Bing; LI, Xiaoli. Fluoxetine shows neuroprotective effects against LPS-induced neuroinflammation via the Notch signaling pathway. **International Immunopharmacology**, [S.L.], v. 113, p. 109417, dez. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109417>.

ZHANG, Zhinan; CAI, Xiaowen; YAO, Zengyu; WEN, Feng; FU, Zhiyi; ZHANG, Jiping; ZHONG, Zheng; HUANG, Yong; QU, Shanshan. EA Ameliorated Depressive Behaviors in CUMS Rats and Was Related to Its Suppressing Autophagy in the Hippocampus. **Neural Plasticity**, [S.L.], v. 2020, p. 1-9, 22 set. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2020/8860968>.

ZHAO, Y.F.; VERKHRATSKY, A.; TANG, Y.; ILLES, P.. Astrocytes and major depression: the purinergic avenue. **Neuropharmacology**, [S.L.], v. 220, p. 109252, dez. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109252>.

ZHAO, Zhihong; HU, Jue; GAO, Xiaoping; LIANG, Hui; LIU, Zhan. Activation of AMPK attenuates lipopolysaccharide-impaired integrity and function of blood-brain barrier in human brain microvascular endothelial cells. **Experimental And Molecular Pathology**, [S.L.], v. 97, n. 3, p. 386-392, dez. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexmp.2014.09.006>.

ZHOU, Jiahui; LI, Zhiyue; ZHAO, Qun; WU, Tianding; ZHAO, Qiancheng; CAO, Yong. Knockdown of SNHG1 alleviates autophagy and apoptosis by regulating miR-362-3p/Jak2/stat3 pathway in LPS-injured PC12 cells. **Neurochemical Research**, [S.L.], v. 46, n. 4, p. 945-956, 30 jan. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11064-020-03224-7>.

ZHOU, Jinlei; ZHANG, Yuan; HE, Shuangshuang; XU, Sen; SUN, Qice; ZHAO, Tingxiao; DAI, Yaqin. Accelerated global burden of depressive disorders during the COVID-19 pandemic from 2019 to 2021. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-12, 19 mar. 2025. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-025-93923-4>.

ZHOU, Xinyi; XIAO, Qian; XIE, Li; YANG, Fan; WANG, Liping; TU, Jie. Astrocyte, a Promising Target for Mood Disorder Interventions. **Frontiers In Molecular Neuroscience**, [S.L.], v. 12, p. 1-11, 5 jun. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fnmol.2019.00136>.

ZHU, Y; CARVEY, P; LING, Z. Altered glutathione homeostasis in animals prenatally exposed to lipopolysaccharide. **Neurochemistry International**, [S.L.], v. 50, n. 4, p. 671-680, mar. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2006.12.013>.

ZHU, Chunyan; ZHANG, Ting; LI, Qianqian; CHEN, Xingui; WANG, Kai. Depression and Anxiety During the COVID-19 Pandemic: epidemiology, mechanism, and treatment. **Neuroscience Bulletin**, [S.L.], v. 39, n. 4, p. 675-684, 21 nov. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12264-022-00970-2>.

ZIMMERMAN, Mark; POSTERNAK, Michael; FRIEDMAN, Michael; ATTULLAH, Naureen; BAYMILLER, Scott; BOLAND, Robert; BERLOWITZ, Stacie; RAHMAN, Shahzad; UY, Kirsten; SINGER, Steve. Which Factors Influence Psychiatrists' Selection of Antidepressants? **American Journal Of Psychiatry**, [S.L.], v. 161, n. 7, p. 1285-1289, jul. 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.161.7.1285>.

ZOROVA, Ljubava D.; DEMCHENKO, Evgeniya A.; KORSHUNOVA, Galina A.; TASHLITSKY, Vadim N.; ZOROV, Savva D.; ANDRIANOVA, Nadezda V.; POPKOV, Vasily A.; BABENKO, Valentina A.; PEVZNER, Irina B.; SILACHEV, Denis N.. Is the Mitochondrial Membrane Potential ($\Delta\Psi$) Correctly Assessed? Intracellular and Intramitochondrial Modifications of the $\Delta\Psi$ Probe, Rhodamine 123. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 482, 1 jan. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23010482>.

ANEXO A - Certificado de aprovação de projeto na Comissão de Ética no Uso de Animais



Universidade Federal do Ceará

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "ESTUDO DOS EFEITOS DO CELECOXIBE NO COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO INDUZIDO PELA EXPOSIÇÃO AO LPS E POLY (I:C) EM CAMUNDONGOS C57BL/6", protocolada sob o CEUA nº 7728040422 (ID 002197), sob a responsabilidade de **Francisca Cléa Florenço de Sousa e equipe; Daniel Moreira Alves da Silva** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 26/05/2022.

We certify that the proposal "STUDY OF THE EFFECTS OF CELECOXIBE ON DEPRESSIVE-LIKE BEHAVIOR INDUCED BY LPS AND POLY(I:C) EXPOSURE IN C57BL/6 MICE", utilizing 360 Isogenics mice (360 males), protocol number CEUA 7728040422 (ID 002197), under the responsibility of **Francisca Cléa Florenço de Sousa and team; Daniel Moreira Alves da Silva** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 05/26/2022.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 06/2022 a 12/2023 Área: Departamento de Fisiologia E Farmacologia

Origem: Biotério Prof. Eduardo Torres (setorial FAMED)

Espécie: Camundongos isogênicos

sexo: Machos

idade: 42 a 48 dias

Quantidade: 360

Linhagem: C57BL/6

Peso: 22 a 29 g

Fortaleza, 26 de maio de 2025

A handwritten signature in blue ink that appears to read "Carla Renata Figueiredo Gadelha".

Profa. Dra. Carla Renata Figueiredo Gadelha
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

A handwritten signature in blue ink that appears to read "Karuza Maria Alves Pereira".

Profa. Dra. Karuza Maria Alves Pereira
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de
Animais
Universidade Federal do Ceará

