



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

**TATIANA DE QUEIROZ OLIVEIRA**

**EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA ASSOCIAÇÃO DE MIRTAZAPINA E ÁCIDO  
LIPÓICO VIA MECANISMOS ANTIOXIDATIVOS**

**FORTALEZA**  
**2015**

**TATIANA DE QUEIROZ OLIVEIRA**

**EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA ASSOCIAÇÃO DE MIRTAZAPINA E ÁCIDO  
LIPÓICO VIA MECANISMOS ANTIOXIDATIVOS**

**Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Farmacologia, da Faculdade de  
Medicina da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial para  
obtenção do Título de Mestre em  
Farmacologia. Área de concentração:  
Neurofarmacologia.**

**Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria  
Mendes de Vasconcelos**

**FORTALEZA**

**2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

---

O52e

Oliveira, Tatiana de Queiroz.

Efeito antidepressivo da associação de mirtazapina e ácido lipóico via mecanismos antioxidativos/ Tatiana de Queiroz Oliveira. – 2015.

65 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2015.

Área de concentração: Neurofarmacologia.

Orientação: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes de Vasconcelos.

1. Depressão. 2. Ácido Tióctico. 3. Antidepressivos. 4. Estresse Oxidativo. 5. Sedação Consciente. I. Título.

---

CDD 615.1

**TATIANA DE QUEIROZ OLIVEIRA**

**EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA ASSOCIAÇÃO DE MIRTAZAPINA E ÁCIDO  
LIPÓICO VIA MECANISMOS ANTIOXIDATIVOS**

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Farmacologia, da Faculdade de  
Medicina da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial para  
obtenção do Título de Mestre em  
Farmacologia. Área de concentração:  
Neurofarmacologia

Aprovada em: 01/07/2015.

**BANCA EXAMINADORA**



**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (orientadora)**

**Universidade Federal do Ceará (UFC)**



**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita Neuma Dantas Cavalcante de Abreu**

**Universidade de Fortaleza (UNIFOR)**



**Prof. Dr. Roberto César Pereira Lima Júnior**

**Universidade Federal do Ceará (UFC)**

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes de Vasconcelos, minha orientadora, por ter me acolhido no Laboratório de Neurofarmacologia. Agradeço pela disponibilidade dispensada e pela orientação na execução deste trabalho.

Ao Profº Dr. Otoni Cardoso do Vale (*in memoriam*) pelos ensinamentos.

À Profa. Dra. Danielle Macêdo, muito obrigada por estar sempre disponível nos momentos de dúvidas.

Aos companheiros de Laboratório (Rafael, Sarah, Eduardo e Eliane) pelo carinho e amizade.

À equipe (Germana, Caren, Naiara, Kátia, Charliene, Manuel, Laisa, Anne, Luciene, Natália e Ingridy) pela preciosa ajuda e por terem tornado tudo mais leve.

Às queridas Vilanir e Lena pelo carinho e apoio.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Farmacologia, pelos ensinamentos.

Aos animais por viabilizarem não apenas o meu estudo, mas o aprimoramento do conhecimento científico e da qualidade de vida.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

## RESUMO

A depressão é uma doença crônica, grave que afeta cerca de 350 milhões de pessoas no mundo. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos antidepressivos do ácido lipóico (ALA) associado a mirtazapina (MIRT) via mecanismos antioxidativos em modelo animal de depressão induzido por corticosterona. Camundongos machos adultos receberam 0,3% Tween 80, Corticosterona (CORT 20 mg/kg), MIRT (3 mg/kg), ALA (100 ou 200 mg/kg), sozinhos ou associados por 21 dias. No último dia de tratamento os animais foram submetidos aos seguintes testes: campo aberto, labirinto em cruz elevado, suspensão de cauda, preferência por sacarose, *rota rod* e tempo de sono. Alterações oxidativas (glutathiona reduzida-GSH e peroxidação lipídica- MDA) e nitrito no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE); e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no CPF e HC também foram abordadas. A administração crônica de CORT desenvolveu alguns comportamentos tipo-depressivos que foram revertidos com MIRT e/ou ALA. A associação de ALA e MIRT reverteu o efeito sedativo provocado pela administração de MIRT sozinha, assim como a hipersonia causada pela administração crônica de CORT. A administração de CORT, ALA 200 e MIRT associados mostrou um aumento significativos nos níveis de GSH no córtex pré-frontal (113%), hipocampo (90,27%) e corpo estriado (127%) quando comparado com o grupo tratado com CORT sozinha; efeitos semelhantes foram observados na peroxidação lipídica e nos níveis de nitrito, com redução dos níveis de MDA e nitrito no hipocampo e corpo estriado dos grupos tratados com a associação de CORT, ALA 200 e MIRT quando comparados com o grupo tratado com CORT sozinha, respectivamente. No geral, ALA parece ser uma alternativa para o tratamento da depressão quando associado com MIRT, pois aumenta a neuroproteção e reduz o efeito colateral de sedação.

**Palavras-chave:** Depressão. Ácido Tióctico. Antidepressivos. Estresse Oxidativo. Sedação Consciente.

## ABSTRACT

### EFFECT OF ANTIDEPRESSANT MIRTAZAPINE ASSOCIATION AND MECHANISMS VIA LIPOIC ACID ANTIOXIDATIVE

Depression is a chronic, serious illness that affects about 350 million people worldwide. The objective of this work was to study the antidepressant effects of lipoic acid (ALA) associated with mirtazapine (MIRT) via antioxidative mechanisms in animal models of depression induced by corticosterone. Adult male mice received 0.3% Tween 80, corticosterone (Cort 20 mg / kg) MIRT (3 mg / kg), ALA (100 or 200 mg / kg), alone or associated for 21 days. On the last day of treatment the animals were subjected to the following tests: open field, elevated plus maze, tail suspension, preference for sucrose, route rod and sleep time. Oxidative changes (reduced glutathione and GSH-peroxidation lipídica- MDA) and nitrite in the prefrontal cortex (PFC), hippocampus (HC) and striatum (CE); and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the CPF and HC were also addressed. Chronic administration of CORT developed some kind-depressive behaviors were reversed with MIRT and / or ALA. The association of ALA and MIRT reversed the sedative effect caused by the administration alone MIRT, as hypersomnia caused by the chronic administration of CORT. The administration CORT ALA 200 and associated MIRT showed significant increase in GSH levels in the prefrontal cortex (113%), hippocampus (90.27%) and striatum (127%) compared to the group treated with CORT alone; Similar effects were observed on lipid peroxidation and nitrite levels with reduction of MDA and nitrite levels in the hippocampus and striatum in the groups treated with the combination CORT ALA MIRT 200 and compared with the group treated with CORT alone respectively. Overall, ALA seems to be an alternative for treatment of depression associated with MIRT when, for neuroprotection increases and reduces the side effect of sedation.

**Keywords:** Depression. Thiocetic Acid. Antidepressive Agents. Oxidative Stress. Conscious Sedation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fisiopatologia da depressão.....	11
Figura 2 - Estrutura química do ácido lipóico e ácido dihidrolipóico.....	18
Figura 3 - Representação esquemática do protocolo experimental.....	24
Figura 4 - Número de Cruzamentos .....	31
Figura 5 - Número de <i>Rearing</i> .....	32
Figura 6 - Número de <i>Grooming</i> .....	33
Figura 7 - Número de entradas no braço aberto (NEBA).....	34
Figura 8 - Tempo de permanência no braço aberto (TPBA).....	35
Figura 9 - Tempo de imobilidade.....	36
Figura 10 - Preferência por sacarose.....	37
Figura 11 - Tempo permanência no <i>Rota rod</i> .....	38
Figura 12 - Tempo de sono.....	39
Figura 13 - Níveis de GSH - CPF (A), HC (B) e CE (C) .....	41
Figura 14 - Níveis de MDA - CPF (A), HC (B) e CE (C).....	44
Figura 15 - Níveis de nitrito - CPF (A), HC (B) e CE (C).....	47
Figura 16 - Níveis de BDNF - CPF (A) .....	49



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DSM-IV	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
CID-10	Classificação internacional de doenças e problemas relacionados à saúde
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
HHA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
NO	Óxido nítrico
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
5-HT	Serotonina
ERO	Espécie reativa de oxigênio
GSH-Px	Glutathiona peroxidase
ADT	Antidepressivo tricíclico
ISRS	Inibidores seletivos de receptação de serotonina
ISRSN	Inibidores seletivos de receptação de serotonina e noradrenalina
IMAO	Inibidores de monoamina oxidase
ANES	Antidepressivo noradrenérgico e serotoninérgico específico
HLC	Hormônio liberador de corticotrofina
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
GC	Glicocorticóide
ALA	Ácido lipóico
DHLA	Ácido dihidrolipóico
NFkB	Fator nuclear kappa B
ATP	Trifosfato de adenosina
OMS	Organização Mundial de Saúde
MIRT	Mirtazapina
CPF	Córtex pré-frontal
HC	Hipocampo
CE	Corpo estriado
CEPA	Comitê de ética e pesquisa animal
CORT	Corticosterona
DMSO	Dimetil sulfóxido

CA	Campo aberto
LCE	Labirinto em cruz elevado
NEBA	Número de entrada em braços abertos
NEBF	Número de entrada em braços fechados
TPBA	Tempo de permanência no braço aberto
TPBF	Tempo de permanência no braço fechado
TSC	Teste de suspensão de cauda
TS	Tempo de sono
GSH	Glutathiona reduzida
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
MDA	Malondialdeído

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
1.1 Depressão .....	10
1.2 Fisiopatologia da depressão .....	11
1.2.1 Estruturas cerebrais envolvidas na depressão .....	12
1.2.2 Hipótese do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro .....	12
1.2.3 Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal .....	13
1.2.4 Estresse oxidativo .....	13
1.3 Modelo de depressão induzido por corticosternona .....	14
1.4 Tratamento farmacológico da depressão .....	15
1.5 Ácido lipóico .....	17
<b>2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA</b> .....	20
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	21
3.1 Objetivo geral .....	21
3.2 Objetivos específicos .....	21
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	22
4.1 Animais .....	22
4.2 Fármacos .....	22
4.3 Modelo de depressão induzido por corticosterona .....	22
4.4 Procedimento experimental .....	23
4.5 Testes comportamentais .....	24
4.6 Determinação dos parâmetros de estresse oxidativo .....	27
<b>5 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	29
<b>6 RESULTADOS</b> .....	30
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	50
<b>8 CONCLUSÃO</b> .....	55
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	56

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Depressão

A depressão é um transtorno mental incapacitante, relativamente comum e de curso crônico, caracterizada por humor deprimido (APA, 2014; KESSLER et al., 2003). Os pacientes deprimidos apresentam limitação da atividade e comprometimento da qualidade de vida, com uma maior utilização de serviços de saúde (FLECK; BERLIM; LAFER, 2009). Projeta-se que, em 2020, a depressão será a segunda condição clínica mais incapacitante (VAN WEEL-BAUMGARTEN et al., 2000).

A depressão é decorrente de fatores genéticos, bioquímicos, psicológicos e sociofamiliares, sendo estudada sob diferentes abordagens. É classificada como um conjunto de transtornos que se manifestam numa certa duração, frequência e intensidade, minuciosamente descritos por manuais psiquiátricos mundialmente reconhecidos e atualmente em vigor. É sistematizada pelo *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais* (DSM-IV) como "Transtornos do Humor", e como "Transtorno Afetivo", pela *Classificação internacional de doenças e problemas relacionados à saúde* (CID-10) (APA, 2014; WHO, 2001).

A depressão é uma doença conhecida desde os tempos mais remotos. Hipócrates, no século V a.C., já conhecia e definia a depressão sob a denominação de melancolia, “uma afecção sem febre, na qual o espírito triste permanece sem razão fixado em uma mesma ideia, constantemente abatido [...]” (RAMADAM, 2005).

Segundo a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios divulgada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a depressão, identificada por profissional de saúde, atinge 7,8 milhões de brasileiros, o que corresponde a 4,1% da população (IBGE, 2010). A prevalência na população geral para transtornos depressivos tem alcançado números entre 4% e 10%, sendo observada uma maior incidência em mulheres, variando de 10% a 25%, enquanto nos homens a porcentagem é de 5% a 12 %. Além disso, uma a cada 20 pessoas é atingida por um episódio depressivo durante o curso da vida, de cada 50 casos diagnosticados

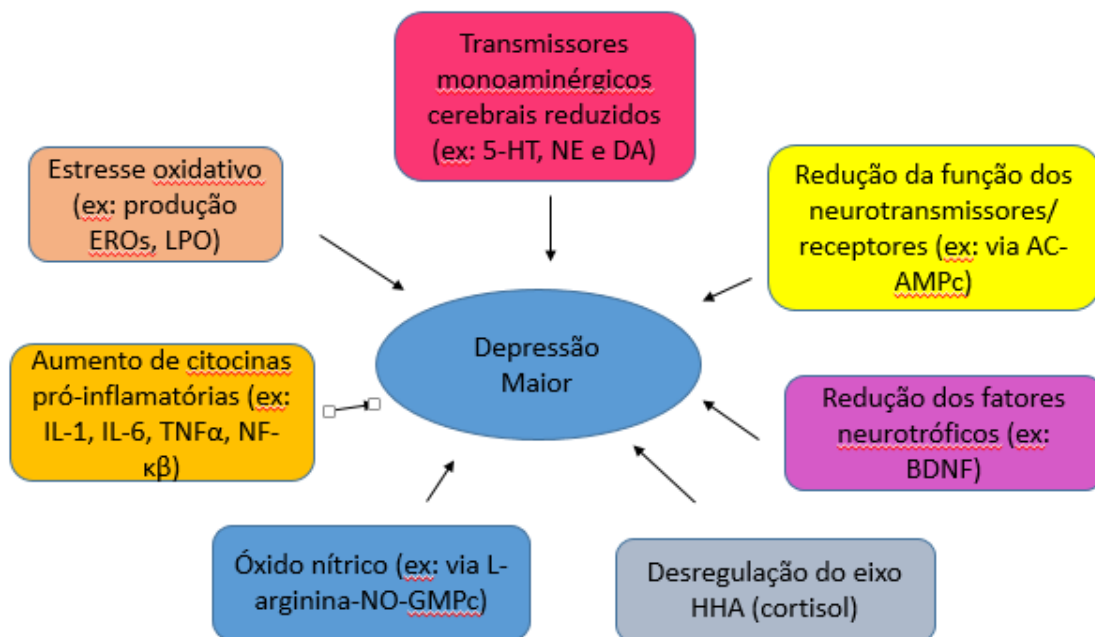
com a patologia, um necessita de internação, e 15% dos deprimidos graves cometem suicídio (ZAVASCHI et al., 2002).

Tendo em vista o grande impacto socioeconômico gerado pela depressão, a compreensão de sua fisiopatologia e o desenvolvimento de fármacos eficazes ainda se constitui num desafio a ser superado. Diante disto, é essencial o desenvolvimento de novos estudos a fim de elucidar estas questões.

## 1.2 Fisiopatologia da depressão

A fisiopatologia da depressão é multifatorial (MENKEN; MUNSAT; TOOLE, 2000). A figura 1 apresenta de forma resumida as principais hipóteses da fisiopatologia da depressão.

Fig. 1. Fisiopatologia da depressão



Fonte: (Adaptado de CHOPRA; KUMAR; KUHAD, 2011).

Diversas teorias são utilizadas para explicar a fisiopatologia da depressão, como a hipótese das monoaminas, hipótese receptor/neurotransmissor,

hipótese do fator neurotrófico derivado do cérebro, desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), o estresse oxidativo, a hipótese de citocinas e via do óxido nítrico (NO) (CHOPRA; KUMAR; KUHAD, 2011).

No presente estudo, abordaremos as hipóteses do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), da desregulação do eixo HHA e do estresse oxidativo.

### **1.2.1 Estruturas cerebrais envolvidas na depressão**

No modelo neuroanatômico da depressão, o córtex pré-frontal possuiria conexões abrangentes com estruturas envolvidas no comportamento emocional e nas respostas autonômicas e neuroendócrinas a estressores, incluindo amígdala, hipotálamo lateral, núcleo *accumbens*, e núcleos serotoninérgicos, noradrenérgicos e dopaminérgicos do tronco cerebral (DREVETS et al., 1997). Estudos mostram que o hipocampo é alterado pela exposição a estressores significativos e parece ter um papel importante na mediação dos efeitos terapêuticos dos tratamentos antidepressivos (JOCA; PADOVAN; GUIMARÃES, 2003). Alterações no corpo estriado e no núcleo *accumbens* são responsáveis por redução na motivação e anedonia (MALETIC, 2007).

### **1.2.2 Hipótese do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro**

O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) é uma neurotrofina amplamente distribuída no encéfalo (CHAO, 2003) que tem se mostrado importante na neurogênese e plasticidade sináptica (ARANCIO; CHAO, 2007; WATERHOUSE; XU, 2009).

A teoria da diminuição das neurotrofinas, principalmente do BDNF, tem sido associada à depressão (PERITO; FORTUNATO, 2012). A hipótese da neurotrofina postula que há uma redução dos níveis de BDNF na depressão, enquanto que o seu aumento produz efeitos antidepressivos. A exposição ao estresse crônico promove uma diminuição dos níveis de BDNF e de outras neurotrofinas. Conseqüentemente, há uma redução da neurogênese, diminuição da formação dendrítica e aumento da vulnerabilidade celular (DUMAN; MONTEGGIA,

2006). Há uma relação entre BDNF e serotonina (5-HT) (LU; MARTINOWICH, 2008). A ativação de receptores de serotonina induz a expressão de BDNF em células hipocâmpais e o tratamento com o BDNF aumenta o fenótipo serotoninérgico dos neurônios do núcleo da rafe, principal fonte de inervação serotoninérgica para o hipocampo (SAKATA et al., 2013).

### **1.2.3 Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal**

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) é um sistema-chave de sinalização neuroendócrina envolvido na homeostase fisiológica em resposta ao estresse. Distúrbios desse sistema levam a desequilíbrios hormonais graves (DU; PANG, 2015).

Estudos clínicos identificam pequenos aumentos nas concentrações séricas de glicocorticóides na depressão, despertando interesse significativo no papel de um eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) disfuncional na fisiopatologia da depressão (GOURLEY et al., 2008; PARKER; SCHATZBERG; LYONS, 2003). O estresse físico ou psicológico aumenta as concentrações séricas de glicocorticóides, e alguns sintomas de depressão podem ser produzidos em roedores através da administração crônica de glicocorticóides (RAISON; MILLER, 2003). A ativação de receptores de glicocorticóides (RG), pelo excesso de glicocorticóides, pode reduzir as taxas de proliferação da zona sub-granular do hipocampo e ainda produzir alterações atróficas em sub-regiões do mesmo. Isso poderia contribuir para as reduções de volume do hipocampo visto na depressão (MCEWEN, 2000).

### **1.2.4 Estresse oxidativo**

O estresse oxidativo está associado ao estresse, ao envelhecimento e a várias doenças (KONISHI, 2009). É causado por um desequilíbrio entre as atividades de óxido nítrico (NO), espécies reativas de oxigênio (EROs) e enzimas antioxidantes, sendo um fator crítico implicado na patogênese da depressão (FÖRSTERMANN, 2010; MAES et al., 2011).

Estudos relataram vários distúrbios oxidativos em pacientes deprimidos, incluindo dano oxidativo e diminuição dos níveis de enzimas antioxidantes (NG et al., 2008; O'DONNELL; DO; ARANGO, 2014). O estresse oxidativo causa danos às proteínas e ao DNA no cérebro, causando lesão e apoptose de neurônios (NIEBRÓJ-DOBOSZ; DZIEWULSKA; KWIECIŃSKI, 2004). Além disso, a ativação do processo de estresse oxidativo por estresse crônico provoca peroxidação lipídica, redução da atividade da enzima antioxidante, e aumento do catabolismo da monoamina, que estão todos relacionados com a fisiopatologia da depressão (BILICI et al., 2001).

Estudos têm demonstrado a depleção de glutathiona, redução de glutathiona peroxidase (GSH-Px) e vitamina C e aumento da peroxidação lipídica e óxido nítrico em associação com depressão induzida por estresse (EREN et al., 2007).

Outros estudos têm mostrado que a inibição nNOS (óxido nítrico sintase neuronal) previne o aparecimento de sintomas comportamentais da depressão em roedores (DHIR; KULKARNI, 2007; ERGÜN et al., 2006; FUJISAKI et al., 2003). Wang; An; Zhang (2008) mostraram que a inibição de iNOS (óxido nítrico sintase induzível) hipocampal pode prevenir o desenvolvimento de modelo de depressão induzida por estresse.

Existem vários mecanismos antioxidantes no cérebro que neutralizam os efeitos nocivos das EROs. No entanto, com a depressão, ocorre uma perda da eficácia dos mecanismos antioxidantes e ativação das células fagocíticas, promovendo um aumento na formação de radicais livres (CHOPRA; KUMAR; KUHAD, 2011).

### **1.3 Modelo de depressão induzido por corticosterona**

A atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) é regulada pela secreção do hormônio liberador de corticotrofina (HLC) produzido pelo hipotálamo, que por sua vez ativa a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise estimulando a secreção de glicocorticoide (GC) (cortisol em humanos e corticosterona em roedores) pelo córtex adrenal (NEMEROFF, 1996). Dessa forma, os GC interagem com seus receptores em vários tecidos, incluindo o eixo HHA, onde



são responsáveis pelo *feedback* negativo da secreção desses hormônios (STERNER; KALYNCHUK, 2010).

Nos últimos anos, tanto pesquisas clínicas como experimentais têm demonstrado que a hiperatividade do eixo HHA desempenha um papel importante na patogênese da depressão. Essa hiperatividade ocorre devido a uma deficiência na inibição do *feedback* negativo no eixo HHA pelos hormônios glicocorticóides circulantes. Assim sendo, observou-se que muitos pacientes depressivos apresentavam níveis de cortisol elevados no sangue, saliva e urina, como também um aumento no tamanho da glândula adrenal (NEMEROFF; VALE, 2005).

Outros estudos com roedores mostraram que o tratamento crônico com corticosterona aumenta o tempo de imobilidade no teste de nado forçado, sugerindo que os glicocorticóides podem mimetizar a sintomatologia da depressão (JOHNSON; FOURNIER; KALYNCHUK, 2006), causa uma *downregulation* nos receptores de glicocorticóide no hipocampo e conseqüentemente, alteram o controle do *feedback* negativo, como também induzem uma disfunção no comportamento sexual e perda de peso (GREGUS et al., 2005). Baseados nesses resultados, o modelo de depressão induzido por corticosterona em animais tornou-se uma importante ferramenta para a descoberta de novos agentes antidepressivos (IIJIMA et al., 2010).

#### **1.4 Tratamento farmacológico da depressão**

O advento dos fármacos antidepressivos possibilitaram um importante avanço no tratamento da depressão; no entanto, apresentam uma latência farmacológica e muitos efeitos colaterais (DRAPIER et al., 2007). Esses fármacos agem aumentando a concentração dos neurotransmissores na fenda sináptica pela inibição do metabolismo, bloqueio da recaptura neuronal ou ação nos autorreceptores pré-sinápticos (MORENO; MORENO; SOARES, 1999). Apesar da evolução das pesquisas, os mecanismos de ação dos fármacos antidepressivos ainda não foram totalmente elucidados (BERTON; NESTLER, 2006).

As modalidades de tratamento mais antigas da depressão concentram-se em três sistemas de neurotransmissores monoaminérgicos: serotonina, dopamina e

norepinefrina. Os antidepressivos tricíclicos (ADTs), inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRSs), inibidores seletivos da recaptação da serotonina-norepinefrina (ISRSNs), e inibidores da monoamina oxidase (IMAO) são todos antidepressivos eficazes que aumentam a disponibilidade de uma ou mais destas monoaminas (BLOCK; NEMEROFF, 2014).

Os antidepressivos tricíclicos (ADTs) foram a primeira classe de medicamento usado para tratar a depressão. O seu principal mecanismo de ação é a inibição da recaptação da norepinefrina e/ou serotonina. Os ADTs também antagonizam os receptores histaminérgicos H1, alfa-adrenérgicos e muscarínicos, cujas ações são relacionadas com os efeitos colaterais (PEROVIĆ et al., 2010; STAHL, 2014).

Os inibidores da monoamina oxidase (IMAO) bloqueiam a degradação enzimática de serotonina, norepinefrina e dopamina, resultando num aumento dos níveis destes neurotransmissores no interior da fenda sináptica (HOLTZHEIMER; NEMEROFF, 2006). A utilização de inibidores da monoamina oxidase (IMAO) para o tratamento da depressão na prática clínica de hoje é baixo devido aos seus efeitos adversos bem conhecidos, alguns dos quais podem ser fatais, e o risco de interações dietéticas e medicamentosas (THOMAS et al., 2015).

Atualmente os tratamentos de primeira linha de depressão incluem os ISRS e ISRSN. Como os nomes sugerem, seus mecanismos de ação envolvem a inibição da recaptação de serotonina ou serotonina e norepinefrina, respectivamente, aumentando a concentração de neurotransmissores na fenda sináptica (BLOCK; NEMEROFF, 2014).

A mirtazapina, um antidepressivo noradrenérgico e serotoninérgico específico (ANES), é um dos poucos antidepressivos que não possui efeitos diretos sobre o transporte/captação de monoaminas (THASE et al., 2010). Os efeitos antidepressivos da mirtazapina resultam do bloqueio dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub> e ativação dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> pós-sináptico e por antagonizar os  $\alpha$ <sub>2</sub>-heteroreceptores e  $\alpha$ <sub>2</sub>-autoreceptores noradrenérgicos. Possui atividade antagonista sobre os receptores histaminérgicos H1 (CROOM; PERRY; PLOSKER, 2009; PEÑA et al., 2005). Foi desenvolvida mais recentemente e vem sendo utilizada por induzir efeitos adversos menores, como a disfunção sexual (PEÑA et

al., 2005). Além disso, o seu uso também pode evitar a “síndrome serotoninérgica”, provocada pelos inibidores da recaptação de serotonina. Esta síndrome é caracterizada por estado mental alterado (confusão, agitação, convulsões), diarreia, hipertensão, febre, midríase, taquicardia e modificações neuromusculares (mioclonia, tremor, ataxia, rigidez) (TEPPER, 2012). A mirtazapina aumenta a neurotransmissão de serotonina e noradrenalina, mas não atua sobre a recaptação desses neurotransmissores (CROOM; PERRY; PLOSKER, 2009; PEÑA et al., 2005).

Quando comparado com os ISRS, a mirtazapina mostrou ser eficaz e com um início um pouco mais rápido da ação. A mirtazapina também teve um efeito mais favorável sobre distúrbios do sono do que o ISRS, embora tenha sido mais propensa a causar sedação e ganho de peso (THASE et al., 2010).

A mirtazapina é extensivamente metabolizada no fígado pelas isoenzimas CYP1A2, CYP2D6 e CYP3A4 do citocromo (CYP) P450. Estudos *in vitro* sugerem que é improvável ocorrer interações clinicamente significativas da mirtazapina com outros fármacos. Seus efeitos adversos são boca seca, sedação, e aumentos do apetite e do peso corporal. Em contraste com os inibidores da recaptação da serotonina (ISRSs), a mirtazapina não tem efeitos sexuais secundários. A eficácia antidepressiva da mirtazapina foi observada em vários ensaios controlados com placebo. Na depressão maior, sua eficácia é comparável à amitriptilina, clomipramina, doxepina, fluoxetina, paroxetina, citalopram, venlafaxina. Parece ser segura e eficaz durante a utilização a longo prazo (ANTTILA; LEINONEN, 2001).

## 1.5 Ácido lipóico

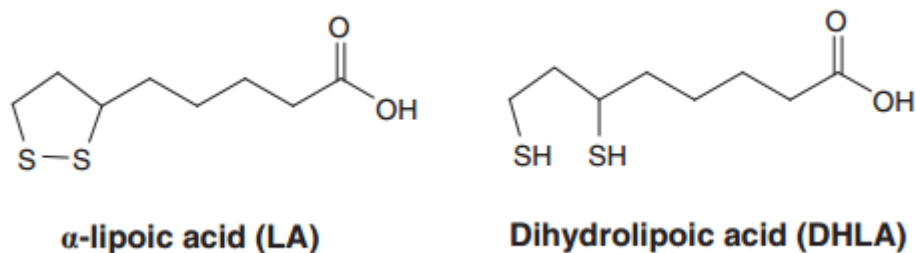
O ácido lipóico (ALA) é um composto de ocorrência natural, sintetizado em pequenas quantidades em plantas e animais, incluindo seres humanos (SIK et al., 1995). É um co-fator de enzimas mitocondriais do metabolismo oxidativo, como piruvato desidrogenase, que ligam a glicólise ao ciclo do ácido cítrico, e alfa-ceto-glutarato desidrogenase (GOMES; NEGRATO, 2014).

O ALA e sua forma reduzida, o ácido dihidrolipóico (DHHLA) (Figura 2), compõem as membranas biológicas (BRENNAN et al., 2013; SAUER; TABET;

HOWARD, 2004) e possuem diversas funções biológicas em diferentes sistemas intracelulares que podem ser visualizadas dentro do domínio da atividade antioxidante, de quelante de metal, respostas de transcrição relacionados com a inflamação e indução de enzimas de fase II, e sinalização de respostas celulares, especialmente em termos de função cardiovascular e metabolismo da glicose (SHAY et al., 2009).

Além disso, o ALA e o DHLA também podem agir em várias vias de transdução de sinalização, como insulina, fator nuclear kappa B (NFkB), síntese de óxido nítrico e apoptose celular (GOMES; NEGRATO, 2014). O ALA e o DHLA são potentes antioxidantes mitocondriais, promovendo a remoção de radicais livres, aumentando a ação de outros antioxidantes endógenos como a GSH, vitamina C e E (PAGANO et al., 2014; SALINTHONE et al., 2008).

**Fig.2. Estrutura química do ácido lipóico e ácido dihidrolipóico**



**Fonte:** (KOUFAKI, 2014).

ALA é uma substância anfipática solúvel em água e gordura e, portanto, pode neutralizar os radicais livres tanto em locais gordurosos como em meio aquoso (BIST; BHATT, 2009).

Além dos efeitos antioxidantes, o ALA é uma coenzima contendo enxofre envolvido nas reações que conduzem à formação de trifosfato de adenosina (ATP) pela desidrogenase mitocondrial (CARREAU, 1979; PACKER; WITT; TRITSCHLER, 1995).

Segundo Bilaska; Wlodek (2005), o ALA é um antioxidante eficiente, pois tem alta reatividade contra os radicais livres, é capaz de regenerar vitamina C e

elevar os níveis de GSH. Além disso, é facilmente absorvido quando administrado via oral, atravessa a barreira hematoencefálica e não mostra efeitos tóxicos.

## 2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

A depressão é uma doença crônica, grave e está entre os transtornos psiquiátricos mais frequentes no mundo ocidental (NESTLER et al., 2002). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que hoje, no mundo, 350 milhões de pessoas vivam com depressão (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

As causas da depressão ainda não estão bem definidas. Dentre as teorias, os distúrbios na função neurotransmissora fundamentam o uso dos antidepressivos. Os mecanismos de ação dos medicamentos disponíveis alterariam a concentração das principais substâncias envolvidas na neurotransmissão: serotonina, noradrenalina e dopamina (DRZYZGA; MARCINOWSKA; OBUCHOWICZ, 2009).

Apesar das extensas pesquisas, ainda não há nenhum tratamento definitivo para a depressão. Dentre as opções terapêuticas para a depressão, a mirtazapina foi desenvolvida mais recentemente e vem sendo utilizada por ter um início de ação rápido e apresentar menores efeitos colaterais que outros antidepressivos. No entanto, pode causar sedação (THASE et al., 2010).

Estudos dos efeitos do ALA já vêm sendo investigados por nosso grupo com sucesso (SILVA, 2013a; SILVA, 2013b; SILVA et al., 2014). Evidências de melhora do comportamento do tipo depressivo e redução dos níveis de estresse oxidativo em modelos animais de depressão motivaram a investigação de novos mecanismos envolvidos na depressão (SILVA, 2013a; SILVA, 2013b), o que justifica a importância do presente estudo.

Além disso, por possuir potente efeito antioxidante, participar do metabolismo oxidativo e ter baixos índices de efeitos colaterais, o ALA pode ser uma excelente alternativa terapêutica para o tratamento de doenças neurodegenerativas como a depressão.

Na busca de se compreender melhor a fisiopatologia da depressão e de novas opções terapêuticas com menores efeitos colaterais, decidimos realizar um estudo comportamental e neuroquímico da associação de ALA com mirtazapina em modelo animal de depressão resistente induzido por corticosterona.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

- Estudar os efeitos do ácido lipóico associado a mirtazapina em modelo animal de depressão induzido por corticosterona.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Observar os parâmetros comportamentais de camundongos submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de corticosterona e tratados com ácido lipóico sozinho ou em associação com a mirtazapina;
- Avaliar os parâmetros de estresse oxidativo e nitrérgicos em camundongos submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de corticosterona e tratados com ácido lipóico sozinho ou em associação com a mirtazapina no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE) dos animais;
- Verificar as concentrações do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no córtex pré-frontal de camundongos submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de corticosterona e tratados com ácido lipóico sozinho ou em associação com a mirtazapina.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Animais**

Camundongos Swiss adultos (25 - 30g) machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), foram alojados em gaiolas de polipropileno com 414 x 344 x 168 mm de dimensão, com alimentos (ração) e água (oriunda da torneira) *ad libitum*. Os animais foram mantidos a um ciclo claro/escuro de 12 h e ambientados em grupos de 10 por gaiola. O peso dos animais foi verificado a cada sete dias para a verificação da variação do peso. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal (CEPA) da UFC através do protocolo 02/2014 e os experimentos foram conduzidos de acordo com o Guia de Cuidados e Usos de Animais de Laboratório do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América.

### **4.2 Fármacos**

Os animais receberam a administração oral de ácido lipóico (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA - ALA 100 mg / kg) dissolvido em 5% de carboximetil celulose (CMC). Corticosterona (CORT, 21 acetato, Sigma- Aldrich, U.S.A) suspensa em solução salina, contendo 0,1% de dimetil sulfoxido (DMSO) e 0.1% Tween-80. Mirtazapina (Sandoz® 3 mg / kg) foi dissolvida em água destilada. Os controles foram administrados 0,3% de tween 80 (veículo). Todas as soluções foram administradas em um volume de 0,1ml a cada 10g de peso corporal. As doses de ALA (SILVA et al., 2013a) e MIRT (ENGEL et al., 2013) foram baseadas em estudos anteriores. Foi administrado uma dose sub-hipnótica de tiopental sódico (35 mg/kg) para o teste de tempo de sono.

### **4.3 Modelo de depressão induzido por corticosterona**

Os animais receberam CORT (corticosterona, 21 acetato, Sigma- Aldrich, U.S.A) suspensa em solução salina, contendo 0,1% de dimetil sulfoxido (DMSO) e



0.1% Tween-80. A CORT foi administrada, uma vez ao dia, na dose de 20 mg/kg, por via subcutânea (s.c) durante 14 dias.

#### 4.4 Procedimento Experimental

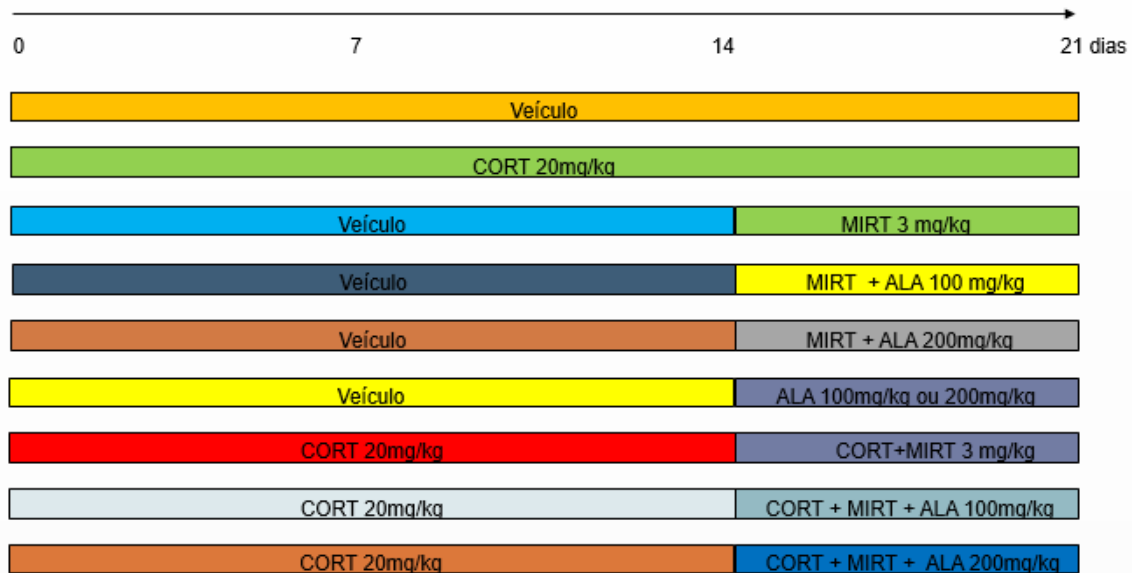
A Figura 3 representa o desenho experimental. No presente estudo avalia-se os efeitos comportamentais da administração repetida do ALA sozinho ou associado à MIRT no modelo de depressão induzido por CORT em camundongos conforme já descrito (ZHAO et al., 2008a).

Para estes experimentos foram utilizados camundongos machos (25-30g) divididos conforme os grupos experimentais abaixo:

- i) Grupo controle: os animais receberam uma injeção diária de 0,3% de tween 80, por via subcutânea (s.c) por 21 dias consecutivos;
- ii) Grupos tratados com CORT por 21 dias: os animais receberam uma injeção diária de CORT (20 mg/kg, s.c) (CORT 20) por 21 dias consecutivos para induzir um comportamento tipo-depressivo;
- iii) Grupos tratados com drogas sozinhas: os animais receberam uma injeção diária de 0,3% de tween 80, por via subcutânea (s.c) por 14 dias consecutivos. Entre o 15º e 21º dia, receberam MIRT (3 mg/kg) (MIRT 3) ou ALA (100 ou 200 mg/kg) (ALA 100 ou ALA 200), sozinhas associadas, via oral (v.o) por 7 dias consecutivos;
- iv) Grupos tratados com duas drogas associadas: nestes grupos os animais receberam uma injeção repetida de CORT (20 mg/kg, s.c.) durante 14 dias. Entre o 15º e 21º dia, os animais receberam CORT (20 mg/kg, s.c) + MIRT (3mg/kg) ou CORT (20 mg/kg, s.c) + ALA (100 ou 200 mg/kg). MIRT e ALA foram administrados por v.o. durante 7 dias;
- v) Grupos tratados com três drogas associadas: após 14 dias de tratamento com CORT (20 mg/kg, s.c.), os animais receberam CORT (20 mg/kg, s.c) + MIRT (3 mg/kg) e após intervalo de 1 hora receberam ALA (100 ou 200 mg/kg). MIRT e ALA foram

administrados por v.o. durante 7 dias, totalizando 21 dias de tratamento.

**Fig. 3 Representação esquemática do protocolo experimental.**



CORT: Corticosterona, Mirt: Mirtazapina, ALA: Ácido lipóico.

No vigésimo primeiro dia de tratamento, após uma hora após a administração, os animais foram submetidos aos testes comportamentais: campo aberto, labirinto em cruz elevado, suspensão de cauda, preferência por sacarose, *rota rod* e tempo de sono. Vinte e quatro horas após a realização destes testes os animais foram sacrificados por decapitação e foram retirados o córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE). As estruturas cerebrais foram homogeneizadas a 10% com tampão fosfato de potássio (pH 7,4) e centrifugadas por 10 minutos a 4°C. Em seguida, o sobrenadante foi separado e imediatamente utilizado para quantificar os níveis de GSH, nitrito e BDNF e a formação de peróxidos lipídicos pela mensuração das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

#### 4.5 Testes Comportamentais

*Teste de campo aberto (CA)*

A atividade locomotora foi avaliada através do teste de campo aberto (ARCHER, 1973). Este teste foi realizado em um campo (30 cm x 30 cm x 15 cm), dividido em nove partes iguais. O aparelho foi colocado em uma sala com luz vermelha. Os animais foram cuidadosamente colocados no centro do campo e foi permitido que eles explorassem livremente o cenário por 1 minuto (período de habituação). O parâmetro observado foi o número de quadrados cruzados (com as quatro patas) por um período de 5 minutos.

#### *Teste do Labirinto em cruz elevado (LCE)*

O labirinto em cruz elevado (LCE) (LISTER, 1987) consiste de dois braços abertos opostos (30 x 5 x 25 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25 cm), também opostos, em forma de cruz. Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm). A plataforma, as paredes laterais dos braços fechados são confeccionadas em acrílico transparente e o chão em acrílico preto. O aparelho está elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão. Uma hora após o tratamento com as substâncias que foram estudadas ou o veículo, os camundongos foram colocados no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento observado por 5 min. As medidas comportamentais registradas no LCE foram: número de entradas nos braços abertos (NEBA), número de entradas nos braços fechados (NEBF), tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e tempo de permanência nos braços fechados (TPBF). Compostos ansiolíticos reduzem a aversão do animal para os braços abertos e promovem sua exploração.

#### *Teste de suspensão de cauda (TSC)*

No teste da suspensão pela cauda, camundongos ficaram suspensos a 50 cm do chão por uma fita fixada a 1 cm a partir da ponta da cauda e o tempo de imobilidade durante uma sessão de 5 min foi registrado (STERU et al., 1985). Os animais foram testados individualmente após a administração de tratamento ou

veículo, sendo considerado imóvel apenas quando permaneceram passivamente suspenso.

#### *Teste de Preferência por Sacarose*

Para avaliar o comportamento de anedonia foi utilizado o teste de preferência por sacarose conforme descrito por (MAO et al., 2009). Resumidamente, 72 h antes do teste, os camundongos foram treinados para se adaptar 1% de solução de sacarose (w / v): duas garrafas de solução de sacarose a 1% foram colocadas em cada caixa e 24 h depois a garrafa com sacarose a 1% foi substituída por água da torneira, durante 24 h. Após a adaptação, os camundongos foram privados de comida e água durante 24 h. O teste de preferência por sacarose foi realizado às 9:00 horas. Os camundongos foram alojados em caixas individuais e estavam livres para acesso aos dois frascos contendo 100 ml de solução de sacarose (1% w / v) e 100 ml de água, respectivamente. Após 1 h, os volumes consumidos de solução de sacarose e água foram registados e a preferência de sacarose foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Preferência pela sacarose} = \frac{\text{consumo de sacarose}}{\text{consumo de água} + \text{consumo de sacarose}} \times 100\%.$$

#### *Teste da barra giratória - Rota Rod*

Este método permite avaliar a especificidade da ação nociceptiva de fármacos, verificando se estas promovem incoordenação motora dos animais, seja por sedação e/ou por relaxamento muscular. Para este teste os camundongos foram colocados com as quatro patas sobre uma barra de 2,5 cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso, em rotação de 12 rpm por 1 minuto. Foi registrado o tempo de permanência na barra giratória em segundos (s) (ROSLAND; HUNSKAAR; HOLE, 1990).

#### *Teste do tempo de sono (TS)*

Uma dose sub-hipnótica de tiopental sódico (35 mg/kg) foi injetada via intraperitoneal (i.p.) vinte minutos após a aplicação do veículo ou dos fármacos. O tempo de sono foi determinado como o intervalo entre a perda e a recuperação do reflexo de endireitamento (FERRINI; MIRAGOLI; TACCARDI, 1974). A perda do reflexo de endireitamento é a incapacidade que o animal apresenta de voltar à posição normal quando colocado em decúbito dorsal. O critério para a recuperação do reflexo em questão foi fixado quando o animal sair da posição por três vezes consecutivas (MATTEI et al., 1998).

#### **4.6 Determinação de parâmetros de estresse oxidativo**

##### *Determinação de Glutathiona Reduzida (GSH)*

Os níveis de GSH foram avaliados para estimar defesas endógenas contra o estresse oxidativo. O método é baseado na reação de reagente de Ellman (DTNB), com grupos tiol livres. As áreas do cérebro foram diluídas em tampão de 0,02 M de EDTA (10% w / v) e adicionadas a uma solução de ácido tricloroacético a 50%. Após centrifugação (3000 rpm/15 min), o sobrenadante do homogeneizado foi recolhido e os níveis de GSH foram determinados (SEDLAK; LINDSAY, 1968). Resumidamente, as amostras foram misturadas com 0,4 M de tampão tris-HCl, pH 8,9 e 0,01 M de DTNB. Níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculada com base numa curva padrão de glutathiona e expressos como µg de GSH/g de tecido úmido.

##### *Níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)*

A peroxidação lipídica foi avaliada pela mensuração de malondialdeído (MDA), substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos homogenatos. As amostras foram homogenizadas com tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM pH 7,4, 63µL do homogenato foi misturado a 100 µL de ácido perclórico 35%, sendo estas centrifugadas (7000 rpm/15 min), no qual 150 µL do sobrenadante foram recuperados e misturado com 50 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%, e em seguida,

estas amostras foram aquecidas em um banho de água fervente por 30 min. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada por absorbância a 535 nm e foi expressa como  $\mu\text{g}$  de MDA / g de tecido úmido (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

#### *Determinação dos níveis de Nitrito*

Para avaliar os efeitos de tratamentos com as respectivas drogas na produção de NO, foram determinados níveis de nitrito em homogenatos dos cérebros dos camundongos imediatamente após a decapitação em todos os grupos. Após centrifugação ( $800 \times g/10$  min), o sobrenadante do homogeneizado foi coletado e a produção foi determinada com base na reação de Griess (GREEN; GOLDMAN, 1981; RADENOVIC; SELAKOVIC, 2005). Para esse experimento 100  $\mu\text{L}$  do reativo de Griess (sulfanilamida a 1% / cloridrato de N-(1-naftil)- etilenediamina 0.1% / ácido fosfórico a 5% / água destilada, na proporção de 1:1:1:1) foi adicionado a 100  $\mu\text{L}$  do sobrenadante do homogenato tecidual e incubado a temperatura ambiente por 10 min. A curva padrão foi elaborada com várias concentrações de  $\text{NaNO}_2$  (variando de 0,75 a 100 mM) sob as mesmas condições e os brancos foram preparados pela adição de 100  $\mu\text{L}$  do reativo de Griess a 100  $\mu\text{L}$  do tampão usado para o homogenato. A absorbância foi medida em leitor de microplacas em 560 nm e foi expressa em nM de nitrito / g de tecido úmido.

#### *Determinação dos níveis de BDNF*

Esse ensaio foi realizado de acordo com as instruções do manual do kit Quantikine® human BDNF ELISA – R&D Systems. Os resultados foram expressos como pg/g de tecido úmido.

## 5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada através do *software* GraphPad Prism, versão 6.0 para Windows. Os resultados foram analisados através de *one-way* ANOVA seguida pelo teste de Tukey como teste *post hoc* para comparações múltiplas. O teste *t* foi utilizado no Labirinto em Cruz Elevado e BDNF. Valores significativos para as análises foram consideradas quando  $p < 0,05$ .

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Efeitos dos tratamentos com ALA ou mirtazapina, sozinhos ou associados, sobre as alterações comportamentais em modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT nos testes de CA e LCE. Separar os testes

Não houve alteração estatisticamente significativa no número de cruzamentos dos grupos tratados com CORT 20 ou MIRT 3 ou ALA (100 ou 200) ou MIRT 3 + ALA (100 ou 200) ou CORT 20 + MIRT 3 ou CORT 20 + MIRT 3 + ALA (100 ou 200) quando comparados com o grupo controle [ $F(9,160) = 2.597$ ;  $P = 0.0008$ ] (Fig. 4).

No mesmo teste, o estudo de *rearing* (Fig. 5) também não apresentou nenhuma alteração neste parâmetro quando comparado ao grupo controle, CORT 20, ALA (100 ou 200) ou MIRT 3, administrados sozinhos ou associados [ $F(9,116) = 1.899$ ;  $P = 0.0587$ ].

As administrações de CORT 20, MIRT 3, ALA (100 ou 200), MIRT 3 + AL (100 ou 200) não apresentaram alterações no número de *grooming* quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, os grupos associados CORT 20 + ALA (100 ou 200) + MIRT 3 apresentaram uma redução do número de *grooming* quando comparados aos grupos controle, CORT 20 ou MIRT 3 + ALA 100 [ $F(9,154) = 4.064$ ;  $P = 0.0001$ ] (Fig.6).

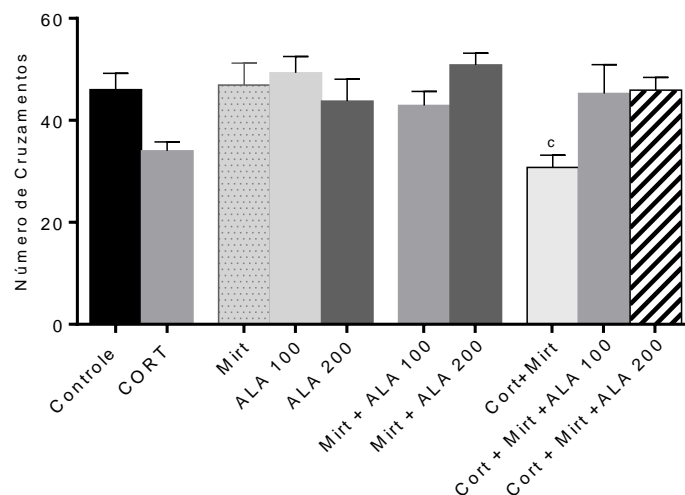
Em relação ao teste de LCE (Fig 7) a administração crônica de CORT 20 sozinha não mostrou alteração estatisticamente significativa no número de NEBA quando comparado ao grupo controle [ $P = 0.1228$ ]. Contudo, uma tendência a redução foi observada e comprovada pelo teste *t* [ $P = 0.0003$ ]. Os grupos MIRT 3 ou ALA (100 ou 200), sozinhos ou associados, não apresentaram alterações estatisticamente significativas quando comparados com o grupo controle ou entre si. O grupo CORT 20 + MIRT 3 apresentou um aumento no NEBA quando comparado com o grupo CORT 20 [ $F(9,155) = 4.349$ ;  $P < 0.0001$ ]. Outro parâmetro observado no teste de LCE foi o TPBA (Fig 8). A administração crônica de CORT 20, MIRT 3, ALA (100 ou 200) e MIRT 3 + ALA 100 não alteraram o TPBA quando comparado com o grupo controle. Contudo, o grupo MIRT 3 + ALA 200 apresentou um aumento no



TPBA quando comparado com os grupos controle [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 [ $P = 0.0035$ ] ou ALA 200 [ $P = 0.0008$ ]. Efeitos semelhantes foram observados com os grupos CORT 20 + MIRT 3 ou CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 quando comparado com os grupos controle [ $P < 0.0001$ ], CORT20 [ $P < 0.0001$ ] ou MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ]. Já associação CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 aumentou o TPBA quando comparado aos grupos controle [ $P < 0.0001$ ], CORT 20 [ $P < 0.0001$ ], ALA 200 [ $P = 0.0371$ ] e reduziu quando comparado a CORT 20 + MIRT 3 [ $P = 0.0084$ ].

**Fig.4. Número de Cruzamentos dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

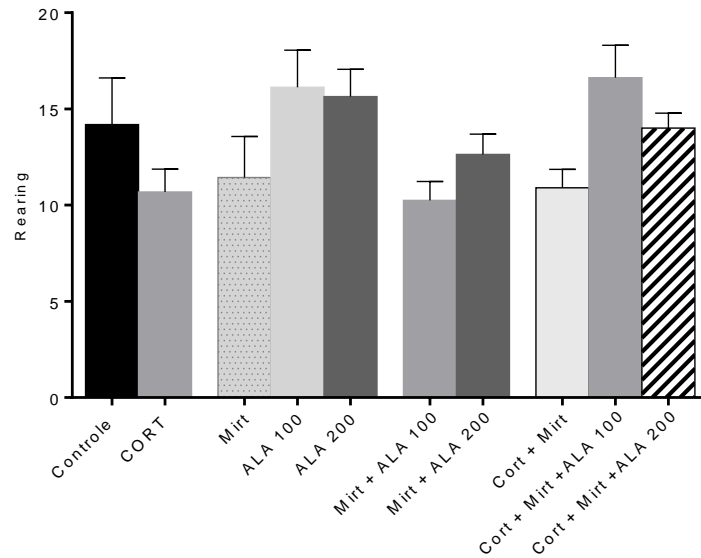
Fig. 4



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 14-21$  animais por grupo) do número de cruzamentos. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

**Fig.5. Número de *rearing* dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

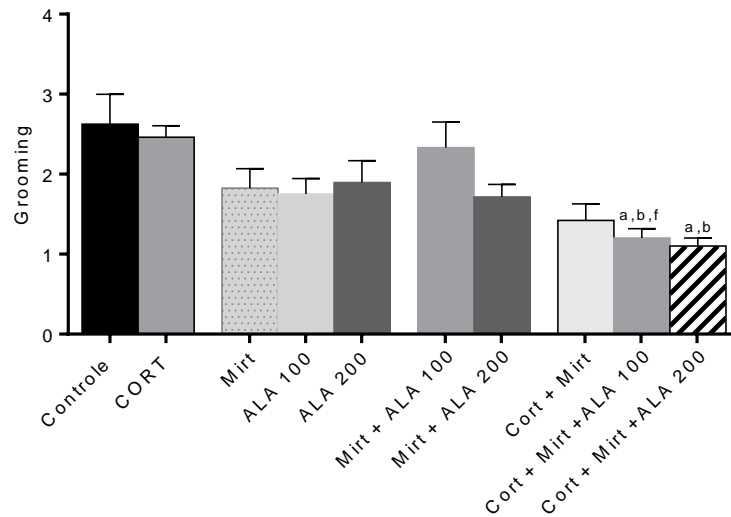
Fig.5



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 16-21$  animais por grupo) do número de *rearing*. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

**Fig.6. Número de *grooming* dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

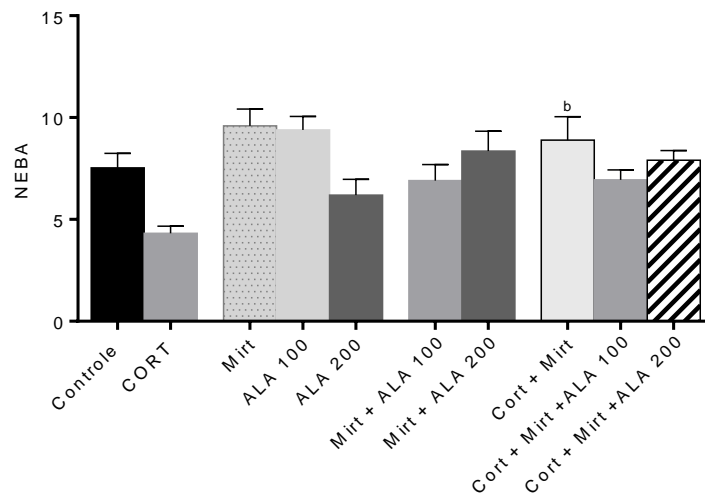
Fig.6



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 10-21$  animais por grupo) do número de *grooming*. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

**Fig.7. Número de entrada nos braços abertos (NEBA) no LCE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

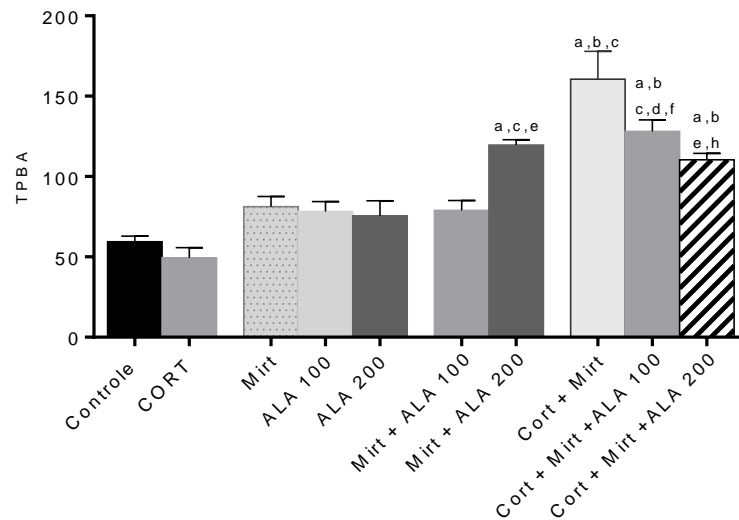
Fig. 7



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 18-21$  animais por grupo) do NEBA. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

**Fig.8. Tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no LCE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

Fig. 8



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 10-21$  animais por grupo) do TPBA. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

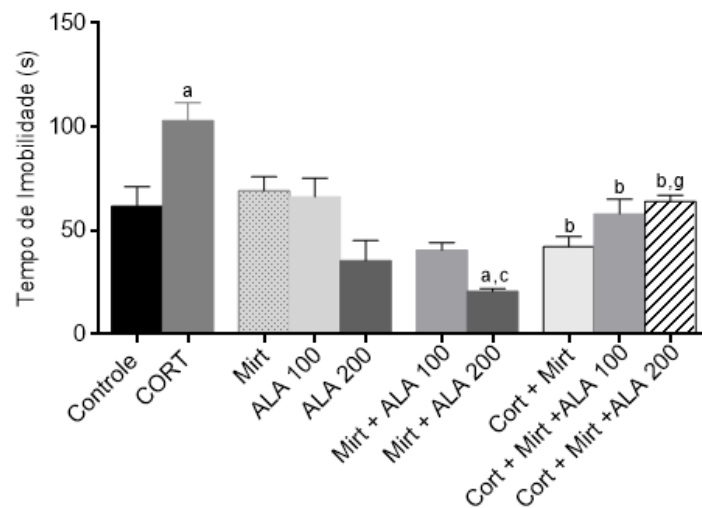
## **6.2 Efeitos dos tratamentos com ALA ou mirtazapina, sozinhos ou associados, sobre as alterações comportamentais em modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT no teste de TSC**

Como mostra a figura 9, no TSC a administração crônica de CORT 20 sozinha aumentou significativamente o tempo de imobilidade dos animais quando comparado com o grupo veículo [ $F(9,76) = 12.33$ ;  $P = 0.0018$ ]. Os grupos MIRT 3, ALA (100 ou 200) e MIRT 3 + ALA 100 não apresentaram alterações estatisticamente significantes no tempo de imobilidade dos animais quando comparados com o grupo controle ou entre si. No entanto, os animais tratados com MIRT 3 + ALA 200 apresentaram uma redução no tempo de imobilidade quando comparados com os grupos controle [ $P = 0.0008$ ] ou MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ]. Efeitos

semelhantes foram observados nos grupos associados a CORT (CORT 20 + MIRT 3; CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 ou 200] quando comparado ao CORT 20 sozinho. No entanto o grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 apresentou um aumento no tempo de imobilidade quando comparado ao grupo MIRT 3 + ALA 200 [P= 0.0001].

**Fig.9. Tempo de imobilidade no TSC dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

Fig.9



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) (n = 10-11 animais por grupo) do tempo de imobilidade. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

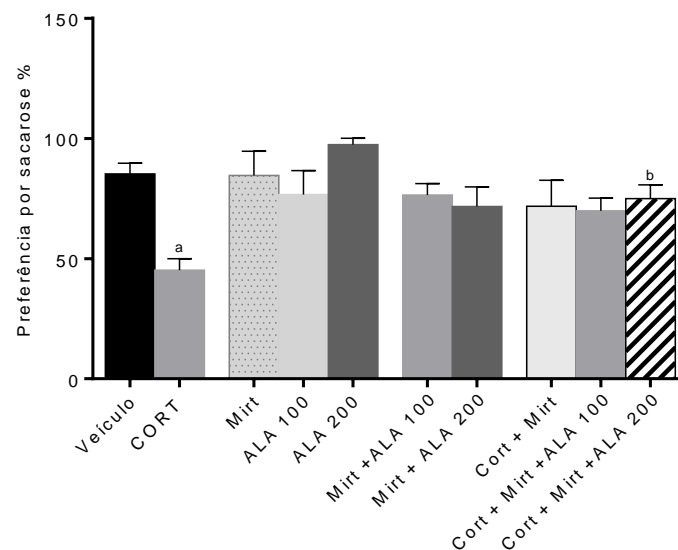
### 6.3 Efeitos dos tratamentos com ALA ou mirtazapina, sozinhos ou associados, sobre as alterações comportamentais em modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT no teste de Preferência por sacarose

Como mostra a figura 10, somente a administração crônica de CORT 20 sozinha reduziu significativamente a preferência por sacarose dos animais quando

comparado com controle [ $F(9,51) = 4.570$ ;  $P = 0.0017$ ]. Contudo, embora os grupos associados (CORT 20 + MIRT 3; CORT 20 + MIRT + ALA 100) tenham apresentado uma tendência para retornar os valores do controle, somente o grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 apresentou um aumento significativo em relação ao grupo CORT 20 [ $P = 0.0486$ ].

**Fig.10. Preferência por sacarose dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

Fig. 10



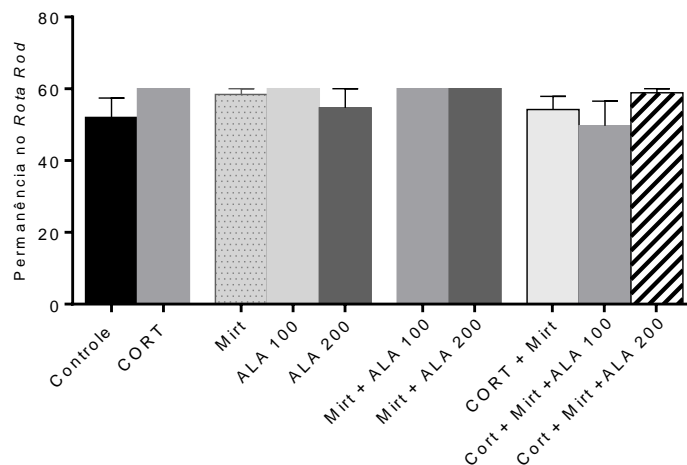
Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 8-10$  animais por grupo) da preferência por sacarose. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

**6.4 Efeitos dos tratamentos com ALA ou mirtazapina, sozinhos ou associados, sobre as alterações comportamentais em modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT no teste de *Rota rod***

A figura 11 mostra que no teste *Rota rod* não houve alteração estatisticamente significativa em nenhum dos grupos em relação aos grupos controle, CORT 20, ALA (100 ou 200) ou MIRT 3, administrados sozinhos ou associados [F(9,90)= 1.273; P =0.2624].

**Fig.11. Tempo de permanência no *Rota Rod* dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

Fig.11



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) (n = 09-11 animais por grupo) do tempo de permanência. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

### 6.5 Efeitos dos tratamentos com ALA ou mirtazapina, sozinhos ou associados, sobre as alterações comportamentais em modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT no teste de Tempo de sono (TS)

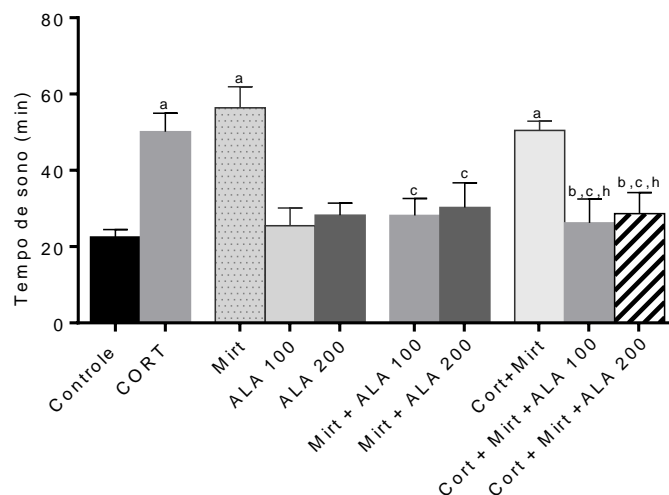
Como mostra a figura 12, o tratamento crônico dos animais com CORT 20, MIRT 3, sozinhos ou associados, resultou em um aumento significativo do tempo de sono dos animais quando comparado com ao grupo controle [F(9,71)= 7.736; P= 0.008]. Não foram observadas alterações significativas no tempo de sono dos animais tratados com ALA (100 ou 200) sozinhos ou associados com MIRT 3 (MIRT



3 + ALA 100 ou 200) quando comparados ao controle. Contudo, foram observados um aumento no tempo de sono dos animais tratados com CORT 20 + MIRT 3 quando comparados com o grupo controle [ $P = 0.0090$ ]. Por outro lado, as associações com presença de CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 ou 200 apresentaram uma redução do TS quando comparado aos grupos de CORT 20 [ $P = 0.0090$ ] ou [ $P = 0.0284$ ], ou MIRT 3 sozinhos [ $P = 0.0034$ ] ou [ $P = 0.0099$ ] ou associados (CORT 20 + MIRT 3) [ $P = 0.0026$ ] ou [ $P = 0.0102$ ].

**Fig.12. Tempo de sono dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

Fig.12



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 08-13$  animais por grupo) do tempo de sono. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

## 6.6 Determinação dos parâmetros de estresse oxidativo

### 6.6.1 Determinação dos níveis de GSH

As figuras 13A, 13B e 13C mostram os níveis de GSH no CPF, HC e CE de camundongos, respectivamente. A figura 13A mostrou que a administração crônica de CORT 20, MIRT 3, ALA 100, MIRT 3 + ALA 100 ou 200, CORT 20 + MIRT 3 ou CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 não apresentaram alterações nos níveis de GSH no CPF dos animais quando comparados com o grupo controle. Contudo, ALA 200 reduziu as concentrações de GSH quando comparado ao controle [ $F(9,41) = 12.32$ ;  $P = 0.00194$ ]. Esse efeito do ALA 200 foi revertido pela associação com MIRT 3 (MIRT 3 + ALA 200) [ $P = 0.0219$ ]. Efeito semelhante foi observado com o grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 quando comparado com controle, CORT 20, MIRT 3 ou ALA 200 [ $P < 0.0001$ ] e também com as associações MIRT 3 + ALA 200 [ $P = 0.0003$ ] ou CORT 20 + MIRT 3 [ $P = 0.0001$ ].

Como mostra a Fig. 13B, a administração de CORT 20, MIRT 3, ALA 100 ou 200, MIRT 3 + ALA 100 ou 200, CORT 20 + MIRT 3 ou CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 não apresentaram alterações nos níveis de GSH no HC dos animais quando comparados com o grupo controle, exceto o grupo tratado com a associação de MIRT 3 + ALA 200 que apresentou uma redução quando comparado com o grupo tratado com ALA 200 [ $F(9,58) = 11,46$ ;  $P = 0.0077$ ]. Já o grupo tratado com CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 apresentou elevação quando comparado com os grupos tratado com controle [ $P < 0.0001$ ], CORT 20 [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ], ALA 200 [ $P = 0.0046$ ], MIRT 3 + ALA 200 [ $P < 0.0001$ ], CORT 20 + MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ] e CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 [ $P < 0.0001$ ].

A Fig. 13C mostra que administração de CORT 20, MIRT 3, ALA 100 ou 200, MIRT 3 + ALA 100 ou 200, CORT 20 + MIRT 3 ou CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 não apresentaram alterações nos níveis de GSH no CE dos animais quando comparados com o grupo controle ou entre si. No entanto, o grupo tratado com CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 apresentou um aumento nos níveis de GSH no CE quando comparado com os grupos controle [ $F(9,62) = 6.696$ ;  $P = 0.0144$ ], CORT 20 [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 [ $P = 0.0005$ ], ALA 200 [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 + ALA 200 [ $P < 0.0001$ ], CORT 20 + MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ] ou CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 [ $P = 0.0062$ ].

**Fig.13. Níveis de GSH (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

Fig.13 A

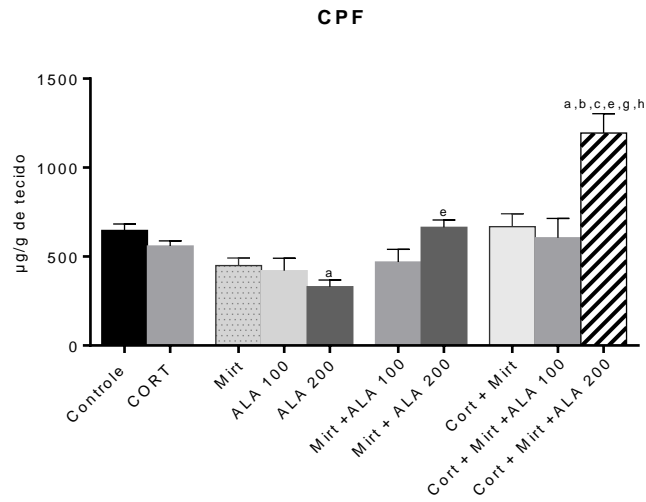


Fig.13B

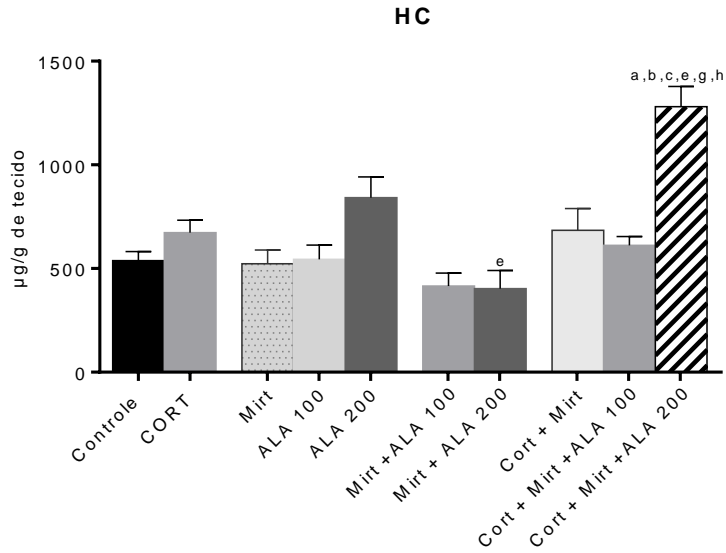
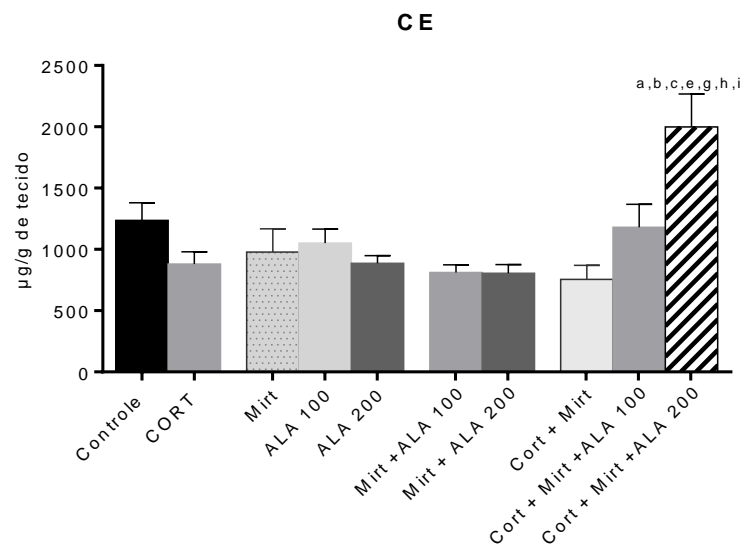


Fig.13C



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 08$  animais por grupo) dos níveis de GSH. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

### 6.6.2 Determinação dos níveis de TBARS

As Figuras 14A, 14B e 14C mostram os níveis de MDA, um marcador da peroxidação lipídica, no CPF, HC e CE de camundongos, respectivamente. Como mostra a figura 14A, o tratamento crônico com CORT 20 aumentou significativamente os níveis de MDA no CPF quando comparado com o grupo controle [ $P < 0.0001$ ]. Os grupos MIRT 3 ou ALA (100 ou 200) administrados sozinhos não mostraram alterações quando comparados com o grupo controle. Já os grupos MIRT 3 + ALA (100 ou 200) associados mostraram aumento nos níveis de MDA quando comparados com o grupo controle [ $P < 0.0001$ ] [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 [ $P = 0.0002$ ] [ $P = 0.0019$ ] ou ALA 100 [ $P = 0.0138$ ] ou ALA 200 [ $P = 0.0023$ ], respectivamente. Assim como as associações com CORT 20 (CORT 20 + MIRT 3, CORT 20 + MIRT 3 + ALA (100 ou 200) [ $F(9,60) = 20.50$ ;  $P < 0.0001$ ]. Exceto o grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 apresentou uma redução quando comparado com o CORT 20 [ $P = 0.0018$ ].

A figura 14B mostra que administração de CORT 20 sozinha resultou em um aumento significativo dos níveis de MDA no HC quando comparado com o grupo controle [ $F(9,64) = 52.23$ ;  $P < 0.0001$ ]. Os grupos tratados com MIRT 3, ALA (100 ou 200) administrados sozinhos não apresentaram alterações quando comparados com o grupo tratado controle. Por outro lado, os grupos MIRT 3 + ALA (100 ou 200) mostraram um aumento nos níveis de MDA quando comparados com os grupos controle [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ], ALA 100 [ $P < 0.0001$ ] ou ALA 200 [ $P < 0.0001$ ], respectivamente. Os grupos associados com CORT 20 (CORT 20 + MIRT 3; CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100) mostraram elevação nos níveis de MDA quando comparados com os grupos controle [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ] e ALA 100 [ $P < 0.0001$ ] e uma redução quando comparados com o grupo CORT 20 [ $P < 0.0001$ ]. O grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 apresentou diminuição nos níveis de MDA quando comparado com os grupos CORT 20 [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 + ALA 200 [ $P < 0.0001$ ] ou CORT 20 + MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ].

A figura 14C mostra que a administração de CORT 20 resultou em um aumento significativo dos níveis de MDA no CE quando comparado com o grupo controle [ $F(9,68) = 24.07$ ;  $P < 0.0001$ ]. Os grupos MIRT 3, ALA (100 ou 200) administrados sozinhos não apresentaram alterações quando comparados com o grupo controle. Por outro lado, os grupos MIRT 3 + ALA 100 ou 200 mostraram uma elevação nos níveis de MDA quando comparados com os grupos controle [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ], ALA 100 [ $P < 0.0001$ ] ou ALA 200 [ $P < 0.0001$ ], respectivamente. Nos grupos associados com CORT 20, o grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100, mostrou uma elevação nos níveis de MDA quando comparados com os grupos controle [ $P = 0.0008$ ], MIRT 3 [ $P = 0.0008$ ] ou ALA 100 [ $P = 0.0037$ ] e uma redução quando comparado com o grupo MIRT 3 + ALA 100 [ $P = 0.0192$ ]; o grupo tratado com CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 apresentou uma redução quando comparados com CORT 20 [ $P < 0.0001$ ], MIRT 3 + ALA 200 [ $P < 0.0001$ ] ou CORT 3 + MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ].

Fig.14. Níveis de MDA (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.

Fig.14A

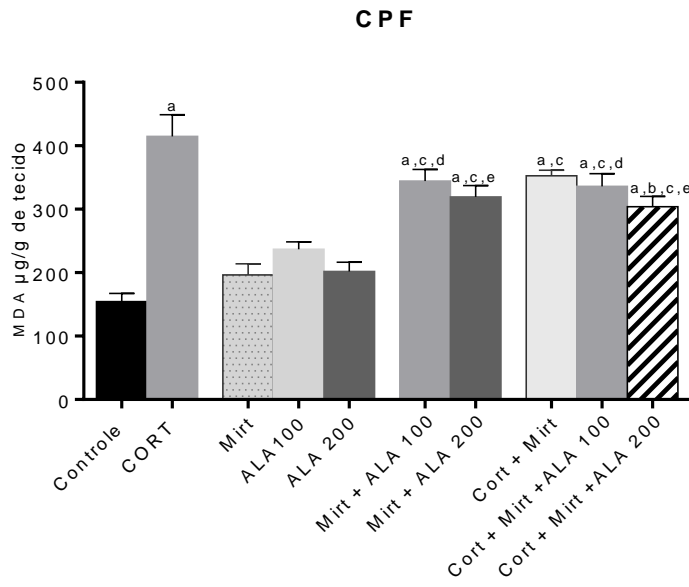


Fig.14B

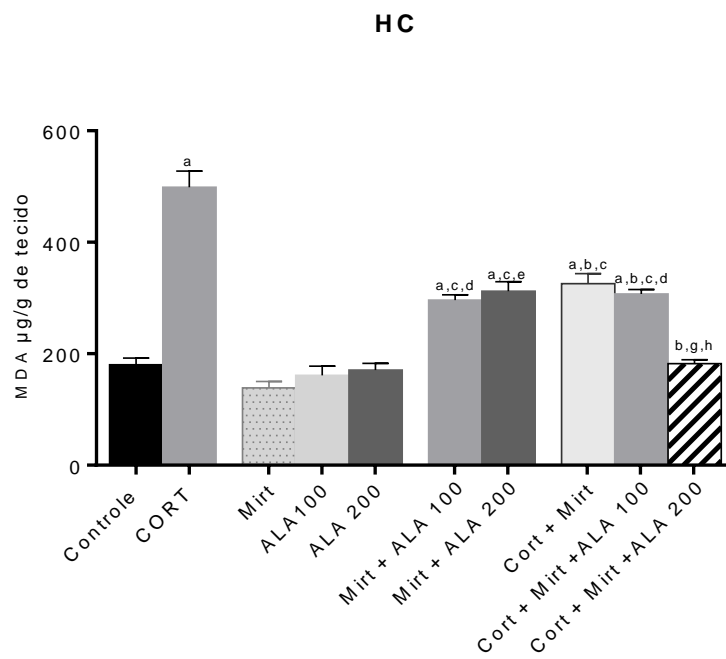
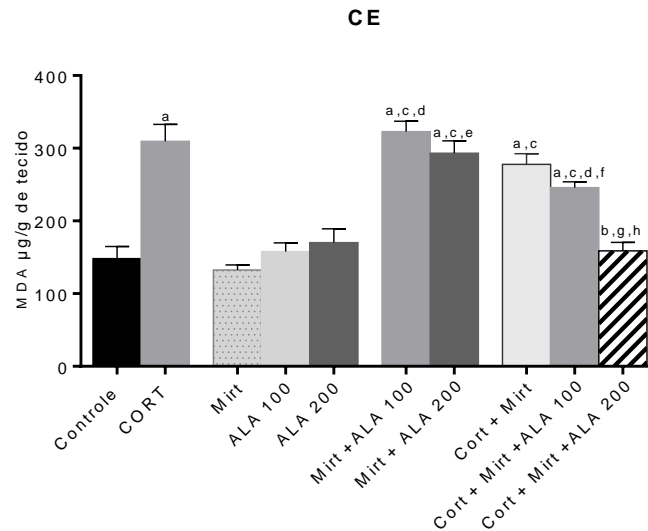


Fig.14C



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 08$  animais por grupo) dos níveis de MDA. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

### 6.6.3 Determinação dos níveis de nitrito

As Figuras 15A, 15B e 15C mostram os níveis de nitrito no CPF, HC e CE de camundongos, respectivamente. A figura 15A mostra que o tratamento com CORT 20, administrada sozinha, resultou em um aumento significativo dos níveis de nitrito no CPF quando comparado com o grupo controle [ $F(9,45) = 10.86$ ;  $P < 0.0001$ ]. Os grupos MIRT 3 ou ALA 200 administrados sozinhos ou associados não houve alteração significativa quando comparados com os grupos tratados com controle. O grupo ALA 100 apresentou uma redução quando comparado com o grupo CORT 20 [ $P = 0.0003$ ]. O grupo CORT 20 + MIRT 3 apresentou um aumento nos níveis de nitrito quando comparado com o grupo MIRT 3 [ $P = 0.0005$ ]. O grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 apresentou aumento nos níveis de nitrito quando comparado com o grupo MIRT 3 [ $P = 0.0019$ ]. O grupo com CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 apresentou uma redução quando comparado com o grupo CORT 20 [ $P = 0.0030$ ].

No HC, como mostra a figura 15B, mostra que o grupo CORT 20 apresentou um aumento significativo dos níveis de nitrito quando comparado com o

grupo controle [ $F(9,63) = 14.60$ ;  $P < 0.0001$ ]. Os grupos MIRT 3, ALA (100 ou 200) sozinhos não mostraram alteração quando comparados com o grupo controle. O grupo MIRT 3 + ALA 100 mostrou uma elevação quando comparado com o grupo controle [ $P = 0.0039$ ] ou ALA 100 [ $P = 0.0020$ ]. Efeito semelhante ao encontrado nos grupos MIRT 3 + ALA 200 e CORT 20 + MIRT 3, quando comparados ao controle [ $P = 0.0135$ ] e [ $P < 0.0001$ ], respectivamente. O grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 apresentou uma elevação nos níveis de nitrito quando comparado com os grupos controle [ $P < 0.0001$ ] ou ALA 100 [ $P < 0.0001$ ]. Já o grupo CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 mostrou uma redução quando comparado com os grupos CORT 20 [ $P < 0.0001$ ] ou CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 [ $P = 0.0412$ ].

No CE, conforme a figura 15C, mostra que os grupos CORT 20 ou MIRT 3 sozinhas resultaram em um aumento significativo dos níveis de nitrito quando comparado com o grupo controle [ $F(9,54) = 26.86$ ;  $P < 0.0001$ ]. Os grupos ALA (100 ou 200) administrados sozinhos ou associados com MIRT 3 não mostraram alteração nos níveis de nitrito quando comparados com o grupo controle. Os grupos associados com CORT 20 (CORT 20 + MIRT 3 ou CORT 20 + MIRT 3 + ALA (100 ou 200) apresentaram uma redução significativa nos níveis de nitrito quando comparados com o grupo CORT 20 [ $P < 0.0001$ ].



**Fig.15. Níveis de nitrito (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

Fig.15A

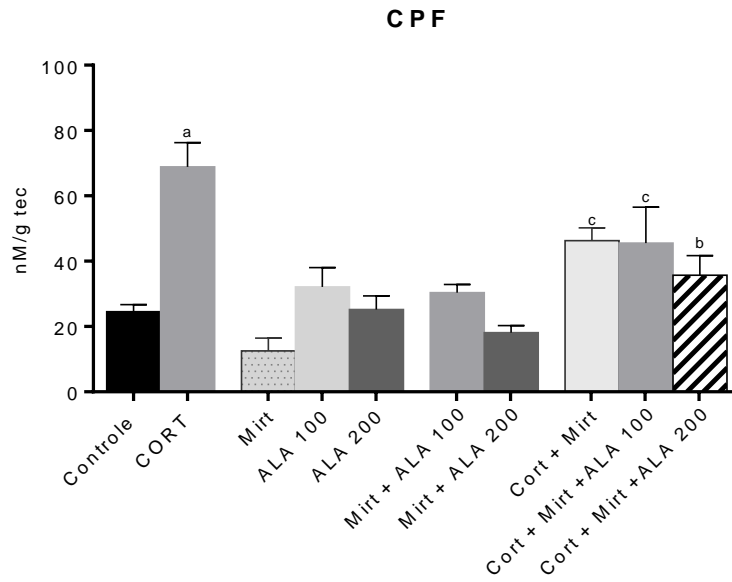


Fig.15B

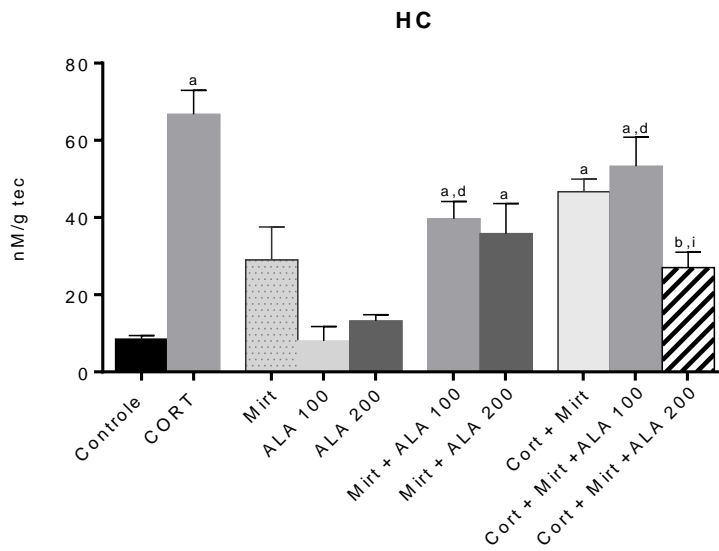
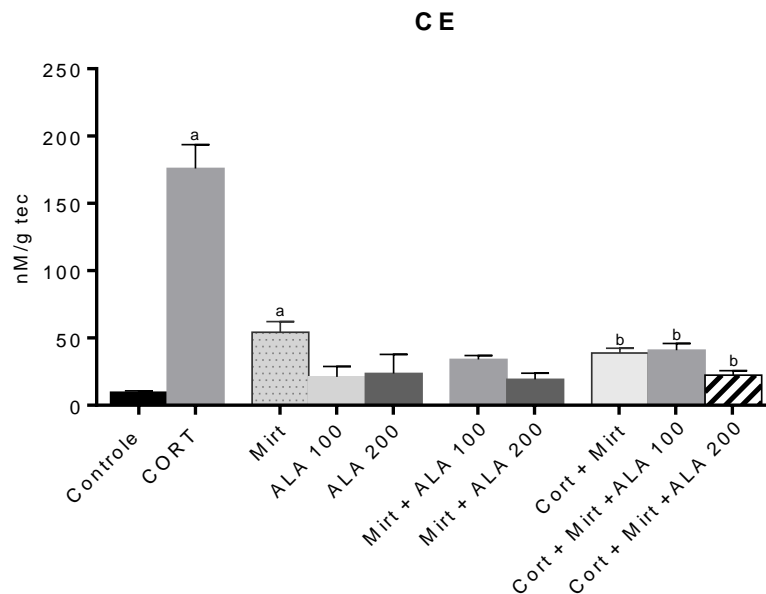


Fig.15C



Cada barra representa a média  $\pm$  erro padrão da média (SEM) ( $n = 08$  animais por grupo) dos níveis de nitrito. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

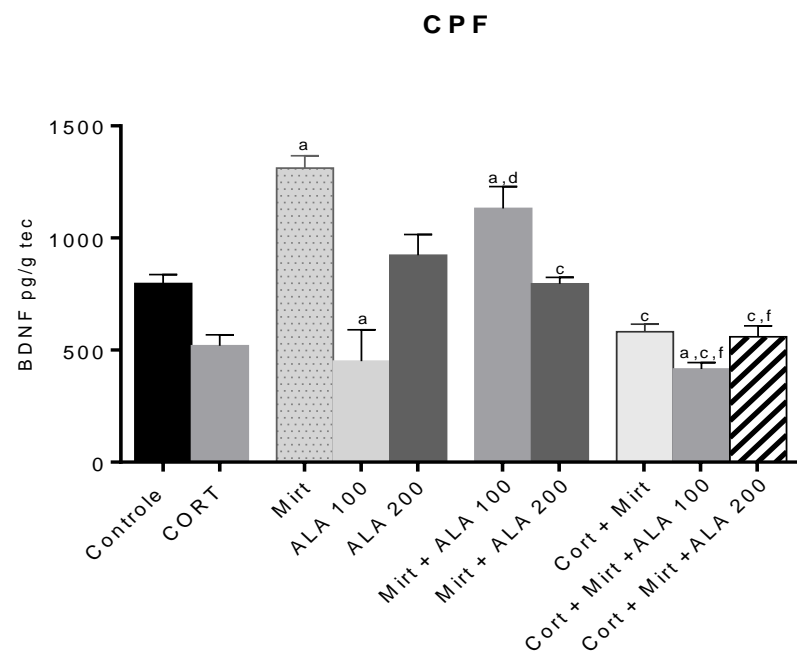
## 6.7 Determinação dos níveis de BDNF

A Figura 16 mostra o nível de BDNF no CPF de camundongos. O grupo CORT 20 não apresentou significativa dos níveis de BDNF quando comparado com o grupo tratado controle. Comparados com o grupo controle, os grupos MIRT 3 [ $P= 0.0008$ ] e MIRT 3 + ALA 100 [ $P= 0.0357$ ] apresentaram uma elevação nos níveis de BDNF. Já os grupos ALA 100 [ $P= 0.0269$ ] e CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 [ $P= 0.0100$ ] apresentaram uma redução quando comparado com o controle. O grupo MIRT 3 + ALA 100 apresentou um aumento nos níveis de BDNF quando comparado com ALA 100 [ $P < 0.0001$ ]. Os grupos MIRT 3 + ALA 200 [ $P= 0.0008$ ], CORT 20 + MIRT 3 [ $P < 0.0001$ ], CORT 20 + MIRT 3 + ALA 100 [ $P < 0.0001$ ] e CORT 20 + MIRT 3 + ALA 200 [ $P < 0.0001$ ] apresentaram uma redução nos níveis de BDNF quando comparados com o grupo MIRT 3. Os grupos CORT 20 + MIRT 3 + ALA (100 ou

200) apresentou uma redução quando comparado com o grupo MIRT 3 + ALA 100 [F(9,44) = 16.14; P<0.0001].

**Fig.16. Nível de BDNF no CPF dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com MIRT, ALA ou sua combinação.**

Fig.16



Cada barra representa a média ± erro padrão da média (SEM) (n = 06 animais por grupo) do nível de BDNF. As letras representam o nível de significância quando comparado ao controle (a), CORT (b), MIRT (c), ALA 100 (d), ALA 200 (e), MIRT+ALA 100 (f), MIRT+ALA 200 (g), CORT+MIRT (h), CORT+MIRT+ALA 100 (i) de acordo *one-way* ANOVA seguido pelo teste de *post hoc* Tukey. CORT = Corticosterona; MIRT = Mirtazapina; ALA 100 ou 200 = Ácido Lipóico 100 ou 200 mg/kg.

## 7 DISCUSSÃO

O presente estudo investiga o efeito do ALA, um potente antioxidante, administrado sozinho ou associado com um antidepressivo, MIRT, nos efeitos comportamentais e neuroquímicos em modelo animal de depressão induzido por CORT em camundongos.

Diversos estudos têm mostrado a disfunção de eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) em doenças relacionadas ao estresse, incluindo depressão (JURUENA; CLEARE; PARIANTE, 2004; SWAAB; BAO; LUCASSEN, 2005). O eixo HHA é ativado em resposta ao estresse, o que resulta em aumento da concentração de glicocorticóides no sangue (SWAAB; BAO; LUCASSEN, 2005). Em condições normais, o nível de glicocorticoides no sangue é regulado por um mecanismo de *feedback* negativo. No entanto, em pacientes com depressão ocorre uma alta concentração de glicocorticoides no sangue em comparação com controles saudáveis devido a uma disfunção do mecanismo de *feedback* (WATSON; MACKIN, 2006).

A administração exógena de CORT tem sido usada como modelo de depressão em roedores devido a alterações tipo-depressão nos traços comportamentais, neuroquímicos e nas estruturas cerebrais (ZHAO et al., 2008b). Estes resultados sugerem que o modelo de depressão induzido por CORT é adequado para avaliar mecanismos de ação e eficácia de potenciais antidepressivos, como o ALA, considerando o aumento do tempo de imobilidade no TSC usado para validar o modelo.

Resultados inconsistentes são encontrados em estudos experimentais realizados com a administração crônica de CORT exógena. Alguns estudos mostraram que a CORT aumenta a ansiedade, ao passo que outros não encontraram alteração nesse comportamento (GREGUS et al., 2005; SILVA et al., 2013a; SKÓRZEWSKA et al., 2006).

Nossos resultados mostraram que a CORT apresentou uma tendência a induzir ansiedade quando se leva em conta a diminuição do NEBA no LCE. A MIRT associada à CORT foi capaz de aumentar o NEBA quando comparado ao grupo CORT sozinha. No entanto, o ALA sozinho ou em associação não causou alteração

neste parâmetro. Por outro lado, a administração de CORT associada com ALA (100 ou 200) e MIRT apresentou um efeito ansiolítico quando comparado a CORT sozinha no TPBA.

Dados na literatura mostram efeitos ansiolíticos do ALA em roedores (SILVA et al., 2014). A MIRT também apresenta efeito ansiolítico. Um estudo feito com a prazosina, um antagonista  $\alpha_1$  seletivo, suprimiu completamente as respostas do tipo ansiolíticas da mirtazapina. Esses achados provavelmente ressaltam a importância da ativação mediada pelo receptor  $\alpha_1$  de neurônios de 5-HT nas ações ansiolíticas induzidas pela mirtazapina (KAKUI et al., 2009).

Estudos sugerem fortemente a importância relativa da neurotransmissão serotoninérgica e, pelo menos, em parte, da ativação pós-sináptica do receptor de 5-HT<sub>1A</sub> no efeito ansiolítico da MIRT (ANTTILA; LEINONEN, 2001; KAKUI et al., 2009).

Neste estudo, verificou-se que a administração de CORT causou um aumento no tempo de imobilidade dos animais no TSC. Esses achados estão de acordo com estudos anteriores (ALI et al., 2015; DWIVEDI; RIZAVI; PANDEY, 2006; ZHAO et al., 2008b, 2009). Esse efeito da CORT foi revertido pela associação MIRT e ALA 100 ou 200. Contudo, a administração de MIRT e ALA associada, na ausência de CORT, teve melhor efeito quando comparado com MIRT e ALA 200 na presença de CORT.

Essa reversão no tempo de imobilidade no TSC pode ser explicada pelo efeito antidepressivo do ALA (SILVA et al., 2013b) que decorre do seu efeito neuroprotetor (DE ARAÚJO et al., 2011; SALAZAR, 2000). Juntamente com o aumento da neurotransmissão de serotonina e noradrenalina promovido pela MIRT (CROOM; PERRY; PLOSKER, 2009).

Outro sintoma bastante característico da depressão é a anedonia. Que se caracteriza pela diminuição da capacidade de resposta a recompensas, que no teste de preferência por sacarose é mostrado através de uma redução do consumo da solução açucarada (WILLNER, 1997, 2005).

No presente estudo, os nossos dados estão de acordo com outros achados (GOURLEY; WU; TAYLOR, 2008; MAO et al., 2012, 2014) que mostram que a administração crônica de CORT resulta em significativa diminuição no

percentual de consumo de sacarose pelos animais. A administração de ALA ou MIRT, sozinhos ou associados, mostrou uma tendência à reversão, contudo esse efeito só foi significativo na associação com a maior dose de ALA, sugerindo uma ação antidepressiva do ALA. Um ponto importante desse resultado, foi visto um melhor efeito antidepressivo quando a MIRT foi associada ao ALA 200, sugerindo um sinergismo nessa associação.

A depressão frequentemente é acompanhada de distúrbios do sono, como insônia ou hipersonia (MURPHY; PETERSON, 2015). É visto na literatura que um grande problema na utilização da MIRT, é a sua ação sedativa, que muitas vezes é vista como efeito colateral, pois é limitante nas atividades diárias. Isto decorre da sua atividade antagonista sobre os receptores histaminérgicos H1 (CROOM; PERRY; PLOSKER, 2009; PEÑA et al., 2005).

CORT e MIRT apresentaram um efeito sedativo no teste de tempo de sono. Contudo, a associação da MIRT e ALA (100 ou 200) conseguiu bloquear este efeito da CORT e MIRT. A vantagem da associação foi a perda desse efeito sedativo, mostrando assim que o paciente pode usar MIRT e não ter seu efeito sedativo. Um fato importante observado foi que o ALA bloqueia o efeito sedativo da MIRT mesmo na ausência da CORT, usado como modelo de depressão.

O estresse oxidativo desempenha papel significativo na fisiopatologia da depressão através de ações de radicais livres e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Os produtos do estresse oxidativo representam parâmetros importantes para medir e prever o estado de depressão, bem como para determinar a eficácia dos antidepressivos administrados (CEKIĆ et al., 2010).

O GSH possui papel central na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008). Dados na literatura mostram que concentrações elevadas de GC estão associadas ao estresse oxidativo (MCEWEN, 2008; ZAFIR; BANU, 2009).

Contudo, no presente estudo a CORT não apresentou alterações significativas nas concentrações de GSH no CPF, HC ou CE. Todavia, a associação de CORT, ALA na maior dose e MIRT apresentou um aumento de 113 %, 90,27 % e

127% no CPF, HC e CE, respectivamente em relação aos animais tratados com CORT.

O ALA e o DHLA são potentes antioxidantes mitocondriais, promovem o aumento de GSH (PAGANO et al., 2014; SALINTHONE et al., 2008) e a MIRT tem efeitos quimioprotetores contra o estresse oxidativo, o que pode ser atribuído à sua capacidade antioxidante (GULEC et al., 2013).

Nossos resultados mostram que há um sinergismo entre as ações antioxidantes do ALA e da MIRT, porém, esse efeito só é observado na presença de um estímulo estressor como a CORT.

O malondialdeído (MDA) é um produto da decomposição dos ácidos graxos insaturados em suas cadeias essenciais através de oxidação e é aceito como um marcador confiável de estresse oxidativo (NOBRE JÚNIOR; DE FRANÇA FONTELES; MENDES DE FREITAS, 2009). Em diversos estudos, foram encontrados elevados níveis de MDA na depressão (RYBKA et al., 2013; SARANDOL et al., 2007).

No presente estudo, a administração de CORT induziu a peroxidação lipídica, evidenciando assim, dano oxidativo. Isto se mostrou através do aumento dos níveis de MDA no CPF, HC e CE. Houve uma redução significativa nos níveis de MDA nas áreas estudadas quando houve a associação de MIRT + ALA 200 em relação ao grupo CORT sozinha. Contudo, no HC essa reversão foi vista em todas as associações (CORT + MIRT e CORT + MIRT + ALA 100 ou 200). Um dado interessante foi um efeito sinérgico promovido pela associação da MIRT com ALA 200 (CORT + MIRT + ALA 200) quando comparado com CORT + MIRT no HC e CE, sugerindo a importância da associação do ALA 200 com MIRT na diminuição do estresse oxidativo. No CPF não foi encontrada essa alteração.

O nitrito é frequentemente usado como marcador do NO, pois em solução aquosa, o NO reage com o oxigênio molecular e se acumula no plasma/soro como os íons nitrito (NO-2) e nitrato (NO-3) (FAGO; JENSEN, 2015). Estudos pré-clínicos e clínicos revelaram que a depressão está associada com níveis alterados de marcadores de estresse oxidativo e concentrações reduzidas de vários compostos antioxidantes endógenos (GSH, vitamina E, zinco e coenzima Q10). Estes

parâmetros de estresse oxidativo pode ser normalizado pela terapia com antidepressivos (SIWEK et al., 2013).

CORT apresentou um aumento significativo nas concentrações de nitrito nas áreas cerebrais estudadas (180% CPF, 682% HC, 1.027% CE%). No CPF a administração de MIRT e ALA não revertem o efeito, exceto na maior dose de ALA. Isto também foi observado no HC (maior dose de ALA). Somente no CE, os grupos associados com CORT (CORT + MIRT, CORT + ALA 100 ou 200 + MIRT) apresentaram uma reversão nas concentrações de nitrito semelhantes.

Os resultados mostram que a associação de ALA, na maior dose, com MIRT tem efeito sinérgico e por isso, mostram a reversão dos parâmetros oxidativos.

Pesquisas tem mostrado que, juntamente com a atividade do eixo HHA, várias outras cascatas de sinalização intracelular também influenciam o mecanismo fisiopatológico da depressão (MANJI; DUMAN, 2001; PERITO; FORTUNATO, 2012). O papel do BDNF na depressão e o mecanismo de ação de drogas antidepressivas é bem documentado (MIDDELDORP et al., 2010).

Neste estudo, a CORT mostrou uma tendência a reduzir os níveis de BDNF. Estes resultados estão de acordo com a teoria neurotrófica da depressão, que diz que o nível de BDNF pode ser esperado baixo em modelos de roedores de depressão (NESTLER et al., 2002).

A administração de MIRT promoveu uma elevação dos níveis de BDNF no CPF, que está de acordo com estudos anteriores (CALABRESE et al., 2007; ENGEL et al., 2013). A administração de MIRT sozinha ou associada com ALA 100 mostrou níveis elevados de BDNF. Isto pode ser explicado pelo efeito neuroprotetor da MIRT e do ALA (DE ARAÚJO et al., 2011; ENGEL et al., 2013). Entretanto, esse efeito neuroprotetor da MIRT e do ALA não foi capaz de reverter o efeito estressor quando associado com CORT.



## 8 CONCLUSÃO

Em conclusão, determinamos que a administração de ALA associado à MIRT é eficaz na reversão da depressão induzida por administração repetida de CORT. O ALA sozinho ou associado à MIRT ou CORT não causou sedação nos testes de CA e *rota rod* e, sobretudo, reduziu o efeito sedativo da MIRT no teste do tempo de sono quando associado a este antidepressivo ou em associação com MIRT e CORT.

Sobre o efeito antioxidante do ALA, viu-se que a maior dose deste composto aumentou os níveis de GSH em todas as áreas estudadas, bem como reduziu os níveis de nitrito, protegendo do estresse oxidativo induzido pela CORT. Isto fornece evidência de que a combinação de ALA + MIRT pode ser uma perspectiva de tratamento da depressão, no entanto, mais pesquisas devem ser conduzidas nesta finalidade.

## REFERÊNCIAS

- ALI, S. H. et al. Resveratrol ameliorates depressive-like behavior in repeated corticosterone-induced depression in mice. **Steroids**, v. 101, p. 37–42, 2015.
- ANTTILA, S. A. K.; LEINONEN, E. V. J. A Review of the Pharmacological and Clinical Profile of Mirtazapine. **CNS Drug Rev.**, v. 7, n. 3, p. 249–264, 2001.
- APA, A. P. A. **Manual diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais DSM-5**. 5. ed. [s.l.: s.n.].
- ARANCIO, O.; CHAO, M. V. Neurotrophins, synaptic plasticity and dementia. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v. 17, n. 3, p. 325–330, 2007.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim. Behav.**, v. 21, n. 2, p. 205–235, 1973.
- BERTON, O.; NESTLER, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Nat. Reviews. Neurosci.**, v. 7, n. 2, p. 137–51, 2006.
- BILICI, M. et al. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. **J. Affect. Disorders**, v. 64, n. 1, p. 43–51, 2001.
- BILSKA, A.; WŁODEK, L. Lipoic acid - The drug of the future? **Pharmacol. Rep.**, v. 57, p. 570–577, 2005.
- BIST, R.; BHATT, D. K. The evaluation of effect of alpha-lipoic acid and vitamin E on the lipid peroxidation, gamma-amino butyric acid and serotonin level in the brain of mice (*Mus musculus*) acutely intoxicated with lindane. **J. Neurol. Sci.**, v. 276, n. 1/2, p. 99–102, 2009.
- BLOCK, S. G.; NEMEROFF, C. B. Emerging antidepressants to treat major depressive disorder. **Asian J. Psychiatr.**, v. 12, p. 7–16, 2014.
- BRENNAN, B. P. et al. A placebo-controlled trial of acetyl-L-carnitine and  $\alpha$ -lipoic acid in the treatment of bipolar depression. **J. Clin. Psychopharmacol.**, v. 33, n. 5, p. 627–35, 2013.
- CALABRESE, F. et al. Chronic duloxetine treatment induces specific changes in the expression of BDNF transcripts and in the subcellular localization of the neurotrophin protein. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 11, p. 2351–2359, 2007.
- CARREAU, J. P. Biosynthesis of lipoic acid via unsaturated fatty acids. **Methods Enzymol.**, v. 62, p. 152–158, 1979.

CEKIĆ, S. et al. Oxidative stress in cataractogenesis. **Bosn. J. Basic Med. Sci.**, v. 10, n. 3, p. 265–269, 2010.

CHAO, M. V. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 4, n. 4, p. 299–309, 2003.

CHOPRA, K.; KUMAR, B.; KUHAD, A. Pathobiological targets of depression. **Expert Opin. Ther. Targets**, v. 15, p. 379–400, 2011.

CROOM, K. F.; PERRY, C. M.; PLOSKER, G. L. Mirtazapine: a review of its use in major depression and other psychiatric disorders. **CNS Drugs**, v. 23, n. 5, p. 427–452, 2009.

DE ARAÚJO, D. P. et al. The contributions of antioxidant activity of lipoic acid in reducing neurogenerative progression of Parkinson's disease: a review. **Int. J. Neurosci.**, v. 121, n. 2, p. 51–57, fev. 2011.

DHIR, A.; KULKARNI, S. K. Involvement of nitric oxide (NO) signaling pathway in the antidepressant action of bupropion, a dopamine reuptake inhibitor. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 568, n. 1/3, p. 177–185, 2007.

DRAPIER, D. et al. Effects of acute fluoxetine, paroxetine and desipramine on rats tested on the elevated plus-maze. **Behav. Brain Res.**, v. 176, n. 2, p. 202–209, 2007.

DREVETS, W. C. et al. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. **Nature**, v. 386, n. 6627, p. 824–827, 1997.

DRZYZGA, Ł. R.; MARCINOWSKA, A.; OBUCHOWICZ, E. Antiapoptotic and neurotrophic effects of antidepressants: a review of clinical and experimental studies. **Brain Res. Bull.**, v. 79, n. 5, p. 248–257, 2009.

DU, X.; PANG, T. Y. Is Dysregulation of the HPA-Axis a Core Pathophysiology Mediating Co-Morbid Depression in Neurodegenerative Diseases? **Front. Psychiatry**, v. 6, p. 32, 2015.

DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biol. Psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1116–1127, 2006.

DWIVEDI, Y.; RIZAVI, H. S.; PANDEY, G. N. Antidepressants reverse corticosterone-mediated decrease in brain-derived neurotrophic factor expression: differential regulation of specific exons by antidepressants and corticosterone. **Neuroscience**, v. 139, n. 3, p. 1017–1029, 2006.

ENGEL, D. et al. Chronic administration of duloxetine and mirtazapine downregulates proapoptotic proteins and upregulates neurotrophin gene expression in the hippocampus and cerebral cortex of mice. **J. Psychiatr. Res.**, v. 47, n. 6, p. 802–808, 2013.

EREN, İ. et al. Venlafaxine Modulates Depression-Induced Oxidative Stress in Brain and Medulla of Rat. **Neurochem. Res.**, v. 32, n. 3, p. 497–505, 2007.

ERGÜN, Y. et al. Co-administration of a nitric oxide synthase inhibitor and melatonin exerts an additive antidepressant-like effect in the mouse forced swim test. **Med. Sci. Monit.**, v. 12, n. 9, p. BR307–312, 2006.

FAGO, A.; JENSEN, F. B. Hypoxia tolerance, nitric oxide, and nitrite: lessons from extreme animals. **Physiology (Bethesda, Md.)**, v. 30, n. 2, p. 116–126, 2015.

FERRINI, R.; MIRAGOLI, G.; TACCARDI, B. Neuro-pharmacological studies on SB 5833, a new psychotherapeutic agent of the benzodiazepine class. **Arzneimittel-Forschung**, v. 24, n. 12, p. 2029–2032, 1974.

FLECK, M.; BERLIM, M.; LAFER, B. Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (Versão integral). **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 31, supl. 1, p. 7–17, 2009.

FÖRSTERMANN, U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. **Pflügers Arch.**, v. 459, n. 6, p. 923–939, 2010.

FUJISAKI, C. et al. An immunosuppressive drug, cyclosporine-A acts like antidepressant for rats under unpredictable chronic stress. **J. Med. Dental Sci.**, v. 50, n. 1, p. 93–100, 2003.

GOMES, M. B.; NEGRATO, C. A. Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases. **Diabetol. Metab. Syndr.**, v. 6, n. 1, p. 80, 2014.

GOURLEY, S. L. et al. Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression. **Biol. Psychiatry**, v. 63, n. 4, p. 353–359, 2008.

GOURLEY, S. L.; WU, F. J.; TAYLOR, J. R. Corticosterone regulates pERK1/2 map kinase in a chronic depression model. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1148, p. 509–514, 2008.

GREEN, L.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, n. 4490, p. 56–58, 1981.

GREGUS, A. et al. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. **Behav. Brain Res.**, v. 156, n. 1, p. 105–114, 2005.

GULEC, M. et al. Mirtazapine protects against cisplatin-induced oxidative stress and DNA damage in the rat brain. **Psychiatr. Clin. Neurosci.**, v. 67, n. 1, p. 50–58, 2013.

HOLTZHEIMER, P. E.; NEMEROFF, C. B. Emerging treatments for depression. **Expert Opin. Pharmacother.**, v. 7, n. 17, p. 2323–2339, 2006.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Â. DE. Glutathiona e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quím. Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170–1179, 2008.

IBGE. **Síntese de Indicadores Sociais**. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/indicadoresminimos/sinteseindicsoais2010/SIS\\_2010.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/indicadoresminimos/sinteseindicsoais2010/SIS_2010.pdf)>. Acesso em: 12 maio 2015.

IJIMA, M. et al. Pharmacological characterization of repeated corticosterone injection-induced depression model in rats. **Brain Res.**, v. 1359, p. 75–80, 2010.

JOCA, S. R. L.; PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F. S. Estresse, depressão e hipocampo. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 25, p. 46–51, 2003.

JOHNSON, S. A.; FOURNIER, N. M.; KALYNCHUK, L. E. Effect of different doses of corticosterone on depression-like behavior and HPA axis responses to a novel stressor. **Behav. Brain Res.**, v. 168, n. 2, p. 280–288, 2006.

JURUENA, M. F.; CLEARE, A. J.; PARIANTE, C. M. [The hypothalamic pituitary adrenal axis, glucocorticoid receptor function and relevance to depression]. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 26, n. 3, p. 189–201, 2004.

KAKUI, N. et al. Anxiolytic-like profile of mirtazapine in rat conditioned fear stress model: Functional significance of 5-hydroxytryptamine 1A receptor and alpha1-adrenergic receptor. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 92, n. 3, p. 393–398, 2009.

KESSLER, R. et al. The Epidemiology of Major Depressive Disorder. **Jama**, v. 2003, n. 23, p. 186–187, 2003.

KONISHI, T. Brain oxidative stress as basic target of antioxidant traditional oriental medicines. **Neurochem. Res.**, v. 34, n. 4, p. 711–716, 2009.

KOUFAKI, M. Therapeutic applications of lipoic acid: a patent review (2011 - 2014). **Expert Opin. Ther. Patents**, v. 24, n. 9, p. 993–1005, 2014.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180–185, 1987.

LU, B.; MARTINOWICH, K. Cell biology of BDNF and its relevance to schizophrenia. **Novartis Found. Symp.**, v. 289, p. 119–129; discussion 129–135, 193–195, 2008.

MAES, M. et al. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatr.**, v. 35, n. 3, p. 676–692, 2011.

MALETIC, V. What clinicians need to know about neuroprotective issues in bipolar disorder. **J. Clin. Psychiatry**, v. 68, n. 12, p. e29, 2007.

MANJI, H. K.; DUMAN, R. S. Impairments of neuroplasticity and cellular resilience in severe mood disorders: implications for the development of novel therapeutics. **Psychopharmacol. Bull.**, v. 35, n. 2, p. 5–49, 2001.

MAO, Q. Q. et al. Peony glycosides produce antidepressant-like action in mice exposed to chronic unpredictable mild stress: Effects on hypothalamic-pituitary-adrenal function and brain-derived neurotrophic factor. **Progress in Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 33, n. 7, p. 1211–1216, 2009.

MAO, Q.-Q. et al. Protective effects of piperine against corticosterone-induced neurotoxicity in PC12 cells. **Cell. Mol. Neurobiol.**, v. 32, n. 4, p. 531–537, 2012.

MAO, Q.-Q. et al. Piperine reverses the effects of corticosterone on behavior and hippocampal BDNF expression in mice. **Neurochem. Int.**, v. 74, p. 36–41, 2014.

MATTEI, R. et al. Guarana (*Paullinia cupana*): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidant activity in vitro. **J. Ethnopharmacol.**, v. 60, n. 2, p. 111–116, 1998.

MCEWEN, B. S. Effects of adverse experiences for brain structure and function. **Biol. Psychiatry**, v. 48, n. 8, p. 721–731, 2000.

MCEWEN, B. S. Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 583, n. 2/3, p. 174–185, 2008.

MENKEN, M.; MUNSAT, T. L.; TOOLE, J. F. The Global Burden of Disease Study. **Arch. Neurol.**, v. 57, n. 3, p. 418, 2000.

MIDDELDORP, C. M. et al. Anxiety and depression in children and adults: influence of serotonergic and neurotrophic genes? **Genes Brain Behav.**, v. 9, n. 7, p. 808–816, 2010.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. DE M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 21, p. 24–40, 1999.

MURPHY, M. J.; PETERSON, M. J. Sleep Disturbances in Depression. **Sleep Med. Clin.**, v. 10, n. 1, p. 17–23, 2015.

NEMEROFF, C. B. The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. **Mol. Psychiatry**, v. 1, n. 4, p. 336–342, 1996.

NEMEROFF, C. B.; VALE, W. W. The neurobiology of depression: inroads to treatment and new drug discovery. **J. Clin. Psychiatry**, v. 66, Suppl. 7, p. 5–13, 2005.

NESTLER, E. J. et al. Neurobiology of Depression. **Neuron**, v. 34, n. 1, p. 13–25, 2002.

NG, F. et al. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. **Int. J. Neuropsychopharmacol.**, v. 11, n. 6, p. 851–876, 2008.

NIEBRÓJ-DOBOSZ, I.; DZIEWULSKA, D.; KWIECIŃSKI, H. Oxidative damage to proteins in the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). **Folia Neuropathol.**, v. 42, n. 3, p. 151–156, 2004.

NOBRE JÚNIOR, H. V.; DE FRANÇA FONTELES, M. M.; MENDES DE FREITAS, R. Acute seizure activity promotes lipid peroxidation, increased nitrite levels and adaptive pathways against oxidative stress in the frontal cortex and striatum. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, v. 2, n. 3, p. 130–137, 2009.

O'DONNELL, P.; DO, K. Q.; ARANGO, C. Oxidative/Nitrosative stress in psychiatric disorders: are we there yet? **Schizophrenia Bull.**, v. 40, n. 5, p. 960–962, 2014.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal. Biochem.**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.

PACKER, L.; WITT, E. H.; TRITSCHLER, H. J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 19, n. 2, p. 227–250, 1995.

PAGANO, G. et al. Current experience in testing mitochondrial nutrients in disorders featuring oxidative stress and mitochondrial dysfunction: rational design of chemoprevention trials. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 15, n. 11, p. 20169–20208, 2014.

PARKER, K. J.; SCHATZBERG, A. F.; LYONS, D. M. Neuroendocrine aspects of hypercortisolism in major depression. **Horm. Behav.**, v. 43, n. 1, p. 60–66, 2003.

PEÑA, S. et al. Effect of mirtazapine treatment on serotonin transporter in blood peripheral lymphocytes of major depression patients. **Int. Immunopharmacol.**, v. 5, n. 6, p. 1069–1076, 2005.

PERITO, M. E. S.; FORTUNATO, J. J. Marcadores biológicos da depressão: Uma revisão sobre a expressão de fatores neurotróficos. **Rev. Neurociencias**, v. 20, n. 4, p. 597–603, 2012.

PEROVIĆ, B. et al. Getting the balance right: Established and emerging therapies for major depressive disorders. **Neuropsychiatr. Dis. Treat.**, v. 6, p. 343–364, 2010.

RADENOVIC, L.; SELAKOVIC, V. Differential effects of NMDA and AMPA/kainate receptor antagonists on nitric oxide production in rat brain following intrahippocampal injection. **Brain Res. Bull.**, v. 67, n. 1/2, p. 133–141, 2005.

RAISON, C. L.; MILLER, A. H. When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. **Am. J. Psychiatry**, v. 160, n. 9, p. 1554–1565, 2003.

RAMADAM, Z. B. A. Depressão: da bile negra aos neuro-transmissores. Uma introdução histórica. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, v. 32, n.6, p. 343-344, 2005. Disponível em: <http://www.scientificcircle.com/pt/14462/depressao-bile-negra-neuro-transmissores-introducao/>. Acesso em: 10 mar. 2015.

ROSLAND, J. H.; HUNSKAAR, S.; HOLE, K. Diazepam attenuates morphine antinociception test-dependently in mice. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 66, n. 5, p. 382–386, 1990.

RYBKA, J. et al. Interplay between the pro-oxidant and antioxidant systems and proinflammatory cytokine levels, in relation to iron metabolism and the erythron in depression. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 63, p. 187–194, 2013.

SAKATA, K. et al. Role of activity-dependent BDNF expression in hippocampal-prefrontal cortical regulation of behavioral perseverance. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v. 110, n. 37, p. 15103–15108, 2013.

SALAZAR, M. R. Alpha lipoic acid: a novel treatment for depression. **Med. Hypotheses**, v. 55, n. 6, p. 510–512, 2000.

SALINTHONE, S. et al. Lipoic acid: a novel therapeutic approach for multiple sclerosis and other chronic inflammatory diseases of the CNS. **Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets**, v. 8, n. 2, p. 132–142, 2008.

SARANDOL, A. et al. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. **Hum. Psychopharmacol.**, v. 22, n. 2, p. 67–73, 2007.

SAUER, J.; TABEL, N.; HOWARD, R. Alpha lipoic acid for dementia. **Cochrane Database Syst. Rev.**, n. 1, p. CD004244, 2004.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal. Biochem.**, v. 25, n. 1, p. 192–205, 1968.

SHAY, K. P. et al. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1790, n. 10, p. 1149–1160, 2009.



SIK, A. et al. Hippocampal CA1 interneurons: an in vivo intracellular labeling study. **J. Neurosci.**, v. 15, n. 10, p. 6651–6665, 1995.

SILVA, M. C. C. et al. Augmentation therapy with alpha-lipoic acid and desvenlafaxine: A future target for treatment of depression? **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v. 386, p. 685–695, 2013a.

SILVA, M. C. C. et al. Augmentation therapy with alpha-lipoic acid and desvenlafaxine: A future target for treatment of depression? **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v. 386, n. 8, p. 685–695, 2013b.

SILVA, M. C. C. et al. Central effects of lipoic acid associated with paroxetine in mice. **Am. J. Therap.**, v. 21, n. 2, p. 85–90, 2014.

SIWEK, M. et al. Oxidative stress markers in affective disorders. **Pharmacol. Rep.**, v. 65, n. 6, p. 1558–1571, 2013.

SKÓRZEWSKA, A. et al. The effects of acute and chronic administration of corticosterone on rat behavior in two models of fear responses, plasma corticosterone concentration, and c-Fos expression in the brain structures. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 85, n. 3, p. 522–534, 2006.

STAHL, S. **Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications**. 4<sup>th</sup> ed. Cambridge: Cambridge Medicine, 2013. Disponível em: <[http://www.amazon.co.uk/Stahls-Essential-Psychopharmacology-Neuroscientific-Applications/dp/1107686466/ref=sr\\_1\\_1?ie=UTF8&qid=1429756245&sr=8-1&keywords=stahl+psychopharmacology](http://www.amazon.co.uk/Stahls-Essential-Psychopharmacology-Neuroscientific-Applications/dp/1107686466/ref=sr_1_1?ie=UTF8&qid=1429756245&sr=8-1&keywords=stahl+psychopharmacology)>. Acesso em: 23 abr. 2015.

STERNER, E. Y.; KALYNCHUK, L. E. Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: relevance to depression. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 34, n. 5, p. 777–790, 2010.

STERU, L. et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367–370, 1985.

SWAAB, D. F.; BAO, A.-M.; LUCASSEN, P. J. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. **Ageing Res. Rev.**, v. 4, n. 2, p. 141–194, 2005.

TEPPER, S. J. Serotonin syndrome: SSRIs, SNRIs, triptans, and current clinical practice. **Headache**, v. 52, n. 2, p. 195–197, 2012.

THASE, M. E. et al. Remission with mirtazapine and selective serotonin reuptake inhibitors: a meta-analysis of individual patient data from 15 controlled trials of acute phase treatment of major depression. **Int. Clin. Psychopharmacol.**, v. 25, n. 4, p. 189–198, 2010.

THOMAS, S. J. et al. Combination therapy with monoamine oxidase inhibitors and other antidepressants or stimulants: strategies for the management of treatment-resistant depression. **Pharmacotherapy**, v. 35, n. 4, p. 433–449, 2015.

VAN WEEL-BAUMGARTEN, E. M. et al. Treatment of depression related to recurrence: 10-year follow-up in general practice. **J. Clin. Pharm. Therap.**, v. 25, n. 1, p. 61–66, 2000.

WANG, D.; AN, S. C.; ZHANG, X. Prevention of chronic stress-induced depression-like behavior by inducible nitric oxide inhibitor. **Neurosci. Lett.**, v. 433, n. 1, p. 59–64, 2008.

WATERHOUSE, E. G.; XU, B. New insights into the role of brain-derived neurotrophic factor in synaptic plasticity. **Mol. Cell. Neurosci.**, v. 42, n. 2, p. 81–89, 2009.

WATSON, S.; MACKIN, P. HPA axis function in mood disorders. **Psychiatry**, v. 5, n. 5, p. 166–170, 2006.

WHO. **Mental Health a call for action by World Health Ministers**. Geneva, 2001.

WHO. **mhGAP Intervention Guide**: for mental, neurological and substance use disorders in non-specialized health settings. Geneva, 2010. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241548069\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241548069_eng.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2015.

WILLNER, P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. **Psychopharmacology**, v. 134, n. 4, p. 319–329, 1997.

WILLNER, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. **Neuropsychobiology**, v. 52, n. 2, p. 90–110, 2005.

ZAFIR, A.; BANU, N. Induction of oxidative stress by restraint stress and corticosterone treatments in rats. **Indian J. Biochem. Biophys.**, v. 46, n. 1, p. 53–58, 2009.

ZAVASCHI, M. L. S. et al. Associação entre trauma por perda na infância e depressão na vida adulta. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 24, n. 4, p. 189–195, 2002.

ZHAO, Y. et al. Chronic corticosterone injections induce a decrease of ATP levels and sustained activation of AMP-activated protein kinase in hippocampal tissues of male mice. **Brain Res.**, v. 1191, p. 148–156, 2008a.

ZHAO, Y. et al. A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 581, n. 1-2, p. 113–120, 2008b.

ZHAO, Y. et al. The varying effects of short-term and long-term corticosterone injections on depression-like behavior in mice. **Brain Res.**, v. 1261, p. 82–90, 2009.