



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

CAREN NÁDIA SOARES DE SOUSA

**ENVOLVIMENTO DE VIAS OXIDATIVAS, INFLAMATÓRIAS E
NEUROTRÓFICAS NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO CARVEDILOL EM
MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR ESTRESSE CRÔNICO
IMPREVISÍVEL**

FORTALEZA

2019

CAREN NÁDIA SOARES DE SOUSA

ENVOLVIMENTO DE VIAS OXIDATIVAS, INFLAMATÓRIAS E NEUROTRÓFICAS
NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO CARVEDILOL EM MODELO DE DEPRESSÃO
INDUZIDO POR ESTRESSE CRÔNICO IMPREVISÍVEL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Farmacologia. Área de concentração: Neuropsicofarmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos

Fortaleza

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

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

- S696e Sousa, Caren Nádia Soares de Sousa.
ENVOLVIMENTO DE VIAS OXIDATIVAS, INFLAMATÓRIAS E NEUROTRÓFICAS NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO CARVEDILOL EM MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR ESTRESSE CRÔNICO IMPREVISÍVEL / Caren Nádia Soares de Sousa. – 2019.
153 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.
1. Depressão. 2. Estresse crônico imprevisível. 3. Carvedilol. 4. Estresse oxidativo. 5. Neuroinflamação. I. Título.

CDD 615.1

CAREN NÁDIA SOARES DE SOUSA

ENVOLVIMENTO DE VIAS OXIDATIVAS, INFLAMATÓRIAS E NEUROTRÓFICAS
NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO CARVEDILOL EM MODELO DE DEPRESSÃO
INDUZIDO POR ESTRESSE CRÔNICO IMPREVISÍVEL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Farmacologia. Área de concentração: Neuropsicofarmacologia.

Aprovada em: ___ / ___ / _____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Elaine Cristina Gavioli
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Prof. Dra. Márcia Calheiros Chaves Silva
Universidade Regional do Cariri (URCA)

Prof. Dra. Aline Santos Monte
Universidade Regional do Cariri (UNILAB)

Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Conceição e Jacildo

Pelo exemplo diário de humanidade,
perseverança e amor.

A minha irmã, Vlória

Pela cumplicidade e lealdade inabaláveis.

Ao meu namorado, Lucas

Pela paciência, cuidado e amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar o meu caminho, segurar a minha mão durante toda essa jornada e guiar os meus passos até aqui.

Aos meus pais, Maria da Conceição e José Jacildo, pelo incentivo e confiança inabaláveis, pela paciência nos momentos em que estive ausente, pelo amor incondicional e, principalmente, pelos princípios tão raros em nossa sociedade os quais aprendi, antes da vida acadêmica ou de qualquer outro convívio, com eles.

A minha irmã, Carmen Vlândia, pela paciência e solicitude nos momentos difíceis, por ser tudo o que falta em mim, pelo exemplo de competência que é no que faz e por se fazer presente mesmo na ausência ou nas agruras do dia a dia.

Ao meu namorado e médico exemplar, Lucas Meneses, pela dose diária de serenidade e paz que tão gentilmente me é dada. Pelo exemplo de competência, responsabilidade e humanidade que é para aqueles que lhe cercam e para aqueles que recebem seus cuidados. Por todos os momentos em que sua paciência e confiança foram a minha fortaleza, sou-lhe eternamente grata.

A Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos, pela confiança creditada a mim durante todos esses anos. Exemplo de profissional e fonte de inspiração diária, tem sido sempre uma amiga, uma mãe e uma cientista incrivelmente inteligente. Agradeço enormemente todas as oportunidades que me foram dadas.

Aos meus companheiros sempre presentes, Germana Vasconcelos, Abelardo Moreira, Naiara Ximenes, Manuel Alves e Bruno Cavalcante, pelo aprendizado e convívio diário, pela alegria e por todos os momentos que vocês dividiram comigo. Sou uma pessoa e uma profissional muito melhor com todos vocês ao meu lado.

Ao time que sempre me ajudou durante o desenvolvimento do projeto e compartilhou todos os momentos de alegria e dificuldades que a pesquisa proporciona. Ingridy Medeiros, Germana Vasconcelos, Maurício Cysne, Jamily Almeida e Gabriel Ângelo, a minha eterna gratidão a vocês.

A todos os profissionais de apoio técnico, professores e neurocientistas do Laboratório de Neurofarmacologia pela colaboração diária, pelos ensinamentos e solicitude.

A Universidade Federal do Ceará, por ter sido, durante os últimos 10 anos, um lar onde cultivei riquezas que nenhum outro lugar me proporcionaria: amizades, apoio e conhecimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro fornecido durante toda a pesquisa.

“Os homens devem saber que do cérebro, e somente do cérebro, derivam prazer, alegria, riso e divertimento, assim como tristeza, pena, dor e medo” (Hipócrates).

RESUMO

A depressão é um transtorno psiquiátrico grave e incapacitante que atinge pessoas de todas as classes socioeconômicas, etnias e idades. O estresse oxidativo, a neuroinflamação e o déficit de fatores neurotróficos tem se destacado como justificativa para os sintomas e falha terapêutica na depressão. Baseado no pressuposto de que o carvedilol (CVD) apresenta propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, objetivou-se avaliar os efeitos comportamentais e neuroquímicos da administração repetida de CVD, no modelo de depressão, induzido por estresse crônico imprevisível (ECI). Para a indução de depressão camundongos *Swiss* fêmeas (30-32g) foram submetidos, durante 21 dias, a diferentes estressores. Entre os dias 15 e 21 os animais receberam CVD (5 ou 10 mg/Kg) ou desvenlafaxina (DVS 10 mg/Kg) por via oral. No 22º dia os animais foram submetidos aos seguintes testes comportamentais: campo aberto, labirinto em cruz elevada, placa perfurada, suspensão de cauda, borrifagem de sacarose, interação social e labirinto em Y. Logo após os testes comportamentais os animais foram eutanasiados e as áreas cerebrais córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo (HC) foram dissecadas para a avaliação do estresse oxidativo [mensuração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (malondialdeído – MDA), dosagem de glutathiona reduzida (GSH) e de nitrito], da atividade de mieloperoxidase (MPO), das concentrações de citocinas (IL-4, IL-6 e IFN- γ) e do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF). No teste de campo aberto o ECI causou redução do número de travessias e aumento de *rearing* e *grooming*, enquanto todos os tratamentos reverteram esse efeito. No teste labirinto em cruz elevada o ECI causou diminuição no número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos e todos os tratamentos também reverteram esse efeito. Além disso, o ECI provocou diminuição no número de mergulhos no teste de placa perfurada, efeito que foi revertido por CVD5 e CVD10. O ECI provocou aumento no tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda, enquanto todos os tratamentos reverteram esse efeito. No teste de borrifagem de sacarose ECI provocou aumento da latência para *grooming* e diminuição do número *grooming*, enquanto CVD10 e DVS reverteram o efeito observado na latência e CVD5 e CVD10 reverteram o efeito sobre o número de *grooming*. Além disso, o ECI provocou redução da interação social enquanto CVD5 e DVS conseguiram reverter esse efeito. O ECI provocou ainda déficit cognitivo no teste de labirinto em Y que foi revertido por DVS ou CVD10. Na avaliação do estresse oxidativo o ECI provocou redução de GSH apenas no hipocampo, enquanto DVS e CVD5 aumentaram esse marcador em CPF e HC e CVD10 exibiu esse efeito apenas no hipocampo. O ECI causou também um aumento nas concentrações de nitrito no CPF e HC e todos os tratamentos foram capazes de reverter esse efeito em ambas as áreas. Além disso, o ECI causou aumento nas concentrações de MDA em CPF e HC, enquanto apenas CVD10 reverteu esse efeito no CPF e CVD5 e CVD10 reverteram esse efeito no HC. No que diz respeito a atividade enzimática de MPO, o ECI aumentou o parâmetro avaliado em CPF e HC, enquanto CVD5 e CVD10 reverteram esse efeito em CPF e HC e DVS apenas no HC. Na avaliação de citocinas o ECI foi capaz de provocar redução de IL-4 no CPF e nenhum tratamento foi capaz de reverter esse efeito. Com relação a IL-6, DVS e CVD causaram aumento das concentrações de IL-6 em CPF e HC. O ECI causou aumento nas concentrações de IFN- γ no CPF e apenas CVD10 foi capaz de reverter esse efeito. No HC o tratamento com DVS causou aumento nas concentrações de IFN- γ . Além disso, observou-se redução nas concentrações de BDNF no CPF e HC de animais submetidos ao ECI. No CPF apenas CVD10 foi capaz de reverter o efeito de ECI sobre BDNF enquanto CVD5 e CVD10 reverteram esse efeito no HC. Em conjunto esses dados evidenciam que CVD apresenta efeito antidepressivo provavelmente associado a ação antioxidante, anti-inflamatória e neurotrófica.

Palavras-chave: depressão; estresse crônico imprevisível; carvedilol; estresse oxidativo; neuroinflamação; fator neurotrófico derivado do cérebro.

ABSTRACT

Involvement of oxidative, inflammatory and neurotrophic pathway in the antidepressive effect of carvedilol in model of depression induced by chronic unpredictable stress

Depression is a severe and disabling psychiatric disorder that affects people of all socioeconomic classes, ethnicities and ages. Oxidative stress, neuroinflammation and the deficit of neurotrophic factors have been highlighted as justification for the symptoms and therapeutic failure in depression. Based on assumption that carvedilol (CVD) present antioxidant and anti-inflammatory properties, was proposed to evaluate the behavioral and neurochemical effects of repeated CVD administration in the model of depression induced by chronic unpredictable stress (CUS). For the induction of depression female *Swiss* mice (30-32g) were submitted, during 21 days, to different stressors. Between days 15 and 21 the animals received either CVD (5 or 10mg/kg) or desvenlafaxine (DVS 10mg/kg) orally. On the 22nd day, the animals were submitted to the following behavioral tests: open field, elevated plus maze, hole board, tail suspension, splash, social interaction and Y-maze. Shortly after the behavioral tests, the animals were euthanized and the cerebral areas of the prefrontal cortex (CPF) and hippocampus (HC) were dissected for the evaluation of oxidative stress [measurement of thiobarbituric acid reactive species (malondialdehyde - MDA), reduced glutathione (GSH) and nitrite], myeloperoxidase activity (MPO), cytokine concentrations (IL-4, IL-6 and IFN- γ) and Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF). In the open field test, CUS caused a reduction in the number of crossings and an increase in the number of rearing and grooming, while all treatments were able to reverse this effect. In elevated plus maze, CUS caused a decrease in the number of entries and length of stay in the open arms and all treatments also reversed this effect. In addition, the CUS caused a decrease in the number of dips in the hole board, an effect that was reversed by CVD5 and CVD10. The CUS caused an increase in the immobility time in the tail suspension test, while all treatments reversed this effect. In the splash test, CUS increased latency for grooming and decreased the number of grooming, while CVD10 and DVS treatments reversed the observed effect on latency and CVD5 and CVD10 reversed the observed effect on the number of grooming. In addition, CUS caused a reduction in social interaction, while CVD5 and DVS treatments were able to reverse this effect. CUS also caused a cognitive deficit in the Y-maze test that was reversed by DVS or CVD10. In the evaluation of the oxidative stress parameters, the CUS caused reduction of GSH levels only in the hippocampus, while the treatment with DVS and CVD5 increased this marker in PFC and HC and CVD10 exhibited this effect only in the HC. CUS also caused an increase in nitrite concentrations in CPF and HC and all treatments were able to reverse this effect in PFC and HC. In addition, CUS caused an increase in MDA concentrations in PFC and HC, whereas only CVD10 reversed this effect in CPF and DVS, CVD5 and CVD10 reversed this effect in HC. Regarding the MPO enzymatic activity, the CUS increased this parameter in both studied areas, while CVD5 and CVD10 reversed this effect in both areas and DVS only in HC. In the evaluation of cytokines, CUS was able to cause IL-4 reduction in CPF and no treatment studied was able to reverse this effect. About IL-6 levels, treatment with DVS or CVD increased concentrations of this cytokine in both brain areas. CUS caused an increase in IFN- γ concentrations in CPF and only CVD10 was able to reverse this effect. In HC, treatment with DVS caused an increase in IFN- γ concentrations. Furthermore, it was observed a reduction of BDNF concentration in CPF and HC of animals submitted to CUS. At CPF, only CVD10 was able to reverse the effect of CUS on BDNF while CVD at both doses reversed this effect at HC. Together these data show that CVD has an antidepressant effect probably associated with antioxidant, anti-inflammatory and neurotrophic action.

Keywords: depression; chronic unpredictable stress; carvedilol; oxidative stress; neuroinflammation; brain derived neurotrophic factor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mecanismos fisiopatológicos da depressão	24
Figura 2 – Áreas cerebrais envolvidas na depressão	26
Figura 3 – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal	28
Figura 4 – Representação esquemática do desbalanço oxidativo	30
Figura 5 – Mecanismos da neuroinflamação	33
Figura 6 – Estrutura molecular do fator neurotrófico derivado do cérebro	35
Figura 7 – Estrutura química do carvedilol	40
Figura 8 – Protocolo experimental	49
Figura 9 – Quantidade e distribuição de animais utilizados na condução do protocolo experimental	50
Figura 10 – Teste de campo aberto	51
Figura 11 – Teste de labirinto em cruz elevado	52
Figura 12 – Teste de placa perfurada	53
Figura 13 – Teste de suspensão de cauda	53
Figura 14 – Teste de borrifagem de sacarose	54
Figura 15 – Teste de interação social	55
Figura 16 – Teste de labirinto em Y	56
Figura 17 – Alterações na atividade locomotora, <i>rearing</i> , <i>grooming</i> e distância percorrida induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de campo aberto	62
Figura 18 – Alterações no comportamento ansioso-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de labirinto em cruz elevado	65
Figura 19 – Alterações no comportamento ansioso-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de placa perfurada	66
Figura 20 – Alterações no comportamento depressivo-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de suspensão da cauda	67
Figura 21 – Alterações no comportamento depressivo-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de borrifagem de sacarose	69

Figura 22 – Alterações no comportamento depressivo-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de interação social .	70
Figura 23 – Alterações na memória de trabalho induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de labirinto em Y	71
Figura 24 – Alterações no ganho de peso corporal induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados	72
Figura 25 – Alterações na área da zona cortical adrenal induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados	73
Figura 26 – Fotomicrografias representativas de cortes histológicos de adrenal de camundongos <i>Swiss</i> submetidos ao protocolo de estresse crônico imprevisível	74
Figura 27 – Alterações nas concentrações de glutathiona reduzida em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS	76
Figura 28 – Alterações nas concentrações de nitrito em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS	78
Figura 29 – Alterações nas concentrações de malondialdeído em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS	80
Figura 30 – Alterações atividade de mieloperoxidase em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS	82
Figura 31 – Alterações nas concentrações de IL-4 em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS	84
Figura 32 – Alterações nas concentrações de IL-6 em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS	86
Figura 33 – Alterações nas concentrações de IFN- γ em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS	88
Figura 34 – Alterações nas concentrações de BDNF em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS	90

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Cronograma de indução de depressão por estresse crônico imprevisível	48
Quadro 2 – Representação esquemática dos efeitos de CVD e DVS sobre o comportamento de animais cronicamente estressados	91
Quadro 3 – Representação esquemática dos efeitos de CVD e DVS sobre morfologia da adrenal e marcadores neuroquímicos de animais cronicamente estressados	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
ATP	Adenosina trifosfato
AVE	Acidente vascular encefálico
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BH4	Tetra-hidrobiopterina
CAT	Catalase
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
CID	Classificação internacional de doenças e problemas relacionados à saúde
COBEA	Colégio brasileiro de experimentação animal
CONCEA	Conselho nacional de controle de experimentação animal
CPF	Córtex pré-frontal
CREB	Proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CVD	Carvedilol
DAC	Doença arterial coronariana
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DSM	<i>Diagnostic and statistical manual of mental disorders</i>
DTNB	5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)
DVS	Desvenlafaxina
ECI	Estresse crônico imprevisível
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FDA	<i>Food and drug administration</i>
g	Grama (s)
GSH	Glutathiona reduzida
GPH-Px	Glutathiona peroxidase
GPH-R	Glutathiona redutase
h	hora
HC	Hipocampo
HCl	Ácido clorídrico
HHA	Hipotálamo-hipófise-adrenal

HTAB	Tampão de brometo de hexadeciltrimetilamônio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IC	Insuficiência cardíaca
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-2	Interleucina-2
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
IFN- γ	Interferon- γ
ISRSN	Inibidor da receptação de serotonina e noradrenalina
Kg	Quilogramas
Met	Metionina
mg	Miligramas
min	Minuto (s)
mL	Mililitros
MPO	Mieloperoxidase
NGF	<i>Nerve growth factor</i>
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
nm	Nanômetro
nM	Nanomolar
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NOSn	Óxido nítrico sintase neuronal
O ₂ ⁻	Radical superóxido
OH ⁻	Radical hidroxila
ONOO ⁻	Peroxinitrito
PBS	Tampão fosfato-salino
pg	Picograma
rpm	Rotações por minuto
s	segundo (s)
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TBS	Teste de borrifagem de sacarose

TCA	Teste de campo aberto
TGF- β 1	Fator de crescimento transformador- β 1
TIS	Teste de interação social
TLY	Teste de labirinto em Y
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TPP	Teste de placa perfurada
TSC	Teste de suspensão da cauda
UFC	Universidade Federal do Ceará
Val	Valina
v.o.	Via oral
μ L	microlitro (s)
5HT	Serotonina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Contextualização histórica	20
1.2	Aspectos epidemiológicos	22
1.3	Fisiopatologia da depressão	24
<i>1.3.1</i>	<i>Neurotransmissão no transtorno depressivo</i>	25
<i>1.3.2</i>	<i>Estresse e alteração do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal</i>	26
<i>1.3.3</i>	<i>Estresse oxidativo</i>	30
<i>1.3.4</i>	<i>Neuroinflamação</i>	32
<i>1.3.5</i>	<i>Déficit neurotrófico</i>	34
1.4	Doença cardiovascular e depressão	36
1.5	Tratamento da depressão	38
1.6	Carvedilol	40
1.7	Modelos animais de estresse no estudo da depressão	42
<i>1.7.1</i>	<i>Estresse crônico imprevisível</i>	42
2	RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	44
3	OBJETIVOS	46
3.1	Objetivo geral	46
3.2	Objetivos específicos	46
4	MATERIAIS E MÉTODOS	47
4.1	Animais	47
4.2	Drogas	47
<i>4.2.1</i>	<i>Carvedilol</i>	47
<i>4.2.2</i>	<i>Desvenlafaxina</i>	47
4.3	Indução de depressão por estresse crônico imprevisível	48
4.4	Desenho experimental	49
4.5	Testes comportamentais	51
<i>4.5.1</i>	<i>Avaliação da atividade locomotora e exploratória</i>	51
<i>4.5.1.1</i>	<i>Teste de campo aberto</i>	51
<i>4.5.2</i>	<i>Avaliação do comportamento ansioso-símile</i>	51
<i>4.5.2.1</i>	<i>Teste de labirinto em cruz elevado</i>	51
<i>4.5.2.2</i>	<i>Teste de placa perfurada</i>	52

4.5.3	<i>Avaliação do comportamento depressivo símile</i>	53
4.5.3.1	<i>Teste de suspensão de cauda</i>	53
4.5.3.2	<i>Teste de borrifagem de sacarose</i>	54
4.5.3.3	<i>Teste de interação social</i>	54
4.5.4	<i>Avaliação da função cognitiva</i>	55
4.5.4.1	<i>Teste de labirinto em Y</i>	55
4.6	Avaliação do ganho de peso	56
4.7	Avaliação da área da zona cortical da adrenal	56
4.8	Testes neuroquímicos	57
4.8.1	<i>Dissecação das áreas cerebrais</i>	57
4.8.2	<i>Determinação de parâmetros de estresse oxidativo</i>	57
4.8.2.1	<i>Determinação da concentração de glutathiona reduzida</i>	57
4.8.2.2	<i>Determinação da concentração de nitrito</i>	58
4.8.2.3	<i>Determinação da concentração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico</i>	58
4.8.3	<i>Análise da atividade de mieloperoxidase</i>	58
4.8.4	<i>Determinação das concentrações de IL-4, IL-6 e IFN-γ</i>	59
4.8.5	<i>Determinação das concentrações de fator neurotrófico derivado do cérebro</i>	59
4.9	Análise estatística	59
5	RESULTADOS	61
5.1	Efeitos sobre o comportamento	61
5.1.1	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre a atividade locomotora e exploratória</i>	61
5.1.2	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre o comportamento ansioso-símile</i>	64
5.1.3	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre o comportamento depressivo-símile</i>	67
5.1.4	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre a memória de camundongos submetidos ao teste de labirinto em Y</i>	71
5.2	Efeitos sobre o peso corporal	72
5.2.1	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre o peso corporal de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	72
5.3	Efeitos sobre a glândula adrenal	73

5.3.1	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre a área da zona cortical da adrenal de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	73
5.4	Efeitos sobre parâmetros neuroquímicos	75
5.4.1	<i>Estresse oxidativo</i>	75
5.4.1.1	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de glutathiona reduzida em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	75
5.4.1.2	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de nitrito em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	77
5.4.1.3	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de malondialdeído em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	79
5.4.2	<i>Atividade de mieloperoxidase</i>	81
5.4.2.1	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre a atividade de mieloperoxidase em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	81
5.4.3	<i>Concentração de citocinas</i>	83
5.4.3.1	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de IL-4 em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	83
5.4.3.2	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de IL-6 em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	85
5.4.3.3	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de IFN-γ em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	87
5.4.4	<i>Concentração de fator neurotrófico derivado do cérebro</i>	89
5.4.4.1	<i>Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações BDNF em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível</i>	89
6	DISCUSSÃO	93
7	CONCLUSÕES	115
	REFERÊNCIAS	116
	ANEXO	152
	ANEXO A - DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL	153

1 INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização histórica

O entendimento de que a depressão é o “mal da atualidade” é muito frequente, inclusive nos meios de informação. Na última década do século XX foi chamada de “doença ou mal do século”, paradigma este que se estende e permanece arraigado até os dias de hoje (GONÇALVES; MACHADO, 2007).

Entretanto, descrições do que, hoje, chamamos de depressão podem ser encontradas em muitos documentos antigos, incluindo o Antigo Testamento, O Livro de Jó e a *Iliada* de Homero, confirmando que esse transtorno tem sido um importante problema de saúde desde tempos longínquos (BAN, 2014).

A história do conceito de depressão, tal como se conhece, teve seu início no século XVII, mas sua origem remete a citações de uma condição conhecida como melancolia que, assim como hoje, era associado a uma causa fisiológica (GONÇALVES; MACHADO, 2007; MENDES; VIANA; BARA, 2015).

Na antiguidade, a prática médica grega era baseada na teoria dos quatro humores, que considerava o temperamento como consequência de quatro fluidos corporais (fleuma, bile amarela, sangue e bile negra) e o desequilíbrio desses fluidos como o causador das desordens mentais (BERRIOS, 2012; GONÇALVES; MACHADO, 2007; RAMADAM, 2006).

O nome bile negra (do grego, *melano chole*), foi o que etimologicamente originou o termo melancolia, forma como era conhecida a depressão na antiguidade. O estado melancólico esteve, durante muito tempo, associado a um excesso de bile negra ou mesmo uma intoxicação do cérebro por essa substância. Até mesmo Hipócrates, autor da teoria dos humores, ainda no século V antes de Cristo, conhecia e definia a depressão com a denominação de melancolia – “uma afecção sem febre, na qual o espírito triste permanece sem razão fixado em uma mesma ideia, constantemente abatido” (BERRIOS, 2012; GONÇALVES; MACHADO, 2007; TEIXEIRA; HASHIMOTO, 2006).

Diante da teoria dos quatro humores e do imaginário místico desse período, o tratamento da depressão na Idade Antiga era baseado em ervas, exercícios, agentes eméticos e purgantes que tinham como objetivo eliminar o excesso de bile negra do organismo (GONÇALVES; MACHADO, 2007; SOUZA; LACERDA, 2013).

Com o advento da Idade Média e a ascensão do Cristianismo como força política e religiosa do Estado, a maneira como as doenças mentais eram vistas foi completamente modificada (SOUZA; LACERDA, 2013).

A depressão, ainda denominada melancolia nesse período, era uma doença especialmente nociva e considerada um afastamento do sagrado. O tratamento consistia em trabalho manual exaustivo, abandono e isolamento social. Durante o período da Inquisição, a melancolia foi considerada um pecado e algumas pessoas eram multadas ou aprisionadas por carregarem esse “mal da alma, que não tinha cura” (GONÇALVES; MACHADO, 2007; SOUZA; LACERDA, 2013).

Os conceitos construídos durante a Idade das Trevas foram, aos poucos, modificados entre os séculos XV e XIX. O movimento Renascentista retomou o racionalismo científico dos filósofos gregos e, o que durante o período medieval era considerado pecado e herança do mal, passa a ser qualidade, característica de um gênio, *glamour* (SOUZA; LACERDA, 2013).

Até o começo do século XVII, o debate sobre a melancolia permaneceu preso à tradição dos quatro humores. Apenas no final do século XVII e início do século XVIII esse cenário começa a se modificar. O termo depressão foi utilizado pela primeira vez, em 1680, para designar um estado de desânimo ou perda de interesse. Em 1750, Samuel Johnson incorporou o termo ao dicionário (FERREIRA; GOELLNER, 2016)

Foi também nesse período, com a influência do Iluminismo que surgiram as primeiras teorias que ainda hoje são aceitas. William Cullen, médico escocês, afirmou que na melancolia ocorreria uma alteração da função nervosa e não dos humores, o que levaria à incapacidade de associar as ideias e executar o julgamento (BERRIOS, 2012; SOUZA; LACERDA, 2013).

Mesmo diante das mudanças e dos avanços acerca do entendimento da depressão, durante a Idade Moderna, o tratamento ainda era rudimentar e, apesar de já existirem hospitais para abrigar os pacientes com doenças mentais desde a Idade Média, a loucura ainda era associada à ociosidade e considerada um elemento perturbador da ordem moral e social. Dessa forma, as pessoas que sofriam das formas mais graves eram submetidas a tratamentos aterrorizantes, como causar dor física buscando distrair da dor da mente, afogamentos e dispositivos que provocavam êmese e síncope (BERRIOS, 2012; DEL'OLMO; CERVI, 2018).

É também nessa época que surge o tratamento moral de Philippe Pinel e a preocupação com a saúde mental. Esquirol, discípulo de Pinel, proclama que a psiquiatria deve

ser entendida como uma medicina mental e deve buscar seu entendimento na anatomia cerebral. Atreladas a isso, descobertas nas diversas searas do conhecimento permitiram relacionar as doenças mentais com a patologia orgânica do cérebro (FACCHINETTI, 2008; SILVA et al., 2018).

Emil Kraepelin foi um dos primeiros a explicar biologicamente e classificar a depressão. Em 1883, postulou que toda doença mental era dotada de uma base bioquímica interna e classificou a depressão em três categorias, da mais leve a mais grave (BAR; EBERT, 2010).

Com base nos conhecimentos difundidos de Kraepelin e no entendimento biológico da depressão, foram descobertos, na década de 50, os primeiros antidepressivos, ocasionando um avanço para o tratamento. Assim, os mecanismos de ação da terapêutica utilizada passam a apresentar relação com os neurotransmissores (AGUIAR et al., 2011; LÔO et al., 2004).

A partir do século XXI a depressão passa a ser considerada uma doença mental e é catalogada na Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados com a saúde (CID-10) e no Manual diagnóstico e estatístico dos transtornos mentais (DSM), recebendo abordagens científicas (CAMPOS; DE OLIVEIRA CAMPOS; SANCHES, 2010).

Curioso observar que após tantos séculos a assistência ainda está atrelada a princípios ditados por Hipócrates. Logicamente, muito se tem avançado desde então, porém, mesmo com toda a tecnologia da qual se dispõe, ainda não foi elucidado o mecanismo fisiopatológico exato da depressão. Além disso, o avanço no conhecimento não foi capaz de extinguir o preconceito que a doença arrasta através dos séculos (HIRATA, 2015; MOREIRA; TELLES, 2017). O estigma ainda é pungente e por vezes ainda é possível presenciar frases que lembram a Idade Média, conduzindo uma crença de que há um longo caminho não só para o entendimento completo da depressão e seu tratamento, mas também para transformações sócio-políticas e culturais.

1.2 Aspectos epidemiológicos

A depressão é um importante problema de saúde pública que tem se destacado por sua crescente incidência em meio a população. Trata-se de um distúrbio do humor incapacitante que afeta negativamente os sentimentos, pensamentos e atitudes das pessoas. Associada a sintomas como o profundo sentimento de tristeza ou uma acentuada perda de interesse e prazer nas atividades, os transtornos depressivos foram estimados como a terceira principal causa de

incapacidade em todo o mundo (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013; FRIED et al., 2016).

Além disso, podem ocorrer ainda perdas ou ganhos de peso não relacionados à dieta, alterações no apetite, insônia ou sono excessivo, fadiga, inquietação ou irritabilidade, sentimentos de inutilidade ou culpa inadequados, dificuldade de pensar, concentrar-se ou tomar decisões e ainda pensamentos e/ou tentativas de suicídio (FRIED et al., 2016; KESSLER, 2003, 2012; PARK; ZARATE, 2019).

O transtorno depressivo apresenta-se como uma condição heterogênea que está associada a variações na apresentação clínica e ampla constelação de sintomas, sendo muitas vezes associada a um maior risco de desenvolvimento de doenças graves. Estudos mostram que pessoas com depressão apresentam um maior risco de desenvolverem distúrbios cardiovasculares de 1,5 a 2 vezes (DHAR; BARTON, 2016; VAN DER KOOY et al., 2007), doença de Alzheimer de 2,1 vezes (GREEN et al., 2003; SANTOS; BECKMAN; FERREIRA, 2016), epilepsia de 3 a 7 vezes (MULA, 2017) e câncer em 1,3 a 1,8 vezes (JIA et al., 2017; SMITH, 2015) em relação as pessoas que não apresentam o transtorno.

Além disso, a depressão está relacionada ao desenvolvimento de ideação suicida, estando 50% dos casos associados ao diagnóstico de transtornos depressivos. Apesar do tratamento, a incidência de suicídio é crescente, ocupando o 2º lugar como causa de morte de pessoas entre 19 e 25 anos em todo o mundo e o 10º lugar dentre as causas de morte nos Estados Unidos (PARK; ZARATE, 2019; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Mundialmente, mais de 300 milhões de pessoas sofrem de depressão, sendo 10% destas brasileiras. Além disso, a depressão apresenta uma prevalência média de 8,2% na população geral e maior frequência entre mulheres com idade entre 15 e 29 anos, sendo menos prevalente nos indivíduos com idade de 50 anos ou mais (FOUNTOULAKIS, 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). O transtorno depressivo é responsável por 10% das doenças não fatais em todo o mundo e, juntamente com a ansiedade, causa um ônus de cerca de 1 trilhão de dólares por ano a economia mundial (JAMISON et al., 2015).

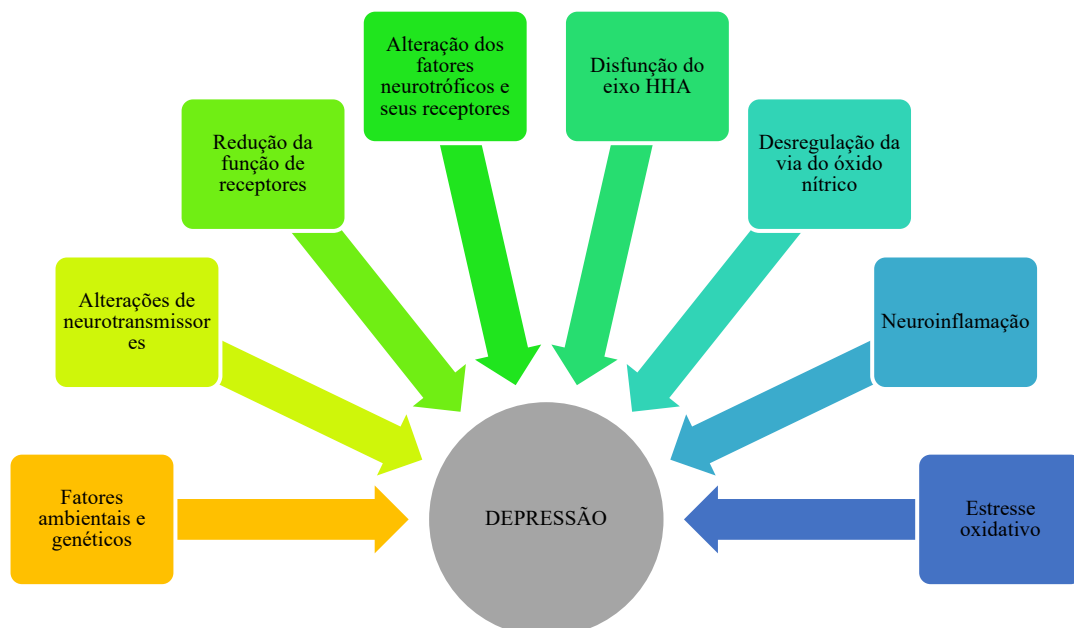
Estima-se que 340 milhões de pessoas em todo o mundo viverão um episódio depressivo no curso da vida e que em 2020 será a segunda maior causa de diminuição na qualidade de vida das pessoas, após as doenças cardiovasculares (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

1.3 Fisiopatologia da depressão

A depressão tem sido motivo de ampla discussão científica ao longo dos séculos e, embora a etiologia ainda não seja completamente elucidada, muitas teorias têm sido propostas na tentativa de explicar a patogênese da depressão, inclusive abrangendo uma interação de diferentes fatores biológicos, sociais e psicológicos (KUPFERBERG; BICKS; HASLER, 2016; LOPRESTI; HOOD; DRUMMOND, 2013).

Dentre as hipóteses consideradas como mecanismos fisiopatológicos do transtorno depressivo podemos citar a deficiência de monoaminas (FERRARI; VILLA, 2017; NUTT, 2008), alterações na neurotransmissão glutamatérgica e gabaérgica (GERHARD; WOHLER; DUMAN, 2016; LENER et al., 2017; PABBA; SIBILLE, 2015; YIN et al., 2016), a predisposição genética (MCCOY et al., 2017), a influência de fatores ambientais (BONDY; ZILL, 2004; LESCH, 2004; LOHOFF; FERRARO, 2010; LOPIZZO et al., 2015), as alterações de fatores neurotróficos e de seus receptores (BUTTENSCHØN et al., 2015; WOOK KOO et al., 2016; ZHANG; YAO; HASHIMOTO, 2016), o estresse e a disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (CARROLL et al., 2007; KELLER et al., 2016), alterações na via do óxido nítrico (BARANYI et al., 2015; BRUENIG et al., 2017; DHIR; KULKARNI, 2011), a neuroinflamação (BRITES; FERNANDES, 2015; JEON; KIM, 2016; MAES et al., 2009) e o estresse oxidativo (BLACK et al., 2015; MOYLAN et al., 2014).

Figura 1 – Mecanismos fisiopatológicos da depressão



Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Nessa perspectiva objetivamos investigar os efeitos do estresse crônico imprevisível sobre o dano oxidativo, neuroinflamação e alterações neurotróficas diante de uma terapia alternativa para o tratamento da depressão.

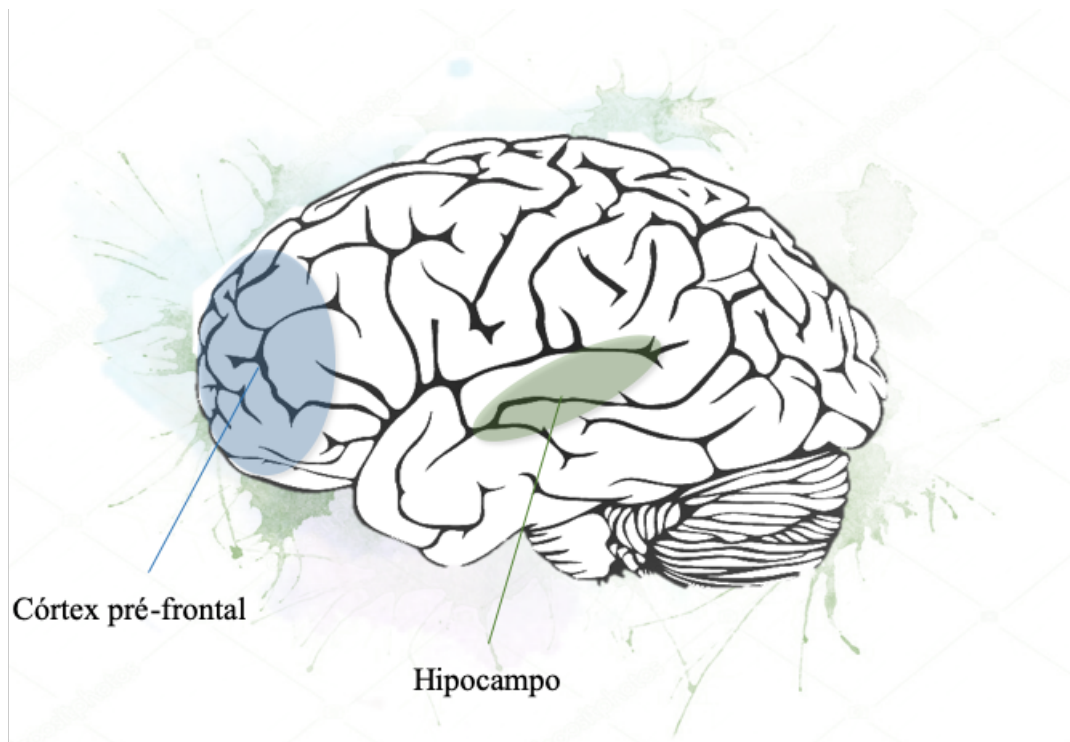
1.3.1 Neurotransmissão no transtorno depressivo

Várias regiões e circuitos cerebrais modulam as emoções, recompensa e funções executivas, as quais estão envolvidas na depressão e na ação dos antidepressivos (BERTON; NESTLER, 2006), conforme demonstrado na Figura 2. Dentre estas estruturas o córtex pré-frontal e hipocampo tem um importante papel no contexto da depressão (TOZZI et al., 2016).

O córtex pré-frontal, uma das áreas do cérebro mais estudadas na biologia da depressão, está associado a funções importantes, como a resolução de problemas, análise, controle de impulsos, motivação, atenção seletiva, controle de emoção e memória de trabalho (CAI et al., 2013; LIU et al., 2017; MILLER; COHEN, 2001). Estudos mostram que a depressão evolui clinicamente com uma redução no tamanho do córtex pré-frontal, alterações na atividade, plasticidade neuronal e hemodinâmica (KOENIGS; GRAFMAN, 2009; LIU et al., 2017; SINGH; GOTLIB, 2014), corroborando a importância dessa área na fisiopatologia do transtorno. Assim, alterações nessa área são frequentemente associadas a perda de concentração e atenção, compulsão, déficits cognitivos e ideação suicida (LIU et al., 2017; MILLER; COHEN, 2001; YOUNG et al., 2016a).

O hipocampo, por outro lado, é uma área do cérebro que está intimamente associada com sintomas como apatia, perda de interesse, alterações do sono, alterações no peso/apetite e déficit de memória, vistos em muitos pacientes deprimidos (JAYAWEERA et al., 2015; LIU et al., 2017). Além disso, evidências mostram que o hipocampo é estritamente ligado à regulação do eixo HHA por apresentar expressão densa de receptores de glicocorticóides responsáveis pelo controle de *feedback* negativo (LIU et al., 2017; STERNER; KALYNCHUK, 2010).

Figura 2. Áreas cerebrais envolvidas na depressão



Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Dada a importância do córtex pré-frontal e do hipocampo na fisiopatologia da depressão e desenvolvimento de sintomas de pacientes com esse transtorno, essas áreas cerebrais se apresentam como regiões chaves para possível alvos terapêuticos.

1.3.2 Estresse e alteração do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

Um dos fatores etiológicos mais investigados na fisiopatologia da depressão é a liberação excessiva de glicocorticóides. Os glicocorticóides regulam a neurogênese, o tamanho do hipocampo, a aquisição de novas memórias e a resposta emocional ao estresse (DE QUERVAIN; SCHWABE; ROZENDAAAL, 2016; HERBERT et al., 2006; ODAKA; ADACHI; NUMAKAWA, 2017; SZESZKO; LEHRNER; YEHUDA, 2018). Contudo, o seu excesso desempenha um importante papel na fisiopatologia da depressão causando diversos danos ao organismo. Se produzidos de maneira exacerbada, os glicocorticóides podem reduzir a neurogênese (ODAKA; ADACHI; NUMAKAWA, 2017), causar morte dos neurônios do hipocampo por apoptose (CROCHEMORE et al., 2005; ODAKA; ADACHI; NUMAKAWA, 2017) e aumentar a vulnerabilidade dos neurônios a diversas toxinas, como as espécies reativas de oxigênio (EROs) (BEHL et al., 1997; VYAS et al., 2016).

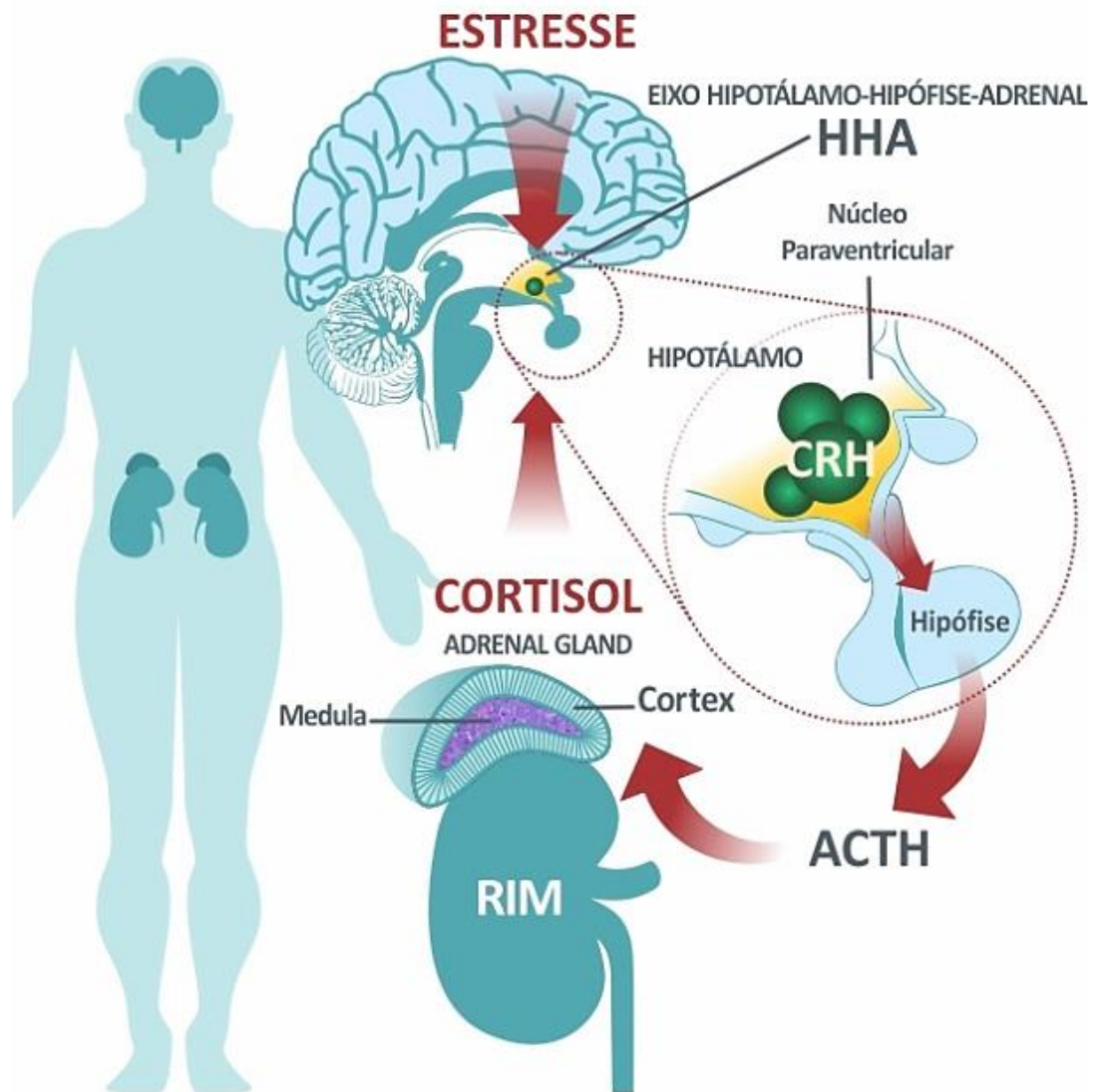
Estudos nos últimos anos tem demonstrado uma forte relação entre estresse, doenças psiquiátricas e o Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) (BELVEDERI MURRI et al., 2016; KELLER et al., 2016; ZORN et al., 2017). O estresse, definido como uma condição ou estímulo que altera a homeostase do corpo, pode ou não causar danos significativos ao organismo. Um aumento transitório na secreção de cortisol, como ocorre no estresse agudo, suprime o sistema imunológico, altera o metabolismo para um estado catabólico, aumenta os níveis energéticos, aguça a cognição e pode aumentar a confiança. Entretanto, uma exposição crônica ao estresse pode contribuir para o aparecimento dos sintomas da depressão (KANDEL; HYMAN; COHEN, 2014; MCEWEN; SAPOLSKY, 1995; SAPOLSKY, 2000).

Uma das principais consequências da exposição ao estresse é a ativação do eixo HHA. Essa ativação induz a liberação do fator liberador de corticotrofina (CRH) a partir do hipotálamo, que por sua vez, ativa a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise. Finalmente, o ACTH estimula a secreção dos glicocorticóides (cortisol em humanos e corticosterona em roedores) a partir do córtex adrenal, bem como a liberação de catecolaminas e citocinas (KELLER et al., 2016; PARIANTE et al., 2003; SILVERMAN; STERNBERG, 2012).

Mecanismos de retroalimentação dentro do eixo HHA normalmente permitem que o cortisol ou glicocorticoides administrados exogenamente inibam a secreção hormonal excessiva. Em cerca de 50% das pessoas com depressão maior, esse sistema de retroalimentação está comprometido e o eixo HHA torna-se resistente à supressão, mesmo por potentes glicocorticoides sintéticos, como a dexametasona (KANDEL; HYMAN; COHEN, 2014; PARIANTE, 2017).

Além dos mecanismos de retroalimentação negativa do próprio eixo HHA, a secreção hipotalâmica de CRH é controlada por uma via excitatória da amígdala e por uma via inibitória hipocampal. Já está documentado na literatura que uma hiperexcitabilidade da amígdala, como ocorre nos casos de ansiedade, pode causar desregulação do eixo HHA, culminando com altos níveis de cortisol (BARRY et al., 2017; PAGLIACCIO et al., 2015). Além disso, danos hipocampais podem conduzir um ciclo vicioso, uma vez que a perda do controle inibitório da secreção do CRH pode resultar em uma maior secreção de cortisol. Assim, a redução hipocampal observada em pacientes com depressão pode explicar, pelo menos em parte, a resistência do eixo HHA à supressão (HERMAN et al., 2016).

Figura 3 – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal



Fonte: Zuardi (2013). HHA – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal; CRH – Hormônio liberador de corticotrofina; ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico.

De fato, várias evidências clínicas confirmam a relação da hiperfunção do eixo HHA e a depressão. Cerca de metade de todos os pacientes com transtorno depressivo exibem hipercortisolemia e apresentam ausência da liberação pulsátil do cortisol que podem ser revertidos por tratamento com antidepressivos (STERNER; KALYNCHUK, 2010). Também foram observados aumento dos níveis de CRH em líquido cefalorraquidiano, aumento do cortisol livre urinário e diminuição da supressão do cortisol por dexametasona em pacientes com depressão (AL SHWEIKI et al., 2017; JURUENA; CLEARE; YOUNG, 2018; NESTLER et al., 2002; SOUTHWICK; VYTHILINGAM; CHARNEY, 2005).

Além disso, em estudos do nosso grupo, a administração crônica de corticosterona em camundongos acarretou um comportamento do tipo depressivo associado ao aumento do estresse oxidativo em áreas cerebrais, redução de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e aumento dos níveis de acetilcolinesterase, corroborando os achados clínicos e a teoria da disfunção do eixo HHA (OLDEHINKEL et al., 2001; SILVA et al., 2013a, 2016; SOUSA et al., 2015).

Todas essas evidências indicam um papel fundamental da disfunção do eixo HHA e dos níveis elevados de glicocorticóides na patogênese da depressão, sugerindo que estes podem ser um alvo para as drogas antidepressivas (KUMAR; KUHAD; CHOPRA, 2011).

1.3.3 Estresse oxidativo

O cérebro é particularmente vulnerável ao estresse oxidativo por ser um órgão com metabolismo bastante elevado, com alto consumo de oxigênio e adenosina trifosfato (ATP), além de conter aminoácidos excitatórios e neurotransmissores cujo metabolismo produz espécies reativas ao oxigênio e outros oxidantes (SALIM, 2016). O escape de elétrons da cadeia transportadora associado a moléculas de oxigênio leva a formação de espécies reativas ao oxigênio (EROs), que por sua vez atacam a mitocôndria, estrutura de extrema importância para o metabolismo celular neuronal, levando a danos irreparáveis ao sistema nervoso central (SNC) (PATEL, 2016).

Assim, várias doenças do SNC estão associadas ao dano oxidativo e apresentam esse componente como um dos fatores etiológicos (PATEL, 2016). Doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas como a depressão, estão associadas a uma produção exacerbada de radicais livres por diferentes processos bioquímicos (DIAS; JUNN; MOURADIAN, 2013; KIM et al., 2015; NG et al., 2008; WU; XU; SONG, 2014). Achados de estudos clínicos corroboram essa ideia ao mostrar que pessoas com depressão apresentam altos níveis de peróxido no plasma na fase aguda da doença (LINDQVIST et al., 2017; LIU et al., 2015; MAES et al., 2009).

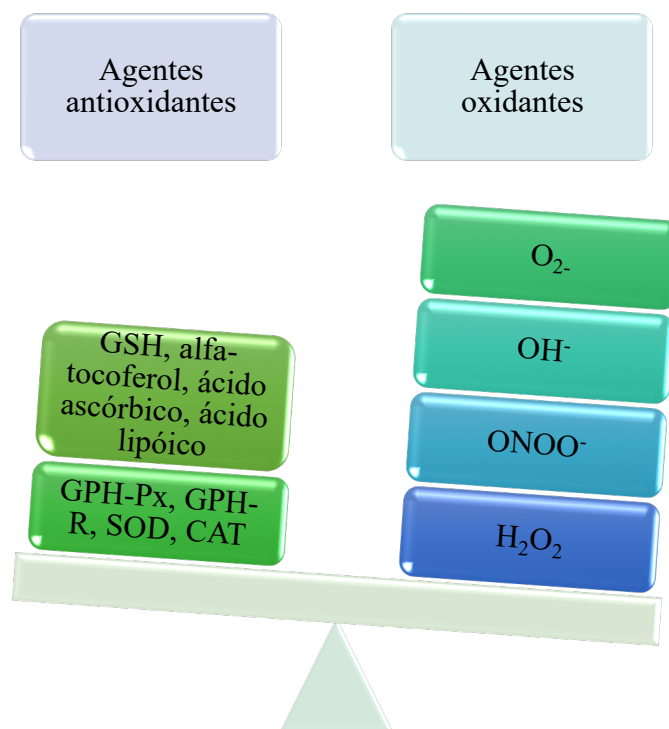
A oxidação é um processo fundamental da vida aeróbica e do metabolismo celular. As células estão em constante produção de radicais livres, principalmente sobre a forma de espécies reativas do oxigênio (EROs) e do nitrogênio (ERNs). Para manutenção do equilíbrio, o excesso de radicais livres é removido por agentes antioxidantes que podem ser enzimas ou moléculas não enzimáticas (SIES, 2015).

Os antioxidantes são substâncias capazes de promover a regeneração do substrato oxidável ou até mesmo evitar de forma significativa a oxidação deste substrato. Dentre os

antioxidantes enzimáticos podemos citar a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutaciona peroxidase (GPH-Px), glutaciona redutase (GPH-R) e dentre os não enzimáticos encontram-se a glutaciona reduzida (GSH), α -tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), carotenóides, flavonóides e o ácido lipóico (MIRONCZUK-CHODAKOWSKA; WITKOWSKA; ZUJKO, 2018; PISOSCHI; POP, 2015). Em situações em que a produção de radicais é maior que a capacidade antioxidante há estresse oxidativo, condição deletéria a diversas células do SNC.

Os principais alvos das EROs e ERNs incluem DNA, lipídeos, proteínas e açúcares. A preferência pelo alvo vai depender de fatores tais como, o local onde a espécie reativa é gerada, a habilidade relativa de uma biomolécula ser oxidada e a disponibilidade de íons metálicos associados a essa biomolécula (BHAT et al., 2015).

Figura 4 – Representação esquemática do desbalanço oxidativo.



Fonte: elaborada pelo próprio autor. A figura apresenta o desbalanço oxidativo, situação em que há maior produção de substâncias oxidantes que antioxidantes, provocando o estresse oxidativo. SOD – superóxido dismutase; GSH – glutaciona reduzida; GPH-Px - glutaciona peroxidase; GPH-R - glutaciona redutase; O₂⁻ - superóxido; OH⁻ - radical hidroxila, ONOO⁻ - peroxinitrito; H₂O₂ – peróxido de hidrogênio.

Outro importante fator que torna o SNC mais susceptível ao estresse oxidativo é o desequilíbrio na produção de glutamato. O acúmulo de glutamato ativa receptores do tipo

NMDA que promove uma superativação das enzimas fosfolipase A₂ e óxido nítrico sintase neuronal (NOSn). A ação dessas enzimas aumenta a produção de óxido nítrico (NO) que, em excesso, acarreta a formação de peroxinitrito, um radical bastante lesivo às células (CHAMORRO et al., 2016).

O Óxido Nítrico (NO) é sintetizado por um grupo de enzimas denominadas óxido nítrico sintases (NOS). No cérebro, a óxido nítrico sintase neuronal (NOSn) é encontrada no hipocampo, hipotálamo e no núcleo dorsal da rafe, áreas cerebrais que estão associadas com estresse e depressão (LIND et al., 2017).

O NO é considerado um importante neurotransmissor envolvido na fisiopatologia de muitos transtornos neuropsiquiátricos tais como epilepsia, esquizofrenia, ansiedade e depressão. É um mensageiro químico que possui capacidade de se difundir livremente através das membranas celulares e, ao contrário de outros neurotransmissores clássicos, esta molécula não é armazenada em vesículas sinápticas e, portanto, não liberada por processo de exocitose (LIND et al., 2017). Apesar da sua meia vida muito curta (3-6 s), o NO desempenha um papel importante nos processos fisiológicos do corpo. No cérebro, o NO tem sido implicado na neurotransmissão, plasticidade sináptica, regulação da expressão gênica, modulação de comportamentos sexuais e agressivos, aprendizagem, percepção da dor e na fisiopatologia da depressão (GARTHWAITE, 2019). Estudos clínicos e pré-clínicos corroboram a importância desse neurotransmissor na fisiopatologia da depressão ao mostrar que alterações na neurotransmissão nitrérgica estão associadas a sintomas depressivos (BARANYI et al., 2015; KUDLOW et al., 2016; LIEBENBERG; JOCA; WEGENER, 2015; SOLEDAD CEPEDA; STANG; MAKADIA, 2016).

Outro mecanismo responsável pela produção de radicais livres é a atividade da mieloperoxidase (MPO). A MPO é uma enzima expressa em células cerebrais e imunes, principalmente em micróglia e polimorfonucleares, que desempenha um papel importante na regulação de processos inflamatórios e causa dano oxidativo (RAY; KATYAL, 2016; TALAROWSKA; SZEMRAJ; GAŁECKI, 2015). A ativação da MPO resulta na produção de ácido hipocloroso e outros oxidantes tóxicos ao cérebro. Corroborando essa ideia, estudos apontam que a atividade e a expressão gênica dessa enzima está aumentada em pacientes com depressão, sugerindo o seu envolvimento na neurodegeneração e fisiopatologia da depressão (RAY; KATYAL, 2016; SELEK et al., 2015; TALAROWSKA; SZEMRAJ; GAŁECKI, 2015).

A produção exagerada de EROs além de gerar estresse oxidativo estimula a produção de citocinas inflamatórias, com ativação de neutrófilos, macrófagos e outras células do sistema imunológico. A ativação de macrófagos leva a secreção de glutamato que promove

um aumento no metabolismo do ácido araquidônico com consequente produção de mais radicais livres (GAŁECKI; TALAROWSKA, 2018; MAES et al., 2009).

Assim, sugere-se que a depressão seja um transtorno pertinente às doenças neurodegenerativas, haja visto que o processo inflamatório e o estresse oxidativo culminam com lesões às estruturas essenciais a manutenção da vida celular, resultando em apoptose.

1.3.4 Neuroinflamação

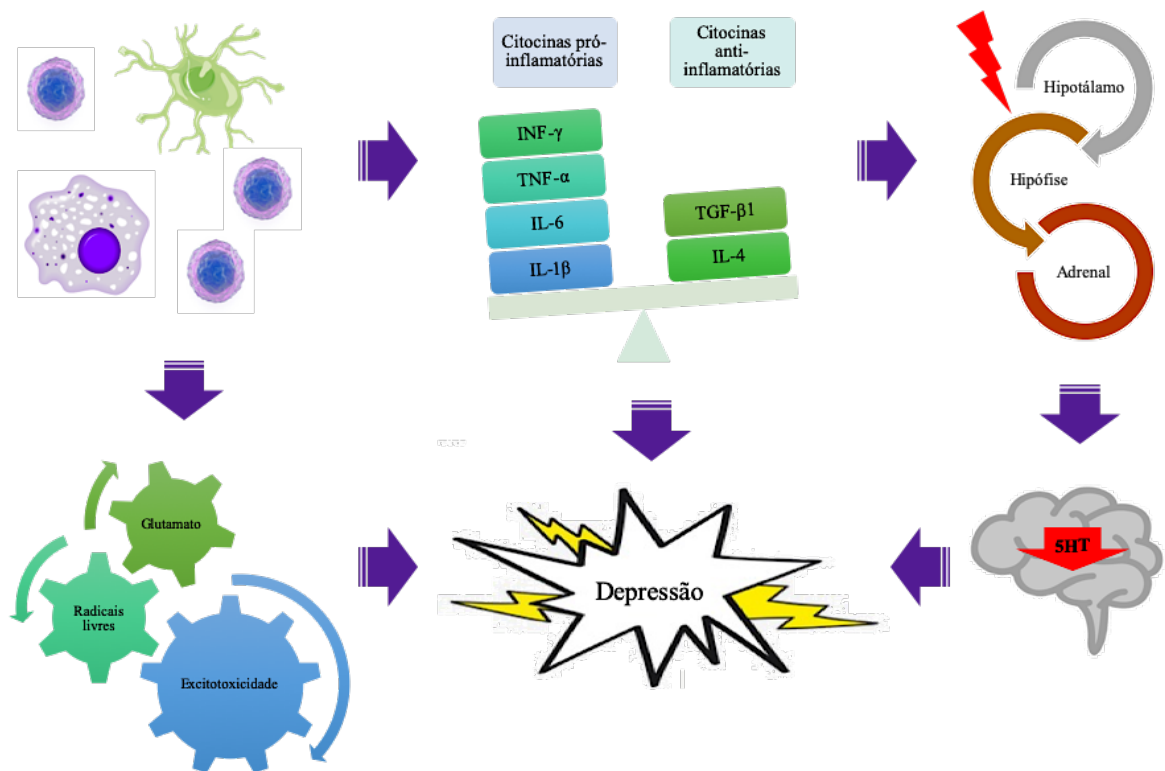
O sistema imunológico desempenha um papel essencial na manutenção da homeostase e na resposta à infecções e lesões. Apesar de alguns estímulos inflamatórios induzirem efeitos benéficos como fagocitose, apoptose, inflamação e reparação tecidual, a inflamação crônica pode resultar na produção de fatores neurotóxicos que agravam outras comorbidades (BAUMEISTER; CIUFOLINI; MONDELLI, 2016; BLOCK; ZECCA; HONG, 2007; BYRNE; WHITTLE; ALLEN, 2016; CORPS; ROTH; MCGAVERN, 2015; MILLER; RAISON, 2015; SOFRONIEW, 2015). Corroborando essa ideia, há evidências do papel importante das citocinas no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas e neuropsiquiátricas tais como doença de Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia e depressão (HEPPNER; RANSOHOFF; BECHER, 2015; JOSHI; SINGH, 2018; MILLER; RAISON, 2016; MÜLLER et al., 2015).

Nesse contexto, Smith (1991) foi um dos primeiros pesquisadores que sugeriu que as citocinas exerciam um importante papel na fisiopatologia da depressão, propondo a “teoria dos macrófagos na depressão”. Segundo esta teoria, pessoas com depressão grave apresentam um aumento nos níveis de marcadores inflamatórios no sangue e essas citocinas pró-inflamatórias, além de serem responsáveis por esta fase de reação aguda, também causam hiperatividade do eixo HHA e alteração do metabolismo da serotonina (HAASE; BROWN, 2015; PARIANTE, 2017; SMITH, 1991).

Estudos recentes corroboram essa ideia afirmando que a depressão é caracterizada por uma resposta inflamatória com ativação monocítica e linfocítica, aumento na produção de interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- α (TNF α), interleucina-2 (IL-2) e interferon- γ (INF- γ) (HODES; MÉNARD; RUSSO, 2016; MIHAILOVA et al., 2016; UINT et al., 2019; YOUNG et al., 2016b). Além disso, há também diminuição de citocinas anti-inflamatórias como interleucina-4 (IL-4) e fator de crescimento transformador- β 1 (TGF- β 1) sugerindo que a depressão está associada a um desequilíbrio imunológico (LEE; KIM, 2006; TYNAN et al., 2010).

Esse desbalanço contribui diretamente para uma hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e redução nos níveis de serotonina. A depleção dos níveis de serotonina pode ser um dos fatores responsáveis pelo desenvolvimento da depressão, visto que essa é uma das monoaminas mais importantes na fisiopatologia da depressão (HAASE; BROWN, 2015; MAES et al., 2009). Além disso, a ativação microglial leva a secreção de glutamato, responsável pela produção de radicais livres e excitotoxicidade (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012; SERAFINI; AMORE; RIHMER, 2015).

Figura 5 – Mecanismos de neuroinflamação.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor. IL-1β - interleucina-1β; IL-6 - interleucina-6; TNFα - fator de necrose tumoral-α; IL-2 - interleucina-2; INF-γ - interferon-γ; IL-4 - interleucina-4; TGF-β1 - fator de crescimento transformador-β1; 5HT – serotonina.

Evidências pré-clínicas e clínicas têm demonstrado que administração de citocinas pró-inflamatórias induzem sinais e sintomas semelhantes a depressão (FELGER; LOTRICH, 2013; LU et al., 2017; MILLER; MALETIC; RAISON, 2010; NADEEM et al., 2017). Pesquisa em seres humanos corroboram essa ideia ao mostrar que o tratamento com IFN-α e administração periférica de IL-6 promove um aumento dos sintomas depressivos em pacientes

com o transtorno (WICHERS; MAES, 2002). Um outro estudo clínico mostra ainda que pessoas com depressão grave apresentam um aumento de marcadores inflamatórios no sangue que são capazes de interagir com praticamente todos os domínios fisiopatológicos da depressão, incluindo o metabolismo de neurotransmissores, função neuroendócrina e plasticidade neural (MILLER; MALETIC; RAISON, 2009).

Com base no exposto a depressão apresenta-se como um transtorno associado a um processo inflamatório que acarreta desequilíbrio na homeostase do sistema imunológico, ocasionando importantes danos a estruturas cerebrais.

1.3.5 Déficit neurotrófico

Dentre as diversas teorias existentes para explicar a fisiopatologia da depressão, tem se postulado que a redução de neurotrofinas em áreas cerebrais também pode ser um dos mecanismos fisiopatológicos desse transtorno (DUMAN, 2004; LEVY et al., 2018).

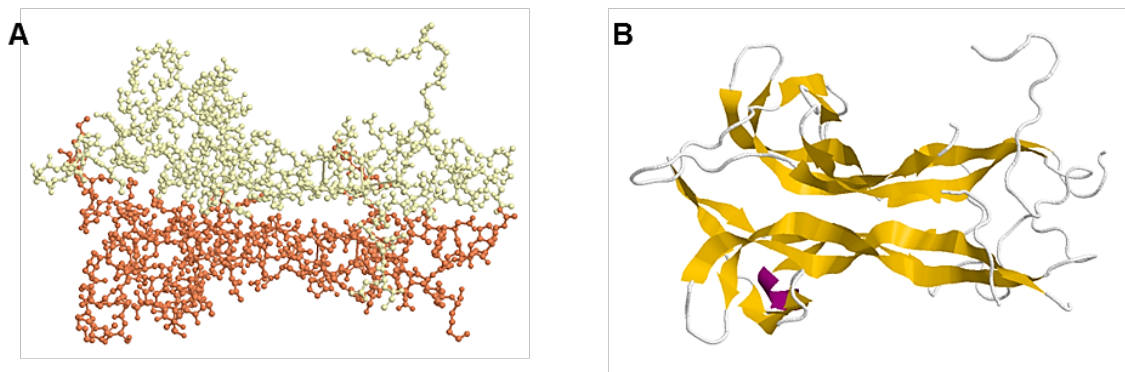
As neurotrofinas são proteínas homodiméricas reguladoras da neurogênese, crescimento, diferenciação e plasticidade da rede neuronal, morte celular, migração e diferenciação fenotípica, estando associadas ainda à inflamação e desmielinização autoimune (DWIVEDI, 2009, 2013; PALLAVI et al., 2013).

Em 1953 foi identificada a primeira neurotrofina, o Fator de crescimento do nervo (do inglês, *Nerve Growth Factor* – NGF). Esta descoberta ampliou o horizonte da neurobiologia para a identificação e elucidação dos aspectos moleculares envolvidos na fisiopatologia dos distúrbios neurológicos (COHEN; LEVI-MONTALCINI, 1957).

Quase três décadas após a descoberta do NGF, foi isolada em 1982, em neurônios de porcos, uma outra neurotrofina nomeada de Fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês, *Brain-derived Neurotrophic Factor* – BDNF). Desde então, quatro outros membros da família das neurotrofinas foram identificados: Neurotrofina-3, Neurotrofina-4/5, Neurotrofina-6 e Neurotrofina-7 (BOTHWELL, 2014; GÖTZ et al., 1994; L. NETO et al., 2011; MAISONPIERRE et al., 1990; NILSSON et al., 1998).

O BDNF é o mais extensamente estudado membro da família das neurotrofinas, sendo considerado a principal neurotrofina do cérebro. É largamente produzido pelas células da glia e pelos núcleos neuronais e, em menor quantidade, por células endoteliais, leucócitos e células satélites de músculo esquelético, sendo amplamente encontrado no hipocampo, neocórtex, amígdala e cerebelo

Figura 6 – Estrutura molecular do fator neurotrófico derivado do cérebro



Fonte: RCSB protein data bank (2019). **A.** Representação esquemática das subunidades do BDNF. **B.** Representação esquemática segundo a estrutura secundária do BDNF.

As neurotrofinas, em especial o BDNF, parecem estar implicadas na base fisiopatológica de diversas doenças neurodegenerativas e psiquiátricas, sendo caracterizado como um biomarcador de vários distúrbios do humor e como alvo molecular chave no desenvolvimento de fármacos para tratamento de distúrbios neurológicos (GÉRAL; ANGELOVA; LESIEUR, 2013; PLUCHINO et al., 2013).

A expressão de BDNF no sistema nervoso central é modificada por vários tipos de insultos cerebrais (estresse, isquemia, convulsão, hipoglicemia etc.) e alterações nesta expressão podem contribuir para algumas patologias como depressão, doença de Alzheimer e doença de Parkinson (AUTRY; MONTEGGIA, 2012; JEANNETEAU; CHAO, 2013; ZUCCATO; CATTANEO, 2009).

De acordo com a hipótese neurotrófica da depressão, o estresse é um dos principais fatores associados à redução da atividade do BDNF, o que resulta na diminuição da função das regiões límbicas do cérebro envolvidas no processamento de emoções e cognição (CAO et al., 2016; FILHO et al., 2015; HUANG et al., 2018; MOLTENI et al., 2016; PENG et al., 2018).

Além disso, estudos sugerem que a resistência à farmacoterapia da depressão está associada a um polimorfismo genético de substituição Val⁶⁶Met no gene do BDNF (BJÖRKHOLM; MONTEGGIA, 2016; EGAN et al., 2003; EL-HAGE et al., 2015; YOUSSEF et al., 2018) e que o estresse pode estar relacionado à expressão do alelo Met desse polimorfismo (HOSANG et al., 2014). Esse alelo tem sido associado à redução da atividade do BDNF (EGAN et al., 2003; YOUSSEF et al., 2018), prejuízo de memória (DE AZEREDO et al., 2017; EGAN et al., 2003), tamanho hipocampal (MORI; CABALLERO, 2010), ansiedade

(MOREIRA et al., 2015), depressão (ZHAO et al., 2017) e ideação suicida (PREGELJ et al., 2011; YOUSSEF et al., 2018). Indivíduos com pelo menos um alelo Met e risco elevado de transtornos afetivos, apresenta níveis elevados de cortisol à noite, sugerindo uma alteração do eixo HHA e predisposição a resposta mal adaptada ao estresse (NOTARAS et al., 2017; VINBERG et al., 2009; YU et al., 2012).

Assim, o BDNF é apontado como um marcador preditivo relacionado à eficácia ou falha terapêutica, podendo ser utilizado como marcador de sucesso do tratamento (FRODL, 2017; POLYAKOVA et al., 2015). Além disso, terapias capazes de promover o aumento dos níveis de BDNF alcançam remissão dos sintomas depressivos em pacientes com transtorno de depressão resistentes a terapia (BILGEN et al., 2014; BUMB et al., 2014; HU et al., 2010; SALEHI et al., 2014).

Vale ainda salientar que há evidências de uma interação positiva e recíproca entre a expressão do BDNF e 5HT, o principal neurotransmissor implicado na hipótese das monoaminas (MATTSON; MAUDSLEY; MARTIN, 2004; POPOVA; ILCHIBAEVA; NAUMENKO, 2017). A ativação de receptores de serotonina tem efeitos protetores neuronais através da ativação do CREB (proteína ligada ao fator de transcrição do monofosfato de 3',5'-adenosina cíclico – AMPc), levando à expressão de BDNF (POPOVA; NAUMENKO, 2019). De maneira recíproca, o aumento dos níveis de BDNF aumenta o fenótipo serotoninérgico dos neurônios dos núcleos da rafe, a fonte de entrada de 5HT no hipocampo (ADACHI et al., 2017; MARTINOWICH; LU, 2008).

Assim, além de se mostrar como integrador de fatores etiológicos da depressão, o BDNF configura-se como uma ferramenta inovadora para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos e alvo a ser explorado no desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas.

1.4 Doença cardiovascular e depressão

A depressão é altamente prevalente em pacientes com doenças cardiovasculares, estando associada a um pior prognóstico cardiovascular e a maiores custos ao sistema de saúde (COHEN; EDMONDSON; KRONISH, 2015; PENNINX, 2017).

Estima-se que um em cada cinco pacientes com doença arterial coronariana (DAC) ou insuficiência cardíaca (IC) tenha depressão, uma prevalência 3 vezes maior que na população geral (LANE et al., 2002; RUO et al., 2003; RUTLEDGE et al., 2006). Em pacientes que sofreram acidente vascular encefálico (AVE) essa proporção é ainda mais preocupante: 1 em cada 3 pacientes apresenta depressão após o AVE (HACKETT; ANDERSON, 2005). Além

disso, estudos mostram que pacientes com doenças cardiovasculares associadas a depressão têm maior probabilidade de apresentar limitações físicas, baixa qualidade de vida, eventos cardiovasculares recorrentes, além de maior taxa de mortalidade (BARTOLI et al., 2013; GOTTLIEB et al., 2009; JIANG et al., 2001; NICHOLSON; KUPER; HEMINGWAY, 2006; RUO et al., 2003). Além disso, os efeitos cardiotóxicos dos sintomas depressivos têm sido relatados por pesquisadores de todo o mundo e, apesar da melhora contínua das intervenções cardiovasculares, ainda são frequentemente observados (MEIJER et al., 2011).

Por serem ambas, depressão e doença cardiovascular, de etiologia multifatorial, tanto os mecanismos comportamentais quanto os biológicos tem sido explorados como vias potenciais de associação entre as duas patologias. Com relação aos fatores comportamentais, a depressão tem sido associada à redução dos comportamentos de autocuidado e favoráveis saúde como a falta de adesão ao tratamento, sedentarismo e tabagismo, podendo esses fatores estarem relacionados a associação de risco entre depressão e doença cardiovascular além de um pior prognóstico (BAUTISTA et al., 2012; COHEN; EDMONDSON; KRONISH, 2015; KRONISH et al., 2006; PENNINX, 2017; WHOOLEY et al., 2008; WU et al., 2013).

No que diz respeito aos mecanismos biológicos, tem sido citado como mecanismo fisiopatológico da depressão e das doenças cardiovasculares o desequilíbrio homeostático autonômico, ativação simpática-adrenal, ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, desregulação do sistema imunológico resultando em estado inflamatório, ativação plaquetária e disfunção endotelial (COHEN; EDMONDSON; KRONISH, 2015; PENNINX, 2017; RIECKMANN et al., 2013; SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2013; SELIGMAN; NEMEROFF, 2015; SLAVICH; IRWIN, 2014)

Há diversos fatores capazes de induzir ou ativar esses mecanismos fisiopatológicos, dentre os quais se destaca o estresse. O estresse crônico altera o equilíbrio homeostático no sistema nervoso autônomo promovendo ativação simpática sustentada e diminuição do tônus vagal, o que contribui para um estado pró-inflamatório com sequelas associadas (GOLBIDI; FRISBEE; LAHER, 2015; LICHT et al., 2015; PENNINX, 2017; PORGES, 2001). Além disso, os hormônios do estresse e substâncias pró-inflamatórias liberadas pelos macrófagos e micróglia regulam positivamente as enzimas limitantes da velocidade na via metabólica do triptofano, culminando na formação de metabolitos neurotóxicos (OGYU et al., 2018; SHELTON; MILLER, 2010; SUBLETTE; POSTOLACHE, 2012). Estudos mostram ainda que essas alterações estão presentes em pacientes com depressão e também em pacientes com doenças cardiovasculares, corroborando a ideia de que essas patologias compartilham

mecanismos fisiopatológicos comuns e que podem estar associadas (OGYU et al., 2018; SONG et al., 2017; ZUO et al., 2016).

Tendo em vista que todos esses processos estão envolvidos na patologia da depressão e da doença cardiovascular, compreender a fisiopatologia cardiovascular em conjunção com comorbilidades psiquiátricas é de importância crítica. Apesar do conhecimento desses fatores biológicos e comportamentais, o entendimento sobre quais os mecanismos que melhor explicam a associação entre depressão e doença cardiovascular ainda é difícil, sendo necessário mais estudos que suportem essa teoria.

1.5 Tratamento da depressão

A descoberta de drogas antidepressivas possibilitou um avanço importante no tratamento da depressão, destacando-se como os agentes terapêuticos mais frequentemente prescritos para o tratamento deste transtorno (DRAPIER et al., 2007).

Os antidepressivos melhoram o humor por diversos mecanismos como o aumento das concentrações de neurotransmissores na fenda sináptica através da inibição do metabolismo, bloqueio de recaptação neuronal ou atuação em autorreceptores pré-sinápticos (RACAGNI; POPOLI, 2010; STAHL, 2014). Além disso, há evidências de que o tratamento com antidepressivos está associado a efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e é capaz de induzir a neurogênese ao elevar os níveis de BDNF, principalmente no hipocampo (DE SOUSA et al., 2018; HUANG et al., 2014; NINAN et al., 2014; SILVA et al., 2013a; SOUSA et al., 2015; WANG et al., 2014).

Sabendo que a depressão é uma doença multifatorial e que pode estar associada a diversas comorbidades como as doenças cardiovasculares, é necessário um tratamento que apresente a capacidade de interferir com os diversos mecanismos associados. O tratamento antidepressivo disponível se baseia primordialmente na teoria monoaminérgica, tendo como objetivo aumentar as concentrações de neurotransmissores cerebrais. Contudo, cerca de 30% dos pacientes não respondem adequadamente ao tratamento, reforçando a ideia de que outros mecanismos estão envolvidos e devem ser considerados durante o tratamento (PIGOTT, 2015).

Os antidepressivos são classificados de acordo com sua estrutura química ou propriedades farmacológicas. Dentre as principais classes de antidepressivos podemos citar os inibidores da monoaminoxidase, antidepressivos tricíclicos, inibidores de recaptação e antidepressivos atípicos. Dentre as classes citadas, os inibidores da recaptação de serotonina e

noradrenalina destacam-se por apresentarem melhora da resposta ao tratamento (KNOLLMANN, 2012).

Venlafaxina e seu metabólito ativo, desvenlafaxina (DVS), são alguns dos fármacos representantes desta classe de antidepressivos. Esses agentes são bem mais tolerados e seguros que outros antidepressivos, apresentando efeitos colaterais como náuseas, constipação, insônia, cefaleia e disfunção sexual (KNOLLMANN, 2012; STAHL, 2014).

A desvenlafaxina foi o terceiro inibidor seletivo da recepção de serotonina e noradrenalina (ISRSN) a receber a aprovação do FDA (*Food and drug administration*) para uso nos Estados Unidos, em 2008, sendo clinicamente indicado para o tratamento de depressão maior. Por apresentar uma meia-vida longa, é necessária apenas uma administração diária para garantir o efeito desejado (PERRY; CASSAGNOL, 2009; SANSONE; SANSONE, 2014; SEO et al., 2010; WYETH PHARMACEUTICALS, 2013).

Estruturalmente, a desvenlafaxina apresenta semelhança com a velanfina, provavelmente pelo fato de aquela ser o único metabólito ativo desta. Seu metabolismo se dá parcialmente através do sistema CYP450 (CYP3A4) e cerca de 50% da droga é excretada na urina de forma inalterada. Devido a este perfil farmacocinético de pouca interface com o sistema CYP450, DVS apresenta risco reduzido de potenciais interações medicamentosas, em comparação com outros antidepressivos. Além disso, DVS não está sujeita a influências de polimorfismo genético (SANSONE; SANSONE, 2014).

Vale ressaltar que DVS demonstra 10 vezes mais seletividade para a inibição da recaptação de serotonina, principal monoamina implicada na fisiopatologia da depressão, que para a recaptação de noradrenalina (SANSONE; SANSONE, 2014). Além disso, há evidências recentes que mostram que DVS é capaz de elevar os níveis de BDNF (SOUSA et al., 2015) principalmente em pacientes com depressão grave (NINAN et al., 2014). Isso tem refletido na eficácia terapêutica demonstrada em pacientes na dose recomendada de 50 mg/dia (FINDLING et al., 2014; ROSENTHAL et al., 2013) e ratifica a importância de se estudar este fármaco.

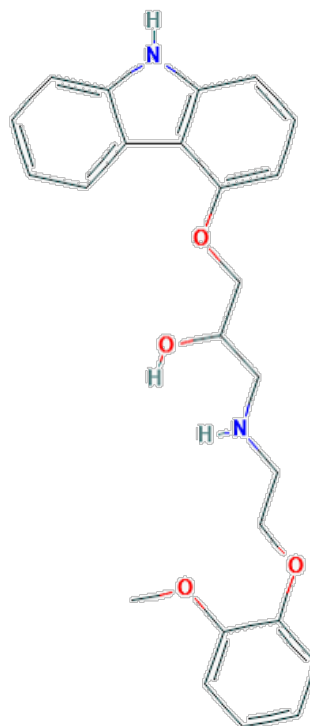
Apesar das extensas pesquisas e de os antidepressivos exibirem resultados satisfatórios em alguns pacientes, ainda não dispomos de uma explicação completa do funcionamento dos antidepressivos e nem de um tratamento ideal para a depressão. Embora sejam eficazes, os antidepressivos atuais ainda apresentam latência para início da resposta clínica, efeitos colaterais indesejáveis e muitos pacientes apresentam resistência ao tratamento. Esse contexto justifica o avanço nas pesquisas para a descoberta de novos fármacos ou ainda o redirecionamento de uso de medicamentos, com perfil terapêutico que atenda de maneira satisfatória a necessidade dos pacientes com depressão.

1.6 Carvedilol

O Carvedilol, 1-[carbazolil-(4)-oxi]-3-[(2-metoxi-fenoxietil)-amino]-2-propanolol, é um bloqueador dos receptores α_1 , β_1 e β_2 adrenérgicos utilizado clinicamente no tratamento da insuficiência cardíaca, hipertensão arterial sistêmica e disfunção ventricular esquerda após infarto do miocárdio (CHEN-SCARABELLI et al., 2012; DEAN, 2012; LI et al., 2016).

O medicamento é composto de uma mistura racêmica na qual o enantiômero S(-) apresenta potente atividade antagonista dos receptores β -adrenérgicos, enquanto ambos os enantiômeros R(+) e S(-) são igualmente eficazes no bloqueio da atividade α -adrenérgica (DEAN, 2012). Assim, apresenta propriedade betabloqueadora cardíaca não seletiva e vasodilatadora periférica. Além disso, carvedilol é um dos betabloqueadores com maior lipossolubilidade, característica que favorece a distribuição em diversos tecidos corporais, incluindo o sistema nervoso central (CHEN-SCARABELLI et al., 2012; LI et al., 2016).

Figura 7. Estrutura química do carvedilol



Fonte: PubChem, U.S. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information (2019).

Ambos os receptores adrenérgicos, alfa e beta, já tem sido implicados na fisiopatologia da depressão. A importância do sistema adrenérgico na depressão tem sido relatada em estudos que mostram aumento da densidade de receptores alfa-1 e alfa-2 em

pacientes vítimas de suicídio. De maneira semelhante, a mesma alteração foi observada em receptores beta-1 em pacientes com depressão. Corroborando a ideia de que os receptores adrenérgicos medeiam efeitos associados a sintomas depressivos, esses mesmos estudos mostram que o tratamento com antidepressivos ou bloqueadores adrenérgicos revertem o *up-regulation* desses receptores (MARTINEZ et al., 2014; ORDWAY; KLIMEK, 2001; PANDEY et al., 1995; PYTKA et al., 2016; RIVERO et al., 2014). Dessa forma, esses achados confirmam que o carvedilol representa uma importante alternativa no tratamento da depressão.

O carvedilol também apresenta propriedade vaso e cardioprotetora atribuído, em parte, a sua atividade antioxidante (FEUERSTEIN; RUFFOLO, 1995; YUE et al., 1993). Estudos mostram que esse fármaco é capaz de eliminar radicais livres de oxigênio, impedir a depleção de antioxidantes endógenos, como o α -tocoferol (vitamina E) e a glutatona (GSH), quelar metais e assim prevenir a peroxidação lipídica (NOGUCHI; NISHINO; NIKI, 2000; TADOLINI; FRANCONI, 1998; YUE et al., 1992a, 1992b, 1992c).

Além disso, o carvedilol apresenta efeito anti-inflamatório, promove a redução na infiltração de neutrófilos, inibição da apoptose, redução da migração do músculo liso vascular e prevenção da formação de lipoproteínas de baixa densidade oxidadas, melhorando assim o remodelamento miocárdico pós-infarto agudo do miocárdio e a progressão de doença aterosclerótica (DE ARAÚJO JÚNIOR et al., 2013; LI et al., 2016; MCTAVISH; CAMPOLI-RICHARDS; SORKIN, 1993; TADOLINI; FRANCONI, 1998; YUE et al., 1992c).

Apesar do efeito farmacológico promissor para diversas patologias clinicamente importantes, estudos sobre o efeito neuroprotetor do carvedilol ainda são insipientes, principalmente no que diz respeito as doenças neuropsiquiátricas. Estudos pré-clínicos nessa área mostram que a utilização dessa medicação reduz o estresse oxidativo em células neuronais, a toxicidade causada por acúmulo de proteína β -amiloide em modelos animais de Doença de Alzheimer, apresenta efeito antimaníaco em modelo animal de mania e é capaz, ainda, de reduzir a discinesia tardia ocasionada por neurolépticos (DE SOUZA et al., 2015; LIU; WANG, 2018; NAIDU; SINGH; KULKARNI, 2002; TASSET et al., 2009; WANG et al., 2011).

Tendo em vista as ações pleiotrópicas do carvedilol associadas a possíveis alvos farmacológicos no tratamento da depressão, o redirecionamento do uso desse fármaco em pacientes com transtornos depressivos, associado a hipertensão arterial sistêmica ou não, apresenta-se promissor como alternativa terapêutica.

1.7 Modelos animais de estresse no estudo da depressão

A depressão é fortemente influenciada por eventos estressantes e traumáticos ao longo da vida, estando associada a quadros clínicos de prejuízos na resiliência e resposta mal adaptada a situações aversivas (BRUENIG et al., 2017; CHAN et al., 2016; DE KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005). Além disso, estresse crônico e frustração crônica comumente induzem alterações neurobiológicas, as quais podem levar à depressão (WILLNER, 1997).

Devido a isso, vários modelos animais de depressão são baseados na exposição do animal a uma variedade de estressores. Atualmente, modelos de estresse estão baseados em estresses intensos, moderados ou na combinação dos dois, podendo ser aplicados repetidamente ou de forma variada (imprevisível) (PARÉ; GLAVIN, 1986; TOYODA, 2017; VETULANI, 2013; WILLNER, 2017a). Os modelos de estresse crônico parecem ser mais apropriados para mimetizar a fisiopatologia da depressão comparado a outros modelos por exibirem maior reprodutibilidade de sintomas e alterações neurobiológicas (WILLNER, 1997, 2005, 2017b). Vale destacar que há uma correlação entre maior tempo e variabilidade dos estressores aplicados com alterações mais robustas no comportamento e na neurobiologia do modelo (WILLNER, 2017b).

Diante disso, o modelo de estresse crônico imprevisível apresenta-se como importante modelo animal para investigação dos mecanismos fisiopatológicos da depressão e possíveis alternativas terapêuticas.

1.7.1 Estresse Crônico Imprevisível

Em 1987 foi desenvolvido o paradigma do estresse crônico, que consistia em vários estressores moderados aplicados por um longo período (WILLNER et al., 1987). Segundo esse paradigma, a aplicação de diferentes tipos de estressores é essencial para a robustez do modelo, já que aplicar um único estressor de forma repetida frequentemente induz uma habituação comportamental (MUSCAT; WILLNER, 1992). Assim, esse modelo parece simular melhor a condição do ambiente humano, principalmente no que diz respeito a exposição do indivíduo a estressores diários moderados e variados. Corroborando essa ideia, estudos mostram que algumas das alterações comportamentais e neuroquímicas provocadas pelo estresse crônico imprevisível (ECI) são representativas de sintomas observados em pacientes com depressão. Alterações circadianas (GORKA; MORYL; PAPP, 1996), distúrbios do sono (CHEETA et al., 1997), perda de peso (WILLNER; JONES, 1996), distúrbios na regulação simpática das

funções cardíacas (GRIPPO; BELTZ; JOHNSON, 2003), aumento dos níveis séricos de citocinas, (KUMAR; KUHAD; CHOPRA, 2011) e aumento da atividade do eixo HHA (MUSCAT; WILLNER, 1992) foram associados ao modelo de estresse crônico imprevisível. Além disso, o modelo pode ainda induzir significativa redução na preferência pelo consumo de sacarose, comportamento representativo da anedonia, um dos principais sintomas do transtorno depressivo (WILLNER et al., 1987).

Assim, o estresse crônico imprevisível é um importante modelo de depressão por ser bastante robusto, ao apresentar validade de face, preditiva e de constructo, e por mimetizar possíveis condições ambientais que contribuem para o desenvolvimento da depressão.

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

A depressão é um transtorno crônico e recorrente que ameaça a qualidade de vida do indivíduo e família (KESSLER, 2012). Estando entre as formas mais prevalentes dos transtornos mentais, afeta 300 milhões de pessoas em todo o mundo (WHO, 2017). Apesar dos avanços no conhecimento da neurobiologia e neurofarmacologia da depressão, a terapia farmacológica atual ainda se baseia na antiga hipótese das monoaminas (RACAGNI; POPOLI, 2010; SCHILDKRAUT, 1965) e, embora estas drogas proporcionem uma melhora nas condições clínicas dos pacientes, o seu início de ação é lento e provocam muitos efeitos adversos. Além disso, aproximadamente 30% dos pacientes não apresentam remissão, mesmo após múltiplas tentativas de tratamentos otimizados (PIGOTT, 2015).

A compreensão da fisiopatologia e do tratamento da depressão constitui um desafio, não somente por ser considerada uma síndrome heterogênea de etiologia multifatorial (MONROE; ANDERSON, 2015), mas também porque é impossível criar um modelo animal de investigação que represente, exatamente, os sintomas da depressão em humanos, tais como humor deprimido, baixa autoestima, culpa e suicídio (NESTLER; HYMAN, 2010).

O modelo de estresse crônico imprevisível apresenta-se mais robusto em simular a condição do ambiente humano, principalmente pela exposição do indivíduo a estressores diários moderados e variados, diferentemente do que ocorre em eventos traumáticos (WILLNER, 1997, 2005, 2017a) Assim, tal modelo configura-se como ferramenta importante na compreensão da fisiopatologia e na pesquisa de novos alvos farmacológicos e de terapias alternativas.

As lacunas e falhas terapêuticas apresentadas pelos antidepressivos tem levado cada vez mais pesquisadores em todo o mundo a buscar novos fármacos com mecanismos de ação diferentes. Esses agentes devem ser capazes de reduzir os sintomas ou proteger contra os danos neurais decorrentes da patologia sem promover os potenciais efeitos colaterais causados pela terapia convencional.

O carvedilol (CVD), um bloqueador não seletivo dos receptores alfa-1 e beta-1 adrenérgicos (VEIGA et al., 2016), possui importante propriedade antioxidante, anti-inflamatória e cardioprotetora já comprovada em vários estudos que abordam, inclusive, patologias neurológicas e psiquiátricas (DE ARAÚJO JÚNIOR et al., 2013; DE SOUZA et al., 2015; FATANI et al., 2015; KARATAS et al., 2015; OLAPOUR et al., 2016; PRAKASH; KUMAR, 2009).

Diante do potencial pleiotrópico de CVD e da correlação existente entre depressão e hipertensão (HERRMANN-LINGEN; AL'ABSI, 2018; LI et al., 2015; PRIGGE; JACKSON, 2018; Z. et al., 2015) pretende-se, no presente estudo, avaliar o potencial efeito antidepressivo de carvedilol em modelo animal de depressão induzido por estresse crônico imprevisível, propiciando o redirecionamento farmacológico de uma droga anti-hipertensiva para o tratamento de depressão. Dessa maneira, é possível favorecer um melhor resultado terapêutico, redução da polifarmácia de pacientes que possuem depressão e hipertensão arterial, além de reduzir o tempo e os gastos oriundos do desenvolvimento de novos medicamentos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Estudar os efeitos comportamentais e neuroquímicos de carvedilol e desvenlafaxina em modelo animal de depressão induzido por estresse crônico imprevisível.

3.2 Objetivos Específicos

- Investigar os efeitos sobre o comportamento do tipo ansioso e depressivo, de interação social e de cognição do tratamento com carvedilol ou desvenlafaxina em animais submetidos ao ECI.
- Avaliar o ganho de peso de camundongos tratados com carvedilol ou desvenlafaxina e submetidos ao ECI.
- Analisar a área da zona cortical da adrenal de camundongos tratados com carvedilol ou desvenlafaxina e submetidos ao ECI.
- Avaliar parâmetros de estresse oxidativo em áreas cerebrais (córtex pré-frontal e hipocampo) de camundongos tratados com carvedilol ou desvenlafaxina e submetidos ao ECI.
- Determinar a atividade de mieloperoxidase em áreas cerebrais (córtex pré-frontal e hipocampo) de camundongos tratados com carvedilol ou desvenlafaxina e submetidos ao ECI.
- Determinar as concentrações de IL-4, IL-6 e IFN- γ em áreas cerebrais (córtex pré-frontal e hipocampo) de camundongos tratados com carvedilol ou desvenlafaxina e submetidos ao ECI.
- Determinar as concentrações de BDNF em áreas cerebrais (córtex pré-frontal e hipocampo) de camundongos tratados com carvedilol ou desvenlafaxina e submetidos ao ECI.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss* fêmeas com a intenção de representar a prevalência epidemiológica do transtorno que acomete mais mulheres. Os animais foram utilizados quando tinham peso entre 30-32g e eram provenientes do Biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os mesmos foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$), com ciclo claro/escuro de doze horas e recebendo água e comida à vontade, exceto nos períodos de estresse para indução de comportamento depressivo, conforme protocolo experimental. Foram respeitados os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), que estão em conformidade com as normas internacionais de pesquisas científicas envolvendo animais (NIH, 1996). O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) do NPDM, nº 26/2017. Os procedimentos foram conduzidos com minimização de dor e menor desconforto possível.

4.2 Drogas

4.2.1 Carvedilol

Carvedilol (CVD) (Lab. Biosintética, Aché) foi diluído em água destilada e administrado por via oral (gavagem) durante 7 dias consecutivos, na dose de 5 ou 10mg/kg, em volume de 10ml/kg. As dosagens para CVD foram calculadas a partir de doses humanas anti-hipertensivas (12,5 e 25mg) com base na área de superfície corporal (REAGAN-SHAW *et al.*, 2008).

4.2.2 Desvenlafaxina

Succinato de desvenlafaxina monoidratada (DVS) (Lab. Wyeth) foi macerada e dissolvida em água destilada e administrada por via oral (gavagem), durante 7 dias consecutivos na dose de 10mg/kg, em volume de 10ml/kg. A dosagem para DVS determinada com base em estudos anteriores de nosso laboratório (DE SOUSA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2013b).

4.3 Indução de depressão por estresse crônico imprevisível

Os camundongos foram submetidos a fatores estressores como descrito por (KUMAR; KUHAD; CHOPRA, 2011). Um fator estressante foi aplicado uma vez ao dia durante 21 dias de modo a não se repetirem em uma mesma semana durante o protocolo (Tabela 1).

Quadro 1 – Cronograma de indução de depressão por estresse crônico imprevisível.

	Estímulo estressor	Tempo	Período
1º dia	Natação em ambiente frio (12°C)	5 min	Manhã
2º dia	Pinça da cauda	30 s	Tarde
3º dia	Privação de água e comida	24 h	Manhã
4º dia	Iluminação noturna	12 h	Noite
5º dia	Ausência de estresse	-	-
6º dia	Natação em temperatura ambiente (23 ± 2°C)	15 min	Manhã
7º dia	Pinça da cauda	60 s	Tarde
8º dia	Natação em ambiente frio (12°C)	5 min	Manhã
9º dia	Iluminação noturna	12 h	Noite
10º dia	Ausência de estresse	-	-
11º dia	Natação em temperatura ambiente (23 ± 2°C)	10 min	Manhã
12º dia	Pinça da cauda	90 s	Tarde
13º dia	Natação em ambiente frio (12°C)	5 min	Manhã
14º dia	Privação de água e comida	24 h	Tarde
15º dia	Iluminação noturna	12 h	Noite
16º dia	Ausência de estresse	-	-
17º dia	Privação de água e comida	24 h	Manhã
18º dia	Pinça da cauda	60 s	Tarde
19º dia	Natação em temperatura ambiente (23 ± 2°C)	15 min	Manhã
20º dia	Iluminação noturna	12 h	Noite
21º dia	Natação em ambiente frio (12°C)	5 min	Manhã

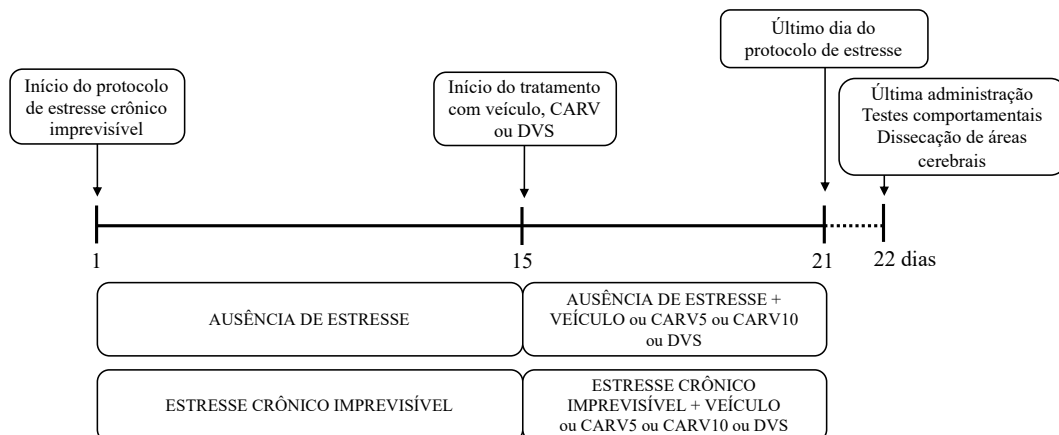
Fonte: Adaptado de Kumar, Kuhad e Chopra (2011), modificado.

4.4 Desenho experimental

O protocolo (figura 8) foi proposto para avaliar os efeitos comportamentais e neuroquímicos da administração de carvedilol e desvenlafaxina no modelo animal de depressão induzido por estresse crônico imprevisível. Para estes experimentos os animais foram randomicamente agrupados conforme os grupos experimentais abaixo:

- Grupo controle: animais foram mantidos sem nenhum fator estressor durante 21 dias e foi realizada uma administração diária de água por via oral (gavagem) entre o 15º e 21º dias.
- Grupo controle tratado com carvedilol: animais foram mantidos sem nenhum fator estressor durante 21 dias e uma administração diária de carvedilol (5 ou 10mg/kg) por via oral (gavagem) entre o 15º e 21º dias.
- Grupo controle tratado com desvenlafaxina: animais foram mantidos sem nenhum fator estressor durante 21 dias e uma administração diária de desvenlafaxina (10mg/kg) por via oral (gavagem) entre o 15º e 21º dias.
- Grupo estresse crônico imprevisível (ECI): animais foram submetidos a fatores estressores durante 21 dias e a uma administração diária de água por via oral (gavagem) entre o 15º e 21º dias.
- Grupo ECI tratados com carvedilol: animais foram submetidos a fatores estressores durante 21 dias e a uma administração diária de carvedilol (5 ou 10mg/kg) por via oral (gavagem) entre o 15 e 21º dias.
- Grupo ECI tratado com desvenlafaxina (DVS): animais foram submetidos a fatores estressores durante 21 dias e a uma administração diária de desvenlafaxina (10mg/kg) por via oral (gavagem) entre o 15º e 21º dias.

Figura 8 – Protocolo experimental.

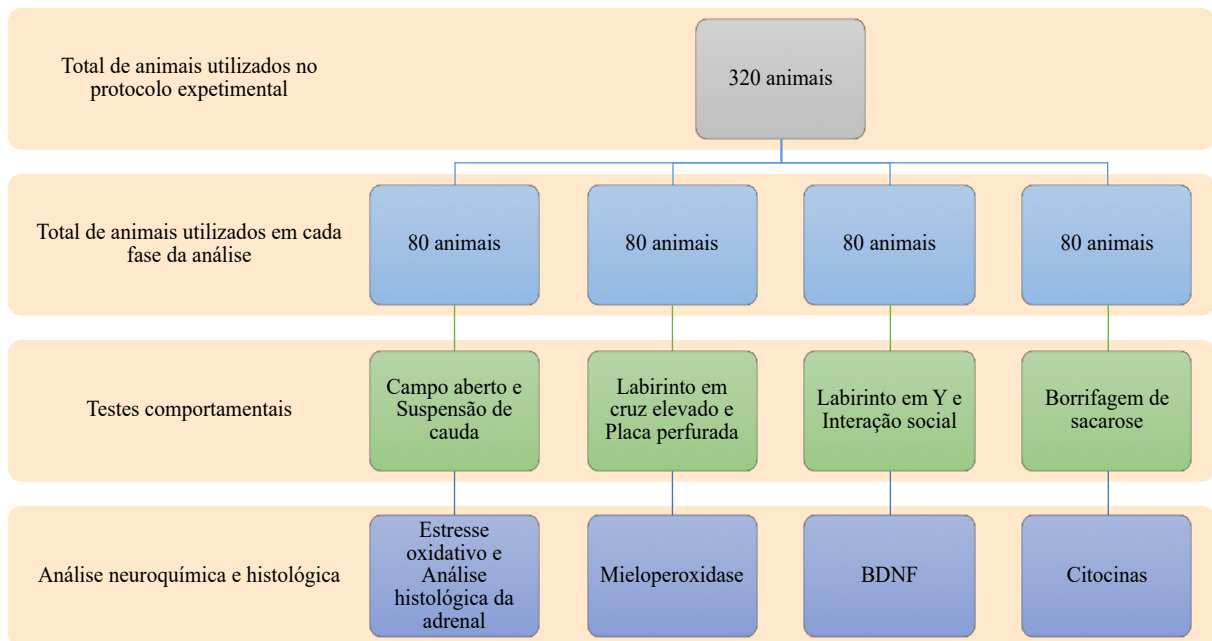


Fonte: elaborada pela própria autora.

No vigésimo segundo dia, tendo sido concluído o período de estresse, os animais receberam a última dose do tratamento com água, CVD ou DVS e, após 1 hora, foram submetidos aos seguintes testes comportamentais: campo aberto, labirinto em cruz elevada, placa perfurada, suspensão de cauda, borrifagem de sacarose, interação social e Y-maze. Imediatamente após os testes comportamentais os animais foram eutanasiados por rápida decapitação e seus cérebros e adrenais removidos e lavados em solução salina gelada para posterior realização de análises neuroquímicas e histológicas.

Para condução do protocolo experimental foram utilizados 320 animais que estiveram distribuídos conforme esquema abaixo com a finalidade de evitar vieses decorrentes da extensa avaliação comportamental.

Figura 9 – Quantidade e distribuição de animais utilizados na condução do protocolo experimental.



Fonte: elaborada pela própria autora.

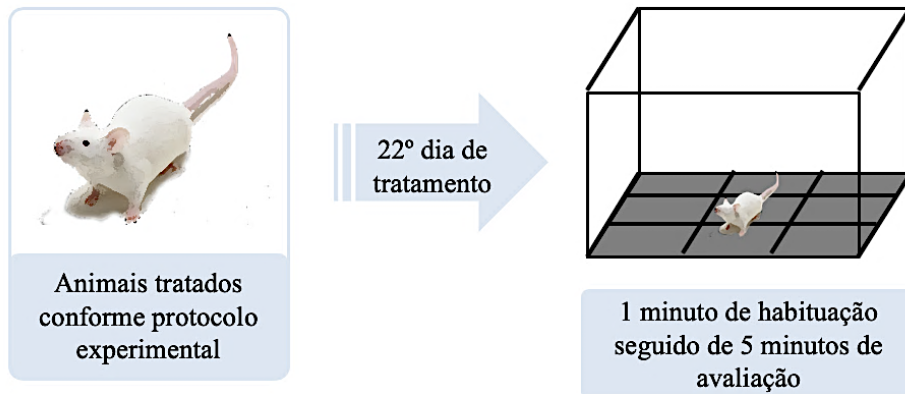
4.5 Testes comportamentais

4.5.1 Avaliação da atividade locomotora e exploratória

4.5.1.1 Teste de campo aberto

O aparato utilizado para a realização do teste de campo aberto (TCA) com camundongos é feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) e dividido em 9 quadrantes iguais (Figura 9). A metodologia foi utilizada para avaliar a atividade exploratória do animal (ARCHER, 1973). Os parâmetros investigados foram: número de cruzamentos, número de comportamentos de autolimpeza (*grooming*) e número de explorações verticais (*rearing*) e a distância percorrida, registrados durante um tempo de 5 minutos, após 1 minuto de habituação.

Figura 9 – Teste de campo aberto



Fonte: elaborada pelo próprio autor.

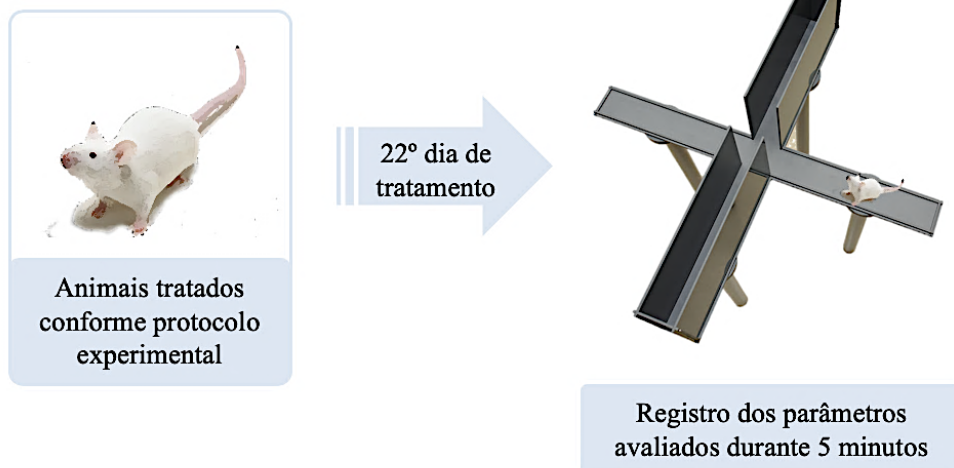
4.5.2 Avaliação do comportamento ansioso-símile

4.5.2.1 Teste de labirinto em cruz elevado

O comportamento do tipo ansiedade foi avaliado através do teste de labirinto em cruz elevado (LCE) (LISTER, 1987) realizado com um aparato composto 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 são conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm) e estão elevados a uma altura de 45 cm do nível do chão (Figura 10). Neste teste os camundongos são 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: frequência de entradas e o tempo despendido nos braços abertos e nos fechados.

Figura 10 – Teste de labirinto em cruz elevado

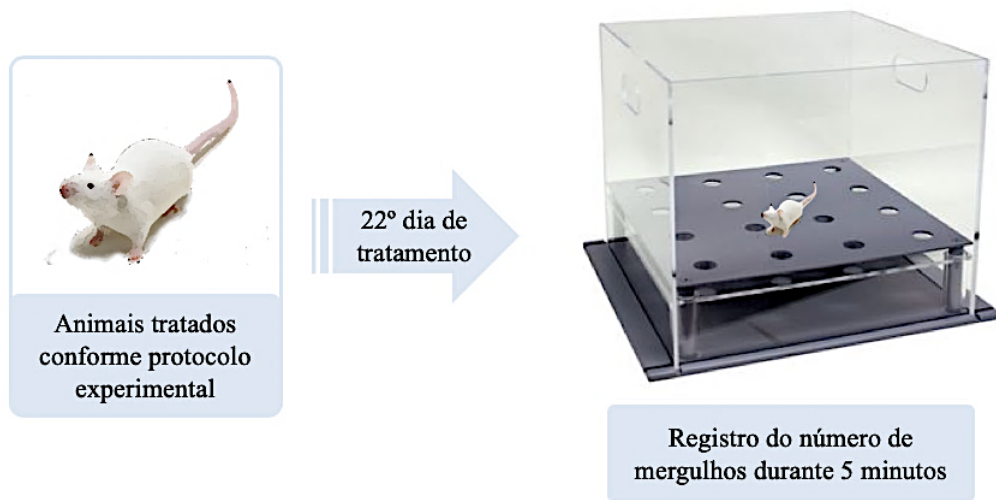


Fonte: elaborada pelo próprio autor.

4.5.2.2 Teste de placa perfurada

O teste de placa perfurada (TPP) (Figura 11) foi conduzido com a finalidade de avaliar o comportamento ansioso-símile de camundongos. O aparato utilizado consistia em uma superfície de acrílico de 20 x 20cm com 16 orifícios equidistantes. Para cada animal, o número de mergulhos em cada orifício foi registrado durante 5 minutos (CLARK; KOESTER; PEARSON, 1971).

Figura 11 – Teste de placa perfurada



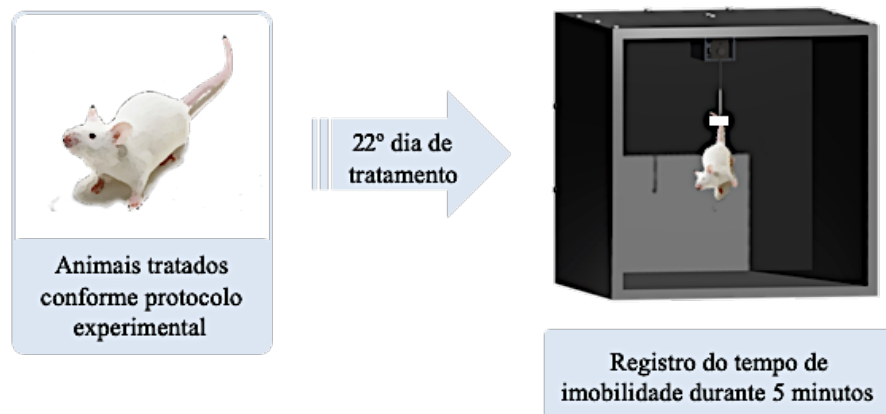
Fonte: Fonte: elaborada pelo próprio autor.

4.5.3 Avaliação do comportamento depressivo-símile

4.5.3.1 Teste de suspensão de cauda

Na investigação da atividade antidepressiva foi conduzido o teste de suspensão da cauda (TSC) (Figura 12). Neste teste os camundongos ficam 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 minutos é registrado (STERU, 1985).

Figura 12 – Teste de suspensão de cauda

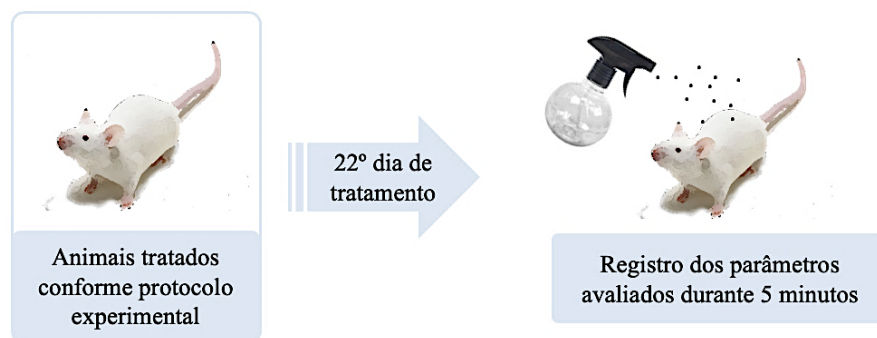


Fonte: Fonte: elaborada pelo próprio autor.

4.5.3.2 Teste de borrifagem de sacarose

O teste (TBS) consistiu em borrifar solução de sacarose 10% no dorso dos animais que foram colocados individualmente em uma caixa limpa de acrílico (30 x 30 x 20 cm). Devido à sua viscosidade, a solução de sacarose adere ao pelo do animal provocando um comportamento de autolimpeza (*grooming*). Após a aplicação da solução de sacarose, a frequência, a latência para início do comportamento de autolimpeza e o tempo total de autolimpeza foram registrados durante 5 minutos (Figura 13). O aparato foi limpo com uma solução de etanol 30% entre os testes a fim de eliminar pistas olfativas dos animais (YALCIN; AKSU; BELZUNG, 2005).

Figura 13 – Teste de borrifagem de sacarose



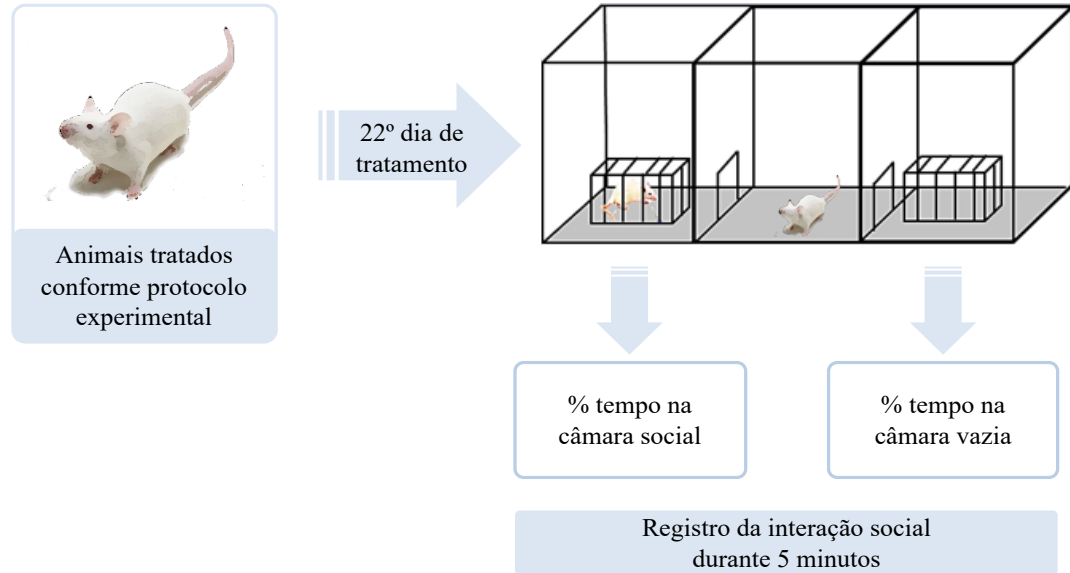
Fonte: Fonte: elaborada pelo próprio autor.

4.5.3.3 Teste de interação social

Para a avaliação da interação social (TIS) (Figura14), os animais foram colocados em uma caixa com 3 compartimentos. Em um dos compartimentos laterais havia um animal do mesmo sexo e idade dentro de uma gaiola, na outra lateral havia uma gaiola semelhante sem animal no seu interior e o meio da caixa permaneceu livre. Foi avaliado neste teste o tempo que o animal permanece explorando o compartimento com animal e sem animal durante 5 minutos (KOSHIMIZU; LEITER; MIYAKAWA, 2012).

Foi medido o tempo gasto em cada uma das três câmaras e a preferência social foi definida como: (% do tempo gasto na câmara social) – (% o tempo gasto na câmara oposta).

Figura 14 – Teste de interação social



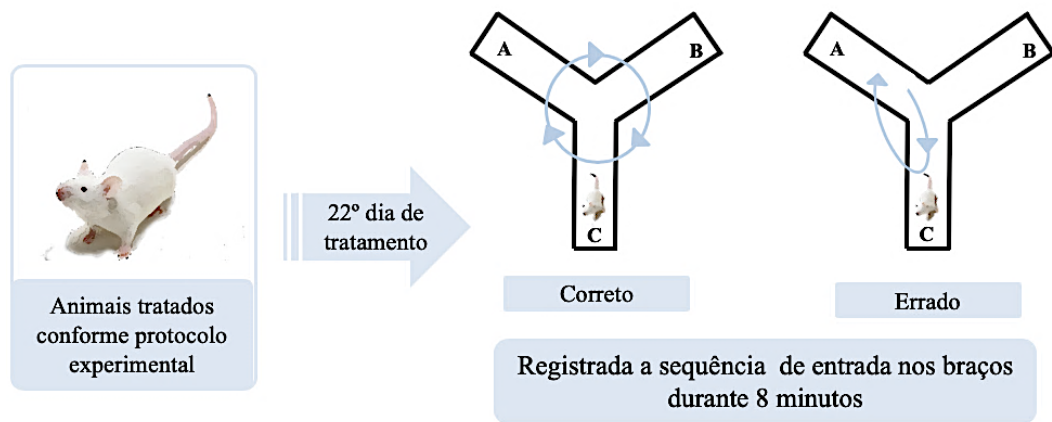
Fonte: elaborada pelo próprio autor.

4.5.4 Avaliação da função cognitiva

4.5.4.1 Teste de labirinto em Y

A memória operacional e o aprendizado foram avaliados pela taxa de alterações espontâneas em um labirinto em Y (TLY) (Figura 15) com os três braços (40 x 5 x 16 cm) posicionados em ângulos iguais (SARTER; BODEWITZ; STEPHENS, 1988). Antes do teste, os braços foram nomeados e o animal foi então, colocado em um braço e alternou espontaneamente as entradas nos outros durante 8 minutos. A sequência dos braços os quais os animais entraram foi então anotada e as informações analisadas de forma a determinar o número de entradas no braço sem repetição.

Figura 15 – Teste de labirinto em Y



Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Uma alternância foi considerada correta quando o animal visitou um novo braço e não retornou ao braço anteriormente visitado. Assim, a percentagem das alternâncias foi calculada como a razão entre as alternâncias corretas (n) e o número de visitas realizadas durante o período de observação ($n-2$), multiplicado por 100, conforme a fórmula a seguir:

$$\% \text{ Alternâncias espontâneas} = n / n-2 \times 100.$$

4.6 Avaliação do ganho de peso

Para mensuração do ganho de peso dos animais, foi registrado, a cada dois dias, o peso em gramas de cada animal durante todo o protocolo experimental. A pesagem foi realizada em balança digital sempre no horário entre 9 e 10 horas da manhã. Ao final do protocolo foi verificado quantos gramas (g) os animais tinham ganhado em relação ao primeiro dia do protocolo experimental.

4.7 Avaliação da área da zona cortical da adrenal

Após eutanásia e retirada dos cérebros, foram removidas também as adrenais esquerdas dos animais. Os órgãos foram removidos e fixados em formol tamponado 10% até a parafinização. Em seguida, as adrenais foram cortadas e coradas com hematoxilina-eosina

para mensuração da área da zona cortical. A análise foi realizada através do software *Image J* e expressa em mm².

4.8 Testes neuroquímicos

4.8.1 Dissecação das áreas cerebrais

Os animais foram sacrificados por rápida decapitação e os cérebros retirados e rapidamente colocados sobre o papel alumínio em uma placa de Petri com gelo. Para a retirada do córtex pré-frontal (CPF), a porção anterior dos lobos frontais (em torno de 1,5 mm a partir do bulbo olfatório) foi removida e feita uma secção bilateral com o auxílio de uma tesoura de microdissecação. Após a retirada do CPF, acompanhando a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi retirada das leptomeninges com o auxílio de uma pinça reta de microdissecação, a qual, progredindo delicada e tangencialmente aos ventrículos laterais, divulsionou o córtex em toda a sua extensão fronto-occipital. O córtex já divulsionado foi rebatido para os lados, expondo a região hipocampal (HC). O HC foi isolado das estruturas circunjacentes por divulsionamento com uma tesoura de microdissecação, sendo a sua retirada orientada pelo diâmetro da porção tuberosa visível desses núcleos, após o rebatimento lateral do córtex (SOUSA et al., 2015). Após o término da dissecação que foi conduzida sob o gelo, CPF e HC foram colocados em microtubos tipo eppendorfs devidamente identificados, pesados e conservados a -70°C até serem utilizadas para testes neuroquímicos.

4.8.2 Determinação de parâmetros de estresse oxidativo

4.8.2.1 Determinação da concentração de glutathiona reduzida

Os níveis de glutathiona reduzida (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 cerebrais 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 ng de GSH/g de tecido úmido.

4.8.2.2 Determinação da concentração de nitrito

Para avaliar os efeitos de tratamentos com as respectivas drogas na produção indireta de óxido nítrico, foram determinados os 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 de nitrito determinada com base na reação de Griess (GREEN; TANNENBAUM; GOLDMAN, 1981; RADENOVIC; SELAKOVIC, 2005). Para esse experimento 100 μ 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 μ L do sobrenadante do homogenato tecidual e incubado a temperatura ambiente por 10 min. A curva padrão foi elaborada com várias concentrações de NaNO_2 (variando de 0,75 a 100 mM) sob as mesmas condições e os brancos foram preparados pela adição de 100 μ L do reativo de Griess a 100 μ L do tampão usado para o homogenato. A absorbância foi medida em leitor de microplacas em 560 nm e expressa em nM de nitrito/g de tecido úmido.

4.8.2.3 Determinação da concentração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

A peroxidação lipídica foi avaliada pela mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos homogenatos. As amostras foram homogenizadas com tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM pH 7,4 e 63 μ L do homogenato foi misturado a 100 μ L de ácido perclórico 35%, sendo estas novamente centrifugadas (7000 rpm/15 min). Logo em seguida, 150 μ L do sobrenadante foram recuperados e misturados a 50 μ L de ácido tiobarbitúrico 1,2%, sendo aquecidos em um banho de água fervente por 30 min. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada por absorbância a 535 nm e expressa como μ g de MDA/g de tecido úmido (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

4.8.3 Análise da atividade de mieloperoxidase

As amostras foram pesadas, congeladas e homogeneizadas em uma solução de brometo de hexadeciltrimetilamônio 0,5% em tampão fosfato 50 mM (HTAB, pH 6). As

amostras foram então centrifugadas (40000 g, por 15 min, 4°C) para remover o material insolúvel. A mieloperoxidase (MPO) presente no sobrenadante (0,1 mL) foi analisada por espectrofotometro após adição de 2,9 mL de tampão fosfato (50 mM, pH 6,0) contendo 0,167 mg/mL de hidrocloreto de o-dianisidina e 0,0005% de peróxido de hidrogênio. A absorbância a 460 nm foi medida nos tempos de 0 e 3 min (BRADLEY et al., 1982). A diferença entre os valores de absorbância basal e de 3 minutos foi considerada para o cálculo das unidades de MPO (U) baseado na equação da reta de uma curva padrão de MPO. Os resultados foram expressos como U de MPO por mg de tecido.

4.8.4 Determinação das concentrações de IL-4, IL-6 e IFN- γ

As áreas cerebrais dissecadas (CPF e HC) foram homogeneizadas em 8 volumes de tampão PBS com inibidores de protease (EMD Biosciences) e fosfatase (Sigma-Aldrich) para posteriormente serem centrifugadas (10000 rpm, 5 min). O sobrenadante foi usado sem diluição. A concentração das citocinas, em 50 μ L de amostras foi determinada por ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA) de acordo com o protocolo do fabricante e expressa em pg/g de tecido.

4.8.5 Determinação das concentrações de fator neurotrófico derivado do cérebro

Para homogeneização das áreas cerebrais a 20 volumes de tampão PBS (pH 7,4), foi adicionado inibidor de protease (Sigma-Aldrich). Os níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) de cada amostra foi quantificado por ensaio imunoenzimático (ELISA; R&D Systems, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em picograma de BDNF/g de tecido.

4.9 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism 8, San Diego Califórnia, EUA. Os resultados foram comparados através de Two-way ANOVA (comportamento, estresse oxidativo, atividade de MPO), peso corporal e área de zonas cortical e medular da adrenal) ou One-way ANOVA (citocinas e BDNF) seguido pelo teste de Turkey (*post hoc test*) para comparações múltiplas. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas em $p < 0,05$. Antes da avaliação por ANOVA, o teste de omnibus D'Agostino-

Pearson foi realizado para verificar a distribuição normal dos dados. Para todas as análises, o nível de significância foi estabelecido em $\alpha = 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Efeitos sobre o comportamento

5.1.1 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre a atividade locomotora e exploratória

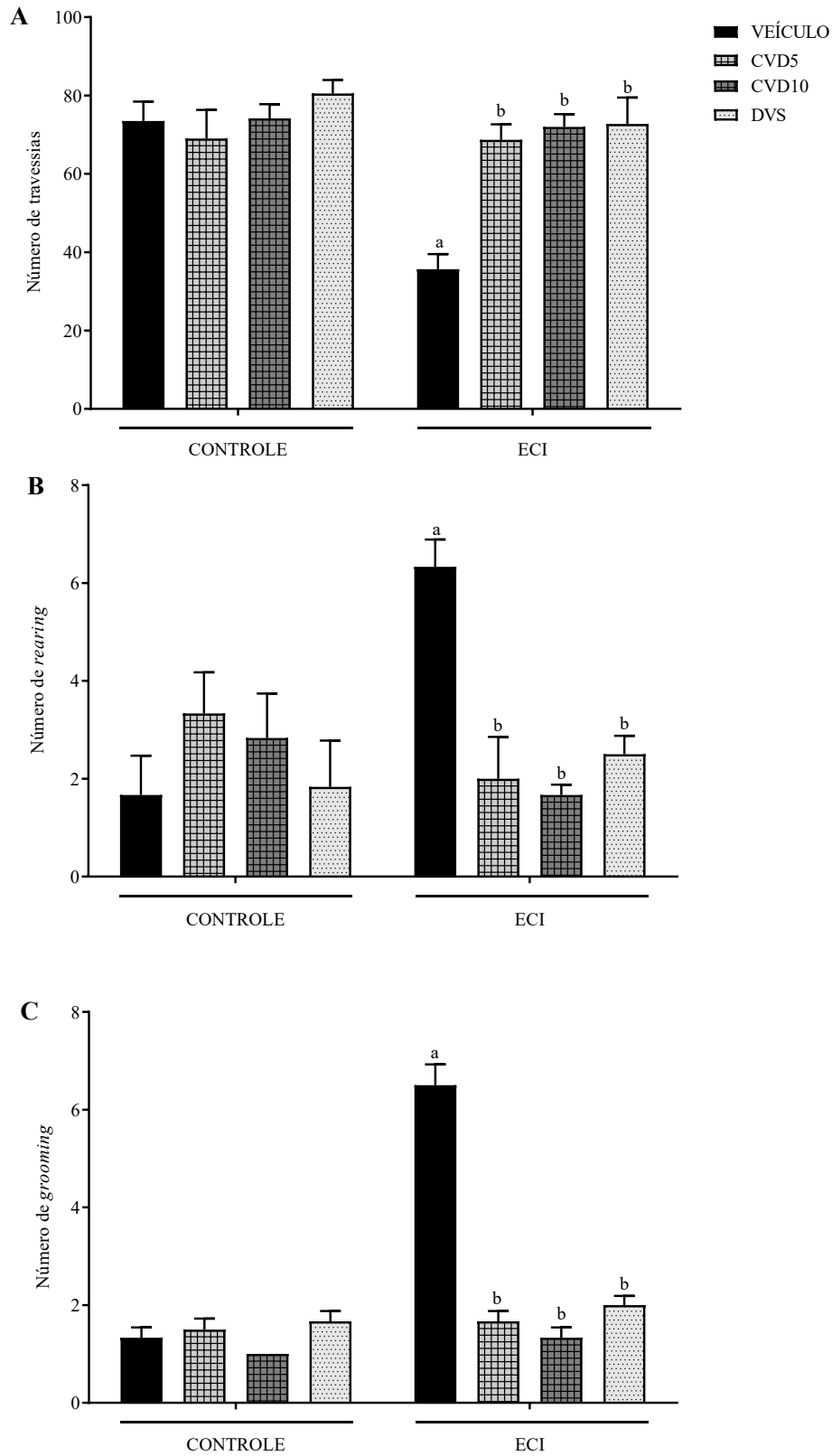
Com a finalidade de investigar alterações na atividade locomotora e exploratória dos animais, foi conduzido o teste de campo aberto. Nesse teste, a análise da atividade locomotora (Figura 16A) revelou efeito significativo do “tratamento” [F (3, 42) = 7,105; P = 0,0006] e “estresse crônico imprevisível” [F (1, 42) = 10,96; P = 0,0019], assim como interação significativa entre esses fatores [F (3, 42) = 5,636; P = 0,0024]. Além disso, o *post hoc* revelou que o estresse crônico imprevisível causou uma redução significativa no número de travessias quando comparado ao grupo controle (P < 0,001), enquanto tanto CVD (P < 0,001), em ambas as doses, quanto DVS (P < 0,0001) foram capazes de reverter esse efeito.

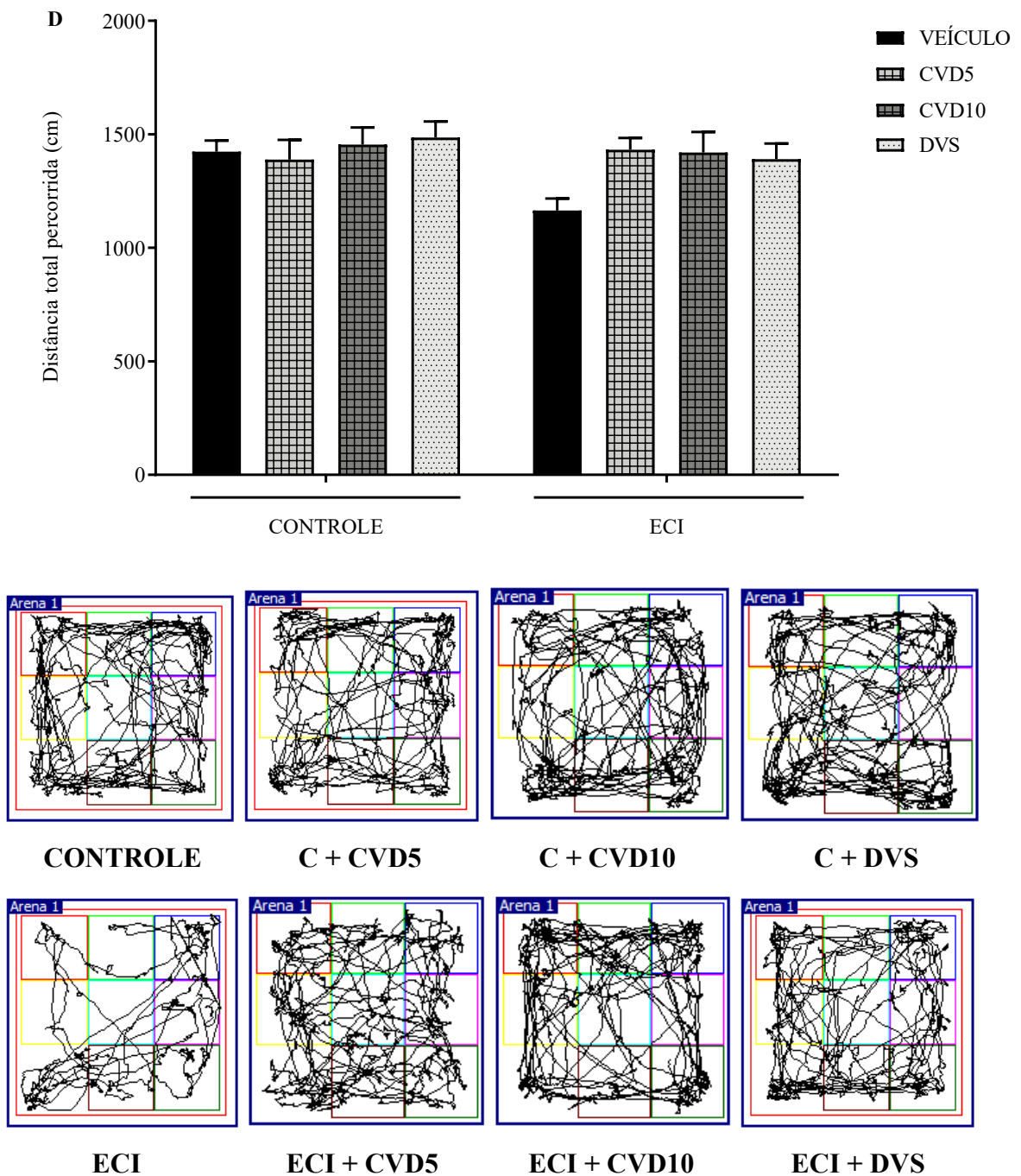
Um efeito semelhante foi observado na avaliação da atividade exploratória vertical (*rearing*) (Figura 16B) ao apresentar uma interação significativa entre os fatores “tratamento” e “estresse crônico imprevisível” [F (3, 42) = 7,375; P = 0,0004]. Nesse teste o *post hoc* mostrou que estresse crônico imprevisível causou um aumento no número de *rearing* quando comparado com o grupo controle (P < 0,01), enquanto todos os tratamentos reverteram esse efeito (P < 0,01).

Na avaliação dos movimentos de autolimpeza (*grooming*) (Figura 16C) também foi evidenciado um efeito significativo em “tratamento” [F (3, 42) = 52,96; P < 0,0001] e “estresse crônico imprevisível” [F (1, 42) = 81,67; P < 0,0001], associado a uma interação significativa entre esses fatores [F (3, 42) = 53,13; P < 0,0001]. Além disso, o *post hoc* evidenciou que o estresse crônico imprevisível causou aumento significativo no parâmetro avaliado quando comparado com o grupo controle (P < 0,0001), enquanto todos os tratamentos foram capazes de reverter esse efeito (P < 0,0001).

Diferentemente do esperado, na avaliação da distância (Figura 16D) percorrida pelos animais durante o teste, não foi evidenciada nenhuma interação significativa entre os fatores “tratamento” e “estresse crônico imprevisível” [F (3, 42) = 1,612; P = 0,2010] e nenhum dos grupos apresentou diferença significativa.

Figura 16 – Alterações na atividade locomotora, *rearing*, *grooming* e distância percorrida induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de campo aberto.





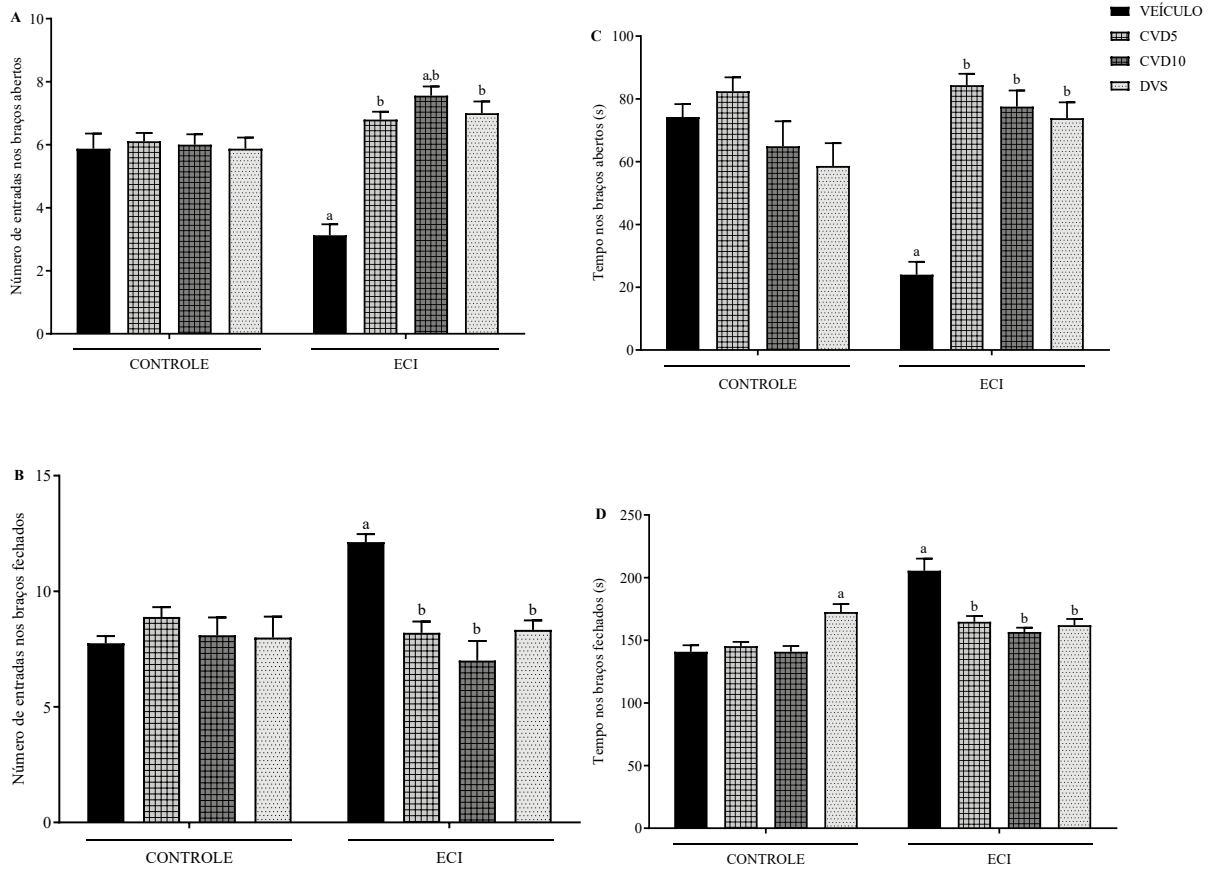
Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram submetidos ao teste de campo aberto, 1h após a administração de CVD ou DVS, sem aplicação de fatores estressores. Foram avaliados o número de travessias (A), número de *rearing* (B), número de *grooming* (C) e distância percorrida (D). Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=6-8 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

5.1.2 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre o comportamento ansioso-símile

Para avaliar os efeitos do modelo de estresse crônico imprevisível e dos tratamentos sobre comportamentos relacionados a ansiedade foram conduzidos os testes de labirinto em cruz elevado e placa perfurada.

Na análise do teste de labirinto em cruz elevado (Figura 17) foi observado efeito significativo no “tratamento” em todos os parâmetros avaliados (NEBA: [F (3, 63) = 17,90; P < 0,0001]; NEBF: [F (3, 63) = 5,214; P = 0,0028]; TPBA: [F (3, 63) = 12,99; P < 0,0001]; TPBF: [F (3, 63) = 8,415; P < 0,0001]), assim como significativa interação entre esses fatores (NEBA: [F (2, 46) = 18,15; P < 0,0001]; NEBF: [F (3, 63) = 7,895; P = 0,0001]; TPBA: [F (3, 63) = 14,44; P < 0,0001]; TPBF: [F (3, 63) = 15,63; P < 0,0001]). Nesse teste o *post hoc* evidenciou que o estresse crônico imprevisível causou diminuição no número de entradas (Figura 17A; P < 0,0001) e no tempo de permanência (Figura 17B; P < 0,0001) nos braços abertos e aumento no número de entradas (Figura 17C; P < 0,001) e no tempo de permanência (Figura 17D; P < 0,0001) nos braços fechados quando comparado ao grupo controle. O tratamento com CVD5 (NEBA: P < 0,0001; NEBF: P < 0,001; TPBA: P < 0,0001; TPBF: P < 0,0001), CVD10 (NEBA: P < 0,0001; NEBF: P < 0,0001; TPBA: P < 0,0001; TPBF: P < 0,0001) ou DVS (NEBA: P < 0,0001; NEBF: P < 0,01; TPBA: P < 0,0001; TPBF: P < 0,0001) foi capaz de reverter todos os efeitos provocados pelo estresse crônico imprevisível nesse teste. Curiosamente, o tratamento com DVS na ausência de ECI apresentou aumento isolado no tempo de permanência nos braços fechados quando comparado com controle (P < 0,01).

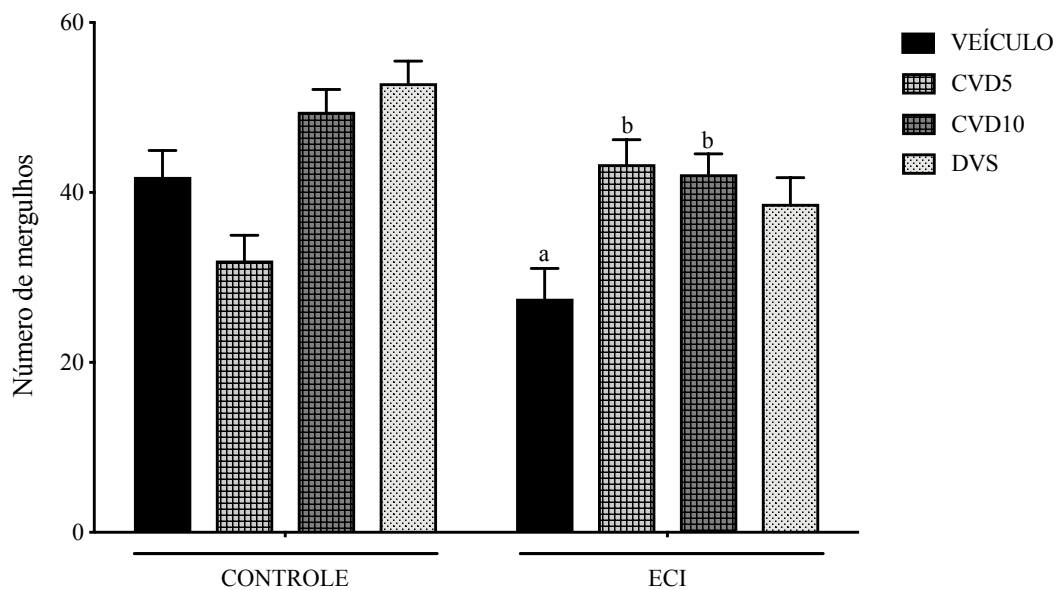
Figura 17 – Alterações no comportamento ansioso-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de labirinto em cruz elevado



Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram submetidos ao teste de labirinto em cruz elevado, 1h após a administração de CVD ou DVS, sem aplicação de fatores estressores. Foram avaliados o número de entradas nos braços abertos (A) e braços fechados (B), e tempo de permanência nos braços abertos (C) e braços fechados (D). Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=8-10 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

Da mesma maneira, a avaliação do número de mergulhos mensurado durante a realização do teste de placa perfurada (Figura 18) mostrou um efeito significativo no “tratamento” [$F(3, 43) = 7,570$; $P = 0,0004$] e no “estresse crônico imprevisível” [$F(1, 43) = 8,904$; $P = 0,0047$], assim como interação também significativa entre esses fatores [$F(3, 43) = 8,712$; $P = 0,0001$]. O estresse crônico imprevisível causou uma diminuição no parâmetro avaliado quando comparado com o grupo controle ($P < 0,05$), corroborando os dados apresentados no teste de labirinto em cruz elevado que demonstram um efeito ansiogênico do ECI. Nesse teste, apenas CVD, em ambas as doses, foi capaz de reverter o efeito provocado pelo estresse crônico imprevisível ($P < 0,05$).

Figura 18 – Alterações no comportamento ansioso-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de placa perfurada



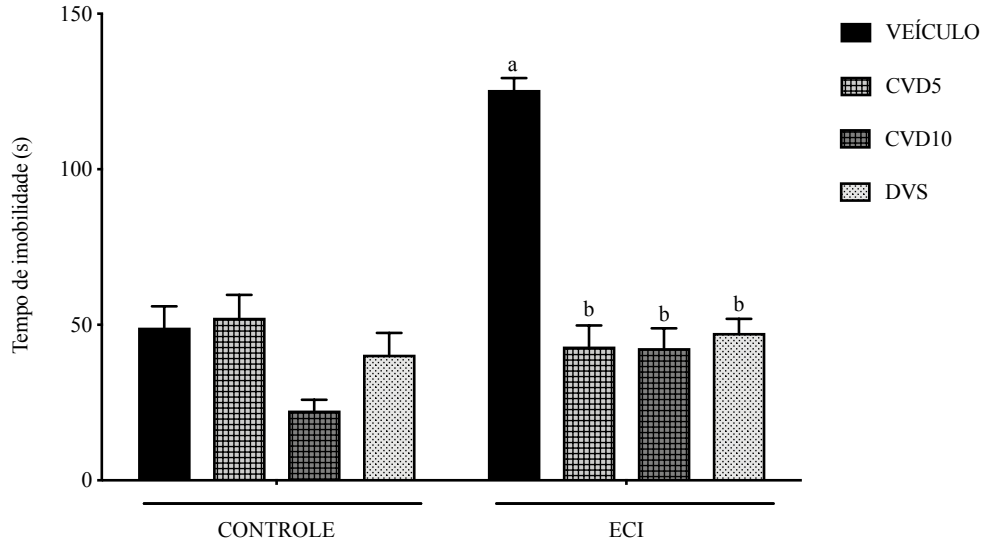
Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram submetidos ao teste de placa perfurada, 1h após a administração de CVD ou DVS, sem aplicação de fatores estressores. Cada coluna representa a significância \pm SEM ($n=6-7$ animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0,05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

5.1.3 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre o comportamento depressivo-símile

Para avaliar os efeitos do modelo de estresse crônico imprevisível e dos tratamentos sobre comportamentos relacionados a depressão foram conduzidos os testes de suspensão da cauda, borrifagem de sacarose e interação social.

A análise do teste de suspensão da cauda (Figura 19) evidenciou um efeito significativo no “tratamento” [$F(3, 56) = 31,67$; $P < 0,0001$] e “estresse crônico imprevisível” [$F(1, 56) = 29,87$; $P < 0,0001$], assim como interação estatisticamente significativa entre esses fatores [$F(3, 56) = 19,46$; $P < 0,0001$]. Nesse teste, o *post hoc* mostrou que o estresse crônico imprevisível causou um aumento no tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao controle ($P < 0,0001$), enquanto os tratamentos com CVD5, CVD10 ou DVS foram capazes de reverter esse efeito ($P < 0,0001$). Nenhuma alteração entre os tratamentos na ausência de ECI foi observada.

Figura 19 – Alterações no comportamento depressivo-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de suspensão da cauda.



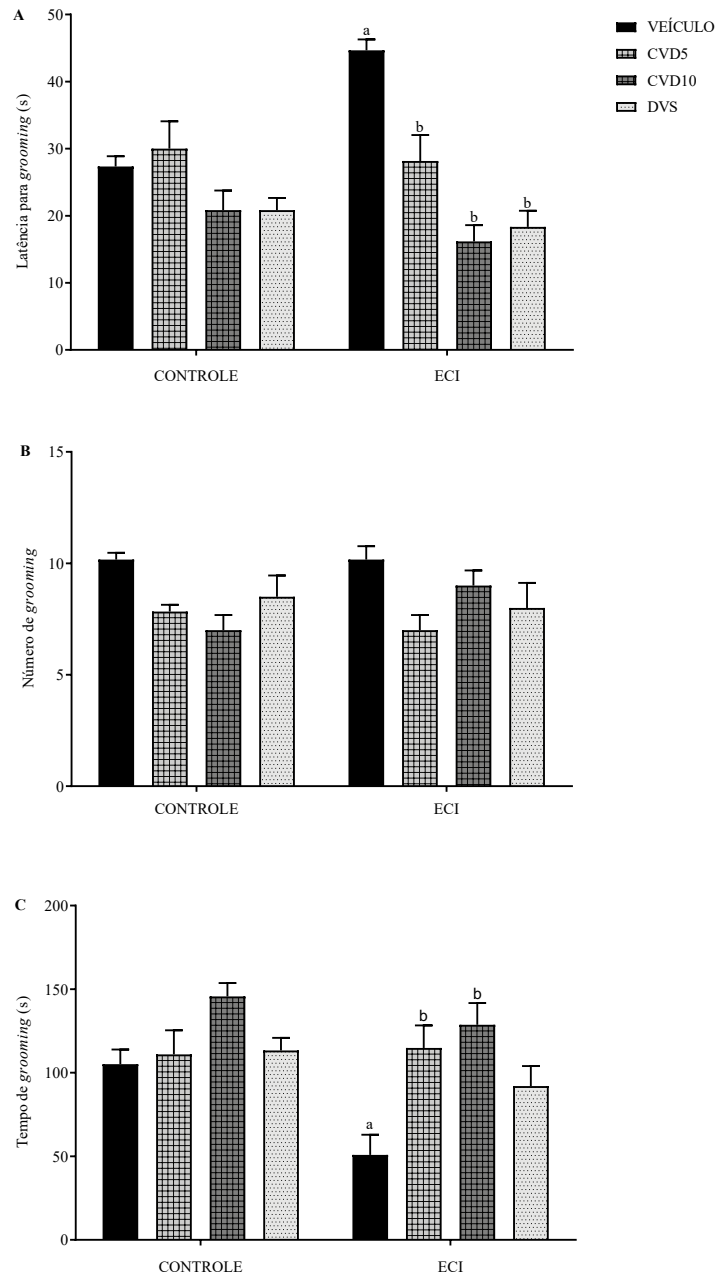
Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram submetidos ao teste de suspensão da cauda, 1h após a administração de CVD ou DVS, sem aplicação de fatores estressores. Cada coluna representa a significância \pm SEM ($n=7-9$ animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0,05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

Efeito semelhante foi observado no teste de borrifagem de sacarose (Figura 20) onde a análise da latência para *grooming* evidenciou um efeito significativo no “tratamento” [$F(3, 41) = 16,98; P < 0,0001$] e interação estatisticamente significativa entre os fatores “tratamento” e “estresse crônico imprevisível” [$F(3, 41) = 6,453; P = 0,0011$]. Nesse teste, o *post hoc* mostrou que o estresse crônico imprevisível causou um aumento na latência para início do *grooming* (Figura 20A) quando comparado ao controle ($P < 0,01$), enquanto os tratamentos com CVD5 ($P < 0,01$), CVD10 ($P < 0,0001$) ou DVS ($P < 0,0001$) foram capazes de reverter esse efeito. Nenhuma alteração entre os tratamentos na ausência de ECI foi observada.

No parâmetro número de *grooming* (Figura 20B), a análise mostrou que houve efeito significativo no fator “tratamento” [$F(3, 40) = 5,493; P = 0,0030$]. À análise do *post hoc* não foi observado nenhuma diferença estatisticamente significativa.

Por outro lado, na avaliação do tempo de *grooming* (Figura 20C) foi observado efeito significativo no “tratamento” [$F(3, 40) = 9,182; P < 0,0001$] e no “estresse crônico imprevisível” [$F(1, 40) = 7,536; P = 0,0090$]. Neste teste, o *post hoc* mostrou que o estresse crônico imprevisível provoca redução do tempo de *grooming* quando comparado ao grupo controle ($P < 0,05$) enquanto esse efeito é revertido apenas pelo tratamento com CDV5 ($P < 0,01$) e CVD10 ($P < 0,001$). Nenhuma alteração entre os tratamentos na ausência de ECI foi observada.

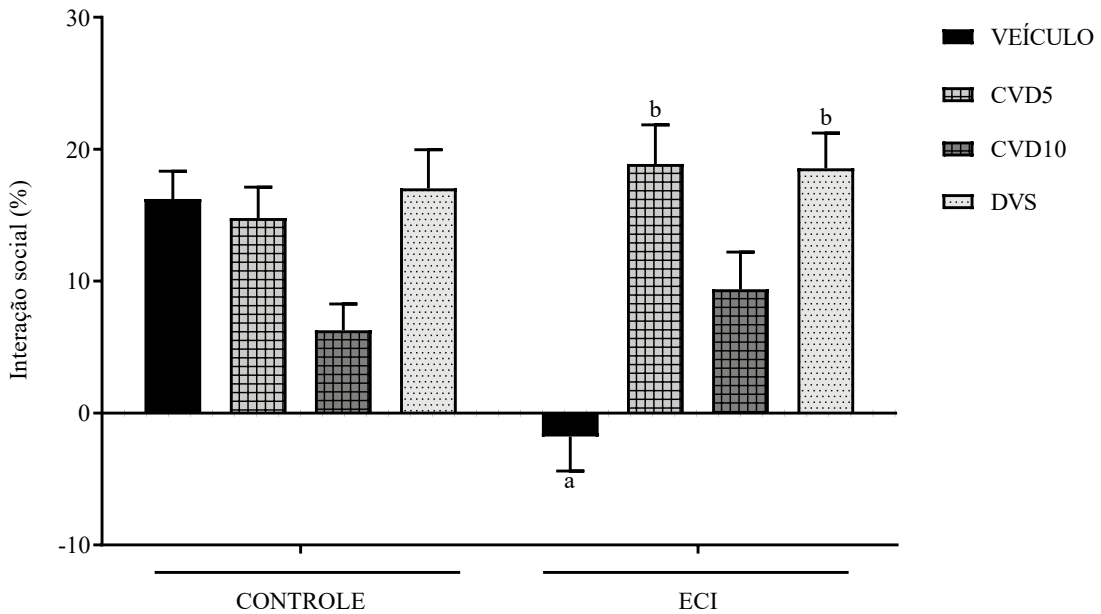
Figura 20 – Alterações no comportamento depressivo-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de borrifagem de sacarose.



Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15° e 21° dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22° dia os animais foram submetidos ao teste de borrifagem de sacarose, 1h após a administração de CVD ou DVS, sem aplicação de fatores estressores. Foram avaliados a latência para *grooming* (A), número de *grooming* (B) e tempo de *grooming* (C). Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=6 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p<0.05$ vs controle e ECI respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

Corroborando os dados apresentados nos testes anteriores, a análise no teste de interação social (Figura 21) evidenciou um efeito significativo no “tratamento” [$F(3, 42) = 9,679$; $P < 0,0001$] e interação estatisticamente significativa entre os fatores “tratamento” e “estresse crônico imprevisível” [$F(3, 42) = 8,447$; $P = 0,0002$]. Nesse teste, o *post hoc* mostrou que o estresse crônico imprevisível causou uma redução na interação social quando comparado ao controle ($P < 0,001$), enquanto os tratamentos com CVD5 ou DVS foram capazes de reverter esse efeito ($P < 0,0001$). Nenhuma alteração entre os tratamentos na ausência de ECI foi observada.

Figura 21 – Alterações no comportamento depressivo-símile induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de interação social.

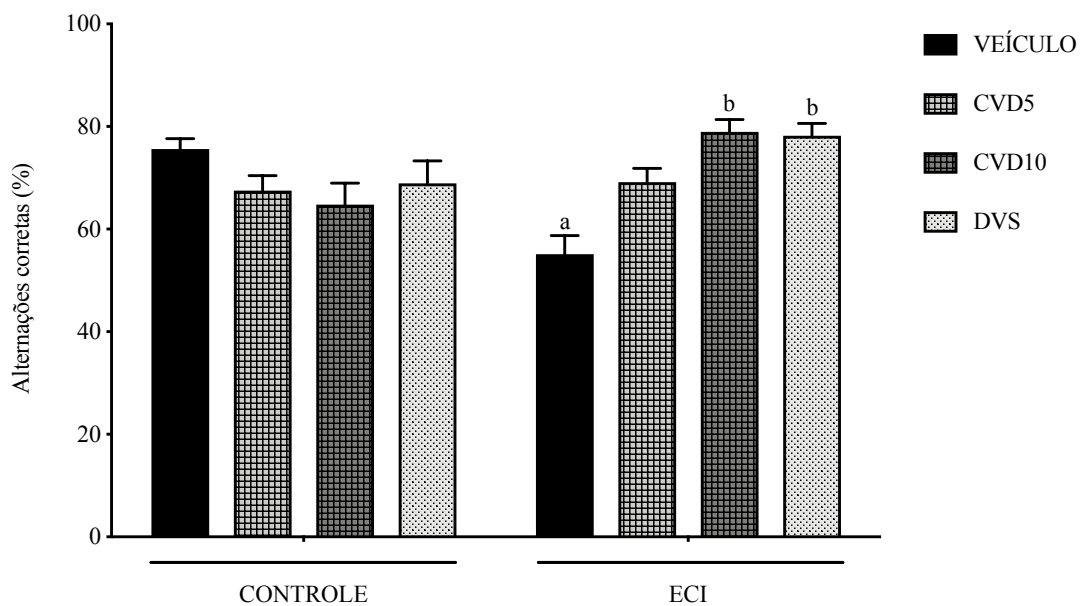


Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15° e 21° dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22° dia os animais foram submetidos o teste de interação social, 1h após a administração de CVD ou DVS, sem aplicação de fatores estressores. Cada coluna representa a significância \pm SEM ($n=6-7$ animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0,05$ vs controle e ECI respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

5.1.4 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre a memória de camundongos submetidos ao teste de labirinto em Y

Na intenção de avaliar a cognição de animais submetidos ao ECI e aos tratamentos com CVD ou DVS foi conduzido o teste de labirinto em Y. A análise do número de alterações corretas (Figura 22) mostrou uma significativa interação entre os fatores “tratamento” e “estresse crônico imprevisível” [$F(3, 59) = 8,543$; $P < 0,0001$]. Nesse teste, o *post hoc* mostrou que os animais submetidos ao estresse crônico imprevisível apresentaram déficit de memória com número de alterações corretas significativamente menor quando comparado com o grupo controle ($P < 0,01$), enquanto CVD10 ($P < 0,01$) e DVS ($P < 0,01$) foram capazes de reverter esse efeito. Nenhuma alteração entre os tratamentos na ausência de ECI foi observada.

Figura 22 – Alterações na memória de trabalho induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados submetidos ao teste de labirinto em Y



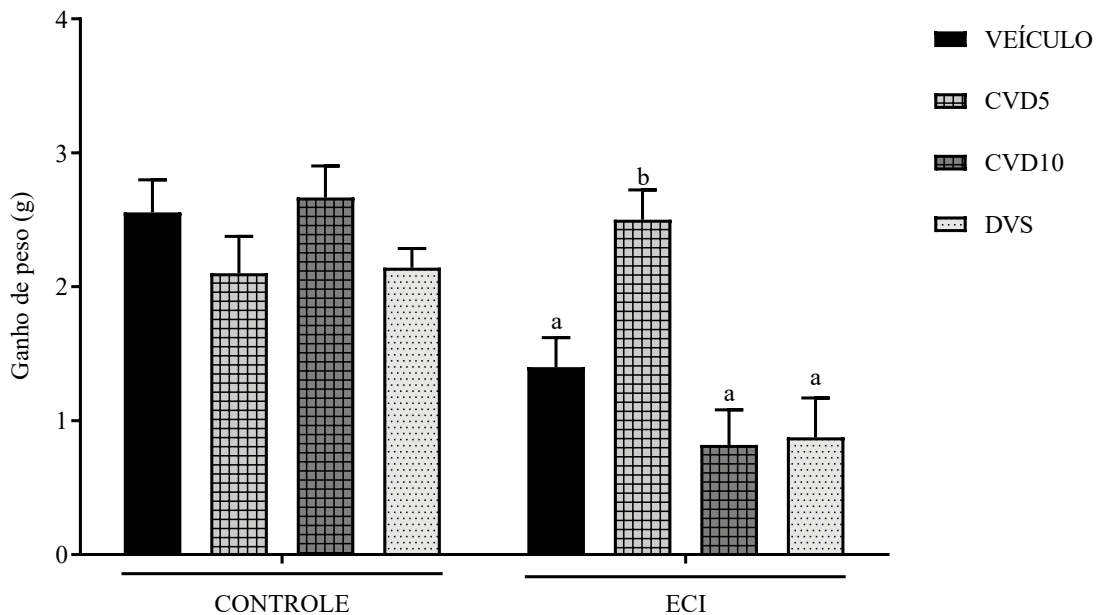
Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram submetidos ao teste de labirinto em Y, 1h após a administração de CVD ou DVS, sem aplicação de fatores estressores. Cada coluna representa a significância \pm SEM ($n=6-10$ animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0,05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

5.2 Efeitos sobre o peso corporal

5.2.1 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre o peso corporal de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível

A avaliação do ganho de peso dos animais (Figura 23) revelou um efeito significativo no “tratamento” [F (3, 66) = 3,581; P = 0,183] e “estresse crônico imprevisível” [F (1, 66) = 30,04; P < 0,0001], assim como interação estatisticamente significativa entre esses fatores [F (3, 66) = 8,052; P < 0,0001]. Nesse teste, o *post hoc* mostrou que o estresse crônico imprevisível causou redução no ganho de peso dos animais quando comparado ao controle (P < 0,05), enquanto apenas o tratamento com CVD5 (P < 0,05) foi capaz de reverter esse efeito.

Figura 23 – Alterações no ganho de peso corporal induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados



Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). O peso dos animais em gramas foi registrado a cada 2 dias durante todo o protocolo experimental. Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=8-11 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

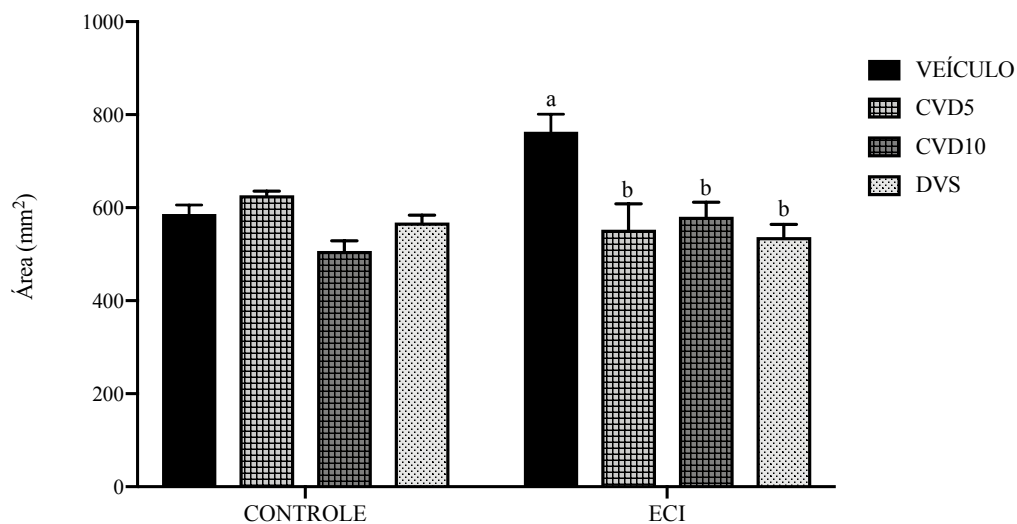
5.3 Efeitos sobre a glândula adrenal

5.3.1 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre a área da zona cortical da adrenal de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível

Para avaliar os efeitos do modelo de estresse crônico imprevisível e dos tratamentos sobre a adrenal foi realizada uma análise histológica utilizando coloração com hematoxilina-eosina.

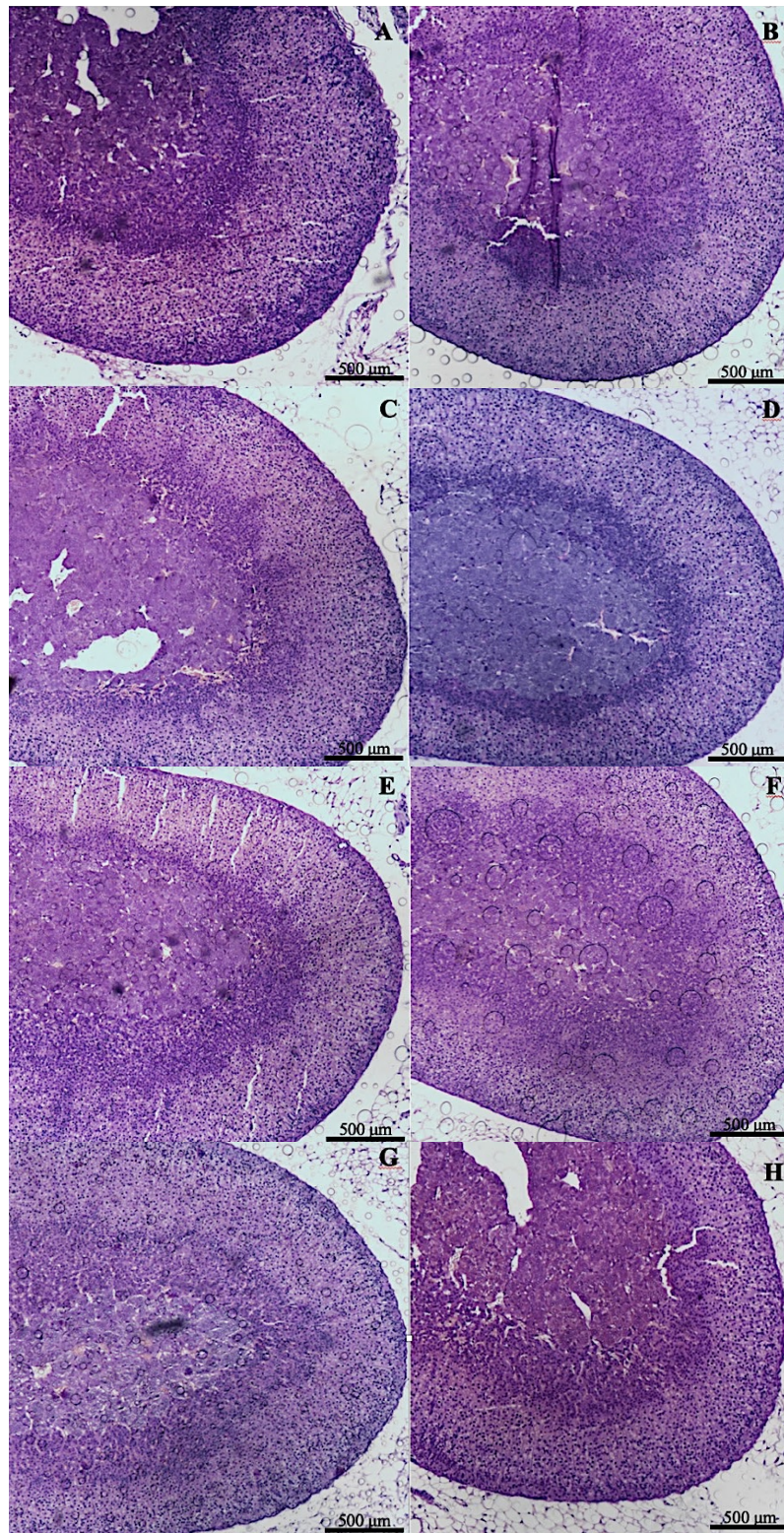
A análise da área da zona cortical (Figura 24) demonstrou efeito significativo no “tratamento” [F (3, 28) = 8,450; P = 0,0004], assim como interação estatisticamente significativa entre os fatores “tratamento” e “estresse crônico imprevisível” [F (3, 28) = 6,941; P = 0,0012]. Nessa avaliação o *post hoc* apresentou aumento da zona cortical da adrenal de animais submetidos ao estresse crônico imprevisível quando comparado ao grupo controle (P < 0,01), enquanto o tratamento com CVD5 (P < 0,001), CVD10 (P < 0,001) ou DVS (P < 0,001) foram capazes de reverter esse efeito.

Figura 24 – Alterações na área da zona cortical adrenal induzidas pela administração de CVD e DVS em animais cronicamente estressados



Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram eutanasiados e tiveram as adrenais dissecadas. Cada coluna representa a significância ± SEM (n=4-5 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam p<0.05 vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS – desvenlafaxina.

Figura 25 – Fotomicrografias representativas de cortes histológicos de adrenal de camundongos *Swiss* submetidos ao protocolo de estresse crônico imprevisível.



Na figura, (A) representa controle, (B) estresse crônico imprevisível (ECI), (C) controle + CVD5, (D) ECI + CVD5, (E) controle + CVD10, (F) ECI + CVD10, (G) controle + DVS (H) ECI + CVD10. Coloração Hematoxilina-eosina, objetiva 2X.

5.4 Efeitos sobre parâmetros neuroquímicos

Para avaliar o efeito do estresse crônico imprevisível e do tratamento com CVD e DVS sobre parâmetros neuroquímicos, foram mensurados marcadores de estresse oxidativo (glutathiona reduzida, nitrito e malondialdeído), inflamatórios (atividade de mieloperoxidase, IL-4, IL-6 e IFN- γ) e neurotrófico (fator neurotrófico derivado do cérebro) em córtex pré-frontal e hipocampo.

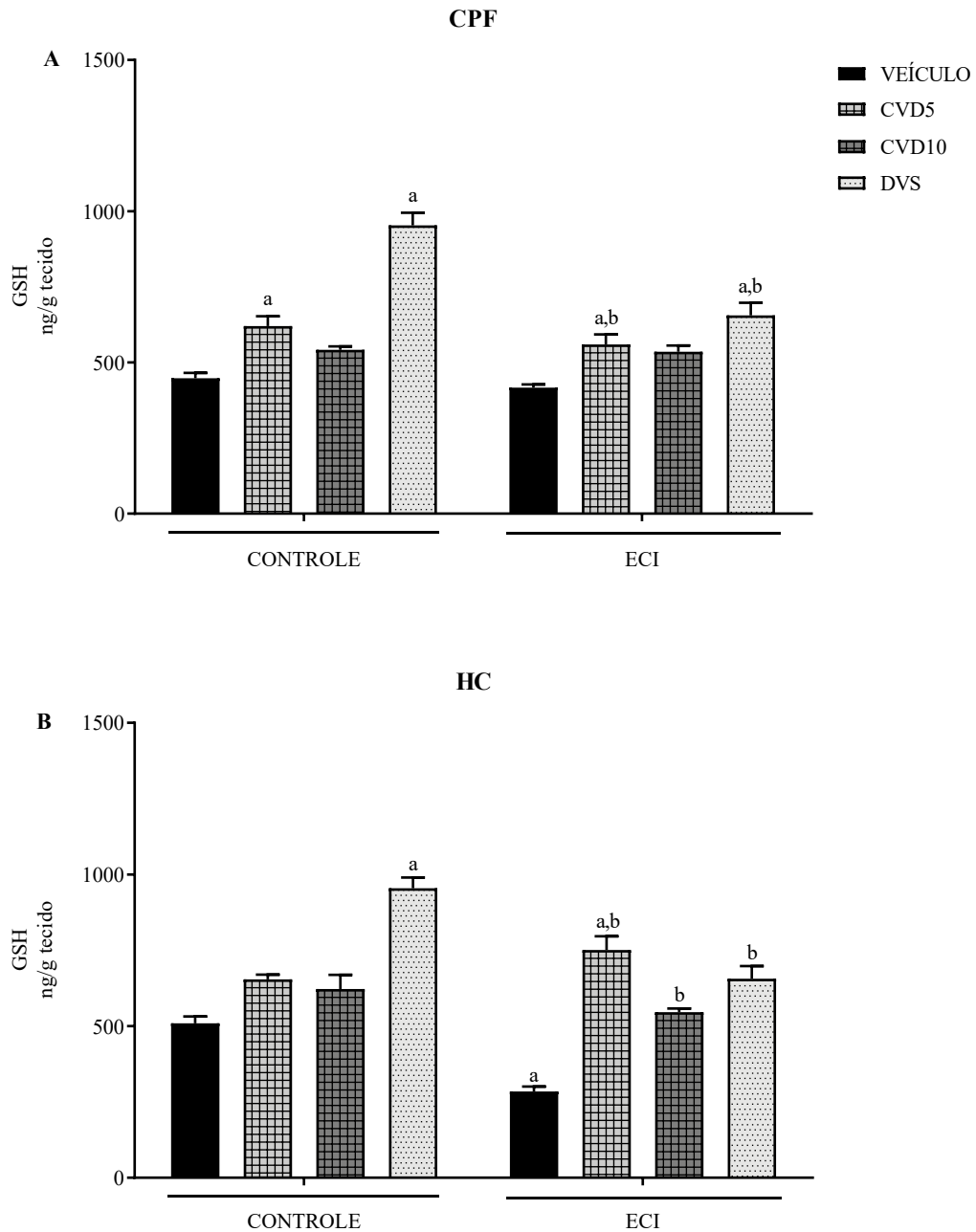
5.4.1 Estresse oxidativo

5.4.1.1 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de glutathiona reduzida em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível

No córtex pré-frontal (Figura 26A) foi observada um significativo efeito no “tratamento” [F (3, 52) = 52,77; P < 0,0001] e “estresse crônico imprevisível” [F (1, 52) = 21,14; P < 0,0001], assim como uma interação entre esses fatores [F (3, 52) = 10,19; P < 0,0001]. A análise do *post hoc* mostrou que ECI não causou nenhuma alteração nas concentrações de GSH quando comparado com o controle. Por outro lado, os tratamentos com CVD5 (P < 0,05) ou DVS (P < 0,0001) apresentaram concentrações maiores de GSH quando comparados com controle e ECI.

De maneira semelhante, no hipocampo (Figura 26B) também foi observado um significativo efeito no “tratamento” [F (3, 49) = 52,60; P < 0,0001] e “estresse crônico imprevisível” [F (1, 49) = 27,19; P < 0,0001] além de uma interação entre esses fatores [F (3, 49) = 12,98; P < 0,0001]. Nessa área cerebral o *post hoc* evidenciou que o estresse crônico imprevisível causou redução das concentrações de GSH quando comparado com o grupo controle (P < 0,01), enquanto os tratamentos com CVD5 (P < 0,0001), CVD10 (P < 0,001) ou DVS (P < 0,0001) reverteram esse efeito. O grupo tratado com DVS na ausência de ECI também apresentou concentrações de GSH maiores quando comparado ao controle (P < 0,0001).

Figura 26 – Alterações nas concentrações de glutatona reduzida em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS



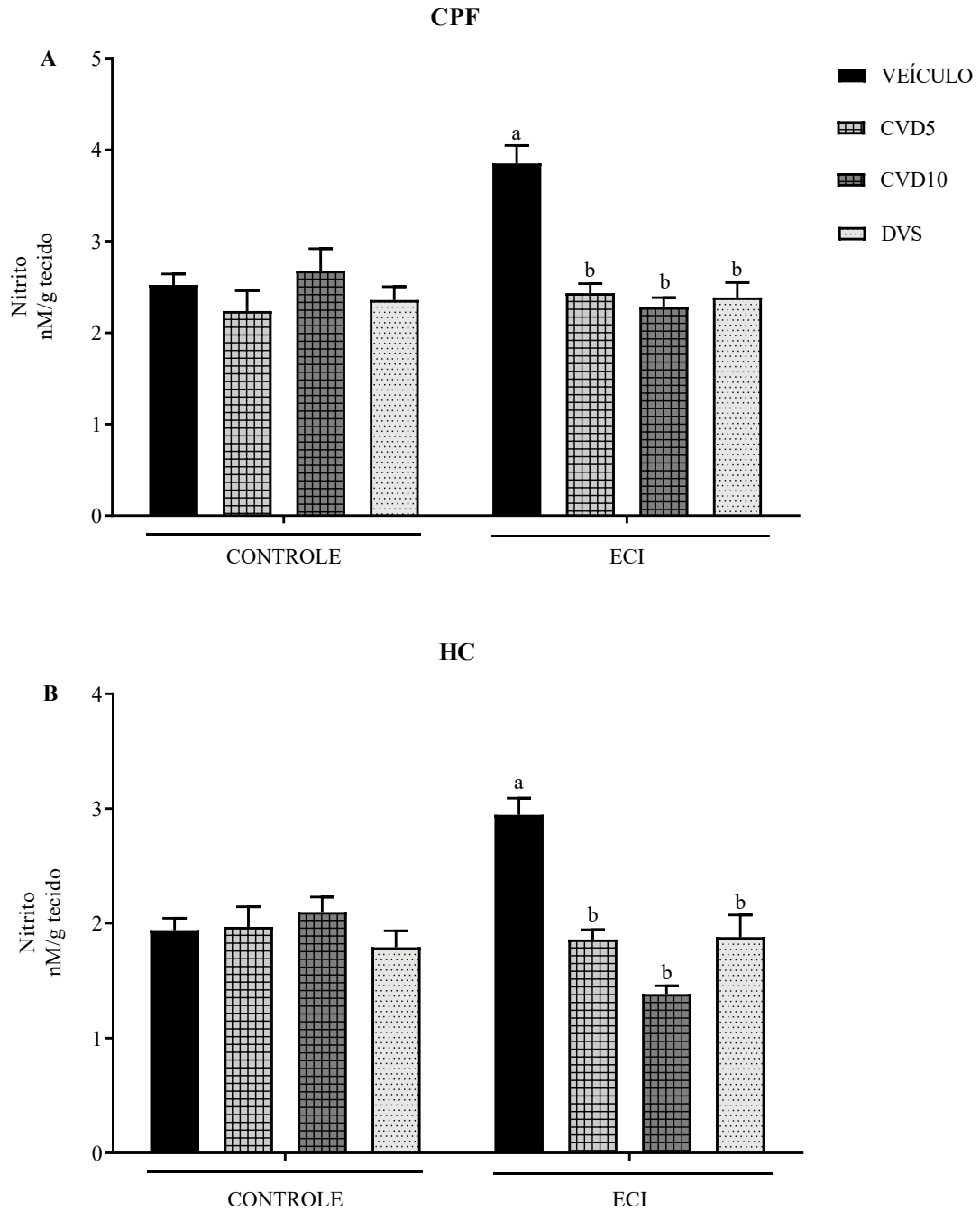
Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=6-8 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS - desvenlafaxina; GSH – glutatona reduzida; CPF – córtex pré-frontal; HC - hipocampo.

5.4.1.2 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de nitrito em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível

No córtex pré-frontal (Figura 27A) a análise demonstrou um efeito significativo no “tratamento” [$F(3, 52) = 11,92; P < 0,0001$], “estresse crônico imprevisível” [$F(1, 52) = 6,185; P < 0,0001$] e na interação entre esses fatores [$F(3, 52) = 10,15; P < 0,0001$]. O *post hoc* evidenciou que o estresse crônico imprevisível causa aumento significativo nas concentrações de nitrito quando comparado ao grupo controle ($P < 0,0001$), enquanto todos os tratamentos são capazes de reverter esse efeito ($P < 0,0001$).

Ação semelhante foi observado no hipocampo (Figura 27B) que apresentou um significativo efeito no “tratamento” [$F(3, 52) = 9,120; P < 0,0001$], “estresse crônico imprevisível” [$F(1, 52) = 0,4575; P = 0,5018$] e na interação entre esses fatores [$F(3, 52) = 11,90; P < 0,0001$]. Da mesma maneira, o *post hoc* evidenciou que o estresse crônico imprevisível causa aumento significativo nas concentrações de nitrito quando comparado ao grupo controle ($P < 0,001$), enquanto todos os tratamentos são capazes de reverter esse efeito ($P < 0,0001$). Nenhuma alteração entre os tratamentos na ausência de ECI foi observada.

Figura 27 – Alterações nas concentrações de nitrito em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS



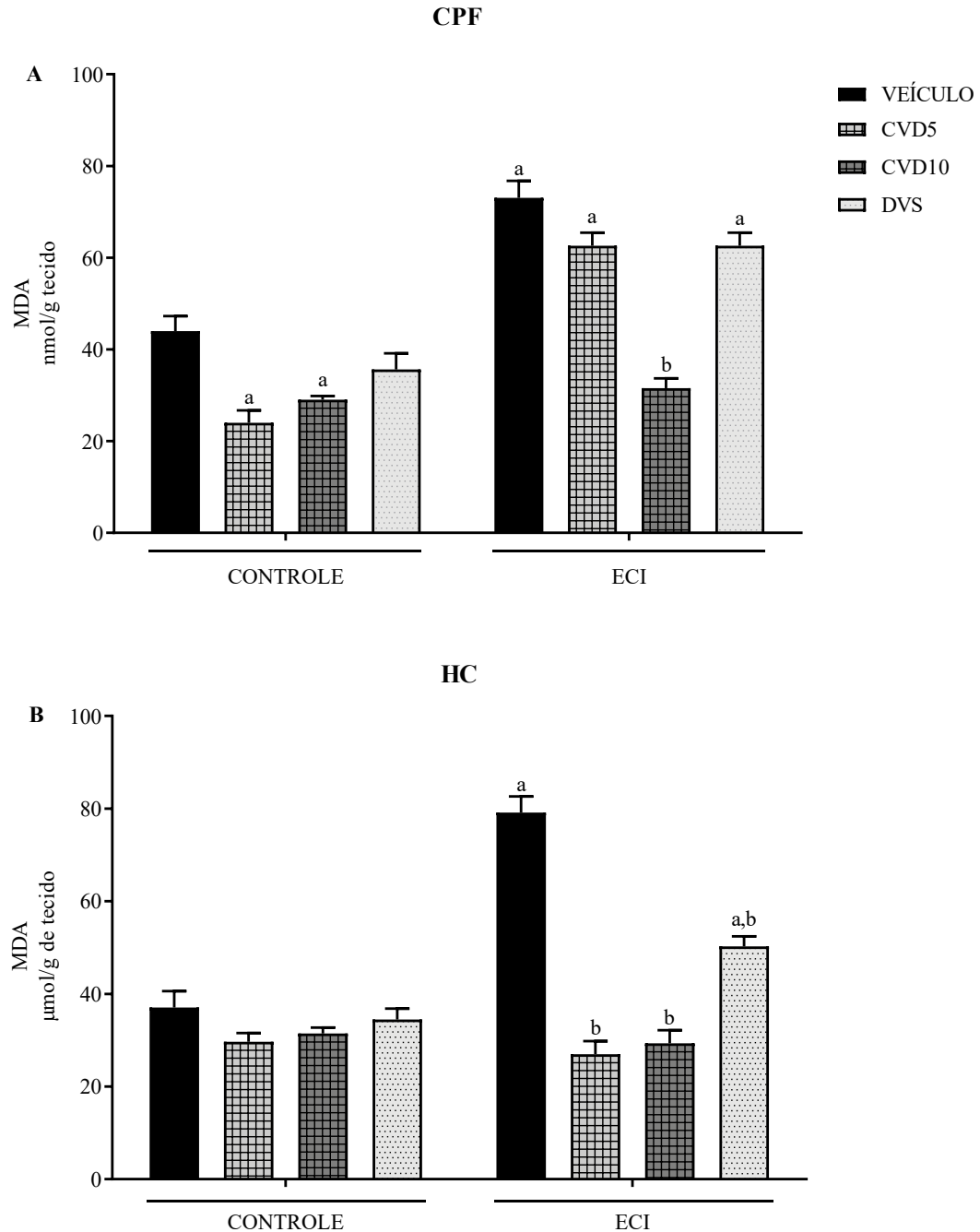
Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=6-8 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS - desvenlafaxina; CPF – córtex pré-frontal; HC - hipocampo.

5.4.1.3 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de malondialdeído em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível

No córtex pré-frontal (Figura 28A) a análise das concentrações de malondialdeído evidenciou um efeito significativo no “tratamento” [$F(3, 52) = 27,74; P < 0,0001$], no “estresse crônico imprevisível” [$F(1, 52) = 123,8; P < 0,0001$] e uma interação significativa entre esses fatores [$F(3, 52) = 11,23; P < 0,0001$]. O *post hoc* mostrou que o estresse crônico imprevisível causou aumento significativo nas concentrações de malondialdeído quando comparado ao grupo controle ($P < 0,0001$). Nessa área cerebral, apenas o tratamento com CVD10 foi capaz de reverter os efeitos provocados pelo ECI ($P < 0,0001$). Além disso, o tratamento com CVD5 ($P < 0,01$) e CVD10 ($P < 0,05$), na ausência de ECI, apresentou concentrações de malondialdeído significativamente menores quando comparado ao grupo controle.

Efeito semelhante foi observado no hipocampo (Figura 28B) quando a análise das concentrações de malondialdeído também revelou um efeito significativo no “tratamento” [$F(3, 51) = 47,01; P < 0,0001$], no “estresse crônico imprevisível” [$F(1, 51) = 43,92; P < 0,0001$] e uma interação significativa entre esses fatores [$F(3, 51) = 27,79; P < 0,0001$]. Da mesma forma, o *post hoc* mostrou aumento das concentrações desse marcador no hipocampo de animais estressados cronicamente quando comparado com o grupo controle ($P < 0,0001$). Nessa área, todos os tratamentos foram capazes de reverter o efeito provocado pelo estresse crônico imprevisível ($P < 0,01$). Nenhuma alteração entre os tratamentos na ausência de ECI foi observada.

Figura 28 – Alterações nas concentrações de malondialdeído em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS



Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=6-10 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS - desvenlafaxina; MDA – malondialdeído; CPF – córtex pré-frontal; HC - hipocampo.

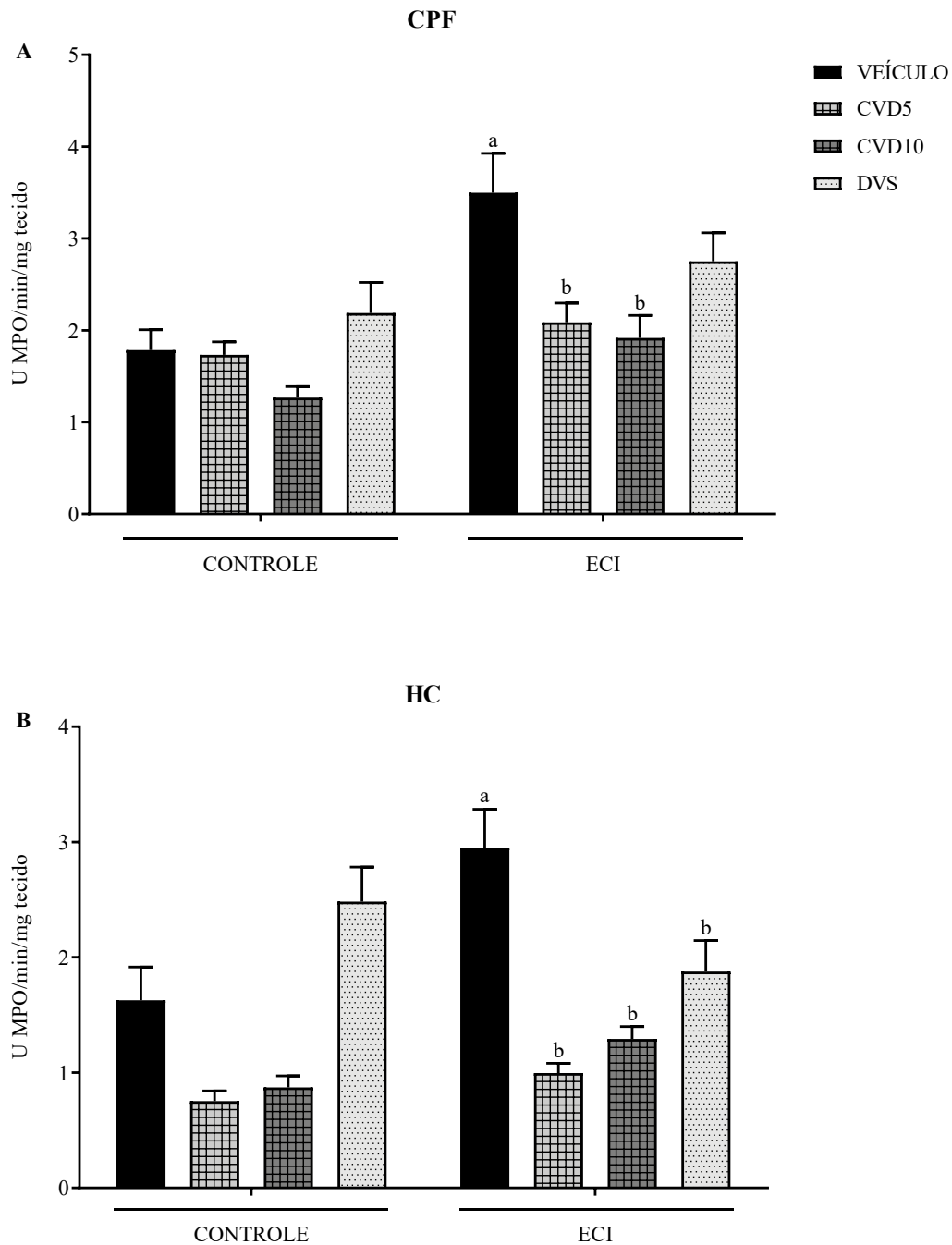
5.4.2 Atividade de mieloperoxidase

5.4.2.1 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre a atividade de mieloperoxidase em áreas cerebrais de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível

Na avaliação da atividade de mieloperoxidase no córtex pré-frontal (Figura 29A) foi evidenciado um efeito significativo no “tratamento” [F (3, 45) = 7,357; P = 0,0004] e “estresse crônico imprevisível” [F (1, 45) = 21,03; P < 0,0001], porém nenhuma interação foi observada entre esses fatores [F (3, 45) = 2,783; P = 0,0516]. Além disso, a análise do *post hoc* permitiu concluir que houve aumento significativo da atividade de mieloperoxidase quando comparado ao grupo controle (P < 0,001), enquanto apenas o tratamento com CVD, em ambas as doses, foi capaz de reverter os efeitos provocados por ECI (P < 0,01). Nenhuma alteração entre os tratamentos na ausência de ECI foi observada.

Já na análise da atividade de mieloperoxidase no hipocampo (Figura 29B), observou-se um efeito significativo no “tratamento” [F (3, 43) = 22,53; P < 0,0001], “estresse crônico imprevisível” [F (1, 43) = 4,980; P = 0,0309] e na interação entre esses fatores [F (3, 43) = 6,457; P = 0,0010]. O *post hoc* evidenciou que o estresse crônico imprevisível também provocou aumento da atividade enzimática nessa área cerebral quando comparado com o controle, enquanto o tratamento com CVD5 (P < 0,0001), CVD10 (P < 0,001) e DVS (P < 0,05) foi capaz de reverter o efeito causado por ECI. Além disso, o tratamento com CVD na ausência de ECI, em ambas as doses, apresentou atividade enzimática menor (P < 0,001) que o grupo tratado com DVS também na ausência de ECI.

Figura 29 – Alterações na atividade de mieloperoxidase em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS



Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=6-8 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS - desvenlafaxina; MPO – mieloperoxidase; CPF – córtex pré-frontal; HC - hipocampo.

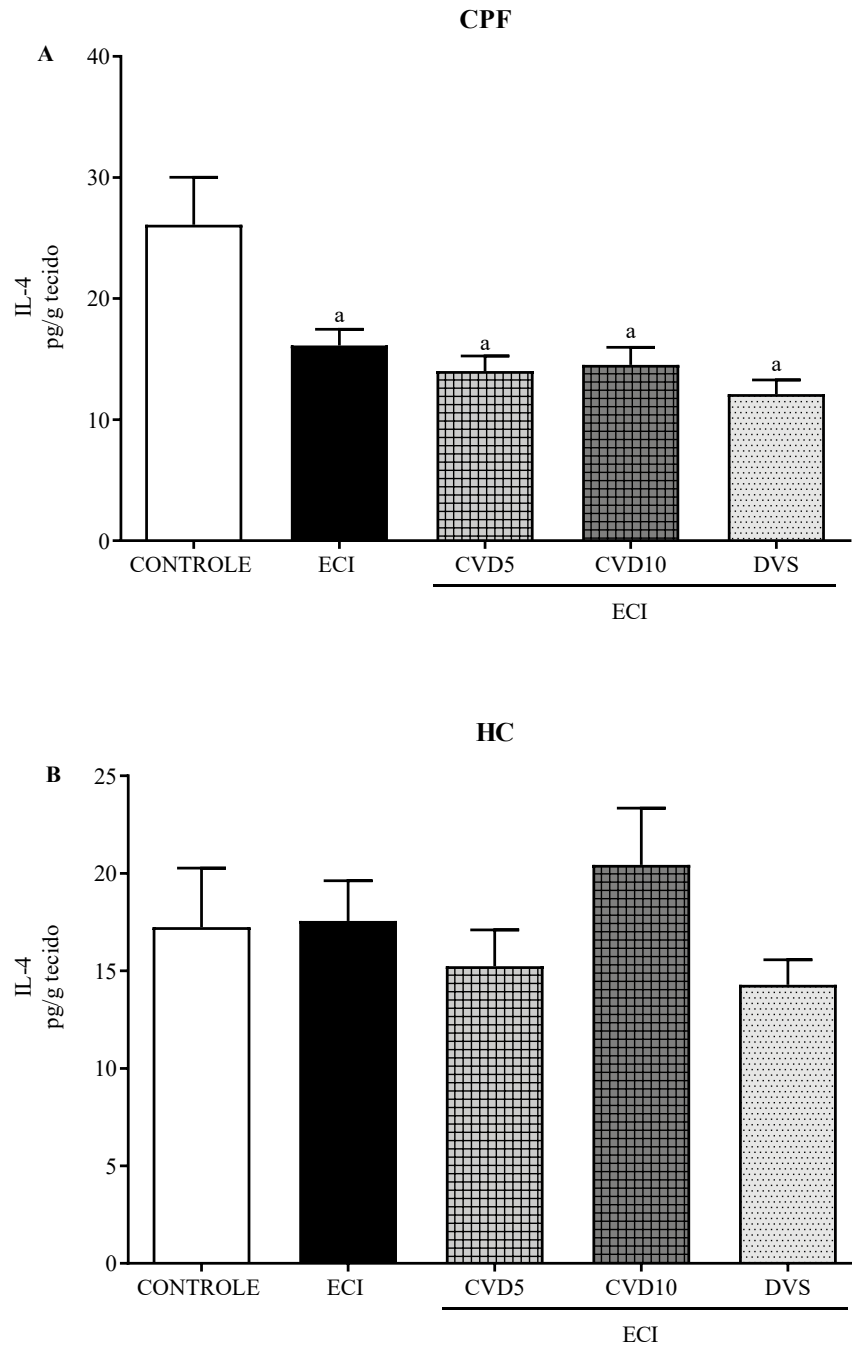
5.4.3 Concentração de citocinas

5.4.3.1 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de IL-4 em áreas cerebrais de camundongos submetidos estresse crônico imprevisível

No córtex pré-frontal (Figura 30A), o estresse crônico imprevisível causou uma diminuição significativa nas concentrações de IL-4 quando comparado com o grupo controle [F (4, 26) = 6,957; P = 0,0006]. Nessa área, nenhum dos tratamentos foi capaz de reverter o efeito causado por ECI.

Por outro lado, no hipocampo (Figura 29B), o estresse crônico imprevisível, assim como os tratamentos com DVS e CVD, não exibiram qualquer influência sobre as concentrações de IL-4 quando comparados com o controle [F (4, 27) = 0,9495; P = 0,4509].

Figura 30 – Alterações nas concentrações de IL-4 em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS



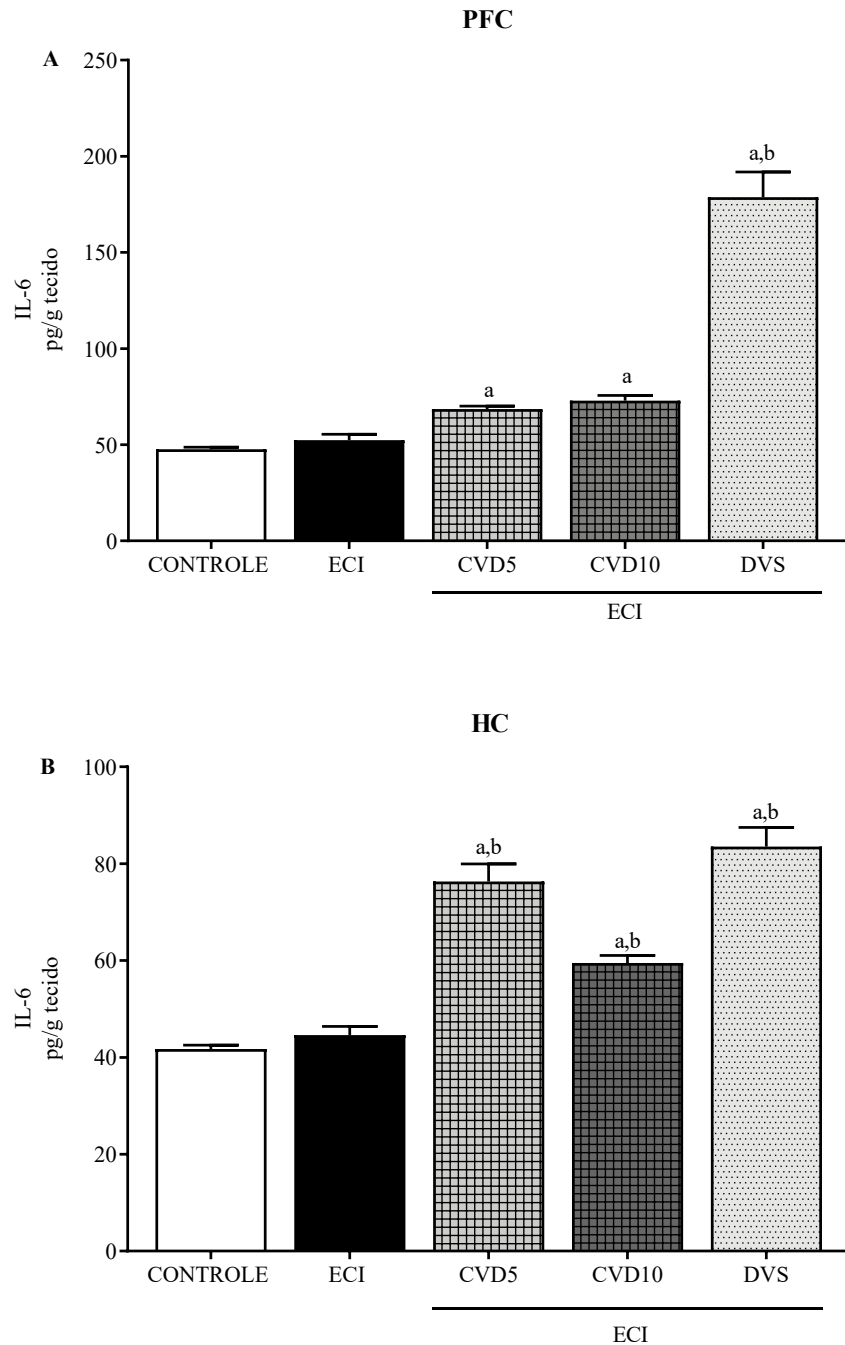
Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=6-7 animais/grupo). Na figura a letra a representam $p < 0.05$ vs controle, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS - desvenlafaxina; IL-4 – interleucina-4; CPF – córtex pré-frontal; HC - hipocampo.

5.4.3.2 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de IL-6 em áreas cerebrais de camundongos submetidos estresse crônico imprevisível

No córtex pré-frontal (Figura 31A), o estresse crônico imprevisível não causou alterações nas concentrações de IL-6 quando comparado ao grupo controle [F (4, 32) = 95,31; $P < 0,0001$]. Porém, o tratamento com DVS ($P < 0,0001$), CVD5 ($P < 0,05$) ou CVD10 ($P < 0,05$) causou aumento significativo nas concentrações de IL-6 quando comparado ao grupo controle. Vale destacar de DVS ($P < 0,0001$) apresentou aumento significativo nas concentrações dessa citocina quando comparado ao grupo ECI, enquanto CVD5 ($P < 0,0001$) e ($P < 0,0001$) CVD10 apresentaram redução desse efeito quando comparado a DVS.

De maneira semelhante, o estresse crônico imprevisível também não causou nenhuma alteração nas concentrações de IL-6 no hipocampo (Figura 31B) quando comparado ao grupo controle [F (4, 33) = 52,79; $P < 0,0001$]. Porém, todos os tratamentos revelaram aumento significativo nas concentrações dessa citocina quando comparados ao controle e ao ECI ($P < 0,01$). O tratamento com CVD10 apresentou concentrações de IL-6 significativamente menores que aquelas apresentadas pelos grupos DVS ($P < 0,0001$) e CVD5 ($P < 0,001$).

Figura 31 – Alterações nas concentrações de IL-6 em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS



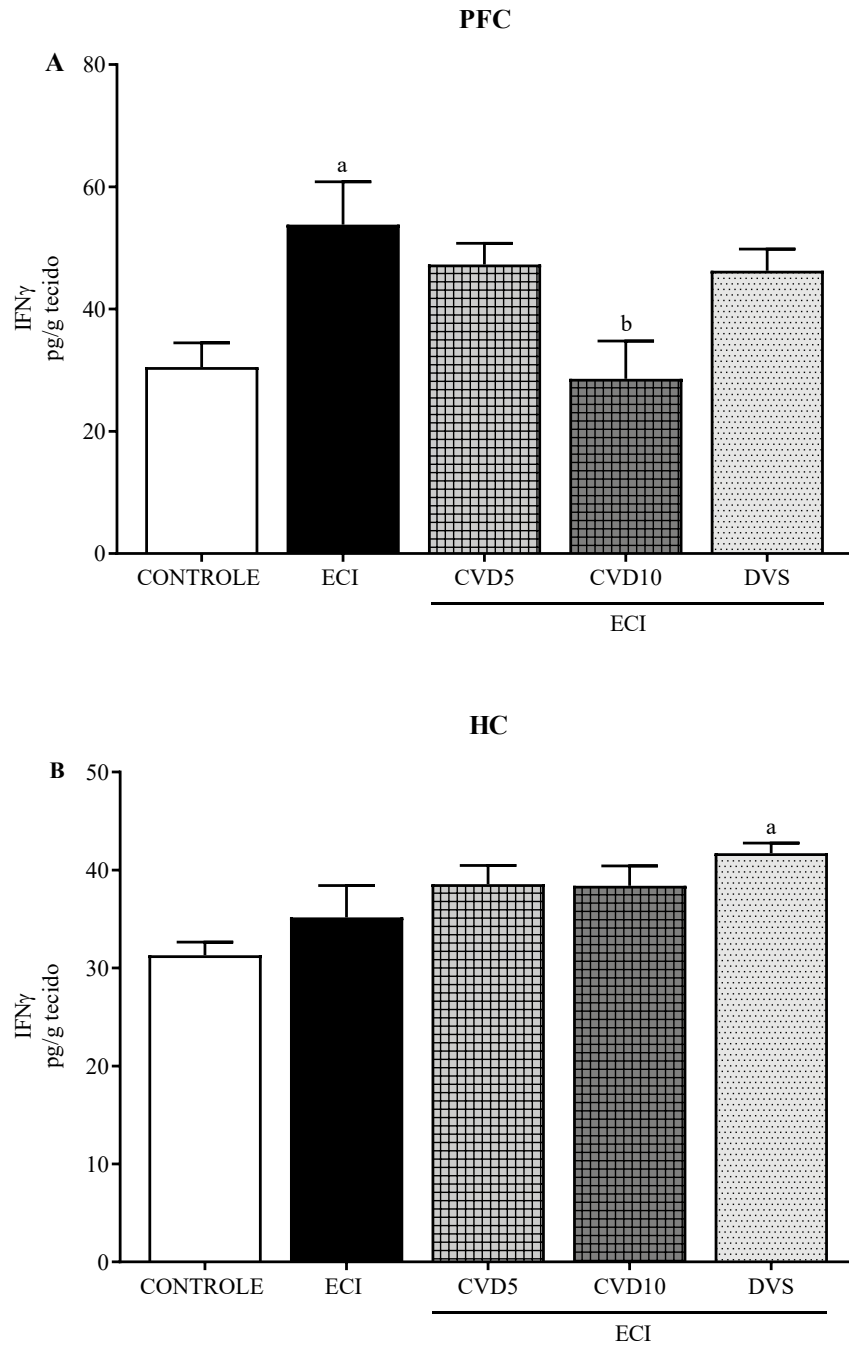
Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15º e 21º dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22º dia os animais foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância \pm SEM ($n=6-8$ animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS - desvenlafaxina; IL-6 – interleucina-6; CPF – córtex pré-frontal; HC - hipocampo.

5.4.3.3 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de IFN- γ em áreas cerebrais de camundongos submetidos estresse crônico imprevisível

No córtex pré-frontal (Figura 32A), o estresse crônico imprevisível causou aumento significativo nas concentrações de IFN- γ quando comparado ao grupo controle [F (4, 28) = 4,970; P = 0,0037]. Apenas o tratamento com CVD10 foi capaz de reverter o efeito causado por ECI (P < 0,05).

Diferentemente do que foi exibido no pré-frontal, o estresse crônico imprevisível não causou alterações nas concentrações de IFN- γ no hipocampo (Figura 32B) quando comparado ao grupo controle [F (4, 25) = 3,699; P = 0,0169]. Por outro lado, o tratamento com DVS apresentou maiores concentrações dessa citocina quando comparado ao grupo controle (P < 0,05).

Figura 32 – Alterações nas concentrações de IFN- γ em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS



Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15^o e 21^o dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22^o dia os animais foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância \pm SEM (n=6-8 animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS - desvenlafaxina; IFN γ – interferon- γ ; CPF – córtex pré-frontal; HC - hipocampo.

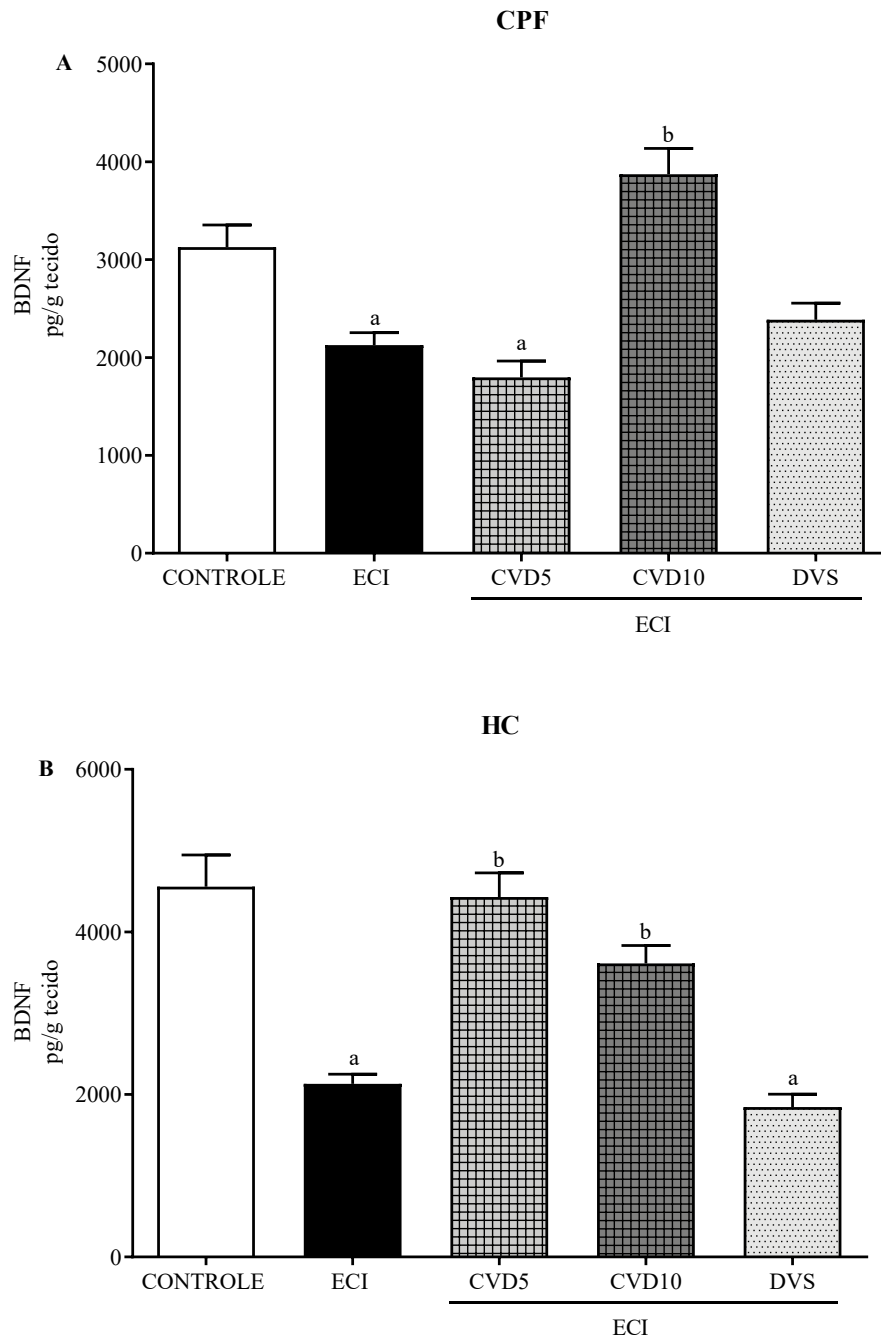
5.4.4 Concentração de fator neurotrófico derivado do cérebro

5.4.4.1 Efeitos da administração de CVD e DVS sobre as concentrações de BDNF em áreas cerebrais de camundongos submetidos estresse crônico imprevisível

No córtex pré-frontal (Figura 33A), o estresse crônico imprevisível causou uma diminuição significativa nas concentrações de BDNF quando comparado com o grupo controle [F (4, 23) = 17,41; P < 0,0001]. Apenas o tratamento com CVD10 foi capaz de reverter o efeito causado por ECI, exibindo concentrações de BDNF significativamente maiores quando comparado com ECI (P < 0,0001), DVS (P < 0,001) e CVD5 (P < 0,0001).

Semelhante aos dados observados no córtex pré-frontal, o estresse crônico imprevisível também causou diminuição das concentrações de BDNF no hipocampo (Figura 33B) quando comparado ao grupo controle [F (4, 22) = 23,35; P < 0,001]. Nessa área, apenas os tratamentos com CVD5 (P < 0,0001) e CVD10 (P < 0,01) foram capazes de reverter o efeito provocado por ECI. Além disso, CVD5 (P < 0,0001) e CVD10 (P < 0,01) apresentaram maiores concentrações de BDNF quando comparados com DVS.

Figura 33 – Alterações nas concentrações de BDNF em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos cronicamente estressados induzidas pela administração de CVD e DVS



Os animais foram submetidos a diferentes estressores durante 21 dias. Entre o 15° e 21° dias do protocolo de estresse, os camundongos receberam CVD (5 ou 10mg/kg, v.o.) ou DVS (10mg/kg, v.o.). No 22° dia os animais foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância \pm SEM ($n=5-6$ animais/grupo). Na figura as letras a e b representam $p < 0.05$ vs controle e ECI, respectivamente, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ECI – estresse crônico imprevisível; CVD – carvedilol; DVS - desvenlafaxina; BDNF – fator neurotrófico derivado do cérebro; CPF – córtex pré-frontal; HC - hipocampo.

Quadro 1 - Representação esquemática dos efeitos de CVD e DVS sobre o comportamento de animais cronicamente estressados

		C+DVD5 [#]	C+CVD10 [#]	C+DVS [#]	ECI [#]	ECI+CVD5 [*]	ECI+CVD10 [*]	ECI+DVS [*]
CAMPO ABERTO	Nº DE TRAVESSIAS	-	-	-	↓↓↓	↑↑	↑↑↑	↑↑↑↑
	REARING	-	-	-	↑↑	↓↓	↓↓	↓↓
	GROOMING	-	-	-	↑↑↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓
	DISTÂNCIA PERCORRIDA	-	-	-	-	-	-	-
LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	NEBA	-	-	-	↓↓↓↓	↑↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑↑
	TPBA	-	-	-	↓↓↓↓	↑↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑↑
	NEBF	-	-	-	↑↑↑	↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓
	TPBF	-	-	↑↑	↑↑↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓
PLACA PERFURADA	Nº DE MERGULHOS	-	-	-	↓	↑	↑	-
SUSPENSÃO DA CAUDA	TEMPO DE IMOBILIDADE	-	-	-	↑↑↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓
BORRIFAGEM DE SACAROSE	LATÊNCIA	-	-	-	↑↑	↓↓	↓↓↓↓	↓↓
	Nº DE GROOMING	-	-	-	-	-	-	-
	TEMPO DE GROOMING	-	-	-	↓	↑↑	↑↑↑	-
INTERAÇÃO SOCIAL	PREFERÊNCIA SOCIAL	-	-	-	↓↓↓	↑↑↑↑	-	↑↑↑↑
LABIRINTO EM Y	% ALTERNAÇÕES CORRETAS	-	-	-	↓↓	-	↑↑	↑↑
GANHO DE PESO	GRAMAS	-	-	-	↓	↑	-	-

Fonte: Elaborado pelo autor. Grupos comparados com o grupo controle (#) ou estresse crônico imprevisível (*). ECI - Estresse crônico imprevisível; DVS - desvenlafaxina; CVD - carvedilol. Déficit ou diminuição (↓); melhora ou aumento (↑); ausência de efeitos estatisticamente significantes (-).

Quadro 2 - Representação esquemática dos efeitos de CVD e DVS sobre morfologia da adrenal e marcadores neuroquímicos de animais cronicamente estressados

		C+DVS5 [#]	C+CVD10 [#]	C+DVS [#]	ECI [#]	ECI+CVD5 [*]	ECI+CVD10 [*]	ECI+DVS [*]
ADRENAL	ÁREA CORTICAL	-	-	-	↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
GSH	CORTÉX PRÉ-FRONTAL	↑↑	-	↑↑↑↑	-	↑	-	↑↑↑
	HIPOCAMPO	-	-	↑↑↑↑	↓↓	↑↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑
NITRITO	CORTÉX PRÉ-FRONTAL	-	-	-	↑↑↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓
	HIPOCAMPO	-	-	-	↑↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓↓
TBARS	CORTÉX PRÉ-FRONTAL	↓↓	↓	-	↑↑↑↑	-	↓↓↓↓	-
	HIPOCAMPO	-	-	-	↑↑↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	-
MELOPEROXIDASE	CORTÉX PRÉ-FRONTAL	-	-	-	↑↑↑	↓↓	↓↓	-
	HIPOCAMPO	-	-	-	↑↑	↓↓↓↓	↓↓↓↓	↓↓↓
IL-4	CORTÉX PRÉ-FRONTAL	∅	∅	∅	↓	-	-	-
	HIPOCAMPO	∅	∅	∅	-	-	-	-
IL-6	CORTÉX PRÉ-FRONTAL	∅	∅	∅	-	-	-	↑
	HIPOCAMPO	∅	∅	∅	-	↑↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑↑
IFN-γ	CORTÉX PRÉ-FRONTAL	∅	∅	∅	↑	-	↓	-
	HIPOCAMPO	∅	∅	∅	-	-	-	-
BDNF	CORTÉX PRÉ-FRONTAL	∅	∅	∅	↓	-	↑↑↑↑	-
	HIPOCAMPO	∅	∅	∅	↓↓↓↓	↑↑↑↑	↑↑	-

Fonte: Elaborado pelo autor. Grupos comparados com o grupo controle (#) ou estresse crônico imprevisível (*). ECI - Estresse crônico imprevisível; DVS - desvenlafaxina; CVD - carvedilol. Déficit ou diminuição (↓); melhora ou aumento (↑); ausência de efeitos estatisticamente significantes (-); não se aplica (∅).

6 DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro a apresentar os efeitos de CVD sobre a atividade locomotora e exploratória, os comportamentos ansioso-símile, depressivo-símile, social e de autocuidado, além de efeitos sobre a memória, estando essas ações relacionadas aos efeitos antioxidante, anti-inflamatório e neurotrófico exibido por esse medicamento. Vale ressaltar, que os aspectos comportamentais e neuroquímicos aqui investigados buscam evidências relacionadas a sintomas e achados clínicos, proporcionando assim suporte científico para perspectivas no tratamento da depressão.

Já está bem documentado na literatura que o transtorno depressivo maior é uma condição crônica que muitas vezes cursa com episódios depressivos recorrentes (VERDUIJN et al., 2015). De fato, em um número significativo de pacientes nos quais o transtorno é persistente, os sintomas apresentam flutuações na duração e na gravidade, justamente por ser uma condição multifatorial, o que dificulta a terapêutica (KESSLER et al., 2005; MELHEM et al., 2019).

Dentre os sintomas utilizados para o diagnóstico da depressão, destacam-se as alterações psicomotoras (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013; CANTISANI et al., 2016). As principais manifestações clínicas incluem a desaceleração dos processos mentais e motores envolvendo a marcha, movimentos faciais, gestos, fala e comportamento motor fino (LIBERG; RAHM, 2015). O retardo psicomotor representa um importante sintoma do transtorno de depressão maior, estando incluído na maioria das classificações diagnósticas e apresentando significado prognóstico e fisiopatológico (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013; KOO et al., 2018; THOMAS-OLLIVIER et al., 2017). Além disso, estudos reportam a relação do retardo psicomotor com déficits cognitivos em pacientes com depressão (FLINT et al., 1993; LEMELIN; BARUCH, 1998; RAVNKILDE et al., 2002), alterações que estão associadas a modificações na neurotransmissão dopaminérgica frontoestriatal (KOO et al., 2018; THOMAS-OLLIVIER et al., 2017).

Corroborando essa ideia, nossos achados apontam que o estresse crônico imprevisível provocou redução da atividade locomotora no teste de campo aberto, comportamento já reportado em diferentes modelos animais de depressão (GAWALI et al., 2017; PAN; LIU, 2015; SILVA et al., 2013b; SUN et al., 2017). Contudo, nenhum efeito significativo foi observado em relação a distância percorrida pelos animais durante o teste de campo aberto, como já evidenciado em outro estudo (LIU et al., 2018).

Além disso, foi observado que o tratamento com CVD, em ambas doses, e DVS foram capazes de reverter esse efeito, confirmando dados que mostram que o tratamento com antidepressivos ou a estimulação de áreas frontais, límbicas e temporais melhoram o desempenho psicomotor (BEHEYDT et al., 2015a, 2015b; THOMAS-OLLIVIER et al., 2017). Vale ressaltar que o resultado observado no tratamento com CVD em animais isentos de exposição ao estresse não exibiram nenhuma alteração, sugerindo que as doses utilizadas não causam alterações nos níveis pressóricos dos animais.

Na intenção de investigar a atividade ansiolítica/ansio gênica, foi avaliado, no teste de campo aberto, o número de *rearing*. Caracterizado por um movimento de exploração vertical, esse parâmetro tem sido utilizado para mensurar a ansiedade tanto no teste de campo aberto quanto no teste de labirinto em cruz elevado (SEIBENHENER; WOOTEN, 2015). Nesse teste, foi observado que o estresse crônico imprevisível provocou um comportamento semelhante a ansiedade ao aumentar o número de *rearing*.

Apesar de ainda haver discordância sobre a relação entre *rearing* e ansiedade, alguns estudos apontam que esse comportamento se encontra alterado em animais com ansiedade (BORTA; SCHWARTING, 2005; ENNACEUR, 2014), ratificando a ideia de que depressão e ansiedade são doenças coexistentes em vários pacientes. Destacando a importância clínica da coexistência desses transtornos, estudos mostram que a associação entre ansiedade e depressão está relacionada a pior funcionamento social, gravidade dos sintomas depressivos, risco de suicídio, probabilidade reduzida de remissão de sintomas e maior uso dos serviços de saúde (GARBER; WEERSING, 2010; MOLINA et al., 2014).

Assim, faz-se necessária a disponibilidade de um tratamento que além de efeitos antidepressivos apresente também efeito ansiolítico, como acontece com os inibidores da recaptação de serotonina ou inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina, umas das principais classes de medicamentos utilizadas no tratamento da depressão e ansiedade. Nessa perspectiva, o CVD mostra-se promissor ao apresentar efeito ansiolítico em ambas as doses, efeito esse que se assemelha àquele apresentado pela DVS, já descrito em diversos estudos clínicos e pré-clínicos (GUPTA et al., 2016; HAGE et al., 2018; MISRI et al., 2016; SILVA et al., 2013b).

Apesar de existirem fortes evidências que mostram a relação do *rearing* com ansiedade, ainda existem controversas no meio científico. Sabendo disso, e tendo em vista que mensurar a ansiedade em modelos de roedores vai muito além de avaliar apenas um parâmetro em um único teste, recomenda-se a confirmação do comportamento ansio gênico ou ansiolítico através de outros parâmetros.

Nesse sentido foi avaliado o *grooming*, parâmetro extensamente investigado e relacionado a ansiedade. O *grooming*, ou comportamento de autolimpeza, é um comportamento inato de animais que está envolvido em vários processos fisiológicos importantes como a manutenção da higiene, a termorregulação, a comunicação social e o despertar (SONG; BERRIDGE; KALUEFF, 2016).

Em situações de estresse ou ansiedade frequentemente os animais apresentam alterações nesse comportamento, mostrando uma maior frequência e até maior duração de movimentos de autolimpeza (CULIG et al., 2017; REEVES et al., 2016; ZHANG; KALUEFF; SONG, 2019). Em concordância com essa ideia, os dados aqui apresentados mostram que o estresse crônico imprevisível causou um aumento no número de *groomings* e mais uma vez CVD, em ambas as doses investigadas, e DVS apresentaram ação ansiolítica ao reverter esse efeito.

De fato, o estresse tem sido associado ao desenvolvimento de transtornos de ansiedade ao ser o principal responsável pela hiperativação do eixo límbico-hipotálamo-hipófise-adrenal (LHHA). Essa hiperativação, além de causar aumento da liberação de mediadores inflamatórios, cortisol e adrenalina, provoca alterações em estruturas como amígdala e hipocampo, áreas cerebrais importantes para o controle do eixo LHHA, das emoções e da resposta ao estresse (KALUEFF et al., 2016).

Além disso, estudos mostram que a ativação de vias neuroendócrinas pelo estresse tem importante envolvimento de receptores β -adrenérgicos e que o bloqueio desses receptores promove efeitos ansiolíticos em modelos animais e em humanos (BRUDKOWSKA et al., 2018; MARGATHO et al., 2015; SRINIVASAN, 2018; ZHU et al., 2017), mostrando assim que o carvedilol é promissor como agente ansiolítico já que pode contribuir com o tratamento da ansiedade sem causar efeitos colaterais como sedação e descoordenação motora.

Outros dois testes foram conduzidos para confirmar o efeito ansiolítico de CVD: o teste de labirinto em cruz elevado e o teste de placa perfurada. Ambos os testes são utilizados para avaliar alterações comportamentais associadas a ansiedade e ao estresse. O paradigma de labirinto em cruz elevado se baseia no comportamento inato que animais ansiosos apresentam ao se esquivar dos ambientes abertos do aparato, comportamento também verificado em pacientes com ansiedade submetidos ao mesmo paradigma (BIEDERMANN et al., 2017). Já o teste de placa perfurada é baseado na suposição de que o comportamento de exploração dos orifícios do aparato é inversamente proporcional ao estado de ansiedade (BALI; JAGGI, 2015).

Ambos os testes mostraram que o estresse crônico imprevisível promove um comportamento semelhante a ansiedade ao reduzir o tempo e número de entradas nos braços

abertos no teste de labirinto em cruz elevado, assim como o número de mergulhos no teste de placa perfurada. Esses comportamentos já tem sido apontados como associados a ansiedade em diversos modelos de depressão (BALI; JAGGI, 2015; CHAVES et al., 2019; GARABADU; KUMAR, 2019; MEHTA; PARASHAR; UDAYABANU, 2017; MEKIRI et al., 2017; MONTEIRO et al., 2015; SILVA et al., 2013b) corroborando a teoria de que o estresse crônico promove sintomas semelhantes a ansiedade.

Como visto nos outros testes de avaliação do comportamento ansioso, CVD, em ambas as doses, e DVS também apresentaram efeito ansiolítico no teste de labirinto em cruz elevado, enquanto apenas CVD exibiu esse efeito no teste de placa perfurada, reforçando a ideia de que o carvedilol é promissor como agente ansiolítico.

Para avaliação do efeito antidepressivo de CVD foram conduzidos os testes de suspensão da cauda, borrifagem de sacarose e interação social. Neste estudo, o teste de nado forçado não foi realizado já que o protocolo de estresse crônico tem como fator estressor o nado em diferentes tempos e temperaturas da água, podendo os animais, desta forma, tornarem-se treinados para o teste e produzirem resultados não factíveis.

O teste de suspensão da cauda tem sido utilizado para avaliar a eficácia antidepressiva de diversas substâncias em camundongos, sendo considerado mecanismo de *screening* para novos medicamentos (CAN et al., 2011; ENGEL et al., 2013; STERU, 1985).

Como esperado, o estresse crônico imprevisível causou comportamento semelhante a depressão ao aumentar o tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda, corroborando outros estudos que apontam que vários modelos animais de depressão estão associados a um comportamento semelhante (DE PALMA et al., 2015; DENG et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017; SILVA et al., 2013b).

Eventos de vida estressantes têm sido reconhecidos e estudados como preditores robustos de depressão, porém as vias que relacionam essas duas condições ainda não são bem compreendidas. Sabe-se que o elo entre estresse e depressão não é unidirecional, estático e nem tampouco simples. Trata-se de uma condição mediada por diversas vias como a desregulação do eixo HHA, alteração de estruturas cerebrais, hiperativação simpática e outros (HAMMEN, 2015).

Nesse teste, CVD5, CVD10 e DVS apresentaram efeito antidepressivo ao reduzir o tempo de imobilidade dos animais. Ao contrário de DVS que já tem seu efeito antidepressivo bem estabelecido na literatura (FAQUIH et al., 2019; LOW; SETIA; LIMA, 2018), os dados sobre esse efeito com uso de CVD são escassos.

Contudo, pressupõe-se que o efeito antidepressivo aqui exibido esteja, em parte, associado aos seus efeitos neuroprotetores antioxidantes e anti-inflamatórios (DE SOUZA et al., 2015; GAO et al., 2017; KUMAR; DOGRA; PRAKASH, 2009; SAVITZ et al., 2000). Além disso, estudos tem reportado o efeito antagonista dos receptores NMDA e antiapoptótico de CVD (LIU et al., 2013; LYSKO et al., 1992, 2011), mecanismos envolvidos na excitotoxicidade e morte neuronal que ocorrem na depressão. Dessa forma, o CVD apresenta ação em várias vias fisiopatológicas da depressão, podendo ser uma alternativa terapêutica bastante eficaz.

Além do humor deprimido, um outro importante sintoma que faz parte do core central da depressão é anedonia ou perda de interesse/prazer. Caracterizada como um importante marcador comportamental de depressão e importante fator de risco para o suicídio (DUCASSE et al., 2018; RIZVI et al., 2016), a anedonia é um dos sintomas mais comuns, sendo frequentemente associada a sintomas de culpa e déficits no autocuidado (KANDRATAVICIUS et al., 2012).

O déficit no autocuidado apresenta impactos negativos no manejo e prognóstico do paciente com depressão por estar associado a maior risco a saúde e menor resposta terapêutica. Esse fato se dá provavelmente pela adoção de comportamentos que não favorecem o tratamento, como a falha na adesão ao plano terapêutico (DEVARAJOOH; CHINNA, 2017; EGEDE; ELLIS; GRUBAUGH, 2009; ROBINSON-SMITH; JOHNSTON; ALLEN, 2000).

Para investigar a anedonia e o autocuidado foi realizado o teste de borrifagem de sacarose, largamente utilizado para avaliar esses sintomas em modelos animais de depressão (AMINI-KHOEI et al., 2019; FRISBEE et al., 2015; HU et al., 2017).

De acordo com este teste, o estresse crônico imprevisível promoveu um comportamento semelhante ao déficit de autocuidado associado a anedonia ao aumentar a latência para início do *grooming* e diminuir o tempo de *grooming*. Esses dados corroboram estudos anteriores que apontam comportamento semelhantes em modelos animais de depressão (FRISBEE et al., 2015; ISINGRINI et al., 2010; MEKIRI et al., 2017).

Esse achado, além de ratificar o resultado obtido no teste de suspensão da cauda, está relacionado ao achado de redução de atividade locomotora, já que vários estudos apontam uma relação entre anedonia e retardo psicomotor (BEHEYDT et al., 2015b; LEMKE et al., 1999; STEIN, 2008).

A anedonia envolve alterações na neurotransmissão dos circuitos de recompensa e prazer associados a áreas cerebrais como córtex pré-frontal, amígdala, núcleo *accumbens* e corpo estriado. Tem sido postulado que além da dopamina, a serotonina teria um papel central

na biologia da anedonia, já que esse neurotransmissor, associado a impulsividade e preferência por recompensa imediata, encontra-se reduzido em pacientes com depressão (DER-AVAKIAN; MARKOU, 2012; GORWOOD, 2008; RIZVI; LAMBERT; KENNEDY, 2018).

Foi observado que CVD10 e DVS revertem o efeito do estresse crônico imprevisível sobre a latência para *grooming*, enquanto apenas o CVD, em ambas as doses, foi efetivo em reverter o tempo de *grooming*. Esse dado mostra que o carvedilol possui importante efeito antidepressivo ao reverter o comportamento semelhante a anedonia provocado pelo estresse crônico imprevisível. Essa ação possivelmente está associada a ação anti-inflamatória e antioxidante de carvedilol já que a inflamação periférica e o estresse oxidativo tem sido associados como marcadores de gravidade de anedonia (MILLER; RAISON, 2016; STANTON et al., 2019).

Frequentemente relacionado a depressão, o comprometimento social destaca-se por estar associado a um importante prejuízo na qualidade de vida de pacientes com depressão (COHEN; GREENBERG; ISHAK, 2013; KUPFERBERG; BICKS; HASLER, 2016). Baseado neste fato, foi conduzido o teste de interação social, que avalia a livre escolha de interagir ou não com um novo animal (KAIDANOVICH-BEILIN et al., 2011). Este teste é um dos mais relevantes para déficits sociais em modelos animais e, por isso, foi utilizado como ferramenta de estudo para elucidação do efeito de CVD e DVS sobre o comportamento social de animais submetidos ao modelo de depressão induzido por estresse crônico imprevisível.

Neste teste, o estresse crônico imprevisível causou um déficit no comportamento social, corroborando dados já existentes na literatura (GROSS; PINHASOV, 2016; SANDI; HALLER, 2015). De fato, roedores submetidos a estresse ou trauma crônico desenvolvem comportamento semelhante à ansiedade e aversão social (BARIK et al., 2013; MINEUR et al., 2013). Essas experiências estão relacionadas a uma hiperativação do eixo HHA e elevados níveis de corticosterona, sendo possivelmente um dos mecanismos envolvidos no aparecimento das mudanças comportamentais relatadas (BARIK et al., 2013). Associado a disfunção do eixo HHA, alterações nos receptores de glicocorticoide e mineralocorticoide tem sido implicados no prejuízo da resiliência ao estresse e na modulação e do comportamento emocional e social (BARIK et al., 2013; DE KLOET et al., 2016; JOCHEMS et al., 2015).

Vale ressaltar que déficits no funcionamento psicossocial estão relacionados ao sintoma de anedonia, assim como verificado no presente estudo, de modo que a remissão da apatia e perda de interesse ou prazer prediz uma melhora do comportamento social (VINCKIER; GOURION; MOUCHABAC, 2017)

Além dos resultados observados em animais submetidos ao estresse crônico imprevisível, observou-se também que CVD5 e DVS reverterem o déficit social provocado pelo modelo animal de depressão. Esse achado corrobora os outros achados do estudo que apontam o efeito antidepressivo de CVD. Contudo, um resultado controverso foi apresentado por CVD10 que não foi capaz de reverter o déficit social provocado pelo estresse crônico imprevisível, sendo necessário assim mais estudos para elucidar os mecanismos envolvidos nesse efeito.

Reforçando esse dado, estudos apontam que o comprometimento social está relacionado aos sintomas depressivos e ao seu tempo de duração (FLECK et al., 2002) e que a recuperação funcional pode se correlacionar com a remissão sintomática (BIO; SOUZA; MORENO, 2011). Outros estudos apontam que mesmo após a remissão de sintomas afetivos, o déficit social persiste, reduzindo a qualidade de vida desses pacientes (PAPAKOSTAS, 2009; SARIS et al., 2017). Assim, faz-se necessário um tratamento antidepressivo que além de melhorar os sintomas afetivos promova benefícios na inserção e convívio social.

Diante disso, o CVD configura-se como perspectiva terapêutica ao apresentar um possível efeito antidepressivo e melhorar o comportamento social de animais submetidos ao estresse crônico imprevisível.

Para a avaliação da cognição foi realizado o teste de labirinto em Y. A alternância espontânea no labirinto em Y é um comportamento utilizado para avaliar a memória operacional de animais colocados em um novo ambiente (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019), sendo considerada ainda a reflexão de uma forma primitiva de memória de trabalho espacial (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019), visto que o animal tenta utilizar locais específicos do aparato para se localizar. Este tipo de memória é dependente do hipocampo, uma área que, além de ser especialmente vulnerável na depressão, é um sítio de ação de influências modulatórias de muitos tipos de memória: espacial, verbal e contextual, entre outras (CHAN et al., 2016; MÉNARD; HODES; RUSSO, 2016; SPELLMAN et al., 2015). Além disso, estudos mostram que o córtex pré-frontal tem um papel central na execução de tarefas que requerem a memória de trabalho espacial e que o sucesso nesse processo depende de uma comunicação entre essa área e o hipocampo (ARNSTEN, 2015; SPELLMAN et al., 2015).

A memória de trabalho espacial é fundamental para a execução de ações direcionadas a objetivos. Localizar um recurso, uma ameaça ou mesmo se localizar requer uma representação de recursos espaciais relevantes que devem ser continuamente atualizados, consolidados e evocados conforme necessário (SPELLMAN et al., 2015)

Nessa perspectiva, o estresse crônico imprevisível causou uma redução do número de alternâncias espontâneas. Esse dado evidencia um déficit cognitivo provavelmente decorrente

da da hiperativação do eixo HHA e consequente elevação das concentrações de corticosterona (KELLER et al., 2016), corroborando com dados que apontam que concentrações suprafisiológicas deste hormônio são capazes de causar apoptose que cursa com dano neuronal e redução do tamanho de áreas cerebrais como hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal, ocasionando uma série de comprometimentos cognitivos (COX et al., 2017; FAROOQI et al., 2018; LUCASSEN et al., 2001; MAREČKOVÁ et al., 2018; MOREY et al., 2014). Além disso, vários estudos sugerem que a exposição ao estresse ou a corticosterona compromete o aprendizado e memórias dependentes de hipocampo (CERQUEIRA et al., 2005; COBURN-LITVAK et al., 2003; DE SOUSA et al., 2018).

Dados obtidos ainda nesse teste mostram que os animais tratados com CVD10 ou DVS apresentaram um aumento do percentual de alterações espontâneas quando comparado com os animais submetidos ao estresse crônico imprevisível.

De fato, a terapia com DVS já tem se mostrado promissora em investigações clínicas e pré-clínicas no âmbito dos déficits cognitivos associados a depressão (DE SOUSA et al., 2018; LAM et al., 2016; REDDY et al., 2016). Estudos prévios do nosso grupo ratificam essa informação ao mostrar efeitos benéficos de DVS nos testes de Y-maze e reconhecimento de objetos em modelo animal de depressão induzido por corticosterona (DE SOUSA et al., 2018). Porém, no que diz respeito ao CVD, essa avaliação ainda é insipiente e exige que investigações sejam conduzidas no intuito de elucidar os mecanismos envolvidos nesse efeito.

Uma das possíveis justificativas para o efeito benéfico de CVD sobre a cognição é o potente efeito antioxidante associado a capacidade de reduzir a atividade de acetilcolinesterase e melhorar a neurotransmissão, mecanismo que já tem sido associado a distúrbios cognitivos associados a várias doenças neuropsiquiátricas. Estudos apontam também que CVD exibe efeito neuroprotetor e importante melhora de parâmetros associados a cognição em modelos animais de Doença de Alzheimer, uma das patologias mais reportadas pelos sinais e sintomas de déficits cognitivos (ARRIETA-CRUZ et al., 2010; KUMAR; DOGRA, 2009; WANG et al., 2011). Dessa forma, o CVD representa uma possibilidade terapêutica para pacientes com de déficits cognitivos associados a depressão.

Além das alterações comportamentais, frequentemente são observadas alterações de peso nos pacientes com depressão, sendo esse sintoma considerado para a classificação diagnóstica (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Já está documentado na literatura que o estresse promove a mobilização das reservas de energia do corpo como mecanismo de adaptação para responder a uma situação

ameaçadora. Diversos mecanismos estão envolvidos nesse processo que frequentemente é acompanhado de anorexia e ganho de peso corporal reduzido (RABASA; DICKSON, 2016).

Corroborando essa ideia, estudos mostram que o estresse promove hiperativação do eixo HHA e do sistema nervoso simpático e que existe um mecanismo regulatório positivo e dialético entre esses dois sistemas, associados a apresentação de comportamentos de anorexia, hipofagia e perda de peso. Assim, esses dois sistemas funcionam coletivamente de modo que a ativação do eixo HHA leva a liberação de catecolaminas e, a elevação desses hormônios, por sua vez, leva a estimulação do eixo HHA pela ativação de receptores alfa-1 adrenérgicos no núcleo paraventricular, região do hipotálamo onde se localizam as células responsáveis pela produção e liberação do CRH (FLAK et al., 2014; RABASA; DICKSON, 2016). Esse fato mostra que os receptores alfa-1 adrenérgicos configuram-se como importante alvo farmacológico no controle do eixo HHA.

Ratificando essa informação, os achados do presente estudo mostram que o estresse crônico imprevisível causa uma redução de ganho de peso. Outros estudos mostram que o estresse causa redução da ingestão de alimentos e o peso corporal de roedores de maneira diretamente relacionada à gravidade do estresse (KAIDANOVICH-BEILIN et al., 2011; MARTÍ; MARTÍ; ARMARIO, 1994; VALLÈS et al., 2000), mostrando que existe uma relação direta do estresse com os efeitos catabólicos observados. O efeito observado no presente estudo se justifica, parcialmente, pelo fato de que o aumento do tônus simpático presente no estresse está relacionado ao aumento da termogênese e diminuição da ingestão de alimentos e peso corporal (RABASA; DICKSON, 2016).

Associado a isso, foi visto no presente estudo que o CVD5 foi capaz de reverter as alterações de peso provocadas pelo estresse crônico imprevisível. Esse efeito está provavelmente associado a ação bloqueadora adrenérgica de CVD, tendo em vista que a estimulação da lipólise e a liberação de ácidos graxos do tecido adiposo, assim como a glicogenólise e a gliconeogênese no fígado, são ações reguladas por receptores alfa e beta adrenérgicos (BARTNESS et al., 2014; SHERWIN; SACCA, 1984).

Alinhado com a ideia que o estresse provoca uma desregulação do eixo HHA, estudos apontam que diferentes estímulos estressores ou traumas podem provocar aumento da camada cortical da glândula adrenal (BERGER et al., 2019; CAI et al., 2015). Corroborando esses dados, o presente estudo mostra que o estresse crônico imprevisível causou um aumento da camada cortical da adrenal, efeito que provavelmente se dá pela estimulação acentuada do ACTH sobre as células dessa região, sobretudo da camada glomerulosa, levando a hipertrofia da glândula e hipercortisolemia (BERGER et al., 2019; ULRICH-LAI et al., 2006).

Além disso, também se observou que o tratamento com CVD, em ambas as doses, ou DVS foi capaz de reverter o aumento da zona cortical causado pelo estresse crônico imprevisível. Esse achado ratifica os achados comportamentais que mostram efeito ansiolítico e antidepressivo desses medicamentos, possivelmente associados a regulação do eixo HHA. Outros estudos também mostram que antidepressivos são capazes de reduzir os níveis de cortisol sérico e tamanho da adrenal, confirmando os dados aqui apresentados (BELMAKER; AGAM, 2008; KESSING; WILLER; KNORR, 2011; THOMSON; CRAIGHEAD, 2008). Além disso, o efeito simpaticolítico de CVD contribui diretamente para a regulação do eixo HHA ao bloquear os receptores adrenérgicos no núcleo paraventricular e reduzir a liberação de CRH pelo hipotálamo.

Associado as alterações comportamentais, ocorrem alterações neuroquímicas relacionadas aos diferentes mecanismos fisiopatológicos da depressão. Essas alterações estão frequentemente associadas a diversas áreas e circuitos cerebrais ocasionando os sintomas observados na clínica.

Dentre essas áreas, o córtex pré-frontal, uma das áreas do cérebro mais estudadas na biologia da depressão, está associado a funções importantes, como a resolução de problemas, análise, controle de impulsos, atenção seletiva e memória de trabalho (DIXON et al., 2017; LARA; WALLIS, 2015; SIDDIQUI et al., 2008), sendo a sua disfunção associada a sintomas como déficits cognitivos, problemas na tomada de decisão e apatia.

O hipocampo, por outro lado, é uma estrutura intimamente associada ao controle de emoções, memória de diversos tipos, motivação e regulação do eixo HHA, sendo correlacionada com sintomas como anedonia, alterações do sono, alterações no peso/apetite e déficits de memória, vistos em muitos pacientes deprimidos (BAI et al., 2014; JAYAWEERA et al., 2015; LIU et al., 2017).

Tendo em vista a importância de tais áreas cerebrais, foram investigados parâmetros de estresse oxidativo, de inflamação e um marcador neurotrófico diante do modelo de estresse crônico imprevisível e dos tratamentos com CVD e DVS.

Nessa perspectiva foi investigada a concentração de glutathiona (GSH), um dos antioxidantes não enzimáticos endógenos mais importantes e utilizados como mecanismo de defesa contra EROs, incluindo o H_2O_2 , uma das espécies reativas mais deletérias para o sistema nervoso central (RAE; WILLIAMS, 2017).

No presente estudo o modelo animal de depressão induzido por estresse crônico imprevisível foi capaz de causar redução das concentrações de GSH apenas no hipocampo, sugerindo que o estresse crônico imprevisível diminui a capacidade antioxidante dos

tecidos de uma maneira região-específica. De maneira semelhante, este achado foi observado em estudo anterior do nosso grupo com outro modelo animal de depressão onde a administração crônica de corticosterona também reduziu as concentrações de GSH apenas no hipocampo (SILVA et al., 2016), mostrando que essa é uma alteração presente em diferentes modelos animais de depressão.

A suscetibilidade do hipocampo a espécies reativas de oxigênio está associada a diversos fatores, dentre os quais se destaca a distribuição de receptores de glicocorticoides no cérebro. No hipocampo esses receptores estão densamente presentes e são responsáveis pela regulação por *feedback* negativo do eixo HHA, fato que apresenta menor importância no córtex pré-frontal já que, nessa região, esses receptores se encontram em menor quantidade (MORIMOTO et al., 1996; VAN EEKELLEN et al., 1988; WANG et al., 2013).

Corroborando essa ideia, estudos mostram que os glicocorticoides aumentam a neurotoxicidade mediada por estresse oxidativo acarretando uma redução dos níveis de glutathiona e atividade da GSH-Px, contribuindo assim para o desequilíbrio oxidativo e lesão neuronal (BAIĆC et al., 2007; MCINTOSH; CORTOPASSI; SAPOLSKY, 2002; YOU et al., 2009). Além disso, o estresse oxidativo nessa área está associado a morte neuronal e consequente redução do volume hipocampal como observado em pacientes com depressão (LINDQVIST et al., 2017; SHELINE et al., 2012; VAN VELZEN et al., 2017).

Outras pesquisas também tem relatado um déficit antioxidante no cérebro de roedores, principalmente da glutathiona, após estresse crônico (MADRIGAL et al., 2001; MAO et al., 2012; PAL; DANDIYA, 1994). Ratificando os nossos resultados experimentais, estudo *post mortem* revelou uma depleção significativa de GSH em cérebro de pacientes e estudo com roedores relatou redução de glutathiona S-transferase e redutase no cérebro e fígado de ratos estressados, indicando que o estresse exerce importante efeito sobre as defesas antioxidantes (GAWRYLUK et al., 2011; ZAFIR; ARA; BANU, 2009).

Em nosso estudo CVD5 aumentou as concentrações de GSH no córtex pré-frontal enquanto CVD5 e CVD10 exibiram esse efeito no hipocampo. Corroborando o efeito antioxidante de CVD, estudos mostram que esse medicamento é capaz de aumentar a atividade da GSH-Px reduzindo o dano por estresse oxidativo em modelo de isquemia (ÖZSOY et al., 2016). Outro estudo mostrou que CVD é capaz de reduzir a apoptose ao elevar as concentrações de GSH em modelos de lesão medular (KARATAS et al., 2015). Além disso, seu efeito neuroprotetor tem sido associado ao aumento das concentrações de GSH em modelos de mania (DE SOUZA et al., 2015), disfunção mitocondrial (ARETI; KOMIRISHETTY; KUMAR,

2017) e hipóxia (GAO et al., 2017) reforçando a ideia de que o efeito neuroprotetor apresentado por esse medicamento envolve a sua ação sobre as concentrações de GSH.

Além da redução das concentrações de GSH, alterações nos níveis de nitrito também têm sido relatadas em pacientes com depressão. Várias evidências sugerem uma associação entre concentrações plasmáticas aumentadas de NO e depressão (BAJPAI et al., 2014; KUDLOW et al., 2016). Um dos primeiros estudos que demonstra essa relação aponta que as concentrações séricas totais de nitrito/nitrato em pacientes deprimidos com doença cardíaca isquêmica diminuíram após administração de paroxetina (FINKEL et al., 1996). Em seguida, vários outros estudos foram publicados mostrando uma relação semelhante, confirmando a ideia de que um aumento de nitrito pode estar correlacionado a fisiopatologia da depressão e ainda com o suicídio (KIM et al., 2006; LU et al., 2014; SUZUKI et al., 2001).

Esses dados corroboram os achados do presente estudo que mostram que o estresse crônico imprevisível causou aumento das concentrações de nitrito em ambas as áreas cerebrais estudadas. Esse efeito já foi observado em estudos pré-clínicos com outros modelos animais de depressão, mostrando que a alteração dos níveis de nitrito é um importante mecanismo fisiopatológico desse transtorno (OLIVEIRA et al., 2017; RINWA; KUMAR, 2017; YU et al., 2016).

De fato, o aumento desse marcador está associado ao estresse nitrosativo, dano celular provocado por espécies reativas de nitrogênio como peroxinitrito (ONOO^-) (KUDLOW et al., 2016; MAES et al., 2011). Na presença de elevadas concentrações de NO há reação com ânions superóxido (O_2^-) e formação do íon peroxinitrito que é altamente reativo, neurotóxico e inflamatório (KUDLOW et al., 2016; STEINERT; CHERNOVA; FORSYTHE, 2010; VASCONCELOS et al., 2007). O íon peroxinitrito, além de representar um mediador importante do estresse nitrosativo e dano celular, é um potente ativador microglial. A microglia ativada libera várias citocinas inflamatórias que, além de promoverem diversas respostas inflamatórias, estimulam a enzima indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO) reduzindo assim a disponibilidade do precursor da síntese de serotonina, o triptofano (BROWN; VILALTA, 2015; KUDLOW et al., 2016).

O dano oxidativo causado por EROs e ERNs promove ainda a redução de tetra-hidrobiopterina (BH_4), um cofator importante para a produção de serotonina e catecolaminas. Assim, na ausência de BH_4 há um déficit na produção de neurotransmissores, tal como é postulado na fisiopatologia da depressão (KUDLOW et al., 2016; VANCASSEL; CAPURON; CASTANON, 2018). Além disso, o efeito provocado pelo déficit de BH_4 amplifica a resposta oxidativa já que as células, na ausência desse cofator, aumentam a reação de conversão de

oxigênio em superóxido aumentando ainda mais a produção de radicais livres de nitrogênio (STEINERT; CHERNOVA; FORSYTHE, 2010).

Além das alterações observadas com o estresse crônico imprevisível em nosso estudo, o tratamento com CVD em ambas as doses reverteu o efeito do produzido pelo modelo de animal de depressão sobre as concentrações de nitrito em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos, ratificando o efeito antioxidante já observado na avaliação das concentrações de GSH.

O efeito antioxidante de carvedilol já tem sido relatado em estudos clínicos e pré-clínicos das mais diversas patologias, inclusive associando a redução das concentrações de nitrito ao seu efeito neuroprotetor e cardioprotetor (ARRIETA-CRUZ et al., 2010; ARUMANAYAGAM et al., 2001; DE SOUZA et al., 2015; KUMAR; DOGRA, 2009; NAIDU; SINGH; KULKARNI, 2002; PRAKASH; KUMAR, 2009; SAVITZ et al., 2000; YUE et al., 1992). Estudos mostram que a capacidade de reduzir as concentrações de nitrito envolvem a redução da expressão de iNOS e, em parte, a interação com receptores adrenérgicos presentes em macrófagos, periféricamente, e em micróglia no SNC (PEKAROVA et al., 2009). Além disso, como visto no presente estudo, CVD é capaz de reduzir as concentrações de MPO, enzima já relatada como catalizadora da produção de óxido nítrico em locais de inflamação (EISERICH et al., 2002), sugerindo assim que o efeito antioxidante e anti-inflamatório de carvedilol podem ter um alvo em comum: a micróglia.

Apesar dos achados aqui apresentados serem animadores e tendo em vista o caráter multifatorial da etiologia da depressão, as concentrações de NO podem ser altamente variáveis e influenciadas pelos sintomas e pela evolução clínica dos pacientes. Assim, ainda há incongruência na literatura acerca das alterações de NO em pacientes com depressão, de modo o NO talvez não seja um fator etiopatológico de todos os indivíduos com depressão, mas apenas de um grupo de pacientes específico (KUDLOW et al., 2016). Assim, mais estudos são necessários para clarificar a real associação existente entre óxido nítrico e depressão.

Outro parâmetro de estresse oxidativo investigado foram as concentrações de malondialdeído. No presente estudo o estresse crônico imprevisível causou aumento das concentrações desse marcador sugerindo que o estresse provocado pelo modelo causa peroxidação lipídica em ambas as áreas investigadas. Esses dados, além de corroborar os demais marcadores de estresse oxidativo investigados, justificam os achados comportamentais e neurotróficos aqui apresentados.

Os dados observados no modelo de depressão investigado estão de acordo com a literatura que aponta achados semelhantes em diferentes modelos animais de depressão (DI

LORENZO et al., 2016; LÓPEZ-LÓPEZ et al., 2016; SILVA et al., 2016), sugerindo que essa é uma alteração pertinente aos mecanismos fisiopatológicos do transtorno.

A peroxidação lipídica é um processo que é iniciado pela hidroxilação de lipídeos insaturados, gerando um hidroperóxido lipídico. Esse componente é facilmente neutralizado por antioxidantes como GSH, GSH-Px, vitamina E, vitamina C e outros. Em situações em que há desbalanço oxidativo, tal como ocorre na depressão, com sobrecarga de hidroperóxidos ou redução das defesas antioxidantes, esses compostos podem continuar reagindo para formar produtos de peroxidação lipídica em estágio avançado, como malondialdeído (MAZEREEUW et al., 2015; SULTANA; PERLUIGI; BUTTERFIELD, 2013).

Vale destacar que os lipídios peroxidados podem não apenas exacerbar diretamente o estresse oxidativo, mas também podem influenciar na sinalização lipídica, regulação de monoaminas, vias inflamatórias e atividade autoimune (CHALON, 2006; MAZEREEUW et al., 2013; MOYLAN et al., 2014), mostrando assim que essa alteração está relacionada com os diversos mecanismos envolvidos na etiopatogenia da depressão.

Nos achados aqui observados, apenas CVD10 reverteu a peroxidação lipídica provocada pelo estresse crônico imprevisível no córtex pré-frontal, enquanto ambas as doses de CVD foram capazes de exercer esse efeito no hipocampo. Esses dados, confirmam o potencial antioxidante de carvedilol diante do modelo aqui estudado ratificando o seu efeito neuroprotetor e antidepressivo.

Apesar de os dados acerca do efeito neuroprotetor de CVD em modelos de depressão ainda serem insipientes, nossos achados mostram que ele apresenta efeito antidepressivo que possivelmente está associado ao seu potente efeito antioxidante já relatado na literatura. Tendo em vista que o estresse oxidativo é um mecanismo comum as doenças cardiovasculares e a depressão, CVD pode ser útil no tratamento de pacientes que apresentem ambas as comorbidades.

Além do dano oxidativo, tem sido reportado uma importante relação entre os distúrbios neuroendócrinos, imunidade e inflamação na fisiopatologia da depressão. A mieloperoxidase (MPO), enzima produzida por leucócitos, representa um importante elo entre esses sistemas, sendo considerada inclusive um importante biomarcador para os transtornos depressivos (PRAVALIKA et al., 2018).

Estudos mostram um aumento da expressão de MPO em pacientes com depressão (GAŁECKI et al., 2010, 2012; TALAROWSKA; SZEMRAJ; GAŁECKI, 2015; VACCARINO et al., 2008), corroborando os achados do presente estudo que mostram efeito semelhante sobre

as áreas cerebrais investigadas de camundongos submetidos ao modelo de depressão induzido por estresse crônico imprevisível.

De fato, a depressão cursa com estresse oxidativo e neuroinflamação, fatores intimamente relacionados com a atividade da mieloperoxidase (GAŁECKI; TALAROWSKA, 2018). Esta enzima promove a conversão de peróxido de hidrogênio em ácido hipocloroso (HOCl), relacionado aos importantes efeitos bactericidas e antifúngicos de leucócitos polimorfonucleares (PRAVALIKA et al., 2018). Contudo, em situações patológicas, onde há exacerbação da atividade enzimática da MPO, o HOCl está associado a apoptose, estresse oxidativo, dano tecidual e consequentemente neurodegeneração (PRAVALIKA et al., 2018; RAY; KATYAL, 2016; YAP; WHITEMAN; CHEUNG, 2007).

Além disso, a micróglia, célula monocítica associada ao controle da inflamação no sistema nervoso central, apresenta um importante papel na hiperfunção da MPO (SINGHAL; BAUNE, 2017; YIRMIYA; RIMMERMAN; RESHEF, 2015). A ativação microglial exacerbada, tal como acontece na depressão e em situações de estresse, leva a expressão de óxido nítrico sintase indutível (iNOS) e a uma maior produção de MPO. Ambas essas vias convergem para a produção de espécies reativas de nitrogênio como nitrito (NO_2^-) (CALCIA et al., 2016; PRAVALIKA et al., 2018; SINGHAL; BAUNE, 2017). Estudos mostram que o estresse provocado por espécies reativas de nitrogênio e cloro são responsáveis por causar oxidação de proteínas, peroxidação lipídica e dano ao DNA (MAURYA et al., 2016; PRAVALIKA et al., 2018; RAY; KATYAL, 2016), justificando os achados do presente estudo onde o estresse crônico imprevisível, além de provocar aumento da atividade de MPO, provocou um aumento nas concentrações de nitrito e peroxidação lipídica nas áreas cerebrais investigadas.

Na avaliação da atividade da MPO foi observado ainda que o CVD foi capaz de reduzir a atividade da mieloperoxidase em ambas as áreas investigadas, enquanto o DVS exibiu esse efeito apenas no hipocampo. O importante efeito exibido por carvedilol possivelmente está associado à sua atividade bloqueadora adrenérgica, antioxidante e anti-inflamatória. Estudos apontam que a reatividade microglial observada em situações de estresse está associada a ativação direta de receptores beta-adrenérgicos pela noradrenalina, contribuindo para a síntese e liberação de mediadores inflamatórios e estresse oxidativo (CALCIA et al., 2016; HERTZ et al., 2010; TANAKA et al., 2002). Assim, o carvedilol apresenta vantagens com relação aos distúrbios neuropsiquiátricos associados a desregulação na atividade da MPO.

Além do estresse oxidativo e da ativação enzimática da MPO, as citocinas têm sido implicadas na fisiopatologia de vários distúrbios neuropsiquiátricos, incluindo o transtorno

depressivo. Assim como os estressores, que podem gerar sintomas do tipo depressivos em roedores, a administração sistêmica de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e TNF- α , causa hiperativação do eixo HHA e alterações comportamentais (HIMMERICH et al., 2019; RAISON; CAPURON; MILLER, 2006; WEST; MAES, 1999).

Dentre as citocinas implicadas na fisiopatologia da depressão a IL-4 se destaca por sua atividade anti-inflamatória. Embora essa citocina não seja sintetizada em concentrações elevadas no cérebro, sua expressão é notória em situações de infecção ou lesão cerebral (PARK et al., 2015). Essa ideia é justificada por estudos que relatam que as citocinas anti-inflamatórias têm a capacidade de suprimir a síntese de IL-1, TNF e outras citocinas, mediadores inflamatórios que desempenham importante papel nos mecanismos fisiopatológicos da depressão (DINARELLO, 1997; PARK et al., 2015).

No presente estudo foi evidenciado que o estresse crônico causou uma redução das concentrações de IL-4 no córtex pré-frontal. Esses dados estão de acordo com estudos que apontam que baixas concentrações de IL-4 estão associadas a sintomas depressivos (GOLDSMITH; RAPAPORT; MILLER, 2016).

Além disso, IL-4 tem importância crítica em funções cerebrais superiores, como memória e aprendizado (GADANI et al., 2012). Achados de estudo com roedores mostram que camundongos *knockout* para IL-4 apresentam comprometimento cognitivo em tarefas de aprendizado espacial e que isso pode ser revertido pelo transplante de medula óssea (DERECKI et al., 2010). Esses dados corroboram o déficit cognitivo observado no teste de Y-maze, onde foram observadas baixas concentrações de IL-4 no o córtex pré-frontal dos camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível, uma das principais áreas envolvidas na execução de alterações corretas observadas nesse teste.

Outra importante função da IL-4 é sua capacidade de induzir células Th2 e promover a sobrevivência através da ativação da via PI3/AKT/mTOR (LUZINA et al., 2012). Além disso, dentre os mecanismos neuroprotetores dessa citocina, destaca-se a capacidade de promover a síntese de BDNF por células astrocitárias. Esta proteína, que é responsável pelo crescimento e sobrevivência de neurônios e pelo aumento da arborização neuronal de dendritos, tem mostrado um efeito positivo no aprendizado, estando a sua ausência associada a déficits cognitivos (CHOY et al., 2008; DERECKI et al., 2010; HALL; THOMAS; EVERITT, 2000). Esses dados também ratificam os baixos níveis de BDNF em córtex pré-frontal de camundongos submetidos ao estresse crônico imprevisível observados no presente estudo.

Além disso a estimulação de astrócitos por IL-4 leva a uma redução da produção de NO e iNOS após estimulação por LPS ou citocinas pró-inflamatórias (BRODIE et al., 1998;

HU et al., 1995), ratificando o efeito anti-inflamatório dessa citocina. Esses dados apontam para uma interação complexa entre astrócitos e IL-4 envolvida na neuroproteção, sendo importante a investigação acerca desse mecanismo.

Vale ressaltar que a ausência de efeitos observada com o tratamento com CVD e DVS pode estar relacionado ao curto tempo de administração de apenas 7 dias. Com relação ao hipocampo, a ausência de efeitos observada nos animais estressados pode estar associada ao tempo de protocolo. De fato, vários estudos apontam que o protocolo de estresse crônico de 28 dias ou mais pode ser mais robusto ao mimetizar uma maior variedade de alterações neuroquímicas e comportamentais, incluindo alterações de citocinas nessa região.

Além da IL-4, a IL-6 tem sido largamente implicada na fisiopatologia da depressão. Muitos pacientes com transtorno depressivo apresentam níveis mais altos de múltiplos marcadores inflamatórios, incluindo a citocina Interleucina-6 (IL-6) que tem mostrado um papel central no desenvolvimento da depressão (GIROTTI; DONEGAN; MORILAK, 2013; HODES; MÉNARD; RUSSO, 2016; ZHANG et al., 2017).

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina inflamatória potente, com atividade redundante e pleiotrópica que medeia uma série de funções fisiológicas, incluindo a diferenciação de linfócitos, proliferação e sobrevivência celular, além de potencializar sinais apoptóticos. Os tipos de células cerebrais que produzem IL-6 incluem células endoteliais, glias e neuronais (HODES; MÉNARD; RUSSO, 2016; HUNTER; JONES, 2015).

Assim como observado na avaliação de IL-4 no hipocampo de animais submetidos ao estresse crônico imprevisível, não foram observadas alterações nos níveis de IL-6 em nenhuma das áreas estudadas. Esses dados mais uma vez podem estar associados ao tempo de protocolo de estresse já que outros estudos conduzidos com protocolos mais extensos apresentaram alteração nas concentrações dessa citocina (DENG et al., 2015; XUE et al., 2015). Além disso, sabendo que a depressão é uma condição multifatorial e heterogênea, é possível que haja diferentes desfechos já que cada indivíduo apresenta uma resposta particular ao estresse e dessa forma manifesta alterações neuroquímicas que também são particulares.

Por outro lado, os tratamentos com CVD ou DVS elevaram as concentrações dessa citocina quando comparados ao controle, estando essa ação possivelmente associada a um efeito benéfico da IL-6 já que os outros marcadores de estresse oxidativos, inflamatórios e neurotróficos avaliados no presente estudo apontam para uma ação neuroprotetora. Corroborando essa ideia estudos apontam que, apesar de ser classificada majoritariamente como uma citocina pró-inflamatória, a IL-6 também possui propriedades anti-inflamatórias importantes (WOLF; ROSE-JOHN; GARBERS, 2014).

Tem sido reportado que o complexo de sinalização da IL-6 e pode resultar em cascatas inflamatórias e anti-inflamatórias, dependendo da conformação do receptor de IL-6 (IL-6R) ou do transdutor de sinal gp130 ligado à membrana. Acredita-se que a sinalização clássica que ocorre pela ligação de IL-6 ao receptor de superfície celular ligado à membrana seja associada a ação anti-inflamatória dessa citocina (HODES; MÉNARD; RUSSO, 2016; WOLF; ROSE-JOHN; GARBERS, 2014).

Achados pré-clínicos apontam que IL-6 é fundamental para a sobrevivência dos neurônios e pode atuar como um fator de crescimento desempenhando um importante papel na regeneração de nervos periféricos (SPOOREN et al., 2011). Além disso, a IL-6 reduz a morte neuronal *in vitro* induzida por excitotoxicidade hipocampal e estriatal (ALI et al., 2003; TOULMOND et al., 1992; YAMADA; HATANAKA, 1994), importante mecanismo reportado na fisiopatologia da depressão. Essa citocina é capaz ainda de prevenir déficits cognitivos após isquemia (LODDICK; TURNBULL; ROTHWELL, 1998; MATSUDA et al., 1996) e reduzir a suscetibilidade de camundongos a convulsões (PENKOWA et al., 2001).

A ação neuroprotetora de IL-6 pode estar relacionada a propriedades neurotróficas, já que vários estudos apontam a capacidade de induzir a diferenciação e a sobrevivência de linhas celulares neuronais, principalmente neurônios colinérgicos, monoaminérgicos e sensoriais (GADIANT; OTTEN, 1997; HORTON et al., 1998; JÜTTLER; TARABIN; SCHWANINGER, 2002).

Tendo em vista a incongruência existente em meio a comunidade científica acerca do envolvimento de IL-6 na fisiopatologia da depressão e a complexidade dos mecanismos envolvidos na ação pleiotrópica dessa citocina, mais estudos são necessários para evidenciar quais vias estão envolvidas na ação de CVD sobre essa citocina.

Interferon-gama (IFN- γ), que é um mediador crucial de ambas as respostas imunes inatas e adaptativas, é outra citocina que tem sido considerada como tendo um papel na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos associados ao estresse. Vários estudos relataram níveis circulantes elevados de IFN- γ entre pacientes deprimidos (DAHL et al., 2014; SCHMIDT et al., 2014), e muitos antidepressivos usados no tratamento são capazes de antagonizar a sinalização IFN- γ (BRUSTOLIM et al., 2006; KUBERA et al., 2001; MAES et al., 1999).

Como um dos mais potentes ativadores de células microgliais e regulador chave da resposta anti-viral, o IFN- γ é especialmente importante para condições de exposição ao estresse ou para indivíduos geneticamente vulneráveis. A esse respeito, achados mostram que camundongos deficientes em IFN- γ exibiram resposta dopaminérgica e inflamatória atenuada

diante de estresse crônico (LITTELJOHN; NELSON; HAYLEY, 2014). Assim, é possível afirmar que o IFN- γ contribui para uma série de processos afetivos e talvez cognitivos sob condições de estresse basal e crônico.

No presente estudo, o tratamento com CVD10 foi capaz de reverter as elevadas concentrações de IFN- γ causadas por estresse crônico imprevisível no córtex pré-frontal, podendo este ser um dos mecanismos responsáveis pela melhora do comportamento do tipo depressivo observada na avaliação comportamental. Corroborando essa ideia, achados clínicos apontam que o tratamento com inibidores seletivos da recaptação da serotonina, como a fluoxetina, diminuem a expressão do mRNA do IFN- γ em pacientes deprimidos (TSAO et al., 2006).

Estudos apontam ainda que a deleção genética do receptor de IFN- γ está associada a um efeito antidepressivo no teste de nado forçado, enquanto uma elevação nos níveis sistêmicos dessa citocina induziu anedonia e comportamento do tipo depressivo (KWANT; SAKIC, 2004). Em relação aos comportamentos de ansiedade, os resultados são inconsistentes. Contudo, estudos recentes sugerem um efeito “anti-estresse” da ablação genética de IFN- γ ao atenuar as alterações comportamentais e bioquímicas provocadas pelo estresse (KUSTOVA et al., 1998; LITTELJOHN et al., 2010).

Vale destacar que o efeito exibido pelo tratamento com DVS no hipocampo, ao aumentar as concentrações dessa citocina, diverge do que já tem sido relatado na literatura, sendo necessário assim mais estudos para clarificar o aumento de IFN- γ observado com o tratamento antidepressivo.

Diante do exposto, é possível afirmar que fármacos capazes de reduzir as concentrações de IFN- γ como o carvedilol configuram-se como uma possibilidade terapêutica para pacientes com depressão e ansiedade.

Além das alterações já citadas, o estresse crônico imprevisível causou redução dos níveis de BDNF no córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos, mimetizando o déficit de BDNF característico da fisiopatologia da depressão e corroborando os dados já presentes na literatura (BOUCKAERT et al., 2016; GUO et al., 2014; YOUSSEF et al., 2018). Ratificando essa ideia, vários estudos tem mostrado que os modelos animais de depressão têm causado, além do comportamento depressivo-símile, um déficit de BDNF em áreas cerebrais (ABOUL-FOTOUH, 2015; MOSHE et al., 2016; SOUSA et al., 2015).

De fato, o modelo de estresse crônico produz alterações comportamentais e neuroquímicas que podem corresponder aos sintomas clínicos da depressão em seres humanos

(BIALA et al., 2017; CAI et al., 2015; FILHO et al., 2015), assim como foi observado nos resultados do presente estudo. Este modelo baseia-se na teoria de que as alterações sistêmicas observadas na depressão são resultantes de estresse crônico (WILLNER, 1997, 2005, 2017a, 2017b).

De acordo com a hipótese das neurotrofinas da depressão, o estresse reduz a atividade de BDNF, resultando na diminuição da função das regiões límbicas do cérebro envolvida na cognição e processamento emocional (BATH; SCHILIT; LEE, 2013; DUMAN; LI, 2012; JIANG et al., 2017; PITTENGER; DUMAN, 2008). Existem várias evidências pré-clínicas e clínicas de que o estresse e o trauma causam redução das concentrações de BDNF e que o tratamento antidepressivo é capaz de reverter esta situação (BJÖRKHOLM; MONTEGGIA, 2016; POLYAKOVA et al., 2015; WATANABE et al., 2010; ZHOU et al., 2017).

No entanto, a farmacoterapia antidepressiva está associada a altas taxas de resistência e latência para a resposta terapêutica e este fato é um grande desafio no tratamento dos transtornos depressivos. Estudos sugerem que essa resistência à terapia está associada com um polimorfismo genético no gene do BDNF (EGAN et al., 2003; EL-HAGE et al., 2015) e que o estresse é um dos principais fatores causadores desse polimorfismo (HOSANG et al., 2014; ZHAO et al., 2017). Assim, estudos tem implicado o BDNF como um marcador preditivo relacionado à ausência de eficácia ou ao sucesso do tratamento antidepressivo (POLYAKOVA et al., 2015; ZHAO et al., 2017).

Os dados aqui apresentados mostram que apenas o tratamento com CVD foi capaz de reverter o efeito provocado pelo estresse crônico imprevisível e que essa ação está relacionada a dose e a área cerebral analisada. No córtex pré-frontal apenas a dose de 10mg/Kg foi capaz de reverter o efeito do estresse crônico imprevisível, corroborando os achados observados nos testes de *Y-maze*, malondialdeído e INF- γ que mostram uma correlação direta dessa área cerebral com os déficits na memória operacional e o envolvimento do estresse oxidativo, inflamação e neurotrofinas nesse comprometimento.

Vários estudos apoiam essa ideia ao afirmar que a depressão evolui clinicamente com uma redução no tamanho do córtex pré-frontal e do fluxo sanguíneo para esta área (LIU et al., 2017; SINGH; GOTLIB, 2014; TREADWAY et al., 2015), mostrando que possivelmente, estas alterações envolvem a redução do BDNF, uma vez que este fator é responsável pela neurogênese e neuroplasticidade do sistema nervoso central (SASI et al., 2017).

Além disso, desempenhando um papel importante na progressão da depressão, a deficiência de BDNF está implicada como causa da disfunção observada em transtornos

depressivos que estão associadas com o córtex pré-frontal como, por exemplo, perda de concentração e atenção, compulsão, déficits cognitivos e ideação suicida (DOMBROVSKI et al., 2013; MILLER; COHEN, 2001; YUEN et al., 2012). Estudos mostram ainda que o aumento de BDNF nessa região está associado a prevenção e reversão de transtornos mentais associados ao estresse por melhorar a resiliência (CHANG et al., 2018; DUMAN; MONTEGGIA, 2006). Assim, sabendo que o tratamento com CVD10 demonstrou ser potentemente eficaz em reverter as baixas concentrações de BDNF no córtex pré-frontal, o tratamento com este fármaco se mostra promissor na redução dos sintomas associados a essa área cerebral.

Com relação ao hipocampo, o presente estudo mostrou que CVD, em ambas as doses, foi capaz de reverter as baixas concentrações de BDNF de camundongos submetidos ao modelo de estresse crônico imprevisível.

De fato, evidências sugerem que, além dos efeitos antioxidante e anti-inflamatório, CVD também é capaz de elevar as concentrações de BDNF no hipocampo de animais (DE SOUZA et al., 2015), confirmando o seu efeito neuroprotetor e os resultados aqui apresentados. Vale ressaltar que, em estudo anterior do nosso grupo, DVS foi capaz de reverter as baixas concentrações de BDNF em modelo animal de corticosterona (SOUSA et al., 2015), mostrando que o modelo de estresse crônico provoca alterações que podem ser mais persistentes que aquelas causadas pela administração crônica de corticosterona. Assim, os diferentes modelos utilizados influenciam na resposta observada do medicamento podendo inclusive ser utilizado como ferramenta para investigar os processos envolvidos na refratariedade do tratamento.

A redução da expressão de BDNF nesta área cerebral está particularmente relacionada com o quadro clínico de certas doenças psiquiátricas e cognitivas, tais como a depressão e ansiedade (DASKALAKIS et al., 2015; HAO et al., 2018), sendo associada a menor volume hipocampal, déficits de memória episódica e disfunção nas atividades da vida diária (CAO et al., 2016; CZÉH; LUCASSEN, 2007; FRODL et al., 2008; SIUDA et al., 2017). Esses estudos corroboram os achados do presente estudo que mostraram comportamentos ansioso- e depressivos-símile, anedonia, déficit cognitivo e as alterações de peso nos animais submetidos ao estresse crônico imprevisível.

Além disso, evidências mostram que o hipocampo é estreitamente ligado à regulação do eixo HHA por apresentar expressão densa de receptores de glicocorticóides responsáveis pelo controle de *feedback* negativo (STERNER; KALYNCHUK, 2010). A importância deste eixo para a fisiopatologia da depressão é baseada em evidências clínicas de pacientes com síndrome de *Cushing* que apresentam alta incidência de depressão e de pacientes deprimidos que apresentam hipercortisolemia e perda da liberação pulsátil de cortisol

(FRIMODT-MØLLER et al., 2019; PEREIRA; TIEMENSMA; ROMIJN, 2010; SONINO; FALLO; FAVA, 2010; THEODOR et al., 2016).

Dada a importância da integridade do hipocampo para regulação do eixo HHA e função hipocampal, o tratamento associado com CVD configura-se como uma perspectiva inovadora na redução dos sintomas depressivos e evolução da terapia deste transtorno.

Apesar de nossos achados sugerirem uma possível alternativa terapêutica, muito ainda há para se entender sobre os reais efeitos do carvedilol no tratamento da depressão. Investigações acerca dos efeitos deste anti-hipertensivo no modelo animal de depressão aqui investigado abordando diferenças entre sexo, por exemplo, ainda são insipientes. Além disso, pouco se sabe sobre os mecanismos moleculares adjacentes aos efeitos do carvedilol sobre a depressão. Nessa perspectiva, estudos pré-clínicos e clínicos usando carvedilol como alternativa terapêutica para o tratamento da depressão maior precisam ser encorajados.

Além disso, os dados obtidos nesta investigação científica fornecem subsídios para o uso do carvedilol no tratamento de transtornos depressivos ou de pacientes com doenças cardiovasculares e depressão associadas ou não. De acordo com os achados aqui apresentados CVD exibe efeitos que são dependentes da dose e das áreas cerebrais envolvidas nos aspectos sintomatológicos. Além disso, CVD de maneira geral exibiu melhor efeito que DVS em parâmetros comportamentais relacionados a ansiedade, anedonia, peso e ainda inflamação e suporte neurotrófico. Em compilação, esses dados evidenciam que o CVD é promissor como medicamento a ser incorporado ao tratamento de pacientes com depressão, principalmente quando associado a pacientes com doenças cardiovasculares.

7 CONCLUSÕES

O presente estudo é o primeiro a demonstrar que carvedilol possui ação antidepressiva, ansiolítica e é capaz de melhorar o comportamento social e a cognição em modelo animal de depressão induzido por estresse crônico imprevisível. Tais efeitos sobre o comportamento provavelmente envolvem vias oxidativas, inflamatórias e neurotróficas, já que o tratamento também foi capaz de reduzir o estresse oxidativo e parâmetros inflamatórios, assim como elevar concentrações de BDNF no córtex pré-frontal e hipocampo desses animais.

Os achados do presente estudo mostram-se promissores já que o redirecionamento de uso do carvedilol como alternativa terapêutica para pacientes que apresentem depressão associada ou não alterações cardiovasculares como hipertensão ou insuficiência cardíaca pode contribuir para a redução da necessidade de polifarmácia e o índice de efeitos colaterais, favorecendo a adesão terapêutica.

REFERÊNCIAS

- ABOUL-FOTOUH, S. Behavioral effects of nicotinic antagonist mecamylamine in a rat model of depression: Prefrontal cortex level of BDNF protein and monoaminergic neurotransmitters. **Psychopharmacology**, 2015.
- ADACHI, M. et al. TrkB Signaling in Dorsal Raphe Nucleus is Essential for Antidepressant Efficacy and Normal Aggression Behavior. **Neuropsychopharmacology**, 2017.
- AGUIAR, C. C. et al. **Drogas antidepressivas** *Acta Medica Portuguesa*, 2011.
- AL SHWEIKI, M. R. et al. **Major depressive disorder: insight into candidate cerebrospinal fluid protein biomarkers from proteomics studies** *Expert Review of Proteomics*, 2017.
- ALI, C. et al. Ischemia-Induced Interleukin-6 as a Potential Endogenous Neuroprotective Cytokine against NMDA Receptor-Mediated Excitotoxicity in the Brain. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, 2003.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **DSM-V**. [s.l: s.n.].
- AMINI-KHOEI, H. et al. On the role of corticosterone in behavioral disorders, microbiota composition alteration and neuroimmune response in adult male mice subjected to maternal separation stress. **International Immunopharmacology**, 2019.
- ARCHER, J. **Tests for emotionality in rats and mice: A review** *Animal Behaviour*, 1973.
- ARETI, A.; KOMIRISHETTY, P.; KUMAR, A. Carvedilol prevents functional deficits in peripheral nerve mitochondria of rats with oxaliplatin-evoked painful peripheral neuropathy. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 2017.
- ARNSTEN, A. F. T. **Stress weakens prefrontal networks: Molecular insults to higher cognition** *Nature Neuroscience*, 2015.
- ARRIETA-CRUZ, I. et al. Carvedilol reestablishes long-term potentiation in a mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, 2010.
- AUTRY, A. E.; MONTEGGIA, L. M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. **Pharmacological reviews**, 2012.
- BAI, M. et al. Anhedonia was associated with the dysregulation of hippocampal HTR4 and microRNA Let-7a in rats. **Physiology and Behavior**, v. 129, p. 135–141, 2014.
- BAIĆĆ, J. et al. glucocorticoids and oxidative stress. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, 2007.
- BALI, A.; JAGGI, A. S. **Preclinical experimental stress studies: Protocols, assessment and comparison** *European Journal of Pharmacology*, 2015.
- BAN, T. A. From Melancholia to Depressin A histroy of Diagnosis and Treatment.

- International Network for the History of Neuropharmacology**, p. 1–55, 2014.
- BAR, K.-J.; EBERT, A. Emil Kraepelin: A pioneer of scientific understanding of psychiatry and psychopharmacology. **Indian Journal of Psychiatry**, v. 52, n. 2, p. 191, 2010.
- BARANYI, A. et al. Nitric oxide-related biological pathways in patients with major depression. **PLoS ONE**, 2015.
- BARIK, J. et al. Chronic Stress triggers social aversion via glucocorticoid receptor in dopaminergic neurons. **Science**, v. 339, n. 1, p. 332–335, 2013.
- BARRY, T. J. et al. Amygdala volume and hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity to social stress. **Psychoneuroendocrinology**, 2017.
- BARTNESS, T. J. et al. **Neural innervation of white adipose tissue and the control of lipolysis** *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2014.
- BARTOLI, F. et al. Depression after Stroke and Risk of Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Stroke Research and Treatment**, 2013.
- BATH, K. G.; SCHILIT, A.; LEE, F. S. Stress effects on BDNF expression: Effects of age, sex, and form of stress. **Neuroscience**, 2013.
- BAUMEISTER, D.; CIUFOLINI, S.; MONDELLI, V. **Effects of psychotropic drugs on inflammation: Consequence or mediator of therapeutic effects in psychiatric treatment?** *Psychopharmacology*, 2016.
- BAUTISTA, L. E. et al. Symptoms of depression and anxiety and adherence to antihypertensive medication. **American Journal of Hypertension**, 2012.
- BEHEYDT, L. L. et al. Cognitive and psychomotor effects of three months of escitalopram treatment in elderly patients with major depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, 2015a.
- BEHEYDT, L. L. et al. Psychomotor retardation in elderly untreated depressed patients. **Frontiers in Psychiatry**, 2015b.
- BEHL, C. et al. Glucocorticoids enhance oxidative stress-induced cell death in hippocampal neurons in vitro. **Endocrinology**, v. 138, n. 1, p. 101–106, 1997.
- BELMAKER, R. H.; AGAM, G. Major Depressive Disorder. **New England Journal of Medicine**, v. 358, n. 1, p. 55–68, 3 jan. 2008.
- BELVEDERI MURRI, M. et al. **The HPA axis in bipolar disorder: Systematic review and meta-analysis** *Psychoneuroendocrinology*, 2016.
- BERGER, I. et al. The adrenal gland in stress – Adaptation on a cellular level. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 190, p. 198–206, 2019.
- BERRIOS, G. E. Melancolia e depressão durante o século XIX: Uma história conceitual.

- Revista Latinoamericana de Psicopatologia Fundamental**, v. 15, n. 3, p. 590–608, 2012.
- BERTON, O.; NESTLER, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: Beyond monoamines. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 2, p. 137–151, 2006.
- BHAT, A. H. et al. **Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight****Biomedicine and Pharmacotherapy**, 2015.
- BIALA, G. et al. Behavioral and Biochemical Interaction Between Nicotine and Chronic Unpredictable Mild Stress in Mice. **Molecular Neurobiology**, 2017.
- BIEDERMANN, S. V. et al. An elevated plus-maze in mixed reality for studying human anxiety-related behavior. **BMC Biology**, 2017.
- BILGEN, A. E. et al. Effects of electroconvulsive therapy on serum levels of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in treatment resistant major depression. **Brain Research Bulletin**, 2014.
- BIO, D. S.; SOUZA, É. L. DE; MORENO, R. A. Remissão sintomática e qualidade de vida em pacientes com depressão maior tratados com antidepressivo: um estudo prospectivo. **Aletheia**, n. 34, p. 151–162, 2011.
- BJÖRKHOLM, C.; MONTEGGIA, L. M. **BDNF - A key transducer of antidepressant effects****Neuropharmacology**, 2016.
- BLACK, C. N. et al. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, 2015.
- BLOCK, M. L.; ZECCA, L.; HONG, J.-S. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. **Nature reviews. Neuroscience**, 2007.
- BONDY, B.; ZILL, P. Pharmacogenetics and psychopharmacology. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 4, n. 1, p. 72–78, 2004.
- BORTA, A.; SCHWARTING, R. K. W. Inhibitory avoidance, pain reactivity, and plus-maze behavior in Wistar rats with high versus low rearing activity. **Physiology and Behavior**, 2005.
- BOTHWELL, M. NGF, BDNF, NT3, and NT4. **Handbook of Experimental Pharmacology**, 2014.
- BOUCKAERT, F. et al. Relationship between Hippocampal Volume, Serum BDNF, and depression severity following electroconvulsive therapy in late-life depression. **Neuropsychopharmacology**, 2016.
- BRADLEY, P. P. et al. Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, n. 3, p. 206–209, 1982.
- BRITES, D.; FERNANDES, A. **Neuroinflammation and Depression: Microglia Activation**,

Extracellular Microvesicles and microRNA Dysregulation *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2015. Disponível em:

<<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2015.00476>>

BRODIE, C. et al. Functional IL-4 receptors on mouse astrocytes: IL-4 inhibits astrocyte activation and induces NGF secretion. *Journal of Neuroimmunology*, 1998.

BRUDKOWSKA, Ż. et al. The role of beta-adrenolytic drugs in treating anxiety disorders. *Current Problems of Psychiatry*, v. 19, n. 3, p. 209–224, 2018.

BRUENIG, D. et al. Nitric oxide pathway genes (NOS1AP and NOS1) are involved in PTSD severity, depression, anxiety, stress and resilience. *Gene*, 2017.

BRUSTOLIM, D. et al. A new chapter opens in anti-inflammatory treatments: The antidepressant bupropion lowers production of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in mice. *International Immunopharmacology*, 2006.

BUMB, J. M. et al. Focus on ECT seizure quality: serum BDNF as a peripheral biomarker in depressed patients. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, p. 3–8, 18 set. 2014.

BUTTENSCHØN, H. N. et al. Neurotrophic factors in depression in response to treatment. *Journal of Affective Disorders*, v. 183, p. 287–294, 1 set. 2015.

BYRNE, M. L.; WHITTLE, S.; ALLEN, N. B. **The Role of Brain Structure and Function in the Association between Inflammation and Depressive Symptoms: A Systematic Review** *Psychosomatic Medicine*, 2016.

CAI, L. et al. Antidepressant-like effect of geniposide on chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats by regulating the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *European Neuropsychopharmacology*, 2015.

CAI, X. et al. Local potentiation of excitatory synapses by serotonin and its alteration in rodent models of depression. *Nature Neuroscience*, v. 16, n. 4, p. 464–472, 2013.

CALCIA, M. A. et al. Stress and neuroinflammation: a systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness. *Psychopharmacology*, 2016.

CAMPOS, R. N.; DE OLIVEIRA CAMPOS, J. A.; SANCHES, M. A evolução histórica dos conceitos de transtorno de humor e transtorno de personalidade: Problemas no diagnóstico diferencial. *Revista de Psiquiatria Clínica*, v. 37, n. 4, p. 162–166, 2010.

CAN, A. et al. The Tail Suspension Test. *Journal of Visualized Experiments*, 2011.

CANTISANI, A. et al. Distinct resting-state perfusion patterns underlie psychomotor retardation in unipolar vs. bipolar depression. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 2016.

CAO, B. et al. Reduced hippocampus volume and memory performance in bipolar disorder

- patients carrying the BDNF val66met met allele. **Journal of Affective Disorders**, 2016.
- CARROLL, B. J. et al. **Pathophysiology of hypercortisolism in depression**. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. **Anais...**2007
- CERQUEIRA, J. J. et al. **Morphological correlates of corticosteroid-induced changes in prefrontal cortex-dependent behaviors**. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16120780>>
- CHAMORRO, Á. et al. **Neuroprotection in acute stroke: Targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation** **The Lancet Neurology**, 2016.
- CHAN, S. W. Y. et al. Hippocampal volume in vulnerability and resilience to depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 189, p. 199–202, 1 jan. 2016.
- CHANG, W. H. et al. Prefrontal cortex modulates the correlations between brain-derived neurotrophic factor level, serotonin, and the autonomic nervous system. **Scientific Reports**, 2018.
- CHAVES, R. DE C. et al. Reversal effect of Riparin IV in depression and anxiety caused by corticosterone chronic administration in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2019.
- CHEETA, S. et al. Changes in sleep architecture following chronic mild stress. **Biological Psychiatry**, v. 41, n. 4, p. 419–427, 1997.
- CHEN-SCARABELLI, C. et al. **A critical review of the use of carvedilol in ischemic heart disease** **American Journal of Cardiovascular Drugs**, 2012.
- CHOY, K. H. C. et al. Combined neonatal stress and young-adult glucocorticoid stimulation in rats reduce BDNF expression in hippocampus: effects on learning and memory. **Hippocampus**, 2008.
- CLARK, G.; KOESTER, A. G.; PEARSON, D. W. Exploratory behavior in chronic disulfoton poisoning in mice. **Psychopharmacologia**, v. 20, n. 2, p. 169–171, 1971.
- COBURN-LITVAK, P. S. et al. Chronic administration of corticosterone impairs spatial reference memory before spatial working memory in rats. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 80, n. 1, p. 11–23, 2003.
- COHEN, B. E.; EDMONDSON, D.; KRONISH, I. M. **State of the art review: Depression, stress, anxiety, and cardiovascular disease** **American Journal of Hypertension**, 2015.
- COHEN, R. M.; GREENBERG, J. M.; ISHAK, W. W. Incorporating multidimensional patient-reported outcomes of symptom severity, functioning, and quality of life in the individual burden of illness index for depression to measure treatment impact and recovery in MDD. **JAMA**

Psychiatry, 2013.

COHEN, S.; LEVI-MONTALCINI, R. Purification and Properties of a Nerve Growth-promoting Factor Isolated from Mouse Sarcoma 180. **Cancer Research**, 1957.

CORPS, K. N.; ROTH, T. L.; MCGAVERN, D. B. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury. **JAMA Neurology**, 2015.

COX, S. R. et al. Associations between hippocampal morphology, diffusion characteristics, and salivary cortisol in older men. **Psychoneuroendocrinology**, 2017.

CROCHEMORE, C. et al. Direct targeting of hippocampal neurons for apoptosis by glucocorticoids is reversible by mineralocorticoid receptor activation. **Molecular psychiatry**, v. 10, n. 8, p. 790–798, 2005.

CULIG, L. et al. Increasing adult hippocampal neurogenesis in mice after exposure to unpredictable chronic mild stress may counteract some of the effects of stress. **Neuropharmacology**, 2017.

CZÉH, B.; LUCASSEN, P. J. **What causes the hippocampal volume decrease in depression? Are neurogenesis, glial changes and apoptosis implicated?** **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, 2007.

DAHL, J. et al. The plasma levels of various cytokines are increased during ongoing depression and are reduced to normal levels after recovery. **Psychoneuroendocrinology**, 2014.

DASKALAKIS, N. P. et al. Early Life Stress Effects on Glucocorticoid—BDNF Interplay in the Hippocampus. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, 2015.

DE ARAÚJO JÚNIOR, R. F. et al. Carvedilol Decrease IL-1 β and TNF- α , Inhibits MMP-2, MMP-9, COX-2, and RANKL Expression, and Up-Regulates OPG in a Rat Model of Periodontitis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, 2013.

DE AZEREDO, L. A. et al. The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene val66met polymorphism affects memory performance in older adults. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, 2017.

DE KLOET, E. R. et al. **Stress and Depression: a Crucial Role of the Mineralocorticoid Receptor** **Journal of Neuroendocrinology**, 2016.

DE KLOET, E. R.; JOËLS, M.; HOLSBOER, F. Stress and the brain: from adaptation to disease. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 6, n. 6, p. 463–475, 2005.

DE PALMA, G. et al. Microbiota and host determinants of behavioural phenotype in maternally separated mice. **Nature communications**, 2015.

DE QUERVAIN, D.; SCHWABE, L.; ROOZENDAAL, B. **Stress, glucocorticoids and memory: Implications for treating fear-related disorders** **Nature Reviews Neuroscience**,

2016.

DE SOUSA, C. N. S. et al. Neuroprotective evidence of alpha-lipoic acid and desvenlafaxine on memory deficit in a neuroendocrine model of depression. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 391, n. 8, p. 803–817, 2018.

DE SOUZA, G. C. et al. Preclinical evidences for an antimanic effect of carvedilol. **Neural Plasticity**, v. 2015, 2015.

DEAN, L. **Carvedilol Therapy and CYP2D6 Genotype**. [s.l: s.n.].

DEL'OLMO, F. D. S.; CERVI, T. M. D. Sofrimento mental e dignidade da pessoa humana: os desafios da reforma psiquiátrica no Brasil. **Seqüência: Estudos Jurídicos e Políticos**, v. 38, n. 77, p. 197–220, 2018.

DENG, X. Y. et al. Thymol produces an antidepressant-like effect in a chronic unpredictable mild stress model of depression in mice. **Behavioural Brain Research**, 2015.

DER-AVAKIAN, A.; MARKOU, A. **The neurobiology of anhedonia and other reward-related deficits** *Trends in Neurosciences*, 2012.

DERECKI, N. C. et al. Regulation of learning and memory by meningeal immunity: a key role for IL-4. **The Journal of Experimental Medicine**, 2010.

DEVARAJOOH, C.; CHINNA, K. Depression, distress and self-efficacy: The impact on diabetes self-care practices. **PLoS ONE**, 2017.

DHAR, A. K.; BARTON, D. A. Depression and the link with cardiovascular disease. **Frontiers in Psychiatry**, v. 7, n. MAR, p. 1, 2016.

DHIR, A.; KULKARNI, S. K. **Nitric oxide and major depression** *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, 2011.

DIAS, V.; JUNN, E.; MOURADIAN, M. M. **The role of oxidative stress in parkinson's disease** *Journal of Parkinson's Disease*, 2013.

DINARELLO, C. A. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. **Chest**, 1997.

DIXON, M. L. et al. Emotion and the prefrontal cortex: An integrative review. **Psychological Bulletin**, 2017.

DOMBROVSKI, A. Y. et al. Reward signals, attempted suicide, and impulsivity in late-life depression. **JAMA Psychiatry**, 2013.

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

DUCASSE, D. et al. Anhedonia is associated with suicidal ideation independently of depression: A meta-analysis. **Depression and Anxiety**, 2018.

- DUMAN, R. S. Role of Neurotrophic Factors in the Etiology and Treatment of Mood Disorders. **NeuroMolecular Medicine**, 2004.
- DUMAN, R. S.; LI, N. **A neurotrophic hypothesis of depression: Role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists** *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2012.
- DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biological psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1116–27, jun. 2006.
- DWIVEDI, Y. Brain-derived neurotrophic factor: role in depression and suicide. **Neuropsychiatric disease and treatment**, v. 5, p. 433–49, jan. 2009.
- DWIVEDI, Y. Involvement of brain-derived neurotrophic factor in late-life depression. **The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry**, v. 21, n. 5, p. 433–49, maio 2013.
- EGAN, M. F. et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. **Cell**, 2003.
- EGEDE, L. E.; ELLIS, C.; GRUBAUGH, A. L. The effect of depression on self-care behaviors and quality of care in a national sample of adults with diabetes. **General Hospital Psychiatry**, 2009.
- EL-HAGE, W. et al. The BDNF Val⁶⁶Met polymorphism is associated with escitalopram response in depressed patients. **Psychopharmacology**, 2015.
- 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. **Journal of psychiatric research**, v. 47, n. 6, p. 802–8, jun. 2013.
- ENNACEUR, A. **Tests of unconditioned anxiety - Pitfalls and disappointments** *Physiology and Behavior*, 2014.
- FACCHINETTI, C. Philippe Pinel e os primórdios da Medicina Mental. **Revista Latinoamericana de Psicopatologia Fundamental**, v. 11, n. 3, p. 502–505, 2008.
- FAQUIH, A. E. et al. A Review of Novel Antidepressants: A Guide for Clinicians. **Cureus**, 2019.
- FAROOQI, N. A. I. et al. Role of DHEA and cortisol in prefrontal-amygdalar development and working memory. **Psychoneuroendocrinology**, 2018.
- FATANI, A. J. et al. Carvedilol attenuates inflammatory biomarkers and oxidative stress in a rat model of ulcerative colitis. **Drug Development Research**, v. 76, n. 4, p. 204–214, 2015.
- FELGER, J. C.; LOTRICH, F. E. **Inflammatory cytokines in depression: Neurobiological mechanisms and therapeutic implications** *Neuroscience*, 2013.

- FERRARI, F.; VILLA, R. F. The Neurobiology of Depression: an Integrated Overview from Biological Theories to Clinical Evidence. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 7, p. 4847–4865, set. 2017.
- FERREIRA, S.; GOELLNER, M. B. Male postpartum depression. **Revista científica da faculdade de educação e meio ambiente**, v. 7, n. 2, p. 78–89, 2016.
- FEUERSTEIN, G. Z.; RUFFOLO, R. R. Carvedilol, a novel multiple action antihypertensive agent with antioxidant activity and the potential for myocardial and vascular protection. **European heart journal**, v. 16 Suppl F, p. 38–42, jul. 1995.
- FILHO, C. B. et al. Chronic unpredictable mild stress decreases BDNF and NGF levels and Na⁺,K⁺-ATPase activity in the hippocampus and prefrontal cortex of mice: Antidepressant effect of chrysin. **Neuroscience**, 2015.
- FINDLING, R. L. et al. Safety and Tolerability of Desvenlafaxine in Children and Adolescents with Major Depressive Disorder. **Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology**, 2014.
- FLAK, J. N. et al. Role of paraventricular nucleus-projecting norepinephrine/epinephrine neurons in acute and chronic stress. **The European journal of neuroscience**, v. 39, n. 11, p. 1903–1911, jun. 2014.
- FLECK, M. P. DE A. et al. Associação entre sintomas depressivos e funcionamento social em cuidados primários à saúde. **Revista de Saude Publica**, 2002.
- FLINT, A. J. et al. Abnormal speech articulation, psychomotor retardation, and subcortical dysfunction in major depression. **Journal of Psychiatric Research**, 1993.
- FOUNTOULAKIS, K. N. Pharmaceutical treatment of acute bipolar depression. **F1000 Medicine Reports**, v. 2, 2010.
- FRIED, E. I. et al. What are “good” depression symptoms? Comparing the centrality of DSM and non-DSM symptoms of depression in a network analysis. **Journal of Affective Disorders**, v. 189, p. 314–320, 2016.
- FRIMODT-MØLLER, K. E. et al. Hippocampal volume, cognitive functions, depression, anxiety, and quality of life in patients with Cushing’s syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 19 jun. 2019.
- FRISBEE, J. C. et al. An Unpredictable Chronic Mild Stress Protocol for Instigating Depressive Symptoms, Behavioral Changes and Negative Health Outcomes in Rodents. **Journal of Visualized Experiments**, 2015.
- FRODL, T. et al. Effect of hippocampal and amygdala volumes on clinical outcomes in major depression: A 3-year prospective magnetic resonance imaging study. **Journal of Psychiatry**

and Neuroscience, v. 33, n. 5, p. 423–430, 2008.

FRODL, T. Recent advances in predicting responses to antidepressant treatment. **F1000Research**, 2017.

GADANI, S. P. et al. IL-4 in the Brain: A Cytokine To Remember. **The Journal of Immunology**, 2012.

GADIENT, R. A.; OTTEN, U. H. **Interleukin-6 (IL-6) - A molecule with both beneficial and destructive potentials***Progress in Neurobiology*, 1997.

GAŁECKI, P. et al. Functional polymorphism of the myeloperoxidase gene (G-463A) in depressive patients. **Acta Neuropsychiatrica**, 2010.

GAŁECKI, P. et al. The expression of genes encoding for COX-2, MPO, iNOS, and sPLA2-IIA in patients with recurrent depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, 2012.

GAŁECKI, P.; TALAROWSKA, M. Inflammatory theory of depression. **Psychiatria Polska**, 2018.

GAO, X. et al. Carvedilol abrogates hypoxia-induced oxidative stress and neuroinflammation in microglial BV2 cells. **European Journal of Pharmacology**, 2017.

GARABADU, D.; KUMAR, V. Celecoxib potentiates the antianxiety and anticomulsive-like activity of fluoxetine against chronic unpredictable mild stress in experimental animals. **Behavioural Pharmacology**, 2019.

GARBER, J.; WEERSING, V. R. Comorbidity of Anxiety and Depression in Youth: Implications for Treatment and Prevention. **Clinical Psychology: Science and Practice**, 2010.

GARTHWAITE, J. **NO as a multimodal transmitter in the brain: discovery and current status***British Journal of Pharmacology*, 2019.

GAWALI, N. B. et al. Agmatine attenuates chronic unpredictable mild stress-induced anxiety, depression-like behaviours and cognitive impairment by modulating nitrenergic signalling pathway. **Brain Research**, 2017.

GAWRYLUK, J. W. et al. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, 2011.

GÉRAL, C.; ANGELOVA, A.; LESIEUR, S. From molecular to nanotechnology strategies for delivery of neurotrophins: emphasis on brain-derived neurotrophic factor (BDNF). **Pharmaceutics**, v. 5, n. 1, p. 127–67, jan. 2013.

GERHARD, D. M.; WOHLEB, E. S.; DUMAN, R. S. **Emerging treatment mechanisms for depression: Focus on glutamate and synaptic plasticity***Drug Discovery Today*, 2016.

GIROTTI, M.; DONEGAN, J. J.; MORILAK, D. A. Influence of hypothalamic IL-6/gp130

receptor signaling on the HPA axis response to chronic stress. **Psychoneuroendocrinology**, 2013.

GOLBIDI, S.; FRISBEE, J. C.; LAHER, I. Chronic stress impacts the cardiovascular system: animal models and clinical outcomes. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, 2015.

GOLDSMITH, D. R.; RAPAPORT, M. H.; MILLER, B. J. **A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: Comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression**. *Molecular Psychiatry*. **Anais...**2016

GONÇALVES, C. A. V.; MACHADO, A. L. Depressão, o Mal do Século: de que século? **Rev. Enfermagem UERJ**, v. 15, n. 2, p. 298–304, 2007.

GORKA, Z.; MORYL, E.; PAPP, M. Effect of chronic mild stress on circadian rhythms in the locomotor activity in rats. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 54, n. 1, p. 229–234, 1996.

GORWOOD, P. Neurobiological mechanisms of anhedonia. **Dialogues in clinical neuroscience**, 2008.

GOTTLIEB, S. S. et al. Relation of Depression to Severity of Illness in Heart Failure (from Heart Failure And a Controlled Trial Investigating Outcomes of Exercise Training [HF-ACTION]). **American Journal of Cardiology**, 2009.

GÖTZ, R. et al. Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. **Nature**, 1994.

GREEN, L. C.; TANNENBAUM; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, n. 4490, p. 56 LP – 58, 3 abr. 1981.

GREEN, R. C. et al. Depression as a risk factor for Alzheimer disease: the MIRAGE Study. **Archives of neurology**, v. 60, n. 5, p. 753–9, 2003.

GRIPPO, A. J.; BELTZ, T. G.; JOHNSON, A. K. Behavioral and cardiovascular changes in the chronic mild stress model of depression. **Physiology & behavior**, v. 78, n. 4–5, p. 703–710, 2003.

GROSS, M.; PINHASOV, A. Chronic mild stress in submissive mice: Marked polydipsia and social avoidance without hedonic deficit in the sucrose preference test. **Behavioural Brain Research**, 2016.

GUO, J. et al. Etazolate abrogates the lipopolysaccharide (LPS)-induced downregulation of the cAMP/pCREB/BDNF signaling, neuroinflammatory response and depressive-like behavior in mice. **Neuroscience**, v. 263, p. 1–14, 28 mar. 2014.

GUPTA, B. et al. Efficacy and safety of escitalopram versus desvenlafaxine in the treatment of

major depression: A preliminary 1-year prospective randomized open label comparative trial. **Perspectives in Clinical Research**, 2016.

HAASE, J.; BROWN, E. **Integrating the monoamine, neurotrophin and cytokine hypotheses of depression - A central role for the serotonin transporter?** **Pharmacology and Therapeutics**, 2015.

HACKETT, M. L.; ANDERSON, C. S. **Predictors of depression after stroke: A systematic review of observational studies** **Stroke**, 2005.

HAGE, C. EL et al. A pilot, open-label, 8-week study evaluating desvenlafaxine for treatment of major depression in methadone-maintained individuals with opioid use disorder. **International Clinical Psychopharmacology**, 2018.

HALL, J.; THOMAS, K. L.; EVERITT, B. J. Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. **Nature Neuroscience**, 2000.

HAMMEN, C. L. **Stress and depression: Old questions, new approaches** **Current Opinion in Psychology**, 2015.

HAO, R. et al. Corrigendum: BDNF val66met Polymorphism Impairs Hippocampal Long-Term Depression by Down-Regulation of 5-HT₃ Receptors. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, 2018.

HEPPNER, F. L.; RANSOHOFF, R. M.; BECHER, B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. **Nature reviews. Neuroscience**, 2015.

HERBERT, J. et al. **Do corticosteroids damage the brain?** **Journal of Neuroendocrinology**, 2006.

HERMAN, J. P. et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary- adrenocortical stress response. **Comprehensive Physiology**, 2016.

HERRMANN-LINGEN, C.; AL'ABSI, M. Exploring the Association of Hypertension with Risk for Depression. **Psychosomatic Medicine**, p. 1, 2018.

HERTZ, L. et al. Adrenoceptors in brain: Cellular gene expression and effects on astrocytic metabolism and [Ca²⁺]_i. **Neurochemistry International**, 2010.

HIMMERICH, H. et al. Cytokine Research in Depression: Principles, Challenges, and Open Questions. **Frontiers in Psychiatry**, 2019.

HIRATA, E. S. Estigma e depressão. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 72, n. ESP H2, p. 19–30, 2015.

HODES, G. E.; MÉNARD, C.; RUSSO, S. J. **Integrating Interleukin-6 into depression diagnosis and treatment** **Neurobiology of Stress**, 2016.

HORTON, A. R. et al. Cytokines promote the survival of mouse cranial sensory neurones at

- different developmental stages. **European Journal of Neuroscience**, 1998.
- HOSANG, G. M. et al. Interaction between stress and the BDNF Val66Met polymorphism in depression: a systematic review and meta-analysis. **BMC medicine**, 2014.
- HU, C. et al. Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. **PloS one**, 2017.
- HU, S. et al. Differential regulation by cytokines of human astrocyte nitric oxide production. **Glia**, 1995.
- HU, Y. et al. The level of serum brain-derived neurotrophic factor is associated with the therapeutic efficacy of modified electroconvulsive therapy in chinese patients with depression. **Journal of ECT**, 2010.
- HUANG, P. et al. Neural circuitry among connecting the hippocampus, prefrontal cortex and basolateral amygdala in a mouse depression model: Associations correlations between BDNF levels and BOLD – fMRI signals. **Brain Research Bulletin**, 2018.
- HUANG, X. et al. Venlafaxine inhibits apoptosis of hippocampal neurons by up-regulating brain-derived neurotrophic factor in a rat depression model. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 7, n. 8, p. 4577–86, jan. 2014.
- HUNTER, C. A.; JONES, S. A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. **Nature immunology**, 2015.
- ISINGRINI, E. et al. Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: A model of fluoxetine resistance in mice. **PLoS ONE**, 2010.
- JAMISON, D. T. et al. Global health 2035: a world converging within a generation. **Salud publica de Mexico**, v. 57, n. 5, p. 444–467, 2015.
- JAYAWEERA, H. K. et al. Mild Cognitive Impairment Subtypes in Older People With Depressive Symptoms: Relationship With Clinical Variables and Hippocampal Change. **Journal of geriatric psychiatry and neurology**, v. 28, n. 3, p. 174–183, 2015.
- JEANNETEAU, F.; CHAO, M. V. **Are BDNF and glucocorticoid activities calibrated?** **Neuroscience**, 2013.
- JEON, S. W.; KIM, Y. K. Neuroinflammation and cytokine abnormality in major depression: Cause or consequence in that illness? **World Journal of Psychiatry**, v. 6, n. 3, p. 283, 2016.
- JIA, Y. et al. **Depression and cancer risk: a systematic review and meta-analysis** **Public Health**, 2017.
- JIANG, R. et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism interacts with gender to influence cortisol responses to mental stress. **Psychoneuroendocrinology**, 2017.
- JIANG, W. et al. Relationship of depression to increased risk of mortality and rehospitalization

- in patients with congestive heart failure. **Archives of Internal Medicine**, 2001.
- JOCHEMS, J. et al. Enhancement of stress resilience through histone deacetylase 6-mediated regulation of glucocorticoid receptor chaperone dynamics. **Biological Psychiatry**, 2015.
- JOSHI, N.; SINGH, S. **Updates on immunity and inflammation in Parkinson disease pathology** **Journal of Neuroscience Research**, 2018.
- JURUENA, M. F.; CLEARE, A. J.; YOUNG, A. H. The role of early life stress in HPA axis and depression. In: **Understanding Depression**. [s.l: s.n.]. v. 1p. 71–80.
- JÜTTLER, E.; TARABIN, V.; SCHWANINGER, M. Interleukin-6 (IL-6): A Possible Neuromodulator Induced by Neuronal Activity. **The Neuroscientist**, 2002.
- KAIDANOVICH-BEILIN, O. et al. Assessment of Social Interaction Behaviors. **Journal of Visualized Experiments**, 2011.
- KALUEFF, A. V. et al. **Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience** **Nature Reviews Neuroscience**, 2016.
- KANDEL, E.; HYMAN, S.; COHEN, J. Transtornos do humor e ansiedade. In: **Princípios de Neurociências**. [s.l: s.n.]. p. 1222–1240.
- KARATAS, Y. et al. Effect of carvedilol on secondary damage in experimental spinal cord injury in rats. **Turkish Neurosurgery**, v. 25, n. 6, p. 930–935, 2015.
- KELLER, J. et al. HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. **Molecular Psychiatry**, v. 22, p. 527, 16 ago. 2016.
- KESSING, L. V.; WILLER, I. S.; KNORR, U. Volume of the adrenal and pituitary glands in depression. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, n. 1, p. 19–27, 2011.
- KESSLER, R. Epidemiology of women and depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 74, n. 1, p. 5–13, mar. 2003.
- KESSLER, R. C. et al. Lifetime Prevalence and Age-of-Onset Distributions of DSM-IV Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Archives of General Psychiatry**, v. 62, n. 6, p. 593, 2005.
- KESSLER, R. C. The Costs of Depression. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 35, n. 1, p. 1–14, 2012.
- KIM, G. H. et al. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. **Experimental Neurobiology**, 2015.
- KNOLLMANN, L. L. B. | B. A. C. | B. C. Tratamento farmacológico da depressão e dos transtornos de ansiedade. In: **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. [s.l: s.n.]. p. 2080.
- KOENIGS, M.; GRAFMAN, J. The functional neuroanatomy of depression: distinct roles for

- ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex. **Behavioural brain research**, 2009.
- KOO, P. C. et al. Combined cognitive, psychomotor and electrophysiological biomarkers in major depressive disorder. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, 2018.
- KOSHIMIZU, H.; LEITER, L. M.; MIYAKAWA, T. M 4muscarinic receptor knockout mice display abnormal social behavior and decreased prepulse inhibition. **Molecular Brain**, v. 5, n. 1, 2012.
- KRAEUTER, A.-K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. **Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols**, p. 105–111, 2019.
- KRONISH, I. M. et al. Persistent depression affects adherence to secondary prevention behaviors after acute coronary syndromes. **Journal of General Internal Medicine**, 2006.
- KUBERA, M. et al. Anti-inflammatory effects of antidepressants through suppression of the interferon- γ /interleukin-10 production ratio. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, 2001.
- KUDLOW, P. et al. Nitric Oxide and Major Depressive Disorder: Pathophysiology and Treatment Implications. **Current Molecular Medicine**, 2016.
- KUMAR, A.; DOGRA, S. Neuroprotective effect of carvedilol, an adrenergic antagonist against colchicine induced cognitive impairment and oxidative damage in rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 92, n. 1, p. 25–31, 2009.
- KUMAR, A.; DOGRA, S.; PRAKASH, A. Effect of carvedilol on behavioral, mitochondrial dysfunction, and oxidative damage against d-galactose induced senescence in mice. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, 2009.
- KUMAR, B.; KUHAD, A.; CHOPRA, K. Neuropsychopharmacological effect of sesamol in unpredictable chronic mild stress model of depression: Behavioral and biochemical evidences. **Psychopharmacology**, v. 214, n. 4, p. 819–828, 2011.
- KUPFERBERG, A.; BICKS, L.; HASLER, G. **Social functioning in major depressive disorder** **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2016.
- KUSTOVA, Y. et al. The influence of a targeted deletion of the IFN γ gene on emotional behaviors. **Brain, Behavior, and Immunity**, 1998.
- KWANT, A.; SAKIC, B. Behavioral effects of infection with interferon-gamma adenovector. **Behavioural Brain Research**, 2004.
- L. NETO, F. et al. Neurotrophins Role in Depression Neurobiology: A Review of Basic and Clinical Evidence. **Current Neuropharmacology**, 2011.
- LAM, R. W. et al. The effects of desvenlafaxine on neurocognitive and work functioning in

- employed outpatients with major depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, 2016.
- LANE, D. et al. The prevalence and persistence of depression and anxiety following myocardial infarction. **British Journal of Health Psychology**, 2002.
- LARA, A. H.; WALLIS, J. D. The Role of Prefrontal Cortex in Working Memory: A Mini Review. **Frontiers in Systems Neuroscience**, 2015.
- LEE, K. M.; KIM, Y. K. The role of IL-12 and TGF- β 1 in the pathophysiology of major depressive disorder. **International Immunopharmacology**, 2006.
- LEMELIN, S.; BARUCH, P. Clinical psychomotor retardation and attention in depression. **Journal of Psychiatric Research**, 1998.
- LEMKE, M. R. et al. Psychomotor retardation and anhedonia in depression. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, 1999.
- LENER, M. S. et al. Glutamate and Gamma-Aminobutyric Acid Systems in the Pathophysiology of Major Depression and Antidepressant Response to Ketamine. **Biological psychiatry**, 2017.
- LESCH, K. P. **Gene-environment interaction and the genetics of depression**. Journal of Psychiatry and Neuroscience. **Anais...**2004
- LEVY, M. J. F. et al. **Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression** **Psychopharmacology**, 2018.
- LI, T. et al. **Carvedilol for portal hypertension in cirrhosis: Systematic review with meta-analysis** **BMJ Open**, 2016.
- LI, Z. et al. **Prevalence of depression in patients with hypertension: A systematic review and meta-analysis** **Medicine (United States)**, 2015.
- LIBERG, B.; RAHM, C. **The functional anatomy of psychomotor disturbances in major depressive disorder** **Frontiers in Psychiatry**, 2015.
- LICHT, C. M. M. et al. The association between depressive disorder and cardiac autonomic control in adults 60 years and older. **Psychosomatic Medicine**, 2015.
- LIEBENBERG, N.; JOCA, S.; WEGENER, G. Nitric oxide involvement in the antidepressant-like effect of ketamine in the Flinders sensitive line rat model of depression. **Acta Neuropsychiatrica**, 2015.
- LIND, M. et al. **Inducible nitric oxide synthase: Good or bad?** **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 2017.
- LINDQVIST, D. et al. Oxidative stress, inflammation and treatment response in major depression. **Psychoneuroendocrinology**, 2017.
- LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**,

v. 92, n. 2, p. 180–185, 1987.

LITTELJOHN, D. et al. Interferon-gamma deficiency modifies the effects of a chronic stressor in mice: Implications for psychological pathology. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2010.

LITTELJOHN, D.; NELSON, E.; HAYLEY, S. IFN- \hat{I}^3 differentially modulates memory-related processes under basal and chronic stressor conditions. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, 2014.

LIU, J. et al. Resistin protection against endogenous A β neuronal cytotoxicity from mitochondrial pathway. **Brain Research**, 2013.

LIU, J.; WANG, M. Carvedilol protection against endogenous A β -induced neurotoxicity in N2a cells. **Cell Stress and Chaperones**, v. 23, n. 4, p. 695–702, 2018.

LIU, T. et al. A meta-analysis of oxidative stress markers in depression. **PLoS ONE**, 2015.

LIU, W. et al. The Role of Neural Plasticity in Depression: From Hippocampus to Prefrontal Cortex. **Neural Plasticity**, 2017.

LIU, Z. et al. Extract of sesame cake and sesamol alleviate chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors and memory deficits. **Journal of Functional Foods**, 2018.

LODDICK, S. A.; TURNBULL, A. V.; ROTHWELL, N. J. Cerebral interleukin-6 is neuroprotective during permanent focal cerebral ischemia in the rat. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 1998.

LOHOFF, F. W.; FERRARO, T. N. Pharmacogenetic considerations in the treatment of psychiatric disorders. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 11, n. 3, p. 423–39, 2010.

LÔO, H. et al. Antidepressants. History. **EMC - Psychiatrie**, v. 1, n. 4, p. 243–245, 2004.

LOPIZZO, N. et al. **Gene–Environment Interaction in Major Depression: Focus on Experience-Dependent Biological Systems** *Frontiers in Psychiatry* , 2015. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyt.2015.00068>>

LOPRESTI, A. L.; HOOD, S. D.; DRUMMOND, P. D. **A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: Diet, sleep and exercise***Journal of Affective Disorders*, 2013.

LOW, Y.; SETIA, S.; LIMA, G. **Drug–drug interactions involving antidepressants: Focus on desvenlafaxine***Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2018.

LU, Y. et al. Chronic administration of fluoxetine and pro-inflammatory cytokine change in a rat model of depression. **PLoS ONE**, 2017.

LUCASSEN, P. J. et al. Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. **American Journal of Pathology**, 2001.

LUZINA, I. G. et al. Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of “alternatives”.

Journal of Leukocyte Biology, 2012.

LYSKO, P. G. et al. Neuroprotective effects of carvedilol, a new antihypertensive agent, in cultured rat cerebellar neurons and in gerbil global brain ischemia. **Stroke; a journal of cerebral circulation**, v. 23, n. 11, p. 1630–5; discussion 1635-6, 1992.

LYSKO, P. G. et al. Neuroprotective effects of carvedilol, a new antihypertensive agent, in cultured rat cerebellar neurons and in gerbil global brain ischemia. **Stroke**, 2011.

MADRIGAL, J. L. M. et al. Glutathione depletion, lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction are induced by chronic stress in rat brain. **Neuropsychopharmacology**, 2001.

MAES, M. et al. Negative immunoregulatory effects of antidepressants inhibition of interferon- γ and stimulation of interleukin-10 secretion. **Neuropsychopharmacology**, 1999.

MAES, M. et al. **The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: Leads for future research and new drug developments in depression** **Metabolic Brain Disease**, 2009.

MAISONPIERRE, P. C. et al. NT-3, BDNF, and NGF in the developing rat nervous system: Parallel as well as reciprocal patterns of expression. **Neuron**, 1990.

MAO, Q. Q. et al. Protective effects of piperine against corticosterone-induced neurotoxicity in PC12 cells. **Cellular and Molecular Neurobiology**, 2012.

MAREČKOVÁ, K. et al. Perinatal stress and human hippocampal volume: Findings from typically developing young adults. **Scientific Reports**, 2018.

MARGATHO, R. O. et al. Beta-adrenergic antagonist prevents anxiety like behavior and natural killer cells migration to the spleen in a model of cohabitation with sick partners. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2015.

MARTÍ, O.; MARTÍ, J.; ARMARIO, A. Effects of chronic stress on food intake in rats: Influence of stressor intensity and duration of daily exposure. **Physiology and Behavior**, 1994.

MARTINEZ, D. M. et al. Antidepressant-like activity of dehydrozingerone: Involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2014.

MARTINOWICH, K.; LU, B. **Interaction between BDNF and serotonin: Role in mood disorders** **Neuropsychopharmacology**, 2008.

MATSUDA, S. et al. Interleukin-6 prevents ischemia-induced learning disability and neuronal and synaptic loss in gerbils. **Neuroscience Letters**, 1996.

MATTSON, M. P.; MAUDSLEY, S.; MARTIN, B. BDNF and 5-HT: A dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. **Trends in Neurosciences**, 2004.

MAURYA, P. K. et al. **The role of oxidative and nitrosative stress in accelerated aging and major depressive disorder** **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological**

Psychiatry, 2016.

MCCOY, C. R. et al. Genetic predisposition to high anxiety- and depression-like behavior coincides with diminished DNA methylation in the adult rat amygdala. **Behavioural Brain Research**, v. 320, p. 165–178, 1 mar. 2017.

MCEWEN, B. S.; SAPOLSKY, R. M. Stress and cognitive function. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 5, n. 2, p. 205–216, 1995.

MCINTOSH, L. J.; CORTOPASSI, K. M.; SAPOLSKY, R. M. Glucocorticoids may alter antioxidant enzyme capacity in the brain: kainic acid studies. **Brain Research**, 2002.

MCTAVISH, D.; CAMPOLI-RICHARDS, D.; SORKIN, E. M. Carvedilol: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy. **Drugs**, v. 45, n. 2, p. 232–258, 1993.

MEHTA, V.; PARASHAR, A.; UDAYABANU, M. Quercetin prevents chronic unpredictable stress induced behavioral dysfunction in mice by alleviating hippocampal oxidative and inflammatory stress. **Physiology and Behavior**, 2017.

MEIJER, A. et al. Prognostic association of depression following myocardial infarction with mortality and cardiovascular events: A meta-analysis of 25 years of research. **General Hospital Psychiatry**, 2011.

MEKIRI, M. et al. Chronic corticosterone administration effects on behavioral emotionality in female C57BL6 mice. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, 2017.

MELHEM, N. M. et al. Severity and Variability of Depression Symptoms Predicting Suicide Attempt in High-Risk Individuals. **JAMA Psychiatry**, 2019.

MÉNARD, C.; HODES, G. E.; RUSSO, S. J. **Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies** *Neuroscience*, 2016.

MENDES, E. D.; VIANA, T. DE C.; BARA, O. Melancolia e depressão: um estudo psicanalítico. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v. 30, n. 4, p. 423–431, 2015.

MIHAILOVA, S. et al. A study of TNF- α , TGF- β , IL-10, IL-6, and IFN- γ gene polymorphisms in patients with depression. **Journal of Neuroimmunology**, 2016.

MILLER, A. H.; MALETIC, V.; RAISON, C. L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biological psychiatry**, v. 65, n. 9, p. 732–41, maio 2009.

MILLER, A. H.; MALETIC, V.; RAISON, C. L. **Inflammation and its discontents: The role of cytokines in the pathophysiology of major depression** *Psiquiatria Biologica*, 2010.

MILLER, A. H.; RAISON, C. L. **Are anti-inflammatory therapies viable treatments for psychiatric disorders? Where the rubber meets the road** *JAMA Psychiatry*, 2015.

- MILLER, A. H.; RAISON, C. L. **The role of inflammation in depression: From evolutionary imperative to modern treatment target** *Nature Reviews Immunology*, 2016.
- MILLER, E. K.; COHEN, J. D. An integrative theory of prefrontal cortex function. **Annual review of neuroscience**, 2001.
- MINEUR, Y. S. et al. Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety- and depression-like behavior. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 9, p. 3573–8, 2013.
- MIRONCZUK-CHODAKOWSKA, I.; WITKOWSKA, A. M.; ZUJKO, M. E. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. **Advances in Medical Sciences**, 2018.
- MISRI, S. et al. Overcoming functional impairment in postpartum depressed or anxious women: a pilot trial of desvenlafaxine with flexible dosing. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, 2016.
- MOLINA, M. R. A. L. et al. Prevalence of comorbidities between mood and anxiety disorders: associated factors in a population sample of young adults in southern Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, 2014.
- MOLTENI, R. et al. Chronic mild stress modulates activity-dependent transcription of BDNF in rat hippocampal slices. **Neural Plasticity**, 2016.
- MONROE, S. M.; ANDERSON, S. F. Depression: The Shroud of Heterogeneity. **Current Directions in Psychological Science**, v. 24, n. 3, p. 227–231, 2015.
- MONTEIRO, S. et al. An efficient chronic unpredictable stress protocol to induce stress-related responses in C57BL/6 mice. **Frontiers in Psychiatry**, 2015.
- MOREIRA, F. P. et al. The Met allele of BDNF Val66Met polymorphism is associated with increased BDNF levels in generalized anxiety disorder. **Psychiatric Genetics**, 2015.
- MOREIRA, V.; TELLES, T. C. B. Experiências do estigma na depressão: um estudo transcultural. **Psico-USF**, v. 13, n. 2, p. 233–241, 2017.
- MOREY, R. et al. Neuro-correlates of maltreated youth with and resilient to posttraumatic stress disorder. **53rd Annual Meeting of the American College of Neuropsychopharmacology, ACNP 2014 Phoenix, AZ United States**, 2014.
- MORI, N.; CABALLERO, J. Natural history of depression. **Revista Peruana de Epidemiología**, ISSN-e 1609-7211, Vol. 14, Nº. 2, 2010, 5 págs., v. 14, n. 2, p. 1–5, 2010.
- MORIMOTO, M. et al. Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: An immunohistochemical and in situ hybridization study. **Neuroscience Research**, 1996.
- MOSHE, H. et al. Prelimbic Stimulation Ameliorates Depressive-Like Behaviors and Increases

Regional BDNF Expression in a Novel Drug-Resistant Animal Model of Depression. **Brain Stimulation**, 2016.

MOYLAN, S. et al. Oxidative & nitrosative stress in depression: why so much stress? **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 45, p. 46–62, set. 2014.

MULA, M. **Depression in epilepsy** *Current Opinion in Neurology*, 2017.

MÜLLER, N. et al. **The role of inflammation in schizophrenia** *Frontiers in Neuroscience*, 2015.

MUSCAT, R.; WILLNER, P. Suppression of sucrose drinking by chronic mild unpredictable stress: A methodological analysis. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 16, n. 4, p. 507–517, 1992.

NADEEM, A. et al. IL-17A causes depression-like symptoms via NFκB and p38MAPK signaling pathways in mice: Implications for psoriasis associated depression. **Cytokine**, 2017.

NAIDU, P. S.; SINGH, A.; KULKARNI, S. K. Carvedilol attenuates neuroleptic-induced orofacial dyskinesia: Possible antioxidant mechanisms. **British Journal of Pharmacology**, v. 136, n. 2, p. 193–200, 2002.

NESTLER, E. J. et al. **Neurobiology of depression** *Neuron*, 2002.

NESTLER, E. J.; HYMAN, S. E. **Animal models of neuropsychiatric disorders** *Nature Neuroscience*, 2010.

NG, F. et al. **Oxidative stress in psychiatric disorders: Evidence base and therapeutic implications** *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2008.

NICHOLSON, A.; KUPER, H.; HEMINGWAY, H. Depression as an aetiologic and prognostic factor in coronary heart disease: a meta-analysis of 6362 events among 146 538 participants in 54 observational studies. **European heart journal**, 2006.

NIH. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals- Institute of Laboratory Animal Research- National Research Council. **National Academies Press**, 1996.

NILSSON, A. S. et al. Neurotrophin-7: A novel member of the neurotrophin family from the zebrafish. **FEBS Letters**, 1998.

NINAN, P. T. et al. BDNF, interleukin-6, and salivary cortisol levels in depressed patients treated with desvenlafaxine. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 48, p. 86–91, 3 jan. 2014.

NOGUCHI, N.; NISHINO, K.; NIKI, E. Antioxidant action of the antihypertensive drug, carvedilol, against lipid peroxidation. **Biochemical Pharmacology**, v. 59, n. 9, p. 1069–1076, 2000.

NOTARAS, M. et al. The BDNF Val66Met polymorphism regulates glucocorticoid-induced

- corticohippocampal remodeling and behavioral despair. **Translational psychiatry**, 2017.
- NUTT, D. J. Relationship of neurotransmitters to the symptoms of major depressive disorder. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 69 Suppl E, p. 4–7, 2008.
- ODAKA, H.; ADACHI, N.; NUMAKAWA, T. **Impact of glucocorticoid on neurogenesis** **Neural Regeneration Research**, 2017.
- OGYU, K. et al. **Kynurenine pathway in depression: A systematic review and meta-analysis** **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2018.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979.
- OLAPOUR, S. et al. Role of antioxidant property of carvedilol in mild to moderate hypertensive patients: A prospective open-label study. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 48, n. 4, p. 372, 2016.
- OLDEHINKEL, A. J. et al. Urinary free cortisol excretion in elderly persons with minor and major depression. **Psychiatry Research**, 2001.
- OLIVEIRA, T. DE Q. et al. Brain antioxidant effect of mirtazapine and reversal of sedation by its combination with alpha-lipoic acid in a model of depression induced by corticosterone. **Journal of Affective Disorders**, 2017.
- ORDWAY, G. A.; KLIMEK, V. **Noradrenergic pathology in psychiatric disorders: Postmortem studies** **CNS Spectrums**, 2001.
- ÖZSOY, A. Z. et al. Effects of carvedilol on an ischemia/reperfusion model: Biochemical, histopathological and immunohistochemical evaluation. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 42, n. 9, p. 1132–1140, 1 set. 2016.
- PABBA, M.; SIBILLE, E. GABA, Depression and Suicide. **Advances in Biological Psychiatry**, 2015.
- PAGLIACCIO, D. et al. Amygdala functional connectivity, HPA axis genetic variation, and life stress in children and relations to anxiety and emotion regulation. **Journal of Abnormal Psychology**, 2015.
- PAL, S. N.; DANDIYA, P. C. Glutathione as a cerebral substrate in depressive behavior. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 1994.
- PALLAVI, P. et al. Serum neurotrophic factors in adolescent depression: gender difference and correlation with clinical severity. **Journal of affective disorders**, v. 150, n. 2, p. 415–23, 5 set. 2013.
- PAN, B.; LIU, Y. Effects of duloxetine on microRNA expression profile in frontal lobe and hippocampus in a mouse model of depression. **International Journal of Clinical and**

Experimental Pathology, 2015.

PANDEY, S. C. et al. β -Adrenergic receptor subtypes in stress-induced behavioral depression.

Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 1995.

PAPAKOSTAS, G. I. Major depressive disorder: psychosocial impairment and key considerations in functional improvement. **The American journal of managed care**, 2009.

PARÉ, W. P.; GLAVIN, G. B. Restraint stress in biomedical research: A review. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 1986.

PARIANTE, C. M. et al. The antidepressant clomipramine regulates cortisol intracellular concentrations and glucocorticoid receptor expression in fibroblasts and rat primary neurones.

Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, v. 28, n. 9, p. 1553–61, 2003.

PARIANTE, C. M. **Why are depressed patients inflamed? A reflection on 20 years of research on depression, glucocorticoid resistance and inflammation** **European Neuropsychopharmacology**, 2017.

PARK, H.-J. et al. IL-4 Inhibits IL-1 β -Induced Depressive-Like Behavior and Central Neurotransmitter Alterations . **Mediators of Inflammation**, 2015.

PARK, L. T.; ZARATE, C. A. Depression in the Primary Care Setting. **New England Journal of Medicine**, v. 380, n. 6, p. 559–568, 6 fev. 2019.

PATEL, M. **Targeting Oxidative Stress in Central Nervous System Disorders** **Trends in Pharmacological Sciences**, 2016.

PENG, S. et al. BDNF as a biomarker in diagnosis and evaluation of treatment for schizophrenia and depression. **Discovery medicine**, 2018.

PENKOWA, M. et al. Interleukin-6 deficiency reduces the brain inflammatory response and increases oxidative stress and neurodegeneration after kainic acid-induced seizures. **Neuroscience**, 2001.

PENNINX, B. W. J. H. **Depression and cardiovascular disease: Epidemiological evidence on their linking mechanisms** **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2017.

PEREIRA, A. M.; TIEMENSMA, J.; ROMIJN, J. A. **Neuropsychiatric disorders in Cushing's syndrome**. *Neuroendocrinology*. **Anais...**2010

PERRY, R.; CASSAGNOL, M. **Desvenlafaxine: A new serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor for the treatment of adults with major depressive disorder** **Clinical Therapeutics**, 2009.

PIGOTT, H. E. **The STAR*D trial: It is time to reexamine the clinical beliefs that guide the treatment of major depression** **Canadian Journal of Psychiatry**, 2015.

- PISOSCHI, A. M.; POP, A. **The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review** *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015.
- PITTENGER, C.; DUMAN, R. S. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, v. 33, n. 1, p. 88–109, 2008.
- PLUCHINO, N. et al. Steroid hormones and BDNF. *Neuroscience*, v. 239, p. 271–9, 3 jun. 2013.
- POLYAKOVA, M. et al. **BDNF as a biomarker for successful treatment of mood disorders: A systematic & quantitative meta-analysis** *Journal of Affective Disorders*, 2015.
- POPOVA, N. K.; ILCHIBAEVA, T. V.; NAUMENKO, V. S. Neurotrophic factors (BDNF and GDNF) and the serotonergic system of the brain. *Biochemistry (Moscow)*, 2017.
- POPOVA, N. K.; NAUMENKO, V. S. Neuronal and behavioral plasticity: the role of serotonin and BDNF systems tandem. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2019.
- PORGES, S. W. **The polyvagal theory: Phylogenetic substrates of a social nervous system.** *International Journal of Psychophysiology. Anais...*2001
- PRAKASH, A. K.; KUMAR, A. Effect of chronic treatment of carvedilol on oxidative stress in an intracerebroventricular streptozotocin induced model of dementia in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 61, n. 12, p. 1665–1672, 2009.
- PRAVALIKA, K. et al. Myeloperoxidase and Neurological Disorder: A Crosstalk. *ACS Chemical Neuroscience*, 2018.
- PREGELJ, P. et al. The association between brain-derived neurotrophic factor polymorphism (BDNF Val66Met) and suicide. *Journal of Affective Disorders*, 2011.
- PRIGGE, R.; JACKSON, C. **P43 The association between depression and subsequent hypertension—a systematic review and meta-analysis.** 2018
- PYTKA, K. et al. **The role of serotonergic, adrenergic and dopaminergic receptors in antidepressant-like effect** *Pharmacological Reports*, 2016.
- RABASA, C.; DICKSON, S. L. **Impact of stress on metabolism and energy balance** *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 2016.
- RACAGNI, G.; POPOLI, M. The pharmacological properties of antidepressants. *Int Clin Psychopharmacol*, v. 25, n. 3, p. 117–131, 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 Research Bulletin*, v. 67, n. 1, p. 133–141, 2005.
- RAE, C. D.; WILLIAMS, S. R. Glutathione in the human brain: Review of its roles and

- measurement by magnetic resonance spectroscopy. **Analytical Biochemistry**, 2017.
- RAISON, C. L.; CAPURON, L.; MILLER, A. H. **Cytokines sing the blues: Inflammation and the pathogenesis of depression***Trends in Immunology*, 2006.
- RAMADAM, Z. B. A. Depressão: da bile negra aos neuro-transmissores. Uma introdução histórica. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 32, n. 6, p. 343–344, 2006.
- RAVNKILDE, B. et al. Cognitive deficits in major depression. **Scandinavian Journal of Psychology**, 2002.
- RAY, R. S.; KATYAL, A. **Myeloperoxidase: Bridging the gap in neurodegeneration***Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2016.
- REDDY, S. et al. The effect of desvenlafaxine on cognitive functioning in employed outpatients with major depressive disorder: A substudy of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of Psychopharmacology**, 2016.
- REEVES, S. L. et al. M-Track: A New Software for Automated Detection of Grooming Trajectories in Mice. **PLoS Computational Biology**, 2016.
- RIECKMANN, N. et al. Serotonin Reuptake Inhibitor Use, Depression, and Long-Term Outcomes After an Acute Coronary Syndrome: A Prospective Cohort Study. **JAMA Internal Medicine**, 2013.
- RIVERO, G. et al. Increased $\alpha 2$ - and $\beta 1$ -adrenoceptor densities in postmortem brain of subjects with depression: Differential effect of antidepressant treatment. **Journal of Affective Disorders**, 2014.
- RIZVI, S. J. et al. **Assessing anhedonia in depression: Potentials and pitfalls***Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2016.
- RIZVI, S. J.; LAMBERT, C.; KENNEDY, S. **Presentation and Neurobiology of Anhedonia in Mood Disorders: Commonalities and Distinctions***Current Psychiatry Reports*, 2018.
- ROBINSON-SMITH, G.; JOHNSTON, M. V.; ALLEN, J. Self-care self-efficacy, quality of life, and depression after stroke. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, 2000.
- ROSENTHAL, J. Z. et al. Efficacy and safety of desvenlafaxine 50 mg/d for prevention of relapse in major depressive disorder: A randomized controlled trial. **Journal of Clinical Psychiatry**, 2013.
- RUO, B. et al. Depressive Symptoms and Health-Related Quality of Life: The Heart and Soul Study. **Journal of the American Medical Association**, 2003.
- RUTLEDGE, T. et al. **Depression in Heart Failure. A Meta-Analytic Review of Prevalence, Intervention Effects, and Associations With Clinical Outcomes***Journal of the American College of Cardiology*, 2006.

- SALEHI, I. et al. Electroconvulsive therapy and aerobic exercise training increased BDNF and ameliorated depressive symptoms in patients suffering from treatment-resistant major depressive disorder. **Journal of psychiatric research**, v. 57, p. 117–24, out. 2014.
- SALIM, S. Oxidative Stress and the Central Nervous System. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 2016.
- SANACORA, G.; TRECCANI, G.; POPOLI, M. **Towards a glutamate hypothesis of depression: An emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders.** *Neuropharmacology. Anais...*2012
- SANCHEZ-GONZALEZ, M. A. et al. Sympathetic vasomotor tone is associated with depressive symptoms in young females: A potential link between depression and cardiovascular disease. **American Journal of Hypertension**, 2013.
- SANDI, C.; HALLER, J. **Stress and the social brain: Behavioural effects and neurobiological mechanisms** *Nature Reviews Neuroscience*, 2015.
- SANSONE, R. A.; SANSONE, L. A. Serotonin norepinephrine reuptake inhibitors: a pharmacological comparison. **Innovations in clinical neuroscience**, v. 11, n. 3–4, p. 37–42, 2014.
- SANTOS, L. E.; BECKMAN, D.; FERREIRA, S. T. Microglial dysfunction connects depression and Alzheimer's disease. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 55, p. 151–165, 2016.
- SAPOLSKY, R. M. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. **Archives of general psychiatry**, v. 57, n. 10, p. 925–935, 2000.
- SARIS, I. M. J. et al. Social functioning in patients with depressive and anxiety disorders. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, 2017.
- SARTER, M.; BODEWITZ, G.; STEPHENS, D. N. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist β -carbolines. **Psychopharmacology**, v. 94, n. 4, p. 491–495, 1988.
- SASI, M. et al. **Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling** *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 2017.
- SAVITZ, S. I. et al. The Novel β -Blocker, Carvedilol, Provides Neuroprotection in Transient Focal Stroke. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 20, n. 8, p. 1197–1204, 31 ago. 2000.
- SCHILDKRAUT, J. J. **The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence.** *The American journal of psychiatry*, 1965.
- SCHMIDT, F. M. et al. Cytokine levels in depressed and non-depressed subjects, and masking effects of obesity. **Journal of Psychiatric Research**, 2014.

- SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of Total, Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192–205, 1968.
- SEIBENHENER, M. L.; WOOTEN, M. C. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. **Journal of Visualized Experiments**, 2015.
- SELEK, S. et al. Oxidative markers of myeloperoxidase and catalase and their diagnostic performance in bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**, 2015.
- SELIGMAN, F.; NEMEROFF, C. B. The interface of depression and cardiovascular disease: Therapeutic implications. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 2015.
- SEO, H. J. et al. **Desvenlafaxine succinate: A newer antidepressant for the treatment of depression and somatic symptoms** *Postgraduate Medicine*, 2010.
- SERAFINI, G.; AMORE, M.; RIHMER, Z. The role of glutamate excitotoxicity and neuroinflammation in depression and suicidal behavior: focus on microglia cells. **Neuroimmunology and Neuroinflammation**, 2015.
- SHELIN, Y. I. et al. Treatment course with antidepressant therapy in late-life depression. **American Journal of Psychiatry**, 2012.
- SHELTON, R. C.; MILLER, A. H. **Eating ourselves to death (and despair): The contribution of adiposity and inflammation to depression** *Progress in Neurobiology*, 2010.
- SHERWIN, R. S.; SACCA, L. Effect of epinephrine on glucose metabolism in humans: contribution of the liver. **The American journal of physiology**, 1984.
- SIDDIQUI, S. et al. Neuropsychology of prefrontal cortex. **Indian Journal of Psychiatry**, 2008.
- SIES, H. **Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine** *Redox Biology*, 2015.
- SILVA, L. D. S. et al. A reforma psiquiátrica e os cuidados de enfermagem na saúde mental. **Revista Remecs - Revista Multidisciplinar de Estudos Científicos em Saúde**, p. 4, 2018.
- SILVA, M. C. C. et al. Augmentation therapy with alpha-lipoic acid and desvenlafaxine: a future target for treatment of depression? **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 386, n. 8, p. 685–95, ago. 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 Archives of Pharmacology**, v. 386, n. 8, p. 685–695, ago. 2013b.
- SILVA, M. C. C. et al. Evidence for protective effect of lipoic acid and desvenlafaxine on oxidative stress in a model depression in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 64, p. 142–148, 2016.
- SILVERMAN, M. N.; STERNBERG, E. M. **Glucocorticoid regulation of inflammation and**

its functional correlates: From HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction*Annals of the New York Academy of Sciences*, 2012.

SINGH, M. K.; GOTLIB, I. H. The neuroscience of depression: Implications for assessment and intervention. **Behaviour Research and Therapy**, 2014.

SINGHAL, G.; BAUNE, B. T. Microglia: An Interface between the Loss of Neuroplasticity and Depression. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, 2017.

SIUDA, J. et al. Cognitive impairment and BDNF serum levels. **Neurologia i Neurochirurgia Polska**, 2017.

SLAVICH, G. M.; IRWIN, M. R. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. **Psychological bulletin**, 2014.

SMITH, H. R. Depression in cancer patients: Pathogenesis, implications and treatment (review). **Oncology Letters**, v. 9, n. 4, p. 1509–1514, 2015.

SMITH, R. S. The macrophage theory of depression. **Medical hypotheses**, 1991.

SOFRONIEW, M. V. **Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation***Nature Reviews Neuroscience*, 2015.

SOLEDAD CEPEDA, M.; STANG, P.; MAKADIA, R. Depression is associated with high levels of c-reactive protein and low levels of fractional exhaled nitric oxide: Results from the 2007-2012 national health and nutrition examination surveys. **Journal of Clinical Psychiatry**, 2016.

SONG, C.; BERRIDGE, K. C.; KALUEFF, A. V. “Stressing” rodent self-grooming for neuroscience research. **Nature Reviews Neuroscience**, 2016.

SONG, P. et al. **Abnormal kynurenine pathway of tryptophan catabolism in cardiovascular diseases***Cellular and Molecular Life Sciences*, 2017.

SONINO, N.; FALLO, F.; FAVA, G. A. **Psychosomatic aspects of Cushing’s syndrome***Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2010.

SOUSA, C. N. S. D. et al. Reversal of corticosterone-induced BDNF alterations by the natural antioxidant alpha-lipoic acid alone and combined with desvenlafaxine: Emphasis on the neurotrophic hypothesis of depression. **Psychiatry Research**, v. 230, n. 2, 2015a.

SOUSA, C. N. S. DE et al. Reversal of corticosterone-induced BDNF alterations by the natural antioxidant alpha-lipoic acid alone and combined with desvenlafaxine: Emphasis on the neurotrophic hypothesis of depression. **Psychiatry Research**, v. 230, n. 2, p. 211–219, 2015b.

SOUTHWICK, S. M.; VYTHILINGAM, M.; CHARNEY, D. S. The Psychobiology of Depression and Resilience to Stress: Implications for Prevention and Treatment. **Annual Review of Clinical Psychology**, 2005.

- SOUZA, T. DE; LACERDA, A. DE. Depressão ao longo da história. **Depressão: teoria e clínica**, p. 17–28, 2013.
- SPELLMAN, T. et al. Hippocampal-prefrontal input supports spatial encoding in working memory. **Nature**, 2015.
- SPOOREN, A. et al. **Interleukin-6, a mental cytokine***Brain Research Reviews*, 2011.
- SRINIVASAN, A. Propranolol: A 50-year historical perspective. **Annals of Indian Academy of Neurology**, 2018.
- STAHL, S. M. **Psicofarmacologia: bases neurocientíficas e aplicações práticas**. [s.l.: s.n.].
- STANTON, C. H. et al. **From Stress to Anhedonia: Molecular Processes through Functional Circuits***Trends in Neurosciences*, 2019.
- STEIN, D. J. Depression, anhedonia, and psychomotor symptoms: The role of dopaminergic neurocircuitry. **CNS Spectrums**, 2008.
- STERNER, E. Y.; KALYNCHUK, L. E. **Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: Relevance to depression***Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2010.
- STERU, L. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, p. 367–370, 1985.
- SUBLETTE, M. E.; POSTOLACHE, T. T. **Neuroinflammation and depression: The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) as a molecular pathway***Psychosomatic Medicine*, 2012.
- SUN, X. et al. Melatonin produces a rapid onset and prolonged efficacy in reducing depression-like behaviors in adult rats exposed to chronic unpredictable mild stress. **Neuroscience Letters**, 2017.
- SZESZKO, P. R.; LEHRNER, A.; YEHUDA, R. **Glucocorticoids and Hippocampal Structure and Function in PTSD***Harvard Review of Psychiatry*, 2018.
- TADOLINI, B.; FRANCONI, F. Carvedilol inhibition of lipid peroxidation. A new antioxidative mechanism. **Free Radical Research**, v. 29, n. 5, p. 377–387, jan. 1998.
- TALAROWSKA, M.; SZEMRAJ, J.; GAŁECKI, P. Myeloperoxidase gene expression and cognitive functions in depression. **Advances in Medical Sciences**, 2015.
- TANAKA, K. F. et al. Existence of functional β 1- and β 2-adrenergic receptors on microglia. **Journal of Neuroscience Research**, 2002.
- TASSET, I. et al. Neuroprotective effect of carvedilol and melatonin on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in neuroblastoma. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 65, n. 3, p. 291–296, set. 2009.

- TEIXEIRA, M. A. R.; HASHIMOTO, F. Da Melancolia À Depressão: Genialidade Versus Loucura. “**Psicanálise e Subjetividade: práticas clínicas e educacionais**”, p. 9, 2006.
- THEODOR, M. et al. Increased Cortisol Levels in Depression: A Comparative Study Evaluating the Correlation of Hypercortisolemia with Prosocial Coping Mechanisms. **Acta Medica Marisiensis**, 2016.
- THOMAS-OLLIVIER, V. et al. Cognitive component of psychomotor retardation in unipolar and bipolar depression: Is verbal fluency a relevant marker? Impact of repetitive transcranial stimulation. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, 2017.
- THOMSON, F.; CRAIGHEAD, M. Innovative Approaches for the Treatment of Depression: Targeting the HPA Axis. **Neurochemical Research**, v. 33, n. 4, p. 691–707, 2008.
- TOULMOND, S. et al. Local infusion of interleukin-6 attenuates the neurotoxic effects of NMDA on rat striatal cholinergic neurons. **Neuroscience Letters**, 1992.
- TOYODA, A. **Social defeat models in animal science: What we have learned from rodent models** *Animal Science Journal*, 2017.
- TOZZI, L. et al. Single-Nucleotide Polymorphism of the FKBP5 Gene and Childhood Maltreatment as Predictors of Structural Changes in Brain Areas Involved in Emotional Processing in Depression. **Neuropsychopharmacology**, 2016.
- TREADWAY, M. T. et al. Illness progression, recent stress, and morphometry of hippocampal subfields and medial prefrontal cortex in major depression. **Biological Psychiatry**, 2015.
- TSAO, C. W. et al. Serotonin transporter mRNA expression is decreased by lamivudine and ribavirin and increased by interferon in immune cells. **Scandinavian Journal of Immunology**, 2006.
- TYNAN, R. J. et al. Chronic stress alters the density and morphology of microglia in a subset of stress-responsive brain regions. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 24, n. 7, p. 1058–1068, 2010.
- UINT, L. et al. Increased levels of plasma IL-1b and BDNF can predict resistant depression patients. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 2019.
- ULRICH-LAI, Y. M. et al. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 2006.
- VACCARINO, V. et al. Association of Major Depressive Disorder with Serum Myeloperoxidase and Other Markers of Inflammation: A Twin Study. **Biological Psychiatry**, 2008.
- VALLÈS, A. et al. Single exposure to stressors causes long-lasting, stress-dependent reduction

of food intake in rats. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, 2000.

VAN DER KOOY, K. et al. **Depression and the risk for cardiovascular diseases: Systematic review and meta analysis** *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 2007.

VAN EEKELEN, J. A. M. et al. Distribution of the mineralocorticoid and the glucocorticoid receptor mRNAs in the rat hippocampus. **Journal of Neuroscience Research**, 1988.

VAN VELZEN, L. S. et al. Oxidative stress and brain morphology in individuals with depression, anxiety and healthy controls. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, 2017.

VEIGA, E. V. et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA**, v. 107, n. 3, p. 83–89, 2016.

VERDUIJN, J. et al. Pathophysiology of major depressive disorder: Mechanisms involved in etiology are not associated with clinical progression. **Translational Psychiatry**, 2015.

VETULANI, J. Early maternal separation: A rodent model of depression and a prevailing human condition. **Pharmacological Reports**, 2013.

VINBERG, M. et al. The BDNF Val66Met polymorphism: Relation to familiar risk of affective disorder, BDNF levels and salivary cortisol. **Psychoneuroendocrinology**, 2009.

VINCKIER, F.; GOURION, D.; MOUCHABAC, S. Anhedonia predicts poor psychosocial functioning: Results from a large cohort of patients treated for major depressive disorder by general practitioners. **European Psychiatry**, 2017.

VYAS, S. et al. Chronic Stress and Glucocorticoids: From Neuronal Plasticity to Neurodegeneration. **Neural Plasticity**, 2016.

WANG, J. et al. Carvedilol as a potential novel agent for the treatment of Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 32, n. 12, p. 2321.e1-2321.e12, 2011.

WANG, J. et al. Desvenlafaxine prevents white matter injury and improves the decreased phosphorylation of the rate-limiting enzyme of cholesterol synthesis in a chronic mouse model of depression. **Journal of neurochemistry**, v. 131, n. 2, p. 229–38, out. 2014.

WANG, Q. et al. Glucocorticoid receptor protein expression in human hippocampus; stability with age. **Neurobiology of Aging**, 2013.

WATANABE, K. et al. Effect of antidepressants on brain-derived neurotrophic factor (BDNF) release from platelets in the rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, 2010.

WEST, D.; MAES, M. **Major depression and activation of the inflammatory response system** *Ceska a Slovenska Psychiatrie*, 1999.

- WHO. Depression: let's talk says who, as depression tops list of causes of ill health. **World Health Organization**, p. 4–6, 2017.
- WHOOLEY, M. A et al. and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Coronary Heart Disease. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, 2008.
- WICHERS, M.; MAES, M. **The psychoneuroimmuno-pathophysiology of cytokine-induced depression in humans***International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2002.
- WILLNER, P. et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. **Psychopharmacology**, v. 93, n. 3, p. 358–364, 1987.
- WILLNER, P. **Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation***Psychopharmacology*, 1997.
- WILLNER, P. **Chronic mild stress (CMS) revisited: Consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS***Neuropsychobiology*, 2005.
- WILLNER, P. **The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage***Neurobiology of Stress*, 2017a.
- WILLNER, P. Reliability of the chronic mild stress model of depression: A user survey. **Neurobiology of Stress**, 2017b.
- WILLNER, P.; JONES, C. Effects of mood manipulation on subjective and behavioural measures of cigarette craving. **Behavioural Pharmacology**, v. 7, n. 8, p. 355–363, 1996.
- WOLF, J.; ROSE-JOHN, S.; GARBERS, C. **Interleukin-6 and its receptors: a highly regulated and dynamic system***Cytokine*, 2014.
- WOOK KOO, J. et al. Essential Role of Mesolimbic Brain-Derived Neurotrophic Factor in Chronic Social Stress–Induced Depressive Behaviors. **Biological Psychiatry**, v. 80, n. 6, p. 469–478, 15 set. 2016.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Suicide Data**. Disponível em: <http://www.who.int/mental_health/prevention/suicide/suicideprevent/en/>.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression: Fact sheet***European Brain Council*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>.
- WU, J. R. et al. Medication adherence, social support, and event-free survival in patients with heart failure. **Health Psychology**, 2013.
- WU, Y.; XU, Q.; SONG, W. Oxidative stress and Alzheimer's disease. In: **Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants**. [s.l: s.n.].
- WYETH PHARMACEUTICALS. Pristiq - FDA prescribing information, side effects and uses. **Breast**, 2013.

- XUE, J. et al. L-Menthone confers antidepressant-like effects in an unpredictable chronic mild stress mouse model via NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory cytokines and central neurotransmitters. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2015.
- YALCIN, I.; AKSU, F.; BELZUNG, C. Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol. **European Journal of Pharmacology**, v. 514, n. 2–3, p. 165–174, 2005.
- YAMADA, M.; HATANAKA, H. Interleukin-6 protects cultured rat hippocampal neurons against glutamate-induced cell death. **Brain Research**, 1994.
- YAP, Y. W.; WHITEMAN, M.; CHEUNG, N. S. **Chlorinative stress: An under appreciated mediator of neurodegeneration? Cellular Signalling**, 2007.
- YIN, H. et al. A pilot integrative genomics study of GABA and glutamate neurotransmitter systems in suicide, suicidal behavior, and major depressive disorder. **American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics**, 2016.
- YIRMIYA, R.; RIMMERMAN, N.; RESHEF, R. **Depression as a Microglial Disease Trends in Neurosciences**, 2015.
- YOU, J.-M. et al. Mechanism of glucocorticoid-induced oxidative stress in rat hippocampal slice cultures. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, 2009.
- YOUNG, C. B. et al. Anhedonia and general distress show dissociable ventromedial prefrontal cortex connectivity in major depressive disorder. **Translational psychiatry**, 2016a.
- YOUNG, K. D. et al. Kynurenine pathway metabolites are associated with hippocampal activity during autobiographical memory recall in patients with depression. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2016b.
- YOUSSEF, M. M. et al. Association of BDNF Val66MET polymorphism and brain BDNF levels with major depression and suicide. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, 2018.
- YU, H. et al. Variant Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met Polymorphism Alters Vulnerability to Stress and Response to Antidepressants. **Journal of Neuroscience**, 2012.
- YUE, T. L. et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta-adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 263, n. 1, 1992a.
- YUE, T. L. et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 263, n. 1, p. 92–98, 1992b.
- YUE, T. L. et al. Carvedilol, a new beta-adrenoceptor antagonist and vasodilator

antihypertensive drug, inhibits superoxide release from human neutrophils. **European journal of pharmacology**, v. 214, n. 2–3, p. 277–80, abr. 1992c.

YUE, T. L. et al. Carvedilol, a new antihypertensive agent, prevents lipid peroxidation and oxidative injury to endothelial cells. **Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)**, v. 22, n. 6, p. 922–8, dez. 1993.

YUEN, E. Y. et al. Repeated Stress Causes Cognitive Impairment by Suppressing Glutamate Receptor Expression and Function in Prefrontal Cortex. **Neuron**, 2012.

Z., L. et al. Prevalence of depression in patients with hypertension: A systematic review and meta-analysis. **Medicine (United States)**, v. 94, n. 31, 2015.

ZAFIR, A.; ARA, A.; BANU, N. In vivo antioxidant status: A putative target of antidepressant action. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, 2009.

ZHANG, C.; KALUEFF, A. V.; SONG, C. Minocycline ameliorates anxiety-related self-grooming behaviors and alters hippocampal neuroinflammation, GABA and serum cholesterol levels in female Sprague-Dawley rats subjected to chronic unpredictable mild stress. **Behavioural Brain Research**, 2019.

ZHANG, J.-C.; YAO, W.; HASHIMOTO, K. Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF)-TrkB Signaling in Inflammation-related Depression and Potential Therapeutic Targets. **Current neuropharmacology**, 2016.

ZHANG, J. C. et al. Blockade of interleukin-6 receptor in the periphery promotes rapid and sustained antidepressant actions: a possible role of gut-microbiota-brain axis. **Translational psychiatry**, 2017.

ZHAO, M. et al. **BDNF Val66Met polymorphism, life stress and depression: A meta-analysis of gene-environment interaction** *Journal of Affective Disorders*, 2017.

ZHOU, C. et al. Meta-analyses of comparative efficacy of antidepressant medications on peripheral BDNF concentration in patients with depression. **PLoS ONE**, 2017.

ZHU, H. et al. Lack of β 2-AR Increases Anxiety-Like Behaviors and Rewarding Properties of Cocaine. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, 2017.

ZORN, J. V. et al. **Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis** *Psychoneuroendocrinology*, 2017.

ZUARDI, A. W. **Fisiologia do estresse e sua influência na saúde**. Disponível em: <fmrp.usp.br/~psicmed/doc/Fisiologia%20do%20estresse.pdf>. Acesso em: 23 de março de 2013.

ZUCCATO, C.; CATTANEO, E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. **Nature reviews. Neurology**, v. 5, n. 6, p. 311–22, jun. 2009.

ZUO, H. et al. Plasma Biomarkers of Inflammation, the Kynurenine Pathway, and Risks of All-Cause, Cancer, and Cardiovascular Disease Mortality: The Hordaland Health Study. **American Journal of Epidemiology**, 2016.

ANEXO

ANEXO A - Declaração de aprovação do comitê de ética em pesquisa animal



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 – Rodolfo Teófilo
Cep: 60430970 Fortaleza – CE

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “ESTUDO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO DO CARVEDILOL EM MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR ESTRESSE CRÔNICO IMPREVISÍVEL”, protocolo 26/17, sob responsabilidade da Profa. Dra. Silvania Maria Mendes Vasconcelos, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização, pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de nº 8 de outubro de 2008, do Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UFC) da Universidade Federal do Ceará, em reunião em 12 de dezembro de 2017.

Vigência do projeto	01/04/2017 à 01/04/2019
Espécie/Linhagem	Camundongo Swiss
Nº de Animais	230
Peso	30 – 32 g
Sexo	Fêmeas
Origem	Biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da UFC

Fortaleza, 13 de dezembro de 2017.

Alexandre Havt Bindá

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá

COORDENADOR DA COMISSÃO DE ÉTICA EM ANIMAIS - CEUA/UFC

ALEXANDRE HAVT BINDÁ

COORDENADOR DA COMISSÃO DE ÉTICA EM ANIMAIS - CEUA/UFC - MATRÍCULA SIAPE: 1666