



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

CARLOS EDUARDO DE SOUZA MENEZES

ALTERAÇÕES COGNITIVAS E NEUROQUÍMICAS PELO
USO CRÔNICO DE MONOTERAPIA E TERAPIA
COMBINADA DE ANTIDEPRESSIVOS EM RATOS

FORTALEZA

2012

CARLOS EDUARDO DE SOUZA MENEZES

**ALTERAÇÕES COGNITIVAS E NEUROQUÍMICAS PELO
USO CRÔNICO DE MONOTERAPIA E TERAPIA
COMBINADA DE ANTIDEPRESSIVOS EM RATOS**

Dissertação submetida a coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial a obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Danielle Silveira de Macêdo

FORTALEZA

2012

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

M51a	Menezes, Carlos Eduardo de Souza Alterações cognitivas e neuroquímicas pelo uso crônico de monoterapia e terapia combinada de antidepressivos em ratos / Carlos Eduardo de Souza Menezes. – 2012. 83 f. : il. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2012. Orientação: Prof ^a . Dr ^a . Danielle Silveira de Macêdo. 1. Antidepressivos 2. Terapêutica 3. Memória 4. Aprendizagem 5. Ratos I. Título. CDD 615.78
------	---

CARLOS EDUARDO DE SOUZA MENEZES

**ALTERAÇÕES COGNITIVAS E NEUROQUÍMICAS PELO
USO CRÔNICO DE MONOTERAPIA E TERAPIA
COMBINADA DE ANTIDEPRESSIVOS EM RATOS**

Dissertação apresentada a Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Danielle Silveira de Macêdo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. David Freitas Lucena
Faculdade Christus

Prof. Dr. Jairo Diniz Filho
Universidade Federal do Ceará – UFC

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me ajudaram na realização deste trabalho, em especial:

Aos meus pais **Saturnino Francisco Neto** e **Antonia Zilma de Souza**, por não pouparem esforços em colocar meus pés nos caminhos da aquisição do “saber”.

À Profa. Dra. **Danielle Silveira de Macedo**, que com paciência, ensinamentos, confiança e, principalmente, “diplomacia” aceitou o desafio de orientar a dissertação do 1º aluno graduado no curso de Psicologia no programa de pós-graduação em Farmacologia da UFC.

À Profa. Dra. **Silvânia Maria Mendes Vasconcelos**, por abrir as portas do Laboratório de Neuropsicofarmacologia para o meu trabalho científico e convívio entre grandes e diversos pesquisadores.

À Prof. Dra. **Francisca Cléa Florenço de Sousa**, pelos incentivos na reabertura da disciplina e monitoria de **Psicofarmacologia** para o curso de Psicologia. Sem dúvida esta foi a minha “porta de entrada” no departamento de Farmacologia da UFC.

À Profa. Dra. **Geanne Matos de Andrade**, por alimentar minha curiosidade e persistência em desafiar e decifrar um modelo comportamental que, até então, estava pouco explorado por outros pesquisadores no departamento de Farmacologia.

Ao Prof. Dr. **Jairo Diniz Filho**, por ter gentilmente aceito o convite para participar da Banca Examinadora desta dissertação.

A minha noiva e companheira **Elyene Sousa Vasconcelos**, por todo amor, apóio e compreensão em muitos momentos de ansiedade e angústia percorrido em todas as etapas desta dissertação. Sua presença reconfortante e apóio incondicional foi meu “porto seguro” fundamental nessa jornada.

As minhas alunas de iniciação científica **Samanda Lima e Ângela**, pela dedicação nos experimentos e companheirismo, fundamentais no êxito desse trabalho.

Aos meus colegas de laboratório de neuropsicofarmacologia, em especial a **Patrícia Xavier Lima Gomes**, além do **Eduardo, Edna, Clayton, Rita Neuma, Rafael, Dayane** e todos os outros pela amizade e cooperação.

À técnica do Laboratório, **Valani Rodrigues Bastos**, pelo apóio e ensinamentos.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, em especial à **Aura Rhanes, Márcia, Chiquinho, Alana e Fernando**.

À CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram na realização dessa conquista, meu sincero MUITO OBRIGADO!!!

RESUMO

Introdução: Depressão é uma condição psicopatológica crônica e recorrente, com evidentes prejuízos sócio-ocupacionais e de qualidade de vida, tanto na fase aguda quanto no longo prazo. A depressão é causada por um déficit funcional das monoaminas nas suas vias transmissoras (serotoninérgicas, noradrenérgica e dopaminérgicas) em certos locais do cérebro. Apesar de existirem diversas formas de tratamento clínico desse transtorno do humor como: psicoterapia, antidepressivos, ECT e TMS, a prescrição das drogas antidepressivas representa a principal forma de manejo das chamadas depressões endógenas. A modulação funcional das vias de transmissão neuroquímica pode interferir no desempenho do processamento de funções cognitivas como a memória. **Objetivo:** Nosso estudo procurou investigar as possíveis alterações em diferentes tipos e fases da memória provocadas pelo uso crônico de diferentes manejos de antidepressivos; monoterapia e terapia combinada. **Métodos:** Utilizamos nessa pesquisa a administração crônica de três drogas antidepressivas e suas associações (Paroxetina, Venlafaxina e Bupropiona) de largo uso na prática clínica. Para avaliação do desempenho mnemônico utilizamos modelos comportamentais para ratos com alto valor preditivo para memória (labirinto radial, esQUIVA passiva) e para atividade exploratória (campo aberto). Foram medidos os níveis de BDNF e a atividade enzimática da AChE do hipocampo dos grupos de ratos usuários de antidepressivos. **Resultados: No Labirinto Radial – fase de aquisição:** os grupos Venlaf (11±4,85), Venlaf+Parox (10,88±5,30) e Venlaf + Buprop (11±3,85) apresentaram número de tentativas de treinos significativamente maior comparado ao desempenho dos animais do grupo controle (5,11±1,36), enquanto os grupos com Parox (4,14±2,19), Buprop (7,1±3,66) sozinha e Parox + Bup (4,75±1,75) não apresentaram alterações do número de tentativas significantes. **Labirinto Radial – MC:** os grupos Venlaf (2,16±1,47), Venlaf+Parox (2,85±1,35) e Venlaf + Bup (2,62±1,76) não apresentaram alterações significantes em comparação ao grupo usuário da solução salina (2,25±1,58), enquanto que os usuários dos antidepressivos Parox (3,11±1,69), Bup (4,9±2,99) e Parox + Bup (4,12±2,58) apresentaram um número significativamente ($p<0,001$) maior de erros em relação ao grupo controle (2,25±1,58). **Labirinto Radial – ML:** grupos usuários de Venlaf (4,5±1,64), Buprop (4±2,3) e Venlaf+ Bup (2,87±1,72) não apresentaram alterações significativamente diferente do grupo controle (3,11±1,36), enquanto que o grupo usuário de Parox (4,4±1,50) apresentou um número significativamente maior de erros em relação ao grupo controle (3,11±1,36). Os grupos usuários de Venlaf + Parox (2,66±0,85) e Parox+Buprop (3,12±2,16) apresentaram um número de erros significativamente menor quando comparados ao número de erros na Parox (4,4±1,50). **EsQUIVA Passiva – MC e ML:** os grupos usuários de Parox (218,4±113,1), Bup (39,57±23,19) e Parox+Buprop (300±0,0) apresentaram um tempo de latência significativamente ($p<0,001$) maior em relação ao grupo controle (270±37,30). **ML:** os grupos usuários de Venlaf+Parox (218,1±103,6) e Parox+ Bup (296,7±8,69) reverteram o aumento do tempo de latência do grupo de Parox (218,1±103,6) e causou uma diminuição significativa ($p<0,001$) do tempo de permanência do rato no compartimento claro em relação ao mesmo grupo. **Campo Aberto – N^o cruzamentos:** Parox (20,80±3,85) apresentou um aumento significativo do número de cruzamentos em relação ao grupo controle (14,90±3,85), enquanto que o grupo usuário de Parox+Buprop (12±2,50) reverteu o aumento da atividade locomotora do grupo da Parox (20,80±3,85). **Conclusões:** no teste de aquisição houve prejuízo de desempenho nos grupos usuários de antidepressivos com pouca seletividade para recaptação de serotonina. O desempenho da MC e ML, em habilidades visuo-espaciais, obtivemos déficits nos grupos de antidepressivos que potencializam tanto a ação serotoninérgica, com a ação dopaminérgica. A potencialização β -adrenérgica induziu uma melhora do desempenho da formação e consolidação da MC e ML.

Palavras chave: Antidepressivos. Terapia. Memória. Aprendizagem. Ratos.

ABSTRACT

Introduction: Depression is a chronic and recurrent psychopathological condition, with obvious socio-occupational injury and quality of life in both the acute and long term. Depression is caused by a functional deficit of monoamines in their signaling pathways (serotonergic, dopaminergic, noradrenergic) in certain parts of the brain. Although there are various forms of clinical treatment of mood disorders such as psychotherapy, antidepressants, ECT and TMS, the prescription of antidepressant drugs is the main form of management of endogenous depressions. The functional modulation of neurochemical transmission paths can interfere with the processing performance of cognitive functions like memory. **Objective:** Our study sought to investigate the possible changes in different types and stages of memory caused by chronic use of antidepressants from different managements; monotherapy and combination therapy. **Methods:** We use this research to chronic administration of three antidepressant drugs and their associations (paroxetine, venlafaxine and bupropion) widely used in clinical practice. To evaluate the performance mnemonic to use behavioral models predictive of mice with eigen value memory (radial maze, passive avoidance) and exploratory activity (open field). They measured levels of BDNF and AChE in the hippocampus of rats in groups of antidepressant users. **Results: Radial Maze - acquisition phase:** the Venlaf group (11 ± 4.85), associated with Venlaf Parox (10.88 ± 5.30) associated with Buprop and Venlaf (11 ± 3.85) showed a number of training trials significantly higher compared to that of the control group (5.11 ± 1.36), while groups with Parox (4.14 ± 2.19), Buprop (7.1 ± 3.66) associated with Parox alone and Buprop (4.75 ± 1.75) showed no change in the number of significant attempts. **Radial Maze - MC:** Venlaf groups (2.16 ± 1.47) associated with Venlaf Parox (2.85 ± 1.35) associated with Buprop and Venlaf (2.62 ± 1.76) showed no significant changes compared to the user group of saline (2.25 ± 1.58) while users of antidepressants Parox (3.11 ± 1.69), Buprop (4.9 ± 2.99) associated with Buprop and Parox (4.12 ± 2.58) had significantly ($p < 0.001$) greater errors in the control group (2.25 ± 1.58). Radial Maze – ML: Venlaf users groups (4.5 ± 1.64), Buprop (4 ± 2.3) associated with Buprop and Venlaf (2.87 ± 1.72) showed no significant than the control group (3.11 ± 1.36), where as the group user Parox (4.4 ± 1.50) showed a significantly greater errors in the control group (3.11 ± 1.36). Venlaf users groups associated with Parox (2.66 ± 0.85) associated with Buprop and Parox (3.12 ± 2.16) had a number of errors significantly lower when compared to the number of errors in Paroxetine (4.4 ± 1.50). Avoidance passive – MC and ML: Parox users groups (218.4 ± 113.1) Buprop (39.57 ± 23.19) and associated with Parox Buprop (300 ± 0.0) showed a significant lag time higher in the control group (270 ± 37.30). ML: Venlaf users groups associated with Parox (218.1 ± 103.6) associated with Buprop and Parox (296.7 ± 8.69) revert the increase in the latency time of the Parox (218.1 ± 103.6) and caused a significant decrease the time spent in the compartment of the mouse course over the same group. **Open Field:** Parox (20.80 ± 3.85) increased significantly in the control (14.90 ± 3.85) while the user group Buprop associated with Parox (12 ± 2.50) reversed the increase in locomotor activity of the Parox group (20.80 ± 3.85). **Conclusions:** the test of acquisition show loss of performance in groups of antidepressant users with little selectivity for serotonin reuptake. The MC and ML in visual-spatial skills, we found deficits in groups of antidepressants that potentiate both serotonin action with dopaminergic action. The potentiation of β -adrenergic is associated with increased level of alertness and improves the performance of establishment and consolidation of MC and ML.

Keywords: antidepressants. therapy. memory. rats.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

α	= Alfa
β	= Beta
\pm	= Mais ou menos
>	= Maior que
<	= Menor que
%	= Percentagem
SNC	= Sistema Nervoso Central
5-HT	= Serotonina
D ₁	= Receptor Dopaminérgico
5-HTT	= Transportador de Serotonina
ADT	= Antidepressivos tricíclicos
IMAO	= Inibidores da Monoaminaoxidases
ISRS	= Inibidores seletivos da recaptção da serotonina
ACTH	= Hormônio adrenocorticotrófico
TAG	= Transtorno de Ansiedade Generalizada
TEPT	= Transtorno de Estresse Pós-trauma
GABA	= Ácido γ amino butírico
QV	= Qualidade de vida
HP	= Hipocampo
ACh	= Acetilcolina
AChE	= Acetilcolinesterase
BChE	= Butirilcolinesterase
MT	= Memória de trabalho
MC	= Memória de curta duração
ML	= Memória de longa duração

BDNF	= Fator neurotrófico derivado do cérebro
CONTROL	= Controle
PAROX	= Paroxetina
VENLAF	= Venlafaxina
BUPROP	= Bupropiona

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Estrutura da Paroxetina;
- Figura 2:** Estrutura da Venlafaxina;
- Figura 3:** Estrutura Bupropiona;
- Figura 4:** Principais áreas cerebrais envolvidas na formação das memórias declarativas;
- Figura 5:** Componentes das vias neuroquímicas de modulação da memória;
- Figura 6:** Curva de Yerkes-Dodson;
- Figura 7:** Labirinto radial de 8 (oito) braços;
- Figura 8:** Teste de esquiva passiva;
- Figura 9:** Teste do campo aberto;
- Figura 10:** Sequência dos modelos experimentais aplicados nos grupos de ratos;
- Figura 11:** Sequência de execução laboral;
- Figura 12:** Fase de treino/aquisição;
- Figura 13:** Teste de memória espacial/evocação;
- Figura 14:** Teste de memória aversiva/evocação;
- Figura 15:** Teste da atividade locomotora/exploratória;
- Figura 16:** Número de Grooming – comportamento de auto-limpeza
- Figura 17:** Número de *Rearing* – comportamento de reconhecimento;
- Figura 18:** Níveis de BDNF dos diferentes grupos;
- Figura 19:** Níveis da atividade enzimática AChE nos diferentes grupos;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Depressão	12
1.1.1 Teorias da depressão.....	13
1.1.1.1 Hipóteses das monoaminas.....	13
1.1.1.2 O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e o receptor trkB na depressão.....	14
1.1.2 Manejo Clínico da Depressão.....	15
1.1.2.1 Depressão Resistente.....	15
1.1.2.2 Estratégias para depressões resistentes.....	16
1.1.2.3 O estudo STAR*D.....	18
1.1.3 Custo do tratamento da depressão.....	19
1.2 Antidepressivos.....	20
1.3 Antidepressivos em estudo.....	21
1.3.1 PAROXETINA.....	21
1.3.2 VENLAFAXINA.....	23
1.3.3 BUPROPIONA.....	25
1.4 Combinando antidepressivos.....	27
1.5 Memória.....	27
1.5.1 Tipos de memória.....	28
1.5.2 Modulação da memória.....	32
1.5.3 Métodos experimentais para avaliação da memória.....	35
1.5.3.1 Memória espacial – sensopercepção de si e do mundo externo.....	35
1.5.3.2 Memória emocional – Influência do nível de alerta, ansiedade e do estado de ânimo.....	37
1.6 BDNF e Acetilcolinesterase - Marcadores neuroquímicos.....	41
2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	42
3. OBJETIVOS.....	43

3.1 Objetivo geral.....	43
3.2 Objetivos específicos.....	43
4. MATERIAIS.....	44
4.1 Local.....	44
4.2 Animal de estudo.....	45
4.3 Grupos experimentais.....	45
4.4 Equipamentos.....	47
4.4.1 Memória Espacial – Labirinto radial de 8 (oito) braços (<i>Radial Maze-8 arms</i>).....	47
4.4.2 Memória Aversiva – Esquiva Passiva (<i>Passive avoidance</i>).....	48
4.4.3 Avaliação da atividade exploratória- Teste do campo aberto.....	49
4.5. Cronograma de aplicação de cada modelo comportamental.....	50
4.5.1 Treinamento experimental.....	50
4.5.2 Fase 1: Manipulação.....	51
4.5.3 Fase 2: Pré-exposição aos aparelhos.....	51
4.5.4 Fase 3: Atividade exploratória – Campo Aberto.....	51
4.5.5 Fase 4: Avaliação da memória visuo-espacial – Labirinto radial de 8 braços.....	51
4.5.5.1 Fase 4a: Treinamento da memória de trabalho – oito braços reforçados.....	51
4.5.5.2 Fase 4b: Teste de evocação da memória – com intervalo de retenção.....	52
4.5.6 Fase 5: Avaliação da memória emocional – Esquiva Passiva.....	53
4.6 Análise bioquímica – Níveis de BDNF E AChE.....	53
4.6.1 Determinação da atividade da enzima acetilcolinesterase.....	54
4.6.1.1 Método.....	54
4.6.2 Procedimento experimental.....	54
4.6.3 Método Bradford.....	56
4.7 Esquema de execução laboral.....	57
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	58
6. RESULTADOS.....	59

6.1 Efeitos do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na atividade locomotora de ratos pelo teste do campo aberto.....	59
6.2 Efeitos do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na memória espacial de ratos no teste do labirinto radial (<i>radial maze</i>).....	61
6.3 Efeitos do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na memória aversiva de ratos no teste de esquiva passiva (<i>passive avoidance</i>).....	64
6.4 Efeito do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na modulação da ação do BDNF no hipocampo.....	67
6.5 Efeito do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na atividade enzimática da AChE no hipocampo.....	68
7. DISCUSSÃO.....	69
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
9. CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS.....	76
APÊNDICE.....	84

1. INTRODUÇÃO

1.1 Depressão

Depressão é uma condição crônica e recorrente, que se caracterizam por uma multiplicidade de sintomas afetivos, instintivos e neurovegetativos, ideativos e cognitivos, relativos à autoavaliação, à vontade e à psicomotricidade. Segundo a CID-10, o número e a gravidade dos sintomas permitem classificar o episódio depressivos em três graus: leve, moderado, ou grave. Os critérios mínimos são a presença de dois dos três sintomas principais (humor deprimido, energia reduzida ou perda de interesse e prazer) e dois dos outros sintomas para diagnósticos de episódios depressivos, acompanhados de interferência funcional e/ou social (DALGALARRONDO, 2004)

Há evidentes prejuízos sócio-ocupacionais e de qualidade de vida, tanto na fase aguda quanto no longo prazo. Entretanto, pouco se sabe do real impacto da intervenção terapêutica com as estratégias utilizadas atualmente no tratamento da depressão. Em um estudo recente, utilizando amostra populacional e seguimento de 20 anos, cerca de 50% dos indivíduos que apresentaram um episódio depressivo inicial não tiveram mais episódios, 35% apresentaram pelo menos um episódio e 15% cronicaram, ou seja, não conseguiram ter um período maior do que um ano livres de sintomas (EATON *et al.*, 2008). Neste estudo, não foram observado fatores preditores de remissão ou cronicidade, e não foi observado nenhum sinal de efeito positivo ou negativo dos tratamentos utilizados.

O planejamento de um tratamento antidepressivo envolve a fase **aguda**, de **continuação** e de **manutenção**, cada uma com objetivos específicos:

Fase aguda – inclui os três primeiros meses e tem como objetivo a diminuição dos sintomas depressivos (resposta) ou idealmente ao esbatimento completo com o retorno do nível de funcionamento pré-mórbido (remissão).

Fase de continuação – corresponde aos quatro a seis meses que seguem ao tratamento agudo e tem como objetivo manter a melhoria obtida, evitando as recaídas dentro de um mesmo episódio depressivo. Ao final da fase de continuação, o paciente que permanece com a melhoria inicial é considerado recuperado do episódio índice.

Fase de manutenção – tem como objetivo evitar que novos episódios ocorram (recorrência).

A remissão completa de sintomas deve ser a meta de qualquer tratamento antidepressivo. Estudos mostram que a permanência de sintomas residuais da depressão estão associados à pior qualidade de vida, pior funcionalidade, maior risco de suicídio, maior risco de recaídas e aumento de consumo de serviços de saúde.

1.1.1 Teorias da Depressão

1.1.1.1 Hipótese das monoaminas

O uso dos antidepressivos fundamenta-se a partir da hipótese das monoaminas, proposta por Schildkraut (1965), que afirma que a depressão é causada por um déficit funcional das monoaminas transmissoras em certos locais do cérebro. Inicialmente, essa hipótese postulou que o principal déficit era em termos de noradrenalina, posteriormente, novas evidências mostraram que os déficits eram maiores para a 5-hidroxitriptamina (5-HT) (RANG; DALE, 2005).

Verificou-se que os três sistemas monoaminérgicos; o serotoninérgico, o noradrenérgico e o dopaminérgico têm características semelhantes: todos se originam em núcleos localizados no tronco encefálico e se projetam para ambas as áreas do prosencéfalo moduladoras de importantes funções cognitivas, como atenção, linguagem e memória.

O uso dos antidepressivos fundamenta-se a partir da hipótese das monoaminas, proposta por Schildkraut em 1965, que afirma que a depressão é causada por um déficit funcional das monoaminas transmissoras em certos locais do cérebro. Inicialmente, essa hipótese postulou que o principal déficit era em termos de noradrenalina, posteriormente, novas evidências mostraram que os déficits eram maiores para a 5-hidroxitriptamina (5-HT) (RANG; DALE, 2005).

Verificou-se que os três sistemas monoaminérgicos; o serotoninérgico, o noradrenérgico e o dopaminérgico têm características semelhantes: todos se originam em núcleos localizados no tronco encefálico e se projetam para ambas as áreas do prosencéfalo moduladoras de importantes funções cognitivas, como atenção, linguagem e memória.

As vias dopaminérgicas, noradrenérgicas e serotoninérgicas agem respectivamente sobre os receptores D_1 , β , $5-HT_{1A}$ e muscarínicos sendo elas fortemente moduladoras da formação tanto da memória de curta como de longa duração. A memória de curta duração é regulada nos primeiros minutos após a aquisição por receptores dopaminérgicos D_1 , β -noradrenérgicos,

serotoninérgicos 1^a e colinérgicos muscarínicos na região 1^a do hipocampo e no córtex entorrinal e parietal posterior. A memória de longa duração é fortemente modulada por receptores dopaminérgicos D1, β -noradrenérgicos, serotoninérgicos 1^a e colinérgicos muscarínicos na região CA1 no hipocampo, no córtex entorrinal, cingulado e parietal posterior. As três primeiras vias exercem sua modulação via regulação da adenilato ciclase, enzima que intervém na síntese de AMPc e, assim, regula a atividade da PKA; a acetilcolina possivelmente regula as diferentes formas de PKCs. Nos primeiros minutos da consolidação o principal mecanismo da modulação sejam os receptores β -noradrenérgicos no complexo basolateral da amígdala, independente do AMPc e PKA (KAPCZINSKI *et al.*, 2004).

Estudos experimentais com antagonistas serotoninérgicos e noradrenérgicos, como a reserpina em baixas doses (0,1, 0,25 e 0,5 mg/kg) obtiveram como resultados que os déficits cognitivos precedem os déficits motores com o aumento das concentrações testadas (SILVA *et al.*, 2008). Outro estudo analisando o efeito do ondansetron (0,03- 1mg/kg), um antagonista serotoninérgico (5-HT₃), sobre o desempenho cognitivo obteve, como resultados, uma melhora do desempenho no teste do labirinto aquático (FONTANA *et al.*, 1995).

1.1.1.2 O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e o receptor trkB na depressão

Sabe-se que a CREB afeta a expressão de BDNF e seu receptor, o TrkB, que também são modulados pelo tratamento antidepressivo e desregulados na depressão. Assim, o BDNF e seu receptor TrkB podem representar possíveis alvos para o desenvolvimento de fármacos antidepressivos. Um estudo post-mortem bastante informativo, que usou secções de hipocampo anteriores post-mortem examinou tecidos de sujeitos com depressão maior, transtorno bipolar, esquizofrenia e de controles não-psiquiátricos após o uso de corantes imunoquímicos para BDNF. Observaram aumento na expressão de BDNF no giro dentado, no hilo e em regiões supragranulares em indivíduos que estavam se tratando com antidepressivos no momento da morte, comparados àqueles que não tomavam antidepressivos. Anteriormente os mesmos autores desse estudo haviam relatado concentrações maiores de CREB no córtex temporal com o tratamento com antidepressivos para depressão maior. Como os efeitos clínicos de antidepressivos somente ocorrem após o uso crônico, é muito relevante que o BDNF seja modulado no cérebro após tratamento crônico e regule, pelo menos em parte, os efeitos crônicos dos antidepressivos, como possíveis déficits cognitivos.

1.1.2 Manejo Clínico da Depressão

1.1.2.1 Depressão Resistente

O número de terapias fracassadas quase sempre é o ponto de partida para definir a resistência ao tratamento, com números maiores de tentativas fracassadas constituem o nível maior de resistência. Algumas definições dicotomizam a refratariedade ao tratamento e outras utilizam considerações para definir a refratariedade ao tratamento como:

- Número de tentativas de tratamento;
- Número de classes de tratamento fracassadas
- Papel de tratamentos auxiliares fracassados
- Adequação de cada tentativa de tratamento:
 - ✓ Dose
 - ✓ Duração
- Definição da resposta adequada ao tratamento
 - ✓ Resposta
 - ✓ Remissão

Apesar de altamente prevalente, a depressão permanece como uma doença tratada de maneira insatisfatória. Dados norte-americanos do *National Comorbidity Survey Replication* estimam que somente 21,6% dos pacientes com transtorno depressivo maior recebem tratamento adequado. (KESSLER *et al.*, 2003). Um estudo recente verificou que, quanto maior a duração da depressão não-tratada, ou seja, o tempo de início dos sintomas e o primeiro tratamento adequado, pior o curso clínico do transtorno em termos de número de recorrências e co-morbidades do Eixo I. A natureza crônica e recorrente da depressão pode levar conseqüentemente, a desfechos desfavoráveis e altos custos para os sistemas de saúde. (ALTAMURA *et al.*, 2007).

Estes estudos ilustram também uma percepção importante: se o paciente com depressão recorrente não remite no primeiro tratamento, ou no máximo na segunda tentativa, a evolução do seu quadro terá perspectivas sombrias de cronificação com pequena chance de resposta clínica aos tratamentos existentes.

Atualmente, não há existam respostas definitivas que associem a cronificação a piora da evolução clínica. Entretanto, algumas das principais hipóteses envolvem a própria fisiopatologia da depressão, como:

- A hipótese do estresse como desencadeador de episódio depressivo via eixo hipotálamo-hipofise-adrenal e aumento crônico de cortisol.
- A hipótese dos distúrbios dos ritmos biológicos;
- A hipótese dos distúrbios dos neurotransmissores, com foco mais atual nos receptores glutamatérgicos;
- A hipótese dos fatores inflamatórios sistêmicos associados ou não às doenças crônicas como diabetes *mellitus*, doença aterosclerótica, doenças endocrinológicas ou reumatológicas.

Os medicamentos antidepressivos são a primeira linha de tratamento farmacológico independente da presença de fatores ambientais. Além dos antidepressivos, evidências de estudos de metanálise mostram que psicoterapias específicas para depressão mostram uma boa resposta na diminuição dos sintomas depressivos. Há ainda evidências de uma maior eficácia em tratamentos combinados (antidepressivos + psicoterapia) em depressões moderadas e graves (CORDIOLI *et al.*, 2007).

Importante ressaltar que mais de 30% dos pacientes tratados para depressão continuam sintomáticos após um ano de acompanhamento. (KENNEDY *et al.*, 2007). Apesar das críticas ao uso das drogas antidepressivas, cerca de 70% dos pacientes apresentam algum benefício no tratamento dos sintomas da depressão em doses plenas. Para aqueles que não evoluem de maneira favorável, é necessário a adoção de estratégias subsequentes, baseadas em evidências científicas, que proporcionem remissão dos sintomas e melhora da qualidade de vida.

1.1.2.2 Estratégias para depressões resistentes

As estratégias utilizadas quando um paciente não responde ao tratamento com medicamentos antidepressivo consiste em:

Aumento da dose do antidepressivo – um das primeiras estratégias de manejo terapêutico em pacientes, que apresentam ausência de resposta clínica (em 4 semanas), ou que respondem parcialmente (em 6 semanas) ao tratamento. (ANDERSON *et al.*, 2000)

Um estudo randomizado mostrou que o aumento de Fluoxetina até 60mg em pacientes que não responderam a 20mg por oito semanas foi efetivo.

Troca de antidepressivos – estudos abertos mostraram uma melhor resposta entre 20 e 60% com a troca de antidepressivos ou à troca entre ISRS.

Associação de antidepressivos – tem como principal objetivo uma ação complementar ao antidepressivo inicial, adicionando uma substância química com diferente mecanismo de ação.

Em uma metanálise de 27 estudos envolvendo 667 pacientes que não conseguiram respostas adequadas com uso de monoterapia, o uso combinado de antidepressivos obteve uma resposta de 62% referente à diminuição dos sintomas. (LAM *et al.*, 2002). A utilização de um segundo antidepressivo combinado não apresentou diferente carga de efeitos colaterais significativas quando comparados ao uso de monoterapia. (LAM *et al.*, 2004)

Potencialização com Lítio ou tri-iodotironina – estudos de metanálise avaliando a potencialização dos antidepressivos com carbonato de lítio ou com tri-iodotironina mostraram uma melhora de 40% e 60% respectivamente em relação aos placebos (FLECK *et al.*, 2009; ARONSON *et al.*, 1996; KHO *et al.*, 2003).

Eletroconvulsoterapia (ECT) – envolve pacientes com depressão grave e resistente a tratamento, há evidências em estudos de 82% respostas clínicas significativas. Ações da ECT sobre a atividade serotoninérgica implicaram uma diminuição da expressão do RNA mensageiro (RNAm) para o transportador de 5-HTT pré-sináptico de serotonina, tanto no tratamento agudo quanto crônico. Esse transportador funciona na recaptação de serotonina, e a diminuição de sua expressão leva a um aumento do neurotransmissor na fenda sináptica. Apesar de essa proteína transportadora estar amplamente distribuída no cérebro, com maior densidade no prosencéfalo, a expressão do seu RNAm é quase exclusiva nos neurônios serotoninérgicos do núcleo da rafe (PAGNIN *et al.*, 2004; KHO *et al.*, 2003)

A adaptação na mudança da expressão do RNAm responsável pela síntese de 5-HTT está provavelmente implicada na eficácia da ECT sobre a depressão resistente a fármacos. Repetidos choques eletroconvulsivos (CECs) aumentam significativamente os níveis de RNAm para receptores 5-HT₂ e diminuem a atividade dos receptores β-adrenérgicos no córtex frontal dos ratos. Os níveis de RNAm para receptores da tirosina hidroxilase estão

significativamente aumentados no *locus ceruleos* de ratos após ECT, e estudos em animais comprovam que ocorre potencialização nas funções serotoninérgicas em neurônios corticais (KHO *et al.*, 2003).

Estimulação magnética transcraniana (TMS) – consiste na estimulação através de pulsos magnéticos, do córtex cerebral. Este pulso magnético induz um campo elétrico nas regiões do córtex subjacentes provendo várias mudanças, incluindo mudanças no metabolismo, na liberação de neurotransmissores e na indução da expressão de genes (GEORGE *et al.*, 2005).

Metanálise encontraram efeitos clínicos significativos. No entanto, as maiorias dos estudos são de pequenas amostras e envolvem apenas a fase aguda, são poucos os estudos envolvendo seguimento em médio e longo prazo (RUSH *et al.*, 2005).

1.1.2.3 O estudo STAR*D

A falta de dados empíricos para nortear o tratamento das depressões resistentes gerou a necessidade de um estudo multicêntrico, com um adequado de pacientes, que se aproximasse, em seu formato, das vicissitudes enfrentadas pelos clínicos em seu cotidiano. Surgiu então, o estudo chamado *Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression* ou, resumidamente, STAR*D (FAVA *et al.*, 2003; RUSH *et al.*, 2004). O STAR*D teve um custo de cerca de 30 milhões de dólares, incluiu 3.671 pacientes e estendeu-se pelo prazo de seis anos.

O estudo incluiu pacientes com depressão maior não-psicóticos. Tentou-se mapear as potencialidades terapêuticas, para depressões resistentes seguindo-se um protocolo de administração de fármacos antidepressivos até a obtenção de uma resposta clínica positiva.

Foram incluídos quatro (4) níveis de tratamento. Os sintomas depressivos foram pontuados através da Escala de Depressão de Hamilton (HAM-D). A “remissão” (HAMD < 7). Distribuídos da seguinte forma:

Nível 1 – Todos os pacientes foram tratados com citalopram um ISRS. Os que não responderam de forma satisfatória a esse agente passaram aos níveis seguintes.

Nível 2 – Foram oferecidas aos paciente sete opções de tratamento. Quatro delas constituíram-se na troca do citalopram por outro medicamento ou psicoterapia. As outras três consistiram na potencialização do citalopram por meio de outros agentes ou de psicoterapia.

Da mesma forma, os que não responderam de forma satisfatória passaram aos níveis seguintes.

Nível 3 – Ofereceram quatro diferentes opções de tratamento. Duas delas consistindo em mudar o tratamento para Mirtazapina ou para a Nortriptilina, e as outras duas em potencializar o tratamento com lítio ou com triiodotironina (T3).

Nível 4 – Consistiram de duas possibilidades de troca de medicamentos àqueles que não responderam aos três passos anteriores. Receberam ou Tranilcipromina, ou combinação de Mirtazapina e Venlafaxina XR.

O estudo STAR*D é considerado uma das primeiras tentativas de avaliação das estratégias terapêuticas das depressões resistentes. Não foram utilizados ECT ou TMS neste estudo.

1.1.3 Custo do tratamento da depressão

A depressão se caracteriza como uma doença comum grave, com custos desproporcionalmente altos e conseqüências adversas na saúde e no funcionamento social bem-conhecidas (KLERMAN *et al.*, 1992). Mas, ainda assim, o “padrão de tratamento é incongruente com a magnitude do transtorno e o ônus que ele impõe”. As evidências claramente apontam para o tratamento inadequado (BEAUMONT *et al.*, 1996).

A depressão é cara, com custos econômicos totais estimados em US\$ 43,3 bilhões por ano em 1990 nos Estados Unidos. Mais de 70% desses custos são indiretos e devidos à mortalidade e à morbidade (incapacidade e perda de produtividade) (GREENBERG *et al.*, 1993). Tal estimativa dos custos econômicos totais não inclui os custos para os familiares que cuidam dos pacientes, o custo do tempo de lazer perdido dos indivíduos deprimidos e o custo da dor e do sofrimento dos indivíduos deprimidos e suas famílias.

Os sempre crescentes custos com saúde mental precisam de pesquisas sobre a contenção de custos. No entanto, a tendência a focar exclusivamente os custos no tratamento na avaliação dos efeitos econômicos gerais da depressão é questionável, porque apenas uma proporção pequena dos custos econômicos totais são gerados pelo tratamento. O tratamento da depressão está associado à economia de renda perdida.

No contexto atual da assistência médica gerenciada, o custo do tratamento para problemas de saúde mental como a depressão pode se tornar um alvo fácil para as políticas de contenção de custos. No entanto, na tomada de decisões políticas, devem ser levados em conta os benefícios econômicos do tratamento da depressão, tais como redução dos dias de trabalho perdido e maior produtividade. É importante aumentar o reconhecimento da depressão pela população em geral e pelos profissionais de saúde, especialmente em cuidados primários, que servem como porta de entrada para a assistência gerenciada, para que mais pessoas que precisam de tratamento para a depressão o recebam.

1.2 Antidepressivos

Os antidepressivos e estabilizadores de humor são um grupo heterogêneo de drogas empregadas no tratamento de distúrbios afetivos. Apesar da denominação, “anti-depressão” a maior parte desses compostos possui efeito em outros distúrbios psiquiátricos e mesmo os não psiquiátricos.

Eles fazem parte da escolha de drogas para terapia de transtornos de ansiedade grave como agorafobia, transtorno de ansiedade generalizada, fobia social, transtorno obsessivo compulsivo, transtorno de estresse pós-trauma, tratamento de estados dolorosos neuropáticos, tratamento para obesidade e usuários de drogas de abuso. (BALDESSARINI, 2001)

Pesquisas sobre a prevalência do uso de antidepressivos no Rio Grande do Sul revelaram um padrão diferenciado do uso de diferentes grupos destes psicofármacos. Os antidepressivos do grupo dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS) foram os mais usados, numa proporção de 60,2%, seguidos pelo grupo dos antidepressivos tricíclicos (ADT) utilizados numa proporção de 31,7%. Os 8,1% restantes representam os inibidores das mononaminaoxidas (IMAO) e atípicos. Constatou-se uma maior associação com o uso de antidepressivos no sexo feminino, nos indivíduos pertencentes aos níveis sociais A e B e naqueles que não estão trabalhando. (GARCIA *et al.*, 2008)

As atuais abordagens de tratamento farmacológico dos transtornos afetivos levam em consideração tanto as concentrações da noradrenalina e da serotonina, bem como suas potencialidades de transmissões neuroquímicas no sistema nervoso central (SNC), modulando estados do humor (depressivos ou maníacos). Apesar de, no entanto, não descartarem vários outros neurotransmissores (dopamina) e eixos hormonais que aparecem alterados, sugerindo um complexo inter-relacionamento entre diferentes sistemas (CORDIOLI, 2007).

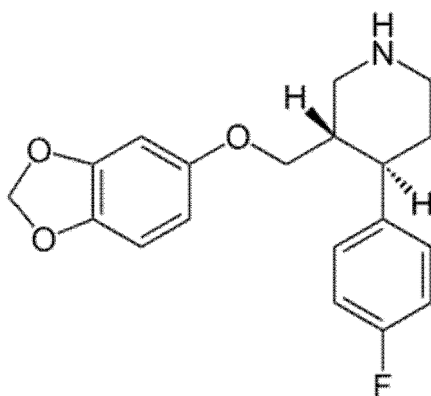
1.3 Antidepressivos em estudo

1.3.1 Paroxetina

Classificado dentro do grupo dos inibidores seletivos da recaptação da **serotonina** (ISRSs), portanto não interferem significativamente nos sistemas noradrenérgicos, dopaminérgicos, muscarínicos e histaminérgicos (RANG *et al.*, 2011)

Os ISRSs são os antidepressivos mais prescritos na atualidade. Além de serem utilizados no tratamento da depressão, são largamente indicados para tratamento de ansiedade, ansiedade, transtorno obsessivo-compulsivo, transtorno do pânico, transtorno de ansiedade generalizada (TAG), transtorno de estresse-pós-traumático. Mais recentemente, esses medicamentos têm sido utilizados na bulimia nervosa, no transtorno disfórico da fase lútea tardia e na ejaculação precoce (STAHL, 2002).

Figura 1: Estrutura da Paroxetina



Apresentam ação sedativa nos sistemas serotoninérgicos e ausência de efeitos em receptores histaminérgicos, α -adrenérgicos e muscarínicos. Assim, possuem um perfil de segurança e tolerabilidade maior do que os ADTs e IMAO. Devido a ausência de efeitos anticolinérgicos, o uso de ISRSs em pacientes com cardiopatia, portadores de glaucoma e hipertrofia de próstata é seguro (WONG *et al.*, 2007).

As queixas gastrointestinais mais frequentes são náuseas (no início do tratamento), diarreias, anorexia, vômitos, flatulências e dispepsia. Nas primeiras semanas pode ocorrer perda do apetite e de peso. No entanto, o uso prolongado está associado a aumento de peso e

disfunção sexual (incidência entre 50 e 80%). Podem ocorrer retardo da ejaculação, anorgasmia e diminuição da libido. Esses efeitos podem persistir durante todo o período de uso dos ISRSs (GRAEFF *et al.*, 1999).

Em alguns casos, pode haver melhora com o tempo, mas, em outros, faz-se necessário o acréscimo ou mesmo uma mudança para outro antidepressivo, com menor potencial de induzir essa disfunção (bupropiona, trazodona ou mirtazapina). Como ações no SNC, podem surgir agitação, ansiedade, tremor, insônia, cefaléia e sintomas extrapiramidais (CORDIOLI, 2007).

A Paroxetina tem boa absorção por via oral, com pico de concentração plasmática ocorrendo em cinco horas. Diferentemente da Fluoxetina, que possui meia-vida prolongada de 1 a 4 dias e metabólitos ativo – a norfluoxetina, a Paroxetina possui meia-vida de 24 horas, e não tem metabólitos ativos. É uma potente inibidora do citocromo CYP 450 2D6, 1A2 e 3A4, podendo interferir no metabolismo de outras substâncias que utilizam a mesma via de degradação, tais como tricíclicos, antipsicóticos, antiarrítmicos e betabloqueadores. A Paroxetina também é capaz de inibir o seu próprio metabolismo. Liga-se, em cerca de 95% às proteínas plasmáticas. Aproximadamente 1 a 2% da substância excretadas na urina de forma inalterada (LACERDA *et al.*, 2009).

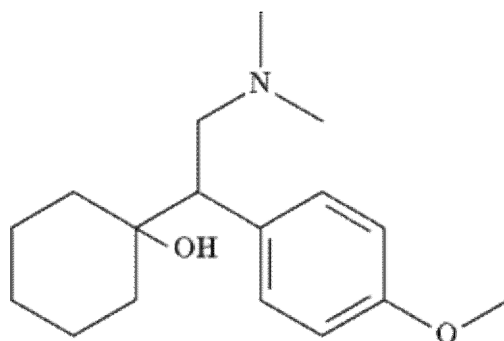
Pesquisas, avaliando o desempenho de ratos que sofreram administração aguda ou crônica de IRSS, no labirinto radial, apresentaram resultados não conclusivos. Em estudos com treinos prévios (NOWAKOWSKA *et al.*, 1996, 2000) tiveram como resultados um melhor desempenho em ratos que foram administrados com Fluoxetina (5mg/kg) no forma sub-crônica, e com Moclobemida (10mg/kg) na forma aguda de administração (NOWAKOWSKA *et al.*, 1998, 2001b), em relação ao grupo controle.

Apesar de, reconhecidamente, apresentar uma ação antagonista dos receptores colinérgicos, um estudo envolvendo a administração pré-treino aguda de Paroxetina (8mg/kg) em camundongos não apresentou alterações significativas na memória no modelo de esQUIVA inibitória (FUJISHIRO *et al.*, 2002).

1.3.2 Venlafaxina

Classificado dentro do grupo dos antidepressivos duais apresentando ação sobre o sistema serotoninérgico e noradrenérgico. Assim apresentando maior potencial de ação antidepressivo do que os ISRSs, comparável à dos antidepressivos tricíclicos, mas com menor incidência de reações adversas (WONG *et al.*, 2007).

Figura 2: Estrutura da Venlafaxina



Assim como os ISRSs, a Venlafaxina é indicada para o uso no tratamento da depressão com ansiedade associada e para prevenção e recaída e recorrência da depressão. Tratamento de ansiedade ou transtorno de ansiedade social (TAS) ou fobia social (CORDIOLI, 2007).

A Venlafaxina foi o primeiro antidepressivo de ação dual com ação seletiva comercializada no Brasil (LACERDA *et al.*, 2009).

Ela é bem absorvida via administração oral, atingindo o pico plasmático duas horas após a sua ingestão. Em sua formulação de liberação prolongada, atinge pico de concentração plasmática em 5,5 horas. O seu metabólito, O-desmetilvenlafaxina, atinge o pico de concentração plasmática em nove horas. Ela tem baixa ligação com proteínas plasmáticas (< 35%). Sofre metabolismo de primeira passagem no fígado (STAHL, 2002).

Essa droga é metabolizada no fígado pela isoenzima CYP 2D6, sendo uma fraca inibidora da atividade dessa enzima. A meia-vida da apresentação XR é de cerca de 15 a 21 horas. A excreção dos metabólitos ocorre essencialmente por via renal (92%). A Venlafaxina

produz inibição da recaptação de serotonina e noradrenalina e fraca inibição da recaptação dopamina, esta última ação, sobretudo, com doses maiores da droga (RANG *et al.*, 2011) .

Os efeitos adversos mais relatados são boca seca, cefaléia, hipertensão, sudorese, sonolência e tonturas. Já os efeitos menos frequentes são o aparecimento de anorexia, hipotensão, virada maníaca, hiponatremia, retardo da ejaculação, disfunção erétil e anosgasmia. Em doses de 150mg/dia e superior, é maior o risco de elevação da pressão arterial. A droga deve ser descontinuada gradualmente (CORDIOLI, 2007).

Outras pesquisas que avaliaram a memória em ratos que receberam doses de Venlafaxine (20mg/kg), um antidepressivo dual, nas formas crônicas e sub-crônicas (NOWAKOWSKA *et al.*, 2002, 2003) tiveram em todas as formas um melhor desempenho cognitivo que o grupo controle.

A potencialização das vias noradrenérgicas e serotoninérgicas sobre os receptores β e 1A, respectivamente, apresentam diferentes respostas no processamento e evocação da memória sendo que:

Vias noradrenérgicas agindo sobre receptores β ; (IZQUIERDO, 2002)

- Facilitam a formação de memória de curta duração na região CA1 do hipocampo;
- Facilitam a formação de memória de longa duração por ação sobre o CA1 e sobre o córtex parietal imediatamente depois da aquisição, e novamente 3-6 horas mais tarde. Também o fazem por uma ação sobre o córtex entorrinal desde o momento da aquisição até 6 horas mais tarde.
- Facilitam a evocação agindo simultaneamente sobre CA1, córtex entorrinal, córtex parietal e córtex cingulado anterior.

Vias serotoninérgicas agindo sobre receptores 1A; (IZQUIERDO, 2002)

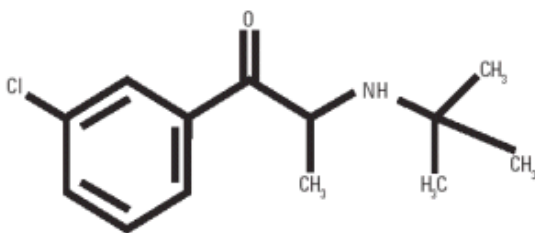
- Facilitam a memória de curta duração agindo sobre o CA1.
- Inibem a formação da memória de longa duração por ação sobre o CA1 e sobre o córtex parietal imediatamente depois da aquisição, e novamente 3-6 horas mais tarde. Também o fazem por ação sobre o córtex entorrinal desde o momento da aquisição até 6 horas mais tarde.

- Inibem a evocação agindo simultaneamente sobre CA1, córtex entorrinal, córtex parietal e córtex cingulado anterior.

1.3.3 Bupropiona

A Bupropiona é originalmente um antidepressivo inibidor da recaptção de noradrenalina e dopamina, sem ação sobre a serotonina. Também não tem ação sobre a MAO, receptores muscarínicos, histamínicos, e α -adrenérgicos (LACERDA *et al.*, 2009).

Figura 3: Estrutura Bupropiona



É indicada, principalmente, em quadros depressivos leves a moderados e interrupção do tabagismo. Há menor propensão de induzir a virada maníaca quando utilizada no tratamento bipolar. Há relatos de bons resultados em pacientes portadores de transtorno de déficits de atenção/hiperatividade (WONG *et al.*, 2007).

A Bupropiona é uma aminocetona monocíclica que apresenta estrutura química semelhante à da anfetamina e à do medicamento anorexígeno dietilpropiona. É um antidepressivo que tem como vantagem não ser sedativo, não prejudica a atividade sexual e não promover o ganho de peso (STAHL, 2002).

No Brasil, está disponível na apresentação de 150mg, de liberação prolongada. A Bupropiona atinge o pico plasmático em aproximadamente 3 horas. A meia-vida do composto varia em uma faixa de 8 a 40 horas. Sua metabolização pela isoenzima da CYP 2B6, com pequena inibição da CYP 2D6, é predominantemente hepática (CORDIOLI, 2007).

A Bupropiona atinge seu estado de equilíbrio em 4 a 5 dias. É amplamente distribuída nos tecidos. Cerca de 85% desse medicamento e de seus metabólitos são eliminados na urina, e 10% nas fezes (RANG *et al.*, 2011).

Em associação com agentes dopaminérgicos, podem ocorrer sintomas psicóticos, confusão mental, movimentos discinéticos e convulsões. É contra-indicado a administração concomitante de inibidores da MAO (IMAO), ou o seu uso dentro de até 14 dias após a interrupção do tratamento da IMAO. Quadro de pânico e, *delirium* e convulsões podem ocorrer, quando associada com Fluoxetina e Litíio. A Bupropiona pode aumentar as concentrações de Venlafaxina e reduzir a formação do seu principal metabólito, O-desmetilvenlafaxina. Assim, a combinação desses fármacos pode produzir elevação da pressão arterial (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Os efeitos mais comuns da Bupropiona incluem cefaléia, insônia, inquietação, agitação e irritabilidade. Convulsões podem ocorrer e são doses-dependentes.

Alguns estudos referentes a implicações da administração aguda (20 e 60mg/kg) de Bupropiona na memória relatam em efeito positivo de melhora do desempenho cognitivo, no modelo esquiva inibitória em ratos (BARRA *et al.*, 2002).

A potencialização das vias dopaminérgicas e colinérgicas muscarínicas sobre os receptores D₁, respectivamente, apresentam diferentes respostas no processamento e evocação da memória sendo que:

Vias dopaminérgicas agindo sobre receptores D₁ (IZQUIERDO, 2002)

- Facilitam a memória de trabalho agindo no córtex pré-frontal;
- Inibem a formação de memória de curta duração na região CA1 do hipocampo e no córtex entorrinal;
- Facilitam a memória de longa duração por ações sobre CA1, córtex entorrinal e córtex parietal. Estes efeitos são exercidos durante as primeiras 6 horas depois da aquisição no córtex entorrinal, e entre 3 e 6 horas depois da aquisição no hipocampo e no córtex parietal.
- Facilitam a evocação agindo simultaneamente sobre CA1, córtex entorrinal, córtex parietal e córtex cingulado anterior.

Vias colinérgicas agindo sobre receptores muscarínicos (IZQUIERDO, 2002)

- Facilitam a memória de trabalho por uma ação sobre o córtex pré-frontal;
- Facilitam a formação de memórias de curta e longa duração por ações sobre o CA1, córtex entorrinal ou córtex parietal posterior nos primeiros momentos de sua formação.
- Facilitam a evocação por ação sobre CA1, córtex entorrinal, córtex parietal e córtex cingulado anterior.

1.4 Combinando antidepressivos

Combinações de antidepressivos são estratégias muitas vezes utilizadas na depressão resistentes. A combinação que envolve IMAOs é mais perigosa, devido aos riscos de encefalopatia hipertensiva. Por vezes, lança-se mão da combinação de tranilcipromina com amitriptilina ou nortriptilina, evitando-se outros antidepressivos tricíclicos (ADTs), principalmente clomipramina. Nessas combinações, ambas as drogas são iniciadas com baixas doses, simultaneamente, procedendo-se a aumentos graduais da posologia. Outras combinações, que serão aqui estudadas envolvem ISRS com Venlafaxina, ISRS com Bupropiona e Venlafaxina com Bupropiona (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

As combinações de antidepressivos não são bem estudadas do ponto de vista de evidências científicas, mas são utilizadas muitas vezes, em especial em casos de depressão resistente ou refratária.

1.5 Memória

A memória é uma função cognitiva nobre, e que permite fazermos inferências sobre o processamento de estímulos na atividade mental. Ela é dividida nas seguintes etapas denominadas: **aquisição** ou **formação**, **conservação** e **evocação** de informações. A aquisição é também chamada de aprendizagem: só se “grava” aquilo que foi aprendido. A conservação ou retenção é a capacidade de formar arquivos, ou armazenar informações com relevância ontogenética e filogenética para o indivíduo. A evocação é também chamada de recordação, lembrança e recuperação, ou seja, a habilidade de trazer a consciência arquivos anteriormente analisados. Só lembramos aquilo que gravamos aquilo que foi aprendido. A capacidade de memorizar relaciona-se intimamente com o nível de consciência, com atenção e com o interesse afetivo. Para Izquierdo (2002), “somos aquilo que recordamos (ou que, de um modo ou de outro, resolvemos esquecer)”.

O rendimento funcional das funções cognitivas, dentre elas a memória, é considerado um importante fator de avaliação da qualidade de vida (QV) subjetiva de cada indivíduo. O bom desempenho da capacidade mnemônica esta presente, como um dos componentes integrantes do bem-está biopsicossocial determinados pela Organização Mundial de Saúde (OMS). (CRUZ *et al.*, 2010)

Os índices de QV abrangem as percepções do indivíduo sobre si e sobre o meio que o envolve. Assim, as medidas de QV estão sendo cada vez mais usados na avaliação do desempenho funcional, ensaios com drogas, aprovação de novos medicamentos, avaliação de manejos de medicamentos e programas de reabilitações.

1.5.1 Tipos de memória

Há tanto tipos de memória possíveis como os de experiências e insights. Porém, é útil classificá-las de acordo com sua função, conteúdo e duração.

A memória de trabalho ou memória operacional constitui a interfase entre a percepção da realidade pelos sentidos e a formação ou evocação de memórias. Neurônios do córtex pré-frontal antero-lateral reconhecem início e o fim de cada experiência e os distingue do meio. Isso é feito com a intervenção de circuitos que ligam o córtex pré-frontal com o córtex temporal inferior, principalmente o entorrinal, o hipocampo e a amígdala basolateral. O funcionamento desses circuitos é rápido, e, assim, o cérebro reconhece se a informação que está sendo colhida no momento é nova e importante e/ou requer uma resposta imediata ou não. A memória de trabalho é basicamente “on-line” e dura segundos ou no máximo de 2 a 3 minutos. (BUENO *et al.*, 2004)

A memória de trabalho não forma arquivos duradouros e não deixa traços bioquímicos. É, portanto, funcionalmente distinta das demais formas ou tipos de memória. Ela depende da transmissão glutamatérgica por receptores AMPA e da atividade elétrica de células piramidais no córtex pré-frontal (IZQUIERDO *et al.*, 2004) . É modulada localmente por mecanismos colinérgicos muscarínicos e dopaminérgicos envolvendo receptores D₁. A memória de trabalho pode ser medida como memória imediata. De fato, para muitos autores, os termos memória imediata, memória operacional e memória de trabalho são sinônimos. Muitos reconhecem a memória de trabalho como o grande sistema “gerenciador” de informações do cérebro, já que ela literalmente decide que memórias vão se formar e evocar (GAZZANIGA *et al.*, 2006).

As áreas responsáveis pela memória de trabalho são o córtex pré-frontal antero-lateral, o córtex orbitofrontal e suas conexões, via córtex entorrinal, com o hipocampo, a amígdala, o córtex temporal inferior e a córtex parietal associativo (PINEL, 2005).

As memórias podem ser referentes a fatos e conhecimentos, memória semântica, ou memória episódica ou autobiográfica referente ao histórico do eu. O conjunto das memórias semânticas e autobiográficas costuma ser chamado de memória declarativa, já que os humanos os podem afirmar sua existência. Esse termo carece de sentido quando aplicado a animais (KOLB *et al.*, 2001).

Processamento das memórias declarativas envolve o hipocampo, o córtex entorrinal, regiões vizinhas do córtex temporal inferiores e várias outras áreas corticais. Entre as memórias declarativas, as mais aversivas, emocionais são fortemente pelos núcleo basal e lateral do complexo amigdalino, na ponta do lobo temporal (amígdala basolateral).

As memórias de procedimento sensoriais ou motoras denominam-se memória procedurais. As memórias procedurais são processadas predominantemente pelo neo-estriado e pelo cerebelo e por sistemas a eles associados, em uma fase inicial de sua formação, envolvem também o hipocampo e suas conexões (IZQUIERDO, 2011).

Do ponto de vista de sua duração, as memórias são classificadas em duas grandes categorias: as de **curta duração** (minutos, poucas horas) e as de **longa duração** (dias, semanas, anos). Essa classificação é particularmente importante para as memórias declarativas, cujas formas de longa duração levam várias horas para serem consolidadas. A consolidação ou formação de memória é um dos aspectos-chaves com que elas sejam muito mais lábeis pouco depois de sua aquisição do que horas ou dias mais tarde (YUDOFISKY *et al.*, 2006).

A memória de curta duração (MC) permite que os indivíduos possam evocar cada memória enquanto sua versão definitiva ainda não está consolidada, processo que pode durar várias horas (3-6 horas). A existência da memória de curta duração foi postulada por James em 1980. Há dados que sugerem que ela é crucial para a compreensão da linguagem oral ou escrita, o que aponta para uma interação cognitiva importante com a memória de longa (ML) (IZQUIERDO *et al.*, 2004).

A MC é regulada nos primeiros minutos após a aquisição por receptores dopaminérgicos D₁, β-noradrenérgicos, serotoninérgicos 1A e colinérgicos muscarínicos CA1 do hipocampo e no córtex entorrinal e parietal posterior (KANDEL, 2003).

As MLs levam tempo para serem consolidadas (± 6 horas). Nas primeiras horas são lábeis e susceptíveis à interferência por numerosos fatores, entre eles a uma variedade enorme de drogas ou mesmo as ocorrências de outras memórias. Esses fatores podem anular completamente a gravação que está sendo feita nesse momento e fazem com que o indivíduo perca a memória que acaba de adquirir (IZQUIERDO, 2002).

Assim como na MC, a ML é fortemente modulada por receptores dopaminérgicos D₁, β-noradrenérgicos, serotoninérgicos 1A e colinérgicos muscarínicos CA1 do hipocampo e no córtex entorrinal, cíngulo e parietal posterior.

A estimulação de receptores glutamatérgicos pós-sinápticos dos tipos AMPA, NMPA e metabotrópicos tem ação modulada positivamente (facilitada) por receptores colinérgicos muscarínicos, dopaminérgicos D₁ e β-noradrenérgicos, e negativamente (inibida) por receptores serotoninérgicos do tipo 1^a (KANDEL *et al.*, 2004)

Diferentemente da ML, a MC é bastante resistente a muitos dos agentes que afetam os mecanismos da memória de longa duração. O resultado geral dessa modulação costuma ser a pouca importância dos fatores emocionais mediados por essas vias na regulação da memória de curta duração.

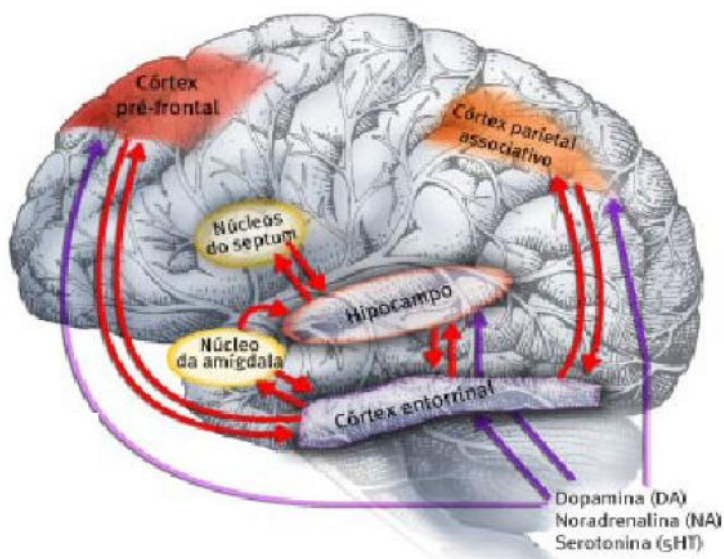
A diferença entre os dois tipos de memória (de curta e de longa duração), que faz com que sejam sensíveis a diferentes tratamentos neuroquímicos e respondam a processos distintos não reside no seu conteúdo cognitivo, que é o mesmo, mas sim nos mecanismos subjacentes. Esses mecanismos envolvem a ativação de diferentes tipos de receptores neurais, diferentes substratos protéicos em diferentes áreas cerebrais (IZQUIERDO, 1999).

O córtex pré-frontal antero-lateral participa da formação da MT e ML por meio dos receptores AMPA modulados por receptores colinérgicos muscarínicos e dopaminérgicos D₁. Não participa, entretanto, da formação da MC duração (IZQUIERDO *et al.*, 2002a)

As principais áreas responsáveis pelas memórias declarativas sejam elas episódicas ou semânticas, são o hipocampo, o córtex entorrinal e as conexões deste com o resto do neocórtex. O hipocampo recebe e emite fibras ao córtex entorrinal, que, por sua vez, tem

conexões de ida e volta com vários núcleos da amígdala e com as diversas regiões neocorticais (Figura 4). Por outro lado, há conexões intrínsecas dentro do hipocampo, da amígdala, do córtex entorrinal, nas diversas áreas corticais, no neo-estriado e no cerebelo.

Figura 4: Principais áreas cerebrais envolvidas na formação das memórias declarativas de curta e longa duração e suas principais projeções



Linhas vermelhas mostram as interconexões entre as áreas cerebrais, linhas roxas mostram as projeções das ações dos neurotransmissores sobre as mesmas áreas cerebrais.
Fonte: (IZQUIERDO,1999).

A perda de memória denomina-se amnésia. A perda relacionada com traumatismos ou intoxicação, mencionada anteriormente, denomina-se amnésia retrógrada, porque abrange o período anterior à ação do agente patogênico. Na verdade, esse tipo de amnésia se trata de um déficit de gravação. Nesse tipo de amnésia, podem ocorrer déficits que abrangem períodos de meses ou anos, em que, por lesão de áreas como hipocampo ou córtex entorrinal, o indivíduo efetivamente perde a lembrança de dias inteiros de sua vida ou de segmentos grandes de seu acervo cognitivo, como, por exemplo, nome de pessoas ou objetos, um idioma, os conhecimentos referentes a uma profissão ou ofício, a existência e/ou o rosto de pessoas. A impossibilidade de adquirir memórias novas denomina-se amnésia anterógrada (BUENO *et al.*, 2004).

Amnésias anterógradas são as anormalidades predominantes no que se refere a déficits induzidos por drogas psicoativas, como ansiolíticos (benzodiazepínicos), antipsicóticos (predominantemente típicos) e antidepressivos (KANDEL *et al.*, 2001; ORTIZ *et al.*, 2005).

Possíveis déficits na aquisição e evocação de novas memórias foi o principal foco desta pesquisa experimental, a partir do uso de diferentes manejos de drogas antidepressivas rotineiramente utilizadas na prática clínica.

1.5.2 Modulação da memória

Os principais sistemas moduladores da formação de todo e qualquer tipo de memória são os neurônios *GABAérgicos*, agindo sobre os receptores tipo A: no hipocampo, córtex entorrinal, córtex cingulado, córtex parietal e amígdala para memórias declarativas; no estriado e no cerebelo para memória procedurais; e no córtex pré-frontal para memória de trabalho. Em todos os casos, os receptores GABA_A são um freio instantâneo para o procedimento da atividade elétrica normal, vinculada ou não com a memória, de todas essas regiões (IZQUIERDO *et al.*, 2004).

Tanto a memória de curto, como a de longa duração são inibidas, durante as suas formações, pela ativação do receptor GABA_A.

A segunda linha de moduladores são as vias dopaminérgicas, noradrenérgicas, serotoninérgicas e colinérgicas do cérebro, agindo respectivamente sobre os receptores D₁, β, 5-HT_{1A} e muscarínicos. Essas vias têm pouca ou nenhuma importância na regulação da consolidação de memórias procedurais. A colinérgica muscarínica e a dopaminérgica D₁ modulam a memória de trabalho no córtex pré-frontal e, no caso da primeira, também na amígdala basolateral. (KANDEL, 2009)

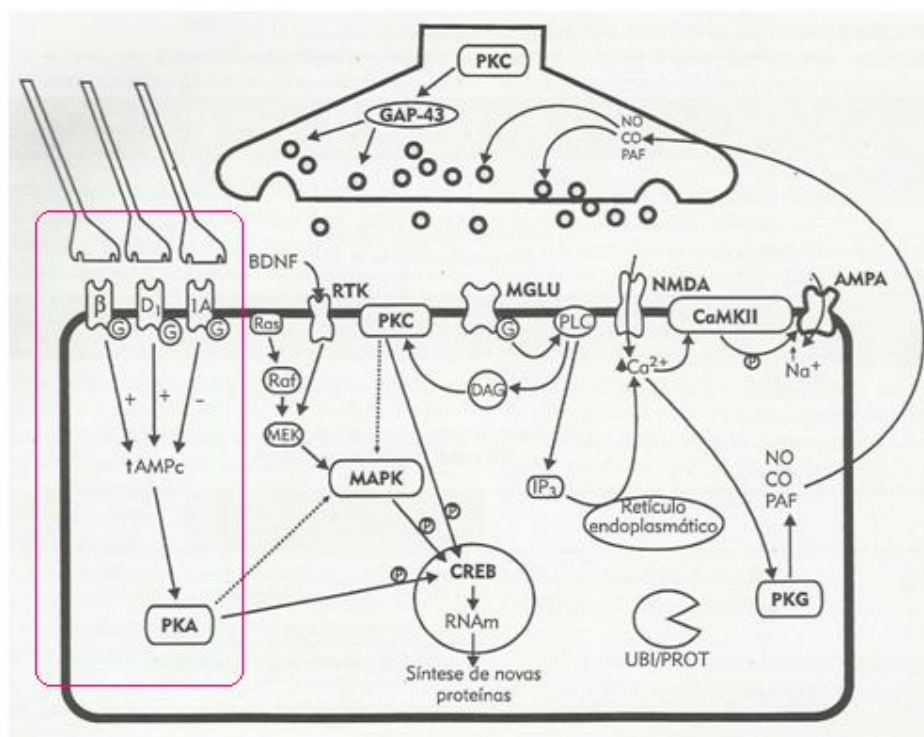
Nas memórias declarativas, todas as vias mencionadas são fortemente moduladoras da formação tanto da memória de curta como de longa duração. A memória de curta duração é regulada nos primeiros minutos após a aquisição por receptores dopaminérgicos D₁, β-noradrenérgicos, serotoninérgicos 1A e colinérgicos muscarínicos na região CA1 do hipocampo e no córtex entorrinal e parietal posterior. O efeito das diversas vias é complexo, e receptores de uma das estruturas têm, habitualmente, efeitos opostos nas restantes. O resultado geral dessa modulação costuma ser a pouca importância dos fatores emocionais

mediados por essas vias na regulação das memórias de curta duração (KANDEL AND SQUIRE, 2003)

A memória de longa duração é fortemente modulada por receptores dopaminérgicos D_1 , β -noradrenérgicos, serotoninérgico 1A, e colinérgico muscarínicos na região CA1 do hipocampo, no córtex entorrinal, cíngulo e parietal posterior. Pelos menos as três primeiras vias exercem sua modulação via regulação da adenilato ciclase, enzima intervém na síntese de AMPc e, assim, regula a atividade da PKA; a acetilcolina possivelmente as diferentes formas de PKCs. Nos primeiros minutos da consolidação, talvez o principal mecanismo modulador sejam os receptores β -noradrenérgicos no complexo basolateral da amígdala, dependente do AMPc e da PKA. A influência das vias mencionadas é exercida no córtex entorrinal ininterruptamente durante as primeiras 6 horas após a aquisição, no córtex parietal entre as 3 e as 6 horas no hipocampo e m dois picos, coincidentemente com os picos de PKA: logo após a aquisição e, novamente, entre 3 e 6 horas mais tarde (QUEVEDO *et al.*, 2003)

A terceira linha de moduladores da consolidação da memória atua basicamente só sobre a consolidação de memórias de longa duração e está composta por alguns neuromoduladores (β -endofinas cerebral, agindo sobre a amígdala e o septo medial; a vasopressina e vários outros peptídeos cerebrais, assim como os benzodiazepínicos endógenos, agindo sobre estas estruturas e o hipocampo) e por vários hormônios periféricos. Destacam-se os chamados “hormônios do estresse”, que são o ACTH, os glicocorticóides e a adrenalina, a noradrenalina e a vasopressina circulantes. Todos esses hormônios agem através do complexo basolateral da amígdala; os glicocorticóides de maneira de maneira direta, por meio de receptores próprios, e as demais substâncias por mecanismos β -noradrenérgicos dessa estrutura (IZQUIERDO *et al.*, 2004).

Figura 5: Componentes das vias neuroquímicas de modulação das diferentes fases da memória – **Aquisição, Conservação e Evocação**



Fonte: (IZQUIERDO *et al.*, 2002).

Os diversos tipos de memória declarativa podem, com isso, sofrer influências dos mais diversos fármacos psicotrópicos utilizados em transtornos neuropsiquiátricos de grande incidência epidemiológica em todo o mundo.

Na evocação participam pelo menos seis estruturas cerebrais interligadas; o córtex pré-frontal, o hipocampo, o córtex entorrinal, parietal e cingulado anterior e a amígdala, parietal e cingulado anterior e a amígdala basolateral. Essa fase requer, no hipocampo e no córtex entorrinal, ativação de receptores glutamatérgicos metabotrópicos e AMPA; no córtex cingulado anterior, receptores metabotrópicos e NMDA; e no córtex parietal, os três tipos de receptores metabotrópicos (GAZZANIGA *et al.*, 2006).

Os processos de evocação são regulados em todas as estruturas mencionadas pelas vias colinérgicas, dopaminérgicas, noradrenérgica e serotoninérgicas centrais, agindo sobre os receptores muscarínicos, D₁, β e 5-HT_{1A}, respectivamente. Os três primeiros facilitam, e o último inibe a evocação. A amígdala basolateral desempenha um papel modulador na hora da

evocação, mediado por receptores glutamatérgicos AMPA e sinapses β -noradrenérgicos na amígdala basolateral. (IZQUIERDO *et al.*, 2002b)

O que analisamos nesta pesquisa foram os possíveis déficits cognitivos de memória declarativa (memória espacial e aversiva), pelo uso crônico de diferentes manejos de drogas antidepressivas (monoterapia e combinação de antidepressivos) usualmente prescritas na prática clínica.

Partimos do pressuposto de que diferentes antidepressivos (combinados ou não) com diferentes mecanismos de ação sobre o SNC podem influenciar, de formas diferentes os processos de aquisição, retenção e evocação da memória em seus usuários.

Utilizamos para isso, métodos de análises comportamentais (modelos experimentais cognitivos) e marcadores da ação enzimática no SNC (BDNF e anticolinesterase).

1.5.3 Métodos experimentais para avaliação da memória

Podemos fazer inferências sobre a capacidade de aquisição, retenção e evocação dos diferentes sistemas de memória, principalmente, através de métodos experimentais, ou seja, modelos animais e testes neuropsicológicos com alta validade de fase e de constructo em ambos os métodos.

Nossa pesquisa utilizou-se de dois modelos experimentais de diferentes tipos de memória em ratos tratados com diferentes drogas antidepressivas. Esses diferentes sistemas de memória levam em consideração a discriminação de diferentes estímulos e a emissão de diferentes respostas condicionadas. São eles:

1.5.3.1 Memória espacial – sensopercepção de si e do mundo externo

A memória espacial pode ser definida como a função do cérebro responsável pelo reconhecimento, codificação, armazenamento e recuperação de informações espaciais sobre o arranjo de objetos ou rotas específicas. Está relacionada com a resposta para a questão geral “onde”? e “onde” pode significar diferentes coisas para os seres vivos. Onde estou? Onde dói? Onde esta minha casa? Etc. Cognição espacial é obtida através do comportamento exploratório, um comportamento instintivo e amplamente preservado em todas as espécies animais inclusive o homem (PAUL *et al.*, 2003).

O conceito de espaço, para análises da atividade cerebral, tem pelo menos duas dimensões: o espaço corporal de si que inclui a localização de estímulos corporais, o conhecimento da posição dos membros; e o espaço externo a si (SHARMA *et al.*, 2010).

Segundo o modelo proposto por Olton (1979). As informações obtidas dessas fontes são organizadas e utilizadas por dois tipos de processos: **estratégias egocêntricas e allocêntricas**: (CAMPOS; SAITO, 1985)

Estratégias egocêntricas: informações fornecidas por sinais ou posições corporais, independente das informações espaciais. O animal usa o próprio corpo como ponto central de referência.

Estratégias allocêntricas: informações fornecidas pelo ambiente espacial “pistas”. A localização de um alvo em particular é estabelecida através de um sistema de coordenadas que são independentes ao do observador.

Estratégias allocêntricas são exemplos de comportamentos positivos de uma efetiva análise das coordenadas visuo-espaciais do ambiente realizados pelo animal em experimento e devem ser reforçadas, nos modelo de memória espacial. Estratégias egocêntricas são exemplos de comportamentos de orientação secundarias voltada para a orientação do próprio corpo no espaço, e não para as coordenadas visuo-espaciais externas. Estratégias egocêntricas não foram reforçadas no desenho experimental da nossa pesquisa.

Estudos mostram que as descargas neuronais nas regiões CA1 e CA3 do hipocampo estão relacionadas com o processo de aquisição de orientações espaciais do indivíduo. Além disso, outros estudos têm demonstrado a relação desses padrões de descarga com a conformação espacial do objeto no ambiente, ou com as dimensões do campo de exploração. Em termos gerais a área mesial do lobo temporal é necessária para aprendizagem da memória espacial. (PAUL *et al.*, 2003; SHARMA *et al.*, 2010)

Não há evidências científicas solidas sobre as áreas envolvidas no processo de retenção e recuperação das variedades de informações espaciais.

Estudos neuropsicológicos atestam que lesões no lobo temporal posterior direito são responsáveis por alterações na orientação allocêntrica, enquanto que a orientação egocêntrica é preservada (BUENO *et al.*, 2004; CARLSON, 2002) .

1.5.3.2 Memória emocional – Influência do nível de alerta, ansiedade e do estado de ânimo

A modulação da aquisição e das fases iniciais da consolidação ocorre basicamente ao mesmo tempo, e é difícil distinguir uma da outra. Ela envolve dois aspectos: 1) distingue as memórias com maior carga emocional das demais e faz com as primeiras sejam mais bem gravadas; 2) em determinadas circunstâncias, acrescenta informações neuro-humoral ou hormonal ao conteúdo das memórias (ANDRADE *et al.*, 2004).

O núcleo-chave na modulação das fases iniciais da consolidação é a região basolateral do núcleo amigdalino. Essa estrutura envia fibras ao córtex modulador. A amígdala basolateral responde a numerosos estímulos periféricos tanto sensoriais como hormonais e vegetativos. (MCGINTY, 1999). O córtex entorrinal atua como um processador intermediário de informações que dirige: a) ao hipocampo para seu processamento em termos de consolidação de memória de curta ou longa duração, e/ou de evocação; b) à amígdala basolateral para sua análise em termos de nível de alerta ou de emoção.

A amígdala basolateral modula não somente memórias declarativas que se consolidam no hipocampo, como também memórias procedurais processadas no núcleo caudado (PACKARD *et al.*, 1994). Ela utiliza para o seu papel modulatório sinapses colinérgicas, feitas por fibras provenientes do núcleo basal de Meynert, e β -noradrenérgicas, feitas por fibras provenientes do *locus ceruleus*. Estes sistemas são ativados pelo nível de alerta do indivíduo (maior nível de alerta, maior ativação) e pela capacidade de provocar aversão dos estímulos externos e internos. Neste último aspecto, provavelmente predomina a utilização das sinapses β -noradrenérgicas (CAHILL *et al.*, 1998). Há também terminações dopaminérgicas e serotoninérgicas na amígdala: estas estão envolvidas na percepção da ansiedade e na geração da resposta a mesma. Há, por último, fibras procedentes do hipotálamo que liberam β -endorfinas sobre as sinapses noradrenérgicas da amígdala (IZQUIERDO, 1989). É possível que estas estruturas também tenham relação com a modulação da fase inicial das memórias da amígdala, mas têm sido menos estudadas a este respeito do que outras.

Sabe-se há muito anos que o alerta, a ansiedade e o estresse são acompanhados de um aumento do tônus simpático, que acarreta uma liberação de noradrenalina das terminações dos nervos simpáticos para o sangue. Sabe-se, também, que o alerta, a ansiedade e o estresse

causam a liberação de hormônios adrenocorticotróficos (ACTH) pela hipófise anterior, de glicocorticóides pelo córtex da supra-renal, de adrenalina pela medula da supra-renal e de vasopressina pela hipófise posterior. O nível sanguíneo destas substâncias correlaciona-se com o estado do sujeito. Assim, aumenta à medida que o alerta aumenta e se confunde já em com um grau moderado de ansiedade, continua aumentando à medida que a ansiedade cresce, até o ponto de se confundir com o estresse, e aumenta ainda mais à medida que o estresse se intensifica. O efeito de todas essas substâncias na aquisição ou na fase inicial da consolidação (primeiro 5-10 minutos) é aumentá-la até certo nível, e, a partir deste, quando a ansiedade é intensa e começa o que poderíamos denominar estresse, o de diminuir a consolidação. (ALMEIDA, 2006)

Os hormônios mencionados são denominados por muitos “hormônios do estresse”, embora sua liberação acompanhe não só o estresse, mas também níveis menores de ativação nervosa generalizada: o **alerta**, a **ansiedade** e o que já pode ser denominado de **estresse**. De um ponto de vista psiquiátrico, é claro que as três condições apresentam-se rodeadas de uma sintomatologia que as torna bem diferente entre si. O alerta não causa “sintomas”, mas sim respostas generalizadas como um aumento do tônus muscular, taquicardia, uma leve elevação da pressão arterial, certa dilatação pupilar (midríase), além da aparição de um eletroencefalograma caracterizado por ondas pequenas de alta frequência (DUMAN *et al.*, 1999). Todas essas características acentuam-se na ansiedade, e muito mais ainda do estresse, até alcançar proporções extremas, porém já ligadas a um conjunto de sintomas psíquicos característicos e muitos deles dignos de tratamento. Esse efeito modulador da ansiedade e os níveis de consolidação e evocação da memória podem ser representados na **Curva de Yerkes-Dodson** (Figura 6). Nesta curva as funções mnemônicas requerem certo nível de ansiedade ou estresse para o seu correto desempenho, mas falham se esse nível for muito alto.

Figura 6: Curva de Yerkes-Dodson



Os eixos verticais representam o nível de consolidação ou de evocação; o eixo horizontal representa o nível de ansiedade ou estresse o nível de ativação monoaminérgica após sua liberação endógena ou sua administração. As funções mnemônicas requerem um certo nível de ansiedade ou estresse para seu correto desempenho, mas falham se esse nível for muito alto.

O papel da amígdala é crucial nas memórias de eventos de alto conteúdo emocional, de aversão ou não. Os indivíduos com lesões da amígdala basolateral são incapazes de lembrar corretamente os aspectos mais emocionantes de textos ou de cenas presenciadas. A região da amígdala apresenta, em sujeitos normais, uma hiperativação quando estes são submetidos a textos ou cenas emocionantes ou capazes de produzir um maior grau de alerta.(LEDOUX, 2002)

Além da intervenção da amígdala basolateral, a fase inicial da consolidação da memória de longa duração é mediada por receptores dopaminérgicos tipo D1, β -adrenérgicos e serotoninérgicos tipo 1A localizados no córtex entorrinal. Esses receptores respondem a terminações de axônios procedentes da substancia negra, do *locus ceruleus* e dos núcleos da rafe, respectivamente. Os receptores D1 e β do córtex entorrinal atuam aumentando a atividade da adenilil ciclase, a enzima que produz AMPc e regula indiretamente a atividade PKA, enzima que usa AMPc como cofator. Os receptores 1A têm o efeito contrário. As vias dopaminérgicas e serotoninérgicas não têm nenhum papel importante na regulação da fase

inicial da consolidação da memória de longa duração no hipocampo, no córtex parietal e na amígdala basolateral (IZQUIERDO *et al.*, 2000).

Amígdala basolateral

- Modula a memória utilizando sinapses colinérgicas muscarínicas e β -noradrenérgicas, através de suas projeções à área CA1 do hipocampo e do córtex entorrinal;
- Age sobre a fase inicial de consolidação da memória de longa duração. Através das sinapses colinérgicas, também regula a memória de trabalho;
- É ativada por alguns neuromoduladores centrais (vasopressina) e inibida por outros (β -endorfinas, ocitocina);
- É ativada pelo tônus simpático e por noradrenalina e adrenalina, glicocorticóides, vasopressina e adrenocorticotrofina circulantes (hormônios do estresse).

O modelo experimental da **esquiva passiva** é um método amplamente utilizado na literatura, para investigar se determinadas manipulações experimentais em animais são capazes de interferir com os processos mnemônicos. Esse método baseia-se no condicionamento clássico pavloviano. Há um pareamento simples de um estímulo neutro associado com um estímulo aversivo, provocando respostas características do medo.

As tarefas de condicionamento de medo ao estímulo discreto e condicionamento de medo ao contexto constituem um “par” de tarefas que dependem de diferentes estruturas cerebrais e podem ser utilizadas para estudos de diferentes tipos de memória. Sabe-se que a amígdala é uma região extremamente importante e necessária para as reações de medo, tanto inatas, como aprendidas e os tipos de condicionamento clássico de medo dependem da integridade dessa região (LEDOUX *et al.*, 2004). Já o hipocampo é necessário apenas para o condicionamento ao contexto, possivelmente devido a sua função geral sobre o processamento de informações espaciais e formação de mapas cognitivos. Manipulações do hipocampo, portanto, afetam apenas respostas condicionadas ao contexto, sem interferir com as respostas condicionadas a estímulos aversivos. Já qualquer manipulação da amígdala afetará os dois tipos de condicionamento (LEDOUX *et al.*, 2004).

1.6 BDNF e Acetilcolinesterase - Marcadores neuroquímicos

Nos últimos anos, pesquisas têm focado outros mecanismos de ação do tratamento antidepressivo além da ação dos receptores de monoaminas. Estes estudos têm identificado adaptações da sinalização de proteínas intracelular (BDNF e AChE) e genes alvos que possam contribuir para a ação do tratamento antidepressivo (SHIRAYAMA *et al.*, 2002; AYDEMIR *et al.*, 2004).

Brain derived neurotrophic factor (BDNF) é uma molécula de interesse significativo para inúmeros transtornos psiquiátricos, como depressão, ansiedade e dependência de drogas. O BDNF, como a maioria das neurotrófinas, é responsável pela sobrevivência neuronal, desenvolvimento e plasticidade (SHEKETHA *et al.*, 2011).

Atua como um modulador de alguns neurotransmissores, na potenciação de longa duração nos processos de aprendizagem e memória. O BDNF é um “marcador” da sobrevivência dos neurônios colinérgicos, dopaminérgicos e serotoninérgicos.

Estudos mostram que há um aumento, ou manutenção dos níveis de BDNF em pacientes com depressão maior, quando tratados cronicamente com antidepressivos e, com isso, preservando as funções cognitivas (ANILKUMAR *et al.*, 2010; AYDEMIR *et al.*, 2004; SHIRAYAMA *et al.*, 2002; SHIMIZU *et al.*, 2003).

Colinesterases são enzimas que podem ser divididas em duas classes com base nas diferenças de suas especificidades de substratos e distribuição de tecidos, são elas; **Acetilcolinesterase** (AChE) e **Butirilcolinesterase** (BChE). A hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) no SN é considerado uma das reações enzimáticas mais eficientes. Essas enzimas podem ser inibidas por vários compostos tais como antidepressivos (SUNANDA *et al.*, 2000).

Há relatos em vários estudos que mostram a inibição da acetilcolinesterase (AChE) pela ação de diferentes fármacos como anti-hipertensivos, anti-inflamatórios, anti-psicóticos e, principalmente antidepressivos melhorando a transmissão colinérgica muscarínica e, com isso, melhorando o desempenho nas tarefas mnemônicas (AHMED *et al.*, 2007; SUNANDA *et al.*, 2000).

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Para Parra (2003) há fortes indicações de que os déficits de memória fazem parte da ação central de todo medicamento psicotrópico. Neste contexto, a memória deve ser entendida como um traço deixado no cérebro, não só por experiências individuais, mas também por fatores genéticos e experiências epigenéticas, um traço que os antidepressivos podem modificar através de processos de neuroplasticidade.

Os antidepressivos são fármacos amplamente utilizados, não só na terapêutica da depressão, como também no tratamento de outros transtornos psiquiátricos. Os mecanismos de ação molecular das drogas antidepressivas interagem sobre os principais receptores dos neurotransmissores (dopaminérgicos D_1 , β -noradrenérgicos, serotoninérgico 1A, e colinérgico muscarínicos) responsáveis pela modulação dos principais subtipos de memória declarativa (memória de trabalho, de curta duração e longa duração).

No contexto atual da assistência médica gerenciada, o custo do tratamento para problemas de saúde mental como a depressão pode se tornar um alvo fácil para as políticas de contenção de custos. No entanto, na tomada de decisões políticas, devem ser levados em conta os benefícios econômicos do tratamento da depressão, tais como redução dos dias de trabalho perdido e maior produtividade. É importante aumentar o reconhecimento da depressão pela população em geral e pelos profissionais de saúde, especialmente em cuidados primários, que servem como porta de entrada para a assistência gerenciada, para que mais pessoas que precisam de tratamento para a depressão o recebam.

3. OBJETIVOS

Os objetivos desta pesquisa terão como principais fundamentos teóricos a Farmacodinâmica dos antidepressivos, a Psicologia Experimental e a Neurociência Cognitiva.

3.1 Objetivo geral

Estudar os efeitos cognitivos e neuroquímicos entre diferentes combinações de antidepressivos em ratos Wistar.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos da associação entre diferentes antidepressivos na atividade exploratória de ratos pelo teste do campo aberto;
- Analisar os efeitos da combinação entre diferentes antidepressivos na aprendizagem e memória espacial de ratos no modelo do labirinto radial de 8 braços;
- Analisar os efeitos da combinação entre diferentes antidepressivos na memória aversiva de ratos no modelo de esquiva passiva.
- Quantificar os níveis de BDNF no hipocampo de diferentes grupos com antidepressivos e associá-las aos desempenhos mnemônicos.
- Quantificar a atividade da enzima anticolinesterase no hipocampo de diferentes grupos com antidepressivos e associá-las aos desempenhos cognitivos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local

O estudo será realizado no Laboratório de Neuropsicofarmacologia, extensão do laboratório de Neurofarmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará – UFC, na cidade de Fortaleza – CE.

4.2 Animal de estudo

Sujeitos desses experimentos foram 70 (setenta) ratos Wistar machos, com 2 à 3 meses de idade e 220 à 280g de peso obtidos no biotério do departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará – UFC. Mantidos em temperatura ambiente entre 26 á 30° C. Foram obedecidos todos os protocólogos sugeridos pelo comitê de ética em pesquisa experimental, da referida faculdade.

Os animais foram alojados em grupo de 5 ratos por gaiolas de polipropileno (40 X 40 X 17 cm) com a água e comida *ad libitum*, em um biotério mantido em ciclo claro-escuro de 12 horas, com temperatura mantida em 25 (± 2 C°).

4.3 Grupos experimentais

Quadro 1 – Grupos Estudados

Grupos - Antidepressivos Monoterapia / Terapia combinada	
1	Grupo controle – submetidos à administração i.p de solução salina durante 15 dias
2	Grupo Paroxetina - submetidos à administração i.p na dose de 20mg/Kg de Paroxetina durante 15 dias
3	Grupo Venlafaxina - submetidos à administração i.p na dose de 20mg/Kg de Venlafaxina durante 15dias
4	Grupo Bupropiona - submetidos à administração i.p na dose de 20mg/Kg de Bupropiona durante 15 dias
5	Grupo Paroxetina + Venlafaxina – submetidos á administração i.p na dose de 10mg/Kg de Paroxetina + 10mg/Kg de Venlafaxina durante 15 dias
6	Grupo Paroxetina + Bupropiona - submetidos á administração i.p na dose de 10mg/Kg de Paroxetina + 10mg/Kg de Bupropiona durante 15dias
7	Grupo Venlafaxina + Bupropiona - submetidos á administração i.p na dose de 10mg/Kg de Venlafaxina + 10mg/Kg de Bupropiona durante 15 dias

A associação entre as diferentes doses administradas nos diferentes grupos de manejos de antidepressivos, referente a monoterapia e/ou a terapia combinada, procurou minimizar os possíveis efeitos da síndrome serotoninérgica nos animais estudados. A síndrome serotoninérgica é compreendida como uma urgência médica caracterizada por uma elevação exacerbada de serotonina na fenda sináptica ocasionando: agitação, nervosismo, náuseas, vômitos, ataxia, mioclonias, tremor, convulsões, coma e em casos mais graves levar a morte do indivíduo.

Nos grupos usuários de terapia combinada de antidepressivos, as doses de cada diferente antidepressivo foram reduzidas pela metade. Com esta atitude, procuramos dar ênfase aos diferentes mecanismos de ação das diferentes drogas combinadas, e não aos efeitos dose-dependente associadas a uma possível síndrome serotoninérgica.

Durante a elaboração do projeto de pesquisa, tínhamos definido que as dosagens diárias dos grupos usuários de diferentes antidepressivos receberiam as seguintes dosagens/dia:

Quadro 2 – Doses iniciais dos grupos

Grupos - Antidepressivos Monoterapia / Terapia combinada
Grupo controle – submetidos à administração i.p de solução salina durante 15D
Grupo Paroxetina - submetidos à administração i.p na dose de 20mg/Kg de Paroxetina durante 15D
Grupo Venlafaxina - submetidos à administração i.p na dose de 20mg/Kg de Venlafaxina durante 15D
Grupo Bupropiona - submetidos à administração i.p na dose de 20mg/Kg de Bupropiona durante 15D
Grupo Paroxetina + Venlafaxina – submetidos á administração i.p na dose de 20mg/Kg de Paroxetina + 20mg/Kg de Venlafaxina durante 15D
Grupo Paroxetina + Bupropiona - submetidos á administração i.p na dose de 20mg/Kg de Paroxetina + 20mg/Kg de Bupropiona durante 15D
Grupo Venlafaxina + Bupropiona - submetidos á administração i.p na dose de 20mg/Kg de Venlafaxina + 20mg/Kg de Bupropiona durante 15D

Entretanto, na dose dupla de 20mg/Kg de dois antidepressivos administrados na terapia combinada, os grupos usuários desenvolveram sintomas da chamada **síndrome serotoninérgica**, como convulsão, levando ao óbito em alguns animais.

A redução da dose diária nos grupos usuários da terapia combinada se fez necessária. Entretanto o princípio da investigação dos diferentes mecanismos de ação dos antidepressivos sobre a memória foi preservada.

4.4 Equipamentos

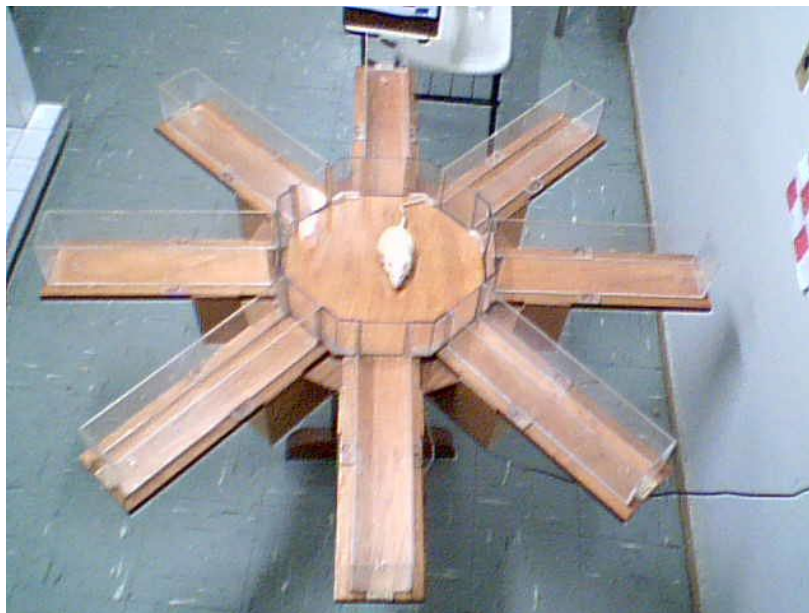
Equipamentos	Origem
Balança analítica	Modelo H5, Mettler, Suíça
Balança para animais	Filizola ID-1500 – (Brasil)
Banho Maria	Modelo 102/1, FANEN, SP, Brasil
Centrífuga refrigerada	Modelo 215 – <i>Fanem</i> (Brasil)
Cronômetro	Incoterm, Brasil
Guilhotina	Harvard, USA
Freezer (-75°C)	Legacy Sistem, USA
Homogeneizadores manuais	Bélico, USA
Material cirúrgico	ABC/Stark, Brasil
Sonicador	Modelo PT 110-35. Brinkman, USA
Espectrofotômetro	<i>UV/Visível Modelo DR5000</i>
Leitor de microplacas para teste Elisa	ANTHOS 2010
Campo aberto para ratos	Fabricação própria
Labirinto radial de 8 braços	Insight, Brasil
Esquiva passiva	Insight, Brasil

4.4.1 Memória Espacial – Labirinto radial de 8 (oito) braços (*Radial Maze-8 arms*)

Utilizou-se um **labirinto radial de 8 (oito) braços** composto por uma arena central em formato octogonal (regular) e oito braços de madeira opaca retangulares removíveis com dimensões 60cm de comprimento 12cm largura , cujas extremidades finais há uma depressão circular no assoalho, medindo aproximadamente 3cm de diâmetro e 1cm de profundidade, onde o reforço (água) será disponibilizado (Figura 7) . Na entrada de cada braço do labirinto há portas do tipo guilhotina, ligadas por fios de nylon para permitir seu controle à distância. Foram colocadas quatro “pistas” visuais equidistantes, para orientação espacial do animal em cada treino. O número de erros (entradas nos braços anteriormente visitados) cometidos pelos ratos será uma das variáveis analisadas entre os grupos do estudo, assim como o número de entradas nos braços do labirinto durante os treinos. O objetivo deste modelo é avaliação da memória de trabalho e aprendizagem em ratos, de acordo com o protocolo por Campos e

Saito (1985). Entre cada sessão, todo o labirinto foi higienizado com uma solução de álcool a 20% e secado com toalha papel.

Figura 7 – Labirinto radial de 8 (oito) braço



4.4.2 Memória Aversiva – Esquiva Passiva (*Passive avoidance*)

Teste baseado no método de DeNOBLE e cols (1989), para análise de memória por condicionamento comportamental simples. Após 15 (quinze) dias de administração contínua dos antidepressivos testados, os animais foram habituados ao aparelho de esquiva passiva. O aparelho consiste de uma caixa de acrílico (48 X 22 X 22), dividida em dois compartimentos, um branco (iluminado) e um preto (escuro), separados por uma janela, (com o piso eletrificado) (Figura 8). O animal foi deixado para ambientação no aparelho durante 1 (um) minuto, e retirado. Após 30 (trinta) segundos colocado no compartimento iluminado, este ao entrar no compartimento escuro recebeu um choque cuja corrente elétrica de 1,0 mA durou 1 segundo, com tempo de latência para entrar sendo registrado, até um máximo de 300 segundos (treino). O animal foi retirado e após 15 minutos o mesmo foi recolocado no compartimento claro e foi repetido o procedimento (avaliação da MC). A retenção, ou ML foi testada após 24hs da mesma maneira descrita para a MC. Entre cada sessão, os todos os compartimentos de acrílico foram higienizados com uma solução de álcool a 20% e secado com toalha papel.

Trata-se de um dos modelos experimentais mais simples de condicionamento ao comportamento de esquiva, ou seja, hesitação diante de um estímulo aversivo associado a uma experiência reconhecidamente “desagradável”. Neste modelo, analisamos a resposta mnemônica do animal diante do estímulo neutro pareado com o outro estímulo aversivo.

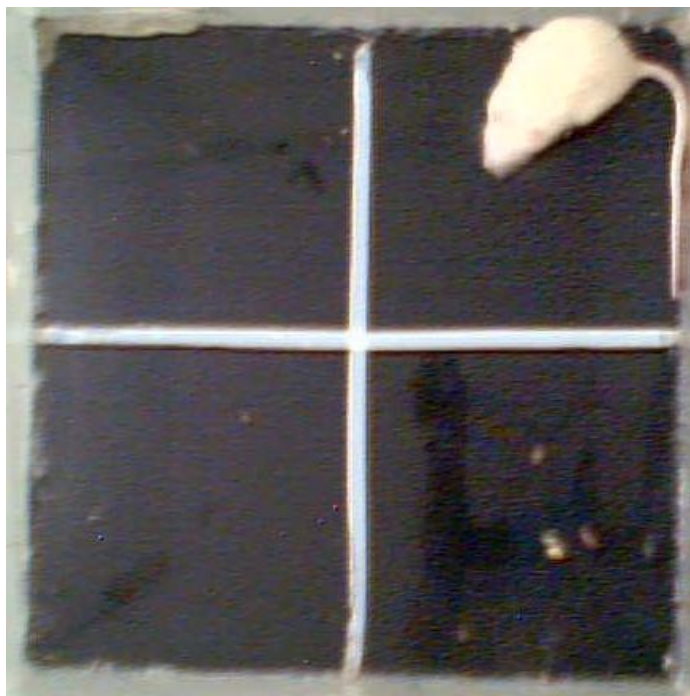
Figura 8 – Teste de Esquiva Passiva



4.4.3 Avaliação da atividade exploratória- Teste do campo aberto

Para avaliação da atividade exploratória, utilizou-se o **teste de campo aberto** para rato feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) dividido em 4 (quatro) quadrantes iguais (Figura 9). A metodologia de Archer (1973) será utilizada para avaliar a atividade exploratória do animal. Os principais parâmetros para observação serão: número de cruzamentos com as quatro patas (movimentação espontânea) nos quadrantes, número de comportamentos de autolimpeza (“grooming”), número de levantamentos (“rearing”), assim como o tempo em que permanece parado (imobilidade) e a sua defecação, como índice de emocionalidade, registrados durante um tempo de 4 minutos. Entre cada sessão, os quadrantes de acrílico foram higienizados com uma solução de álcool a 20% e secado com toalha papel.

Figura 9 – Campo Aberto



4.5 Cronograma de aplicação de cada modelo comportamental

4.5.1 Treinamento experimental

Todos os ratos dos grupos usuários de antidepressivos passaram pelas 5 fases da experimentação do estudo. Serão fornecidas as condições ambientais típicas do hábitat do sujeito experimental para a realização dos experimentos, como:

Ausência de luzes fortes.

Ausência, máxima possível, da interferência do pesquisador durante o set de realização dos testes comportamentais – todos os experimentos comportamentais foram observados através de sistema de vídeo (câmera/computador).

Apenas, no máximo, dois pesquisadores, manipularam os animais em estudo.

Houve privação controlada do reforço (água) fornecida aos ratos em todos os grupos, evitando assim, perdas acentuadas de peso e interferências emocionais superiores – 1 (um) dia de privação antes do experimento de memória espacial.

4.5.2 Fase 1: Manipulação

A manipulação prévia dos animais reduz a neofobia, facilitando o treinamento. Cada sessão de manipulação consistirá em segurar o animal, passando-o de uma mão para outra algumas vezes e simulando os movimentos a serem efetuados durante a fase de treino. A duração desta fase será em média de 2 dias e cada animal deve ser manipulado durante 5 -10 minutos por dia.

4.5.3 Fase 2: Pré-exposição aos aparelhos

Os animais devem ser submetidos a no mínimo 2 dias de pré-exposição, que consiste na simples permanência dos animais aos aparelhos, com acesso, tanto aos quadrantes do campo aberto, como a todos os braços do labirinto radial por 10 minutos em cada. O objetivo desta fase é possibilitar aos animais a exploração e a familiarização com os instrumentos, permitindo inclusive que adquiram informações sobre os ambientes que auxiliem posteriormente no desempenho da tarefa. Nesta fase o reforço não deve ser oferecido dentro do aparelho radial.

4.5.4 Fase 3: Atividade exploratória – Campo Aberto

Esse será o primeiro teste aos quais serão submetidos os ratos do grupo controle e os usuários de drogas antidepressivas. A tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do conflito com o medo provocado pelo ambiente novo.

4.5.5 Fase 4: Avaliação da memória visuo-espacial – Labirinto radial de 8 braços

4.5.5.1 Fase 4a: Treinamento da memória de trabalho – oito braços reforçados

Nesta situação todos os oito braços do labirinto radial recebem reforço (água) no início de cada tentativa. O animal é colocado no centro da plataforma. Nesse momento, as portas em guilhotinas que dão para os braços estão fechadas. O animal é retido na plataforma central por um período de 5 a 10 segundos, findos os quais se abrem todas as portas concomitantemente. Após a entrada do animal em um braço (com as 4 patas), a porta deve ser fechada. O animal é retido no braço até consumir o reforço, quando, então, abre-se a respectiva guilhotina permitindo ao animal retornar a plataforma central. Depois do retorno à plataforma central, decorre um intervalo de 5 a 10 segundos antes que as portas sejam reerguidas novamente. Caso o animal cometa um erro de reentrar num braço previamente visitado, ele deve

permanecer no interior do braço por um período de no mínimo 20 segundos, passados os quais a porta é aberta, permitindo que o animal retorne à plataforma central. Essa permanência no braço, sem receber água, serve como reforço negativo e acelera o processo de aprendizagem da tarefa. O teste termina quando a água em todos os braços for consumida ou então que 10 minutos tenha se passado, aquilo que ocorrer primeiro. Serão realizadas 5 sessões diárias e contínuas em cada animal até o critério de três sessões consecutivas com um erro ou menos. O treinamento será encerrado em 20 sessões para animais que não atingirem o critério. A execução deste treinamento, pelo animal, será o pré-requisito para a próxima fase da avaliação cognitiva.

Durante a fase de aquisição ou aprendizagem avaliamos o desempenho da memória de trabalho ou imediata nos ratos de cada grupo.

4.5.5.2 Fase 4b: Teste de evocação da memória – com intervalo de retenção

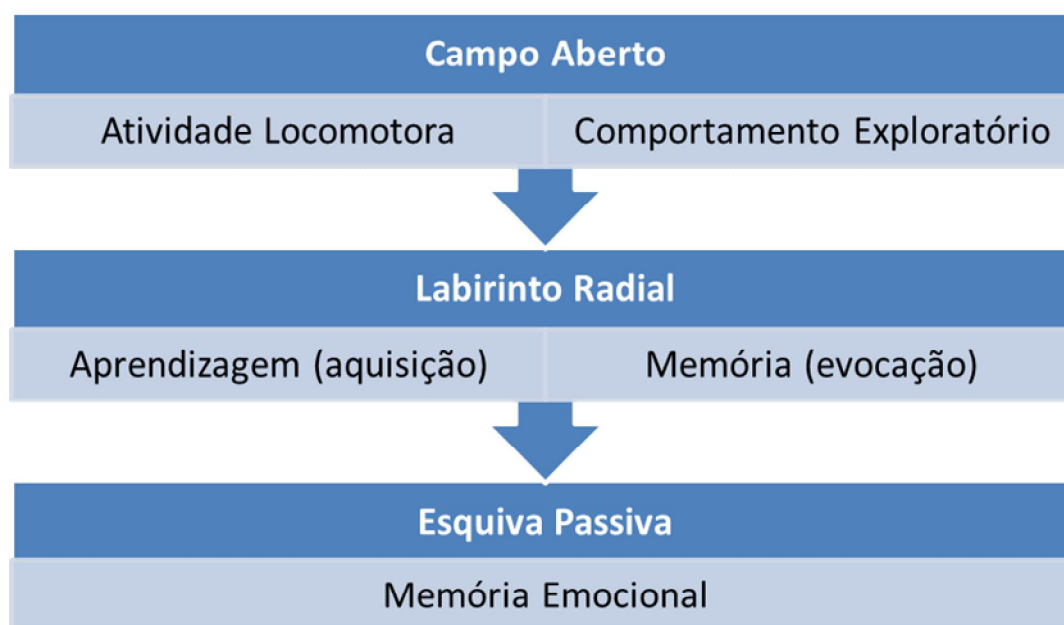
Neste teste será incorporado um intervalo de retenção de 5 **minutos** assim que 4 dos 8 braços reforçados tiverem sido escolhidos. Durante esse intervalo, os animais serão mantidos na arena central. O reforço consumido no período anterior não será repostado. Decorrido o intervalo de retenção o animal pode voltar a escolher livremente em quais braços do labirinto entrará. Reentradas em braços já visitados no período anterior ao intervalo de retenção deve ser considerado como erro de memória operacional, pois nestes não mais haverá reforço.

Na fase de evocação avaliamos o desempenho das memórias de curta e de longa duração de orientação visuo-espacial nos animais de cada grupo. O referencial da resposta comportamental a ser evocado, nessa fase, foi o critério aprendido durante a fase de aquisição ou aprendizagem, ou seja, o rato não pôde reentrar em um braço já visitado anteriormente.

4.5.6 Fase 5: Avaliação da memória emocional – Esquiva Passiva

A fase de avaliação da memória aversiva foi a última a ser aplicada em cada animal, justamente, por proporcionar maior desconforto ansiogênico durante o pareamento dos estímulos (neutro associado ao aversivo). Após 15 minutos da aquisição do condicionamento entre os dois estímulos, avaliamos o tempo de retenção do rato no compartimento claro e demarcamos a MC duração, e após 24 horas do pareamento dos mesmos estímulos repetimos o experimento e demarcamos a ML duração.

Figura 10: Sequência dos modelos experimentais aplicados nos grupos de ratos usuários de diferentes antidepressivos e os seus respectivos tipos de comportamentos avaliados.



4.6 Análise bioquímica – Níveis de BDNF E ACHE

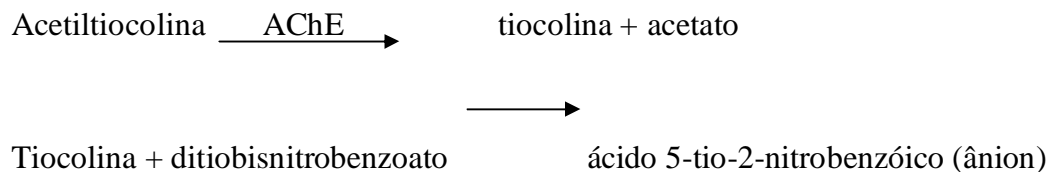
Doze horas após a avaliação comportamental, os ratos foram sacrificados e seus cérebros foram retirados. Posteriormente, foram dissecados sobre placa fria o hipocampo dos animais de todos os grupos estudados. As amostras foram armazenadas em papel de alumínio a -70°C para análise posterior. Os tecidos foram pesados individualmente e homogeneizados em metal vidro por 10 segundos a 18.000 revoluções por minuto em 1.200 (peso: volume) do tampão fosfato salina (PBS) 0,1M, pH 7,3 com 1% de Triton X-100 a 4°C . O homogenado foi então centrifugado por 15 minutos 10.000 rpm (centrifuga HIMAC-CR20B2).

4.6.1 Determinação da atividade da enzima acetilcolinesterase

4.6.1.1 Método

A atividade da acetilcolinesterase cerebral (AChE) foi medida de acordo com o método descrito por Ellman *et al.* (1961). O método é baseado na medida da velocidade de produção da tiocolina à proporção que a acetiltiocolina (ATC), utilizada como substrato, é hidrolisada. Isto é acompanhado pela reação contínua do tiol com o íon 5:5'-ditio-bis-2 nitrobenzoato, para produzir o ânion amarelo do ácido 5-tio-2nitrobenzóico. A atividade enzimática foi medida através da variação da absorbância, durante 3 minutos, sendo a reação linear durante pelo menos 10 minutos. As leituras das absorbâncias foram feitas em 412 nm. A atividade específica foi expressa em nmoles de ATC hidrolisado por miligrama de proteína por minuto.

Reação:



4.6.2 Procedimento experimental

Os tecidos (HPs) foram homogeneizados em tampão fosfato (pH 8,0; 0,1 M) 10 % e o homogenato (5 µL) foi adicionado a uma cubeta contendo 500 µL do tampão, 895 µl de água destilada e 50 µL de ácido ditiobisnitrobenzóico (DTNB) 0,01M e a absorbância zerada. Após a absorbância ser deixada em zero a cubeta foi retirada e acrescentado iodeto de acetiotiocolina 0,075 M e a absorbância foi registrada por 3 min em 412 nM. A atividade da enzima foi calculada como modificações na absorbância do minuto 3 para o minuto 0, relativo ao conteúdo de proteína contido no homogenato (Lowry et al., 1951). O procedimento completo foi feito em um espectrofotômetro Beckman DU 640B ajustado para um comprimento e onda de 412 nM.

Soluções reagentes

- ⇒ **Solução do ácido 5-tio-2 nitrobenzóico, DTNB** (Sigma, St Louis, MO, USA) em 10 mM de tampão fosfato de sódio
- ⇒ **Solução de iodeto de acetiltiocolina, ATC** (Sigma, St Louis, MO, USA) 75 mM em água bidestilada
- ⇒ **Tampão fosfato de sódio: Na_2HPO_4** (Reagen, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), 0,1 N em água bidestilada, pH 8,0.

Cálculo:

Δ densidade ótica (DO)/ 4 min

Coefficiente de extinção do ânion amarelo formado – 0,0136 $\square\text{M}$

Quantidade de tecido – determinação da proteína Lowry

Volume final na cubeta – 1,5 mL

$$\frac{\Delta (\text{DO}) / 4 \text{ min}}{0,0136} \times 1,5 = \text{Atividade da AChE em nmoles/ mg de tecido/ min}$$

Os níveis de BDNF foram determinados pelo teste de imunoenensiao Elisa anti-BDNF sanduíche (Quantikine® BDNF Immunoassay), de acordo com as instruções do fabricante (R&D Systems, Minneapolis, USA). Resumidamente, os homogeneizados padrões (62.5 – 4,000 pg/mL) em duplicadas, foram pipetadas dentro de microplacas (96 poços) pré-revestidas com anticorpo monoclonal específica para BDNF. Níveis de BDNF presentes foram, então, ligados pelo anticorpo imobilizado. Um anticorpo monoclonal enzima-ligante específico para BDNF foi adicionado aos poços. Após uma lavagem para remoção de qualquer impureza entre o reagente anticorpo-enzima, uma solução de substrato foi adicionada aos poços e a tonalidade da cor demarcou a quantidade de BDNF ligado a etapa

inicial. As mudanças de tonalidades da cor foram interrompidas e a intensidade da cor medida em 30 minutos, usando uma leitora de microplacas ajustadas para 450 nm. O total da proteína foi medido pelo método de Bradford.

4.6.3 Método Bradford

Preparação da curva padrão;

Prepara 200 μ L de uma solução BSA a 1mg/mL e, a partir dessa solução, proceder as diluições seriadas de H₂O (MILLI-Q) para obtenção das demais concentrações (0,5 mg/mL; 0,25 mg/mL e 0,125 mg/mL) procedendo como demonstrado no esquema abaixo. Utilizando ponteira limpa para cada diluição.

Preparação do Branco;

Adicionar em um tubo de microcentrífuga 800 μ L água Milli-Q e 200 μ L reagente de Bradford.

Preparação da amostra:

Adicionar em um tubo de microcentrífuga 10 μ L de amostra diluída (1:10 ou mais) 790 μ L água Milli-Q e 200 μ L reagente de Bradford.

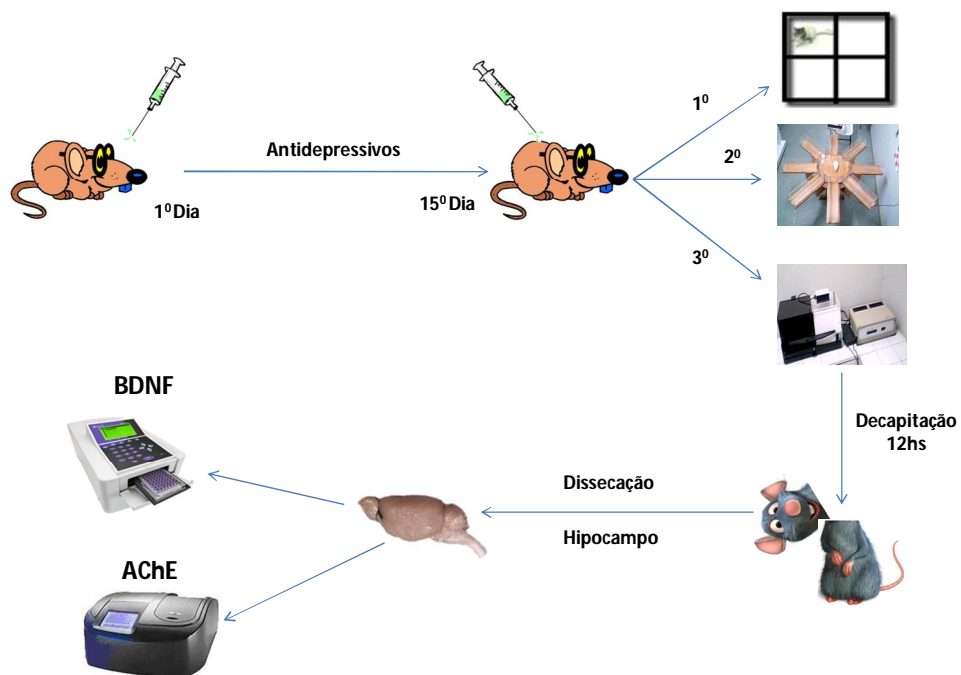
Incubar as reações dos procedimentos 1, 2 e 3 a temperatura ambiente por 5 minutos e medir a Abs_{595nm}.

Quantificação;

- Utilizando o espectrofotômetro *UV/Visível Modelo DR5000*:
- Selecionar “Protein Assay Analysis” “Method”: Bradford Lab;
- Posicionar as cubetas da curva padrão no espectrofotômetro em ordem crescente de concentração e proceder a leitura.
- Após determinação da curva padrão, clicar em “Mode” e selecionar “Samples”.
- Posicionar as cubetas contendo as amostras e proceder a leitura, lembrando de alterar o fator de diluição de acordo com a diluição da amostra.

4.7 Esquema de execução laboral

Figura 11: Sequência de execução operacional do estudo - realizada em todos os grupos de animais usuários de diferentes antidepressivos; monoterapia, ou terapia combinada.



5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças entre os grupos serão avaliadas através da Análise de variância (ANOVA) e teste *Mann–Whitney* com teste *post hoc* para as metodologias comportamentais e ANOVA com teste de Student Newman Keuls como teste *post hoc* para as metodologias neuroquímicas, com significância de $p < 0,05$. Para a análise será utilizado o programa de computador *Graph Pad Prism 5.0*.

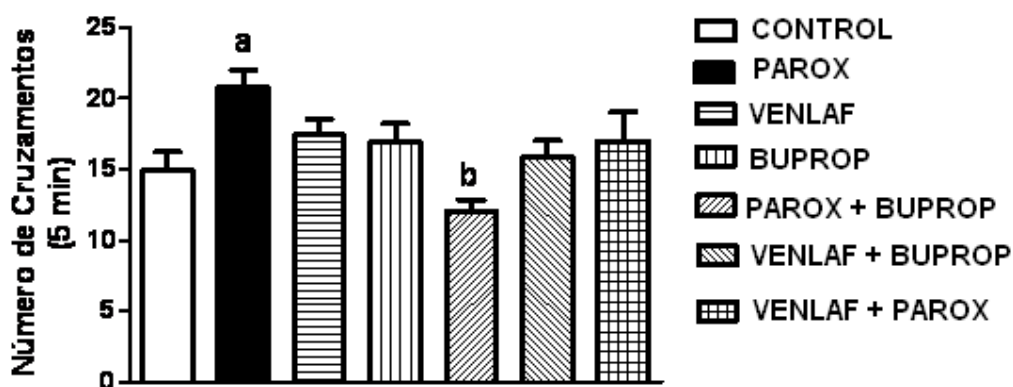
6. RESULTADOS

Após o término do tempo de administração dos fármacos, observamos o desempenho nas diversas tarefas mnemônicas dos grupos usuários de diferentes combinações de diferentes antidepressivos, assim como também o desempenho em tarefas que medem a atividade exploratória.

Os estudos comportamentais, de cada modelo experimental, foram realizados como descritos anteriormente. Os resultados são apresentados como a média \pm EPM observados no número de animais em parênteses.

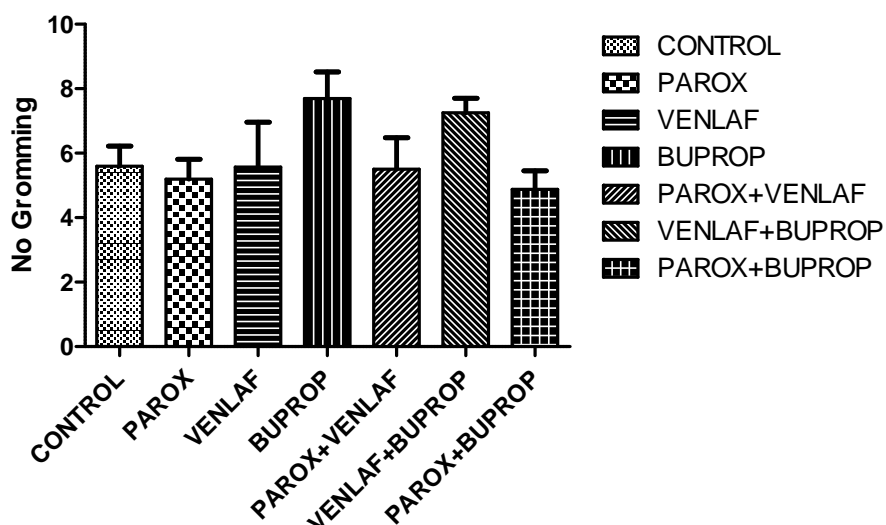
6.1 Efeitos do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na atividade locomotora de ratos pelo teste do campo aberto

Figura 12: Teste da atividade locomotora/exploratória



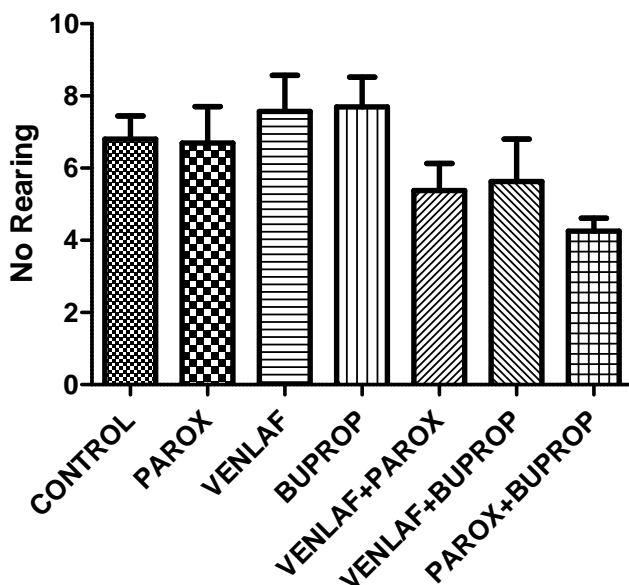
Após a administração crônica de antidepressivos, avaliamos o comportamento exploratório dos ratos. O número de cruzamento de quadrantes realizados pelos ratos usuários de diferentes antidepressivos por 15 dias.

Figura 13: Número de Grooming – comportamento de auto-limpeza



Após a administração de antidepressivos, avaliamos a atividade locomotora dos ratos. O número de realizações desse comportamento pelos ratos usuários de diferentes antidepressivos comparados ao grupo controle.

Figura 14: Número de Rearing – comportamento de reconhecimento:



Após a administração de antidepressivos, avaliamos a atividade exploratória dos ratos. O número de realizações desse comportamento pelos ratos usuários de diferentes antidepressivos comparados ao grupo controle.

No teste do campo aberto apenas o grupo usuário da Paroxetina ($20,80 \pm 3,85$) apresentou um aumento significativo ($p < 0,001$) do número de cruzamentos em relação ao grupo controle ($14,90 \pm 3,85$), enquanto que o grupo usuário de Paroxetina associado à Bupropiona ($12 \pm 2,50$) reverteu o aumento da atividade locomotora do grupo da Paroxetina ($20,80 \pm 3,85$) provocando uma redução do número de cruzamento da mesma.

6.2 Efeitos do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na memória espacial de ratos no teste do labirinto radial (*radial maze*)

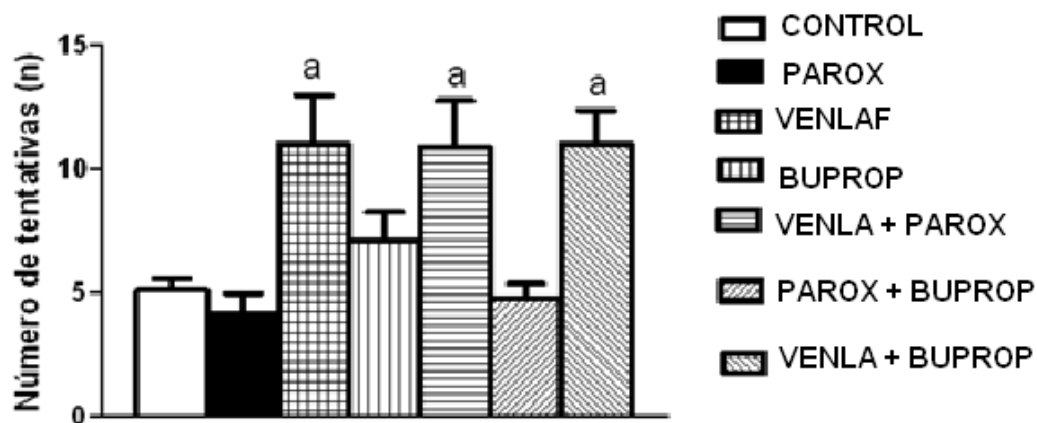
O modelo do Labirinto radial é dividido em duas etapas que possibilitam a análise do desempenho de importantes fases do processamento mnemônico; a fase de aquisição, ou aprendizagem (Figura 12) e a fase de evocação de estímulos visuo-espaciais (Figura 4). A avaliação do desempenho cognitivo dos grupos usuários de diferentes antidepressivos revelou diferentes alterações mnemônicas nos diferentes subtipos de memória declarativa – MT (Figura 15) e MC e ML (Figura 16).

A Figura 3 mostra que os animais dos grupos Venlafaxina ($11 \pm 4,85$), Venlafaxina associada à Paroxetina ($10,88 \pm 5,30$) e Venlafaxina associada à Bupropiona ($11 \pm 3,85$) apresentaram número de tentativas de treinos significativamente ($p < 0,001$) maior comparado ao desempenho dos animais do grupo controle ($5,11 \pm 1,36$). O aumento do número de tentativas nos grupos analisados demonstra um maior déficit de aprendizagem e de memória de trabalho no desempenho dos animais treinados, enquanto os animais tratados durante 15 dias com Paroxetina ($4,14 \pm 2,19$), Bupropiona ($7,1 \pm 3,66$) sozinha e Paroxetina associada à Bupropiona ($4,75 \pm 1,75$) não apresentaram alterações do número de tentativas quando comparados ao grupo controle ($5,11 \pm 1,36$).

Após atingir o critério de aprendizagem, 15 (quinze) minutos depois os animais foram avaliados quanto à memória de curta duração. Os grupos usuários dos antidepressivos Venlafaxina ($2,16 \pm 1,47$), Venlafaxina associada à Paroxetina ($2,85 \pm 1,35$) e Venlafaxina associada à Bupropiona ($2,62 \pm 1,76$) não apresentaram alterações significantes ($p < 0,001$) no número de erros de reentrada em braços já visitados em comparação ao grupo usuário da solução salina ($2,25 \pm 1,58$). Enquanto que os usuários dos antidepressivos Paroxetina ($3,11 \pm 1,69$), Bupropiona ($4,9 \pm 2,99$) e Paroxetina associada à Bupropiona ($4,12 \pm 2,58$) apresentaram um número significativamente ($p < 0,001$) maior de erros em relação ao grupo

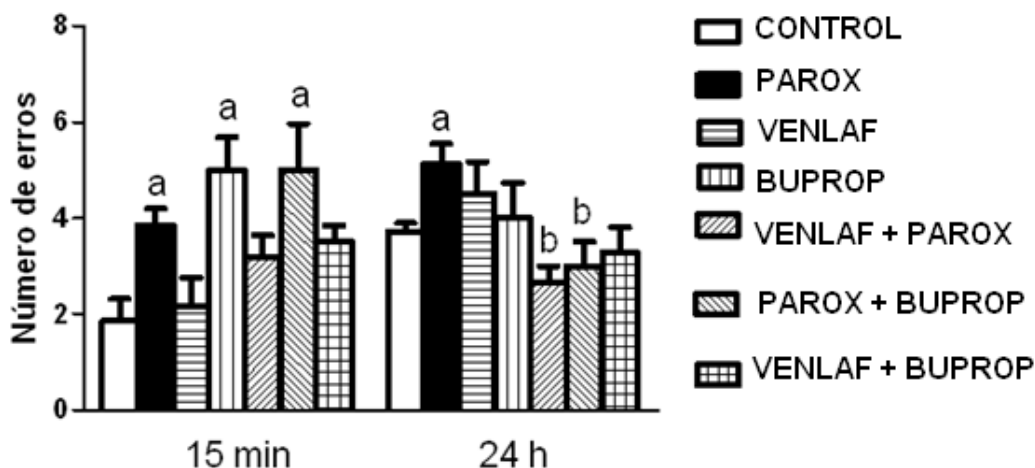
controle ($2,25 \pm 1,58$). O aumento do número de erros de reentradas em braços já visitados nos grupos analisados demonstra um maior déficit na memória de curta duração (Figura 13).

Repetimos o mesmo experimento de memória 24 horas depois de o animal ter atingido o mesmo critério de aprendizagem, para avaliarmos a memória de longa duração. Os grupos usuários de Venlafaxina ($4,5 \pm 1,64$), Bupropiona ($4 \pm 2,3$) e Venlafaxina associada à Bupropiona ($2,87 \pm 1,72$) não apresentaram alterações no número de erros de reentradas significativamente ($p < 0,001$) diferente do grupo controle ($3,11 \pm 1,36$). O grupo usuário de Paroxetina ($4,4 \pm 1,50$) apresentou um número significativamente ($p < 0,001$) maior de erros em relação ao grupo controle ($3,11 \pm 1,36$). Os grupos usuários de Venlafaxina associada à Paroxetina ($2,66 \pm 0,85$) e Paroxetina associada à Bupropiona ($3,12 \pm 2,16$) apresentaram um número de erros significativamente ($p < 0,001$) menor quando comparados ao número de erros na Paroxetina ($4,4 \pm 1,50$). Assim como a avaliação do desempenho da memória de curta duração, o aumento do número erros de reentrada em braços já visitados pelos grupos de animais estudados, também demonstra um maior déficit na memória de longa duração.

Figura 15: Fase de treino/aquisição

Número de tentativas para aprendizagem de critério de avaliação em ratos no Labirinto radial -MT. Ratos Wistar macho (220-280 mg; 90 dias) foram submetidos a administração (ip) de diferentes antidepressivos (20mg/kg) ou injeção salina 0,9% (volume equivalente crônico) foram tratados por 15 dias. ^a vs Controle ($p < 0,01$, teste de Student Newman Keuls e Mann-Whitney).

Figura 16: Teste de memória espacial/evocação



Número de entradas nos braços já visitados pelo rato após o intervalo de retenção (5min) no Labirinto radial – MC e ML. Ratos tratados com diferentes antidepressivos por 15 D. Desempenho de MC após 15 minutos da MT e 24 horas depois avaliados a ML. ^a vs Controle; ^b vs Paroxetina ($p < 0,01$, teste de Student Newman Keuls e Mann-Whitney).

6.3 Efeitos do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na memória aversiva de ratos no teste de esQUIVA passiva (*passive avoidance*)

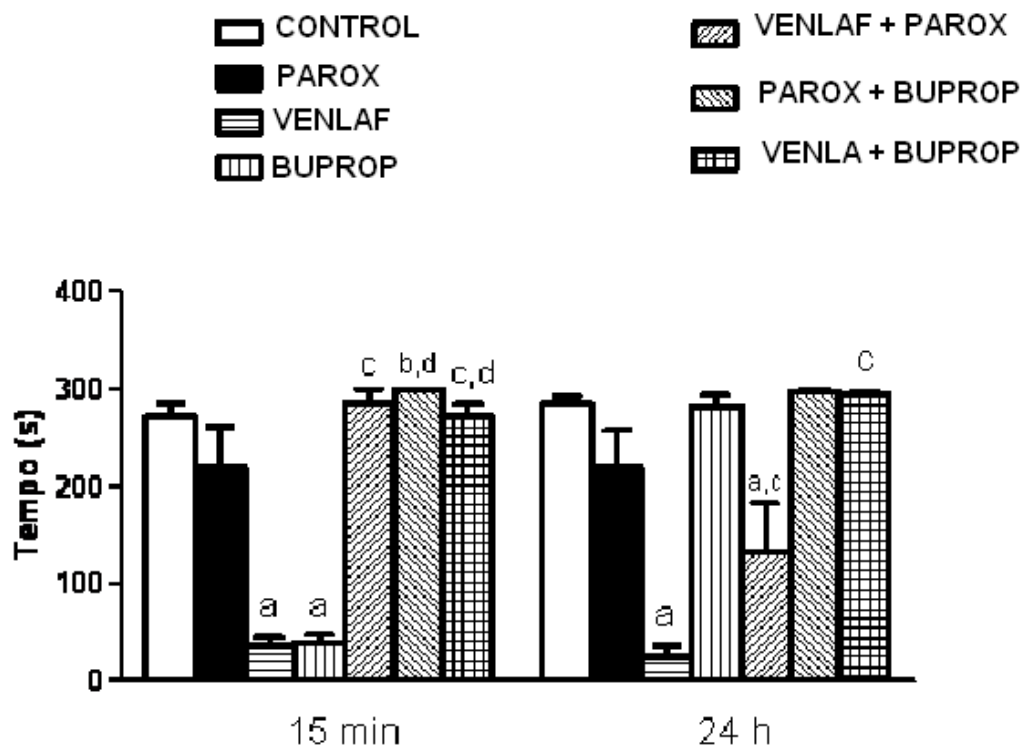
Após a fase de exposição ao estímulo aversivo, choque elétrico de corrente elétrica de 1,0 mA com duração de 1 segundo, transcorrido 15 minutos o rato é novamente colocado no compartimento claro do aparelho de esQUIVA passiva e então, registrou-se o tempo de latência da passagem do rato do compartimento claro para o compartimento escuro refere-se a MC. Repetiu-se o mesmo procedimento anterior 24 horas depois se registraram a ML em cada grupo de rato estudados.

A figura 17 mostra que na análise da MC os grupos usuários de Venlafaxina ($36,33 \pm 19,64$) e Bupropiona ($39,57 \pm 23,19$) apresentaram um tempo de latência significativamente ($p < 0,001$) menor em relação ao grupo controle ($270 \pm 37,30$). Apresentando, com isso, um pior desempenho na resposta cognitiva 15 minutos depois exposição ao estímulo aversivo (choque). Os grupos usuários de Venlafaxina associado à Paroxetina ($285,6 \pm 35,31$) e Venlafaxina associado à Bupropiona ($271,3 \pm 32,61$) apresentaram tempo de latência significativamente maior em relação ao grupo usuário de Venlafaxina

(36,33±19,64), enquanto que o grupo usuário de Paroxetina associado à Bupropiona (300±0) e apresentou tempo de latência significativamente maior em relação aos grupos usuários de Paroxetina (218,4±113,1) e Bupropiona (39,57±23,19). Nesses observou-se uma ação reversa aos déficits cognitivos de curta duração, 15 minutos após a apresentação do estímulo aversivo.

Ainda na figura 17 observamos que na análise da ML o grupo usuário de Paroxetina apresentou um aumento significativo ($p<0,001$) do tempo de latência em relação ao grupo controle. Representando, pois, uma melhora da resposta cognitiva 24 horas após a exposição do choque elétrico. Os grupos usuários de Venlafaxina associado à Paroxetina (218,1±103,6) e Paroxetina associado à Bupropiona (296,7±8,69) reverterão o aumento do tempo de latência do grupo de Paroxetina (218,1±103,6) e causou uma diminuição significativa ($p<0,001$) do tempo de permanência do rato no compartimento claro em relação ao mesmo grupo.

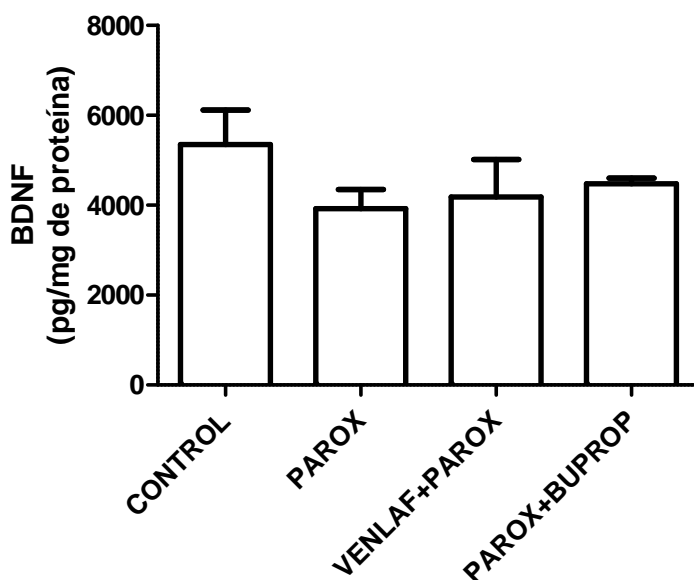
Figura 17: Teste de memória aversiva/evocação



Os ratos foram tratados diariamente durante 15 dias com os antidepressivos sozinhos ou associados. O tempo de latência para entrada do rato no compartimento escuro após intervalo de retenção de 15 minutos para MC e de 24 horas para ML foi registrado. ^{a,b,c,d} $p < 0,001$ vs controle, Paroxetina, Venlafaxina e Bupropiona, respectivamente (teste de Student Newman Keuls e Mann-Whitney).

6.4 Efeito do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na modulação da ação do BDNF no hipocampo.

Figura 18: Níveis de BDNF dos diferentes grupos

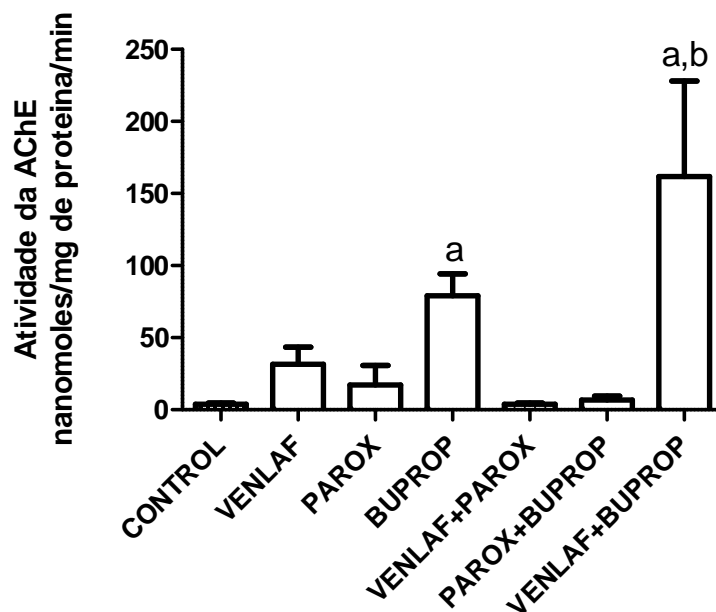


Efeitos da administração por 15 dias de diferentes antidepressivos em ratos Wistar. Os valores são em médias da proteína BDNF pg/mg \pm SEM ($p < 0,001$) no hipocampo dos grupos analisados em comparação com o grupo controle.

A dosagem dos níveis de BDNF foi realizada nos grupos de usuários de antidepressivos (Figura 18) com maiores alterações nos desempenhos das tarefas comportamentais cognitivas. Essa análise apresentou o seguinte resultado: os níveis de BDNF não apresentaram alterações significantes ($p < 0,001$) nos grupos usuários de Paroxetina ($3923 \pm 849,9$), Venlafaxina associada à Paroxetina (4185 ± 1859) e Paroxetina associada à Bupropiona ($4474 \pm 286,9$) em relação ao grupo controle (5349 ± 1712). Demonstrando que não houve alterações na modulação de fatores tróficos envolvidos nas alterações cognitivas obtidas pelos testes comportamentais.

6.5 Efeito do tratamento crônico diário dos diferentes antidepressivos na atividade enzimática da AChE no hipocampo

Figura 19: Níveis da atividade enzimática AChE nos diferentes grupos



Efeitos da administração por 15 dias de diferentes antidepressivos em ratos Wistar. Os valores são em médias da enzima AChE nM/min ($p < 0,001$) no hipocampo dos grupos analisados em comparação com o grupo controle.

A análise da atividade AChE (Figura 19) no hipocampo dos grupos usuários de diferentes antidepressivos combinados ou não revelou um aumento significativo ($p < 0,001$) da atividade enzimática nos grupos Bupropiona ($79,14 \pm 33,97$) e Venlafaxina associada à Bupropiona ($161,8 \pm 132,2$) em relação ao grupo ao grupo controle ($3,84 \pm 1,58$). O grupo Venlafaxina associada à Bupropiona ($161,8 \pm 132,2$) apresentou aumento significativo ($p < 0,001$) da atividade AChE em relação ao grupo da Paroxetina ($17,28 \pm 27,09$). Os grupos usuários de Venlafaxina ($31,53 \pm 23,66$), Paroxetina ($17,28 \pm 27,09$), Venlafaxina associada à Paroxetina ($3,85 \pm 1,81$) e Paroxetina associada à Bupropiona ($6,71 \pm 5,7$) não apresentaram alterações significativas ($p < 0,001$) na atividade da enzima em relação ao grupo controle ($3,84 \pm 1,58$).

7. DISCUSSÃO

A depressão é uma condição relativamente comum de curso crônico e recorrente. Esta frequentemente associada com incapacidade funcional e comprometimento da saúde física. Os pacientes deprimidos apresentam limitações de sua atividade e bem-estar, além de uma maior utilização dos serviços de saúde.

No entanto, a depressão segue sendo subdiagnosticada e subtratada. Entre 30 e 60% dos casos não detectados pelo médico clínico em cuidados primários. Muitas vezes os pacientes deprimidos não recebem tratamentos específicos.

No ano de 2001, a Associação Médica Brasileira (AMB) desenvolveu o projeto diretrizes, cujo objetivo foi de estabelecer condutas no reconhecimento e tratamento de uma variedade de condições médicas comuns, entre elas a depressão.

As escolhas para o tratamento farmacológico da depressão são diversas, entretanto as possíveis alterações na cognição devem ser analisadas levando-se em consideração as especificidades subjetivas de cada experiência clínica.

A memória pode ser entendida como um traço analítico deixado no cérebro, não só por experiências individuais, mas também por fatores genéticos e fenômenos epigenéticos. Pode-se considerar que o cérebro contém uma variedade de sistemas neurais, cada um dos quais é integrado por partes que trabalham juntos, para produzir um comportamento específico em comum.

Os efeitos prejudiciais das funções mnemônicas não necessariamente ou, exclusivamente são devidos a um único sistema neuroquímico, ou seja, as ações anticolinérgicas. Tem sido observado, em vários estudos, que os medicamentos sem propriedades anticolinérgicas, como administração crônica pré-treinamento de alguns IRSSs, podem causar déficits na evocação da memória.

Na nossa revisão de estudos sobre as implicações na memória pelo uso de antidepressivos encontramos trabalhos que avaliavam a administração aguda e sub-crônica de diferentes psicofármacos. Apesar desses modelos de administração não refletirem a realidade da prática clínica, eles tiveram a sua significância na determinação da extensão de possíveis déficits cognitivos em curto prazo.

Nosso estudo procurou suprir a carência por estudos envolvendo a administração crônica de antidepressivos que apesar de apresentarem maiores dificuldades no manejo experimental, podem simular a realidade clínica em seres humanos.

Em nossos resultados, no teste de aprendizagem (labirinto radial) ou aquisição de informações, relacionada à memória de trabalho observamos que houve prejuízo de desempenho nos grupos usuários de antidepressivos com pouca seletividade para recaptção de serotonina. Os grupos usuários de Venlafaxina, Venlafaxina associado à Paroxetina e Venlafaxina associado à Bupropiona apresentaram maior número de treinos, para aquisição do critério de aprendizagem. Esses dados cognitivos confirmam os resultados de outros estudos que também relataram déficits na fase aquisição da memória em ratos, após a administração crônica pré-treinamento de IRSs. (IZQUIERDO *et al.*, 1998; MONGEAU *et al.*, 1997; LAWLOR *et al.*, 1989).

Com relação à ação noradrenérgica nos usuários de antidepressivos (Bupropiona e Bupropiona associada à Paroxetina) observamos que não houve alterações significativas na fase de aquisição da memória, apesar de estudos relatarem melhora do desempenho da aprendizagem através da potencialização noradrenérgica na vias ascendentes da amígdala basolateral passando pelo hipocampo e córtex pré-frontal (BENINGER *et al.*, 2001). Resultados com a mesma significância ($p < 0,001$) foram obtidos com relação a transmissão dopaminérgica. Estudos anteriores associaram a melhora do desempenho de aprendizagem à melhora da transmissão dopaminérgica no córtex pré-frontal e de suas interações com o sistema hipocampal e com outras regiões corticais, via córtex entorrinal (GOLDMAN-RAKIC, 1996). Entretanto estudos analisando a ação dopaminérgica e noradrenérgica do Metilfenidato e Atomoxetina na memória de trabalho revelaram uma redução do BDNF e aumento da AChE no córtex pré-frontal, mas não no hipocampo dos ratos tratados (SCHERER *et al.*, 2010).

Em nosso estudo também não encontramos alterações significativas ($p < 0,001$) no BDNF das amostras do hipocampo dos grupos usuários de diferentes antidepressivos. Esses achados reforçam possíveis conclusões da importância da modulação do BDNF na fase de aquisição ou aprendizagem referente à memória de trabalho.

Um estudo de Tsai *et al.* (2003) também não encontraram alterações do BDNF em resposta ao uso de antidepressivos IRSs.

A análise do desempenho da MC, em habilidades visuo-espaciais, obtivemos déficits nos grupos usuários de antidepressivos que potencializam tanto a ação serotoninérgica, com a ação dopaminérgica. Os déficits dos grupos usuários de Paroxetina, Bupropiona e Paroxetina associado à Bupropiona confirmam também os resultados de outros estudos, que discorrem sobre a ação de agonistas dos receptores serotoninérgicos (5-HT₁) inibindo a formação da memória de curto prazo, assim como a potencialização dos receptores D₁ dopaminérgicos na região CA₁ do hipocampo. As principais referências de pesquisas anteriores demonstram que não há alterações em CA₁ pela potencialização dos receptores β -noradrenérgicos.

Já no córtex entorrinal, os receptores noradrenérgicos e os serotoninérgicos 1A favorecem a consolidação da memória de curta duração, ao passo que os dopaminérgicos D₁ inibem esse processo.

A amígdala basolateral é a estrutura que responde aos inúmeros estímulos periféricos tanto sensoriais como hormonais e vegetativos. Essa estrutura modula não somente memórias declarativas que se consolidam no hipocampo, como também memória procedurais processados no núcleo caudado. Algumas dessas memórias procedurais são respostas inatas que eliciam comportamentos ativados pelo senso de sobrevivência natural do ser vivo.

A amígdala basolateral utiliza para seu papel modulatório sinapses colinérgicas, feitas por fibras provenientes do núcleo basal de Meynert, e β -noradrenérgicos, feitas fibras provenientes do *locus cereleus*. Estes sistemas são ativados pelo nível de alerta do indivíduo (maior nível de alerta, maior ativação) e pela capacidade de provocar aversão dos estímulos externos ou internos. Neste ultimo aspecto predomina a utilização das sinapses β -noradrenérgicas. (CAHILL; MCGAUGH, 1998).

Os resultados obtidos no teste de esQUIVA passiva, avaliando componentes emocionais ligados a memória aversiva refletem a interação dos sistemas serotoninérgicos, dopaminérgicos e noradrenérgicos nas estruturas de processamento da memória.

O aumento do tempo de permanência no lado claro pelos grupos usuários Venlafaxina associada à Paroxetina, Paroxetina associada à Bupropiona e Venlafaxina associada à Bupropiona, aumentando assim, a transmissão β -noradrenérgica na região da amígdala basolateral. A potencialização da transmissão β -noradrenérgica está associada a aumento do nível de alerta e melhora do desempenho da formação e consolidação da MC e ML.

A redução do tempo de permanência dos grupos usuários de Venlafaxina e Bupropiona, apesar de estimularem a transmissão β -noradrenérgica, na dose de 20mg/kg, provavelmente, teve efeito ansiogênico que comprometeu a resposta mnemônica segundo a curva de Yerkes-Dodson. Esses dois grupos apresentaram uma redução significativa ($p < 0,001$) do tempo de permanência no compartimento claro em relação ao grupo controle, justificando um possível efeito maior da transmissão noradrenérgica. Esses resultados são reforçados em estudos sobre a modulação dos neurotransmissores na região da amígdala basolateral (ZARRINDAST *et al.*, 2003).

Os resultados que obtivemos pela análise da ação enzimática da AChE são condizentes com um aumento excessivo da transmissão dopaminérgica e noradrenérgica pelos grupos usuários de Bupropiona na dose de 20mg/Kg e Venlafaxina associado à Bupropiona. O significativo aumento da ação AChE nesses grupos em relação o grupo controle pode estar relacionado a interação Dopamina-Acetilcolina. Estudos mostram que o aumento da transmissão dopaminérgica está associado a um aumento da liberação de ACh no hipocampo ventral, apresentando um efeito dose-dependente sobre a modulação da AChE. O aumento da liberação de ACh pelo aumento da transmissão em D1 e D2 proporciona uma ação *up-regulation*, com aumento também da ação AChE.

No desempenho da ML, observamos que o déficit na formação da MC no hipocampo, pelo grupo usuário de Paroxetina, persistiu na consolidação da ML no córtex entorrinal. Esse resultado reforça o efeito inibitório da transmissão serotoninérgica nos processos mnemônicos de aquisição, formação e consolidação de informação visuo-espaciais. Apesar de alguns estudos relatarem uma facilitação da formação da MC em CA1 pela ação serotoninérgica, fica evidente que o processo de evocação mnemônica encontra-se prejudicada pela ação da mesma (MATSUKAWA *et al.*, 1997; HAWORD *et al.*, 1992) Os grupos usuários de Venlafaxina associado à Paroxetina e Paroxetina associado à Bupropiona reverteram à ação amnésica da Paroxetina no desempenho da ML duração. Esses resultados, em particular, reforçam os resultados de pesquisas anteriores que relataram a melhora da ML duração, pela potencialização da transmissão noradrenérgica e dopaminérgica, agindo na consolidação das informações em CA₁, no córtex entorrinal e parietal 24 horas após a aprendizagem visuo-espacial (FUJISHIRO *et al.*, 2005; UMEGAKI *et al.*, 2001; TZVARA *et al.*, 2006; CLINTON *et al.*, 2008; SCHERER *et al.*, 2010).

Nossos resultados mostraram que alterações nas transmissões serotoninérgicas, noradrenérgicas e dopaminérgicas não apresentaram alterações significativas nos níveis de BDNF nas amostras de hipocampo dos principais grupos usuários de diferentes antidepressivos, que mostraram alterações cognitivas. Talvez a modulação desse fator neurotrófico esteja associada a alterações moleculares psicopatológicas dos transtornos de humor e ansiedade como a depressão. Para Heldt *et al.* (2007) há uma carência de evidências moleculares de estudos sobre ansiedade e depressão induzidos pela diminuição de BDNF.

No que diz respeito ao nosso trabalho de pesquisa, fica evidente a necessidade do cuidado clínico no manejo do uso de diferentes antidepressivos. A terapia combinada faz parte de uma realidade cada vez mais constante em consultórios e ambulatórios psiquiátricos. A necessidade por mais estudos monitorando não só o efeito clínico terapêutico, mas principalmente os demais indicadores da QV dos usuários de antidepressivos combinados, se torna cada vez mais importante.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Não houve alterações da atividade locomotora na análise dos diferentes usuários crônicos de antidepressivos.

- A administração crônica de diferentes manejos de antidepressivos: monoterapia ou terapia combinada causou déficits nas diferentes fases da memória espacial: aquisição (aprendizagem), armazenamento e evocação.

- A memória aversiva (emocional) teve um desempenho favorecido pela potencialização da transmissão noradrenérgica dose dependente nos grupos avaliados.

- Os níveis de BDNF não sofreram alterações causadas após os 15 dias de administração de diferentes manejos de antidepressivos.

- A transmissão dopaminérgica e noradrenérgica apresentaram maior interação com a transmissão colinérgica. A ação dopaminérgica e noradrenérgica dose dependente, nas doses estudadas, demonstraram um efeito *up-regulation* em relação a degradação da acetilcolina, aumentando os níveis de AChE nos grupos usuários de Bupropiona e Venlafaxina associada à Bupropiona.

9. CONCLUSÕES

Concluimos que a administração crônica da monoterapia e terapia combinada de variados tipos de antidepressivos apresentaram diferentes alterações nas respostas comportamentais cognitivas.

As respostas mnemônicas diversificadas nos dois modelos experimentais de memória demonstram que a modulação de monoaminas (serotonina, noradrenalina e dopamina) é diferente no processamento de estímulos de orientação visuo-espaciais e esquiva de estímulos aversivos.

A preferência pelo uso da Venlafaxina entre elas nos transtornos de ansiedade fóbicos como fobia simples, fobia social e transtorno de estresse pós-trauma (TEPT) deve ser considerado, uma vez que, a potencialização da transmissão noradrenérgica pela Bupropiona, Paroxetina e associações favorece a manutenção do circuito da memória emocional e aumenta do risco de comportamento suicida.

Alterações no fator neurotrófico derivado do cérebro BDNF fazem parte de processos de neuroplasticidade envolvidos na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos, como a depressão. Não houve alteração dos níveis de BDNF apenas com a administração de drogas antidepressivas em diferentes combinações.

REFERENCIAS

- AGUERA, R.S.; EMILIO, R.J.; PEDRO, J.M. Potentiation strategies for treatment-resistant depression. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 112, Suppl. 428, p. 14–24, 2005.
- AHMED, M.; ROCHA, J.B.; MAZZANTI, C.M.; HASSAN,W.; MORSCH, V.M.; LORO, V.L.; THOMÉ,G. Comparative study of the inhibitory effect of antidepressants on cholinesterase activity in Bungarus sindanus (krait) venom, human serum and rat striatum. **J. Enzyme Inhibition Med. Chem.**, v. 23, n. 6, p. 912–917, 2008.
- ALTAMUR, A.; DELL’OSSO, B.; MUNDO, E. Duration of untreated illness in major depressive disorder: a naturalistic study. **Int. J. Clin.Practice.** v. 61, n. 10, p. 1697–1700, Oct. 2007.
- ANDERSON, I. M.; NUTT, D. J.; DEAKIN, J. F. Evidence-based guidelines for treating depressive disorders with antidepressants: a revision of the 1993 British Association for Psychopharmacology guidelines. British Association for Psychopharmacology. **J. Psychopharmacol.**, v. 14, n. 1, p.3-20, 2000.
- ANDRADE, V. M.; SANTOS, F.H.; BUENO, O.F.A . **Neuropsicologia hoje.** São Paulo: Artes Medicas, 2004.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim. Behav.**, v.21, n.2, p.205-235, 1973.
- ARONSON, R.; OFFMAN, H. J.; JOFFE, R. T.; NAYLOR, C. D. Triiodothyronine augmentation in the treatment of refractory depression. A metaanalysis. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 53, n. 9, p. 842-848, 1996.
- AYDEMIR, O.; DEVECI, A.; FANELI, F. The effect of chronic antidepressant treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients: a preliminary study. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v 29, p 261– 265, 2005.
- BALDESSARINI, R.; TONDO, L.; SOLDANI, L. Efficacy of antidepressants in juvenile depression: meta-analysis. **Br. J. Psychiatry**, v. 193, p. 10-17, 2008.
- BEAUMONT, G.; BALDWIN, D.; LADER, M. A Criticism of the Practice of Prescribing Subtherapeutic Doses of Antidepressants for the Treatment of Depression. **Human Psychopharmacol. Clin.Exp.**, v.11, n. 4, p. 283–291, July 1996.
- BLOKLAND, A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? **Brain Res. Rev.**, v. 21, p. 285-300,1996.
- BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PORKER, K.L. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica.** 11. ed. São Paulo: Mcgraw-Hill, 2007.
- BURGOS, H.; MARDONES, L.; CAMPOS, M.; CASTILLO, A.; FERNÁNDEZ, V.; HERNÁNDEZ, A. Chronic treatment with clomipramine and desipramine induces deficit in long-term visuo-spatial memory of rats. **Int. J. Neurosci.**, v. 115, p. 47–54, 2005.

CAMPOS, A.; SAITO, M.I. **Aprendizagem e memória no labirinto radial de 8 braços**. Manual de Instruções. Ribeirão Preto: Insight equipamentos científicos, 1985.

CARLSON, N.R. **Fisiologia do comportamento**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2002.

CARVALHO, A.F. **Efeitos agudos dos antidepressivos Bupropiona e Sertralina na evocação em memória em voluntários saudáveis**. 2005. 99 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Medicina – Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

CHEN, B.; DOWLATSHAHI, D.; MACQUEEM, G.M.; WNAG, J. Increased hippocampal BDNF Immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. **Biol. Psychiatry**, v. 50, p 260–265, 2001.

CLINTON, E.; CHANG, Q.; GOLD, P.E. Intra-amygdala injections of CREB antisense impair inhibitory avoidance memory: Role of norepinephrine and acetylcholine. **Learning and Memory**, v.15, p.677-686, 2008.

CORDIOLI, A.V. *et al.* **Psicofármacos-consulta rápida**. 3. ed. São Paulo: Artmed, 2007.

CRUZ, B.F.; SALGADO, J.V.; ROCHA, F.L. Associações entre déficits cognitivos e qualidade de vida na esquizofrenia. **Rev. Psiq. Clín.**, v.37, n. 5, p. 233-239, 2010.

DALGALARRONDO, P. **Psicopatologia e semiologia dos transtornos mentais**. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2004.

DANCEY, C. P.; REIDY, J. **Estatística sem Matemática para Psicologia – Usando SSPS para Windows**. 3. ed. São Paulo: Artmed, 2006.

DODD, S.; HORGAN, D.; MALHI, G.S.; BERK, M. To combine or not to combine? A literature review of antidepressant combination therapy. **J. Affective Disorders**, v.89, p. 1 – 11, 2005.

DUJARDIN, K.; GUERRIEN, A.; LÉCONTE, P. Sleep, brain activation and cognition. **Physiol. Behav.**, v. 47, p. 1271–1278, 1990.

DUMAN, R.S.; MALBERG, J.; THOME, J. Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. **Biol. Psychiatry**, v. 46, p. 1181–1191, 1999.

EATON, W. W.; SHAO, H.; NESTADT, G.; LEE, B. H.; BIENVEOU, J.; ZANDI, P. Population-based study of first onset and chronicity in major depressive disorder. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 65, n. 5, p. 513-520, 2008.

FAVA, M.; RUSH, A.; TRIVEDI, M.; THASE, M.; LAVORI, P. Background and rationale for the Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression (STAR*D) study. **Psychiatric Clin. N. Am.**, v. 26, n. 2, p. 67-84, June 2003.

FLECK, M.P.; BERLIM, M.T.; LAFER, B.; SOUGEY, E.B.; DEL PORTO, J.A; BRASIL, M.A. Revisão das diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (Versão integral). **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 31, Supl. 1, p. S7-17, 2009.

FONTANA, D.J.; DANIELS, S.E.; HENDERSON, C.; EGLIN, R. M. ; WONG, E. H. F. Ondansetron improves cognitive performance in the Morris water maze spatial navigation task. **Psychopharmacologia**, v. 120, n. 4, p. 409-417, 1995.

FUJISHIRO, H.; UMEGAKI, H.; SUZUKI, Y.; OOHARA, S.; IGUSHI, A. Dopamine D2 receptor plays a role in memory function: implications of dopamine–acetylcholine interaction in the ventral hippocampus. **Psychopharmacology**, v. 182, p. 253–261, 2005.

GANDARA, J. L.; ROJO, R.S.; PEDRO, J. M. Use of antidepressant combinations: which, when and why? Results of a Spanish survey. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 112, Suppl. 428, p. 32–35, 2005.

GANDARA, J. L.; ROJO, R.S.; PEDRO, J.M. Neuropharmacological basis of combining antidepressants. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 112, Suppl. 428, p.11–13, 2005.

GANDARA, J.L.; ROJO, R.S.; PEDRO, J.M. Antidepressant combinations: epidemiological considerations. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 112, Suppl. 428, p. 7–10, 2005.

GARCIA, C.M.M.; PINHEIRO, R.T.; GARCIAS, G.L.; HORTA, B.L.; BRUM, C.B. Prevalência e fatores associados ao uso de antidepressivos em adultos de área urbana de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, em 2006. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, n. 7, p. 1565-1571, jul. 2008.

GEORGE, M.; SOLVASON, B.; SAMPSON, S.; ISEMBERG, K. Efficacy and Safety of Transcranial Magnetic Stimulation in the Acute Treatment of Major Depression: A Multisite Randomized Controlled Trial. **Biol. Psychiatry**, v.62, n. 11, p.1208-1216, Dec. 2007.

GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F.S. **Fundamentos de psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu, 1999.

HAUSER, S.R.; GETACHEM, B.; TAYLOR, R.E.; TIZABI, Y. Alcohol induced depressive-like behavior is associated with a reduction in hippocampal BDNF. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 100, p. 253–258, 2011.

HELDT, S.A.; STANEK, L.; CHHATWAL, J.P.; KESSLER, K.J. Hippocampus-specific deletion of BDNF in adult mice impairs spatial memory and extinction of aversive memories. **Mol. Psychiatry**, p.1-15, 2007.

HIRSCHFELD, R. M.; MONTGOMERY, S. A.; AGUGLIA, E. et al. Partial response and nonresponse to antidepressant therapy: current approaches and treatment options. **J. Clin. Psychiatry**, v. 63, p. 826-837, 2002.

HORGAN, D.; DODD, S. Combination antidepressants – use by GPs and psychiatrists. **Aust. Fam. Physician**, v. 40, n. 6, June 2011.

IZQUIERDO, I. **Memória**. São Paulo: Artmed, 2002.

IZQUIERDO, I. Separate mechanisms for short and long-term memory. **Behav. Brain Res.**, v.13, p.1-11, 1999.

IZQUIERDO, L.A. Molecular pharmacological dissection of short and long-term memory. **Cell. Mol. Neurobiol.**, v.22, p.269-287, 2002a.

KANDEL, E.R. **Em busca da memória:** o nascimento de uma nova ciência da mente. São Paulo: Companhia das Letras, 2009.

KANDEL, E.R.; SQUIRE, L.R. **Memória:** da mente as moléculas. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2003.

KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J.; IZQUIERDO, I. **Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos.** 2. ed. São Paulo: Artmed, 2004.

KENNEDY, N.; FOY, K.; SHERAZI, R.; MCKEON, P. Long-term social functioning after depression treated by psychiatrists: a review. **Bipolar Disorders**, v. 9, n. 1/2, p. 25–37, Feb./Mar. 2007.

KESSLER, R.; BIRNBAUM, H.; LEONG, S. The Economic Burden of Depression in the United States: How Did It Change Between 1990 and 2000? **J. Clin. Psychiatry**, v. 64, p.1465–1475, 2003.

KHO, K. H.; VAN VREESWIJK, M. F.; SIMPSON, S.; ZWINDERMAN, A. H. A metaanalysis of electroconvulsive therapy efficacy in depression. **J. Ect.**, v. 19, n. 3, p. 139-147, 2003.

KLEIN, N.; SACHER, J.; WALLNER, H.; TAUSCHER, J.; KASPER, S. Therapy of Treatment Resistant Depression: Focus on the Management of TRD with Atypical Antipsychotics. **CNS Spectrums**, v. 9, p. 823-832, 2004.

KLERMAN, G.; WEISMAN, M. The Course, Morbidity, and Costs of Depression. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 49, n. 10, p. 831-834, 1992.

KOLB, B.; WHISHAW, I. **Neurociência do comportamento.** São Paulo: Manole, 2002.

KONRADI, C.; HECKERS, S. Antipsychotic drugs and neuroplasticity: insights into the treatment and neurobiology of schizophrenia. **Biol. Psychiatry**, v. 50, p. 729–742, 2001.

LACERDA, A.C.; QUARANTINI, L.C.; PORTO, J.A. **Depressão:** do neurônio ao funcionamento social. São Paulo: Artmed, 2009.

LAM, R. W.; HOSSIE, H.; SOLOMONS, K.; YATHAM, L. N. Citalopram and bupropion-SR: combining versus switching in patients with treatment-resistant depression. **J. Clin. Psychiatry**, v. 65, p. 337–340, 2004.

LAM, R. W.; WAN, D. D.; COHEN, N. L.; KENNEDY, S. H. Combining antidepressants for treatment-resistant depression: a review. **J. Clin. Psychiatry**, v. 63, p.685–693, 2002.

LEDOUX, J. **O cérebro emocional.** Rio de Janeiro: Objetiva, 1998.

LOPEZ, L. M.; ROJ, J. E.; GILBERT, K.; MARTIN, J. C.; SPERRY, L.; VALLEJO, J. The Strategy of Combining Antidepressants in the Treatment of Major Depression: Clinical

Experience in Spanish Outpatients. **Depression Research and Treatment**, v. 20, p. 1-8, 2011.

MALBERG, J.E.; EISCH, A. J.; NESTLER, E.J.; DUMAN, R.S. Chronic Antidepressant Treatment Increases Neurogenesis in Adult Rat Hippocampus. **J. Neurosci.**, v. 20, n. 24, p. 9104–9110, 2000.

MATSUKAWA, M.; OGAWA, M.; NAKADATE, K.; MAESHIMA, T.; ICHITANI, Y.; KAWAI, N.; OKADO, N. Serotonin and acetylcholine are crucial to maintain hippocampal synapses and memory acquisition in rats. **Neurosci. Lett.**, n. 230, p. 13–16, 1997.

MCMAHON, T. F.; WEINER, M.; LESKO, L.; EMM, T. Effects of age on antidepressant kinetics and memory in Fischer 344 rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 26, p. 313–319, 1987.

MONDADORI, C.; WASER, P.G.; HUSTON, J.P. Time-dependent effects of post-trial reinforcement, punishment or ECS on passive avoidance learning. **Physiol. Behav.**, v. 18, p. 1103–1109, 1977.

MULLER, T.C.; ROCHA, J.P.; MORSCH, V.M.; NEISR, T.; SCHETINGER, M.R. Antidepressants inhibit human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1587, p. 92–98, 2002.

NIBUYA, M.; NESTLER, E.J.; DUMAN, R.S. Chronic Antidepressant Administration Increases the Expression of CAMP Response Element Binding Protein (CREB) in Rat Hippocampus. **J. Neurosci.**, v. 16, n. 7, p. 2365-2372, Apr. 1996.

NORMILE, H. J.; ALTMAN, H. J. Effects of Combined Acetylcholinesterase Inhibition and Serotonergic Receptor Blockade on Age-Associated Memory Impairments in Rats. **Neurobiol. Aging**, v. 13, p. 735-740, 1992.

NOWAKOWSKA, E.; CHODERA, A.; KUS, K. Anxiolytic and memory improving activity of fluoxetine. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 48, p. 255–260, 1996.

NOWAKOWSKA, E.; CHODERA, A.; KUS, K.; NOWAK, P.; SZKILNIK, R. Reversal of stress-induced memory changes by moclobemide: the role of neurotransmitters. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 53, p. 227–233, 2001b.

NOWAKOWSKA, E.; CHODERA, A.; KUS, K.; RYBAKOWSKI, J. Anxiolytic and memory improving effects of moclobemide. **Arzneimittelforschung**, v. 48, p. 625–628, 1998.

NOWAKOWSKA, E.; KUS, K.; BOBKIEWICZ-KOZLOWSKA, T. H. Role of neuropeptides in antidepressant and memory improving effects of venlafaxine. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 54, p. 605–613, 2002.

NOWAKOWSKA, E.; KUS, K.; CHODERA, A. Comparison of behavioural effects of venlafaxine and imipramine in rats. **Arzneimittelforschung**, v. 53, p. 237–242, 2003.

NOWAKOWSKA, E.; KUS, K.; CHODERA, A.; RYBAKOWSKI, J. Behavioural effects of fluoxetine and tianeptine, two antidepressants with opposite action mechanisms, in rats. **Arzneimittelforschung**, v. 50, p. 5–10, 2000.

OLIVEIRA, I. R.; SENA, E.P. **Manual de psicofarmacologia clínica**. 2. ed. São Paulo: Medsi, 2006.

PARRA, A. A common role for psychotropic medications: memory impairment. **Med. Hypotheses**, v. 60, p. 133–142, 2003.

PAUL, C.M.; MAGDA, G.; ABEL, S. Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. **Behav. Brain Res.**, v 203, p 151–164, 2009.

PILLAI, A.; KALE, A.; JOSHI, S.; NAPHADE, N.; RAJU, M.S.; NASRALLAH, H. Decreased BDNF levels in CSF of drug-naive first-episode psychotic subjects: correlation with plasma BDNF and psychopathology. **Int. J. Neuropsychopharmacol.**, v. 13, p. 535–539, 2010.

PINEL, J. P. **Biopsicologia**. 5. ed. São Paulo: Artmed, 2005.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RIBEIRO, M.V. **Efeitos comportamentais do Metilfenidato e da Reboxetina em modelo de animal de déficit de atenção induzido pela lesão por etanol em camundongo**. 2008. 108 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2008.

RODRIGUEZ, M. L. **Efeitos da lesão colinérgica específica do núcleo septal medial no comportamento exploratório em ratos no labirinto em cruz elevado em um paradigma teste-reteste**. 1999. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Psicobiologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.

SANTORI, C. R. **Efeito antidepressivo e cognitivo da atividade física associados a alterações pós-traducionais do fator neurotrófico do cérebro (BDNF)**. 2010. 78 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

SCHATZBERG, A. F. New indications for antidepressants. **J. Clin. Psychiatry**, v. 61, suppl. 11, p. 9–17, 2000.

SCHERER, E. B.; CUNHA, M. J.; MATTÉ, C.; SCHMITZ, F.; NETTO, C.A.; WYSE, A.T. Methylphenidate affects memory, brain-derived neurotrophic factor immunoreactivity and brain acetylcholinesterase activity in the rat. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 94, p. 247–253, 2010.

SCHMAUSS, M.; KAPFHAMMER, H. P.; MEYER, P.; HOFF P. Combined MAO-inhibitor and tri- (tetra) cyclic antidepressant treatment in therapy resistant depression. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 12, p. 523-532, 1988.

SETHNA, E. R.; SCHMAUSS, M.; KAPFHAMMER, H. P.; MEYER, P.; HOFF, P. A study of refractory cases of depressive illnesses and their response to combined antidepressant treatment. **Br. J. Psychiatry**, v. 124, p. 265-272, 1974.

SHARMA, S.; RAKOCYZ, S.; BROWN, H. Assessment of spatial memory in mice. **Life Sci.**, v 87, p 521–536, 2010.

SHIMIZU, E.; HASHIMOTO, K.; OKAMURA, N.; KOKE, K.; KOMATSU, N.; KUMAKIRI, C.; NAKAZATO, M.; WATANABE, H. Alterations of Serum Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Depressed Patients with or without Antidepressants. **Biol. Psychiatry**, v.54, p 70–75, 2003.

SHIRAYAMA, Y.; CHEN, S.A.; NAKAGAWA, S.; RUSSEL, D.S.; DUMAN, R.S. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. **J. Neurosci.**, v. 22, n. 8, p.3251–3261, 2002.

SILVA, R. H.; MUNGUBA, H.; MEDEIROS, D.S.; BARBOSA, F.F.; GODINHO, M.; MELO, T.G.; RIBEIRO, A.M.; FERNANDES, V. S. Memory impairment induced by low doses of reserpine in rats: Possible relationship with emotional processing deficits in Parkinson disease. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 32, p. 1479–1483, 2008.

SINDRUP, S. H.; OTTO, M.; FINNERUP, N. B.; JENSEN, T. S. Antidepressants in the treatment of neuropathic pain. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.**, v. 96, p. 399–409, 2005.

STAHL, S. M. **Psicofarmacologia: base neurocientífica e aplicações práticas**. 2. ed. São Paulo: Medsi, 2002.

SUNANDA, B.S.; SHANCCARANANRAYANA, R.; RAJU, T.R. Restraint stress-induced alterations in the levels of biogenic amines, amino acids, and AChE activity in the hippocampus. **Neurochem. Res.**, v. 25, n. 12, p. 1547–1552, 2000.

TAZAVARA, E.T.; BYMASTER, F.P.; OVERSHINER, C.D.; DAVIS, R.J.; PERRY, K.W.; WOLFF, M.; MCKINZIE, D.L.; WITKIN, J.M.; NOMIKOS, G.G. Procholinergic and memory enhancing properties of the selective norepinephrine uptake inhibitor atomoxetine. **Mol. Psychiatry**, v.11, p.187–195, 2006.

TSAI, S. J.; CHENG, C. Y.; YU, Y. Association study of a brain-derived neurotrophic-factor genetic polymorphisms and major depressive disorders, symptomatology and antidepressant response. **Am. J. Med. Genet.**, v. 123B, n. 1, p. 19-22, 2003.

UMEGAKI, H. U.; MUNOZ, J.; MEYER, R. C.; SPANGLER, E. L.; YOSHIMURA, J.; IKARI, H. Involvement of Dopamine D2 receptor in complex maze learning and acetylcholine release in ventral hippocampus in rats. **Neuroscience**, v. 103, n. 1, p. 27-33, 2001.

WONG, M.; LICINIO, J. **Biologia da depressão**. São Paulo: Artmed, 2007.

YUDOFISKY, S. C.; HALES, R. E. **Neuropsiquiatria e neurociências na prática clínica**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2006.

ZHU, C. W.; LIVOTE, E. E.; KALHER, K.; SCARMEAS, N.; ALBERT, M.; BRANDT, J.; BLACKER, D.; SANO, M. Utilization of Antihypertensives, Antidepressants, Antipsychotics, and Hormones in Alzheimer Disease. **Alzheimer Dis. Assoc. Disord.**, v. 25, n. 2, Apr./June 2011.



Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
Cap: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 3366-8331 Fax (85) 3366-8333

DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação nº97/09, sobre o projeto intitulado: **“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E COGNITIVOS PELO USO CRÔNICO E COMBINADO DE NATIDEPRESSIVOS TRICÍCLICOS, IRSS E DUAIS EM RATOS”** de responsabilidade de Silvânia Maria Mendes Vasconcelos, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal CEPA em reunião realizada em 07 de abril de 2010.

Fortaleza, 20 de abril de 2010


Prof. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal - CEPA

