



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

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO E MNEMÔNICO DA
GLIMEPIRIDA EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A ADMINISTRAÇÃO
REPETIDA DE LIPOPOLISSACARÍDEO DE *Escherichia coli***

ANDRESSA ALEXANDRE DE OLIVEIRA

FORTALEZA

2021

ANDRESSA ALEXANDRE DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO E MNEMÔNICO DA
GLIMEPIRIDA EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A ADMINISTRAÇÃO
REPETIDA DE LIPOPOLISSACARÍDEO DE *Escherichia coli*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O45a Oliveira, Andressa Alexandre de.
Avaliação do potencial antidepressivo e mnemônico da glimepirida em camundongos submetidos a administração repetida de lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* / Andressa Alexandre de Oliveira. – 2021.
75 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2021.
Orientação: Profa. Dra. Francisca Clea Florenço de Sousa.

1. Depressão. 2. Glimepirida. 3. Estresse oxidativo. 4. Inflamação. I. Título.

CDD 615.1

ANDRESSA ALEXANDRE DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO E MNEMÔNICO DA
GLIMEPIRIDA EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A ADMINISTRAÇÃO
REPETIDA DE LIPOPOLISSACARÍDEO DE *Escherichia coli*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa.

Aprovada em: 02/09/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Ramon Róseo Paula Pessoa Bezerra de Menezes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

À minha família e aos meus amigos,

AGRADECIMENTOS

Gratidão primeiramente à Deus, pelo dom da vida e por ter me permitido chegar até aqui. Diante de tantas dificuldades, sentir a sua presença me dava força para continuar seguindo em frente.

À minha família, minha mãe Tania, meu pai Mauricio, minha Vó Maria e meu irmão Andriel, por sempre apoiarem minhas decisões, e por serem minha base em absolutamente tudo. Sou muito abençoada em ter vocês e espero sempre retribuir todo esse amor.

À Aline Albuquerque, por ser meu apoio emocional e intelectual e por ter me ajudado tanto nesse trabalho. Muito obrigada pela paciência e por sempre me mostrar o lado bom das coisas.

À Mariana, Lianderson, Beatriz e Agnes por toda a amizade durante esses longos anos e por compreenderem muita das minhas ausências. Obrigada por compartilharem comigo a vida e cada conquista.

À minha orientadora, Professora Dra. Cléa. Tenho uma imensa gratidão à ela, por ter me aceitado no laboratório, por acreditar no meu potencial em fazer pesquisa e por ser esse exemplo de orientadora amiga para todos os seus alunos. Saiba que ter o seu apoio e sua confiança foram fundamentais para mim.

À Manoela Rebouças, por ser ouvido e colo quando muitas vezes precisei. Obrigada pela ajuda no planejamento e execução dos experimentos e por compartilhar seu conhecimento.

Aos meus amigos da Neuro: Larice, Daniel, Dulce, Tiago, Dilaison, Layla, Victor e Iardja por todo o apoio e presença nos experimentos. Vocês foram essenciais nesse momento e é bem verdade que não se faz pesquisa sozinho, e ter a ajuda de cada um de vocês tornou esse trabalho possível.

À Alyne e a Raquell, nossas eternas pós-docs, muito obrigada por todo o conhecimento e sugestões que foram dadas para que tornasse o trabalho cada vez melhor.

Ao Augusto e Wesley, do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC. Obrigada pelas conversas e por serem tão disponíveis em ajudar no que fosse necessário. Vocês fizeram a diferença na execução de cada protocolo.

Aos camundongos Swiss, por terem doado suas vidas para que fosse possível realizar este trabalho.

À Universidade Federal do Ceará, que foi casa durante 8 anos. Lá fiz amigos, contatos, me deparei com muitos desafios, mas também encontrei muito amor. A UFC é uma das grandes responsáveis pela pessoa e profissional que me tornei.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro na execução desse trabalho.

Muito obrigada a cada um que contribuiu de alguma forma e saibam que eu sou só gratidão em ter tido vocês nessa caminhada.

“Deus nunca disse que a jornada seria fácil,
mas Ele disse que a chegada valeria a pena”
(Max Lucado)

RESUMO

A depressão é um transtorno de humor incapacitante e prevalente na sociedade, que afeta a qualidade de vida do paciente. Atualmente, a teoria das monoaminas é a mais aceita para explicar a fisiopatologia da depressão, entretanto somente ela não é capaz de elucidar todas as vertentes da doença. Além disso, o tratamento farmacológico com os antidepressivos disponíveis ainda apresenta algumas limitações. Evidências recentes sugerem que a inflamação pode desencadear a depressão. Assim, a utilização de substâncias com propriedades anti-inflamatórias que já estão disponíveis no mercado farmacêutico, torna-se relevante. A glimepirida (GLI), fármaco mais recente do grupo das sulfonilureias, apresentou efeitos benéficos frente a inflamação em doenças do Sistema Nervoso Central, como Parkinson e Alzheimer, entretanto, até o momento, ainda não há estudos que revelem um efeito na depressão. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi investigar o potencial efeito antidepressivo da glimepirida em um modelo de exposição sistêmica ao lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli*. Para isso, foram utilizados camundongos *Swiss* machos adultos jovens, pesando entre 20-30 gramas. Durante dez dias consecutivos, foram administradas injeções intraperitoniais de LPS (0,5 mg/kg) de forma a induzir um comportamento do tipo depressivo nos animais. Entre o 6º e 10º dia, uma hora após a administração de LPS, os animais receberam salina ou glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), por via oral. Antes de iniciar o tratamento com a Glimepirida, e no último dia de tratamento, os níveis de glicose dos animais foram mensurados. Vinte e quatro horas após a última administração de LPS, os animais foram submetidos à avaliação da atividade locomotora exploratória e aos testes comportamentais preditivos de efeito antidepressivo e de avaliação de memória. Além disso, as áreas cerebrais (hipocampo e córtex pré-frontal) foram dissecadas para investigação da atividade oxidativa e inflamatória. O tratamento de cinco dias com a glimepirida não promoveu efeitos hipoglicêmicos nos animais. Os resultados da avaliação através dos testes do nado forçado e suspensão pela cauda, mostraram que a glimepirida apresentou um efeito antidepressivo símile revertendo o fenótipo depressivo induzido pela exposição ao LPS. Ficou evidente que este efeito não está relacionado a alterações na atividade locomotora, considerando que no teste do campo aberto, a exposição ao LPS, ou o tratamento prévio com a GLI não influenciou a locomoção e a exploração dos animais. Além disso, a GLI foi capaz de melhorar a memória de trabalho, investigada no teste do Labirinto em Y, embora não tenha alterado a memória de reconhecimento através do teste de reconhecimento de objetos. Este efeito benéfico da GLI sobre a memória de trabalho é relevante considerando que este parâmetro geralmente

está prejudicado em pacientes depressivos. Em relação aos testes neuroquímicos, a glimepirida demonstrou atividade antioxidante, ao diminuir os níveis de MDA e nitrito, além de aumentar as concentrações de GSH no córtex pré-frontal. A GLI também demonstrou atividade anti-inflamatória, diminuindo os níveis de IL-1 β e TNF no hipocampo, mas não no córtex pré-frontal de camundongos. Em suma, a glimepirida apresentou atividade antidepressiva símile e este efeito pode estar relacionado a redução do estresse oxidativo e neuroinflamação, podendo, futuramente, após confirmação com testes posteriores, ser indicada como opção terapêutica no tratamento da depressão, assim como útil em pacientes com diabetes apresentando comorbidade com depressão.

Palavras-chave: Depressão; Inflamação; Glimepirida; Estresse oxidativo.

ABSTRACT

EVALUATION OF ANTIDEPRESSIVE AND MNEMONIC POTENTIAL OF GLIMEPIRIDE IN MICE SUBMITTED TO REPEATED ADMINISTRATION OF *Escherichia coli* LIPOPOLYSACCHARIDE

Depression is a prevalent disabling mood disorder that affects the patient's life quality. Currently, the monoamine theory is the most accepted one to explain depression's physiopathology. However, it cannot fully elucidate all aspects of the disease by itself. Furthermore, pharmacological treatment with available antidepressants still shows some limitations. Recent evidence suggests that inflammation can trigger depression. In this context, the use of substances with anti-inflammatory properties that are already available on the pharmaceutical market becomes relevant. Glimepiride (GLI), the most recent drug from the sulfonylurea group, showed beneficial effects against inflammation in diseases of the Central Nervous System, such as Parkinson's and Alzheimer's. However, as far as is known, there are still no studies that reveal an effect on depression. In this context, the present work aimed to investigate the potential antidepressant effect of Glimepiride in a model of systemic exposure to lipopolysaccharide (LPS) of *Escherichia coli*. For this, young adult male Swiss mice weighing between 20-30 grams were used. For ten consecutive days, intraperitoneal injections of LPS (0.5 mg/kg) were administered in order to induce depressive-like behavior in the animals. Between the 6th and 10th day, one hour after LPS, the animals received saline or Glimepiride (2 mg/kg) or Escitalopram (10 mg/kg) orally. Before starting treatment with Glimepiride, and on the last day of treatment, the animals' glucose levels were measured. Twenty-four hours after the last LPS administration, the animals were submitted to exploratory locomotor activity assessment and behavioral tests predictive of antidepressant effect and memory assessment. In addition, brain areas (hippocampus and prefrontal cortex) were dissected to investigate oxidative and inflammatory activities. Five-day treatment with glimepiride did not promote hypoglycemic effects in the animals. The results of the evaluation using the forced swim and tail suspension tests showed that Glimepiride had a similar antidepressant effect, reversing the depressive phenotype induced by exposure to LPS. It was evident that this effect is not related to changes in locomotor activity, considering that in the open field test, exposure to LPS or previous treatment with GLI did not influence the locomotion and exploration of the animals. Furthermore, GLI improved working memory, investigated in the Y-Labyrinth test, although it did not change recognition memory through

the object recognition test. This beneficial effect of GLI on working memory is relevant considering that this parameter is generally impaired in depressed patients. Regarding neurochemical tests, Glimepiride demonstrated antioxidant activity, by decreasing MDA and nitrite/nitrate levels, in addition to increasing GSH concentrations in the prefrontal cortex. GLI also demonstrated anti-inflammatory activity, decreasing IL-1 β and TNF levels in the hippocampus but not in the prefrontal cortex of mice. In short, Glimepiride showed similar antidepressant activity, and this effect may be related to the reduction of oxidative stress and neuroinflammation, and may, in the future, after confirmation with further tests, be indicated as a therapeutic option in the treatment of depression, as well as useful in patients with diabetes presenting comorbidity with depression.

Keywords: Depression; Inflammation; Glimepiride; Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.....	23
Figura 2- Representação da estrutura química do LPS.....	27
Figura 3- Mecanismo de ativação do receptor TLR4 pelo LPS.....	28
Figura 4- Mecanismo de ação das sulfonilureias.....	30
Figura 5- Estrutura química da glimepirida.....	31
Figura 6- Fluxograma do protocolo experimental.....	36
Figura 7- Representação do Teste do Campo Aberto.....	37
Figura 8- Teste do Nado Forçado.....	38
Figura 9- Teste da Suspensão pela Cauda.....	39
Figura 10- Teste do Labirinto em Y.....	40
Figura 11- Teste de Reconhecimento de Objetos.....	41
Figura 12- Efeito da administração da Glimepirida (2mg/kg) sobre os níveis de glicose venosa dos animais.....	44
Figura 13- Efeito do tratamento da Glimepirida (2mg/kg) no teste do Campo aberto.....	46
Figura 14- Efeito da administração da Glimepirida (2mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste do Nado Forçado.....	47
Figura 15- Efeito da administração da Glimepirida (2mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste da Suspensão pela Cauda.....	48
Figura 16- Efeito da administração da Glimepirida (2mg/kg) sobre o número de alternâncias corretas no teste do Labirinto em Y.....	49
Figura 17- Efeito da administração da Glimepirida (2mg/kg) sobre o índice de reconhecimento a um objeto novo.....	50
Figura 18- Efeitos da Glimepirida (2mg/kg) sobre a dosagem de malondialdeído (MDA) no Hipocampo e no Córtex pré-frontal.....	51
Figura 19- Efeitos da Glimepirida (2mg/kg) sobre os níveis de nitrito no Hipocampo e no Córtex pré-frontal.....	52
Figura 20- Efeitos da Glimepirida (2mg/kg) sobre os níveis de GSH no Hipocampo e no Córtex pré-frontal.....	53
Figura 21- Efeitos da Glimepirida (2mg/kg) sobre os níveis de IL-1 β no Hipocampo e no Córtex pré-frontal.....	54

Figura 22- Efeitos da Glimpirida (2mg/kg) sobre os níveis de TNF no Hipocampo e no Córtex pré-frontal..... 55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Resumo dos resultados obtidos após o tratamento com a Glimpirida 2mg/kg em animais submetidos a exposição de LPS.....	62
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A β	Peptídeo β -amiloide
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrópico
ATC	Antidepressivos Tricíclicos
CAT	Catalase
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
COVID19	<i>Coronavirus Disease 2019</i>
CPF	Córtex pré-frontal
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
CYP	Citocromo P450
dL	decilitro
DSM-V	V Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
EPM	Erro Padrão da Média
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
ESCI	Escitalopram
GLI	Glimepirida
GSH	Glutationa
GSH- px	Glutationa Peroxidase
GPH-R	Glutationa redutase
HHA	Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
HP	Hipocampo
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
IMAOs	Inibidores da monoaminoxidase
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzível
i.p	Intraperitoneal
I/R	Isquemia-Reperfusão
ISRSs	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina
ISRSNs	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina
LBP	LPS binding protein
LPS	Lipopolissacarídeo

MDA	Malondialdeído
mM	Milimolar
nm	Nanômetro
nM	Nanomol
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
OI	Objeto Igual
ON	Objeto Novo
pg	Picograma
SAL	Salina
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
SUR1	Receptor de Sulfonilureia
TEPT	Transtorno de Estresse pós-traumático
TLR-4	Receptor Toll-like 4
TNF	Fator de Necrose Tumoral
v.o	Via Oral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 Aspectos gerais da Depressão	21
1.2 Fisiopatologia da Depressão	22
<i>1.2.1 Ativação do eixo Hipotálamo-Hipofisário-Adrenal (HHA)</i>	22
<i>1.2.2 Estresse oxidativo e nitrosativo envolvidos na depressão</i>	24
<i>1.2.3 Hipótese Inflamatória da depressão</i>	25
1.3 LPS e a Depressão	26
1.4 Tratamento farmacológico para a depressão	29
1.5. Glimepirida	30
2 JUSTIFICATIVA	32
3 OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo Geral	33
3.2 Objetivos Específicos	33
4 METODOLOGIA	34
4.1 Animais	34
4.2 Substâncias utilizadas	34
<i>4.2.1 Lipopolissacarídeo</i>	34
<i>4.2.2 Glimepirida</i>	34
<i>4.2.3 Escitalopram</i>	34
4.3. Desenho experimental	35
4.4. Determinação de glicose venosa	36
4.5 Testes comportamentais	37
<i>4.5.1 Avaliação da Atividade Locomotora e Exploratória</i>	37
<i>4.5.1.1 Teste do Campo Aberto</i>	37
<i>4.5.2 Avaliação do Fenótipo Depressivo</i>	38

4.5.2.1 Teste do Nado Forçado	38
4.5.2.2 Teste da Suspensão pela cauda	38
4.5.3 Avaliação da Memória e Aprendizado	39
4.5.3.1 Teste do Labirinto em Y	39
4.5.3.2 Teste de Reconhecimento de objetos	40
4.6 Testes Neuroquímicos	41
4.6.1 Determinação de Parâmetros de Estresse Oxidativo	41
4.6.1.1 Avaliação do grau de lipoperoxidação	41
4.6.1.2 Determinação das concentrações de Nitrito	42
4.6.1.3 Determinação das concentrações de Glutathiona reduzida (GSH)	42
4.7 Mensuração das concentrações de IL-1β e TNF	42
4.8 Análise estatística	43
5 RESULTADOS	44
5.1 Dosagem de glicose venosa em animais tratados com Glimepirida	44
5.2 Avaliação Comportamental	45
5.2.1 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre a atividade locomotora e exploratória através do Teste do Campo Aberto em camundongos expostos ao LPS.....	45
5.2.2 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no Teste do Nado Forçado em camundongos expostos ao LPS.....	47
5.2.3 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no Teste da Suspensão pela Cauda em camundongos expostos ao LPS.....	48
5.2.4 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre a memória de camundongos expostos ao LPS no Teste do Labirinto em Y.....	49
5.2.5 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre a memória de camundongos expostos ao LPS no teste de Reconhecimento de objetos.....	50
5.3. Avaliação Neuroquímica	51
5.3.1 Determinação dos parâmetros de estresse oxidativo.....	51

5.3.1.1 Efeito do tratamento com Glimpirida (2 mg/kg) sobre a concentração de Malondialdeído (MDA) no hipocampo e córtex pré-frontal.....	51
5.3.1.2 Efeito do tratamento com Glimpirida (2 mg/kg) sobre a concentração de nitrito no hipocampo e córtex pré-frontal.....	52
5.3.1.3 Efeito do tratamento com Glimpirida (2 mg/kg) sobre a concentração de Glutathiona reduzida (GSH) no hipocampo e córtex pré-frontal.....	53
5.3.2 Determinação dos marcadores inflamatórios.....	54
5.3.2.1 Efeito da administração da Glimpirida (2 mg/kg) na resposta inflamatória por meio da dosagem de Interleucina 1 β (IL-1 β) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS.....	54
5.3.2.2 Efeito da administração da Glimpirida (2 mg/kg) na resposta inflamatória por meio da dosagem de TNF no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao.....	55
6 DISCUSSÃO.....	56
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
8 CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais da Depressão

A depressão é uma doença neuropsiquiátrica de grande prevalência na sociedade, caracterizada por humor deprimido, perda de interesse ou prazer por diversas atividades, alterações no apetite e no sono, perda de energia, sentimentos de culpa, e, em muitos casos, pensamentos de ideação suicida (DSM-V; PEREZ-CABALLERO et al., 2019). Difere das oscilações de humor habituais devido ao seu estado de cronicidade e recorrência, afetando o funcionamento social e ocupacional do indivíduo (OPAS, 2018).

Essa patologia tem uma prevalência maior em mulheres do que homens, e é a principal causa de incapacidade no mundo (OPAS, 2018). Uma em cada cinco pessoas irão experimentar algum episódio depressivo durante a sua vida que, em casos mais extremos, poderá resultar em suicídio. Cerca de 800.000 pessoas morrem por suicídio anualmente e, grande parte deste número, está relacionado com a presença da depressão (OMS, 2020).

No Brasil, a depressão atinge cerca de 5,8% das pessoas, tornando o país responsável pelo maior índice de prevalência da doença da América Latina e o segundo das Américas, perdendo somente para os Estados Unidos. Associado a isso, quando se trata de brasileiros com ansiedade, uma comorbidade muito comum na depressão, o número de indivíduos afetados chega a 9,3% (MEDEIROS; MATOS, 2018).

Embora existam diversos recursos terapêuticos para os transtornos mentais, menos de 50% das pessoas com depressão no mundo recebem tratamento adequado. A falta de recursos, o estigma social associado a doença e o diagnóstico impreciso, são fatores limitantes (OPAS, 2018). Da proporção de pacientes que recebem tratamento, uma parcela não atinge o resultado esperado, apresentando uma resposta parcial ou ainda, nenhuma, da terapia farmacológica (MALHI; MANN, 2018).

Devido esse panorama de ineficácia terapêutica e alta predominância da doença, os prejuízos são inúmeros, resultando em perda na produtividade e em um problema de saúde pública. Em paralelo, outras comorbidades como diabetes *mellitus* tipo 2 (ZANOVELI et al., 2015), obesidade (JANTARATNOTAI et al., 2017) e doenças cardiovasculares (HALARIS, 2016) agravam o gerenciamento da depressão e reduzem a taxa de resposta das terapias disponíveis, o que aumenta a necessidade de novas alternativas para o tratamento da doença e uma maior compreensão acerca da fisiopatologia da depressão.

1.2. Fisiopatologia da Depressão

Nos últimos anos, muito esforço foi direcionado para melhorar o entendimento sobre a fisiopatologia da depressão. Até o momento, tem-se convicção da participação de fatores sociais, psicológicos e biológicos no desenvolvimento da doença (RIBEIRO; RIBEIRO; VON DOELLINGER, 2017). Além disso, fatores neuroendócrinos, inflamatórios, neurotróficos e monoaminérgicos tentam elucidar a fisiopatologia da depressão, porém nenhum mecanismo por si só consegue explicar satisfatoriamente todas as vertentes da doença (DEAN; KESHAVAN, 2017; JEON; KIM, 2017; ZHANG; YAO; HASHIMOTO, 2016).

Atualmente, a teoria monoaminérgica é a mais aceita e defende que a origem etiológica da depressão é consequência do déficit de monoaminas, em particular serotonina, noradrenalina e dopamina. Tal proposição é demonstrada pelo conhecimento do mecanismo de ação dos antidepressivos, que se fundamenta, principalmente no aumento da biodisponibilidade dessas monoaminas na fenda sináptica (VISMARI; ALVES; PALERMO-NETO, 2008).

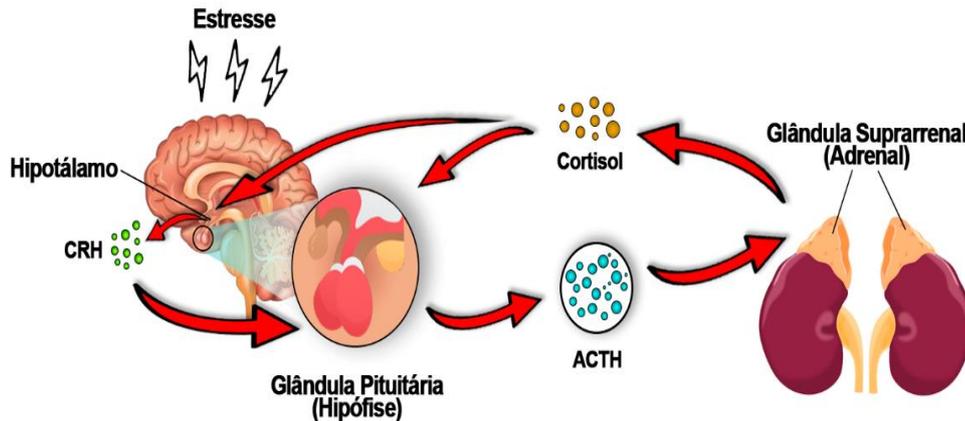
Entretanto, há algumas falhas nessa hipótese tornando-a inadequada como a única teoria fisiopatológica da depressão, como a falta de esclarecimento acerca do longo período de latência do fármaco, levando semanas para ocorrer. Além disso, não se sabe por qual motivo alguns pacientes respondem a um tipo de antidepressivo e outros não (MALHI; MANN, 2018), fazendo-se necessário o estudo de novas hipóteses que busquem justificar a causa da depressão, ganhando destaque aquelas que enfoca a participação dos sistemas endócrino e imune.

1.2.1 Ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA)

O eixo neuroendócrino estudado na depressão é o hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). Em situações estressantes, normalmente ocorre uma ativação desse eixo, desencadeando uma hipersecreção de glicocorticoides adrenais e uma ativação do sistema simpático, exercendo um papel fundamental na resposta aos estímulos externos e internos (SHAPERO et al., 2019).

A atividade do eixo HHA é regulada pela secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pelo hipotálamo, que, por sua vez, induz a síntese e a liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) na hipófise anterior. O ACTH, ao final, estimula a glândula suprarrenal a secretar cortisol, hormônio glicocorticoide, responsável pelo controle da homeostase do organismo em resposta ao estresse (KIM et al., 2016).

Figura 1- Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal



Fonte: Autoria própria (2021). Legenda: CRH: Hormônio liberador de corticotrofina; ACTH: hormônio adrenocorticotrópico.

O cortisol atua através de dois subtipos de receptores citoplasmáticos, o receptor mineralocorticóide e o receptor de glicocorticoide, controlando a transcrição gênica. Além disso, ele liga-se no próprio eixo HHA, promovendo o *feedback* negativo através do hipocampo. A desregulação desse processo, assim como a função reduzida dos receptores de glicocorticóides parecem ser comuns em pacientes com depressão (KELLER et al., 2017; JURUENA et al., 2018).

Diversos estudos relacionaram a hiperatividade do eixo HHA como um dos principais mecanismos patológicos que induzem a depressão (CHOI et al., 2018; GOLD et al., 2015; HARKNESS et al., 2011; JURUENA et al., 2014). Em excesso, os glicocorticoides podem prejudicar a neurogênese, a função cognitiva, além de danificar estruturas cerebrais. Mudanças atróficas no hipocampo são comuns, como a redução do volume hipocampal, devido ao acúmulo de receptores de glicocorticóides presentes nessa região (CHAN et al., 2016; LIU et al., 2017; SHELINE et al., 2011).

A superativação do eixo HHA também pode contribuir para a diminuição do transporte de glicose e resistência à insulina. Altos níveis de cortisol produzido tem profundos efeitos inibitórios sobre a resposta imune, além de causar alterações como agravamento da aterosclerose, hipertensão e dislipidemia, aumentando de duas a três vezes o risco de mortalidade de indivíduos afetados e reduzindo sua expectativa de vida (JOSEPH; GOLDEN, 2017; HEPSEN et al., 2020; TSIGOS, 2002). Além disso, o aumento desse glicocorticoide está

associado ao estresse oxidativo, outro fator envolvido na fisiopatologia da depressão (ASCHBACHER et al., 2013).

1.2.2 Estresse oxidativo e nitrosativo envolvidos na depressão

As espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs) são produtos do metabolismo aeróbico e desempenham diversas funções no organismo como sinalização celular e defesa contra patógenos. Em casos onde ocorre a produção excessiva de radicais livres, o resultado será a reação com ácidos graxos, proteínas e DNA, ocasionando a peroxidação lipídica, apoptose e posterior, morte celular (BLACK et al., 2015). O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e a produção de EROs/ERNs, estando relacionado ao envelhecimento e à fisiopatologia de diversas doenças neuropsiquiátricas, como Alzheimer e depressão (BLACK et al., 2015; SALIM, 2017).

Diversos relatos sugerem que a depressão é acompanhada da produção excessiva de radicais livres, uma vez que pacientes depressivos exibiram altos níveis de marcadores relacionados ao estresse oxidativo (BJAPAI et al., 2014; LINDQVIST et al., 2017; LIU et al., 2015). Esse desequilíbrio no Sistema Nervoso Central (SNC) pode prejudicar a neurotransmissão bem como a função neuronal e tal fato deve-se em parte, a grande vulnerabilidade do cérebro ao estresse oxidativo, visto que esse órgão possui uma alta demanda metabólica, grande conteúdo lipídico e reduzida capacidade antioxidante (COBLEY; FIORELLO; BAILEY, 2018; HALLIWELL, 2007).

O Malondialdeído (MDA) é um subproduto da peroxidação lipídica, processo pelo qual radicais livres atacam os fosfolipídeos das membranas celulares, alterando sua permeabilidade, fluidez e integridade. Níveis elevados de MDA foram encontrados em pacientes com depressão, sendo um indicativo de estresse oxidativo (BAJPAI et al., 2014; CAMKURT et al., 2016; TALAROWSKA et al., 2012).

O óxido nítrico (NO) é uma molécula sinalizadora que participa da neuromodulação, neurotransmissão e plasticidade sináptica e, em condições patológicas, atua como radical livre, contribuindo para o estresse oxidativo e neuroinflamação. O NO é produzido pela ativação da óxido nítrico sintase (NOS), que possui três isoformas, sendo a óxido nítrico sintase induzível (iNOS) uma delas. A expressão dessa enzima é aumentada em condições estressantes e inflamatórias, estando intrinsecamente relacionada a patogênese de doenças neuropsiquiátricas, como o transtorno depressivo maior (GALECKI et al., 2011; GALECKI; TALAROWSKA, 2018; DHIR; KULKARNI, 2011).

Os agentes antioxidantes atuam de forma a conferir proteção à célula e eliminar as EROs e ERNs. O sistema de defesa enzimático inclui a superóxido dismutase (SOD), glutathione redutase (GPH-R), glutathione peroxidase (GPH-Px) e catalase (CAT). Já os antioxidantes não enzimáticos abrangem a glutathione reduzida (GSH), ácido úrico, vitamina C, vitamina E e carotenoides (MIRÓN CZUK-CHODAKOWSKA; WITKOWSKA; ZUJKO, 2018; SALIM et al., 2017).

A glutathione reduzida é um dos antioxidantes mais importantes responsáveis pela detoxificação de radicais livres nas células. Essa substância está envolvida em diversos processos fisiológicos essenciais, como o equilíbrio do estado redox intracelular, bem como a diferenciação e proliferação celular, tornando fundamental a manutenção dos seus níveis para processos vitais do organismo e combate ao estresse oxidativo (AOYAMA; NAKAKI, 2013; DRINGEN, 2000).

1.2.3 Hipótese Inflamatória da depressão

Além de todas as hipóteses já elencadas anteriormente que abordam a fisiopatologia da depressão, estudos sugerem ainda que alterações no sistema imunológico periférico, com subsequente ativação de citocinas pró-inflamatórias, podem desencadear a depressão (MÉNARD; HODES; RUSSO, 2016).

As citocinas são moléculas pleiotrópicas importantes nas respostas inflamatórias, assim como na neurogênese e na função cognitiva. Sob condições fisiológicas, são mantidas em níveis basais, entretanto, durante situações em que ocorrem inflamação e infecção, o microambiente do sistema nervoso central é alterado e as citocinas são ativadas pelas células gliais (KIM et al., 2016; MILLER; MALETIC; RAISON, 2009).

A ativação excessiva de citocinas pró-inflamatórias desencadeia inúmeros prejuízos na neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica cerebral e na neurogênese (HALARIS, 2019). Além disso, exerce profundo efeito na atividade do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal, ao promover mudanças na expressão dos receptores de glicocorticoides, levando a uma dessensibilização, com posterior diminuição da resposta aos glicocorticoides circulantes (LEONARD, 2018; PACE; MILLER, 2009).

Pacientes depressivos exibem todas as características relacionadas a inflamação, incluindo aumento de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF), interleucina 1 β (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6), bem como elevadas concentrações de proteínas de fase aguda, sugerindo que a depressão é acompanhada da desregulação imune

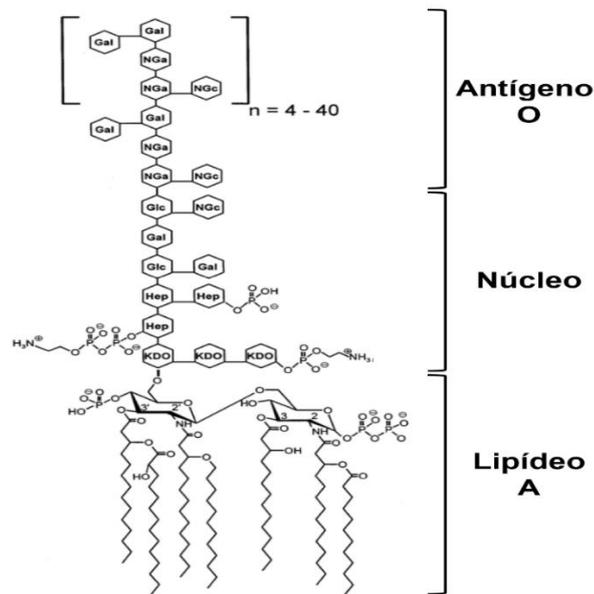
(COLASANTO; MADIGAN; KORCZAK, 2020; DOWLATI et al., 2010; HAAPAKOSKI et al., 2015; JIA et al., 2019).

Estudos envolvendo administração de indutores de citocinas, como o lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), foram relacionados a sintomas como humor deprimido, anedonia, fadiga e disfunção cognitiva (CORDEIRO et al., 2019; DINEL et al., 2014), tornando necessário o aprofundamento na relação entre inflamação e depressão, através do modelo de comportamento do tipo depressivo induzido por ativação imune proposto neste trabalho.

1.3 LPS e a Depressão

Lipopolissacarídeo é uma endotoxina expressa na membrana externa da parede celular de bactérias Gram negativas, como por exemplo a *Escherichia coli*, que pode desencadear inflamação sistêmica ao hospedeiro (CAVAILLON, 2018; SHIMADA et al., 2012). A molécula é composta por 3 regiões distintas, que consistem no lipídeo A, um domínio hidrofóbico ancorado a membrana; o núcleo, formado por uma cadeia curta de açúcares com várias modificações; e o antígeno O, um polissacarídeo que se prolonga para o meio extracelular (Figura 2). O lipídeo A é responsável pela toxicidade do LPS, e tem sua estrutura bastante conservada entre as espécies bacterianas Gram negativas (BROWN, 2019; DE CASTRO et al., 2008; RAETZ; WHITFIELD, 2002).

Figura 2- Representação da estrutura química do LPS

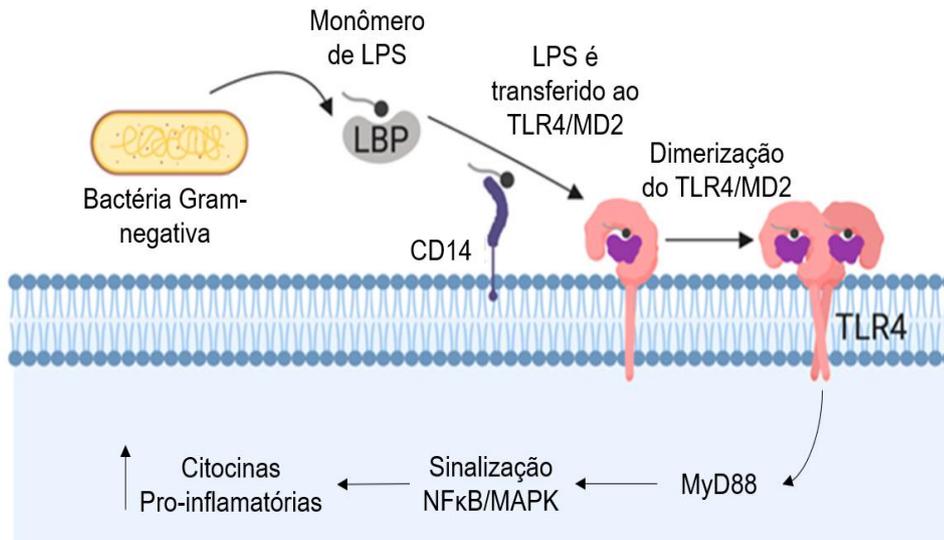


Fonte: BATISTA et al. (2007). Adaptado pelo autor (2021)

A ativação celular induzida pelo LPS é mediada pelo receptor *Toll-like 4* (TLR4) presente na superfície de células eucarióticas, em particular macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e endoteliais. Para que tal ativação ocorra, é necessária a presença de uma proteína de fase aguda do hospedeiro, a proteína de ligação ao LPS (LBP, do inglês “*LPS binding protein*”), formando um agregado LPS-LBP. O agregado apresenta o LPS para uma proteína de membrana periférica CD14, que por sua vez transfere o LPS ao complexo TLR4/MD2, levando a uma dimerização, e possibilitando o recrutamento de moléculas adaptadoras a jusante, como o MyD88 (Figura 3) (KIM; KIM, 2017; MAZGAEEN; GURUNG, 2020).

A cascata de sinalização formada ativa o fator de transcrição NF- κ B, promovendo a liberação de diversos mediadores pró-inflamatórios, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, que, em excesso, provocarão inúmeras respostas inflamatórias com danos aos tecidos, podendo levar ao choque séptico (CAVAILLON, 2018; CHRISTIANSEN et al., 2012; MAZGAEEN; GURUNG, 2020). Além disso, repetidos desafios imunes por LPS também ativam o sistema complemento clássico, desencadeando uma ativação microglial e neurodegeneração dopaminérgica (BODEA et al., 2014).

Figura 3- Mecanismo de ativação do receptor TLR4 pelo LPS



Fonte: MAZGAEEN; GURUNG (2020). Adaptado pelo autor (2021)

O modelo animal de comportamento tipo-depressivo induzido pela administração sistêmica do LPS foi proposto pela primeira vez por Yirmiya em 1996, a fim de investigar a relação entre a ativação do sistema imunológico e comportamentos semelhantes à depressão. Ele observou que a administração de LPS provocava sintomas depressivos em roedores, como anedonia, desespero e inibição comportamental, sendo atenuados através do tratamento crônico com antidepressivos (YIRMIYA, 1996).

Tal protocolo já foi bastante estudado e demonstrou também ser capaz de causar perda de peso (HE et al., 2019), comprometer a memória e o aprendizado (SALMANI et al., 2020), induzir comportamento ansiolítico (CASARIL et al., 2019), aumentar os níveis séricos de citocinas (YANG et al., 2020) e induzir a astrogliose e microgliose (AHN et al., 2012; WU et al., 2019).

É interessante relatar que o desafio imune por LPS conduz perfis comportamentais distintos baseados no tempo-dependente (DANTZER et al., 2008). Um ocorre aproximadamente 2 horas após a administração de LPS, conhecido como *sickness behavior*, caracterizado por um comportamento de doença que ocorre juntamente com o pico de liberação de citocinas pró-inflamatórias, enquanto o outro acontece 24 horas após a administração da endotoxina, correspondendo a um comportamento do tipo depressivo (MELLO et al., 2013; LASSELIN et al., 2020).

O modelo induzido por LPS tem sido cada vez mais utilizado para o *screening* de novos antidepressivos por causar alterações estruturais nas áreas cerebrais relacionadas à regulação

do humor (CUSTODIO et al., 2013; MELLO et al., 2013). Além disso ele possui uma forte validade preditiva para pesquisas de fármacos com atividade anti-inflamatória e possível atividade antidepressiva.

1.4 Tratamento farmacológico para a depressão

Atualmente para o tratamento da depressão são utilizados antidepressivos de diversas classes como os Inibidores da monoaminoxidase (IMAOs), Antidepressivos Tricíclicos (ATCs), Inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRSs), Inibidores seletivos da recaptção de serotonina e noradrenalina (ISRSNs) e antidepressivos atípicos (NCCMH, 2010).

A primeira geração de antidepressivos foram os IMAOs e os ATCs, que atuam aumentando os níveis de monoaminas na fenda sináptica ao inibir a enzima monoamina oxidase e a recaptção de neurotransmissores, respectivamente. O grande problema associado ao uso desses antidepressivos são as interações medicamentosas e os vastos efeitos adversos, que prejudicam a adesão ao tratamento, tendo sido posteriormente, substituídos por outros mais seguros e com um menor perfil de efeitos colaterais (PEREZ-CABALLERO et al., 2019).

Os antidepressivos mais recentes, como os ISRSs, tornaram-se os de primeira linha para o tratamento da depressão, podendo também serem utilizados para controlar o transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) e transtorno de ansiedade. Eles atuam na inibição da recaptção neuronal da serotonina, de forma mais seletiva que os ATCs. São relativamente bem tolerados e possuem um bom perfil de segurança, embora ainda estejam associados a diversos efeitos adversos (SABELLA, 2018). Alguns fármacos dessa classe são escitalopram, paroxetina, fluoxetina, citalopram, sertralina e fluvoxamina (VASWANI; LINDA; RAMESH, 2003).

O escitalopram é o antidepressivo mais utilizado para o tratamento farmacológico de pacientes com depressão e seu início de ação é relativamente rápido (DONG et al., 2016). Alguns estudos relatam que ele é mais eficaz e mais tolerável que o citalopram e outros antidepressivos (BALDWIN, 2007; KENNEDY; ANDERSEN; THASE, 2009; ZHANG et al., 2012).

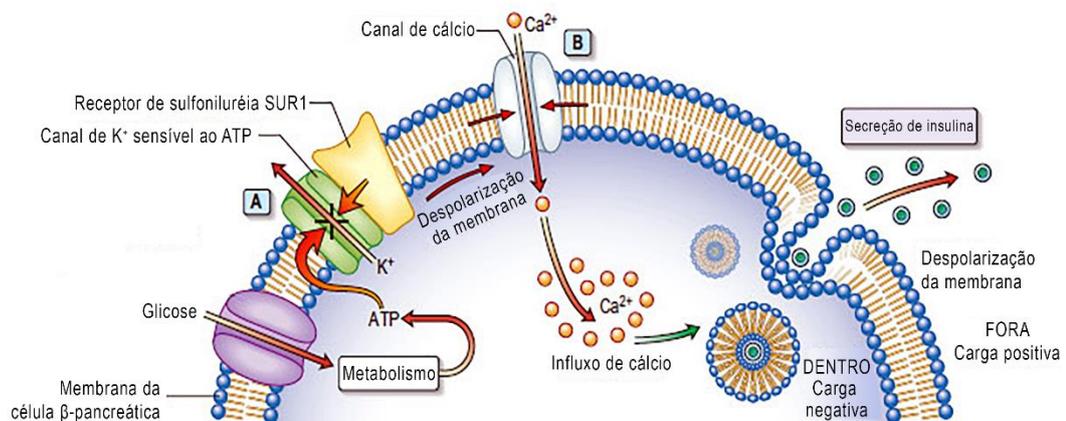
Uma limitação ainda relacionada a terapêutica com os antidepressivos atuais, é a demora no aparecimento da resposta clínica benéfica experimentada pelo paciente, que pode levar cerca de duas a quatro semanas para ocorrer (PEREZ-CABALLERO et al., 2019). Além disso, aproximadamente 50% dos pacientes não atingem a remissão completa, revelando uma eficácia parcial do medicamento (THASE et al., 2010).

Diante das dificuldades observadas no tratamento com os antidepressivos disponíveis no mercado, surge a necessidade de buscar terapias alternativas para o tratamento da depressão, destacando-se a glimepirida.

1.5 Glimepirida

A glimepirida pertence ao grupo das Sulfonilureias, agentes hipoglicemiantes orais utilizados como terapia adjuvante no controle do diabetes melitus tipo II (DEL PRATO; PULIZZI, 2006). Atua estimulando a liberação de insulina ao ligar-se no receptor de sulfonilureia (SUR1), um canal de K^+ ATP dependente, localizado na superfície de células β . Essa ligação promove o fechamento dos canais de K^+ , levando a uma despolarização da célula e subsequente influxo de cálcio através dos canais de Ca^{+2} voltagem dependente, provocando a secreção das vesículas de insulina, conforme demonstrado na figura 4 (KORYTKOWSKI, 2004).

Figura 4- Mecanismo de ação das sulfonilureias



Fonte: KUMAR; CLARK (2012). Adaptado pelo autor (2021). Legenda: A: Canal de K^+ sensível ao ATP; B: Canal de cálcio voltagem dependente.

Diversos estudos mostram que bloqueadores desses canais apresentam efeitos benéficos adicionais, além da secreção de insulina e redução dos níveis de glicose no sangue. Foi demonstrado que eles exercem efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e neuroprotetores, tendo aplicação no tratamento de doenças do SNC, onde a inflamação é um componente importante do déficit neurológico progressivo (KRAUSS et al., 2003; INGHAM; WILLIAMS; BATE, 2014; ISHOLA et al., 2019; SU et al., 2017).

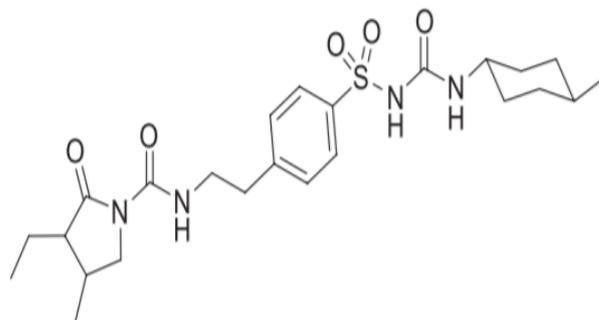
A esse respeito, Ishola et al. (2019), sugeriram a utilização da glimepirida como uma nova abordagem no tratamento de Parkinson. Verificou-se que ela foi capaz de atenuar o estresse oxidativo e a neuroinflamação em camundongos *Swiss*, evitando o comprometimento da memória.

Além disso, outros estudos utilizando cultura de neurônios primários levantaram a possibilidade desse fármaco em retardar o déficit cognitivo no Alzheimer. Tal evidência foi comprovada através da proteção dos neurônios contra danos sinápticos induzidos pelo acúmulo de peptídeos β -amiloides ($A\beta$) (OSBORNE et al., 2016), assim como na redução da expressão e da atividade da BACE1 (LIU et al., 2013), um marcador biológico relacionado a patogênese da doença.

A glimepirida apresenta uma boa tolerabilidade, baixa incidência de efeitos adversos, não promove ganho de peso e, em comparação a outras sulfonilureias, como a glibenclamida, apresenta um histórico maior de segurança, estando relacionada a um menor risco de hipoglicemia e problemas cardíacos, já que possui baixa interação com canais K^+ ATP na fibra cardíaca (HOLSTEIN; PLASCHKE; EGBERTS, 2001; RAPTIS; DIMITRIADIS, 2001; WANG et al., 2020).

É bem absorvida oralmente, atingindo concentrações séricas máximas em cerca de 2,5 horas após a administração oral. A ingestão de alimentos não exerce nenhuma influência relevante na absorção deste medicamento. Apresenta um pequeno volume de distribuição, alta taxa de ligação às proteínas plasmáticas e baixo clearance. É metabolizada principalmente no fígado pelo sistema citocromo P450 (CYP), estando a CYP2C9 principalmente envolvida. (LANGTRY; BALFOUR, 1998). Sua estrutura química está representada na Figura 5.

Figura 5- Estrutura química da glimepirida



Fonte: FAHIM (2014).

2. JUSTIFICATIVA

O número de pessoas vivendo com depressão aumentou 18,4% entre 2005 e 2015, atingindo mais de 300 milhões de pessoas mundialmente (OPAS, 2018). Esse cenário se torna ainda mais alarmante com a pandemia da COVID-19 e o isolamento social, promovendo um profundo impacto na saúde mental da população e um aumento no número de casos de depressão (MAIA, DIAS; 2020; NEARCHOU et al., 2020). A depressão afeta a qualidade de vida do paciente, tornando-o incapacitado de realizar atividades habituais. Além disso, aumenta as chances do indivíduo de desenvolver síndrome metabólica e diabetes. (MUKHERJEE; CHATURVEDI, 2019).

Apesar do grande conhecimento acerca da neurobiologia da depressão, nenhum mecanismo consegue explicar todas as vertentes da doença. Atualmente, a teoria monoaminérgica é a mais aceita, porém a incidência de efeitos adversos e o grande período de latência dos antidepressivos fazem com que muitos pacientes abandonem o tratamento (PEREZ- CABALLERO et al., 2019).

Nos últimos anos, várias hipóteses destacaram os sistemas imune e endócrino na fisiopatologia da depressão. A hiperatividade do eixo HHA em resposta ao estresse contribui no desenvolvimento da doença (JURUENA et al., 2018). Além do mais, foi evidenciado que pacientes depressivos possuíam altos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, demonstrando uma possível relação entre depressão e inflamação (LEONARD; 2018; JIA et al., 2019).

Nesse contexto, a busca por substâncias com efeito antidepressivo que já estão disponíveis no mercado farmacêutico e que causem uma tolerabilidade melhor ao paciente, torna-se interessante. Como a inflamação é um fator chave na relação bidirecional entre a depressão e o diabetes tipo II, a utilização de uma droga hipoglicemiante bem estabelecida no mercado e que tem propriedades anti-inflamatórias poderá proporcionar melhora aos pacientes que possuem essa co-morbidade, além de reduzir os anos de pesquisa em relação a farmacocinética e segurança, através do redirecionamento desse fármaco (INGHAM; WILLIAMS; BATE, 2014).

A utilização da glimepirida em animais submetidos ao modelo do tipo depressivo induzido por lipopolissacarídeo abre novas possibilidades, podendo desempenhar um papel significativo no tratamento da depressão maior. Nessa perspectiva, pretendeu-se investigar o efeito antidepressivo da glimepirida e sua modulação através do estresse oxidativo e neuroinflamação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da glimepirida no sistema nervoso central de camundongos submetidos a administração repetida de lipopolissacarídeo (LPS).

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar a glicose de camundongos antes e depois da administração da glimepirida;
- Avaliar a atividade exploratória e locomotora de camundongos através do teste do campo aberto;
- Avaliar nos camundongos os testes comportamentais preditivos de efeito antidepressivo, como o teste do Nado Forçado e Suspensão pela cauda;
- Avaliar a memória e o aprendizado nos camundongos através dos testes do labirinto em Y e reconhecimento de objetos;
- Mensurar parâmetros de estresse oxidativo através do MDA, Nitrito e GSH nas áreas cerebrais do hipocampo e córtex pré-frontal;
- Mensurar as concentrações de citocinas (IL-1 β e TNF) nas áreas cerebrais do hipocampo e córtex pré-frontal.

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss machos adultos jovens, pesando entre 20-30g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os mesmos foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$), com ciclo claro/escuro de doze horas e recebendo água e comida à disposição.

O experimento foi realizado conforme os princípios éticos de experimentação animal, sendo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFC, sob o número 2276011019.

4.2 Substâncias utilizadas

4.2.1 Lipopolissacarídeo

Os animais, exceto os do grupo controle, receberam injeção intraperitoneal (i.p) de Lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli*, sorotipo 055:B5 (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, EUA) na dose de 0,5 mg/kg dissolvido em solução salina estéril.

4.2.2 Glimpirida

A droga teste utilizada foi a glimepirida (GLI) (Medley), diluída em solução salina 0,9% e administrada através de gavagem por via oral, durante 5 (cinco) dias consecutivos, na dose de 2 mg/kg. A escolha da dose é justificada por apresentar efeitos benéficos perante o estresse oxidativo e à inflamação em modelo animal (ISHOLA et al., 2019).

4.2.3 Escitalopram

O controle positivo foi o Escitalopram (ESCI) (Medley), diluído em solução salina 0,9% e administrado através de gavagem por via oral, durante 5 (cinco) dias consecutivos, na dose

de 10mg/kg. A dose foi definida com base em um estudo anterior em modelo animal (DE SOUSA TOMAZ et al., 2020).

4.3. Desenho experimental

O protocolo foi proposto para avaliar os efeitos da administração de glimepirida em um modelo animal do tipo depressivo através da exposição sistêmica a lipopolissacarídeo como descrito por (MELLO et al., 2017), com adaptações. Durante dez dias, pela manhã, uma vez ao dia, foi administrado injeções intraperitoniais (i.p) de lipopolissacarídeo 0,5 mg/kg de forma a induzir um comportamento do tipo depressivo no animal. Do 6º ao 10º dia do protocolo, foi acrescentado administração oral por gavagem das drogas, uma hora após a administração do LPS. Para estes experimentos os grupos tratados foram divididos conforme listados abaixo, com cada grupo contendo em média, 6 a 8 animais:

- **Grupo controle:** animais receberam injeções intraperitoniais de solução salina 0,9% i.p durante dez dias, e posteriormente, receberam administração diária de solução salina 0,9% por via oral (v.o.) entre o 6º e 10º dias.

- **Grupo LPS+SAL:** animais receberam injeções intraperitoniais de LPS (0,5 mg/kg) durante dez dias e administração diária de solução salina 0,9% por via oral (v.o.) entre o 6º e 10º dias.

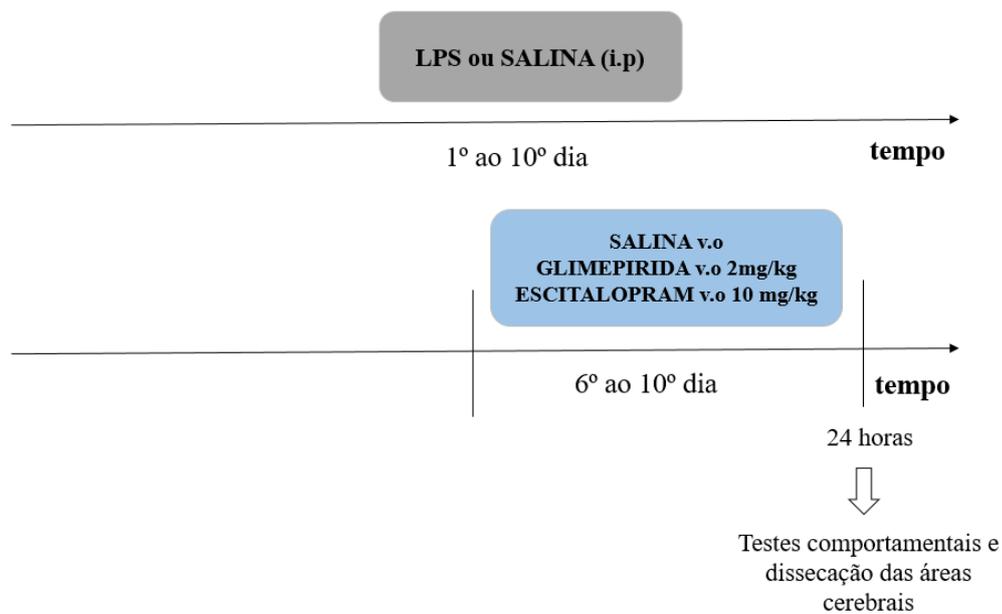
- **Grupo LPS+GLI:** animais receberam injeções intraperitoniais de LPS (0,5 mg/kg) durante dez dias e administração diária de Glimepirida (2 mg/kg) por via oral (v.o.) entre o 6º e 10º dias.

- **Grupo LPS+ESCI:** animais receberam injeções intraperitoniais de LPS (0,5 mg/kg) durante dez dias e administração diária de Escitalopram (10mg/kg) por via oral (v.o.) entre o 6º e 10º dias.

Antes de iniciar a administração oral da glimepirida, foi retirado uma pequena amostra de sangue dos animais desse grupo para mensuração de glicose venosa. Esse procedimento se repetiu no último dia de tratamento com a droga teste. Vinte e quatro horas após a última administração de glimepirida ou escitalopram ou salina, os animais foram submetidos aos testes comportamentais. Imediatamente após os testes comportamentais, os animais foram sacrificados por decapitação e tiveram os encéfalos rapidamente retirados e colocados no gelo

para dissecação do hipocampo (HP) e córtex pré-frontal (CPF). Ao final da dissecação, as áreas foram colocadas em microtubos de plásticos devidamente identificados, pesados e conservados a -70°C para uso posterior. Os detalhes do delineamento experimental estão representados no fluxograma a seguir:

Figura 6- Fluxograma do protocolo experimental



Fonte: Elaborado pela própria autora (2021). Abreviações: LPS- lipopolissacarídeo; i.p- intraperitoneal; v.o- via oral.

4.4 Determinação de glicose venosa

A concentração de glicose venosa dos animais foi mensurada antes e depois da administração de 5 dias da glimepirida, a fim de eliminar possíveis efeitos hipoglicêmicos que pudessem comprometer os resultados dos testes comportamentais. Para isso, os animais foram contidos suavemente, e uma pequena amostra de sangue da veia caudal foi retirada e a glicemia avaliada utilizando o glicosímetro (One Touch Select Plus®). A variação dos níveis de glicemia foi obtida em mg/ dL.

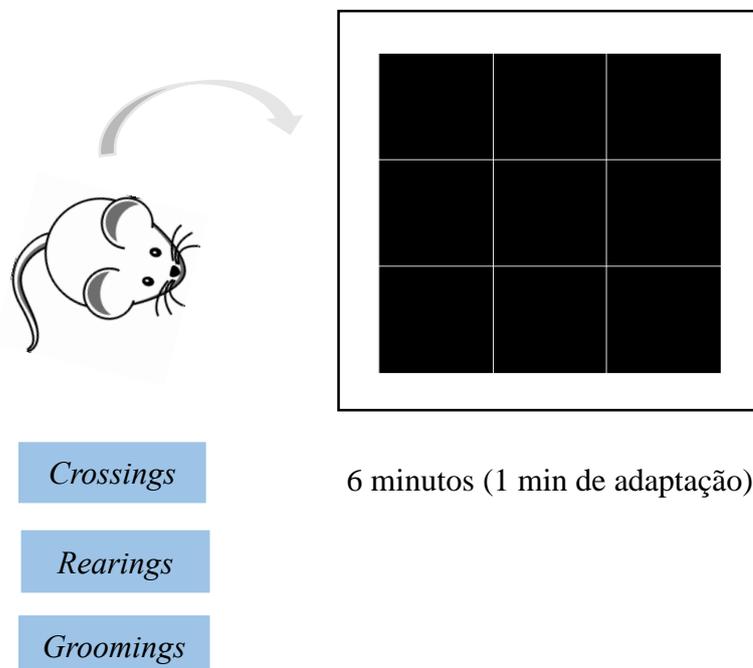
4.5 Testes comportamentais

4.5.1 Avaliação da Atividade Locomotora e Exploratória

4.5.1.1 Teste do Campo Aberto

A metodologia de ARCHER (1973), com adaptações, foi utilizada para avaliar a atividade locomotora e exploratória do animal. Para isto, foi utilizado um campo aberto feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30x30x15 cm) dividido em 9 quadrantes iguais, como mostra a figura 7. O animal é colocado no centro do aparato e durante cinco minutos foi avaliado o número de cruzamentos entre os quadrantes (*crossings*), o número de levantamentos verticais ou *rearings* (número de vezes que o animal se ergue nas patas dianteiras) e o número de movimento de auto limpeza (*groomings*). O teste foi realizado em uma sala com som atenuado.

Figura 7- Representação do Teste do Campo Aberto



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

4.5.2 Avaliação do fenótipo depressivo

4.5.2.1 Teste do Nado Forçado

Os animais foram colocados individualmente em um cilindro plástico (altura: 35 cm; diâmetro: 24 cm), contendo 13,5 cm de água, por um período de 6 minutos, sendo os 2 primeiros de adaptação (YANKELEVITCH-YAHAV et al., 2015). Durante 4 minutos, foi registrado o tempo total de imobilidade para cada animal, e considera-se como imobilidade quando o animal faz apenas os movimentos mínimos para manter a cabeça fora da água. A figura 8 representa o teste.

Figura 8- Teste do Nado Forçado



Tempo de imobilidade

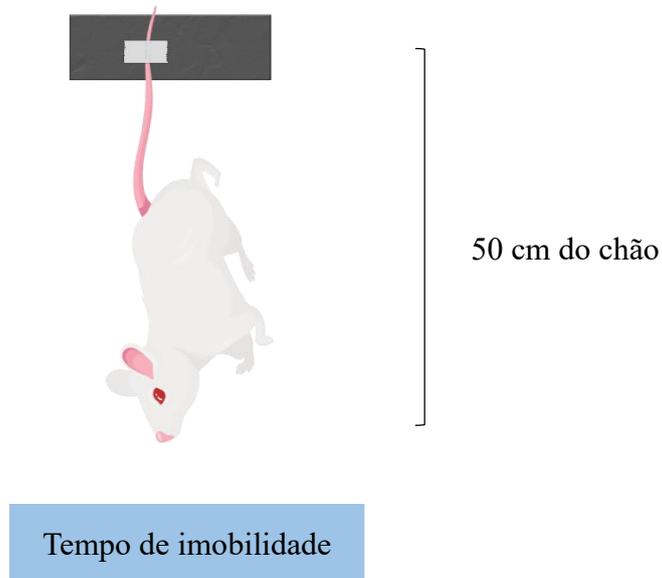
6 minutos (2 min de adaptação)

Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

4.5.2.2 Teste da Suspensão pela Cauda

No teste de suspensão pela cauda, os camundongos ficaram suspensos a 50 cm do chão por uma fita fixada a 1 cm a partir da ponta da cauda e o tempo de imobilidade foi registrado durante 5 minutos (STERU et al., 1985). Os animais foram testados individualmente, sendo considerado imóvel apenas quando permaneceu passivamente suspenso (Figura 9).

Figura 9- Teste da Suspensão pela Cauda



6 minutos (1 min de adaptação)

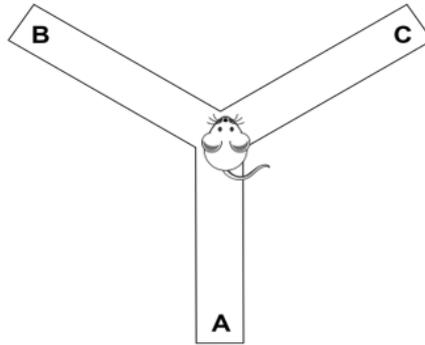
Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

4.5.3 Avaliação da memória e aprendizado

4.5.3.1 Teste do labirinto em Y

O teste proposto por Sarter (1988), avalia a memória de curto prazo e o aprendizado dos animais. O labirinto em Y consiste em três braços idênticos (A, B, C) de 40 cm de comprimento, 16 cm de altura e 5 cm de largura (Figura 10). Cada camundongo foi colocado na intersecção das extremidades e durante 8 minutos foi permitido explorar o ambiente. A sequência dos braços em que os animais entraram foi registrada e as informações analisadas de forma a determinar o número de entrada nos braços sem repetição. Uma alternância é considerada correta se o animal visitar um novo braço e não retornar ao braço anteriormente visitado. A porcentagem de alternâncias corretas é dada por: n° de alternâncias corretas / (n° total de entradas) x 100.

Figura 10- Teste do Labirinto em Y



Tempo de teste: 8 minutos

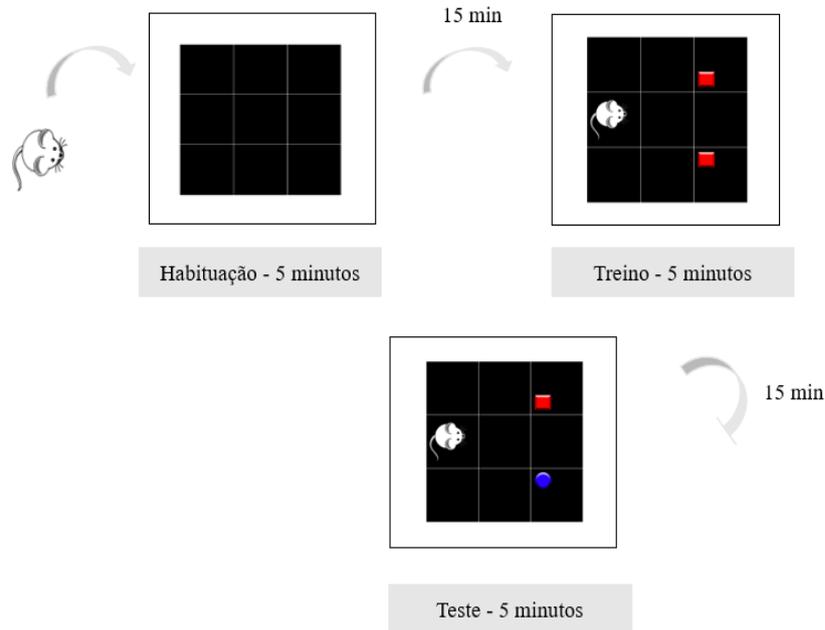
Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

4.5.3.2 Teste de Reconhecimento de objetos

Este teste é baseado na tendência natural dos animais a buscarem o novo (ENNANCEUR; DELACOUR, 1988). Inicialmente, os animais foram habituados e colocados em um campo aberto de acrílico (30x30x15) durante 5 minutos. Posteriormente, eles foram retirados e colocados em uma outra caixa por 15 minutos, até o início da fase de treino. Na fase de treino, o animal foi colocado novamente no aparato de acrílico contendo 2 objetos iguais (OI) e durante 5 minutos, foi permitido explorar o ambiente e os objetos. Após 15 min de intervalo, ocorreu efetivamente o teste, o animal foi colocado novamente na arena teste e um dos objetos iguais foi substituído pelo objeto novo (ON). Durante 5 minutos, o tempo que o animal explorou cada um dos objetos foi anotado (DE AQUINO et al., 2020) (Figura 11). O resultado foi expresso como índice de reconhecimento a um objeto novo, sendo obtido a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de reconhecimento: } (\text{tempo ON} - \text{tempo OI}) / (\text{tempo ON} + \text{tempo OI})$$

Figura 11- Teste de Reconhecimento de Objetos



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

4.6 Testes Neuroquímicos

4.6.1 Determinação de Parâmetros de Estresse Oxidativo

4.6.1.1 Avaliação do grau de Lipoperoxidação

O grau de lipoperoxidação nas áreas cerebrais (hipocampo e córtex pré-frontal) foi mensurado através da determinação dos níveis de malondialdeído (MDA), conforme o método de (DRAPER; HADLEY, 1990). Foram preparados os homogenatos das áreas cerebrais a 10% em tampão fosfato de potássio monobásico, 50 mM, pH 7,4 e 63µL destes foram adicionados a 100 µL de ácido perclórico 35% em tubos *ependorf*, que posteriormente foram centrifugados a 10000 rpm por 10 minutos a 4°C. Em seguida, 150 µL do sobrenadante foi adicionado a 50 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%, que ficaram em banho-maria a 95°C por 30 minutos. Ao final, 150 µL da mistura foram adicionados aos poços da placa de ELISA e foi realizado a leitura a 535nm. Os resultados foram expressos em µg de MDA/g de tecido.

4.6.1.2 Determinação das concentrações de Nitrito

Os níveis de nitrito foram determinados nos homogenatos cerebrais (hipocampo e córtex pré-frontal). Para isto, 100 µL do Reagente de Griess (ácido fosfórico 5%, sulfonilamida 1% em ácido fosfórico 5%, NEED 0,1% e água destilada) foram adicionados a 100 µL do sobrenadante do homogenato e incubados a temperatura ambiente por 10 min, de acordo com o protocolo de GREEN et al., (1982). A curva padrão foi elaborada com várias concentrações de NaNO₂ (variando de 0,75 a 100 mM) sob as mesmas condições. Os brancos foram preparados pela adição de 100 µL do Reagente de Griess a 100 µL do tampão usado para o homogenato (fosfato de potássio monobásico 50 mM, pH 7,4). A absorbância foi medida em 540 nm, e o resultado expresso em nmol de nitrito/g de tecido.

4.6.1.3 Determinação das concentrações de Glutathiona reduzida (GSH)

Os níveis de Glutathiona reduzida (GSH) foram medidos para avaliar a capacidade de defesa antioxidante. O método é baseado na reação de reagente de Ellman (DTNB), com grupos tiol livres. As áreas do cérebro (hipocampo e córtex pré-frontal) foram diluídas em tampão de 0,02 M de EDTA (10% p/v) e adicionadas a uma solução de ácido tricloroacético a 50%. Posteriormente, foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 min e o sobrenadante foi retirado. As amostras foram misturadas com 0,4 M de tampão trisHCl, pH 8,9 e 0,01 M de DTNB (SEDLAK; LINDSAY, 1968). Níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculada com base numa curva padrão de glutathiona e expressos como µg de GSH/g de tecido.

4.7 Mensuração das concentrações de IL-1β e TNF

As áreas cerebrais (hipocampo e córtex pré-frontal) dissecadas foram homogeneizadas em 8 volumes de tampão PBS com protease (EMD Biosciences) e fosfatase (Sigma-Aldrich) e posteriormente, foram centrifugadas (10000 rpm, 5 min), e utilizando sobrenadante da diluição. A concentração das citocinas, em 50 µL de amostras, foi determinada por ELISA (R&D® Systems, Minneapolis, MN, EUA) conforme o protocolo do fabricante e expressa em pg/g de tecido.

4.8 Análise estatística

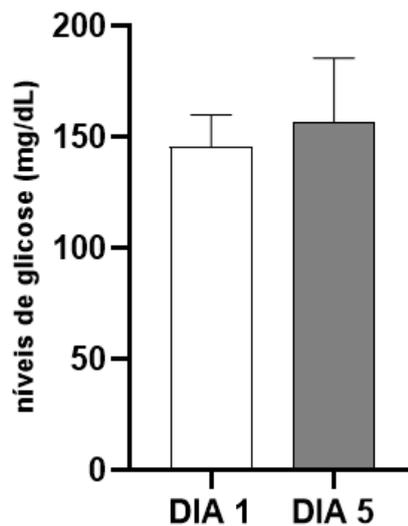
A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism versão 8.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego California EUA). Inicialmente, os resultados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, para verificar a normalidade dos dados. Para a comparação entre duas variáveis, foi realizado o teste T de Student para resultados paramétricos ou teste de Mann-Whitney, para resultados não paramétricos. Para mais de três grupos, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey (*post hoc*) para resultados paramétricos ou Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn's (*post hoc*) para os não paramétricos. Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) com valores significativos quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Dosagem de glicose venosa em animais tratados com Glimepirida

Foi verificado que o tratamento de 5 dias consecutivos da Glimepirida na dose de 2 mg/kg não alterou significativamente os níveis de glicose (mg/dL) dos animais (DIA 1: $145,4 \pm 5,1$; DIA 5: $156,3 \pm 10,3$), como demonstrado na Figura 12.

Figura 12- Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre os níveis de glicose venosa dos animais.



Tempo (em dias) após a administração com glimepirida (2mg/kg)

Fonte: Autoria própria (2021). Os animais (n=6-8 animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) após a administração repetida de LPS. Foram mensurados os níveis de glicose nos dias 1 e 5, antes da primeira e após a última administração de glimepirida, respectivamente. Os valores estão representados como média \pm EPM. O teste utilizado foi o de Mann-Whitney.

5.2 Avaliação Comportamental

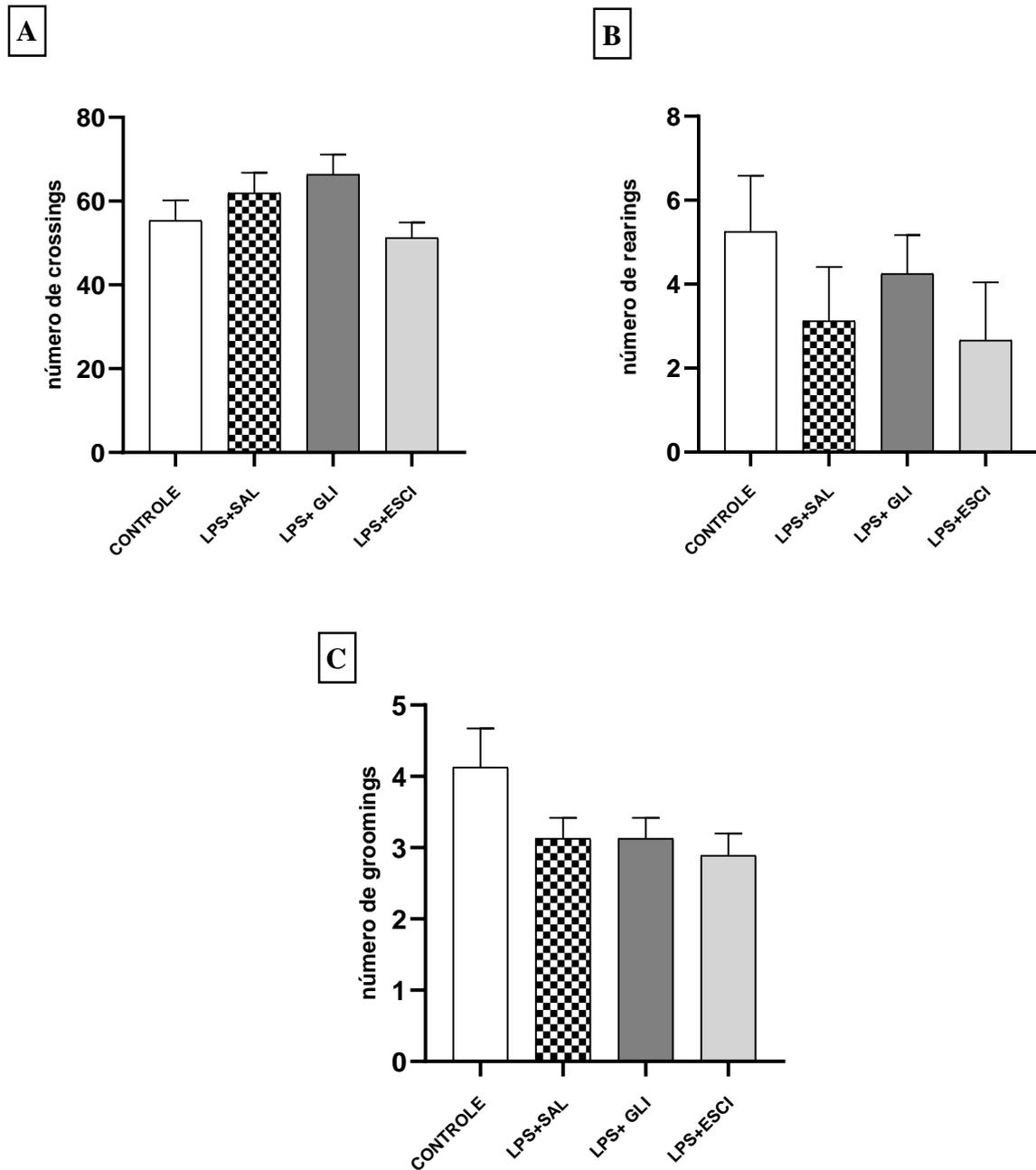
5.2.1 Efeito da administração da Glimpirida (2 mg/kg) sobre a atividade locomotora e exploratória através do Teste do Campo Aberto em camundongos expostos ao LPS.

Os resultados não revelaram diferenças significativas na locomoção e exploração dos animais nos parâmetros analisados: número de *crossings*, número de *rearings* e número de *groomings*. A administração sistêmica do LPS não alterou significativamente o número de *crossings* dos animais quando comparado ao grupo controle (CONTROLE: $55,3 \pm 4,7$; LPS+SAL: $61,8 \pm 4,8$). O tratamento com a glimepirida e o escitalopram também demonstrou não alterar significativamente o comportamento estudado (LPS+GLI: $66,3 \pm 4,7$; LPS+ESCI: $51,2 \pm 3,6$; LPS+SAL: $61,8 \pm 4,8$). (Figura 13A).

Em relação ao número de *rearings*, o grupo LPS+SAL em comparação ao grupo controle não promoveu nenhuma alteração estatisticamente significativa (LPS+SAL: $3,1 \pm 1,2$; CONTROLE: $5,2 \pm 1,3$). O mesmo foi observado nos grupos tratados com a glimepirida e o escitalopram após o LPS (LPS+GLI: $4,2 \pm 0,9$; LPS+ESCI: $2,6 \pm 1,3$; LPS+SAL: $3,1 \pm 1,2$). (Figura 13B).

No número de *groomings*, também não foi observado diferenças significativas entre os grupos LPS+SAL e controle (CONTROLE: $4,1 \pm 0,5$; LPS+SAL: $3,1 \pm 0,2$). A administração oral de glimepirida e escitalopram após o LPS também não alterou significativamente esse parâmetro (LPS+GLI: $3,1 \pm 0,2$; LPS+ ESCI: $2,8 \pm 0,3$; LPS+SAL: $3,1 \pm 0,2$). (Figura 13C).

Figura 13- Efeito do tratamento da Glimepirida (2 mg/kg) no teste do Campo aberto.

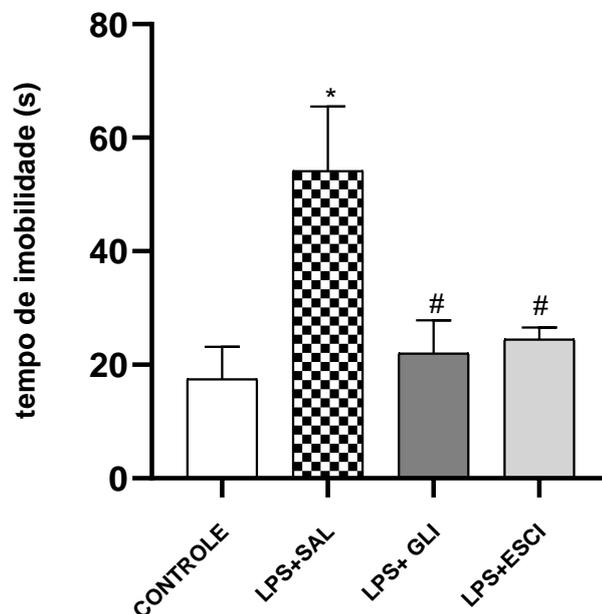


Fonte: Autoria própria (2021). Os animais (n=6-8 animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental foram analisados o número de *crossings* (A), *rearings* (B) e *groomings* (C) dos animais durante 5 minutos através do teste do Campo aberto. Os testes utilizados foram o ANOVA, seguido de Tukey como (*post hoc*) para (A) e (C), e Kruskal-Wallis, seguido do teste de *post hoc* de Dunn's para comparações múltiplas para (B). Os valores estão representados como média \pm EPM. SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram 10 mg/kg.

5.2.2 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no Teste do Nado Forçado em camundongos expostos ao LPS.

A administração sistêmica do LPS resultou em um aumento pronunciado na duração da imobilidade de 209% em comparação ao grupo controle (CONTROLE: $17,5 \pm 5,6$; LPS+SAL: $54,1 \pm 11,3$, $P < 0,05$), sendo possível verificar a indução do comportamento depressivo-símile. O tratamento com a glimepirida na dose de 2 mg/kg foi capaz de reverter esse comportamento, reduzindo o tempo de imobilidade em quase 60% em relação ao grupo LPS+SAL, indicando um efeito antidepressivo-símile superior a droga de referência, escitalopram, que reduziu o tempo de imobilidade em 54% (LPS+SAL: $54,1 \pm 11,3$; LPS+GLI: $22 \pm 5,8$; LPS+ESCI: $24,5 \pm 2,0$, $P < 0,05$) (Figura 14).

Figura 14- Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste do Nado Forçado.

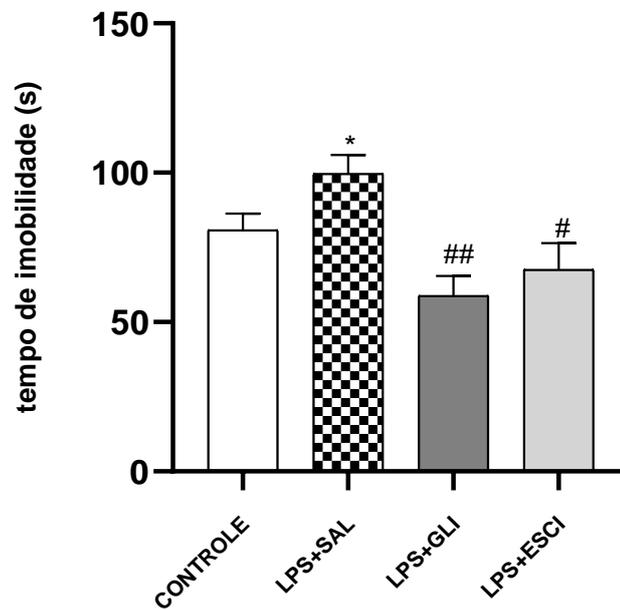


Fonte: Autoria própria (2021). Os animais ($n=6-8$ animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental foram submetidos ao teste do Nado Forçado para verificar o tempo de imobilidade (s) durante 4 minutos. Os valores estão representados como média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs CONTROLE; # $p < 0,05$ vs LPS+SAL. Teste ANOVA, seguido do Tukey como (*post hoc*). SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram 10 mg/kg.

5.2.3 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no Teste da Suspensão pela Cauda em camundongos expostos ao LPS.

No teste de Suspensão pela Cauda foi verificado um aumento de 23% no tempo de imobilidade (s) do grupo LPS+SAL em relação ao grupo controle (CONTROLE: $80,8 \pm 5,5$; LPS+ SAL: $99,7 \pm 6,2$, $P < 0,05$). O grupo tratado com glimepirida apresentou uma redução significativa de 41% no mesmo parâmetro, quando comparado ao grupo exposto ao LPS tratado somente com SAL, (LPS+ SAL: $99,7 \pm 6,2$; LPS+GLI: $58,7 \pm 6,6$; $P < 0,01$), enquanto o grupo tratado com escitalopram reduziu em 32% (LPS+ SAL: $99,7 \pm 6,2$; LPS+ ESCI: $67,5 \pm 8,9$, $P < 0,05$). Os resultados são expressos na Figura 15.

Figura 15- Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste da Suspensão pela Cauda.

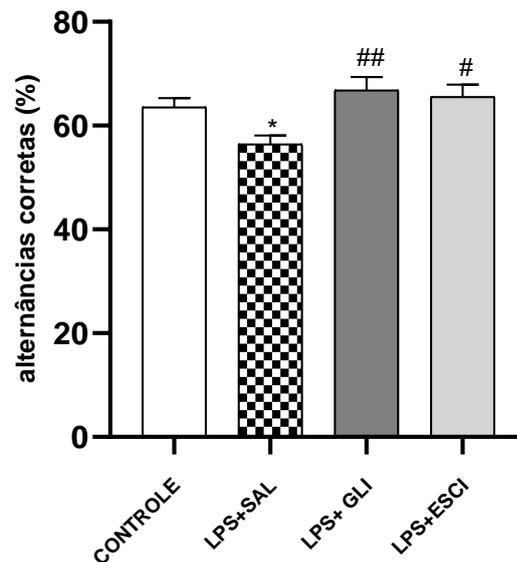


Fonte: Autoria própria (2021). Os animais ($n=6-8$ animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental foram submetidos ao teste da Suspensão pela Cauda para verificar o tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Os valores estão representados como média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs CONTROLE; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ vs LPS+SAL. Teste ANOVA, seguido do Tukey como (*post hoc*). SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram 10 mg/kg.

5.2.4 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre a memória de camundongos expostos ao LPS no Teste do Labirinto em Y.

O grupo LPS+SAL apresentou uma redução de 11% no número de alternâncias corretas comparado ao grupo controle (CONTROLE: $63,5 \pm 1,7$; LPS+SAL: $56,4 \pm 1,6$, $P < 0,05$) e o tratamento com a glimepirida e com o escitalopram melhorou significativamente esse parâmetro em 18% e 16%, respectivamente, quando comparado ao grupo desafiado pelo LPS tratado somente com SAL (LPS+SAL: $56,4 \pm 1,6$; LPS+GLI: $66,8 \pm 2,5$, $P < 0,01$; LPS+ESCI: $65,5 \pm 23,5$, $P < 0,05$), conforme demonstra a figura 16.

Figura 16- Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre o número de alternâncias corretas no teste Labirinto em Y.

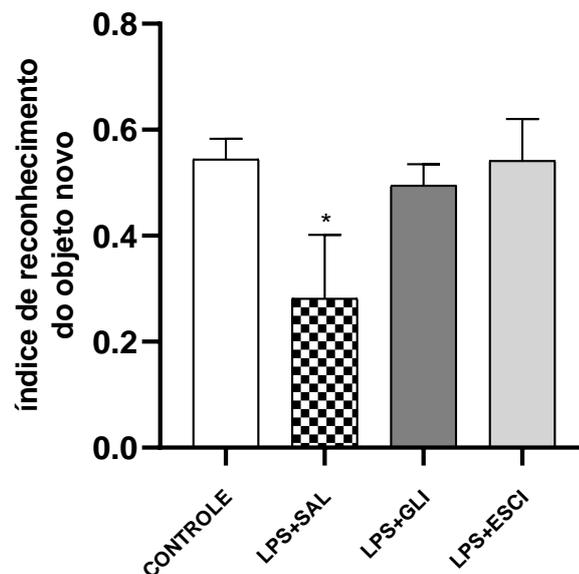


Fonte: Autoria própria (2021). Os animais ($n=6-8$ animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental foram submetidos ao teste do Labirinto em Y para verificar o número de alternâncias corretas durante 8 minutos. Os valores estão representados como média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs CONTROLE; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ vs LPS+SAL. Teste ANOVA, seguido do Tukey como (*post hoc*). SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram 10 mg/kg.

5.2.5 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre a memória de camundongos expostos ao LPS no teste de Reconhecimento de objetos

O grupo exposto ao LPS tratado com SAL apresentou uma redução significativa de 48% no índice de reconhecimento a um objeto novo, quando comparado ao grupo controle (CONTROLE: $0,54 \pm 0,03$; LPS+SAL: $0,28 \pm 0,12$, $P < 0,05$). (Figura 17). A administração de glimepirida e escitalopram não foi capaz de reverter tal alteração, entretanto não houve uma diferença significativa desses grupos em relação ao grupo controle. (LPS+GLI: $0,49 \pm 0,03$; LPS+ESCI: $0,54 \pm 0,07$; CONTROLE: $0,54 \pm 0,03$; LPS+SAL: $0,28 \pm 0,12$).

Figura 17- Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) sobre o índice de reconhecimento a um objeto novo.



Fonte: Autoria própria (2021). Os animais ($n=6-8$ animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental foram submetidos ao teste do Reconhecimento de objetos para verificar o índice de reconhecimento a um objeto novo. Os valores estão representados como média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs CONTROLE. Teste ANOVA, seguido do Tukey como (*post hoc*). SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram: 10 mg/kg.

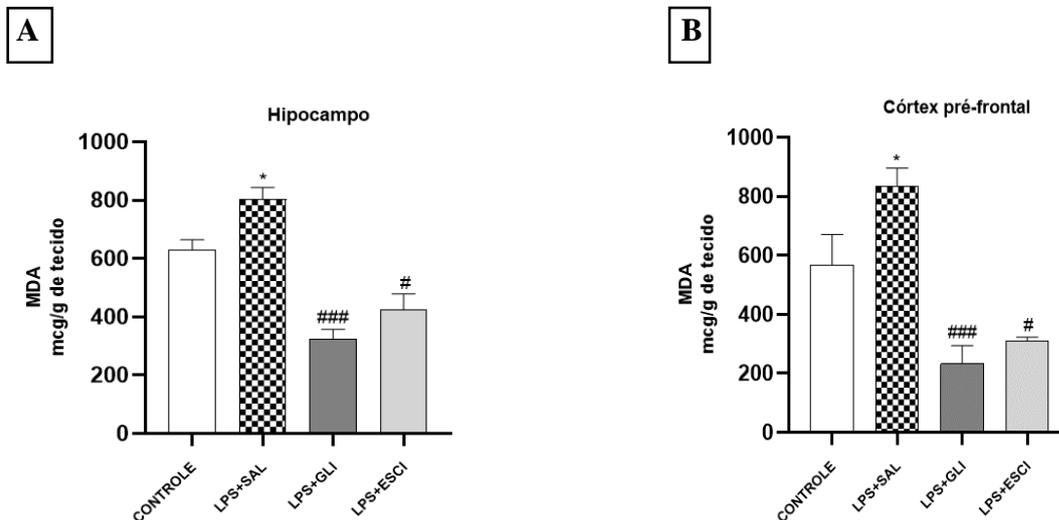
5.3 Avaliação Neuroquímica

5.3.1 Determinação dos parâmetros de estresse oxidativo

5.3.1.1 Efeito do tratamento com Glimepirida (2 mg/kg) sobre a concentração de Malondialdeído (MDA) no hipocampo e córtex pré-frontal

Foi observado um aumento significativo nos níveis (mcg/g de tecido) de MDA no grupo LPS+SAL em comparação ao grupo controle, tanto no hipocampo (CONTROLE: $628,8 \pm 35,4$; LPS+SAL: $804,1 \pm 39,2$, $P < 0,05$) (Figura 18A) como no córtex pré-frontal (CONTROLE: $568,2 \pm 103,2$; LPS+SAL: $832,9 \pm 62,6$, $P < 0,05$) (Figura 18B). O tratamento com a glimepirida e com o escitalopram, reduziu significativamente as concentrações de MDA em ambas as áreas cerebrais, quando comparado ao grupo LPS+SAL (Hipocampo: LPS+SAL: $804,1 \pm 39,2$; LPS+GLI: $324,3 \pm 33,6$, $P < 0,001$; LPS+ESCI: $423,3 \pm 55,7$, $P < 0,05$; Córtex pré-frontal: LPS+SAL: $832,9 \pm 62,6$; LPS+GLI: $232,1 \pm 61,3$, $P < 0,001$; LPS+ESCI: $309,8 \pm 13,3$).

Figura 18- Efeitos da Glimepirida (2 mg/kg) sobre a dosagem de malondialdeído (MDA) no Hipocampo e no Córtex pré-frontal

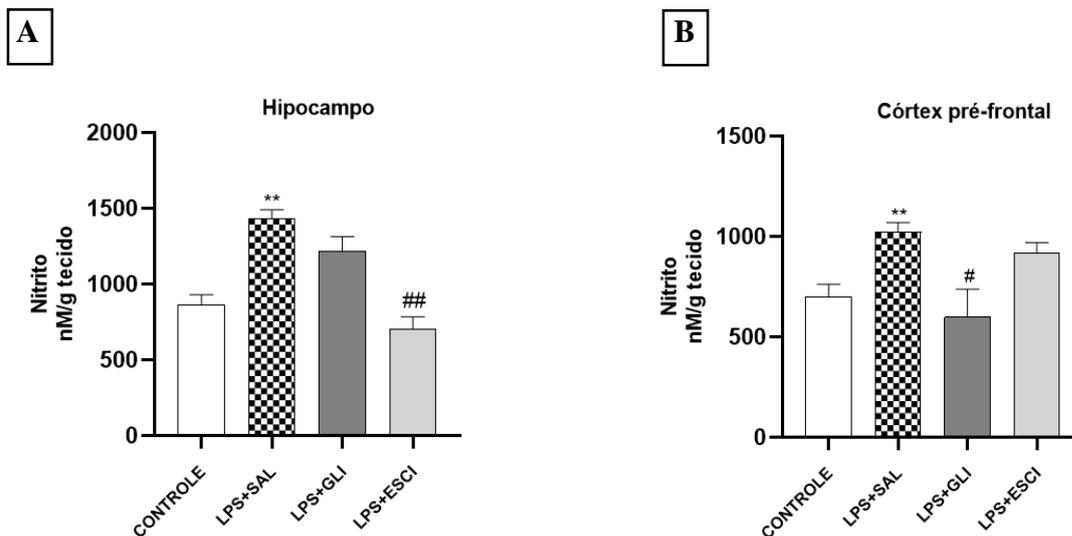


Fonte: Autoria própria (2021). Os animais (n=6-8 animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental as áreas foram dissecadas para avaliar a dosagem de malondialdeído (MDA). Os valores estão representados como média ± EPM. * $p < 0,05$ vs CONTROLE. # $p < 0,05$; ### $p < 0,001$ vs LPS+SAL. Teste Kruskal-Wallis, seguido do teste de *post hoc* de Dunn's. SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram: 10 mg/kg.

5.3.1.2 Efeito do tratamento com Glimepirida (2 mg/kg) sobre a concentração de nitrito no hipocampo e córtex pré-frontal

O grupo exposto ao LPS tratado somente com SAL aumentou significativamente os níveis (nM/g de tecido) de nitrito comparado ao grupo controle, no hipocampo (CONTROLE: $864,6 \pm 66,7$; LPS+SAL: $1436 \pm 54,3$, $P < 0,01$) (Figura 19A) e no córtex pré-frontal (CONTROLE: $699,5 \pm 63,6$; LPS+SAL: $1022 \pm 48,7$, $P < 0,01$) (Figura 19B). O tratamento com a glimepirida foi capaz de reverter as concentrações de nitrito apenas no córtex pré-frontal (Córtex pré-frontal: LPS+GLI: $597,9 \pm 140,7$; LPS+SAL: $1022 \pm 48,7$, $P < 0,05$), enquanto que o escitalopram reverteu este aumento apenas no hipocampo (Hipocampo: LPS+ESCI: $705,2 \pm 78,6$; LPS+SAL: $1436 \pm 54,3$, $P < 0,05$).

Figura 19- Efeitos da Glimepirida (2 mg/kg) sobre os níveis de nitrito no Hipocampo e no Córtex pré-frontal

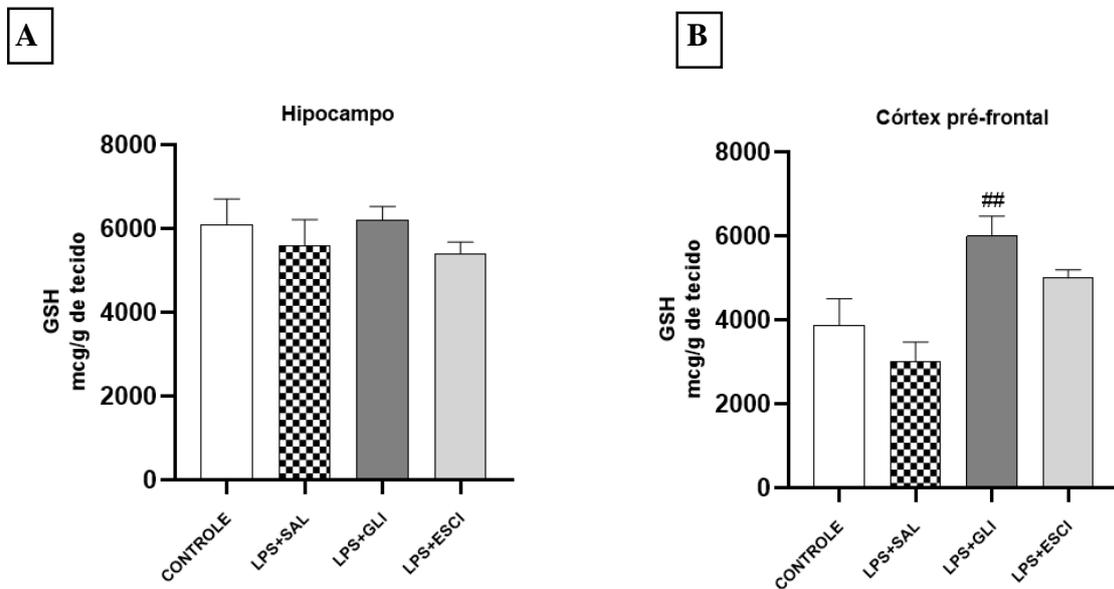


Fonte: Autoria própria (2021). Os animais (n=6-8 animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental as áreas foram dissecadas para avaliar a dosagem de nitrito. Os valores estão representados como média \pm EPM. ** $p < 0,01$ vs CONTROLE. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ vs LPS+SAL. Teste Kruskal-Wallis, seguido do teste de *post hoc* de Dunn's. SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram: 10 mg/kg.

5.3.1.3 Efeito do tratamento com Glimepirida (2 mg/kg) sobre a concentração de Glutathiona reduzida (GSH) no hipocampo e córtex pré-frontal

Na avaliação dos níveis (mcg/g de tecido) de GSH (Figura 20), o grupo LPS+SAL não apresentou diferença estatística frente ao grupo controle, em nenhuma das áreas cerebrais analisadas. Entretanto, o tratamento com a glimepirida aumentou significativamente a concentração de GSH no córtex pré-frontal quando comparado ao grupo LPS tratado somente com SAL, como mostra a figura 20B (LPS+SAL: $3005 \pm 466,7$; LPS+GLI: 5998 ± 470 , $P < 0,01$).

Figura 20- Efeitos da Glimepirida (2 mg/kg) sobre os níveis de GSH no Hipocampo e no Córtex pré-frontal



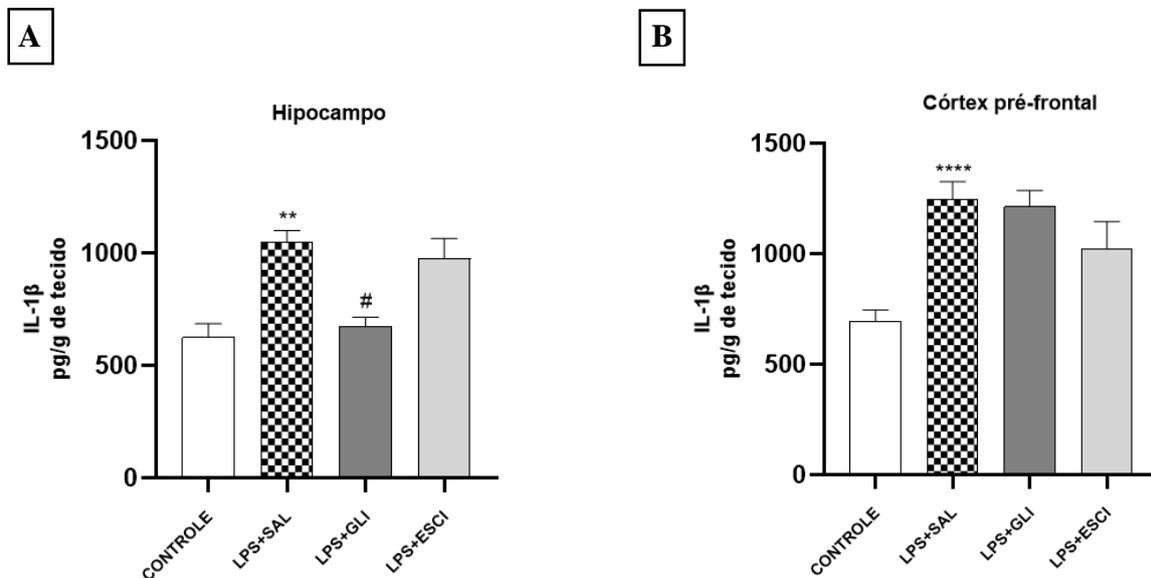
Fonte: Autoria própria (2021). Os animais (n=6-8 animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental as áreas foram dissecadas para avaliar a dosagem de GSH. Os valores estão representados como média \pm EPM. $##p < 0,01$ vs LPS+SAL. Teste Kruskal-Wallis, seguido do teste de *post hoc* de Dunn's. SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram: 10 mg/kg.

5.3.2 Determinação dos marcadores inflamatórios

5.3.2.1 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) na resposta inflamatória por meio da dosagem de Interleucina 1 β (IL-1 β) no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS

O grupo exposto ao LPS tratado somente com salina apresentou um aumento significativo dos níveis de IL-1 β comparado ao grupo controle, tanto no hipocampo (CONTROLE: 624 \pm 61,4; LPS+SAL: 1047 \pm 54,5, P<0,01) como no córtex pré-frontal (CONTROLE: 694,5 \pm 51,3; LPS+SAL: 1249 \pm 78,1, P<0,0001) (Figura 21). O tratamento com a glimepirida na dose de 2 mg/kg foi capaz de reverter o aumento dessa citocina pró-inflamatória no hipocampo, como demonstrado na figura 21A (LPS+GLI: 672,6 \pm 42,0; LPS+SAL: 1047 \pm 54,5, P<0,05).

Figura 21- Efeitos da Glimepirida (2 mg/kg) sobre os níveis de IL-1 β no Hipocampo e no Córtex pré-frontal

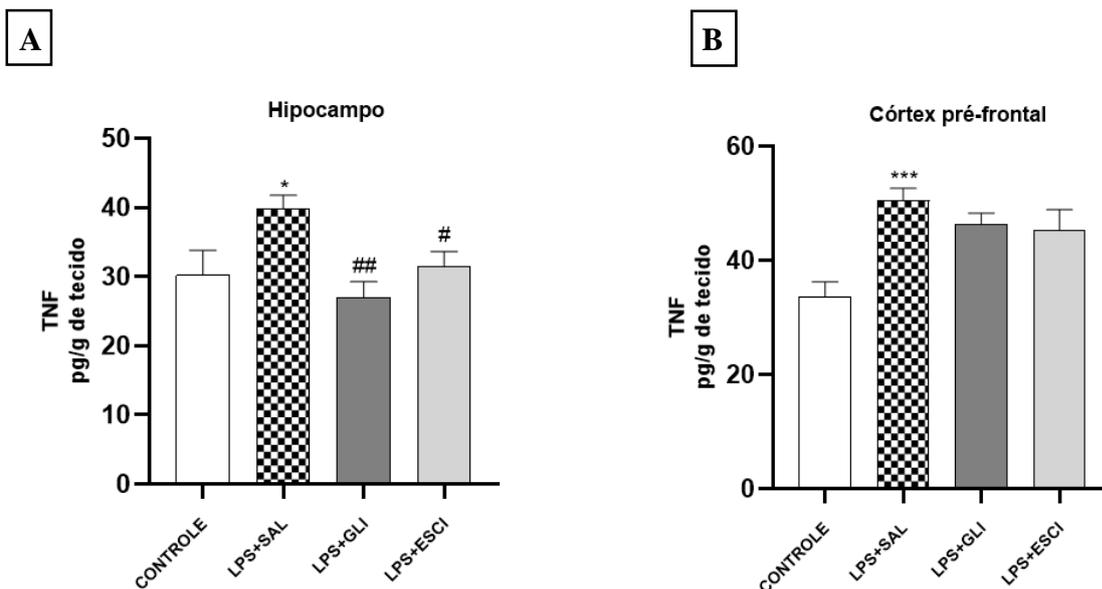


Fonte: Autoria própria (2021). Os animais (n=6-8 animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental as áreas foram dissecadas para avaliar a dosagem de IL-1 β . Os valores estão representados como média \pm EPM. **p<0,01; ****p<0,0001 vs CONTROLE. #p<0,05 vs LPS+SAL. Os testes utilizados foram o Kruskal-Wallis, seguido do teste de *post hoc* de Dunn's para (A) e ANOVA, seguido de Tukey como (*post hoc*) para (B). SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram: 10 mg/kg.

5.3.2.2 Efeito da administração da Glimepirida (2 mg/kg) na resposta inflamatória por meio da dosagem de TNF no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos expostos ao LPS

As concentrações de TNF aumentaram no grupo exposto ao LPS tratado somente com salina no hipocampo (CONTROLE: $30,1 \pm 3,6$; LPS+SAL: $39,7 \pm 2,0$, $P < 0,05$) e no córtex pré-frontal (CONTROLE: $33,6 \pm 2,5$; LPS+SAL: $50,5 \pm 2,0$, $P < 0,001$) (Figura 22). O tratamento com a glimepirida diminuiu os níveis de TNF no hipocampo, bem como o tratamento com o escitalopram, conforme demonstra a figura 22A (LPS+GLI: $26,9 \pm 2,3$; LPS+ESCI: $31,4 \pm 2,2$; LPS+SAL: $39,7 \pm 2,0$, $P < 0,01$; $P < 0,05$). Entretanto, nenhum efeito significativo foi observado nos grupos tratados com Glimepirida ou Escitalopram, no córtex pré-frontal.

Figura 22- Efeitos da Glimepirida (2 mg/kg) sobre os níveis de TNF no Hipocampo e no Córtex pré-frontal



Fonte: Autoria própria (2021). Os animais (n=6-8 animais/grupo) foram tratados durante 5 dias com glimepirida (2 mg/kg) ou escitalopram (10 mg/kg), após a administração repetida de LPS. No 11º dia do protocolo experimental as áreas foram dissecadas para avaliar a dosagem de TNF. Os valores estão representados como média \pm EPM. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ vs CONTROLE. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ vs LPS+SAL. Teste ANOVA, seguido de Tukey como (*post hoc*). SAL: Salina, LPS: Lipopolissacarídeo, GLI: Glimepirida 2 mg/kg, ESCI: Escitalopram: 10 mg/kg.

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho demonstrou que o modelo de administração de dez dias consecutivos de LPS foi eficaz na indução do comportamento depressivo-símile nos animais, com evidentes alterações comportamentais e neuroquímicas. Tal modelo já foi descrito anteriormente na literatura por provocar desespero e inibição comportamental em camundongos machos, assim como alterações do estresse oxidativo e neuroinflamação (MELLO, 2017; SILVA, 2020).

A glimepirida, fármaco mais recente da classe das sulfonilureias, foi o hipoglicemiante oral estudado para reverter as alterações comportamentais, oxidativas e inflamatórias induzidas pela administração repetida de LPS, por base em estudos que revelam efeitos de neuroproteção desses secretagogos de insulina (ESMAEILI et al., 2020; ISHOLA et al., 2019; SU et al., 2017), e foi possível comprovar que o tratamento com esse fármaco reverteu tais alterações.

Antes e depois, da administração de cinco dias com glimepirida, foi mensurada a concentração de glicose venosa dos animais. O tratamento com o fármaco na dose escolhida não alterou significativamente os níveis de glicose, o que não compromete os resultados dos testes comportamentais posteriores.

Um estudo de MORI (2007) mostrou que o tratamento com glimepirida na dose de 0,1 mg/kg por quatro semanas em animais não-diabéticos não prejudicava a homeostase glicêmica. A glimepirida em comparação a outras sulfonilureias, tende a causar menor hipoglicemia, devido à sua baixa afinidade pelo receptor de sulfonilureia da célula β pancreática.

O teste do campo aberto é amplamente utilizado para avaliar a atividade locomotora e exploratória dos animais (ARCHER, 1973). Nos números de *crossings* e *rearings* analisados, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, mostrando que nem o desafio imune repetido por LPS, nem o tratamento com a glimepirida e o escitalopram produziram alterações na locomoção e exploração dos animais. Estes resultados sugerem que os efeitos posteriormente observados nos testes do nado forçado e suspensão pela cauda não estão relacionados a uma ação psicoestimulantes ou sedativa da glimepirida.

Estudos com exposição sistêmica ao LPS por dez dias consecutivos não observaram alteração na atividade locomotora dos animais (SILVA, 2020; MELLO, 2017), assim como em estudos com administração única de LPS (CASARIL et al., 2019; TANIGUTI, 2018), corroborando com o nosso achado.

Em um outro trabalho utilizando exposição ao LPS foi observado redução na atividade locomotora dos animais, seis horas após a administração única do lipopolissacarídeo (SENS et al., 2017). Tal alteração é conhecida como “*sickness behavior*”, um comportamento característico da doença referente ao pico das citocinas pró-inflamatórias, que leva a uma alteração na locomoção e exploração dos animais, diferentemente do comportamento do tipo-depressivo, que é observado 24h após a exposição ao LPS (MELLO, 2013; O’CONNOR et al., 2009; OHGI et al., 2013).

Em relação ao número de *groomings*, comportamento de auto-limpeza do animal característico pelo ato de lamber a cabeça, as patas e os pelos (TIKHONOVA; KULIKOV, 2011), não ter sido observado diferença significativa entre os grupos corrobora com outros trabalhos que também utilizaram exposição ao LPS e não encontraram alterações no número de *groomings* (SILVA, 2020; VOJTECHOVA, 2018). Nesse contexto, os três parâmetros analisados no teste do campo aberto, sugerem que as drogas utilizadas não causam inibição nem excitação no Sistema Nervoso Central, preservando os resultados dos testes posteriores.

O nado forçado e a suspensão pela cauda são testes de forte validade preditiva para avaliar o potencial antidepressivo de drogas. Esses testes baseiam-se no “desespero comportamental” do animal quando é exposto a uma situação sem possibilidade de fuga, e aquele com sintomatologia pró-depressiva tende a permanecer maior tempo imóvel, após um tempo de agitação (YAN et al., 2010; YANKELEVITCH-YAHAV et al. 2015).

Em ambos os testes, os animais do grupo LPS+SAL apresentaram um aumento significativo do tempo de imobilidade, em comparação ao grupo controle, indicando que a exposição sistêmica ao LPS produz um comportamento do tipo-depressivo. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos que também utilizaram a exposição ao LPS e verificaram um aumento do tempo de imobilidade nos testes de avaliação do fenótipo depressivo (CASARIL et al., 2019; CHANG et al., 2019; GE et al., 2015; HE et al, 2019; MELLO, 2013).

O tratamento com a Glimepirida foi capaz de reverter esse comportamento nos testes do nado forçado e suspensão pela cauda, através da redução significativa do tempo de imobilidade dos roedores. Tal efeito também é observado com a utilização do Escitalopram, já relatado na literatura na mesma dose utilizada deste trabalho (DE SOUSA TOMAZ et al., 2020). Estudos utilizando a metformina, um antidiabético oral, apresentaram efeitos similares no mesmo modelo (CHEN et al., 2020; YANG et al., 2020). No entanto, não há relatos que mostrem a reversão do tempo de imobilidade da glimepirida nos referidos testes, tornando esse achado pioneiro.

A memória e a função cognitiva são elementos associados à plasticidade no SNC. Evidências sugerem que alterações na neuroplasticidade hipocampal induzidas pela inflamação periférica estão associadas a comportamentos depressivos com déficits de memória e aprendizagem (CHESNOKOVA; PECHNICK; WAWROWSKY, 2016; LI et al., 2017). Um achado de SCHAEFFER et al., (2021) observou que níveis mais altos de depressão e inflamação em adultos jovens parecem piorar a memória de reconhecimento familiar.

Com o propósito de estabelecer a relevância da memória nesse modelo, foi realizado o teste do Labirinto em Y, que se baseia no comportamento natural do animal em descobrir novos ambientes, tendendo explorar os três braços do aparato, um após o outro. É um teste bem documentado e confiável para avaliar a memória de trabalho em curto prazo de roedores, estando o córtex pré-frontal envolvido (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019).

Os resultados obtidos revelam uma diminuição no número de alternâncias corretas do grupo LPS tratado somente com SAL em relação ao grupo controle, demonstrando que a exposição ao LPS causa déficit de memória e aprendizado nos animais. Estudos em modelos de Alzheimer mostraram que a administração sistêmica de LPS causa neuroinflamação com comprometimento de memória e declínio cognitivo, resultando em uma hiperfosforilação da proteína Tau em camundongos (EKLADIOUS, 2019; THINGORE et al., 2020).

Em contrapartida, o grupo tratado com glimepirida foi capaz de aumentar significativamente o número de alternâncias corretas dos animais, indicando um efeito benéfico no prejuízo à memória de trabalho, causado pela exposição ao LPS. ISHOLA (2019), em seu estudo com o modelo de Parkinson induzido por Paraquat, verificou que o pré-tratamento com glimepirida na dose 2 mg/kg por vinte e um dias melhorou a função cognitiva e o comprometimento da memória nos animais, através da diminuição do estresse oxidativo.

Um outro teste utilizado para avaliar a memória de curto prazo é o de Reconhecimento de objetos. Esse teste avalia a memória não espacial dos animais, e sua premissa é baseada na preferência do animal saudável em explorar objetos ainda não vistos, despendendo mais tempo explorando o objeto novo, após reconhecer um objeto familiar (ENNANCEUR; DELACOUR, 1988).

No presente estudo, o grupo LPS+SAL apresentou menor índice de reconhecimento de objeto novo, em comparação ao grupo controle. Resultados semelhantes ao prejuízo cognitivo causado pela exposição ao LPS também foram observados previamente por SALMANI et al. (2020). Tal evidência pode ser explicada devido a liberação de prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias no hipocampo e no córtex, levando a um menor reconhecimento de objetos novos (HABA et al., 2012).

O grupo tratado com GLI, assim como o ESCI não apresentou diferença estatística, não conseguindo melhorar a memória de reconhecimento dos animais. Na literatura, não há estudos de tratamento com a glimepirida e o referido teste comportamental.

Um outro parâmetro relacionado a fisiopatologia da depressão, bem como de diversas doenças neuropsiquiátricas, é o estresse oxidativo. Este é definido como um desequilíbrio metabólico entre as defesas antioxidantes e a produção de espécies reativas (SALIM, 2017; VAVÁKOVÁ; ĎURAČKOVÁ; TREBATICÁ, 2015). Sabe-se por exemplo, que o cérebro é um órgão altamente vulnerável aos efeitos nocivos do estresse oxidativo por apresentar alta atividade metabólica e grande conteúdo lipídico, favorecendo a peroxidação lipídica, com liberação de produtos tóxicos, como o malondialdeído (COBLEY; FIORELLO; BAILEY, 2018).

O malondialdeído é um importante marcador de dano celular causado pelo estresse oxidativo, e seu aumento é bastante descrito em pacientes deprimidos (BAJPAI et al., 2014; SOWA-KUĆMA et al., 2018). Nesse contexto, no presente trabalho foram avaliadas as concentrações de MDA nos grupos estudados.

O grupo LPS tratado com salina apresentou altos níveis de MDA no hipocampo e no córtex pré-frontal, resultados estes, semelhantes aos previamente encontrados em outros estudos com modelo de exposição ao LPS que mostraram um aumento da peroxidação lipídica em camundongos (CASARIL et al., 2017; TANIGUTI et al., 2019).

O tratamento com a GLI diminuiu de forma significativa as concentrações de MDA no hipocampo e no córtex pré-frontal, bem como o antidepressivo de referência. De forma semelhante, dados prévios utilizando a glimepirida mostraram que ela foi capaz de atenuar os efeitos deletérios do MDA no hipocampo de ratos diabéticos (BALBAA; ABDULMALEK; KHALIL, 2017).

O óxido nítrico, é outro elemento o qual quando produzido em excesso danifica os tecidos cerebrais, contribuindo para o estresse oxidativo e neuroinflamação (GALECKI et al., 2011). Em nosso protocolo experimental, observamos o aumento dos níveis de nitrito no hipocampo e no córtex pré-frontal após a administração repetida de LPS. Tal resultado corrobora com o de MELLO (2017) em que foi verificado alto conteúdo de nitrito nas áreas cerebrais de animais expostos ao lipopolissacarídeo. O aumento dos níveis de NO induzido pelo LPS compromete a memória e o aprendizado (BEHESHTI, et al., 2020), confirmando o déficit cognitivo encontrado no presente trabalho.

Nos animais tratados com glimepirida, foi verificado uma diminuição significativa dos níveis de nitrito apenas no córtex pré-frontal. Este resultado está de acordo com os efeitos

antioxidantes anteriormente descritos da glimepirida que parecem melhorar a memória de trabalho de curto prazo (ISHOLA et al., 2019).

A Glutathiona reduzida é um dos compostos não enzimáticos mais importantes na proteção das células contra danos causados pelo aumento das espécies reativas. Sua depleção está associada a diversas condições patológicas, como a depressão (HOMMA; FUJII, 2015).

No presente estudo, o grupo exposto ao LPS tratado somente com salina não foi capaz de diminuir significativamente os níveis de GSH em nenhuma das áreas estudadas, quando comparado ao grupo controle, corroborando com um recente trabalho do nosso grupo de pesquisa que verificou que dez dias de administração sistêmica ao LPS também não foi capaz de diminuir os níveis desse antioxidante (SILVA, 2020).

O tratamento com a glimepirida foi capaz de aumentar a concentração de GSH no córtex pré-frontal. Um estudo utilizando modelo de diabetes induzido por estreptozotocina apontou que o uso da glimepirida por oito semanas aumentou as concentrações de GSH no fígado (HARITHA et al., 2013), demonstrando que a GLI exerce um papel relevante na proteção contra o estresse oxidativo. Já no presente trabalho, com apenas 5 dias de tratamento foi possível observar o aumento das concentrações desse antioxidante.

Há fortes evidências que relacionam o aumento de citocinas pró-inflamatórias no desenvolvimento de distúrbios depressivos. A citocina pró-inflamatória IL-1 β parece ser um mediador chave nas alterações comportamentais do transtorno depressivo (MENDIOLA; CARDONA, 2018). A administração dessa citocina induz febre, fadiga, perda de peso, depressão comportamental e déficit de memória em modelos animais (ANISMAN; GIBB; HAYLEY, 2008; LI et al., 2017). Além disso, o *knock-down* de IL-1 β em camundongos demonstrou ser benéfico na neuroinflamação, atenuando comportamento do tipo-depressivo (LI et al., 2017). A desregulação do TNF também tem relação direta com a depressão, ao promover a recaptação pré-sináptica da serotonina (ZHU; BLAKELY; HEWLETT, 2006).

No presente estudo, foi verificado o aumento das concentrações de TNF e IL-1 β no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos, após exposição repetida ao LPS. A inflamação sistêmica induzida pela administração do lipopolissacarídeo desencadeia a neuroinflamação e a ativação microglial, com consequente produção de mediadores pró-inflamatórios e ativação do eixo HHA (ZHAO et al., 2019). Estudos anteriores em modelos com LPS corroboram com os nossos resultados (DONG e tal., 2016; LI et al., 2021; RODRIGUES et al., 2018; ZHANG et al., 2019).

O tratamento com a GLI foi capaz de reduzir as concentrações de IL-1 β e TNF no hipocampo. Essa área cerebral é importante para a plasticidade neuronal e regulação das

emoções e da memória (GULYAEVA, 2019). Em consonância com os nossos resultados, estudos com modelo animal de Parkinson (ISHOLA et al., 2019) e isquemia-reperfusão (I/R) (WANG et al., 2020) e *in vitro* (INGHAM; WILLIAMS; BATE, 2014) mostraram a diminuição da secreção de citocinas IL-1 β e TNF com o uso da glimepirida.

O escitalopram diminuiu somente os níveis de TNF hipocampais, parecendo exercer um efeito anti-inflamatório na resposta terapêutica. De fato, pacientes deprimidos responsivos ao escitalopram tiveram seus níveis de TNF reduzidos após o tratamento crônico (POWELL et al., 2013).

O presente estudo demonstrou que a glimepirida possui atividade antidepressiva, além de melhorar a memória de curto prazo em animais submetidos a um modelo de exposição sistêmica ao LPS. Tais efeitos parecem estar relacionados a atividade antioxidante e anti-inflamatória observadas, sendo assim, a utilização dessa sulfonilureia poderia se tornar uma opção terapêutica no tratamento de distúrbios psiquiátricos, como a depressão. Um resumo dos resultados obtidos neste trabalho pode ser evidenciado no Quadro 1.

O quadro 1 demonstra um resumo dos resultados obtidos neste protocolo, através dos testes comportamentais e neuroquímicos, segundo os parâmetros analisados e em comparação ao grupo controle.

Quadro 1- Resumo dos resultados obtidos após o tratamento com a Glimpirida 2mg/kg em animais submetidos a exposição de LPS

TESTES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS	GRUPO LPS	GRUPO LPS+ GLI
Campo aberto	NS	NS
Nado forçado	↑ tempo de imobilidade	↓ tempo de imobilidade
Suspensão pela Cauda	↑ tempo de imobilidade	↓ tempo de imobilidade
Labirinto em Y	↓ nº de alternâncias corretas	↑ nº de alternâncias corretas
Reconhecimento de objetos	↓ índice de reconhecimento a um objeto novo	NS
Malondialdeído (MDA)	↑ HP e ↑ CPF	↓ HP e ↓ CPF
Nitrito	↑ HP e ↑ CPF	↓ CPF
GSH	NS	↑ CPF
Interleucina IL-1 β	↑ HP e ↑ CPF	↓ HP
Fator de necrose tumoral (TNF)	↑ HP e ↑ CPF	↓ HP

Fonte: Autoria própria (2021).

Legenda: ↑ aumento significativo ($p < 0,05$);

↓ diminuição significativa ($p < 0,05$); NS: não significativo.

LPS: lipopolissacarídeo; Gli: glimepirida; HP: hipocampo; CPF: córtex pré-frontal.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A glimepirida foi avaliada em relação ao seu efeito antidepressivo e na memória de curto prazo em camundongos machos expostos ao lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*. Além disso, foi analisado parâmetros oxidativos e inflamatórios. Os resultados obtidos demonstram as seguintes observações acerca da glimepirida:

- Não causou efeitos hipoglicêmicos nos animais;
- O tratamento com a glimepirida e a exposição ao LPS não alterou a locomoção e exploração dos roedores, demonstrado no teste do Campo Aberto;
- O modelo de exposição ao LPS de dez dias induziu um comportamento depressivo-símile com prejuízo cognitivo nos camundongos, sendo evidenciados pelos testes do Nado forçado, Suspensão pela Cauda, Labirinto em Y e Reconhecimento de Objetos;
- Demonstrou atividade antidepressiva, ao reverter o aumento do tempo de imobilidade, evidenciado pelos testes de Nado forçado e Suspensão pela Cauda;
- Melhorou a memória de trabalho, ao aumentar o número de alternâncias corretas no teste do Labirinto em Y;
- Foi capaz de diminuir os níveis de MDA no hipocampo e no córtex pré-frontal, indicando um efeito antioxidante;
- Apresentou diminuição nos níveis de nitrito no córtex pré-frontal;
- Aumentou os níveis de GSH no córtex pré-frontal, demonstrando um aumento na defesa endógena;
- Apresentou atividade anti-inflamatória ao reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF causados pela administração sistêmica do lipopolissacarídeo.

8 CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstrou que o tratamento com a glimepirida na dose de 2 mg/kg foi efetivo na reversão do comportamento do tipo depressivo e na melhora da memória de trabalho de animais submetidos a administração repetida do lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*.

Os efeitos observados parecem estar relacionados à diminuição do estresse oxidativo e de citocinas pró-inflamatórias, tornando-se relevante o redirecionamento dessa sulfonilureia como opção terapêutica no tratamento da depressão, assim como em pacientes diabéticos apresentando comorbidade com depressão.

REFERÊNCIAS

- AHN, Soo Kyung et al. Protective effects of agmatine on lipopolysaccharide-injured microglia and inducible nitric oxide synthase activity. **Life sciences**, v. 91, n. 25-26, p. 1345-1350, 2012.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION et al. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-V®)**. American Psychiatric Pub, 2013.
- ANISMAN, Hymie; GIBB, Julie; HAYLEY, Shawn. Influence of continuous infusion of interleukin-1 β on depression-related processes in mice: corticosterone, circulating cytokines, brain monoamines, and cytokine mRNA expression. **Psychopharmacology**, v. 199, n. 2, p. 231-244, 2008.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, 1973.
- ASCHBACHER, Kirstin et al. Good stress, bad stress and oxidative stress: insights from anticipatory cortisol reactivity. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 9, p. 1698-1708, 2013.
- AOYAMA, Koji; NAKAKI, Toshio. Impaired glutathione synthesis in neurodegeneration. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 10, p. 21021-21044, 2013.
- BAJPAI, Ashutosh et al. Oxidative stress and major depression. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 8, n. 12, p. CC04. 2014
- BALBAA, Mahmoud; ABDULMALEK, Shaymaa A.; KHALIL, Sofia. Oxidative stress and expression of insulin signaling proteins in the brain of diabetic rats: Role of Nigella sativa oil and antidiabetic drugs. **PLoS One**, v. 12, n. 5, p. e0172429, 2017.
- BALDWIN, David S. et al. Escitalopram therapy for major depression and anxiety disorders. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 41, n. 10, p. 1583-1592, 2007.
- BEHESHTI, Farimah et al. Inducible nitric oxide synthase plays a role in depression-and anxiety-like behaviors chronically induced by lipopolysaccharide in rats: Evidence from inflammation and oxidative stress. **Behavioural brain research**, v. 392, p. 112720, 2020.
- BLACK, Catherine N. et al. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 51, p. 164-175, 2015.
- BODEA, Liviu-Gabriel et al. Neurodegeneration by activation of the microglial complement-phagosome pathway. **Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 25, p. 8546-8556, 2014.
- BROWN, Guy C. The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. **Journal of neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 180, 2019.
- CAMKURT, Mehmet Akif et al. Evaluation of malondialdehyde, superoxide dismutase and catalase activity and their diagnostic value in drug naïve, first episode, non-smoker major depression patients and healthy controls. **Psychiatry research**, v. 238, p. 81-85, 2016.

CASARIL, Angela M. et al. Antidepressant-like effect of a new selenium-containing compound is accompanied by a reduction of neuroinflammation and oxidative stress in lipopolysaccharide-challenged mice. **Journal of Psychopharmacology**, v. 31, n. 9, p. 1263-1273, 2017.

CASARIL, Angela Maria et al. Depression-and anxiogenic-like behaviors induced by lipopolysaccharide in mice are reversed by a selenium-containing indolyl compound: Behavioral, neurochemical and computational insights involving the serotonergic system. **Journal of psychiatric research**, v. 115, p. 1-12, 2019.

CAVAILLON, Jean-Marc. Exotoxins and endotoxins: Inducers of inflammatory cytokines. **Toxicon**, v. 149, p. 45-53, 2018.

CHAN, Stella WY et al. Hippocampal volume in vulnerability and resilience to depression. **Journal of affective disorders**, v. 189, p. 199-202, 2016.

CHANG, Daiyue et al. Effect of ketamine combined with DHA on lipopolysaccharide-induced depression-like behavior in rats. **International immunopharmacology**, v. 75, p. 105788, 2019.

CHEN, Jiang et al. Metformin Ameliorates Lipopolysaccharide-Induced Depressive-Like Behaviors and Abnormal Glutamatergic Transmission. **Biology**, v. 9, n. 11, p. 359, 2020.

CHESNOKOVA, Vera; PECHNICK, Robert N.; WAWROWSKY, Kolja. Chronic peripheral inflammation, hippocampal neurogenesis, and behavior. **Brain, behavior, and immunity**, v. 58, p. 1-8, 2016.

CHOI, Kwan Woo et al. Increased adrenocorticotrophic hormone (ACTH) levels predict severity of depression after six months of follow-up in outpatients with major depressive disorder. **Psychiatry research**, v. 270, p. 246-252, 2018.

CHRISTIANSEN, D. et al. Differential effect of inhibiting MD-2 and CD14 on LPS-versus whole *E. coli* bacteria-induced cytokine responses in human blood. In: **Current Topics in Innate Immunity II**. Springer, New York, NY, 2012. p. 237-251

COBLEY, James Nathan; FIORELLO, Maria Luisa; BAILEY, Damian Miles. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. **Redox biology**, v. 15, p. 490-503, 2018

COLASANTO, Marlana; MADIGAN, Sheri; KORCZAK, Daphne J. Depression and inflammation among children and adolescents: A meta-analysis. **Journal of Affective Disorders**, 2020.

CORDEIRO, Rafaela Carneiro et al. Leptin prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors in mice: involvement of dopamine receptors. **Frontiers in Psychiatry**, v. 10, p. 125, 2019.

CUSTÓDIO, Charllyany Sabino et al. Time course of the effects of lipopolysaccharide on prepulse inhibition and brain nitrite content in mice. **European journal of pharmacology**, v. 713, n. 1-3, p. 31-38, 2013.

DANTZER, Robert et al. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nature reviews neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 46-56, 2008.

DEAN, Jason; KESHAVAN, Matcheri. The neurobiology of depression: An integrated view. **Asian journal of psychiatry**, v. 27, p. 101-111, 2017.

DE AQUINO, Pedro Everson Alexandre et al. A Proline Derivative-Enriched Fraction from *Sideroxylon obtusifolium* Protects the Hippocampus from Intracerebroventricular Pilocarpine-Induced Injury Associated with Status Epilepticus in Mice. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 11, p. 4188, 2020.

DE CASTRO, Cristina et al. Lipopolysaccharide structures from *Agrobacterium* and *Rhizobiaceae* species. **Carbohydrate Research**, v. 343, n. 12, p. 1924-1933, 2008.

DEL PRATO, Stefano; PULIZZI, Nicolò. The place of sulfonylureas in the therapy for type 2 diabetes mellitus. **Metabolism**, v. 55, p. S20-S27, 2006.

DE SOUSA TOMAZ, Viviane et al. Antidepressants of different classes cause distinct behavioral and brain pro- and anti-inflammatory changes in mice submitted to an inflammatory model of depression. **Journal of affective disorders**, v. 268, p. 188-200, 2020.

DHIR, Ashish; KULKARNI, S. K. Nitric oxide and major depression. **Nitric Oxide**, v. 24, n. 3, p. 125-131, 2011.

DINEL, Anne-Laure et al. Lipopolysaccharide-induced brain activation of the indoleamine 2, 3-dioxygenase and depressive-like behavior are impaired in a mouse model of metabolic syndrome. **Psychoneuroendocrinology**, v. 40, p. 48-59, 2014.

DONG, Chao et al. Effects of escitalopram, R-citalopram, and reboxetine on serum levels of tumor necrosis factor- α , interleukin-10, and depression-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 144, p. 7-12, 2016.

DOWLATI, Yekta et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. **Biological psychiatry**, v. 67, n. 5, p. 446-457, 2010.

DRAPER, H. H[†]; HADLEY, M. [43] Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 186, p. 421-431, 1990.

DRINGEN, Ralf. Metabolism and functions of glutathione in brain. **Progress in neurobiology**, v. 62, n. 6, p. 649-671, 2000.

EKLADIOUS, Sara T.; EL SAYED, Nesrine S. Effect of pioglitazone and simvastatin in lipopolysaccharide-induced amyloidogenesis and cognitive impairment in mice: possible role of glutamatergic pathway and oxidative stress. **Behavioural pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 5-15, 2019.

ENNACEUR, Abdelkader; DELACOUR, Jean. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behavioural brain research**, v. 31, n. 1, p. 47-59, 1988.

ESMAEILI, Mohammad Hossein et al. Glibenclamide mitigates cognitive impairment and hippocampal neuroinflammation in rats with type 2 diabetes and sporadic Alzheimer-like disease. **Behavioural brain research**, v. 379, p. 112359, 2020.

FAHIM, Faiza et al. A green approach for the determination of selected anti-diabetic drugs in pharmaceutical formulation by transmission FTIR spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 11, p. 2032-2038, 2014.

GALECKI, Piotr et al. Association between inducible and neuronal nitric oxide synthase polymorphisms and recurrent depressive disorder. **Journal of affective disorders**, v. 129, n. 1-3, p. 175-182, 2011.

GALECKI, Piotr; TALAROWSKA, Monika. Inflammatory theory of depression. **Psychiatr Pol**, v. 52, n. 3, p. 437-47, 2018

GE, Li et al. Resveratrol abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior, neuroinflammatory response, and CREB/BDNF signaling in mice. **European journal of pharmacology**, v. 768, p. 49-57, 2015.

GOLD, Philip W. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. **Molecular psychiatry**, v. 20, n. 1, p. 32-47, 2015.

GREEN, L. C. et al. Analysis of nitrate, nitrite, and nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, v. 126, n. 1, p. 131–138, 1 out. 1982.

GULYAEVA, Natalia V. Functional neurochemistry of the ventral and dorsal hippocampus: stress, depression, dementia and remote hippocampal damage. **Neurochemical research**, v. 44, n. 6, p. 1306-1322, 2019.

HAAPAKOSKI, Rita et al. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 β , tumour necrosis factor α and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. **Brain, behavior, and immunity**, v. 49, p. 206-215, 2015.

HABA, Ryota et al. Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. **Behavioural brain research**, v. 228, n. 2, p. 423-431, 2012

HALARIS, Angelos. Inflammation-associated co-morbidity between depression and cardiovascular disease. In: **Inflammation-Associated Depression: Evidence, Mechanisms and Implications**. Springer, Cham, 2016. p. 45-70.

HALARIS, Angelos. Inflammation and depression but where does the inflammation come from?. **Current opinion in psychiatry**, v. 32, n. 5, p. 422-428, 2019

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4 ed. Oxford: Oxford University Press, 2007.

HARITHA, C. et al. Evaluation of protective action of fenugreek, insulin and glimepiride and their combination in diabetic Sprague Dawley rats. **Journal of natural science, biology, and medicine**, v. 4, n. 1, p. 207, 2013.

HARKNESS, Kate L.; STEWART, Jeremy G.; WYNNE-EDWARDS, Katherine E. Cortisol reactivity to social stress in adolescents: role of depression severity and child maltreatment. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, n. 2, p. 173-181, 2011.

HE, Ming-chao et al. Paricalcitol alleviates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior by suppressing hypothalamic microglia activation and neuroinflammation. **Biochemical pharmacology**, v. 163, p. 1-8, 2019.

HEPSEN, Sema et al. Serum cortisol level after low dose dexamethasone suppression test may be predictive for diabetes mellitus and hypertension presence in obese patients: A retrospective study. **Diabetes research and clinical practice**, v. 161, p. 108081, 2020

HOLSTEIN, Andreas; PLASCHKE, Armin; EGBERTS, Eick-Hartwig. Lower incidence of severe hypoglycaemia in patients with type 2 diabetes treated with glimepiride versus glibenclamide. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 17, n. 6, p. 467-473, 2001.

HOMMA, Takujiro; FUJII, Junichi. Application of glutathione as anti-oxidative and anti-aging drugs. **Current drug metabolism**, v. 16, n. 7, p. 560-571, 2015.

INGHAM, Victoria; WILLIAMS, Alun; BATE, Clive. Glimepiride reduces CD14 expression and cytokine secretion from macrophages. **Journal of neuroinflammation**, v. 11, n. 1, p. 115, 2014.

ISHOLA, Ismail O. et al. Glimepiride prevents paraquat-induced Parkinsonism in mice: involvement of oxidative stress and neuroinflammation. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 33, n. 3, p. 277-285, 2019.

JANTARATNOTAI, Nattinee et al. The interface of depression and obesity. **Obesity research & clinical practice**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2017.

JEON, Sang Won; KIM, Yong-Ku. Inflammation-induced depression: Its pathophysiology and therapeutic implications. **Journal of neuroimmunology**, v. 313, p. 92-98, 2017.

JIA, Yong et al. Increased serum levels of cortisol and inflammatory cytokines in people with depression. **The Journal of Nervous and Mental Disease**, v. 207, n. 4, p. 271-276, 2019.

JOSEPH, Joshua J.; GOLDEN, Sherita H. Cortisol dysregulation: the bidirectional link between stress, depression, and type 2 diabetes mellitus. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1391, n. 1, p. 20, 2017.

JURUENA, Mario F. et al. Atypical depression and non-atypical depression: is HPA axis function a biomarker? A systematic review. **Journal of affective disorders**, v. 233, p. 45-67, 2018.

JURUENA, Mario F. Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. **Epilepsy & Behavior**, v. 38, p. 148-159, 2014.

KELLER, Jennifer et al. HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. **Molecular psychiatry**, v. 22, n. 4, p. 527-536, 2017.

KENNEDY, Sidney H.; ANDERSEN, Henning F.; THASE, Michael E. Escitalopram in the treatment of major depressive disorder: a meta-analysis. **Current medical research and opinion**, v. 25, n. 1, p. 161-175, 2009.

KIM, Soo Jin; KIM, Ho Min. Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4/MD2 complex via LBP and CD14. **BMB reports**, v. 50, n. 2, p. 55, 2017.

KIM, Yong-Ku et al. The role of pro-inflammatory cytokines in neuroinflammation, neurogenesis and the neuroendocrine system in major depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 64, p. 277-284, 2016.

KORYTKOWSKI, Mary T. Sulfonylurea treatment of type 2 diabetes mellitus: focus on glimepiride. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 24, n. 5, p. 606-620, 2004.

KRAUSS, Hanna et al. The influence of glimepiride on the oxidative state of rats with streptozotocin-induced hyperglycemia. **Medical Science Monitor**, v. 9, n. 11, p. BR389-BR393, 2003.

KRAEUTER, Ann-Katrin; GUEST, Paul C.; SARNYAI, Zoltán. The Y-maze for assessment of spatial working and reference memory in mice. In: **Pre-Clinical Models**. Humana Press, New York, NY, 2019. p. 105-111.

LANGTRY, Heather D.; BALFOUR, Julia A. Glimepiride. **Drugs**, v. 55, n. 4, p. 563-584, 1998.

LASSELIN, Julie et al. Comparison of bacterial lipopolysaccharide-induced sickness behavior in rodents and humans: Relevance for symptoms of anxiety and depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 2020.

LEONARD, Brian E. Inflammation and depression: a causal or coincidental link to the pathophysiology?. **Acta neuropsychiatrica**, v. 30, n. 1, p. 1-16, 2018

LI, Mengmeng et al. Lentivirus-mediated interleukin-1 β (IL-1 β) knock-down in the hippocampus alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced memory deficits and anxiety-and depression-like behaviors in mice. **Journal of neuroinflammation**, v. 14, n. 1, p. 1-12, 2017.

LI, Weifen et al. Ibrutinib alleviates LPS-induced neuroinflammation and synaptic defects in a mouse model of depression. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 92, p. 10-24, 2021.

LINDQVIST, Daniel et al. Oxidative stress, inflammation and treatment response in major depression. **Psychoneuroendocrinology**, v. 76, p. 197-205, 2017.

LIU, Feiyang et al. Glimepiride attenuates A β production via suppressing BACE1 activity in cortical neurons. **Neuroscience letters**, v. 557, p. 90-94, 2013.

LIU, Tao et al. A meta-analysis of oxidative stress markers in depression. **PloS one**, v. 10, n. 10, p. e0138904, 2015.

LIU, Wei et al. The role of neural plasticity in depression: from hippocampus to prefrontal cortex. **Neural Plasticity**, 2017.

LIU, Xiaoxin; LIU, Chao. Baicalin ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced depressive behavior: Involving the inhibition of NLRP3 inflammasome activation in rat prefrontal cortex. **International immunopharmacology**, v. 48, p. 30-34, 2017.

MAIA, Berta Rodrigues; DIAS, Paulo César. Ansiedade, depressão e estresse em estudantes universitários: o impacto da COVID-19. **Estudos de Psicologia (Campinas)**, v. 37, 2020.

MALHI, Gin S.; MANN, J. John. Seminar Depression. 2018.

MAZGAEEN, Lalita; GURUNG, Prajwal. Recent advances in lipopolysaccharide recognition systems. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2, p. 379, 2020.

MEDEIROS, Alberto Antunes; MATOS, Roberto Calazans. A depressão como posição subjetiva: contribuições lacanianas. **Revista Subjetividades**, v. 18, n. 2, p. 80-92, 2018.

MELLO, Bruna Stefânia Ferreira et al. Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. **Journal of psychiatric research**, v. 47, n. 10, p. 1521-1529, 2013.

MELLO, Bruna Stefânia Ferreira. **Exposição sistêmica de camundongos adultos a lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*: Influência do sexo nas alterações comportamentais e neuroquímicas e efeito do tratamento com escitalopram e doxiciclina**. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado em Microbiologia Médica, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 182 f. 2017.

MÉNARD, Caroline; HODES, Georgia E.; RUSSO, Scott J. Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies. **Neuroscience**, v. 321, p. 138-162, 2016.

MENDIOLA, Andrew S.; CARDONA, Astrid E. The IL-1 β phenomena in neuroinflammatory diseases. **Journal of Neural Transmission**, v. 125, n. 5, p. 781-795, 2018.

MILLER, Andrew H.; MALETIC, Vladimir; RAISON, Charles L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biological psychiatry**, v. 65, n. 9, p. 732-741, 2009.

MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA, Iwona; WITKOWSKA, Anna Maria; ZUJKO, Małgorzata Elżbieta. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. **Advances in medical sciences**, v. 63, n. 1, p. 68-78, 2018.

MORI, Rosana Cristina Tieko. **Glimepirida melhora a sensibilidade à insulina em ratos obesos (MSG), sem exacerbar a obesidade. Mecanismos moleculares envolvidos nos tecidos muscular, adiposo e hepático**. Tese de Doutorado. Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo. 151 f. 2007.

MUKHERJEE, Nirmalya; CHATURVEDI, Santosh K. Depressive symptoms and disorders in type 2 diabetes mellitus. **Current opinion in psychiatry**, v. 32, n. 5, p. 416-421, 2019.

NCCMH. NATIONAL COLLABORATING CENTRE FOR MENTAL HEALTH. UK et al. Depression: the treatment and management of depression in adults. 2010.

NEARCHOU, Finiki et al. Exploring the impact of COVID-19 on mental health outcomes in children and adolescents: a systematic review. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 22, p. 8479, 2020.

O'CONNOR, Jason C. et al. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2, 3-dioxygenase activation in mice. **Molecular psychiatry**, v. 14, n. 5, p. 511-522, 2009.

OHGI, Yuta et al. Effects of antidepressants on alternations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 103, n. 4, p. 853-859, 2013.

OPAS/OMS BRASIL. **Folha informativa- Depressão**. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5635:folha-informativa-depressao&Itemid=1095>. Acesso em: 03 set. 2020.

OSBORNE, Craig et al. Glimpiride protects neurons against amyloid- β -induced synapse damage. **Neuropharmacology**, v. 101, p. 225-236, 2016.

PACE, Thaddeus WW; MILLER, Andrew H. Cytokines and glucocorticoid receptor signaling: relevance to major depression. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1179, p. 86, 2009.

PEREZ-CABALLERO, L. et al. Monoaminergic system and depression. **Cell and tissue research**, p. 1-7, 2019.

POWELL, Timothy R. et al. Tumor necrosis factor and its targets in the inflammatory cytokine pathway are identified as putative transcriptomic biomarkers for escitalopram response. **European Neuropsychopharmacology**, v. 23, n. 9, p. 1105-1114, 2013.

RAETZ, Christian RH; WHITFIELD, Chris. Lipopolysaccharide endotoxins. **Annual review of biochemistry**, v. 71, n. 1, p. 635-700, 2002.

RAPTIS, S. A.; DIMITRIADIS, G. D. Oral hypoglycemic agents: insulin secretagogues, α -glucosidase inhibitors and insulin sensitizers. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 109, n. Suppl 2, p. S265-S287, 2001.

RIBEIRO, Ângela; RIBEIRO, Joao P.; VON DOELLINGER, Orlando. Depression and psychodynamic psychotherapy. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 40, p. 105-109, 2017.

RODRIGUES, Francisca Taciana Sousa et al. Major depression model induced by repeated and intermittent lipopolysaccharide administration: Long-lasting behavioral, neuroimmune and neuroprogressive alterations. **Journal of psychiatric research**, v. 107, p. 57-67, 2018.

SABELLA, Donna. Antidepressant medications. **AJN The American Journal of Nursing**, v. 118, n. 9, p. 52-59, 2018.

SALIM, Samina. Oxidative stress and the central nervous system. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 360, n. 1, p. 201-205, 2017.

SALMANI, Hossein et al. Losartan modulates brain inflammation and improves mood disorders and memory impairment induced by innate immune activation: The role of PPAR- γ activation. **Cytokine**, v. 125, p. 154860, 2020.

SARTER, Martin; BODEWITZ, Geert; STEPHENS, David N. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist β -carbolines. **Psychopharmacology**, v. 94, n. 4, p. 491-495, 1988.

SCHAEFFER, James D. et al. Inflammation, depression, and anxiety related to recognition memory in young adults. **The Journal of General Psychology**, p. 1-25, 2021.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, v. 25, n. 1, p. 192–205, 24 out. 1968.

SENS, Jonathon et al. Lipopolysaccharide administration induces sex-dependent behavioural and serotonergic neurochemical signatures in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 153, p. 168-181, 2017.

SHAPERO, Benjamin G. et al. The interactive association of proximal life stress and cumulative HPA axis functioning with depressive symptoms. **Depression and anxiety**, v. 36, n. 11, p. 1089-1101, 2019.

SHELIN, Yvette I. Depression and the hippocampus: cause or effect?. **Biological psychiatry**, v. 70, n. 4, p. 308, 2011.

SHIMADA, Misato et al. The involvement of O-antigen polysaccharide in lipopolysaccharide in macrophage activation. **Anticancer research**, v. 32, n. 6, p. 2337-2341, 2012.

SILVA, Daniel Moreira Alves da. **Efeito dos inibidores da cicloxigenase-2 nas alterações neurocomportamentais, inflamatórias e oxidativas induzidas pela exposição sistêmica a lipopolissacarídeo em camundongos machos**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Farmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 77 f. 2020.

SOWA-KUĆMA, Magdalena et al. Lipid peroxidation and immune biomarkers are associated with major depression and its phenotypes, including treatment-resistant depression and melancholia. **Neurotoxicity research**, v. 33, n. 2, p. 448-460, 2018.

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

SU, Wen-Jun et al. Antidiabetic drug glyburide modulates depressive-like behavior comorbid with insulin resistance. **Journal of neuroinflammation**, v. 14, n. 1, p. 210, 2017.

TALAROWSKA, Monika et al. Malondialdehyde plasma concentration correlates with declarative and working memory in patients with recurrent depressive disorder. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 5, p. 5359-5366, 2012.

TANIGUTI, E. H. et al. Neuroprotective effect of melatonin against lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice. **Physiology & behavior**, v. 188, p. 270-275, 2018.

TANIGUTI, E. H. et al. Atorvastatin prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour in mice. **Brain research bulletin**, v. 146, p. 279-286, 2019.

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

THINGORE, Chetan; KSHIRSAGAR, Viplav; JUVEKAR, Archana. Amelioration of oxidative stress and neuroinflammation in lipopolysaccharide-induced memory impairment using Rosmarinic acid in mice. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, n. 2, p. 299-313, 2020.

TIKHONOVA, Maria A.; KULIKOV, Victor A.; KULIKOV, Alexander V. Effects of LPS and serotonergic drugs on hygienic behavior in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 98, n. 3, p. 392-397, 2011.

TSIGOS, Constantine; CHROUSOS, George P. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. **Journal of psychosomatic research**, v. 53, n. 4, p. 865-871, 2002.

VASWANI, Meera; LINDA, Farzana Kadar; RAMESH, Subramanyam. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. **Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry**, v. 27, n. 1, p. 85-102, 2003.

VAVÁKOVÁ, Magdaléna; ĎURAČKOVÁ, Zdeňka; TREBATICKÁ, Jana. Markers of oxidative stress and neuroprogression in depression disorder. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2015.

VISMARI, L.; ALVES, G.J; PALERMO-NETO, J. Depressão, antidepressivos e sistema imune: um novo olhar sobre um velho problema. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 35, n. 5, p. 196-204, 2008.

VOJTECHOVA, Iveta et al. Neonatal immune activation by lipopolysaccharide causes inadequate emotional responses to novel situations but no changes in anxiety or cognitive behavior in Wistar rats. **Behavioural brain research**, v. 349, p. 42-53, 2018.

WANG, Xiaoqiang et al. Glimepiride and glibenclamide have comparable efficacy in treating acute ischemic stroke in mice. **Neuropharmacology**, v. 162, p. 107845, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em: 22 jun. 2021

WU, Ye et al. Malva sylvestris extract alleviates the astrogliosis and inflammatory stress in LPS-induced depression mice. **Journal of neuroimmunology**, v. 336, p. 577029, 2019.

YAN, Hua-Cheng et al. Behavioral animal models of depression. **Neuroscience bulletin**, v. 26, n. 4, p. 327-337, 2010.

YANG, Sheng et al. Effects of metformin on lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice and its mechanisms. **Neuroreport**, v. 31, n. 4, p. 305-310, 2020.

YANKELEVITCH-YAHAV, Roni et al. The forced swim test as a model of depressive-like behavior. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 97, 2015

YIRMIYA, Raz. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. **Brain research**, v. 711, n. 1-2, p. 163-174, 1996.

ZANOVELI, Janaina et al. Depression associated with diabetes: from pathophysiology to treatment. **Current diabetes reviews**, v. 12, n. 3, p. 165-178, 2015.

ZHANG, Bo et al. Antidepressant-like effect and mechanism of action of honokiol on the mouse lipopolysaccharide (LPS) depression model. **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2035, 2019.
ZHANG, Ji-chun; YAO, Wei; HASHIMOTO, Kenji. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-TrkB signaling in inflammation-related depression and potential therapeutic targets. **Current neuropharmacology**, v. 14, n. 7, p. 721-731, 2016.

ZHAO, Xinnan et al. Behavioral, inflammatory and neurochemical disturbances in LPS and UCMS-induced mouse models of depression. **Behavioural brain research**, v. 364, p. 494-502, 2019.

ZHONG, Huailing; HADDJERI, Nasser; SÁNCHEZ, Connie. Escitalopram, an antidepressant with an allosteric effect at the serotonin transporter—a review of current understanding of its mechanism of action. **Psychopharmacology**, v. 219, n. 1, p. 1-13, 2012.

ZHU, Chong-Bin; BLAKELY, Randy D.; HEWLETT, William A. The proinflammatory cytokines interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha activate serotonin transporters. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, n. 10, p. 2121-2131, 2006.