



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA**

**BRUNA STEFÂNIA FERREIRA MELLO**

**DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DA DOXICICLINA EM UM MODELO DE  
DEPRESSÃO INDUZIDO POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS**

**FORTALEZA**

**2012**

**BRUNA STEFÂNIA FERREIRA MELLO**

**DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DA DOXICICLINA EM UM MODELO DE  
DEPRESSÃO INDUZIDO POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação em Microbiologia Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia Médica.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Danielle Silveira  
Macêdo

**FORTALEZA**

**2012**

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

---

M476d Mello, Bruna Stefânia Ferreira.  
Determinação dos efeitos da doxiciclina em um modelo de depressão induzido por lipopolissacarídeo em camundongos / Bruna Stefânia Ferreira Mello. – 2012.  
76 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, Fortaleza, 2012.  
Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dra. Danielle Silveira Macedo.

1. Lipopolissacarídeos. 2. Depressão. 3. Doxiciclina. I. Título.

CDD 616.8527

---

**BRUNA STEFÂNIA FERREIRA MELLO**

**DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DA DOXICICLINA EM UM MODELO DE  
DEPRESSÃO INDUZIDO POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM  
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação em Microbiologia Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Microbiologia Médica.

Aprovada em: 27/12/2012

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Danielle Silveira Macedo  
Universidade Federal do Ceará  
Orientadora

---

Prof. Dr. André Férrer Carvalho  
Universidade Federal do Ceará  
Examinador

---

Prof. Dr. Hemerson Iury F. Magalhães  
Universidade Federal da Paraíba  
Examinador

---

Prof. Dr.<sup>a</sup> Silvânia Maria M. Vasconcelos  
Universidade Federal do Ceará  
Examinador

Dedico esse trabalho aos meus pais e irmão,  
eterna fonte de inspiração para a vida.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará – UFC e ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia Médica - PPGMM, representado pelos professores e demais funcionários, pelo empenho na formação científica dos alunos, propiciando a realização desse projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo suporte financeiro que viabilizou a execução desse projeto.

À minha orientadora Profa. Dra. Danielle Silveira Macedo, por ter me aceitado e acreditado em mim, bem como por toda a sua orientação, dedicação e pelos ensinamentos fundamentais que contribuíram de forma essencial para meu amadurecimento científico.

À todos que fazem parte do laboratório de Neurofarmacologia – LABNEURO do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina/UFC pela colaboração na execução desse projeto.

À minha amiga Charllyany Sabino Custódio que têm caminhado junto comigo desde o início desse Mestrado, por toda sua amizade, o seu companheirismo e cumplicidade em todos os momentos vivenciados durante esses dois anos.

À Banca Examinadora, por aceitar cordialmente o convite.

A Deus, fonte de toda a minha força, saúde, coragem e fé.

Aos meus pais, José Valdízio de Oliveira Mello e Belaniza Ferreira Mello, por toda educação, orientação, apoio, encorajamento, cuidado e amor. Vocês são exemplos a serem seguidos.

À meu irmão, José Valdízio de Oliveira Mello Filho, pelo convívio diário, carinho, apoio, cuidado, amizade, pelo seu companheirismo.

À minha avó, Eloiza Ferreira Moura, por todo o seu exemplo de amor, força, orações e carinho, que sempre me incentivou a continuar seguindo em frente na constante busca pelo conhecimento.

Aos meus amigos de todas as épocas, aos meus colegas de mestrado e a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse meu sonho.

## RESUMO

A depressão é um dos mais prevalentes transtornos psiquiátricos. Os principais sintomas clínicos da depressão são humor deprimido, anorexia, anedonia, redução da atividade locomotora. Há evidências acumuladas de que a depressão pode se desenvolver em resposta à ativação do sistema imune inato, sendo caracterizada por uma resposta inflamatória com aumento da produção de interleucina IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  e outras. Com base nas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes da doxiciclina e supondo que esta droga apresenta menos efeitos colaterais e um melhor perfil farmacocinético, em comparação com a minociclina, a hipótese de que esta droga pode apresentar efeitos antidepressivos, utilizando o modelo de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS) foi estudada. Para determinar as alterações de comportamento, camundongos Swiss machos foram submetidos aos testes de campo aberto e nado forçado. Para avaliar a capacidade da doxiciclina em prevenir ou reverter o comportamento tipo-depressivo induzido pela administração sistêmica de LPS, esta foi administrada nas doses de 25 ou 50 mg/kg, i.p. 30 min antes de LPS (pré-LPS) ou 1,5 e 23,5 horas após a LPS (pós-LPS). A imipramina foi utilizada como antidepressivo padrão nas mesmas condições de tempo. Em ambas as situações, prevenção (pré-LPS) e tratamento (pós-LPS), o comportamento dos animais foi avaliado 24 horas após a administração de LPS, um período conhecido pela ocorrência de um comportamento tipo-depressivo. Os níveis de citocinas (IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ) e nitrito foram avaliados no sangue (plasma) e as áreas cerebrais: córtex pré-frontal (PFC), hipocampo (HC) e corpo estriado (ST). A administração de LPS, 0,5 mg/kg aumentou significativamente o tempo de imobilidade em comparação com os animais controle, enquanto que a doxiciclina, nas doses de 25 e 50 mg/kg e imipramina (10 mg/kg) foram capazes de prevenir e reverter a imobilidade induzida pelo LPS. A doxiciclina e imipramina, quando administrados pré e pós-LPS reduziram significativamente o tempo de imobilidade, mostrando um efeito antidepressivo. Em relação a citocina IL-1 $\beta$ , seus níveis foram diminuídos, enquanto os níveis de TNF- $\alpha$  não foram alterados significativamente. A doxiciclina e imipramina, preveniram e reverteram a diminuição dos níveis de nitrito induzido por LPS. Com base nos resultados do presente estudo, avaliando o uso da doxiciclina, sugere-se que este antimicrobiano possa atuar como um antidepressivo.

Palavras-chave: Lipopolissacarídeo. Depressão. Doxiciclina.



## ABSTRACT

Depression is one of the most prevalent psychiatric disorders. The main clinical symptoms of depression are depressed mood, anorexia, anhedonia, decreased locomotor activity. There is accumulating evidence that depression may develop in response to activation of the innate immune system and is characterized by an inflammatory response with increased production of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and others. Based on the anti-inflammatory properties and antioxidant properties of doxycycline and assuming that this drug has fewer side effects and an improved pharmacokinetic profile compared to minocycline, we hypothesised that this drug may have antidepressant effects, using the model of depression-induced LPS was studied. To determine the changes in behavior, male Swiss mice were tested for open field and forced swim. To evaluate the ability of doxycycline to prevent or reverse depressive-like behavior induced by systemic administration of LPS, this was administered in doses of 25 or 50 mg / kg, ip 30 min before LPS (pre-LPS) or 1.5 and 23.5 hours following LPS (post-LPS). Imipramine was used as a standard antidepressant under the same experimental condition. In both, prevention (pre-LPS) and treatment (post-LPS), the animals' behavior was assessed 24 hours after LPS administration, a period known by the occurrence of a depressive-like behavior. The levels of cytokines (IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ ) and nitrite were evaluated in the blood (plasm) and brain areas: the prefrontal cortex (PFC), hippocampus (HC) and striatum (ST). The administration of LPS, 0.5 mg / kg significantly increased immobility time in comparison with control animals, whereas doxycycline, at doses of 25 and 50 mg / kg and imipramine (10 mg / kg) were able to prevent and reverse the LPS-induced immobility. Doxycycline and imipramine when administered pre-and post-LPS significantly decreased the immobility time, showing an antidepressant effect. Regarding the cytokine IL-1 $\beta$ , their levels were decreased, while the levels of TNF- $\alpha$  were not altered significantly. Doxycycline and imipramine, prevented and reversed the decreased levels of nitrite induced by LPS. Based on the results of this study assessing the use of doxycycline, it is suggested that this antimicrobial agent can act as an antidepressant.

Keywords: Lipopolysaccharide. Depression. Doxycycline.

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

<b>Figura 1</b> – Teorias Inflamatórias da Depressão .....	17
<b>Figura 2</b> – Eixo HPA .....	22
<b>Figura 3</b> – Estrutura Química de Tetraciclina .....	25
<b>Figura 4</b> – Estrutura Química de Doxiciclina.....	26

### CAPÍTULO 1

<b>Figure 1</b> – Schematic overview of the experimental design.....	45
<b>Figure 2</b> – Immobility time (s) in the forced swimming test (FST) and Number of crossing in the open field test (OFT) of animals (6-10/ group) pre-treated (A and B) and post-treated (C and D) with doxycycline 25 and 50 mg and imipramine 10 mg, before and after LPS. <sup>#,*</sup> P< 0.05 vs control and LPS, respectively .....	46
<b>Figure 3</b> – Determination of IL-1 $\beta$ levels in the striatum, hippocampus and prefrontal cortex of animals (6-10/ group) pre-treated (A) and post-treated (B) with doxycycline 25 and 50 mg and imipramine 10 mg, before and after LPS. <sup>#,*</sup> P< 0.05 vs control and LPS, respectively.....	47
<b>Figure 4</b> – Determination of TNF $\alpha$ levels in the striatum, hippocampus and prefrontal cortex of animals (6-10/ group) pre-treated (A) and post-treated (B) with doxycycline 25 and 50 mg and imipramine 10 mg, before and after LPS.....	48
<b>Figure 5</b> – Determination of nitrite content levels in the striatum, hippocampus and prefrontal cortex of animals (6-10/ group) pre-treated (A) and post-treated (B) with doxycycline 25 and 50 mg and imipramine 10 mg, before and after LPS. <sup>#,*</sup> P< 0.05 vs control and LPS, respectively.....	49
<b>Figure 6</b> – Determination of BDNF levels in the hippocampus of animals (6-10/ group) pre-treated (A) and post-treated (B) with doxycycline 50 mg and imipramine 10 mg, before and after LPS. <sup>#,*</sup> P< 0.05 vs control and LPS, respectively .....	50

## LISTA DE QUADROS

### INTRODUÇÃO

<b>Quadro 1</b> – Classificação de Episódios Depressivos .....	12
----------------------------------------------------------------	----

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ACTH – Hormônio Adrenocorticotrófico

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro

CRH – Hormônio Corticotrofina

DSM-IV – IV Manual Diagnóstico e Estatístico de Doenças Mentais

HPA – Hipotálamo-pituitária-adrenal

IDO – Indoleamina 2,3 dioxigenase

IFN- $\gamma$  – Interferon gama

IL – Interleucina

IO & NS – Inflamatória por vias de estresse oxidativo e nitrosativo

I & ND – Inflamatória & neurodegenerativa

iNOS – Sintetase de óxido nítrico

IRS – Sistema de resposta inflamatório

LPS – Lipopolissacarídeo

MPP – Matriz metaloproteinase

MPTP – 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetra-hidropiridina

NF-kB – Fator Nuclear Kappa B

NO – Óxido Nítrico

O & NS – Vias de estresse oxidativo e nitrosativo

ROS – Espécie de Oxigênio Reativo

RNA<sub>t</sub> – RNA transportador

SNC – Sistema Nervoso Central

TLRs – Receptores Toll-like

TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1</b>	<b>Depressão</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2</b>	<b>Hipótese inflamatória e neurodegenerativa da depressão</b> .....	<b>15</b>
<b>1.3</b>	<b>Lipopolissacarídeo (LPS)</b> .....	<b>23</b>
<b>1.4</b>	<b>Tetraciclinas</b> .....	<b>25</b>
<b>2</b>	<b>PERGUNTAS DE PARTIDA</b> .....	<b>31</b>
<b>3</b>	<b>HIPÓTESES</b> .....	<b>32</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>33</b>
<b>4.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>33</b>
<b>4.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>51</b>
<b>7</b>	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>52</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>53</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Depressão

A depressão é um dos mais prevalentes transtornos psiquiátricos. Estima-se que 121 milhões de pessoas sejam afetadas mundialmente (QUEVEDO et al., 2008). É um problema de saúde pública associado a altas taxas de mortalidade (MOUSSAVI et al., 2007), sendo a quarta maior causa de incapacidade em todo mundo (WILLIAMS et al., 2010). Os pacientes que sofrem de depressão grave apresentam altas taxas de morbidade (SARTORIUS, 2001; CASSANO, 2002), com profundas consequências econômicas e sociais (NEMEROFF; OWENS, 2002; EISENBERGER, 2010).

Os principais sintomas clínicos da depressão são anorexia, anedonia, perda de peso, fadiga, letargia, distúrbios do sono, hiperalgesia, sentimento de culpa, redução da atividade locomotora, falta de concentração e idéias suicidas. A característica essencial do comportamento depressivo é a presença de humor deprimido caracterizado por sentimentos de tristeza, desamparo, e/ou perda de interesse ou prazer em quase todas as atividades, durante um período de pelo menos duas semanas (MAES et al., 2010).

A doença ocorre em todas as faixas etárias, desde os jovens até os idosos, sendo mais comum entre mulheres com idade entre 15 e 29 anos e menos prevalente nos indivíduos com idade de 50 anos ou mais. Uma parcela importante de pacientes deprimidos apresentam pensamentos de morte como ideação e tentativa de suicídio (HAWTHORNE; GOLDNEY; TAYLOR, 2008).

O Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, IV edição (DSM-IV TR), foi elaborado por psiquiatras da Associação de Psiquiatria Norte-americana. Este manual fornece critérios de diagnóstico para a generalidade das perturbações mentais, incluindo componentes descritivos de diagnóstico e tratamento. O DSM-IV classifica a depressão dentro dos transtornos do humor e também baseia sua classificação nos episódios depressivos (ARTMED, 1995). Existem cinco critérios de diagnóstico utilizado da DSM-IV para definir o episódio depressivo maior:

Quadro 1: Classificação de Episódios Depressivos

Critérios	Definição
A	Cinco ou mais sintomas estejam presentes durante um período de duas semanas e representam uma alteração a partir do funcionamento anterior. Pelo menos um dos sintomas deve ser: humor deprimido ou perda do interesse ou prazer.
B	Os sintomas não satisfazem os critérios para um Episódio Misto.
C	Os sintomas causam sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo no funcionamento social ou ocupacional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo.
D	Os sintomas não se devem aos efeitos fisiológicos diretos de uma substância (por ex., droga de abuso ou medicamento) ou de uma condição médica geral (por ex., hipotireoidismo).
E	Os sintomas não são melhorados ao ser explicados por luto, ou seja, após a perda de um ente querido os sintomas persistem por mais de 2 meses ou são caracterizados por acentuado prejuízo funcional, preocupação mórbida com desvalia, ideação suicida, sintomas psicóticos ou retardo psicomotor.

Fonte: DSM-IV TR, 1995.

Déficits cognitivos também são vistos em doenças como o transtorno bipolar (WOLF et al., 2010) e depressão (UEKERMANN, 2010). As principais características do comprometimento cognitivo na depressão são memória, função, velocidade de processamento, tomada de decisões e iniciativa de ações (CASTANEDA et al., 2008; MARAZZITI et al., 2010).

Os domínios específicos da função executiva e cognição social são interligados em

várias regiões cerebrais. Os neuromoduladores, como ACTH, citocinas e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), desempenham influência cognitiva. As alterações são expressas tanto em níveis dos neurônios, células da glia e regiões cerebrais (SARTER; PARIKH; HOWE, 2009; MCAFOOSE; BAUNE, 2009; CUNHA; BRAMBILLA; THOMAS, 2010).

A fisiopatologia da depressão não está completamente conhecida, sendo de característica multifatorial com influências ambientais, psicológicas e genéticas. Em relação às possíveis causas biológicas, a primeira hipótese a ser considerada foi a deficiência dos neurotransmissores monoaminérgicos, em especial a noradrenalina e serotonina. A hipótese é relativamente simples, determinadas drogas que diminuam o número de neurotransmissores causariam depressão. Enquanto, outras drogas que elevavam o nível dos neurotransmissores teriam ação antidepressiva (AGUIAR et al., 2011).

Entretanto, estudos têm sugerido que o sistema monoaminérgico não representa a via final comum na regulação do humor, mas exerce uma influência modulatória. Outros sistemas que estariam regulando a plasticidade neuronal e sináptica teriam importância central na neurobiologia e tratamento desses transtornos (SANACORA et al., 2008; ZARATE; MANJI, 2008).

Outra hipótese importante na fisiopatologia da depressão é o envolvimento neuroendócrino. Os principais neurotransmissores monoaminérgicos (serotonina, dopamina e noradrenalina) estão envolvidos com o funcionamento neuroendócrino, relacionado com o estresse, e que a depressão seria uma resposta ao estresse crônico (AGUIAR et al., 2011). O hormônio liberador da corticotrofina (CRH) é o principal regulador da secreção do ACTH (adrenocorticotrofina) e possui um papel importante na resposta fisiológica ao estresse (AYALA, 2002).

Estudos têm sugerido que as infecções e os processos inflamatórios podem ser causas de distúrbios emocionais, inclusive a ansiedade (LEONARD; SONG, 1996; ANISMAN; MERALI, 1999). Semelhanças comportamentais e inflamatórias são evidenciadas tanto no comportamento de doença como na depressão (MAES; SONG; YIRMIYA, 2012). Com isso, a depressão tem sido caracterizada por uma resposta inflamatória, com aumento da produção de interleucinas (IL-1 $\beta$ , IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), pela ativação monocítica



(MAES et al., 1990-1991, 1991b, 1993a; MIKOVA et al., 2001) e imune das células, mediada por células T, produção aumentada de IL-2 e interferon gama (IFN- $\gamma$ ) (MAES et al., 1990-1991, 1991b, 1992a, 1993d, 1994) a uma resposta de fase aguda da inflamação (MAES et al., 1992b, 1993d, 1993e; MAES et al., 1992; SLUZEWSKA et al., 1996).

Várias ações das citocinas alteram funções do organismo, tais como febre, as alterações neuroendócrinas, alterações no sono e outras alterações comportamentais (atividades exploratórias, sexuais e sociais), as quais são mediadas pelo SNC (MAES, 1999; LEONARD; SONG, 1999). Elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6) são comumente encontradas no sangue de pacientes deprimidos (BERK et al., 1997; CONNOR; LEONARD, 1998; MAES, 1999; THOMAS et al., 2005). Há alguns anos, descobriu-se que pacientes suicidas apresentaram níveis elevados de IL-6 no líquido cefalorraquidiano (LINDQVIST, 2009). Portanto, as citocinas poderiam desempenhar um papel importante no aparecimento de comportamentos tipo-depressivo (KONSMAN et al., 2008; YIRMIYA; GOSHEN, 2011).

## **1.2 Hipótese inflamatória e neurodegenerativa da depressão**

Na década de 80, foram publicados os primeiros trabalhos sobre depressão, uma doença caracterizada pela inflamação, na ativação de células monocíticas e células T. Com isso, na prática clínica foram lançadas as bases para uma nova hipótese de que a inflamação e a ativação imunitária mediada por células são fatores chaves na depressão (MAES et al., 1990-1991, 1991b, 1992a, 1992b, 1993, 1993a).

O papel das citocinas na depressão foi proposto pela primeira vez por Smith (SMITH, 1991), sob a forma da "teoria de macrófagos de depressão" e ainda estudada por Maes no início de 1990 (MAES; SONG; YIRMIYA, 2012). Esta teoria foi postulada na observação das concentrações sanguíneas elevadas de marcadores inflamatórios, em pacientes com depressão clínica grave, associada a uma resposta de fase aguda. Segundo sua teoria, as citocinas pró-inflamatórias são responsáveis pela resposta da fase aguda na inflamação, ocasionando vários aspectos clínicos da depressão, como hiperatividade do eixo HPA e distúrbio no metabolismo da serotonina (MAES, 1994c).

Com base em evidências de investigação e revisão literária de Smith 1991,

concordou-se que os macrófagos são ativados pelos linfócitos T e, portanto, que a depressão é caracterizada pela ativação imune mediada por células (MAES; SMITH; SHARPE, 1995). Com isso, os sintomas psicossomáticos ou vegetativos que ocorrem na depressão são manifestações celulares, mediada pela ativação imunitária, e se assemelham com os comportamentos tipo-depressivos em modelos de animais (MAES, 1993; MAES et al., 1993).

Com o passar dos anos, a teoria dos macrófagos mudou para “Teoria de ativação do Sistema de Resposta Inflamatório (IRS)”, devido a muitos aspectos do sistema inflamatório ser correlacionados com a imunidade celular durante a depressão maior (SONG et al., 1998; VAN OESTE; MAES, 1999). Tradicionalmente, a inflamação envolve a síntese e liberação de mediadores pró- inflamatórios, tais como citocinas e quimiocinas. Nesse processo, são envolvidas células como, monócitos, neutrófilos e macrófagos, células da cascata do complemento (SCHIEPERS; WICHERS; MAES, 2005).

A ativação do IRS na depressão está relacionada com a hiperatividade dos índices de hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), sugerindo que a depressão é induzida por citocinas pró-inflamatórias (MAES et al., 1993a, 1993d). A hiperatividade do eixo ocorre pela interação imunoendócrina, ou seja, as citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ) também aumentam a secreção de ACTH por ação direta ou mediante aumento do efeito do CRH, evidenciando essa hiperatividade.

Após novos estudos, a teoria foi denominada de “Indução inflamatória por vias de estresse oxidativo e nitrosativo (IO & NS)”, devido às evidências mostrarem que não acontecia somente à ativação de IRS, mas também a indução do estresse oxidativo e nitrosativo (O & NS) (MAES, 2008). Recentemente, a hipótese de depressão, tem como teoria "Resposta inflamatória e (neuro) degenerativa (I & ND) (MAES, 2010). Esta teoria reúne os conceitos inflamatórios por vias de estresse oxidativo e nitrosativo acompanhada por neurodegeneração e diminuição da neurogênese. A teoria implica que o neuroprogressão em depressão é causado por múltiplas vias de estresse oxidativo e nitrosativo (ZUNSZAIN; HEPGUL; PARIANTE, 2013; GARDNER; BOLES, 2010; MAES, 2010). A figura abaixo (figura 1) sequencia as teorias inflamatórias de acordo com seus períodos de descoberta.

Figura 1- Teorias inflamatórias da Depressão



A neuroinflamação tem sido utilizada para descrever o papel dos processos inflamatórios na fisiopatologia da maioria das doenças neurodegenerativas (RIDET, 1997; BAUER, 2007; DHEEN, 2007; SRIRAM; O'CALLAGHAN, 2007). As respostas inflamatórias no SNC já foram associadas a muitas doenças crônicas neurodegenerativas como doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla e esclerose lateral amiotrófica (MRAK; GRIFFIN, 2001; MCGEER; MCGEER, 2004; BLOCK; HONG, 2005; PHILLIS, 2006; UBOGU, 2006; TANSEY, 2007).

A comunicação bidirecional entre o SNC e o sistema imunológico é necessária para a montagem imunológica apropriada, ou seja, respostas comportamentais e fisiológicas à estimulação imune (KELLEY et al., 2003). Com isso, resposta aos estímulos imunes periféricos, decorrentes de uma administração sistêmica de um agente pró-inflamatório, são produzidas citocinas IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6, por células gliais (astrócitos e micróglia) no cérebro (LAYE et al., 1994), que servem como fonte e alvo de mediadores pró-inflamatórios. Com isso, a resposta dominante para todos os tipos de lesões do SNC é a ativação da micróglia e astroglia, muitas vezes referida como gliose, nos locais de dano (KREUTZBERG,

1996; NOREMBERG, 2005; O'CALLAGHAN; SRIRAM, 2005).

O cérebro contém células do sistema imunológico, tais como macrófagos e células dendríticas, as quais estão presentes no plexo coróide e meninges. Macrófagos cerebrais parenquimatosos, conhecidos como células microgliais, são mais quiescentes em comparação com os macrófagos de tecidos, mas podem responder a estímulos inflamatórios através da produção de citocinas pró-inflamatórias e prostaglandinas. Além disso, tanto células cerebrais neuronais e não neuronais expressam receptores para estes mediadores (DANTZER, 2007).

O cérebro monitora respostas imunes inatas periféricas por vários meios que agem em paralelo. A primeira via envolve nervos aferentes: citocinas produzidas localmente ativam nervos aferentes primários, tais como os nervos vagais durante infecção abdominal (BLUTHE, 1994) e visceral (WATKINS, 1994), e a nervos trigêmeos durante a infecção orolingual (ROMEO et al., 2001). A segunda via, denominada humoral, receptores *Toll-like* (TLRs) em células semelhantes a macrófagos residentes nos órgãos circunventriculares e no plexo coróide respondem a circulação associado aos patógenos a produzir citocinas pró-inflamatórias (QUAN; WHITESIDE; HERKENHAM, 1998). Como os órgãos circunventriculares estão fora da barreira sangue-cérebro, as citocinas podem entrar no cérebro em volume difuso (VITKOVIC, 2000).

A terceira via compreende em transportadores de citocinas na barreira hematoencefálica: citocinas pró-inflamatórias transbordante na circulação sistêmica pode ter acesso ao cérebro através do sistema de transporte saturável (BANKS, 2006). Finalmente, uma quarta via envolve receptores de IL-1 que estão localizadas em macrófagos perivasculares e células endoteliais de vênulas do cérebro (MILLER, 2005). A ativação desses receptores de IL-1 por citocinas na circulação resulta na produção local de prostaglandina E2 (MILLER; O'CALLAGHAN, 2005).

O engajamento destas vias na comunicação imune ao cérebro, leva à produção de citocinas pró-inflamatórias por células microgliais. Este processo requer ação convergente de dois eventos com cursos de tempo diferentes: a ativação da rápida via neural aferente e uma lenta propagação da mensagem de citocina no cérebro. A ativação da via neural, provavelmente, sensibiliza as estruturas cerebrais, alvo para a produção e ação de citocinas que se propagam a partir dos órgãos circunventriculares e o plexo coróide no cérebro

(DANTZER et al., 2000).

No SNC, incluindo as células imunes inatas, micróglia e macrófagos, desempenham um papel integrante na recepção e propagação de sinais inflamatórios que são iniciados na periferia. A ativação de células imunes inatas periféricas provoca a secreção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo interleucina IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), as quais utilizam vias neural (GOEHLER et al., 1998; KONSMAN et al., 2000), humoral (LAFLAMME; LACROIX; RIVEST, 1999) e barreira hematoencefálica para enviar os sinais para o SNC (CHING et al., 2007) Este sinal inflamatório, por sua vez, induz macrófagos do sistema nervoso central e micróglia para produzir as mesmas citocinas (NAUYEN et al., 2002), as quais terão como alvo substratos neuronais, provocando uma síndrome do comportamento tipo-depressivo (KELLEY et al., 2003).

A micróglia têm estados diversos de ativação, que dependem do estímulo inflamatório específico. Assim, em situações de transiente estimulação inata imune periférica, marcadores no SNC, tais como receptores *Toll-like* (TLRs) podem indicar ativação da micróglia (MILLER, 2003). A micróglia está principalmente envolvida na vigilância imunológica (DAVALOS et al., 2005; NIMMERJAHN; KIRCHHOFF; HELMCHEN, 2005), mas quando ativada, os macrófagos têm capacidades semelhantes, incluindo fagocitose de citocinas, produção inflamatória e apresentação de antígeno (GARDEN; MILLER, 2006). Micróglia e astrogliia também são considerados como uma fonte de mediadores inflamatórios e como geradores de oxidantes reativos, o chamado "lado escuro" da glia, por causa do potencial para estas respostas ao danificar alvos neuronais (HUANG et al., 2007).

As alterações neuroinflamatórias da micróglia são transitórias, retornando a um estado de repouso quando o estímulo imune estiver cessado. No entanto, o envelhecimento ou a doença neurológica, pode proporcionar um ambiente do cérebro mais reativo ou preparado para um desafio imune periférico (PERRY et al., 2003). Além disso, estudos relataram que uma consequência biológica deste perfil glial reativo é devido à resposta neuroinflamatória exagerada ao desafio imune inato (GODBUT et al., 2005; BARRIENTOS et al., 2006; ABRAHAM et al., 2006; GAYKEMA et al., 2006; HUANG et al., 2007; CHEN et al., 2008).

A fim de determinar o possível papel do TNF- $\alpha$  na neurotoxicidade dopaminérgica, avaliou-se a ativação do fator nuclear kappa B (NF-kB) após a administração MPTP em

modelos de animais (SRIRAM; O'CALLAGHAN, 2007). NF- $\kappa$ B pode ser considerado como o fator de transcrição para TNF- $\alpha$ , na medida em que medeiam respostas celulares inflamatórias iniciadas por esta citocina, incluindo a produção de espécies reativas de oxigênio muitas vezes implicados na neurotoxicidade dopaminérgica (SRIRAM, 2006). Estes dados tendem a sugerir que o papel do TNF- $\alpha$  na neurotoxicidade dopaminérgica induzida por MPTP pode envolver ações fora da via pró-inflamatória tradicional, geralmente atribuído aos efeitos desta citocina (TANSEY, 2007).

As citocinas pró-inflamatórias no SNC são responsáveis pelos sintomas comportamentais tipo-depressivos, por exemplo, anorexia, isolamento social e anedonia (KELLEY et al., 2003; COMBRINCK; PERRY; CUNNINGHAM, 2002; ABRAHAM et al., 2006; GODBOUT et al., 2005; HUANG et al., 2007), as quais alteram a plasticidade sináptica em animais (TANCREDI et al., 1992; MURRAY; LYNCH, 1998). A resposta inflamatória de citocinas excessivas no cérebro está associado a uma variedade de complicações, incluindo a disfunção cognitiva (HEYSER et al., 1997; VALLIERES et al., 2002, BARRIENTOS et al., 2006; GODBOUT et al., 2007; CHEN et al., 2008).

Existem evidências de que a neuroprogressão desempenha um papel na fisiopatologia da depressão (MAES et al., 2009c, 2011d; BERK et al., 2011). Mudanças volumétricas de hipocampo, amígdala, córtex pré-frontal, córtex cingulado anterior e gânglios basais foram detectados em pacientes que sofrem de depressão a longo prazo (CAMPBELL; MACQUEEN, 2006). Redução do volume do hipocampo é associada a déficits neurocognitivos encontrados em transtornos de humor (BROWN et al., 2004; MAES et al., 2009c). O hipocampo é de particular interesse, uma vez que na depressão é um membro chave do sistema límbico, controlador do comportamento emocional e na regulação do eixo HPA (DE KLOET et al., 1998).

A neurogênese reduzida na depressão é associada com níveis mais baixos de neurotrofinas, como por exemplo, o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (ANGELUCCI; BRENE; MATHE, 2005). Em estudo recente, detectou que níveis baixos de BDNF no soro são um estado de anomalia que normaliza durante a remissão (MOLENDIJK, 2011).

A evidência de dano oxidativo tem sido consistentemente mostrada nos episódios de humor (ANDREAZZA et al., 2008). Estresse Oxidativo ocorre quando espécies reativas de oxigênio interagem com lipídios, proteínas ou ácidos nucleicos. O dano oxidativo é um mecanismo de lesão celular em certo número de condições, incluindo o cancro, estados inflamatórios e neurodegeneração (OPARA, 2006). Este mecanismo também pode ajudar a ligar o envelhecimento acelerado, deficiência funcional, disfunção cognitiva e mortalidade prematura visto no transtorno bipolar (MUR et al., 2008; CACILHAS et al., 2009).

O estresse oxidativo fornece uma ligação entre dano oxidativo e inflamação sistêmica (ZHANG; KAUFMAN, 2006). Os neurônios e glia são particularmente vulneráveis a processos inflamatórios e estado redox, e são dependentes da manutenção do suporte neurotrófico. Algumas destas alterações, ocorrendo durante os episódios de humor podem conduzir à disfunção mitocondrial (OPARA, 2006; BOULANGER, 2009).

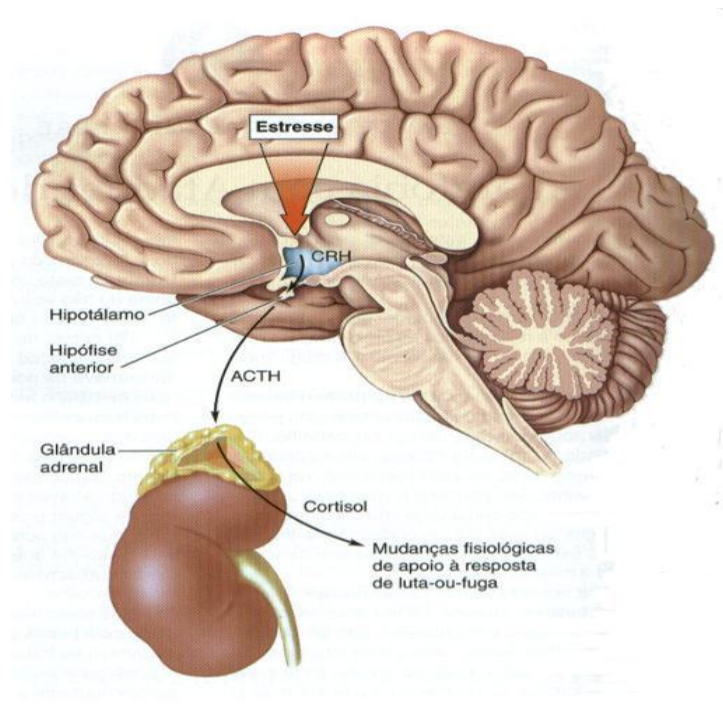
A ativação de macrófagos e micróglia no SNC, contribuem para a produção de mediadores oxidativos e neuroativos que podem influenciar o comportamento. Por exemplo, citocinas inflamatórias no SNC sobrerregulam a enzima IDO, a qual metaboliza o triptofano em L-quinurenina. Assim, níveis reduzidos de triptofano, irá influenciar a síntese da serotonina. A produção elevada de mediadores neuroativos, incluindo 3-hidroxiquinurenina e ácido quinolínico induzem danos neuronais por estresse oxidativo. Estudos mostraram um importante mecanismo de complicações do comportamento e humor com a inflamação, devido à degradação do triptofano, impactando nas vias serotoninérgicas e glutamatérgicas (DANTZER et al., 2008; NG et al., 2008).

Estudos relatam que os sintomas depressivos apresentam uma correlação positiva com o aumento da concentração de ROMs. As respostas inflamatórias e CMI são acompanhadas por um aumento produção de radicais de espécies de oxigênio (ROS) e radicais de nitrogênio (KUHN, 2006; TANSEY, 2007; MAES et al., 2010).

Existe um mecanismo que liga o estado oxidativo com sintomas depressivos. O eixo da hiperatividade do hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) é frequentemente observado em pacientes com depressão maior (KASCKOW; BAKER; GERACIOTI, 2001). Os distúrbios no organismo evocam uma resposta ao estresse, que serve para restaurar a homeostase e para facilitar a adaptação a esta perturbação.

A principal força motriz do eixo HPA é hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que atua em sinergia com arginina-vasopressina (AVP), levando à liberação de glicocorticoides, cortisol no homem e corticosterona em roedores. A corticosterona mantém a atividade basal do eixo HPA e controla a sensibilidade ou limiar de resposta do sistema ao estresse. Com isso, a corticosterona coordena outros eventos como o ciclo sono/vigília, a ingestão de alimentos, entre outros. A corticosterona também exerce um feedback inibitório principalmente na hipófise e neurônios de núcleo paraventricular, encerrando o estresse induzido pela ativação do eixo, conforme figura 2 (DE KLOET et al., 1998).

Figura 2 – Eixo HPA



Fonte: <http://www.psiquiatriageral.com.br/cerebro/texto13.htm>



### 1.3 Popolissacarídeo (LPS)

Lipopolissacarídeo (LPS), também conhecido como endotoxina altamente tóxica, derivada da membrana celular externa de bactérias gram-negativas (TUIN et al., 2006). Há alguns anos, o LPS é considerado o principal fator responsável pelas manifestações tóxicas de infecções por bactérias gram-negativas, bem como por inflamação sistêmica (RIESTSCHEL et al., 1994).

O LPS é um glicolípido exclusivamente bacteriano. É composto por três estruturas distintas: um lipídio A, o qual se caracteriza por uma ancora membrana; o núcleo sacarídeo, o qual constitui uma cadeia ramificada de hexose não repetidos e heptose açúcares; e a cadeia lateral de antígeno O, uma unidade de repetição de açúcar que se estende para o meio extracelular. A porção lipídica é considerada a responsável pela maior ação antigênica do LPS (RAETZ; WHITFIELD, 2002).

Patógenos bacterianos entéricos contendo antígenos O, como um componente do LPS, podem promover resistência e fagocitose, aumentando a patogenicidade dos membros da família *Enterobacteriaceae*, a qual pertence à espécie *Escherichia coli* (HART, 1988; SWIERGIEL et al., 1999).

O LPS, agente pró-inflamatório, é considerado como um ativador potente da resposta imune inata (LANGHANS, 1996), conduzindo os comportamentos tipo-depressivos em animais (DANTZER, 2001; KONSMAN; PARNET; DANTZER, 2002; DANTZER et al., 2008). Sua administração sistêmica induz a inflamação periférica e central, tanto em modelos de animais como em seres humanos, devido ao LPS ser um potente indutor da inflamação (CONNOR et al., 1998; DUNN et al., 1999).

O LPS age como um pirógeno exógeno, devido atuar sobre células do organismo, principalmente os macrófagos, induzindo-os a liberar citocinas como o TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, entre outras (TURNBULL; RIVIER, 1999). Estudos têm mostrado que os efeitos depressivos da IL-1 $\beta$ , o qual é um dos mediadores do efeito do LPS são mais evidenciados quando os animais são colocados no ambiente seguro de sua gaiola comparado com um ambiente desconhecido (DANTZER, 2001).

A administração sistêmica de LPS provoca um espectro de respostas comportamentais conhecidos como comportamentos tipo-depressivos (HART, 1988; KENT et al., 1992; DANTZER et al., 2001), tais como, diminuição na atividade locomotora (OTTERNESS et al., 1988), diminuição da exploração do ambiente e interações sociais, sinais de desespero, perda de peso corporal, anedonia e febre (LARSON & DUNN, 2001; SWIERGIEL; DUNN, 2001; DUNN; SWIERGIEL, 2005) em animais com medo ou ansiosos (MCCARTHY; KLUGER; VANDER, 1985; DUNN, 2006).

Há alguns anos duas entidades distintas de comportamento surgem após a administração sistêmica de LPS. Essas alterações parecem ser de tempo (DANTZER et al., 2008) e dose-dependente (LOCKEY et al., 2009). Uma ocorre durante o pico das citocinas inflamatórias cerca de 2 h a administração de LPS, a ser referido como um comportamento de doença (HUANG et al., 2008). O outro pico pelo menos 24 h após o desafio com LPS (ao longo do pico de citocinas) e está relacionada com um comportamento depressivo (PAINSIPP et al., 2011).

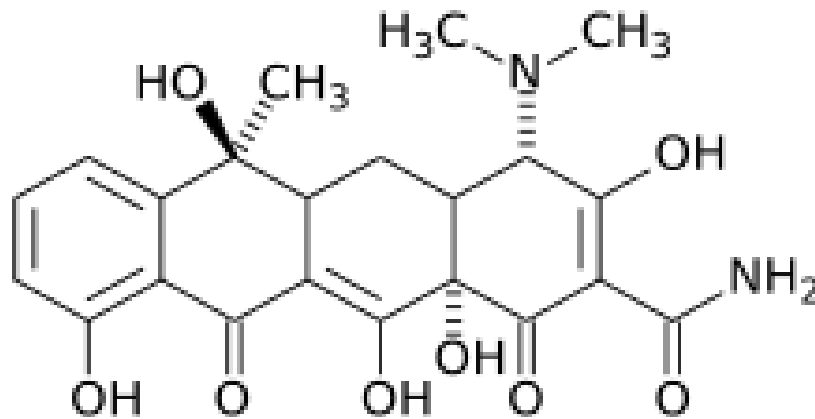
O LPS, também induz mudanças fisiológicas como aqueles associados com estresse físico ou psicogênicos em animais (ANISMAN et al., 2002). O LPS ativa o cérebro, o metabolismo de noradrenalina e serotonina (DUNN, 1988; KABIERSCHE et al., 1988; DUNN, 2006), ativando o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), ocorrendo o aumento das concentrações plasmáticas de ACTH e glicocorticoides (BESEDOVSKY et al., 1986; DUNN, 2000).

Em estudo realizado, tem sido mostrado que o LPS exerce efeitos de ansiedade em animais testados em ambientes claro-escuro e testes do labirinto (SWIERGIEL; DUNN, 2007). Estudos relataram que uma dose baixa de LPS foi eficaz na indução de comportamentos tipo-depressivos em animais, sendo suficientemente elevada para ativar no cérebro os sistemas noradrenérgicos e serotoninérgicos (LINTHORST; REUL, 1998; LACOSTA; MERALI; ANISMAN, 1999). Estes neurotransmissores têm sido implicados na resposta ao estresse, medo e ansiedade, podendo ser mediadores dos efeitos de LPS (MILLAN, 2003; WIECZOREK et al., 2005).

## 1.4 Tetraciclina

As tetraciclina são um grupo de antibióticos usados no tratamento das infecções bacterianas, produzidas por diversas espécies de *Streptomyces* e algumas são semi-sintéticas. A tetraciclina foi descoberta por Lloyd Conover da *Pfizer* farmacêutica, sua patente é de 1955, sua estrutura química segue na figura 3 abaixo (CARSON; STROM; DUFF, 1993).

Figura 3: Estrutura Química da Tetraciclina



Fonte: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Tetracycline\\_structure](http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Tetracycline_structure)

As tetraciclina são inibidores específicos do ribossomo procariótico (bacteriano), ocorrendo o bloqueio do receptor na subunidade 30S que se liga ao RNAt durante a tradução gênica. A síntese de proteínas é, portanto, inibida na bactéria, o que impede a replicação e leva à morte celular. As tetraciclina têm sido utilizadas na medicina humana e veterinária, principalmente devido ao seu amplo espectro de atividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, por exemplo, *Chlamydia*, *Micoplasmas*, *Rickettsias* e *Protozoários* (CHOPRA; ROBERTS, 2001).

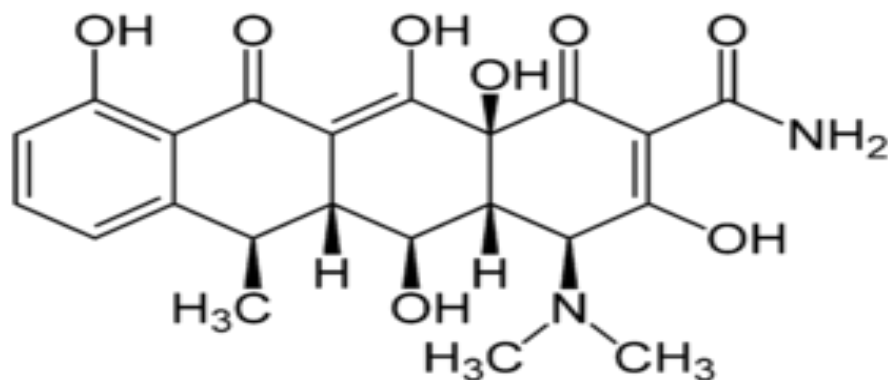
Com a descoberta das propriedades antiinflamatórias das tetraciclina, elas estão sendo utilizadas no tratamento de outras doenças, tais como acne e artrite reumatóide. Um estudo pioneiro demonstrou que a doxiciclina proporcionou uma recuperação melhorada de um modelo animal de isquemia cerebral focal (CLARK et al., 1994). Subsequentemente, outro estudo, demonstrou que a doxiciclina e a minociclina tiveram

ação neuroprotetora em animais com isquemia cerebral global (TIKKA; KOISTINAHO, 2001). Desde então, estudos estão demonstrando que as tetraciclinas possuem notáveis propriedades neuroprotetoras em modelos de isquemia cerebral, lesão da medula espinal, doença de Parkinson, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica e esclerose múltipla (PENNINX et al., 2003; EVANS et al., 2005).

Como propriedades antiinflamatórias das tetraciclinas, podemos citar a inibição da ativação das células T e quimiotaxia, a regulação negativa de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , a inibição da matriz das metaloproteinasas (MMPs) (CUNHA, 2000) e ação anticolagenolítica representada pela ação inibitória sobre a MMPs (TJADERHANE et al., 2007).

Dentre as tetraciclinas, a doxiciclina, é um antibiótico de amplo espectro derivado da oxitetraciclina, sendo uma tetraciclina semi-sintética de segunda geração, sua estrutura química segue na figura 4. São altamente estável no soro humano normal e não se degrada para uma forma epianidro. Possui pouca afinidade de ligação ao cálcio (MCCULLOCH; BIREK, 1990).

Figura 4: Estrutura Química da Doxiciclina



Fonte: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Doxycycline\\_Structural\\_Formulae](http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Doxycycline_Structural_Formulae)

A doxiciclina é a que possui maior solubilidade em lipídios, atravessando a barreira hemato-encefálica. A doxiciclina não é metabolizada no fígado, a maior parte do fármaco é excretado nas fezes e minimamente eliminado por via renal. Em pacientes com a função renal

normal, a excreção da droga ativa é 20-26% na urina e 20-40% nas fezes em 48 horas após o tratamento. O tempo de meia-vida varia de 14 a 24 horas, dependendo de dose única ou repetida, e aumentada até 17-30 horas em pacientes com insuficiência renal (ROMANOWSKI; TALBOT; STADNYK, 1993).

A doxiciclina pode ser administrada por via intravenosa, oral, sublingual e intragíngival. Após administração oral, a doxiciclina é absorvida de 90-100%. As concentrações plasmáticas máximas são atingidas dentro de 1,5 a 4 horas. Após doses terapêuticas normais, as concentrações plasmáticas variando 1,5-3,6 mg/mL. A doxiciclina liga-se a proteínas do plasma entre 23 e 93% (MCCULLOCH; BIREK, 1990).

A minociclina é outra tetraciclina de segunda geração que exerce efeitos antiinflamatórios e antimicrobianos, também possuindo efeitos neuroprotetores (YRJANHEIKKI et al., 1999), porém a doxiciclina apresenta algumas vantagens em relação à minociclina, dentre elas uma menor toxicidade central quando administrada em doses mais altas (SMITH; LEYDEN, 2005).

A absorção da minociclina, é 95%, principalmente no estômago, duodeno e jejuno. Sua absorção é reduzida por ferro e antiácidos contendo cálcio e magnésio. A minociclina possui uma variedade de metabólitos. Suas concentrações plasmáticas são atingidas dentro de 2h. A minociclina liga-se a proteínas de ligação é de 76% (ROMANOWSKI; TALBOT; STADNYK, 1993).

Geralmente, as tetraciclinas não podem ser utilizadas em pacientes com doença renal ou insuficiência renal, mas se o seu uso é indispensável, a melhor escolha da classe é a doxiciclina e a minociclina, por serem as únicas que são excretadas em menor grau pelos rins. Na administração de doxiciclina, em pacientes com disfunção hepática, pode ser necessária uma redução da dose, por retardar o metabolismo hepático do antibiótico, aumentando a meia-vida de eliminação (CARSON; STROM; DUFF, 1993).

Estudo demonstra que a minociclina reduz a ativação da micróglia induzida por LPS, diminuindo a produção de citocinas no SNC e os sintomas comportamentais tipo-depressivo, por exemplo, interação social e anedonia (CHEN et al., 2000). Estes resultados são potencialmente importantes, pois indicam que a minociclina pode ser utilizada para reduzir a

expressão de citocinas no cérebro e têm um efeito benéfico sobre as respostas comportamentais (SMITH; LEYDEN, 2005). Estes dados reforçam a ideia de que estratégias farmacológicas que visam diminuir a neuroinflamação associado com a inibição da ativação da microglia são importantes para melhorar a recuperação da doença e reduzir a frequência de complicações neurocomportamentais (HENRY et al., 2008).

Um estudo realizado evidenciou a redução da neuroinflamação por minociclina, pela reversão de comportamentos tipo-depressivos induzidos por LPS. A redução das citocinas neuroinflamatórias não impediu o comportamento de doença induzida por LPS após 2 a 4 hs de administração da endotoxina, mas reverteu o comportamento tipo-depressivo após 8 - 24hs (HENRY et al., 2008).

Os efeitos neuroprotetores da minociclina residem no fato desta droga inibir a sintetase de óxido nítrico (iNOS), levando a redução dos níveis intracelulares de óxido nítrico (NO) (AMIN et al., 1996). Estas propriedades da minociclina sugerem um importante papel no tratamento de desordens envolvendo dano neuronal. (YRJANHEIKKI et al., 1998, 1999; CHEN et al., 2000; ARVIN et al., 2002; WU et al., 2002; MIYAOKA et al., 2007).

A doxiciclina é atualmente a tetraciclina mais utilizada na medicina humana e está incluída na Lista de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial de Saúde. Dentre as tetraciclinas disponíveis, a doxiciclina é a que possui um histórico maior de segurança comparado com as drogas da mesma classe, devido possuir uma menor afinidade pelo cálcio, o tempo de semi-vida permite a administração uma vez ou duas vezes por dia e um baixo custo econômico.

Outras vantagens farmacológicas sobre os compostos da mesma classe, incluem uma maior biodisponibilidade oral, a penetração do tecido reforçado e atividade melhorada contra bactérias gram-positivas (AGWUH; MACGOWAN, 2006). A doxiciclina é eliminada inalterada através do trato gastrointestinal e da urina, pela ausência de metabólitos. Os efeitos adversos são raros, e incluem principalmente os distúrbios gastrointestinais, tais como náuseas e vômitos. Em crianças, a doxiciclina também pode causar a coloração dos dentes, embora este problema não seja tão comum como com outras tetraciclinas (BRYSKIER, 2005; AGWUH; MACGOWAN, 2006).

Estudos realizados indicam o uso da doxiciclina na regulação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, sugerindo a sua utilidade para o tratamento de inflamação induzida por exposição de agentes bacterianos. O uso de doxiciclina oferece uma vantagem adicional de proporcionar tanto efeitos antimicrobianos e anti-inflamatórios (KRAKAUER; BUCKLEY, 2003).

O mecanismo anti-inflamatório da doxiciclina pode envolver a inibição de mediadores do processo inflamatório, tais como interleucinas e prostaglandinas, a inibição da atividade de iNOS e atividade antioxidante (RIAZI et al., 2008). Foi demonstrado que a inflamação periférica aumenta a ativação da micróglia por mediadores inflamatórios, e a inibição desta ativação é conhecido em um dos mecanismos da doxiciclina (SWEITZER et al., 1999).

A doxiciclina tem sido testada quanto a seus efeitos neuroprotetores em doenças como o mal de Parkinson, seu efeito neuroprotetor sobre os neurônios dopaminérgicos foi confirmado *in vivo*, no modelo animal tratado com MPTP na doença de Parkinson. A degeneração dos neurônios nigrais induzida por MPTP foi atenuada pelo co-tratamento com doxiciclina (KIM et al., 2007). Também tem sido observado o efeito protetor da doxiciclina em doenças de acidente vascular cerebral, devido principalmente pela inibição da ativação da micróglia (LAI; TODD, 2006).

A doxiciclina inibe a síntese de óxido nítrico, esta atividade é uma outra via possível, pelo qual as tetraciclinas podem funcionar como compostos anti-inflamatórios. Os dados sugerem que a inibição direta da liberação de nitrato é o principal mecanismo da atividade anti-inflamatória de doxiciclina no choque séptico (D'AGOSTINO et al., 1998).

A doxiciclina foi relatada para regulação das MMPs, através de um mecanismo que é distinto de sua atividade antibiótica (WEBSTER et al., 1994; SOLOMON et al., 2000; SOORY, 2008). A doxiciclina pode suprimir a indução de MMP-3 e, assim, proporcionar uma ação neuroprotetora por meio de dois mecanismos anti-apoptóticos e anti-inflamatórios. A doxiciclina tem um elevado índice de penetração no cérebro e no líquido cefalorraquidiano, ou seja, um pré-requisito para uma droga agir no SNC (ANDERSON; ALESTIG, 1976; ZHANG et al., 2009).

Baseado em todas as evidências relatadas nos estudos citados da minociclina e na ação anti-inflamatória da doxiciclina, a qual nunca foi estudada em um modelo de depressão, reforça a ideia de que estratégias farmacológicas que visam diminuir a neuroinflamação associado à ativação da micróglia são importantes para prevenir e reverter os comportamentos tipo-depressivos, reduzindo a frequência de complicações neurocomportamentais.



## **2 PERGUNTAS DE PARTIDA**

1. A doxiciclina pode prevenir o comportamento tipo-depressão em animais submetidos ao modelo de depressão por administração sistêmica de Lipopolissarídeo (LPS)?
2. A doxiciclina possui efeitos terapêuticos em comportamentos depressivos induzidos pela administração sistêmica de Lipopolissarídeo (LPS)?

### **3 HIPÓTESES**

1. A doxiciclina apresenta efeitos preventivos e/ou terapêuticos contra comportamentos tipo-depressão, baseado no fato de que a minociclina droga da mesma classe e com mais efeitos colaterais esta sendo pesquisada como adjuvante no tratamento de transtornos mentais.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

Determinar os possíveis efeitos preventivos e/ou terapêuticos da doxiciclina em animais adultos submetidos ao modelo de depressão por desafio imune induzido por LPS, com o intuito de contribuir para um maior conhecimento da fisiopatologia e tratamento da depressão.

### **4.2 Objetivos específicos**

1. Avaliar as alterações comportamentais em animais submetidos ao modelo de comportamento depressivo induzido por LPS e tratados com doxiciclina (nas doses de 25mg e 50 mg) utilizando os testes de campo aberto e nado forçado;

2. Avaliar os níveis de citocinas interleucina 1- $\beta$  e TNF- $\alpha$  desencadeados por animais com comportamentos depressivos induzido por LPS e tratados com doxiciclina (nas doses de 25mg e 50 mg) nas áreas cerebrais córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado e a nível de sangue periférico;

3. Avaliar os níveis de nitrito nas áreas cerebrais (córtex pré-frontal, corpo estriado e pré-frontal) em animais com comportamento depressivo induzido por LPS e tratados com doxiciclina (nas doses de 25mg e 50 mg).

## 5 CAPÍTULO 1

Efeitos da doxiciclina no comportamento depressivo em camundongos após administração de lipopolissacarídeo (LPS)

Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration

Bruna Stefânia Ferreira Mello<sup>a</sup>, Charllyany Sabino Custódio<sup>a</sup>, Rafaela Carneiro Cordeiro<sup>b</sup>, Vlândia Célia Moreira Borella<sup>b</sup>, João Henrique Chaves<sup>b</sup>, David Freitas de Lucena<sup>b</sup>, Silvânia Maria Mendes Vasconcelos<sup>b</sup>, Hélio Vitoriano Nobre Júnior<sup>a</sup>, Francisca Cléa Florenço de Sousa<sup>b</sup>, André Férrer Carvalho, Danielle Silveira Macêdo<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup>Postgraduate Program in Medical Microbiology. Department of Pathology. Faculty of Medicine. Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

<sup>b</sup>Neuropharmacology Laboratory. Department of Physiology and Pharmacology. Faculty of Medicine. Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

### Corresponding Author:

\*Danielle Silveira Macêdo. Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Ceará, Rua Cel. Nunes de Melo 1127, 60431-270 Fortaleza, CE, Brazil.  
Phone: +55-85-3366-8337 Fax: +55-85-3366-8333. E-mail:  
[daniellesilmacedo@gmail.com](mailto:daniellesilmacedo@gmail.com); [daniellesm2000@yahoo.com](mailto:daniellesm2000@yahoo.com)

## Resumo

A depressão é um dos transtornos psiquiátricos mais prevalentes. Evidências reconheceram a ativação do sistema imune inato e resposta inflamatória com a produção aumentada de interleucina IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  como um dos mecanismos subjacentes à depressão. Assim, com base nas propriedades anti-inflamatórias e anti-oxidante da doxiciclina (DOXI) e supondo que esta droga tem menos efeitos colaterais e um melhor perfil farmacocinético, quando comparada com outra tetraciclina, a nossa hipótese é a de que este medicamento pode ter efeitos anti-depressivos, utilizando o modelo da depressão induzida por LPS. Para avaliar a capacidade DOXI na prevenção ou reversão da depressão um comportamento semelhante ao induzido pela administração sistêmica de LPS de 0,5 mg / kg ip, Doxi foi administrado 30 minutos antes de LPS (protocolo de prevenção) ou 1,5 e 23,5 horas após a LPS (protocolo de reversão). A imipramina foi utilizado como um anti-depressivo padrão sob os mesmos protocolos. A administração de LPS aumentou significativamente o tempo de imobilidade no teste de nado forçado (FST), em comparação com os controles de 24 h após a administração de endotoxina, ao passo que doxi, em doses de 25 e 50 mg / kg, ip bem como a imipramina (IMI-10 mg / kg, ip) foi capaz de prevenir e reverter as alterações no tempo de imobilidade induzida pela endotoxina. A análise dos níveis de citocinas (IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ) revelou um aumento na produção de IL-1 $\beta$  24 h após a administração de LPS, em áreas putativas cérebro, que foi prevenido e invertido pela administração de doxi e IMI. Não foi observada alteração nos níveis de TNF- $\alpha$ . Doxi e IMI também evitaram e reverteram a diminuição do teor de nitrito induzida por LPS. Com base nos resultados do presente estudo sugere-se que existe um efeito antidepressivo da doxi comparável a IMI.

Palavras-chave: Lipopolissacarídeo, Depressão, Comportamento depressivo, Doxiciclina.

Contents lists available at [SciVerse ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com)

## Journal of Psychiatric Research

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/psychires](http://www.elsevier.com/locate/psychires)

## Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration



Bruna Stefânia Ferreira Mello<sup>a</sup>, Aline Santos Monte<sup>a</sup>, Roger S. McIntyre<sup>b, c, d</sup>, Joanna K. Soczynska<sup>b, c</sup>, Charllyany Sabino Custódio<sup>a</sup>, Rafaela Carneiro Cordeiro<sup>a</sup>, João Henrique Chaves<sup>a</sup>, Silvânia Maria Mendes Vasconcelos<sup>a</sup>, Hélio Vitoriano Nobre Júnior<sup>e</sup>, Francisca Cléa Florenço de Sousa<sup>a</sup>, Thomas N. Hyphantis<sup>f</sup>, André Ferrer Carvalho<sup>g, h</sup>, Danielle Silveira Macêdo<sup>a, g, \*</sup>

<sup>a</sup>Neuropharmacology Laboratory, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceara, Fortaleza, CE, Brazil

<sup>b</sup>Department of Psychiatry, University of Toronto, Toronto, ON, Canada

<sup>c</sup>Department of Pharmacology, University of Toronto, Toronto, ON, Canada

<sup>d</sup>Mood Disorders Psychopharmacology Unit (MDPU), University Health Network, Toronto, ON, Canada

<sup>e</sup>Department of Clinical and Toxicological Analysis, School of Pharmacy, Laboratory of Bioprospection and Experiments in Yeast, LABEL, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil

<sup>f</sup>Department of Psychiatry, University of Ioannina, Ioannina, Greece

<sup>g</sup>Psychiatry Research Group, Federal University of Ceará, Faculty of Medicine, Fortaleza, CE, Brazil

<sup>h</sup>Department of Clinical Medicine, Federal University of Ceará, Faculty of Medicine, Fortaleza, CE, Brazil

### article info

#### Article history:

Received 28 March 2013

Received in revised form 1

June 2013

Accepted 14 June 2013

#### Keywords:

Lipopolysaccharide

Depression

Doxycycline

Neuroinflammation

Oxidative stress

### abstract

Current evidences support inflammation, oxidative and nitrogen stress, as well as brain-derived neurotrophic factor (BDNF) signaling mechanisms as important in depression pathophysiology. Tetracycline antibiotics have anti-inflammatory and antioxidant properties. Preliminary evidence indicates that minocycline has antidepressant properties. Doxycycline (DOXY) has favorable pharmacokinetic and safety profiles when compared to other tetracycline congeners. The antidepressant activity of DOXY has not been adequately investigated. This study evaluated the effects of DOXY (25 and 50 mg/kg, i.p.) on LPS-induced (0.5 mg/kg, i.p.) depressive-like behavior. Doxycycline was administered 30 min before LPS (pre-LPS) or 1.5 and 23.5 h following LPS (post-LPS) administration in mice. LPS-treated animals pre-sented an increase in immobility time in the forced swimming test (FST) when compared to controls 24 h after endotoxin administration. Similarly to imipramine (IMI-10 mg/kg, i.p.), DOXY at both doses pre-vented and reversed LPS-induced alterations in the FST. IL-1 $\beta$  content was increased 24 h after LPS administration in striatum, hippocampus and prefrontal cortex. IMI and DOXY prevented and reversed LPS-induced increase in IL-1 $\beta$ . IMI and DOXY also prevented and reversed LPS-induced alterations in nitrite content and oxidative stress parameters (lipid peroxidation and reduced glutathione levels). Both DOXY and IMI prevented LPS-induced decrease in hippocampal BDNF levels. Taken together, our results demonstrate that DOXY is comparable to IMI in effectively ameliorate LPS-induced depressive-like behavior, providing a rationale for testing DOXY's antidepressant efficacy in humans.

2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

\* Corresponding author. Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Ceará, Rua Cel. Nunes de Melo 1127, 60431-270 Fortaleza, CE, Brazil. Tel.: þ55 85 3366 8337; fax: þ55 85 3366 8333.

E-mail addresses: [daniellesilmacedo@gmail.com](mailto:daniellesilmacedo@gmail.com), [daniellesm2000@yahoo.com](mailto:daniellesm2000@yahoo.com) (D.S. Macêdo).

0022-3956/\$ - see front matter 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.psychires.2013.06.008>

### 1. Introduction

Major depressive disorder (MDD) has a lifetime prevalence in the range of 1.5e19.0% with a median estimate of 9.4% ( Kessler, 2012) and is projected to become the second leading cause of disability worldwide by 2020 ( Murray and Lopez, 1997). A significant pro-portion of individuals with MDD require antidepressant drug therapy ( Lam et al., 2009). However, observable therapeutic benefits

with available antidepressants usually take 6–8 weeks to emerge (Uher et al., 2011) and only 30–45% of patients ultimately achieve remission following a single antidepressant trial (Carvalho et al., 2009).

The vast majority of available antidepressant medications enhance or otherwise modulate monoaminergic neurotransmission (Li et al., 2012). The identification of novel neurobiological targets for MDD is a research priority with the hope that these efforts would lead to the discovery of more effective and/or faster acting antidepressants (Machado-Vieira et al., 2009; Rizvi and Kennedy, 2011). In this regard, converging evidence indicate that disrupted neuro-plasticity plays a critical role in MDD pathophysiology (Ota and Duman, 2012). For example, lower levels of neurotrophins (for example, brain-derived neurotrophic factor or BDNF) have been observed in the brain and serum of individuals with MDD when compared to healthy controls (Sen et al., 2008; Yu and Chen, 2011). Furthermore, the up-regulation of hippocampal BDNF signaling mediates the action of standard antidepressants (Schmidt and Duman, 2007; Zhang et al., 2010).

Several lines of evidence indicate that an increase in oxidative and nitrosative stress (O&NS) is implicated in MDD pathophysiology (Maes et al., 2011a). Increased levels of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species in MDD, including peroxide (Maes et al., 2010) and NO (Suzuki et al., 2001; Dhir and Kulkarni, 2011) have been reported. Furthermore, altered levels of antioxidant defenses, such as glutathione (GSH) in the postmortem MDD brain has been demonstrated (Gawryluk et al., 2011). Accordingly, O&NS mechanisms have been proposed as targets for novel antidepressants (Lee et al., 2012).

Converging lines of evidences suggest that depression is accompanied by activation of immuno-inflammatory pathways (Maes et al., 1993; Maes, 1995; Seidel et al., 1995; Sluzewska et al., 1996). Accordingly, serum levels of inflammatory cytokines, for example, tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), and IL-1 beta (IL-1 $\beta$ ), are elevated in subjects with MDD (Seidel et al., 1995; Sluzewska et al., 1996; Maes, 2008; Dowlati et al., 2010; Hannestad et al., 2011). The reason why this occurs is unclear, but some evidences suggest that pathways between negative moods and inflammation are bi-directional because negative moods activate peripheral physiologic mechanisms that result in an up regulation of systemic levels of inflammation and conversely, peripheral inflammatory mediators signal the brain to affect behavioral, affective and cognitive changes that are consistent with symptoms of major depressive disorder (Messay et al., 2012). Indeed, recent evidences point towards increased IgM and IgA re-sponses directed against lipopolysaccharide (LPS) from gram negative gut commensals in patients with chronic depression (Maes et al., 2012a) what shows that intestinal mucosal dysfunction, characterized by an increased translocation of gram-negative bacteria (leaky gut), plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression (Maes et al., 2008).

These experimental observations in humans parallels preclinical developments on this field (Dunn et al., 2005). Accordingly, the systemic administration of LPS causes time-dependent behavioral alterations: sickness behavior is evident approximately 2 h following LPS administration (i.e., along with the peak release of cytokines) (Huang et al., 2008), while depressive-like behavior is observed 24 h after LPS challenge (i.e., after the initial cytokine peak (Painsipp et al., 2011; Custodio et al., 2013), and is a proposed animal model of depressive-like behavior (Ohgi et al., 2013). Furthermore, toll-like receptor-4 (TLR-4) signaling pathway is activated in mice prefrontal cortex (PFC) after repeated restraint/ acoustic stress exposure being responsible for triggering neuro-inflammation at PFC level and regulating gut barrier function/ permeability (Garate et al., 2013), what brings preclinical evidences

for the leaky gut syndrome in depression. In addition, repeated and chronic LPS administration has been suggested as an animal model of chronic (anhedonic) depression (Kubera et al., 2013).

At present, conventional anti-inflammatory drugs, such as aspirin (Mendlewicz et al., 2006), celecoxib (Muller et al., 2006) and etanercept (Tyring et al., 2006) have been tested with results suggesting antidepressant effects in adults with MDD. Therefore, normalization of activated inflammation pathways (i.e., activated microglia) may be a novel mechanism for antidepressant action. In line with this premise, the tetracycline minocycline has powerful anti-inflammatory, antioxidant and neuroprotective/neurotrophic effects and accordingly has been proposed as a candidate multi-modal (i.e., pleiotropic) antidepressant (Pae et al., 2008; Soczynska et al., 2012). The antidepressant properties of minocycline has been broadly supported by preclinical studies (Soczynska et al., 2012). Importantly, minocycline (50 mg/kg) attenuates LPS-induced depressive-like behavior at a time sickness behavior is no longer present (O'Connor et al., 2009).

Doxycycline (6-Deoxy-5-hydroxytetracycline), another tetracycline antibiotic compound, is a broad-spectrum antibiotic widely used for infections caused by both gram-negative and gram-positive microorganisms (Cunha et al., 1982). Preliminary evidences indicate that DOXY may also exert anti-inflammatory (Yrjanheikki et al., 1998) and antioxidant (Nogueira et al., 2011) properties in the central nervous system. Doxycycline is the most frequently used tetracycline in medicine and is included in the List of Essential Medicines of the World Health Organization (Perez-Trallero and Iglesias, 2003). Doxycycline is a long-acting, second-generation tetracycline which is absorbed rapidly and penetrates well into the brain (Yim et al., 1985). Furthermore, DOXY: (i) present the least affinity for calcium; (ii) is devoid of effects in the intestinal flora, due to its almost complete absorption and (iii) is inexpensive (Cunha et al., 1982). Finally, a previous systematic review reported that DOXY induces fewer adverse events than minocycline (Smith and Leyden, 2005).

Thus, based on the anti-inflammatory and antioxidant effects of DOXY and its more favorable pharmacokinetic and safety profile when compared to other tetracycline congeners, we decided to test the possible effects of this compound on LPS-induced depressive-like behavior in mice. Furthermore, we assessed whether the possible antidepressant-like effects of this compound is associated with alterations in IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and BDNF levels, as well as changes on oxidative stress parameters (i.e., lipid peroxidation and GSH levels) in discrete areas of the mice brain following an immune challenge with LPS.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Drugs

Lipopolysaccharide (LPS) from *Escherichia coli*, strain 055:B5 (SigmaAldrich Corp., St Louis, USA), doxycycline (DOXY; SigmaAldrich Corp., St Louis, USA) and imipramine (IMI; SigmaAldrich Corp., St Louis, USA) were used. The drugs were made up freshly for the study. All other chemicals used were of analytical grade.

### 2.2. Animals

The experiments were performed in male Swiss mice (weighting: 20–30 g) obtained from the Animal House of Federal University of Ceará. The animals were housed 10 per cage in standard polycarbonate cages (42 × 20.5 × 20 cm) and standard environmental conditions (22 ± 1 °C; humidity 60 ± 5%; reversed 12-h light/dark cycle with lights on at 19:00) with access to food (FRI-LAB Rat II, FRI-Ribe) and water ad libitum. All experimental

procedures were conducted between 8:00 and 14:00 h and were carried out in accordance with the NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH, 2011) and the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA). This research protocol was approved by the local ethical committee of Federal University of Ceará.

### 2.3. Experimental design

Mice were randomly divided into nine experimental groups of sixteen animals each. For the pretreatment paradigm, DOXY (25 or 50 mg/kg), IMI (10 mg/kg) or saline (endotoxin-free) were administered intraperitoneally to the animals 30 min prior to LPS (0.5 mg/kg, i.p.) administration. For the posttreatment protocol, separate animals received LPS (0.5 mg/kg, i.p.) followed by treatment with DOXY (25 or 50 mg/kg, i.p.), IMI (10 mg/kg, i.p.) or saline either 1.5 or 23.5 h after LPS administration. The doses of DOXY were selected based on preclinical studies evaluating its neuroprotective effect (Nogueira et al., 2011). The IMI dose was selected from previous literature evaluating its antidepressant-like effects in mice (Feng et al., 2012; Berrocoso et al., 2013).

Behavioral determinations were performed in both situations (pre- and posttreatment) 24 h after LPS administration, a period in which the occurrence of depressive-like behavior is observed (Dantzer et al., 2008; Park et al., 2011; Ohgi et al., 2013). To avoid the potential influence of behavioral testing on cytokine levels, cytokine assessment and behavioral testing were performed on different animals (Bossu et al., 2012). Since we did not find evidence of a dose-response effect for DOXY on behavioral and some neurochemical assessments (cytokines and nitrite content), the analyses of BDNF and oxidative stress markers (GSH and thio-barbituric acid reactive species) were conducted only with the higher DOXY dose (50 mg/kg).

The animals used for neurochemical determinations were killed by cervical dislocation. The brain areas dissected were: the pre-frontal cortex (PFC), hippocampus (HC) and striatum (ST). All biological material was immediately stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  until assay. A schematic overview of the experimental design is depicted in Fig. 1.

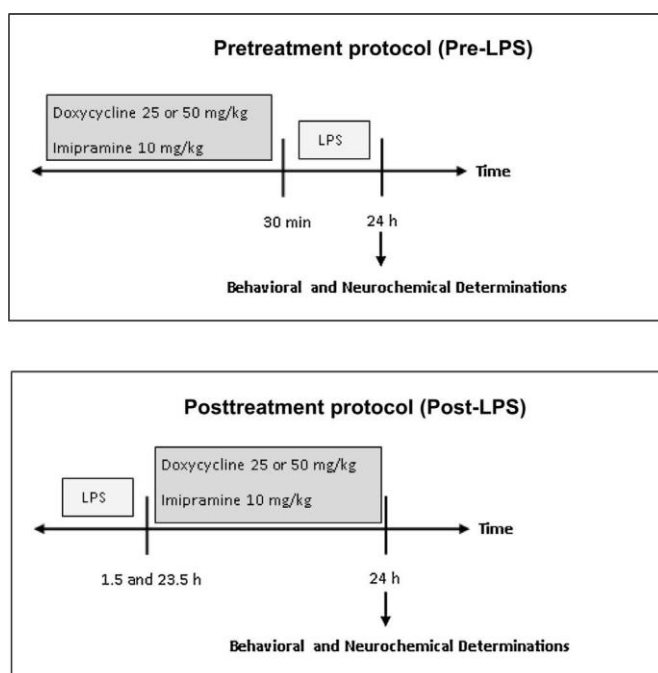


Fig. 1. Schematic overview of the experimental design.

### 2.4. Behavioral determinations

#### 2.4.1. Forced swimming test (FST)

Mice were individually placed into an acrylic cylinder (25 cm height, 10 cm diameter) containing 8 cm of water maintained at  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ . After a 1 min habituation period, the immobility time (sec) of the animals was rated for a further 5-min time. Immobility was defined as the absence of active, escape-oriented behaviors, such as swimming, jumping, rearing, sniffing, or diving (Porsolt et al., 1978). Any mouse appearing to have difficulty keeping its head above water was removed from the cylinder and excluded from analysis. This procedure has been validated in our laboratory by demonstrating that IMI treatment (10 mg/kg, i.p.) significantly decreases immobility time. In this study, two experienced raters who were blind to the treatment group independently assessed mice behaviors.

#### 2.4.2. Open field test (OFT)

The open field arena was made of acrylic (30  $\times$  30  $\times$  15 cm) with transparent walls and a black floor, divided into nine squares of equal areas. The open field was used to evaluate the exploratory activity of the animal during 5 min (Archer, 1973). The observed parameter was the number of squares crossed by the animal.

### 2.5. Neurochemical determinations

#### 2.5.1. Immunoassays for IL1- $\beta$ , TNF- $\alpha$ and BDNF

The brain areas, PFC, HC and ST were homogenized in 8 volumes of PBS buffer with protease (EMD Biosciences) and phosphatase (SigmaAldrich) inhibitors and centrifuged (10,000 rpm, 5 min). Plasma was used without dilution. The concentration of the cytokines in 50 mL samples was determined by immunoenzymatic assay e ELISA (R&D systems, Minneapolis, MN, USA) according to the manufacturer's protocol and expressed in pg/g tissue.

#### 2.5.2. Nitrite assay

This determination was based on the method described by Green et al. (Green et al., 1982). The assay was based on Griess reaction to determine the production of NO. Briefly, 100 ml of the supernatant was incubated with 100 ml of the Griess reagent, which consisted of equal parts (1:1:1:1) of 1% sulfanilamide dissolved in 1%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 0.1% N-(1-naphthyl)-thylenediamine dihydro-chloride and distilled water at room temperature for 10 min. The absorbance was measured at 560 nm in a microplate reader. Nitrite content was determined from a standard nitrite curve generated by using  $\text{NaNO}_2$  (ranging from 0.75 to 100 mM) as standard and was expressed as mM/mg tissue.

#### 2.5.3. Determination of reduced glutathione (GSH) levels

Reduced glutathione levels were evaluated to estimate endogenous defenses against oxidative stress. The method was based on Ellman's reagent (DTNB) reaction with free thiol groups (Ellman, 1959). The brain areas were diluted in EDTA 0.02 M buffer (10% w/v) and added to a 50% trichloroacetic acid solution. After centrifugation (3000 rpm/15 min), the supernatant of the homogenate was collected and mixed with 0.4 M trisHCl buffer, pH 8.9 and 0.01 M 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid (DTNB)). The resultant yellow color was immediately read at 412 nm using a spectrophotometer (Beckman coulter UV/Visible). Results were calculated based on a standard glutathione curve and expressed as ng of GSH/g wet tissue.

#### 2.5.4. Thiobarbituric acid reactive species (TBARS) levels

Lipid peroxides formation was analyzed by measuring the thiobarbituric-acid reacting substances (TBARS) in the



homogenates ( Draper et al., 1993) as an index of ROS production. The samples were mixed with 1 ml of trichloroacetic acid 10% (TCA) and 1 ml of thiobarbituric acid 0.67% (TBA), then heated in a boiling water bath for 15 min and immediately kept cold in a bath of ice. Lipid peroxidation was assessed by the absorbance at 532 nm and expressed as  $\mu\text{mol}$  of malonaldehyde (MDA)/g tissue.

## 2.6. Statistical analyses

All data are presented as mean  $\pm$  S.E.M. (standard errors of the mean) and compared by one-way ANOVA with Student-Newman-Keuls as post hoc test. The significance level was set at  $p < 0.05$ . The statistical program used was GraphPad Prism 5.0 Version for Windows, GraphPad Software (San Diego, CA, USA).

## 3. Results

### 3.1. Effect of pre- and posttreatment with doxycycline on LPS-induced depressive-like behavior

As expected, LPS administration (0.5 mg/kg, i.p.) significantly increased immobility time in the FST when compared to control animals, while DOXY (at both doses) and IMI prevented [F(4,38)  $\frac{1}{4}$  39.56,  $P < 0.001$ ] and reversed [F(4,35)  $\frac{1}{4}$  18.75,  $P < 0.01$ ] LPS-induced immobility ( Fig. 2A and C). Noteworthy, DOXY, similarly to IMI, when administered pre- and post-LPS treatment significantly decreased immobility time when compared to control animals, thereby indicating an antidepressant-like effect. The results showed that 24 h post-LPS administration, the locomotor activity remained unaltered. The same pattern of activity was

observed in animals pre- and posttreated with doxy and post-treated with IMI. Only pre-treatment with IMI increased locomotor activity when compared to control and LPS-treated mice [F(4,38)  $\frac{1}{4}$  8.288,  $P < 0.001$ ] ( Fig. 2B and D).

### 3.2. Pre- and posttreatment with doxycycline restored central alterations in IL-1 $\beta$ levels induced by LPS

Because LPS-induced changes in behavior are dependent on the induction of brain pro-inflammatory cytokines, the levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  were analyzed. LPS administration promoted a significant increase in IL-1 $\beta$  levels when compared to control mice that was prevented ( Fig. 3A) and reversed ( Fig. 3B) by DOXY (25 and 50 mg/kg) and IMI in the ST (Pretreatment: [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  28.65,  $P < 0.001$ ]; Posttreatment: [F(4,37)  $\frac{1}{4}$  32.67,  $P < 0.001$ ]), HC (Pretreatment: [F(4,37)  $\frac{1}{4}$  8.507,  $P < 0.001$ ]; Posttreatment: [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  16.81,  $P < 0.001$ ]) and PFC (Pretreatment: [F(4,37)  $\frac{1}{4}$  22.87,  $P < 0.001$ ]; Posttreatment: [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  25.18,  $P < 0.001$ ]). On the other hand, no significant alterations were observed in TNF- $\alpha$  levels among the experimental groups and brain areas evaluated (data available upon request).

### 3.3. Pre- and posttreatment with doxycycline corrected the changes in nitrite content induced by LPS in mice brain

To assess the involvement of nitric oxide pathway in DOXY effects against LPS-induced depressive-like behavior, nitrite levels (an indirect measure of nitric oxide production) were determined. Systemic LPS administration significantly decreased nitrite levels in the HC and PFC of mice when compared to controls. Doxycycline (25 and

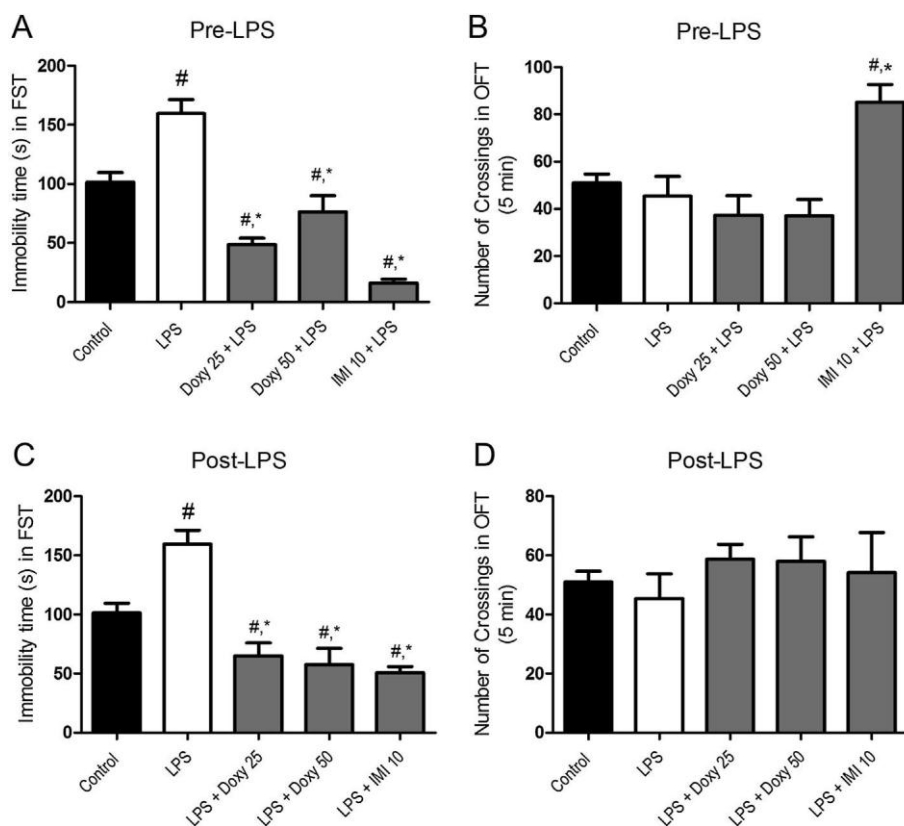


Fig. 2. Immobility time (s) in the forced swimming test (FST) and number of crossings in the open field test (OFT) of animals (6e10/group) pre-treated (A and B) and post-treated (C and D) with DOXY (25 and 50 mg/kg, i.p.) and IMI (10 mg/kg, i.p.), before and after LPS. #,\* $P < 0.05$  vs control and LPS, respectively.

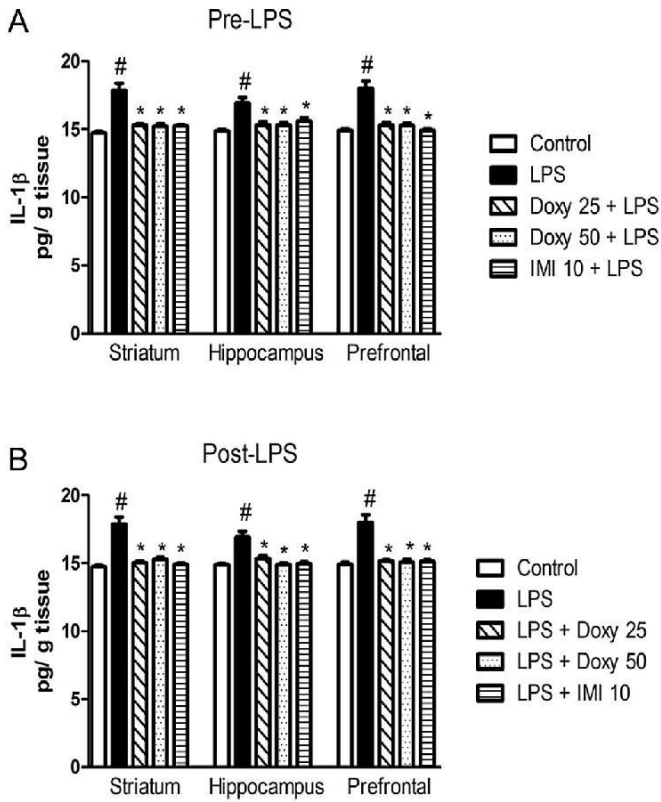


Fig. 3. IL-1 $\beta$  levels in the striatum, hippocampus and prefrontal cortex of animals (6 $\times$ 10/group) pre-treated (A) and post-treated (B) with DOXY (25 and 50 mg/kg, i.p.) and IMI (10 mg/kg, i.p.), before and after LPS. #,\*P < 0.05 vs control and LPS, respectively.

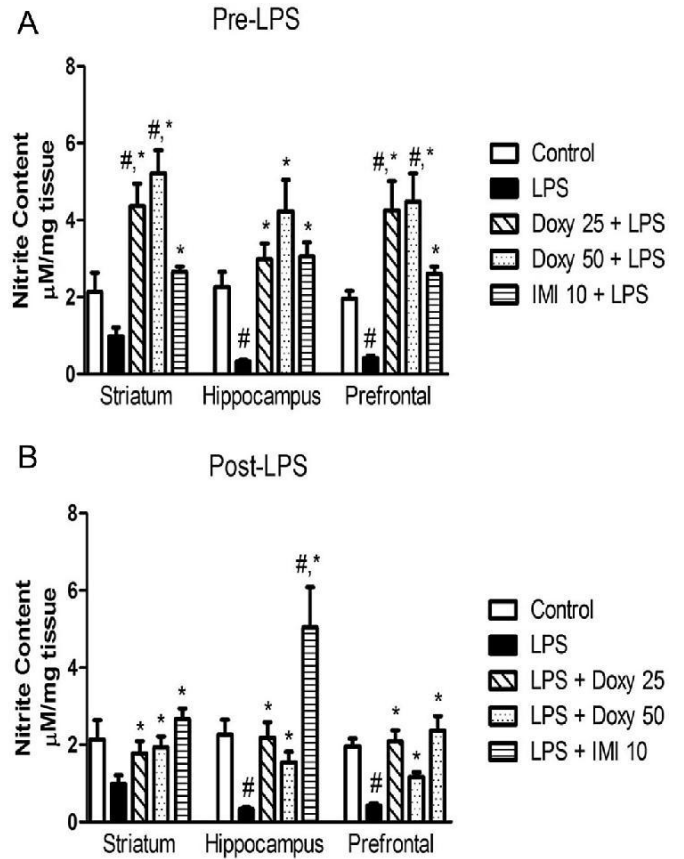


Fig. 4. Determination of nitrite levels in the striatum, hippocampus and prefrontal cortex of animals (6 $\times$ 10/group) pre-treated (A) and post-treated (B) with doxycycline 25 and 50 mg and imipramine 10 mg, before and after LPS.

50 mg/kg), similarly to IMI, prevented and reversed LPS-induced decrease in nitrite content. In the ST, LPS caused a non-significant decrease in nitrite levels. Doxycycline and IMI were able to significantly prevent and reverse this decrease Striatum: Pretreatment  $\theta$  [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  14.38,  $P < 0.01$ ]; Posttreatment: [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  2.84,  $P < 0.05$ ]; Hippocampus: Pretreatment  $\theta$  [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  6.908,  $P < 0.05$ ]; Post-treatment: [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  7.868,  $P < 0.05$ ]; Prefrontal: Pretreatment  $\theta$  [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  13.12,  $P < 0.05$ ]; Posttreatment: [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  9.879,  $P < 0.05$ ] ( Fig. 4A and B).

### 3.4. Doxycycline increased hippocampal BDNF

The pre-administration of both drugs (DOXY and IMI) increased BDNF levels when compared to controls and LPS-treated animals [F(4,36)  $\frac{1}{4}$  9.658,  $P < 0.05$ ]. Conversely, the analyses of BDNF levels 24 h after LPS administration as well as in animals treated with DOXY 50 mg/kg and IMI and submitted to the posttreatment pro-protocol showed no significant alterations when compared to control animals ( Fig. 5).

### 3.5. Effect of pre- and posttreatment with doxycycline on LPS-induced alterations in oxidative stress parameters

Fig. 6A shows that in all brain areas studied 24 h after LPS administration there was a significant decrease in GSH content when compared to control animals. Pretreatment with DOXY and IMI was able to prevent LPS-induced decrease in GSH levels in the ST [F(3,25)  $\frac{1}{4}$  21.78,  $P < 0.001$ ]. Only pretreatment with IMI prevented the alterations in GSH levels in the HC [F(3,22)  $\frac{1}{4}$  19.96,

$P < 0.001$ ]. In the posttreatment protocol ( Fig. 6B), both DOXY and IMI reversed LPS-induced alterations in GSH levels in the ST [F(3,23)  $\frac{1}{4}$  6.46,  $P < 0.01$ ] and HC [F(3,27)  $\frac{1}{4}$  20.23,  $P < 0.0001$ ]. In the PFC, DOXY, but not IMI reversed LPS-induced decreases in GSH content [F(3,24)  $\frac{1}{4}$  10.99,  $P < 0.0001$ ].

Lipid peroxidation, evaluated here by alterations in TBARS levels increased in all brain areas studies and in both protocols

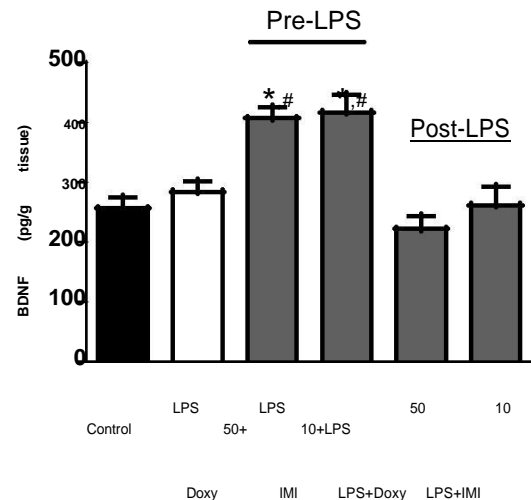


Fig. 5. Determination of BDNF levels in the hippocampus of animals (6 $\times$ 10/group) pre-treated (Doxy  $\beta$  LPS and IMI 10  $\beta$  LPS) and post-treated (LPS  $\beta$  Doxy 50 and LPS  $\beta$  IMI 10) with doxycycline 50 mg/kg and imipramine 10 mg/kg, before and after LPS. #,\*P < 0.05 vs control and LPS, respectively.

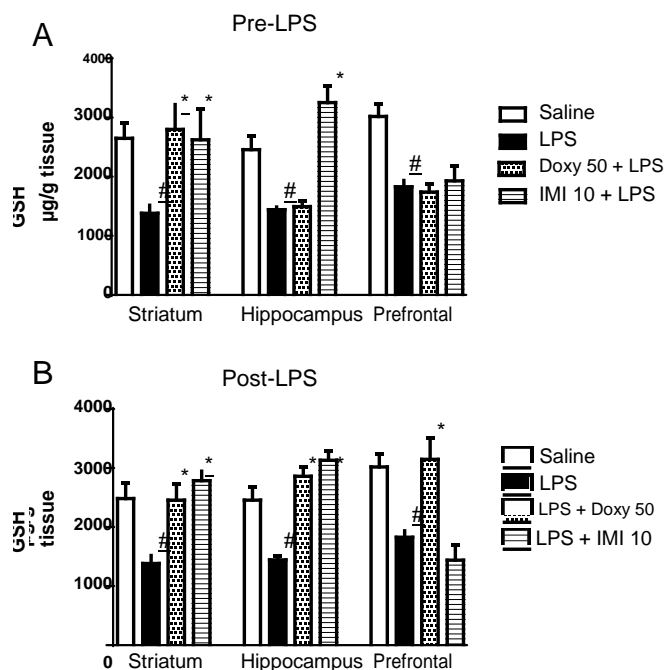


Fig. 6. Reduced glutathione (GSH) content in the striatum, hippocampus and pre-frontal cortex of animals (6/10/group) pre-treated (A) and post-treated (B) with doxycycline 25 and 50 mg/kg and imipramine 10 mg/kg, before and after LPS.  $^{*}P < 0.05$  vs control and LPS, respectively.

(pretreatment and posttreatment) 24 h after LPS administration as compared to control animals. In the pretreatment protocol, both DOXY and IMI prevented LPS-induced increases in TBARS content in all three areas studied, (ST: [F(3,30)  $\% 13.24$ ,  $P < 0.001$ ]; HC: [F(3,23)  $\% 7.012$ ,  $P < 0.01$ ]; PFC: [F(3,30)  $\% 7.87$ ,  $P < 0.05$ ]) (Fig. 7A).

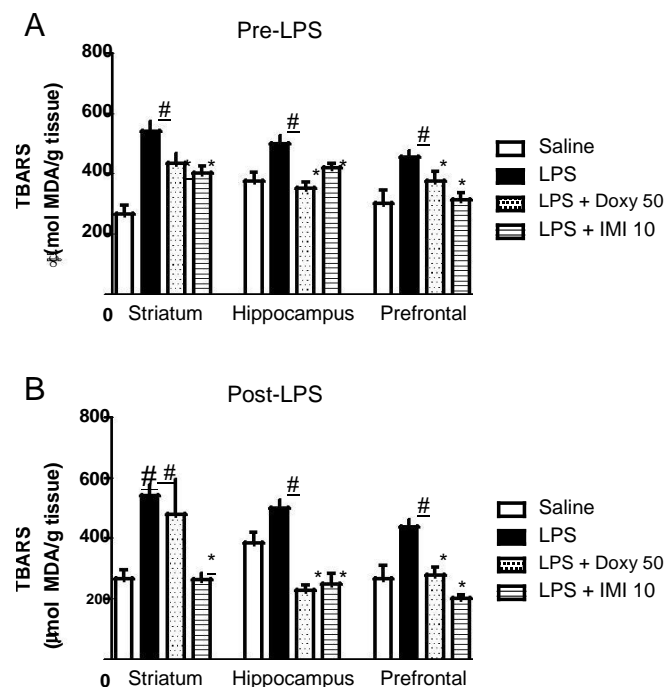


Fig. 7. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels in the striatum, hippocampus and prefrontal cortex of animals (6/10/group) pre-treated (A) and post-treated (B) with doxycycline 25 and 50 mg/kg and imipramine 10 mg/kg, before and after LPS.  $^{*}P < 0.05$  vs control and LPS, respectively.

In the posttreatment protocol, DOXY and IMI were able to reverse the alterations in TBARS levels in the HC and PFC, while only IMI reverted LPS-induced increase in lipid peroxidation in the striatum (ST: [F(3,29)  $\% 5.18$ ,  $P < 0.01$ ]; HC: [F(3,24)  $\% 18.55$ ,  $P < 0.001$ ]; PFC: [F(3,28)  $\% 7.37$ ,  $P < 0.001$ ]).

#### 4. Discussion

The present study is the first to demonstrate that the second-generation tetracycline, DOXY, similarly to IMI, was able to pre-vent and reverse LPS-induced behavioral alterations, acknowledged as a putative animal model of depressive-like behavior (Dantzer et al., 2008). This antidepressant-like effect was accompanied by the restoration of LPS-induced alterations in brain inflammatory mediators (i.e., IL-1b) and nitrite content as well as by a restoration of oxidative stress parameters.

In addition to their antimicrobial activity, tetracyclines can exert a variety of biological actions, including anti-inflammatory and anti-apoptotic activities, as well as inhibition of proteolysis, angiogenesis, and tumor metastasis (Garrido-Mesa et al., 2013). These multimodal biological effects provided a rationale for the study of their neuroprotective actions (Domercq and Matute, 2004; Jiang et al., 2012). In previous studies, most efforts had been devoted to minocycline (Garrido-Mesa et al., 2013). This drug has recently been found to have multiple non-microbial effects that are beneficial in

experimental models of various diseases with an inflammatory basis, such as, periodontitis, atherosclerosis, autoimmune disorders (for example, rheumatoid arthritis) and inflammatory bowel disease (Garrido-Mesa et al., 2013). Preclinical evidences broadly support a putative antidepressant-like effect for minocycline (Soczynska et al., 2012).

Doxycycline, in the same way that minocycline, also presents anti-inflammatory (Yi et al., 2011) and immunomodulatory (Anlar et al., 2007) activities. Indeed, depression is accompanied by activation of immunoinflammatory pathways consisting of chronic mild inflammation and activation of cell-mediated immunity (Th1-like response), O&NS, secondary autoimmune reactions and neuroprogression (Maes et al., 1993; Seidel et al., 1995; Sluzewska et al., 1996; Maes et al., 2009, 2011a; Leonard and Maes, 2012; Moylan et al., 2013). Following this line of reasoning, evidences shows that antidepressants (for example, selective serotonin reuptake inhibitors [SSRIs]) block the effects of inflammatory cytokines on the brain of MDD patients (Hannestad et al., 2011). Furthermore, the lack of clinical therapeutic benefit of these drugs was recently associated with overall activation of the inflammatory system, for example, the levels of IL-6 were increased in the serum of MDD patients with a moderate degree of treatment-resistance (Carvalho et al., 2013). In addition, a non-steroidal anti-inflammatory drug, celecoxib when associated with SSRIs such as sertraline was able to augment the effect of this antidepressant in MDD (Abbasi et al., 2012).

At the same time that antibiotics are presenting antidepressant actions (Mineur et al., 2007), SSRIs have been presenting interesting effects as 'non-antibiotics' against Gram-positive and Gram-negative bacteria (Kristiansen et al., 1986; Munoz-Bellido et al., 2000) in addition to present in vitro antifungal properties (Lass-Florl et al., 2001). Among the SSRIs, sertraline was found to potentiate the activity of fluoroquinolones, presumably via inhibition of efflux pumps (Munoz-Bellido et al., 2000). Accordingly, this issue of drugs presenting at the same time antimicrobial, anti-inflammatory and antidepressant activities needs to be better studied.

In our experiments, the antidepressant-like effects of DOXY and IMI were accompanied by decreases in IL-1b levels in brain areas related to mood regulation (Drevets et al., 2008). Consistently, IL-1b

seems to be a key mediator of microglial activation induced by repeated stress. For example, genetic deletion of IL-1 $\beta$  abolishes microglial activation induced by social defeat stress (Wohleb et al., 2011). Furthermore, IL-1 $\beta$  impairs the differentiation of hippo-campal neural progenitor cells into serotonergic neurons (Zhang et al., 2013). Accordingly, a recent review has found evidence that IL-1 receptor antagonists may have promise as novel antidepressants (Maes et al., 2012b).

Accumulated evidences point to an upregulation of IDO (indo-leanine 2,3-dioxygenase) by proinflammatory cytokines mainly 24 h following systemic administration of LPS (Dantzer et al., 2008; Sublette and Postolache, 2012), which is concordant with the time-course when depressive-like behavior ensues. Importantly, IDO is the initial and rate limiting extrahepatic enzyme of the kynurenine pathway, which metabolizes tryptophan to N-formylkynurenine and generates neurochemically active kynurenine metabolites. Several intermediate kynurenine metabolites of this pathway also generate free radicals which oxidative damage along with a decrease in BDNF levels (Maes et al., 2011b). The administration of LPS, in turn, potentially upregulates IDO expression (Wang et al., 2010; Sublette and Postolache, 2012). In our experimental conditions, 24 h following LPS administration, we did not observe decreases in hippocampal BDNF levels, although pretreatment with both imipramine and doxycycline increased this parameter compared to control and LPS-treated animals.

In our study, pre- and posttreatment with DOXY and IMI restored LPS-induced decreases in nitrite content, an indirect measure of NO. Accordingly, a previous report indicates that the non-selective NO synthase inhibitor NG-nitro-L-arginine (L-NAME) increased LPS-induced sickness behavior in rats, thereby suggesting that endogenous NO does not act as a mediator of LPS-induced sickness behavior, but may rather have a protective role (Ribeiro et al., 2013). One possible explanation for the decreased nitrite levels observed in our results is the possible role of endogenous NO in restraining the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during periods of increased cytokine and/or neuropeptide secretion, such as during immune stimulation (Uribe et al., 1999; Jankord et al., 2009). Of note, a recent study showed that patients with mood disorders exhibit decreased levels of nitrite/nitrate in the cerebrospinal fluid indicating a more general decrease of NO production in this disorder (Gao et al., 2012). In addition, it was previously demonstrated that both an excess and shortage of NO may result in depressive-like behaviors and these effects are mediated by cAMP response element binding protein (CREB) activation (Hu et al., 2012).

It is important to mention that in our results 24 h after LPS administration no alterations in spontaneous locomotor activity were observed except an increase in this parameter in the animals pretreated with DOXY. This finding is in agreement with previous reports (O'Connor et al., 2009; Ohgi et al., 2013) which states that locomotor activity is decreased in mice up to 6 h after LPS administration normalizing 24 h post-LPS. The decrease in locomotor activity is interpreted as sickness behavior that is distinct from the depressive-like behavior that occurs 24 h after LPS (Frenois et al., 2007). Thus in our study we can acknowledge that the animals were showing a depressive-like behavior, not sickness behavior.

Systemic LPS treatment promotes microglia activation with a resultant increase in the production of ROS in brain tissues (Chung et al., 2010; Spulber et al., 2012). Accordingly, we found that LPS treatment promoted a decrease in GSH along with an increase in lipid peroxidation in brain areas related to mood regulation. Importantly, both DOXY and IMI to a large extent prevented and reversed these alterations. These results are in accordance to previously described antioxidant effects of DOXY (Nogueira et al., 2011). It has been suggested that antioxidant mechanisms play a role in

antidepressant drug action (Lee et al., 2012). We can speculate that the observed antidepressant effect of DOXY may partly result from the previously demonstrated microglia stabilization properties of this drug (Cho et al., 2009) with a corresponding decrease in IL-1 $\beta$  production, which in turn may prevent and reverse IDO activation, and thereby increase 5-HT neurotransmission. Interestingly, standard antidepressants also stabilize microglia cells following LPS stimulation (Tynan et al., 2012). These observations may explain why DOXY and IMI had similar behavioral and neurochemical effects in our experimental conditions, providing support that microglia activation may be the pivotal pathophysiological event underlying LPS-induced depressive-like effects.

A major limitation is the validity (eg, pathological) of animal models of depression. However, the recent observation that a bolus LPS injection (0.4 ng/ml) to human subjects induced a pronounced transient increase in the plasma levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-10 and cortisol, followed by a decrease in positive mood and an increase in state anxiety may provide support for the LPS-induced depressive-like behavior (Grigoleit et al., 2011; Dunjic-Kostic et al., 2012). These and other series of observations including recent evidence that antidepressant treatment for mood disorders may facilitate recovery of a compromised immune response to varicella-zoster vaccination underscores the salience of the immune-inflammatory system in the pathophysiology and treatment of mood disorders (Irwin et al., 2011).

In conclusion, our results indicate that doxycycline, similarly to imipramine, has antidepressant effects in the LPS-induced animal model of depression. Our findings need to be replicated in other animal models of depression. Since DOXY is a widely used and inexpensive antibiotic with a favorable safety profile, our data provide a rationale for the design of clinical trials for MDD, which may repurpose the therapeutic use of DOXY either as a sole anti-depressant or as an add-on (i.e., augmentation) treatment.

#### Role of funding source

This work was partially supported by CNPq and CAPES.

#### Contributors

Authors BSFM, ASM and CSC designed the study and performed the experiments. Authors DSM and AFC designed the study, analyzed the data and wrote the paper. Authors RCC and JHC performed the experiments. Authors SMMV, HVNJ and FCFS designed the study and wrote the paper. Authors RSM, JKS and TNH wrote the paper. All authors have contributed to and approved the final manuscript.

#### Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest for the present investigation.

#### Acknowledgment

The authors thank Ms. Maria Vilani for technical support.

#### References

- Abbasi SH, Hosseini F, Modabbernia A, Ashrafi M, Akhondzadeh S. Effect of celecoxib add-on treatment on symptoms and serum IL-6 concentrations in patients with major depressive disorder: randomized double-blind placebo-controlled study. *Journal of Affective Disorders* 2012;141:308e 14.
- Anlar B, Senbil N, Guven A. Doxycycline in autoimmune central nervous system disorders in children: an in vitro study. *Turkish Journal of Pediatrics* 2007;49: 274e 7.

- Archer J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behaviour* 1973;21:205e35.
- Berrococo E, Ikeda K, Sora I, Uhl GR, Sanchez-Blazquez P, Mico JA. Active behaviours produced by antidepressants and opioids in the mouse tail suspension test. *The International Journal of Neuropsychopharmacology/Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum* 2013;16:151e62.
- Bossu P, Cutuli D, Palladino I, Caporali P, Angelucci F, Laricchiuta D, et al. A single intraperitoneal injection of endotoxin in rats induces long-lasting modifications in behavior and brain protein levels of TNF-alpha and IL-18. *Journal of Neuro-inflammation* 2012;9:101.
- Carvalho AF, Machado JR, Cavalcante JL. Augmentation strategies for treatment-resistant depression. *Current Opinion in Psychiatry* 2009;22:7e12.
- Carvalho LA, Torre JP, Papadopoulos AS, Poon L, Juruena MF, Markopoulou K, et al. Lack of clinical therapeutic benefit of antidepressants is associated overall activation of the inflammatory system. *Journal of Affective Disorders* 2013;148: 136e40.
- Cho Y, Son HJ, Kim EM, Choi JH, Kim ST, Ji JJ, et al. Doxycycline is neuroprotective against nigral dopaminergic degeneration by a dual mechanism involving MMP-3. *Neurotoxicity Research* 2009;16:361e71.
- Chung ES, Chung YC, Bok E, Baik HH, Park ES, Park JY, et al. Fluoxetine prevents LPS-induced degeneration of nigral dopaminergic neurons by inhibiting microglia-mediated oxidative stress. *Brain Research* 2010;1363:143e50.
- Cunha BA, Comer JB, Jonas M. The tetracyclines. *Medical Clinics of North America* 1982;66:293e302.
- Custodio CS, Mello BS, Cordeiro RC, de Araujo FY, Chaves JH, Vasconcelos SM, et al. Time course of the effects of lipopolysaccharide on prepulse inhibition and brain nitrite content in mice. *European Journal of Pharmacology* 2013;9: 00346e00344.
- Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience* 2008;9:46e56.
- Dhir A, Kulkarni SK. Nitric oxide and major depression. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry/Official Journal of the Nitric Oxide Society* 2011;24:125e31.
- Domercq M, Matute C. Neuroprotection by tetracyclines. *Trends in Pharmacological Sciences* 2004;25:609e12.
- Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biological Psychiatry* 2010;67: 446e57.
- Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radical Biology & Medicine* 1993;15:353e63.
- Drevets WC, Price JL, Furey ML. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain Structure and Function* 2008;213:93e118.
- Dunjic-Kostic B, Ivkovic M, Radonjic NV, Petronijevic ND, Pantovic M, Damjanovic A, et al. Melancholic and atypical major depression e connection between cytokines, psychopathology and treatment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2012;28:1e6.
- Dunn AJ, Swiergiel AH, Beaupaire Rd. Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2005;29:891e909.
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1959;82:70e7.
- Feng Y, You Z, Yan S, He G, Chen Y, Gou X, et al. Antidepressant-like effects of salviaolic acid B in the mouse forced swim and tail suspension tests. *Life Sciences* 2012;90:1010e4.
- Frenois F, Moreau M, O'Connor J, Lawson M, Micon C, Lestage J, et al. Lipopolysaccharide induces delayed FosB/DeltaFosB immunostaining within the mouse extended amygdala, hippocampus and hypothalamus, that parallels the expression of depressive-like behavior. *Psychoneuroendocrinology* 2007;32:516e31.
- Gao SF, Qi XR, Zhao J, Balesar R, Bao AM, Swaab DF. Decreased NOS1 expression in the anterior cingulate cortex in depression. *Cerebral Cortex* 2012;17:17.
- Garate I, Garcia-Bueno B, Madrigal JL, Caso JR, Alou L, Gomez-Lus ML, et al. Stress-induced neuroinflammation: role of the toll-like receptor-4 pathway. *Biological Psychiatry* 2013;73:32e43.
- Garrido-Mesa N, Zarzuelo A, Galvez J. Minocycline: far beyond an antibiotic. *British Journal of Pharmacology* 2013;26:12139.
- Gawryluk JW, Wang JF, Andrezza AC, Shao L, Young LT. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. *The International Journal of Neuro-psychopharmacology/Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum* 2011;14:123e30.
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry* 1982;126:131e8.
- Grigoleit JS, Kullmann JS, Wolf OT, Hammes F, Wegner A, Jablonowski S, et al. Dose-dependent effects of endotoxin on neurobehavioral functions in humans. *PLoS One* 2011;6:2.
- Hannestad J, DellaGioia N, Bloch M. The effect of antidepressant medication treatment on serum levels of inflammatory cytokines: a meta-analysis. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 2011;36:2452e9.
- Hu Y, Wu DL, Luo CX, Zhu LJ, Zhang J, Wu HY, et al. Hippocampal nitric oxide contributes to sex difference in affective behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2012;109:14224e9.
- Huang Y, Henry CJ, Dantzer R, Johnson RW, Godbout JP. Exaggerated sickness behavior and brain proinflammatory cytokine expression in aged mice in response to intracerebroventricular lipopolysaccharide. *Neurobiology of Aging* 2008;29:1744e53.
- Irwin MR, Levin MJ, Carrillo C, Olmstead R, Lucko A, Lang N, et al. Major depressive disorder and immunity to varicella-zoster virus in the elderly. *Brain Behavior and Immunity* 2011;25:759e66.
- Jankord R, McAllister RM, Ganjam VK, Laughlin MH. Chronic inhibition of nitric oxide synthase augments the ACTH response to exercise. *American Journal of Physiology e Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 2009;296: R728e34.
- Jiang Y, Zhu J, Wu L, Xu G, Dai J, Liu X. Tetracycline inhibits local inflammation induced by cerebral ischemia via modulating autophagy. *PLoS One* 2012;7:7.
- Kessler RC. The costs of depression. *The Psychiatric Clinics of North America* 2012;35:1e14.
- Kristiansen JE, Mortensen I, Gaarslev K. The antibiotic effect of the anti-depressive drug femoxetine and its stereo-isomeric analogs on diarrhoea producing enterobacteriaceae. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scan-dinavica. Section B, Microbiology* 1986;94:103e6.
- Kubera M, Curzytek K, Duda W, Leskiewicz M, Basta-Kaim A, Budziszewska B, et al. A new animal model of (chronic) depression induced by repeated and inter-mittent lipopolysaccharide administration for 4months. *Brain Behavior and Immunity* 2013;31:96e104.
- Lam RW, Kennedy SH, Grigoriadis S, McIntyre RS, Milev R, Ramasubbu R, et al., Canadian Network for M, Anxiety T. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) clinical guidelines for the management of major depressive disorder in adults. III. Pharmacotherapy. *Journal of Affective Disorders* 2009;117(Suppl. 1):S26e43.
- Lass-Florl C, Dierich MP, Fuchs D, Semenitz E, Jenewein I, Ledochowski M. Anti-fungal properties of selective serotonin reuptake inhibitors against *Aspergillus* species in vitro. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001;48:775e9.
- Lee SY, Lee SJ, Han C, Patkar AA, Masand PS, Pae CU. Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: targets for novel antidepressants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2012. (Epub ahead of print).
- Leonard B, Maes M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2012;36:764e85.
- Li X, Frye MA, Shelton RC. Review of pharmacological treatment in mood disorders and future directions for drug development. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 2012;37: 77e101.
- Machado-Vieira R, Salvatore G, Diazgranados N, Zarate Jr CA. Ketamine and the next generation of antidepressants with a rapid onset of action. *Pharmacology & Therapeutics* 2009;123:143e50.
- Maes M. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 1995;19:11e38.
- Maes M. The cytokine hypothesis of depression: inflammation, oxidative & nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. *Neuro Endocrinology Letters* 2008;29:287e91.
- Maes M, Galecki P, Chang YS, Berk M. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2011a;35:676e92.
- Maes M, Kubera M, Leunis JC. The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuro Endocrinology Letters* 2008;29:117e24.
- Maes M, Kubera M, Leunis JC, Berk M. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. *Journal of Affective Disorders* 2012a;141:55e62.
- Maes M, Leonard BE, Myint AM, Kubera M, Verkerk R. The new '5-HT' hypothesis of depression: cell-mediated immune activation induces indoleamine 2,3-dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites (TRYCATs), both of which contribute to the onset of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2011b;35:702e21.
- Maes M, Mihaylova I, Kubera M, Uytendaele M, Vrydags N, Bosmans E. Increased plasma peroxides and serum oxidized low density lipoprotein antibodies in major depression: markers that further explain the higher incidence of neurodegeneration and coronary artery disease. *Journal of Affective Disorders* 2010;125:287e94.
- Maes M, Song C, Yirmiya R. Targeting IL-1 in depression. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 2012b;16:1097e112.
- Maes M, Stevens WJ, Declercq LS, Bridts CH, Peeters D, Schotte C, et al. Significantly increased expression of T-cell activation markers (interleukin-2 and HLA-DR) in depression: further evidence for an inflammatory process during that illness. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 1993;17:241e55.
- Maes M, Yirmiya R, Norberg J, Brene S, Hibbeln J, Perini G, et al. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metabolic Brain Disease* 2009;24: 27e53.

- Mendlewicz J, Kriwin P, Oswald P, Souery D, Alboni S, Brunello N. Shortened onset of action of antidepressants in major depression using acetylsalicylic acid augmentation: a pilot open-label study. *International Clinical Psychopharmacology* 2006;21:227e 31.
- Messay B, Lim A, Marsland AL. Current understanding of the bi-directional relationship of major depression with inflammation. *Biology of Mood & Anxiety Disorders* 2012;2:2045e 5380.
- Mineur YS, Picciotto MR, Sanacora G. Antidepressant-like effects of ceftriaxone in male C57BL/6J mice. *Biological Psychiatry* 2007;61:250e 2.
- Moylan S, Maes M, Wray NR, Berk M. The neuroprogressive nature of major depressive disorder: pathways to disease evolution and resistance, and therapeutic implications. *Molecular Psychiatry* 2013;18:595e 606.
- Muller N, Schwarz MJ, Dehning S, Douhe A, Ceroveckí A, Goldstein-Muller B, et al. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib has therapeutic effects in major depression: results of a double-blind, randomized, placebo controlled, add-on pilot study to reboxetine. *Molecular Psychiatry* 2006;11:680e 4.
- Munoz-Bellido JL, Munoz-Criado S, Garcia-Rodriguez JA. Antimicrobial activity of psychotropic drugs: selective serotonin reuptake inhibitors. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2000;14:177e 80.
- Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: global burden of disease study. *Lancet* 1997;349:1498e 504.
- NIH. Guide for the care and use of laboratory animals. National Research Council. Washington, D.C.: The National Academies Press; 2011.
- Nogueira CR, Damasceno FM, de Aquino-Neto MR, de Andrade GM, Fontenele JB, de Medeiros TA, et al. Doxycycline protects against pilocarpine-induced convulsions in rats, through its antioxidant effect and modulation of brain amino acids. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2011;98:525e 32.
- O'Connor JC, Lawson MA, Andre C, Moreau M, Lestage J, Castanon N, et al. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Molecular Psychiatry* 2009;14:511e 22.
- Ohgi Y, Futamura T, Kikuchi T, Hashimoto K. Effects of antidepressants on alterations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2013;103:853e 9.
- Ota KT, Duman RS. Environmental and pharmacological modulations of cellular plasticity: role in the pathophysiology and treatment of depression. *Neurobiology of Disease* 2012. (Epub ahead of print).
- Pae CU, Marks DM, Han C, Patkar AA. Does minocycline have antidepressant effect? *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2008;62:308e 11.
- Painsipp E, Kofer MJ, Sinner F, Holzer P. Prolonged depression-like behavior caused by immune challenge: influence of mouse strain and social environment. *PLoS One* 2011;6:6.
- Park SE, Lawson M, Dantzer R, Kelley KW, McCusker RH. Insulin-like growth factor-I peptides act centrally to decrease depression-like behavior of mice treated intraperitoneally with lipopolysaccharide. *Journal of Neuroinflammation* 2011;8:179.
- Perez-Trallero E, Iglesias L. Tetracyclines, sulfonamides and metronidazole. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 2003;21:520e 8.
- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. "Behavioural despair" in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *European Journal of Pharmacology* 1978;51:291e 4.
- Ribeiro DE, Maiolini VM, Soncini R, Antunes-Rodrigues J, Elias LL, Vilela FC, et al. Inhibition of nitric oxide synthase accentuates endotoxin-induced sickness behavior in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2013;103:535e 40.
- Rizvi SJ, Kennedy SH. The keys to improving depression outcomes. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology* 2011;21(Suppl. 4):S694e 702.
- Schmidt HD, Duman RS. The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. *Behavioural Pharmacology* 2007;18:391e 418.
- Seidel A, Arolt V, Hunstiger M, Rink L, Behnisch A, Kirchner H. Cytokine production and serum proteins in depression. *Scandinavian Journal of Immunology* 1995;41:534e 8.
- Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biological Psychiatry* 2008;64:527e 32.
- Sluzewska A, Rybakowski J, Bosmans E, Sobieska M, Berghmans R, Maes M, et al. Indicators of immune activation in major depression. *Psychiatry Research* 1996;64:161e 7.
- Smith K, Leyden JJ. Safety of doxycycline and minocycline: a systematic review. *Clinical Therapeutics* 2005;27:1329e 42.
- Soczynska JK, Mansur RB, Brietzke E, Swardfager W, Kennedy SH, Woldeyohannes HO, et al. Novel therapeutic targets in depression: minocycline as a candidate treatment. *Behavioural Brain Research* 2012;235:302e 17.
- Spulber S, Edoff K, Hong L, Morisawa S, Shirahata S, Ceccatelli S. Molecular hydrogen reduces LPS-induced neuroinflammation and promotes recovery from sickness behaviour in mice. *PLoS One* 2012;7:e42078.
- Sublette ME, Postolache TT. Neuroinflammation and depression: the role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) as a Molecular pathway. *Psychosomatic Medicine* 2012;74:668e 72.
- Suzuki E, Yagi G, Nakaki T, Kanba S, Asai M. Elevated plasma nitrate levels in depressive states. *Journal of Affective Disorders* 2001;63:221e 4.
- Tynan RJ, Weidenhofer J, Hinwood M, Cairns MJ, Day TA, Walker FR. A comparative examination of the anti-inflammatory effects of SSRI and SNRI antidepressants on LPS stimulated microglia. *Brain Behavior and Immunity* 2012;26:469e 79.
- Tyring S, Gottlieb A, Papp K, Gordon K, Leonardi C, Wang A, et al. Etanercept and clinical outcomes, fatigue, and depression in psoriasis: double-blind placebo-controlled randomised phase III trial. *Lancet* 2006;367:29e 35.
- Uher R, Mors O, Rietschel M, Rajewska-Rager A, Petrovic A, Zobel A, et al. Early and delayed onset of response to antidepressants in individual trajectories of change during treatment of major depression: a secondary analysis of data from the genome-based therapeutic drugs for depression (GENDEP) study. *The Journal of Clinical Psychiatry* 2011;72:1478e 84.
- Uribe RM, Lee S, Rivier C. Endotoxin stimulates nitric oxide production in the paraventricular nucleus of the hypothalamus through nitric oxide synthase I: correlation with hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. *Endocrinology* 1999;140:5971e 81.
- Wang Y, Lawson MA, Dantzer R, Kelley KW. LPS-induced indoleamine 2,3-dioxygenase is regulated in an interferon-gamma-independent manner by a JNK signaling pathway in primary murine microglia. *Brain Behavior and Immunity* 2010;24:201e 9.
- Wohleb ES, Hanke ML, Corona AW, Powell ND, Stiner LM, Bailey MT, et al. beta-Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 2011;31: 6277e 88.
- Yi C, Zhang Z, Wang W, Zug C, Schluessener HJ. Doxycycline attenuates peripheral inflammation in rat experimental autoimmune neuritis. *Neurochemical Research* 2011;36:1984e 90.
- Yim CW, Flynn NM, Fitzgerald FT. Penetration of oral doxycycline into the cerebrospinal fluid of patients with latent or neurosyphilis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1985;28:347e 8.
- Yrjanheikki J, Keinanen R, Pellikka M, Hokfelt T, Koistinaho J. Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998;95:15769e 74.
- Yu H, Chen ZY. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. *Acta Pharmacologica Sinica* 2011;32:3e 11.
- Zhang K, Xu H, Cao L, Li K, Huang Q. Interleukin-1beta inhibits the differentiation of hippocampal neural precursor cells into serotonergic neurons. *Brain Research* 2013;1490:193e 201.
- Zhang Y, Gu F, Chen J, Dong W. Chronic antidepressant administration alleviates frontal and hippocampal BDNF deficits in CUMS rat. *Brain Research* 2010;1366: 141e 8.

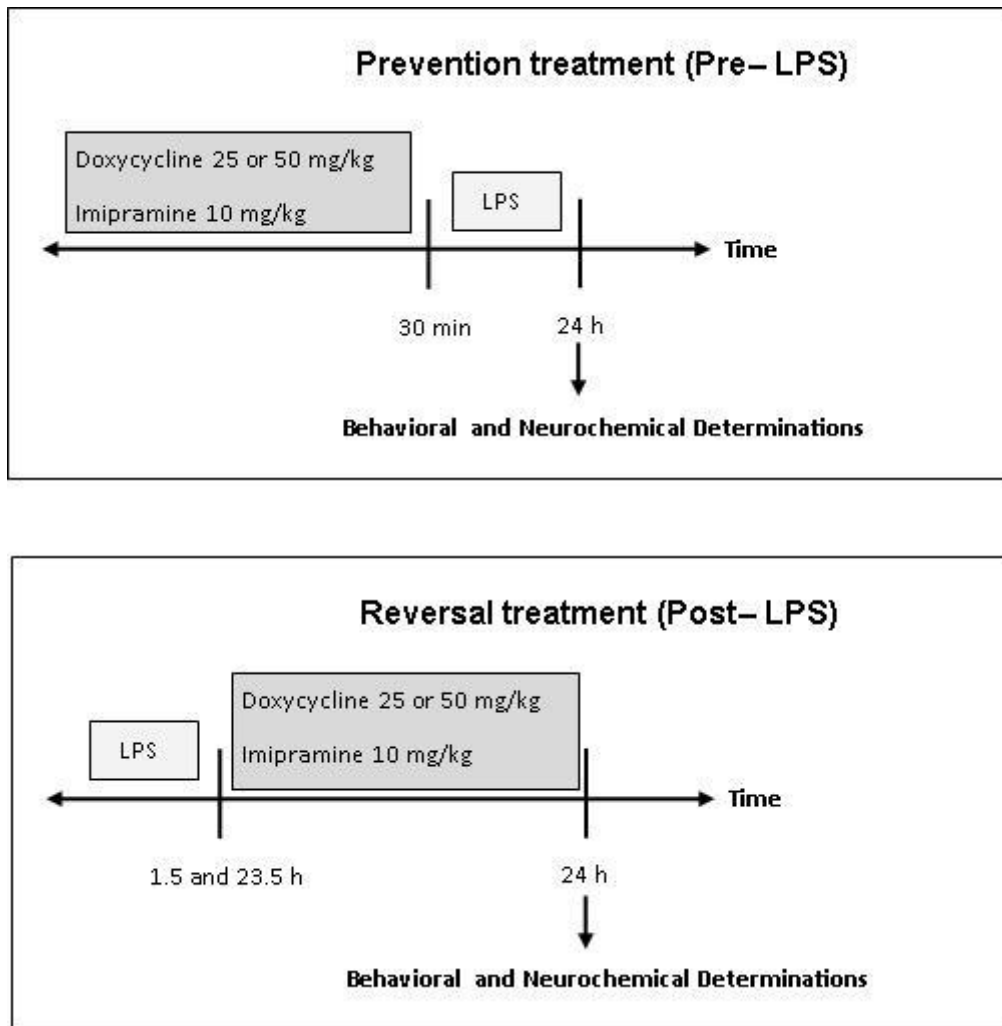


Figure 1 –

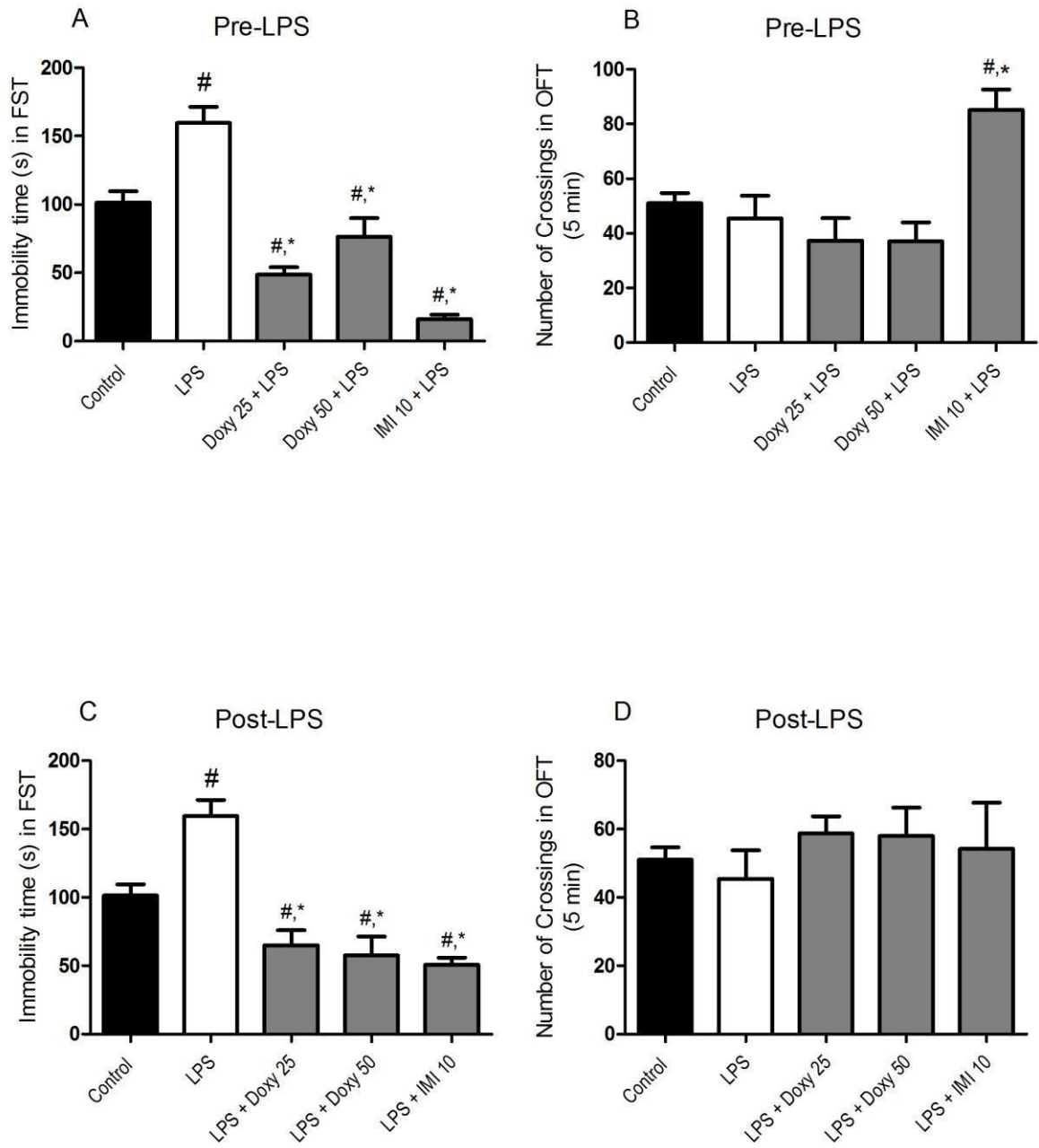


Figure 2 –



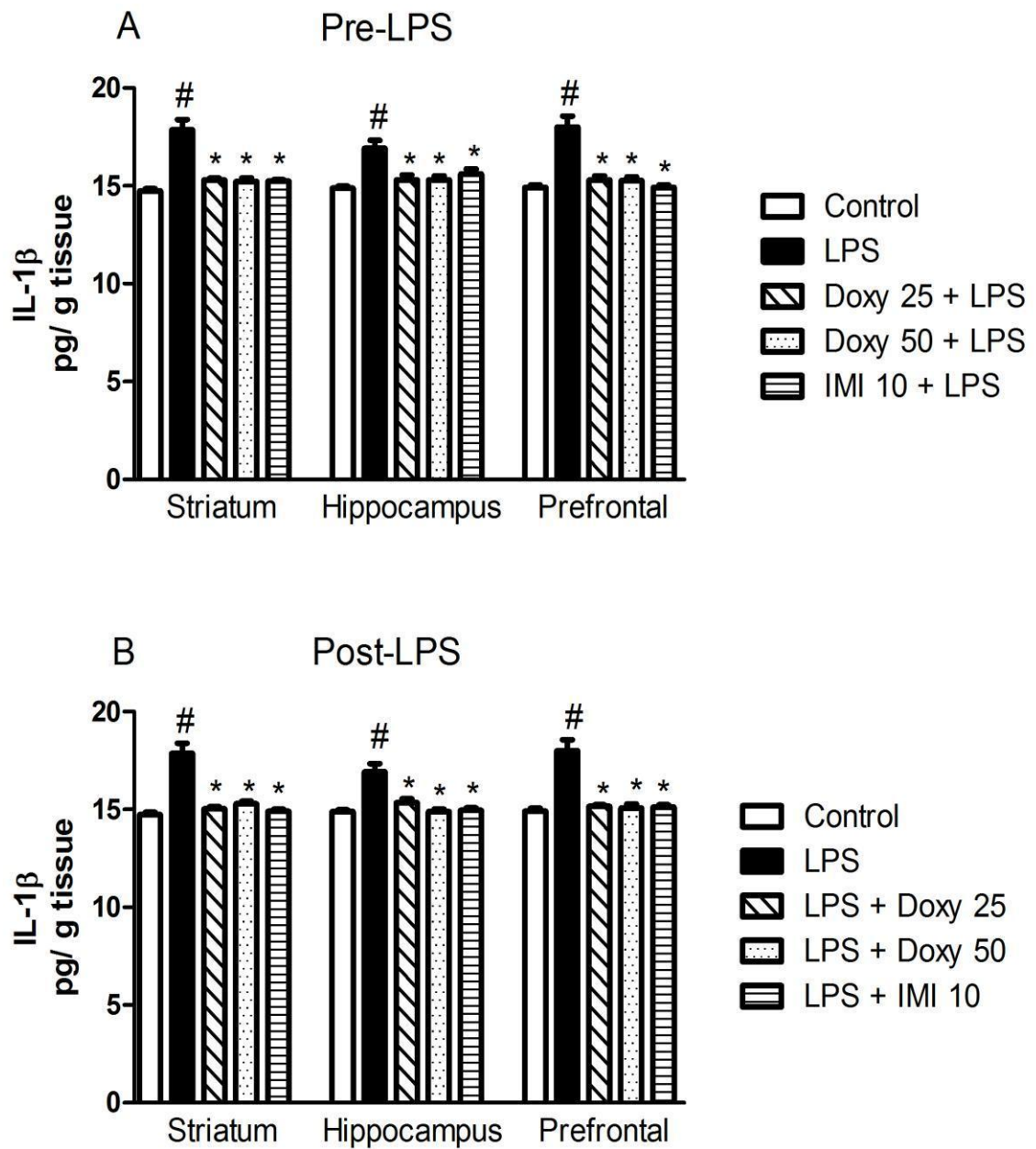


Figure 3 -

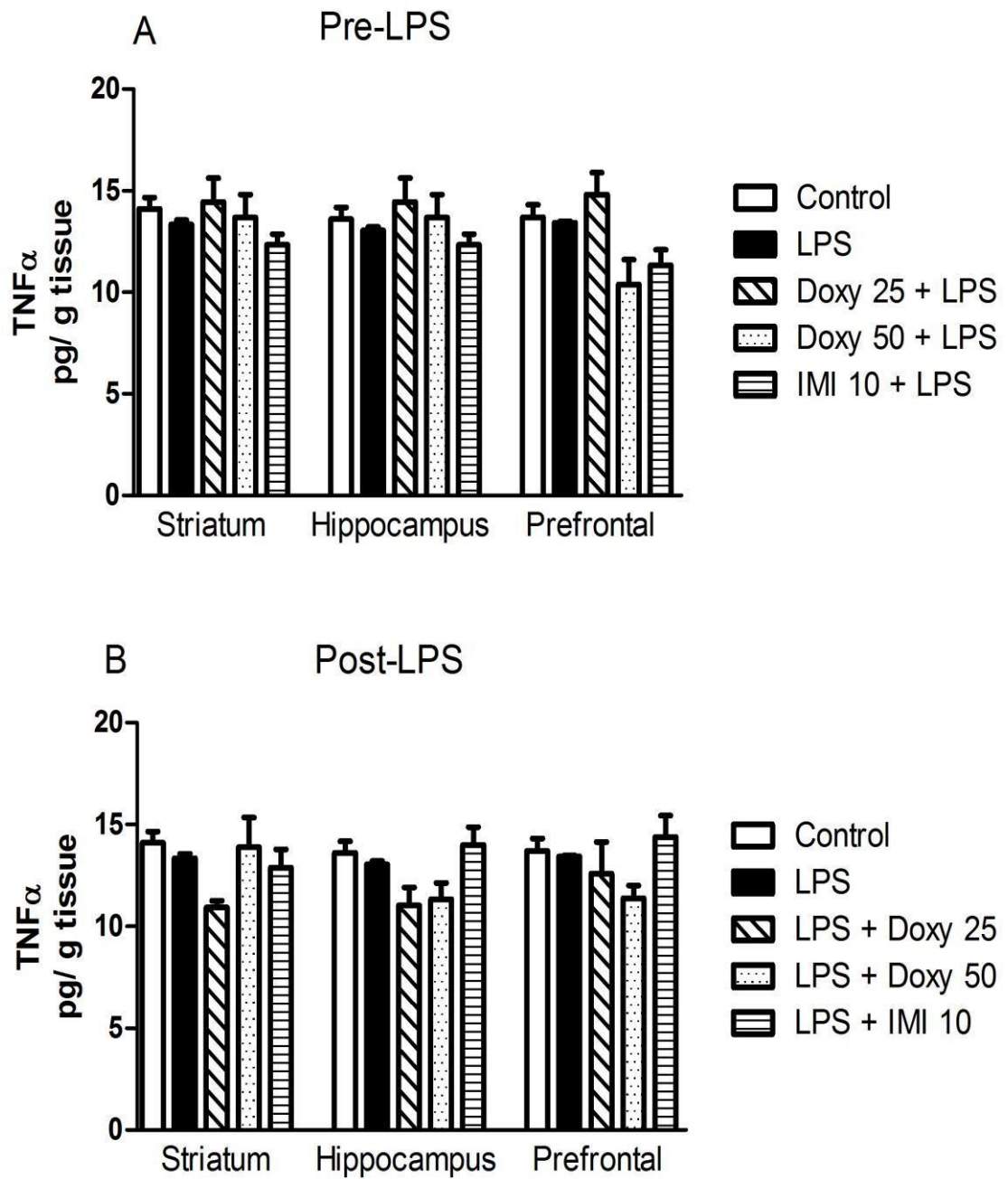


Figure 4 –

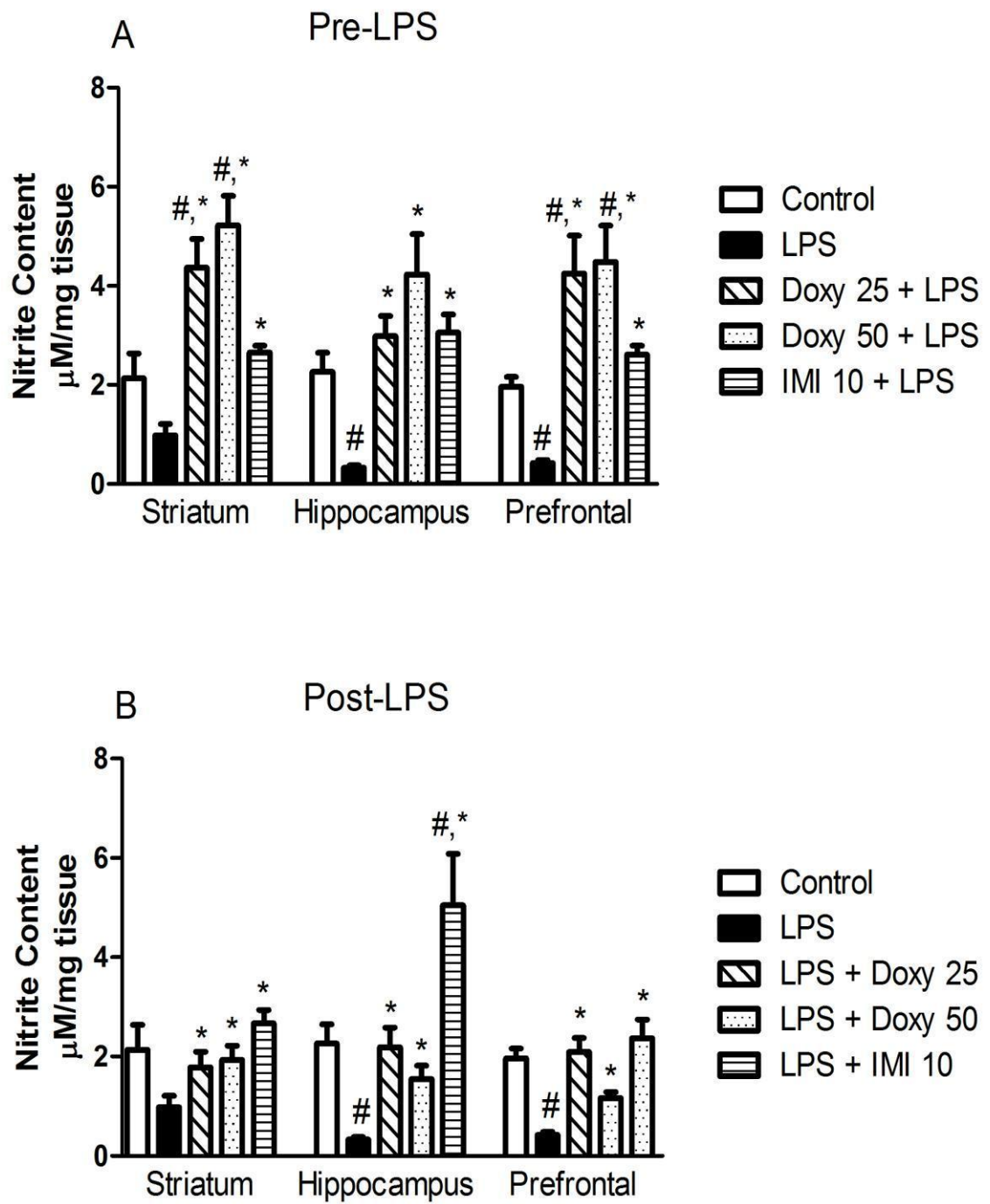


Figure 5 –

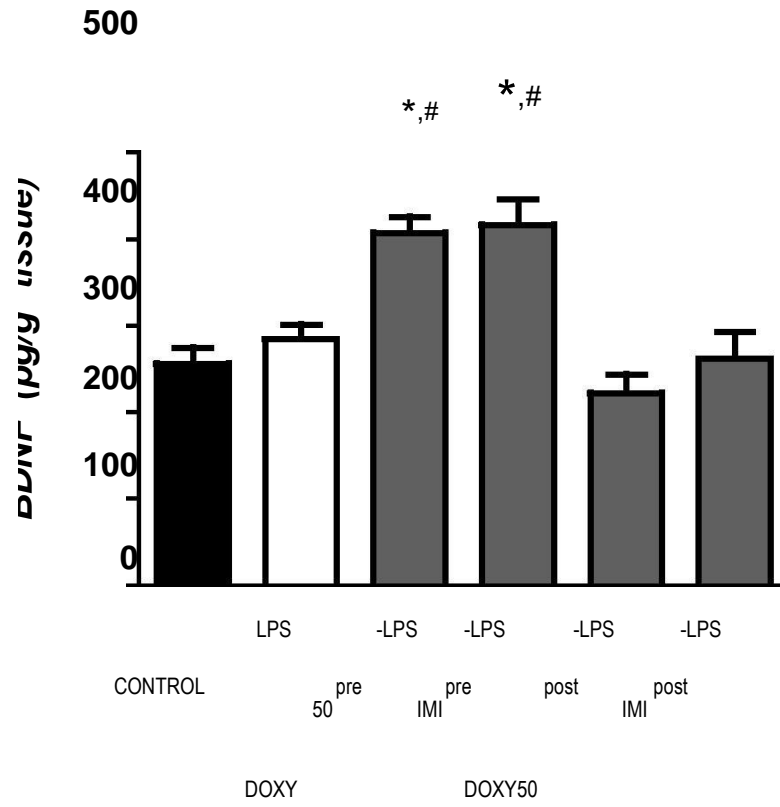


Figure 6 -

## 6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, foi possível evidenciar a ação preventiva e terapêutica da Doxiciclina em modelo animal de depressão, induzida pela administração sistêmica de LPS. A doxiciclina administrada em animais pré e pós LPS, mostrou-se potencialmente capaz de prevenir e reverter as alterações comportamentais e neuroquímicas produzidas pelo desafio imune com LPS. Padrões de atividade locomotora avaliada no nado forçado, bem como avaliada no teste do campo aberto, foram completamente revertidas pela administração de doxiciclina. Além disso, ao analisar as dosagens neuroquímicas, evidenciamos a reversão dos níveis de citocinas (IL-1 $\beta$ ), tanto a nível periférico (plasma) quanto a nível cerebral (córtex pré-frontal, corpo estriado e hipocampo), corroborando com os achados encontrados usando o controle positivo (imipramina). Observamos também a prevenção e/ou reversão evitados da diminuição do teor de nitrito induzido por LPS. Desse modo, podemos associar a ação antidepressiva, anti-inflamatória, ao antimicrobiano doxiciclina.

## **7 PERSPECTIVAS**

Contribuir para a elucidação e o entendimento dos efeitos preventivos e terapêuticos da doxiciclina em comportamentos tipo-depressivo desencadeados por inflamação;

Contribuir para a fisiopatologia de comportamentos tipo-depressivo de muitas doenças crônicas, como a depressão, através dos processos de inflamação;

Ampliar a compreensão das propriedades anti-inflamatórias do antimicrobiano doxiciclina no modelo de depressão;

Possibilitar uma nova ação farmacológica ao antimicrobiano Doxiciclina, como antidepressivo, utilizado para transtornos, como a depressão.

## REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, J.; JANG, S.; GODBOUT, J. P.; CHEN, J. KELLEY, K. W.; JOHNSON, R. W. Aging sensitizes mice to behavioral deficits induced by central HIV-1 gp120. *Neurobiol. Aging*, v. 29, p. 614-621, 2006.
- AGUIAR, C. C.; CASTRO, T. R.; CARVALHO, A. F.; VALE, O. C.; SOUSA, F. C.; VASCONCELOS, S. M. Drogas antidepressivas. *Acta Med. Port.*, v. 24, n. 1, p. 091-098, 2011.
- AGWUH, K. N.; MACGOWAN, A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylicyclines. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v. 58, p. 256–265, 2006.
- ARTMED, A.P. *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV)*. Porto Alegre: Artes Médicas, 1995.
- ANDERSON, I.M. Selective serotonin reuptake inhibitors versus tricyclic antidepressants: a attenuates the effects of antidepressants on the forced swim test in rats. *Brain Res.*, v. 709, p. 215-220, 2000.
- ANDERSSON, H.; ALESTIG, K. The penetration of doxycycline into CSF. *Scand J. Infect. Dis. Suppl.*, v. 9, p. 17–19, 1976.
- ANDREAZZA, A.C.; FREY, B.N.; ERDTMANN, B.; SALVADOR, M.; ROMBALDI, F.; SANTIN, A.; GONCALVES, C.A.; KAPCZINSKI, F. DNA damage in bipolar disorder. *Psychiatry Res.*, v. 153, n. 1, p. 27–32, 2007.
- ANGELUCCI, F.; BRENE, S.; MATHE, A.A. BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models. *Mol. Psychiatry*, v. 10, n. 4, p. 345–352, 2005.
- ANISMAN, H.; HAYLEY, S.; TURRIN, N.; MERALI, Z. Cytokines as a stressor: Implications for depressive illness. *Intl. J. Neuropsychopharmacol.*, v. 5, p. 357–373, 2002.
- ANISMAN, H.; MERALI, Z. Anhedonic and anxiogenic effects of cytokine exposure. *Adv. Exptl Med. Biol.* 461:199–233, 1999.
- AYALA, A. R. Antagonistas do hormônio liberador da corticotrofina: atualização e perspectivas. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, v. 46, p. 619-625, 2002.
- BANKS, W. A. The blood-brain barrier in psychoneuroimmunology. *Neurol Clin.*, v. 24, p. 413–419, 2006.
- BARRIENTOS, R. M.; HIGGINS, E. A.; BIEDENKAPP, J. C.; SPRUNGER, D. B.; WRIGHT-HARDESTY, K. J.; WATKINS, L. R.; RUDY, J. W.; MAIER, S. F. Peripheral infection and aging interact to impair hippocampal memory consolidation. *Neurobiol. Aging.*, v. 27, n. 5, p. 723-732, 2006.

BAUER, S. The neuropoietic cytokine family in development, plasticity, disease and injury. *Nat. Rev. Neurosci.*, v. 8, p. 221–232, 2007.

BERK, M.; KAPCZINSKI, F.; ANDREAZZA, A.C.; DEAN, O.M.; GIORLANDO, F.; BERK, M.; WADEE, A.A.; KUSCHKE, R.H.; O'NEILL-KERN A. Acute phase proteins in major depression. *J. Psychosom. Res.*, v. 43, p. 529–534, 1997.

BESEDOVSKY, H. O.; REY, A.; SORKIN, E.; DINARELLO, C. A. Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. *Science*, v. 233, p. 652–654, 1986.

BLOCK, M. L.; HONG, J. S. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog. Neurobiol.*, v. 76, p. 77–98, 2005.

BLUTHE, R. M. Lipopolysaccharide induces sickness behaviour in rats by a vagal mediated mechanism. The first demonstration that section of the vagus nerves blocks immune-to-brain communication and abrogates lipopolysaccharide-induced sickness behaviour without compromising the peripheral immune response. *C R Acad. Sci. III*, v. 317, p. 499–503, 1994.

BOYLE, J. R.; MCDERMONTT, T.T.; MCDERMOTT, E.; CROWTHER, M.; WILLS, A. D.; BELL, P. R.; THOMPSON, M. M. Doxycycline inhibits elastin degradation and reduces metalloproteinase activity in a model of aneurismal disease. *J. Vasc. Surg.*, v. 27, p. 354–361, 1998.

BROWN, E.S.; WOOLSTON, D.; FROL, A.; BOBADILLA, L.; KHAN, D.A.; HANCZYC, M.; RUSH, A.J.; FLECKENSTEIN, J.; BABCOCK, E.; CULLUM, C.M. Hippocampal volume, spectroscopy, cognition, and mood in patients receiving corticosteroid therapy. *Biol. Psychiatry*, v. 55, n. 5, p. 538–545, 2004.

BRYSKIER, A. Tetracyclines. In: BRYSKIER, A. (Ed.). *Antimicrobial Agents: antibacterials and antifungals*. Washington: ASM Press, 2005. p. 642–651.

BURGGRAF, D.; TRINKL, A.; DICHGANS, M.; HAMMANN, G.F. Doxycycline inhibits MMPs via modulation of plasminogen activators in focal cerebral ischemia. *Neurobiol. Dis.*, v. 25, p. 506–513, 2007.

CAMPBELL, S.; MACQUEEN, G. An update on regional brain volume differences associated with mood disorders. *Curr. Opin. Psychiatry*, v. 19, n. 1, p. 25–33, 2006.

CARSON, J.L.; STROM, B.L.; DUFF, A. Doença Hepática Aguda Associada com eritromicinas, sulfonamidas e tetraciclina. *Ann. Intern. Med.*, v. 119, p. 576–583, 1993.

CASSANO, P.; FAVA, M. Depression and public health: an overview. *J. Psychosom. Res.*, v. 53, p. 849–857, 2002.

CASTANEDA, A.E.; TUULIO-HENRIKSSON, A.; MARTTUNEN, M.; SUVISAARI, J.; LONNQVIST, J. A review on cognitive impairments in depressive and anxiety disorders with a focus on young adults. *J. Affect. Disord.*, v. 106, p. 1–27, 2008.



CHEN, J.; BUCHANAN, J. B.; SPARKMAN, N. L.; GODBOUT, J. P.; FREUND, G. G.; JOHNSON, R. W. Neuroinflammation and disruption in working memory in aged mice after acute stimulation of the peripheral innate immune system. *Brain Behav. Immun.*, v. 22, n. 3, p. 301-311, 2008.

CHING, S.; ZHANG, H.; BELEVYCH, N.; LAI, W.; JAEGER, L.B, CHEN, Q; QUAN, N. Endothelial-specific knockdown of interleukin-1 (IL-1) type 1 receptor differentially alters CNS responses to IL-1 depending on its route of administration. *J. Neurosci.*, v. 27, n. 39, p. 10476-10486, 2007.

CHOPRA, I.; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, v. 65, p. 232–260, 2001.

CLARK, W.M.; CALCAGNO, F.A.; GABLER, W.L.; SMITH, J.R., COULL, B.M. Reduction of central nervous system reperfusion injury in rabbits using doxycycline treatment. *Stroke*, v. 25, p. 1411–1415, 1994.

COMBRINCK, M. I.; PERRY, V. H.; CUNNINGHAM, C. Peripheral infection evokes exaggerated sickness behaviour in pre-clinical murine prion disease. *Neuroscience*, v. 112, n. 1, p. 7–11, 2002.

CONNOR, T. J.; SONG, C.; LEONARD, B. E.; MERALI, Z.; ANISMAN, H. An assessment of the effects of central interleukin-1 $\beta$ , -2, -6, and tumor necrosis factor- $\alpha$  administration on some behavioural, neurochemical, endocrine and immune parameters in the rat. *Neuroscience*, v. 84, p. 923–933, 1998.

CONNOR, T.J.; LEONARD, B.E. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci.*, v. 62, p. 583–606, 1998.

CUNHA, B.A. Minocycline Versus Doxycycline in the Treatment of Lyme Neuroborreliosis. *Clin. Infect. Dis.*, v. 30, p. 237-238, 2000.

CUNHA, C.; BRAMBILLA, R.; THOMAS, K. L. A simple role for BDNF in learning and memory. *Front. Mol. Neurosci.*, v. 3, p. 1, 2010.

D'AGOSTINO, P.; LA ROSA, M.; BARBERA, C.; ARCOLEO, F.; DI BELLA, G.; MILANO, S.; CILLARI, E. Doxycycline reduces mortality to lethal endotoxemia by reducing nitric oxide synthesis via an interleukin-10-independent mechanism. *J. Infect. Dis.*, v. 177, n. 2, p. 489-492, 1998.

DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann. N Y Acad. Sci.*, v. 933, p. 222–234, 2001.

DANTZER, R. *Psychoneuroimmunology*. Amsterdam: Elsevier, 2007.

DANTZER, R.; BLUTHE, R. M.; CASTANON, N.; CHAUVET, N.; CAPURON, L.; GOODALL, G.; KELLEY, K. W. *Psychoneuroimmunology*. San Diego, CA: Academic Press, 2001.

DANTZER, R.; KONSMAN, J.P.; BLUTHE, R.M.; KELLEY, K.W. Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent. *Auton. Neurosci.*, v. 85, p. 60–65, 2000.

DANTZER, R.; O'CONNOR, J.C.; FREUND, G.G.; JOHNSON, R.W.; KELLEY, K.W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci.*, v. 9, p. 46–56, 2008.

DAVALOS, D.; GRUTZENDLER, J.; YANG, G.; KIM, J. V.; ZUO, Y.; JUNG, S.; LITTMAN, D. R. DUSTIN, M. L.; GAN, W. B. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat. Neurosci.*, v. 8, n. 6, p. 752-758, 2005.

DE KLOET E. R.; VREUGDENHIL E.; OITZL M. S.; JOELS M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr. Rev.*, v. 19, p. 269-301, 1998.

DHEEN, S. T. Microglial activation and its implications in the brain diseases. *Curr. Med. Chem.*, v. 14, p. 1189–1197, 2007.

DUNN, A. J. Effects of cytokines and infections on brain neurochemistry. *Clin. Neurosci. Res.*, v. 6, p. 52–68, 2006.

DUNN, A. J. Systemic interleukin-1 administration stimulates hypothalamic norepinephrine metabolism paralleling the increased plasma corticosterone. *Life Sci.*, v. 43, p. 429–435, 1998.

DUNN, A. J. Cytokine activation of the HPA axis. *Ann. NY Acad. Sci.*, v. 917, p. 608–617, 2000.

DUNN, A.J.; SWIERGIEL, A.H. Effects of interleukin-1 and endotoxin in the forced swim and tail suspension tests in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 81, p. 688–693, 2005.

EISENBERGER, N. I.; BERKMAN, E. T.; INAGAKI, T. K.; RAMESON, L.T.; MASHAL, N. M.; IRWIN, M. R. Inflammation-induced anhedonia: endotoxin reduces ventral striatum responses to reward. *Biol Psychiatry*. 68:748-754. essential arterial hypertension. *Clin. Ter.*, v. 148, n. 11, p. 515-519, 2010.

EVANS, D. L.; CHARNEY, D. S.; LEWIS, L. GOLDEN, R.N.; GORMAN, J.M.; KRISHNAN, K. R.; NEMEROFF, C. B.; BREMNER, J. D.; CARNEY, R. M. Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. *Biol. Psychiatry*, v. 58, n. 3, p. 175-189, 2005.

GARDEN, G. A.; MOLLER, T. Microglia biology in health and disease. *J. Neuroimmune Pharmacol.*, v. 1, n. 2, p. 127-137, 2006.

GARDNER, A.; BOLES, R. G. Beyond the serotonin hypothesis: mitochondria, inflammation and neurodegeneration in major depression and affective spectrum disorders. *Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, special issue, 2010.

GODBOUT, J. P.; ABRAHAM, J.; RICHWINE, A.F.; BERG, B. M.; KELLEY, K. W.; JOHNSON, R. W. Exaggerated neuroinflammation and sickness behavior in aged mice following activation of the peripheral innate immune system. *Faseb J.*, v. 19, n. 10, p. 1329-1331, 2005.

GOEHLER, L.E.; GAYKEMA, R.P.; HAMMACK, S.E.; MAIER, S.F.; WATKINS, L.R. Interleukin-1 induces c-Fos immunoreactivity in primary afferent neurons of the vagus nerve. *Brain Res.*, v. 804, n. 2, p. 306-310, 1998.

GRIFFIN, R.; NALLY, R.; NOLAN, Y.; MCCARTENY, Y.; LINDEN, J.; LYNCH, M.A.: The age-related attenuation in long-term potentiation is associated with microglial activation. *J. Neurochem.*, v. 99, n. 4, p.1263-1272, 2006.

HANEMAAIJER, R.; VISSER, H.; KOOLWIJK, P.; SORSA, T.; SALO, T.; GOLUB, L. M.; HINSBERGH, V. W. Inhibition of MMP synthesis by doxycycline and chemically modified tetracyclines (CMTs) in human endothelial cells. *Adv. Dent. Res.*, v. 12, p.114–118, 1998.

HART, B.L. Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 12, p.123–137, 1988.

HENRY, C.J.; HUANG, Y.; WYNNE, A.; HANKE, M.; HIMLER, J.; BAILEY, M. T.; SHERIDAN, J.F.; GODBOUT, J.P. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. *J. Neuroinflamm.*, v. 5, p.15, 2008.

HEYSER, C. J.; MASLIAH, E.; SAMIMI, A.; CAMPBELL, I. L.; GOLD, L. H. Progressive decline in avoidance learning paralleled by inflammatory neurodegeneration in transgenic mice expressing interleukin 6 in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, v. 94, n. 4, p. 1500-1505, 1997.

HAWTHORNE, G.; GOLDNEY, R.; TAYLOR, A. W. Depression prevalence: is it really increasing? *Aust. N Z J. Psychiatry*, v. 42, n. 7, p. 606-616, 2008.

HUANG, Y.; HENRY, C. J.; DANTZER, R.; JOHNSON, R. W.; GODBOUT, J. P. Exaggerated sickness behavior and brain proinflammatory cytokine expression in aged mice in response to intracerebroventricular lipopolysaccharide. *Neurobiol. Aging*, v. 29, n. 11, 1744-1753, 2007.

KASCKOW, J. W.; BAKER, D.; GERACIOTI, T. D. Corticotropin-releasing hormone in depression and post-traumatic stress disorder. *Peptides*, v. 22, n. 5, p. 845-851, 2001.

KELLEY, K.W.; BLUTHE R.M.; DANTZER, R.; ZHOU, J.H.; SHEN, W.H.; JOHNSON, R.W.; BROUSSARD, S.R. Cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav. Immun.*, v. 17, n. 1, Suppl., p. 112-118, 2003.

KENT, S.; BLUTHE, R. M.; KELLEY, K.W.; DANTZER, R. Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 13, p. 24–28, 1992.

KONSMAN, J. P.; VEENEMAN, J.; COMBE, C.; POOLE, S.; LUHESHI, G. N.; DANTZER, R. Central nervous action of interleukin-1 mediates activation of limbic structures and behavioural depression in response to peripheral administration of bacterial lipopolysaccharide. *Eur. J. Neurosci.*, v. 28, p. 2499–2510, 2008.

KONSMAN, J.P.; LUHESHI, G.N.; BLUTHE, R.M.; DANTZER, R. The vagus nerve mediates behavioural depression, but not fever, in response to peripheral immune signals; a functional anatomical analysis. *Eur. J. Neurosci.*, v. 12, n. 12, p. 4434-4446, 2000.

KONSMAN, J.P.; PARNET, P.; DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. *Trends Neurosci.*, v. 25, p. 154–159, 2002.

KRAKAUER, T.; BUCKLEY, M. Doxycycline Is Anti-Inflammatory and Inhibits Staphylococcal Exotoxin-Induced Cytokines and Chemokines. *Antimicrob. Agents Chemother.*, p. 3630–3633, 2003.

KREUTZBERG, G.W. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci.*, v. 19, p. 312–318, 1996.

KUBERA, M.; OBUCHOWICZ, E.; GOEHLER, L.; BRZESZCZ, J.; MAES, M. Animal models of depression: evidence for neuroinflammation, neurodegeneration and disturbance in neurogenesis. *Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, special issue, 2010.

KUHN, D.M. Dopamine quinones activate microglia and induce a neurotoxic gene expression profile: relationship to methamphetamine-induced nerve ending damage. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, n. 1074, p. 31–41, 2006.

LACOSTA, S.; MERALI, S.; ANISMAN, H. Behavioral and neurochemical consequences of lipopolysaccharide in mice: anxiogenic-like effects. *Brain Res.*, v. 818, p. 291–303, 1999.

LAFLAMME, N.; LACROIX, S.; RIVEST, S. An essential role of interleukin-1 $\beta$  in mediating NF- $\kappa$ B activity and COX-2 transcription in cells of the blood-brain barrier in response to a systemic and localized inflammation but not during endotoxemia. *J. Neurosci.*, v. 19, n. 24, p. 10923-10930, 1999.

LAI, W. Q.; IRWAN, A. W.; GOH, H. H.; HOWE, H. S.; YU, D. T. Antiinflammatory effects of sphingosine kinase modulation in inflammatory arthritis. *J. Immunol.*, v. 181, p. 8010–8017, 2009.

LANGHANS, W. Bacterial products and the control of ingestive behavior: clinical implications. *Nutrition*, v. 12, p. 303–315, 1996.

LEE, S.Y.; MOON, Y.; HEE, C.D.; JIN, C. H.; HWANG, O. Particular vulnerability of rat mesencephalic dopaminergic neurons to tetrahydrobiopterin: Relevance to Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.*, v. 25, p. 112–120, 2007.

LEONARD, B.E. The immune system, depression and the action of antidepressants. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, v. 25, p. 767–780, 2001.

- LEONARD, B.E.; SONG C. Stress, depression, and the role of cytokines. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 461, p. 251–265, 1999.
- LEONARD, B.E.; SONG, C. Stress and the immune system in the etiology of anxiety and depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 54, p. 299–303, 1996.
- LINDQVIST, D.; JANELIDZE, S.; HAGELL, P.; ERHARDT, S.; SAMUELSSON, M.; MINTHON, L. Interleukin-6 is elevated in the cerebrospinal fluid of suicide attempters and related to symptom severity. *Biol. Psychiatry*, v. 66, p. 287–292, 2009.
- LINTHORT, A.C.; REUL, J. M. Brain neurotransmission during peripheral inflammation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 840, p. 139–152, 1998.
- MAES, M. A review on the acute phase response in major depression. *Rev. Neurosci.*, v. 4, n. 4, p. 407–416, 1993.
- MAES, M. Major depression and activation of the inflammatory response system. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 461, p. 25–46, 1999.
- MAES, M. The cytokine hypothesis of depression: inflammation, oxidative & nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. *Neuro Endocrinol. Lett.*, v. 29, n. 3, p. 287–291, 2008.
- MAES, M.; LEONARD, B.; FERNANDEZ, A.; KUBERA, M.; NOWAK, G.; VEERHUIS, R.; GARDNER, A.; RUCKOANICH, P.; GEFFARD, M.; ALTAMURA, C.; GALECKI, P.; BERK, M. Editorial: (Neuro)inflammation and neuroprogression as new pathways and drug targets in depression: from antioxidants to kinase inhibitors. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, v. 35, n. 3, p. 659–663, 2011d.
- MAES, M.; YIRMYIA, R.; NORABERG, J.; BRENE, S.; HIBBELN, J.; PERINI, G.; KUBERA, M.; BOB, P.; LERER, B.; MAJ, M. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metab. Brain Dis.*, v. 24, n. 1, p. 27–53, 2009c.
- MAES, M.; BOSMANS, E.; MELTZER, H. Y.; SCHARPE, S.; SUY, E. Interleukin-1 beta: a putative mediator of HPA axis hyperactivity in major depression? *Am. J. Psychiatry*, v. 150, n. 8, p. 1189–1193, 1993a.
- MAES, M.; BOSMANS, E.; SUY, E.; VANDERVORST, C.; DEJONCKHEERE, C.; RAUS, J. Antiphospholipid, antinuclear, Epstein–Barr and cytomegalovirus antibodies, and soluble interleukin-2 receptors in depressive patients. *J. Affect Disord.*, v. 21, n. 2, p. 133–140, 1991a.
- MAES, M.; BOSMANS, E.; SUY, E.; VANDERVORST, C.; DEJONCKHEERE, C.; RAUS, J. Depression-related disturbances in mitogen-induced lymphocyte responses and interleukin-1 beta and soluble interleukin-2 receptor production. *Acta Psychiatr. Scand.*, v. 84, n. 4, p. 379–386, 1991b.

MAES, M.; BOSMANS, E.; SUY, E.; VANDERVORST, C.; JONCKHEERE, C.; RAUS, J. Immune disturbances during major depression: upregulated expression of interleukin-2 receptors. *Neuropsychobiology*, v. 24, n. 3, p. 115–120, 1990-1991.

MAES, M.; GALECKI, P.; CHANG, Y. S.; BERK, M. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro) degenerative processes in that illness. *Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, special issue, 2010.

MAES, M.; LAMBRECHTS, J.; BOSMANS, E.; JACOBS, J.; SUY, E.; VANDERVORST, C. Evidence for a systemic immune activation during depression, results of leukocyte enumeration by flow cytometry in conjunction with monoclonal antibody staining. *Psychol. Med.*, v. 22, n. 1, p. 45-53, 1992.

MAES, M.; SCHARPE, S.; MELTZER, H.Y.; BOSNMANS, E.; SUY, E.; CALABRESE, J.; COSYNS, P. Relationships between interleukin-6 activity, acute phase proteins, and function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in severe depression. *Psychiatry Res.*, v. 49, n. 1, p. 11–27, 1993d.

MAES, M.; SCHARPE, S.; MELTZER, H.Y.; COSYNS, P. Relationships between increased haptoglobin plasma levels and activation of cell-mediated immunity in depression. *Biol. Psychiatry*, v. 34, n. 10, p. 690–701, 1993e.

MAES, M.; SMITH, R.; SHARPE, S. The monocyte-T-lymphocyte hypothesis of major depression. *Psychoneuroendocrinology*, v. 20, n. 2, p. 111-116, 1995.

MAES, M.; SONG, C.; YIRMIYA, R. Targeting Il-1 in Depression. *Expert Opin. Ther. Targets*, v. 27, p. 27, 2012.

MAES, M.; YIRMYIA, R.; NORABERG, J.; BRENE, S.; HIBBELN, J.; PERINI, G.; KUBERA, M.; BOB, P.; LERER, B; MAJ, M. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metab. Brain Dis.*, v. 24, n. 1, p. 27–53, 2009.

MAES, M.; YÜCEI, M.; GAMA, C.S.; DODD, S.; DEAN, B.; MAGALHÃES, P.V.; AMMINGEr, P.; MCGORRY, P.; MALHI, G.S. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 35, n. 3, p. 804–817, 2011.

MARAZZITI, D.; CONSOLI, G.; PICCETTI, M.; CARLINI, M.; FARAVELLI, L. Cognitive impairment in major depression. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 626, p. 83–86, 2010.

MCAFOOSE, J.; BAUNE, B. T. Evidence for a cytokine model of cognitive function. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 33, p. 355–366, 2009.

MCCARTHY, D.O.; KLUGER, M.J.; VANDER, A.J. Suppression of food intake during infections: is interleukin-1 involved. *Amer. J. Clin. Nutr.*, v. 42, p. 1179–1182, 1985.

- MCCULLOCH, C.A.; BIREK, P. C. Estudo controlado randomizado de doxiciclina na prevenção da periodontite recorrente em pacientes de alto risco. *J. Clin. Periodontol.*, v. 17, p. 616-622, 1990
- MCGEER, P.L.; MCGEER, E.G. Inflammation and the degenerative diseases of aging. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 1035, p. 104–116, 2004.
- MIKOVA, O.; YAKIMOVA, R.; BOSMANS, E.; KENIS, G.; MAES, M. Increased serum tumor necrosis factor alpha concentrations in major depression and multiple sclerosis. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, v. 11, n. 3, p. 203–208, 2001.
- MILLAN, M. J. The neurobiology and control of anxious states. *Prog. Neurobiol.*, v. 70, p. 83–244, 2003.
- MILLER, D.B.; O'CALLAGHAN, J.P. Depression, cytokines, and glial function. *Metabolism*, v. 54, Suppl. 1, p. 33–38, 2005.
- MILLER, G. The dark side of glia. *Science*, v. 308, p. 778–781, 2005.
- MOLENDIJK, M.L.; BUS, B.A.; SPINHOVEN, P.; PENNINX, B.W.; KENIS, G.; PRICKAERTS, J.; VOSHAAR, R.O.; ELZINGA, B.M. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in major depressive disorder: state-trait issues, clinical features and pharmacological treatment. *Mol. Psychiatry*, v.16, n. 11, p. 1088–1109, 2011.
- MOUSSAVI, S.; CHATTERJI, S.; VERDES, E.; TANDON, A.; PATEL, V.; USTUN, B. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. *Lancet*, v. 370, p. 851–858, 2007.
- MRAK, R. E.; GRIFFIN, W. S. Interleukin-1, neuroinflammation, and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*, v. 22, p. 903–908, 2001.
- MURRAY, C. A.; LYNCH, M A. Evidence that increased hippocampal expression of the cytokine interleukin-1 beta is a common trigger for age- and stress-induced impairments in long-term potentiation. *J. Neurosci.*, v. 18, p. 2974–2981, 1998.
- NEMEROFF, C.B.; OWENS, M. J. Treatment of mood disorders. *Nat. Neurosci.*, v. 5, p. 1068-1070.
- NG, F.; BERK, M.; DEAN, O.; BUSH, A.I. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, v. 11, n. 6, p. 851-876, 2008.
- NGUYEN, M. D.; JULIEN, J.P.; RIVEST, S. Innate immunity: the missing link in neuroprotection and neurodegeneration? *Nat. Rev. Neurosci.*, v. 3, n. 3, p. 216-227, 2002.
- NIKODEMOVA, M.; DUNCAN, I.D.; WATTERS, J.J. Minocycline exerts inhibitory effects on multiple mitogen-activated protein kinases and IkappaBalpha degradation in a stimulus-specific manner in microglia. *J. Neurochem.*, v. 96, n. 2, p. 314-323, 2006.

NIMMERJAHN, A.; KIRCHHOFF, F.; HELMCHEN, F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*, v. 308, n. 5726, p. 1314-1318, 2005.

NORENBERG, M.D. The reactive astrocyte. In: ASCHNER, M.; COSTA, L. G. (Ed.). *The Role of Glia in Neurotoxicity*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005. p. 73–92.

O'CALLAGHAN J.P.; SRIRAM, K. GFAP and other glial proteins as biomarkers of neurotoxicity. *Exp. Opin. Drug Safety*, v. 4, p. 433–442, 2005.

OTTERNESS, I.G.; SEYMOUR, P.A.; GOLDEN, H. W.; REYNOLDS, J. A.; DAUMY, G.O. The effects of continuous administration of murine interleukin-1 $\alpha$  in the rat. *Physiol. Behav.*, v. 43, p. 797–804, 1988.

PENNINX B.W.; KRITCHEYSKY, S. B.; YAFFE, K.; NEWMAN, A. B.; SIMONSICK, E. M.; RUBIN, S.; FERRUCINI, L.; HARRIS, T.; PAHOR, M. Inflammatory markers and depressed mood in older persons: results from the Health, Aging and Body Composition study. *Biol Psychiatry*, v. 54, n. 5, p.566-572, 2003.

PHILLIS, J. W. Cyclooxygenases, lipoxygenases, and epoxygenases in CNS: their role and involvement in neurological disorders. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, v. 52, p. 201–243, 2006.

QUAN, N.; WHITESIDE, M.; HERKENHAM, M. Time course and localization patterns of interleukin-1 $\beta$  messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide. *Neuroscience*, v. 83, p. 281–293, 1998.

QUEVEDO, J.; VSTECKERT, A.; ARENT, C. O.; COMIM, C. M.; RÉUS, G. Z.; CASSOL-JR, O. J.; VALVASSORI, S. S. Pesquisa translacional em medicina. *Rev. Pesquisa Extensão em Saúde*, v. 4, n. 1, 2008.

RAETZ, C.R.; WHITFIELD, C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.*, v. 71, p. 635-700, 2002.

RAISON, C. L.; MILLER, A. H. Depression and cancer: new developments regarding diagnosis and treatment. *Biol. Psychiatry*, v. 54, n. 3, p. 283-294, 2003.

RAMAMURTHY, N. S.; GREENWALD, R.A.; MOAK, S. A.; SCUIBBA, J.; GOREN, A.; TURNER, G.; RIFKIN, B.; GOLUB, L.M.; RIAZI, K.; GALIC, M. A.; KUZMISKI, J. B.; HO, W.; SHARKEY, K.A.; PITTMAN, Q.J. Microglial activation and TNF- $\alpha$  production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *PNAS*, v. 105, p. 17151–17156, 2008.

RIAZI, K.; GALIC, M. A.; KUZMISKI, J. B.; HO, W.; SHARKEY, K.A.; SHARKEY, K. A.; PITTMAN, Q. J. Microglial activation and TNF- $\alpha$  production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 105, p. 15151–17156, 2008.

RIDET, J. L. Reactive astrocytes: cellular and molecular cues to biological function. *Trends Neurosci.*, v. 20, p. 570–577, 1997.



RIETSCHER, E.T.; KIRIKAE, T.; SHCADE, F.U.; MAMAT, U.; SCHMIDT, G.; LOPPNOW, H.; ULMER, A.J.; ZHRINGER, U.; SEYDEL, U.; PADOVA F.D.; SCHREIER, M.; BRADE, H. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *Faseb J.*, v. 8, p. 217-225, 1994.

ROMANOWSKI, B.; TALBOT, M.; STADNYK, M. Em comparação com a minociclina doxiciclina no tratamento de uretrite não gonocócica e cervicite mucopurulenta. *Ann. Intern. Med.*, v. 119, p. 16-22, 1993.

ROMEO, H.E.; TIO, D.L.; RAHMAN, S.U.; CHIAPPELLI, F.; TAYLOR, A.N. The glossopharyngeal nerve as a novel pathway in immune-to-brain communication: relevance to neuroimmune surveillance of the oral cavity. *J. Neuroimmunol.*, v.115, p. 91– 100, 2001.

SANACORA, G.; ZARATE, C. A.; KRYSTAL, J.H.; MANJI, H.K. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat. Rev. Drug Discov.*, v. 7, p. 426-437, 2008.

SARTER, M.; PARIKH, V.; HOWE, W. M. nAChR agonist-induced cognition enhancement: integration of cognitive and neuronal mechanisms. *Biochem. Pharmacol.*, v. 10, p. 658–667, 2009.

SARTORIUS, N. The economic and social burden of depression. *J. Clin. Psychiatry*, v. 62, Suppl. 15, p. 8–11, 2001.

SCHIEPERS, O. J.; WICHERS, M. C.; MAES, M. Cytokines and major depression. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, v. 29, n. 2, p. 201–217, 2005.

SLUZEWSKA, A.; RYBAKOWSKI, J.; BOSMANS, E.; SOBIESKA, M.; BERGHMANS, R.; MAES, M. Indicators of immune activation in major depression. *Psychiatry Res.*, v. 64, n. 3, p. 161-167, 1996.

SMITH, R. S. The macrophage theory of depression. *Med. Hypotheses*, v. 35, p. 298– 306, 1991.

SOLOMON, A.; ROSENBLATT, M.; MONROY, D., LOKESHWAR, S.; PFLUGFELDER, C. 2000. Doxycycline inhibition of interleukin-1 in the corneal epithelium. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, v. 41, p. 2544–2557, 2000.

SONG, C.; LIN, A.; BONACCORSO, S.; HEIDE, C.; VERKERK, R.; KENIS, G.; BOSMANS, E.; SCHARPE, S.; WHELAN, A.; COSYNS, P.; JONGH, R.; MAES, M. The inflammatory response system and the availability of plasma tryptophan in patients with primary sleep disorders and major depression. *J. Affect Disord.*, v. 49, n. 3, p. 211–219, 1998.

SRIRAM, K. Minocycline attenuates microglial activation but fails to mitigate striatal dopaminergic neurotoxicity: role of TNF- $\alpha$ . *J. Neurochem.*, v. 96, p. 706–719, 2006.

SRIRAM, K.; O'CALLAGHAN, J.P. Divergent roles for tumor necrosis factor- $\alpha$  in the brain. *J. Neuroimmune Pharmacol.*, v. 2, p. 140–153, 2007.

SWEITZER, S. M.; COLBUM, R. W.; RUTKOWSKI, M.; DELEO, J.A. Acute peripheral inflammation induces moderate glial activation and spinal IL-1beta expression that correlates with pain behavior in the rat. *Brain Res.*, v. 829, p. 209–221, 1999.

SWIERGIEL, A. H.; DUNN, A. J. Effects of interleukin-1b and lipopolysaccharide on behavior of mice in the elevated plus-maze and open field tests. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 86, p. 651–659, 2007.

TANCREDI, V.; D'ARCANGELO, G.; GRASSI, F.; TARRONI, P.; PALMIERI, G.; SANTONI, A.; EUSEBI, F. Tumor necrosis factor alters synaptic transmission in rat hippocampal slices. *Neurosci. Lett.*, v. 146, p. 176–178, 1992.

TANSEY, M. G. Neuroinflammatory mechanisms in Parkinson's disease: potential environmental triggers, pathways, and targets for early therapeutic intervention. *Exp. Neurol.*, v. 208, p. 1–25, 2007.

THOMAS, A.J.; DAVIS, S.; MORRIS, C.; JACKSON, E.; HARRISON, R.; O'BRIEN, J.T. Increase in interleukin-1beta in late-life depression. *Am. J. Psychiatry*, v. 162, p.175–177, 2005.

TIKKA, T.M.; KOISTINAHO, J.E. Minocycline provides neuroprotection against N-methyl-D-aspartate neurotoxicity by inhibiting microglia. *J. Immunol.*, v. 166, p. 7527–7533, 2001.

TJADERHANE, L.; OTAKAINEN, T.; KINNUNEN, S.; AHONEN, M.; SALO, T. The effect of chemical inhibition of matrix metalloproteinases on the size of experimentally induced apical periodontitis. *Int. Endodontic J.*, v. 40 n. 4, p. 282-289, 2007.

TUIN, A.; VLAG, A.H.V.D.; VOENEN-WEEMAES A.M.M.A.V.; MEIJER, D.K.F.; POELSTRA, K. On the role and fate of LPS-dephosphorylating activity in the rat liver. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, v. 290, p. 377-385, 2006.

TURNBULL, A.V.; RIVIER, C. L. Regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol. Rev.*, v. 79, p. 1–71, 1999.

UBOGU, E. E. The expression and function of chemokines involved in CNS inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 27, p. 48–55, 2006.

UEKERMANN, J. Social cognition in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 34, p. 734–743, 2010.

VALLIERES, L.; CAMPBELL, I. L.; GAGE, F. H.; SAWCHENKO, P. E. Reduced hippocampal neurogenesis in adult transgenic mice with chronic astrocytic production of interleukin6. *J. Neurosci.*, v. 22, n. 2, p. 486-492, 2002.

VANWEST, D.; MAES, M. Activation of the inflammatory response system: a newlook at the etiopathogenesis of major depression. *Neuro Endocrinol. Lett.*, v. 20, n. ½, p. 11–17, 1999.

VITKOVIC, L. Cytokine signals propagate through the brain. *Mol. Psychiatry*, v. 5, p. 604–615, 2000.

- WATKINS, L.R. Neurocircuitry of illness-induced hyperalgesia. *Brain Res.*, v. 639, p. 283–299, 1994.
- WEBSTER, G. F.; TOSO S. M. Inhibition of a model of in vitro granuloma formation by tetracyclines and ciprofloxacin: involvement of protein kinase C. *Arch. Dermatol.*, v. 130, p. 748–752, 1994.
- WIECZOREK, M.; SWIERGIEL, A. H.; POURNAJAFI-NAZARLOO, H.; DUNN, A. J. Physiological and behavioral responses to interleukin-1beta and LPS in vagotomized mice. *Physiol. Behav.*, v. 85, p. 500–511, 2005.
- WILLIAMS, J. M.; RUSSEL, I.T.; CRANE, C.; RUSSELL, D.; WHITAKER, C. J.; DUGGAN, D.S. Staying well after depression: trial design and protocol. *BMC Psychiatry*, v. 10, p. 23, 2010.
- YIRMIYA, R.; GOSHEN, I. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain Behav. Immun.*, v. 25, p. 181–213, 2011.
- ZARATE, C.A.; MANJI, H.K. The role of AMPA receptor modulation in the treatment of neuropsychiatric diseases. *Clin. Exp. Neurology*, v. 211, p. 7-10, 2008.
- ZHANG, D.; HU, X.; QIAN, L.; WILSON, B.; LEE, C.; FLOOD, P.; LANGENBACH, R.; HONG, J. S. Prostaglandin E2 released from activated microglia enhances astrocyte proliferation in vitro. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 238, n. 1, p. 64–70, 2009.
- ZUNSZAIN, P. A.; HEPGUL, N.; PARIANTE, C. M. Inflammation and Depression. *Curr. Top. Behav. Neurosci.*, v. 14, p. 135-151, 2013.