

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

CÉSAR ALVES CARNEIRO

**PADRONIZAÇÃO DE UM MODELO DE ESTRESSE SUBCRÔNICO  
IMPREVISIVEL, PARA INDUÇÃO DA DEPRESSÃO**

**João Pessoa – Paraíba  
Novembro – 2017**

**CÉSAR ALVES CARNEIRO**

**PADRONIZAÇÃO DE UM MODELO DE ESTRESSE SUBCRÔNICO  
IMPREVISIVEL, PARA INDUÇÃO DA DEPRESSÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do grau de **Bacharel em Farmácia.**

**Orientadora: Profa. Dra. Mirian G. S. Stiebbe Salvadori**

**João Pessoa – Paraíba  
2017**

C289p Carneiro, César Alves.

Padronização de um modelo de estresse subcrônico imprevisível, para indução da depressão / César Alves Carneiro. -- João Pessoa, 2017.

60f. : il. -

Orientadora: Miriam Graciela da Silva Stiebbe Salvadore.

Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

1. Depressão. 2. Estresse subcrônico imprevisível. 3. Fêmeas. 4. Farmacologia.

BS/CCS/UFPB

CDU: 616.89-008.454(043.2)

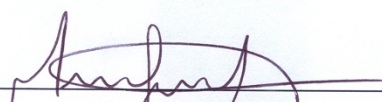
CÉSAR ALVES CARNEIRO

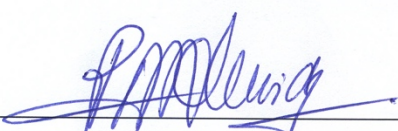
**Padronização De Um Modelo De Estresse Subcrônico Imprevisível, Para  
Indução Da Depressão**


Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 28 de novembro de 2017

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Mirjan Graciela da Silva Stiebbe Salvadori – (Orientador)  
(Departamento de Psicologia – UFPB)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida  
(Departamento de Fisiologia e Patologia – UFPB)

  
\_\_\_\_\_  
Ms. Ingrid Brasilino Montenegro Bento de Souza  
(Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN)

A minha família e amigos pelo apoio nesta jornada.

E a Deus por ter aberto o caminho e dado forças para terminá-lo.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado tantas oportunidades e em cada uma delas poder aprender algo. A me ensinar que cada derrota serve como um aprendizado, que cada erro devi ajudar a construir a sua história, e a aceitar a minha história. Cheia de curvas, reviravoltas, erros e acertos. Pois ela é minha e por meio dela ele vai agir de uma forma que ainda não compreendo.

A minha família, a que me escolheu e a que me acolheu. A todos que apoiaram a distancia ou de perto mas que sei que foi de coração em especial a meu pai Josenildo Carneiro Monte, minha mãe Cleide Alves de Sousa, minha segunda mãe Cremilda Monteiro Bezerra Pinheiro, meus irmãos Kaio Alves Carneiro, Lucas Monteiro Bezerra Pinheiro e Cledinaldo Alves Pinheiro Júnior em especial (tá vendo, terminei esse curso!).

Aos meus amigos que o CEFET me deu Ana Paula Barradas e Deborah Christina.

Aos amigos que a farmácia me deu, Pedro Thiago, José Lucas, Lyvia Layanne, Hidna Cunha, Fiana Figueiredo, Fernando Neto.

Ao PET-Farmácia e a professora Leônia Batista, pelo período que pude passar lá e os ensinamentos que levei para minha vida acadêmica e profissional. E a Ivoneide pelos seu zelo com o trabalho e com os estudantes do PET.

A alguns professores que realmente marcaram minha vida durante esses 6 anos de curso: Rossana Souto Maior, Bagnólia Costa, Adalberto Coelho, João Vianney, Mariana Sobral e Fábio Santos.

Aos meus amigos e colegas de trabalho pela compreensão em especial os professores Bráulio Bessa, Maria Regina, Denise Cavalcante, Alexandre Palma e Rita Baltazar (*in memoria*). E Maria do Céu, pelo apoio assim como aos demais membros do TAXON e LET.

Aos amigos e colegas de laboratório que sem eles esta pesquisa não seria possível, uma pessoa sozinha pode fazer muito, mas quando em equipe pode ir muito mais longe. Em especial Aline Ferreira, Erika Guedes, Ikla Cavalcante, Alana Araújo e também a Tayla, Patrick, Kaique, Poliane, Douglas e Yuren.

Por fim a minha orientadora, que mesmo sabendo de minhas limitações investiu tempo e conhecimento em mim e não desistiu. Muito obrigado Mirian, serei sempre grato!

*Tudo tem o seu tempo  
determinado, e há tempo para  
todo o propósito debaixo do  
céu – Eclesiastes 3:1*

## RESUMO

O transtorno depressivo se tornará até o ano de 2020 a maior causa debilitante no mundo, estudos com os prováveis mecanismos bioquímicos envolvidos neste transtorno são vitais, principalmente para compreender como os diversos fatores que provocam o transtorno depressivo se relacionam para desenvolver a patologia. Nisto, a pesquisa com protótipos de fármacos que busquem aliviar estes sintomas ou auxiliar os tratamentos existentes se torna essencial. Para tanto é necessário a utilização de modelos animais que mimetizem o estado depressivo humano em animais, de forma eficiente, reprodutível, reversível e de baixo custo. Com base nisso, o presente trabalho objetivou padronizar um modelo não-clínico de indução do comportamento depressivo, para ser utilizado no teste de protótipos a possíveis fármacos, de forma a ser realizado em menos tempo e utilizando estressores de fácil acesso. Foram utilizados Camundongos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas com grupo de 9-10 animais, todos os protocolos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba, sob número de certidão 046/16. O modelo experimental de base foi o estresse crônico imprevisível, os animais foram aclimatados ao laboratório por cinco dias antes do início da aplicação dos estressores. Após, os animais foram separados em 03 grupos: controle (não passou pelos estressores), estresse e estresse tratado com imipramina. Os animais recebiam entre 2-4 estressores por dia, por quatorze dias, com ração e água *ad libitum*. No décimo quinto dia os animais passaram por testes comportamentais de suspensão da cauda, borrifagem de sacarose e campo aberto. Os animais submetidos aos estressores, apresentaram nos testes da suspensão da cauda e borrifagem de sacarose a presença de um comportamento do tipo depressivo, e no campo aberto a maioria dos parâmetros analisados indicavam o comportamento tipo ansioso, sintoma que é associado a depressão. A imipramina reverteu estes sintomas depressivos, indicando que o protocolo além de induzir o comportamento depressivo em um menor tempo pode ser revertido por uma droga padrão e, assim, ser utilizado para a investigação de novos fármacos.

**Palavras-Chave:** Depressão, Estresse subcrônico imprevisível, Fêmeas.



## **ABSTRACT**

Depressive disorder will become the most debilitating cause in the world by the year 2020, studies with the probable biochemical mechanisms involved in this disorder are vital, mainly to understand how the various factors that cause the depressive disorder are related to develop the pathology. In this, research with drug prototypes that seek to alleviate these symptoms or aid existing treatments becomes essential. To do so, it is necessary to use animal models that mimic the human depressive state in animals, in an efficient, reproducible, reversible and low cost manner. Based on this, the present work aimed to standardize a non-clinical model of induction of the depressive behavior, to be used in the test of prototypes to possible drugs, in order to be performed in less time and using stressors of easy access. Female Swiss mice (*Mus musculus*) were used with a group of 9-10 animals, all protocols were approved by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Federal University of Paraíba, under certificate number 046/16. The basic experimental model was the unpredictable chronic stress, the animals were acclimatized to the laboratory for five days before the beginning of the application of the stressors. After, the animals were separated into 03 groups: control (did not undergo stressors), stress and stress treated with imipramine. The animals received between 2-4 stressors per day for fourteen days, with feed and water ad libitum. On the fifteenth day the animals passed behavioral tests of tail suspension, sucrose spraying and open field. The animals submitted to the stressors presented in the tests of the suspension of the tail and sucrose spraying the presence of a behavior of the depressive type, and in the open field most of the analyzed parameters indicated the anxious type behavior, a symptom that is associated with depression. Imipramine reversed these depressive symptoms, indicating that the protocol in addition to inducing depressive behavior in a shorter time can be reversed by a standard drug and thus be used for the investigation of new drugs

**Keywords:** Depression, Unpredictable Subchronic Stress, Females.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Relação de Citocinas Pró-inflamatórias e o Sistema Nervoso Central. ....	15
Figura 2- Neurotransmissão Serotoninérgica e Noradrenérgica.....	22
Figura 3- Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal. ....	25
Figura 4- Mecanismo Molecular do Cortisol. ....	27
Figura 5- Relação Estresse e a Hipercoisolemia, seus efeitos sobre os sistemas fisiológicos.....	29
Figura 6- Sistema Límbico.....	31
Figura 7 - Cronograma do experimento.....	39
Figura 8 - Evolução Ponderal dos Animais. ....	43
Figura 9 - A) Tempo de Imobilidade. B) Latência para Imobilidade.. ....	44
Figura 10 - A) Tempo de Grooming. B) Latência para Grooming.....	45
Figura 11 - A) Número Total de Cruzamentos. B) Percentual de Tempo no Centro. ....	46
Figura 12 - A) Rearings realizados. B) Latência para rearing.. ....	46

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Classificação da Depressão pelo DSM-V e CID-10.....	18
<b>Tabela 2</b> - Sintomas Para Diagnóstico da Depressão de acordo com o DSM-V .....	18
<b>Tabela 3</b> - Proporção de Casos Depressivos entre Homens e Mulheres .....	20

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

<b>cm</b>	Centímetros
<b>CID-10</b>	Código Internacional de Doenças – 10 <b>CID-10</b>
<b>CPF</b>	Córtex Pré-frontal <b>CPF</b>
<b>GC</b>	Glicocorticóide <b>GC</b>
<b>GR<math>\alpha</math></b>	Glicoreceptor Alfa
<b>GR<math>\beta</math></b>	Glicoreceptor Beta
<b>g</b>	Gramas
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>HPA</b>	Hipófise-Pituitária-Adrenal
<b>h</b>	Hora <b>h</b>
<b>ACTH</b>	Hormônio adrenocorticotrófico <b>ACTH</b>
<b>CRF/CRH</b>	Hormônio de liberação da corticotrofina <b>CRF/CRH</b>
<b>IDO</b>	Indolamina-2,3-dioxigenase
<b>IMAO</b>	Inibidores da Monoaminoxidase
<b>IRSN</b>	Inibidores da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina
<b>ISRS</b>	Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina
<b>LES</b>	Lúpus Eritematoso Sistêmico
<b>DSM-V</b>	Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – V
<b>mA</b>	Miliampere
<b>ml</b>	Mililitros
<b>m</b>	Minutos
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartato
<b>NE</b>	Norepinefrina/ Noradrenalina
<b>%</b>	Por cento %
<b>Kg</b>	Quilogramas
<b>5-HT</b>	Serotonina <b>5-HT</b>
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>TD</b>	Transtorno Depressivo
<b>TDM</b>	Transtorno Depressivo Maior
<b>v.o.</b>	Via de Administração Oral

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>FUNDAMENTAÇÃO TEORICA</b> .....	<b>17</b>
<b>Classificação e Diagnóstico</b> .....	<b>17</b>
<b>Epidemiologia</b> .....	Erro! Indicador não definido.
<b>Fisiopatologia</b> .....	<b>21</b>
Teoria das Monoaminas .....	21
Estresse e Depressão .....	23
Eixo Hipófise-Pituitária-Adrenal (HPA) .....	24
Eixo HPA e Depressão.....	25
Estruturas Cerebrais Envolvidas na Depressão.....	29
<b>Tratamento</b> .....	<b>31</b>
<b>Metodologias Pré-Clínicas</b> .....	Erro! Indicador não definido.
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>37</b>
<b>Geral</b> .....	<b>37</b>
<b>Específicos</b> .....	<b>37</b>
<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>38</b>
<b>Animais</b> .....	<b>38</b>
<b>Drogas e tratamento</b> .....	<b>38</b>
<b>Métodos</b> .....	<b>38</b>
Procedimento Experimental.....	38
Avaliação da evolução ponderal .....	40
Teste de Suspensão da Cauda .....	40
Borrifagem de Sacarose (Splash Test) .....	41
Campo aberto.....	41
Gravação e análise dos vídeos.....	41
Análise estatística .....	42
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
<b>Avaliação Da Evolução Ponderal</b> .....	<b>43</b>
<b>Teste De Suspensão Da Cauda</b> .....	<b>43</b>
<b>Teste de Borrifagem de Sacarose – Splash Test</b> .....	<b>45</b>
<b>Campo Aberto</b> .....	<b>46</b>
<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>53</b>
<b>ANEXO-A</b> .....	<b>60</b>

## INTRODUÇÃO

Compreender o transtorno depressivo é tão complexo, quanto a própria humanidade, ela pode ser entendida como um elemento da natureza humana e que, muitas vezes, impulsiona certos indivíduos em seu processo criativo, atribuindo, assim, um ar mais poético e artístico ao sofrimento (PARANHOS, WERLANG, 2009). Hipócrates foi o primeiro a atribuir uma definição a patologia, onde o mesmo a caracterizava um conjunto de alguns sintomas depressivos (aversão a comida e falta de ânimo) como melancolia. Apenas a partir do século XVII o conceito de depressão atual começou a ser fundamentado como patologia, a partir de pesquisas científicas e observação clínica para propor suas causas fisiopatológicas (QUEVEDO; SILVA, 2013).

É definida como uma patologia multifatorial que resulta da interação de fatores genéticos, epigenéticos, ambientais, processos inflamatórios, transtornos metabólicos, problemas de regulação hormonal, além de ser altamente incapacitante e associada com alta morbidade e mortalidade (SOUSA, 2015; ROSA, 2014). É uma doença crônica caracterizada por mau humor generalizado, perda de interesse em atividades usuais, diminuição da capacidade de sentir prazer (anedonia) e sentimento de inutilidade, dentre outros (DHINGRA, 2014; GOLD, 2015).

Dentre os prováveis mecanismos fisiológicos da depressão a teoria das monoaminas é a mais aceita e embasada, nela é defendido que o comportamento depressivo se dá pela diminuição da concentração de neurotransmissores monoaminérgicos nas fendas sinápticas em determinados locais do sistema nervoso central (SNC), dentre elas principalmente a noradrenalina (NA) e a serotonina (5-HT) (WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013). Dentre um dos alvos farmacológicos dessa via estaria a MAO (Mono-amino-oxidase) enzima responsável pela degradação das monoaminas na fenda sináptica e os recaptadores de 5-HT e NA, que realizam a recaptação desses neurotransmissores do neurônio pré-sináptico para dentro de vesículas, ao se bloquear esses dois alvos se manteria elevado na sinapse a concentração desses neurotransmissores e assim uma melhora no quadro depressivo (KORTE, et al, 2015).

Outra hipótese que está sendo estudada é a inflamatória, que encontrou justificativa para pesquisa principalmente devido a presença do *sickness behavior* (comportamento de doença), que é caracterizado por letargia, isolamento, ansiedade

entre outros sintomas depressivos, comum em mamíferos que apresentam alguma lesão ou infecção. Um dos mecanismos seria a ativação por citocinas inflamatórias da indolamina-2,3-dioxigenase (IDO), que atua degradando o triptofano e produzindo substâncias neurotóxicas, além de, ao degradar o triptofano prejudica a produção de serotonina pois este é o seu precursor. Outro ponto é que essas citocinas também ativam a enzimas que promovem a degradação da 5-HT o que levaria a sua diminuição no sistema nervoso e assim os sintomas depressivos (BRAGA, 2014; VISMARI, ALVES, NETO, 2008). A figura 1ª seguir traz os mecanismos conhecidos que relacionam processos inflamatórios com a neurotransmissão.

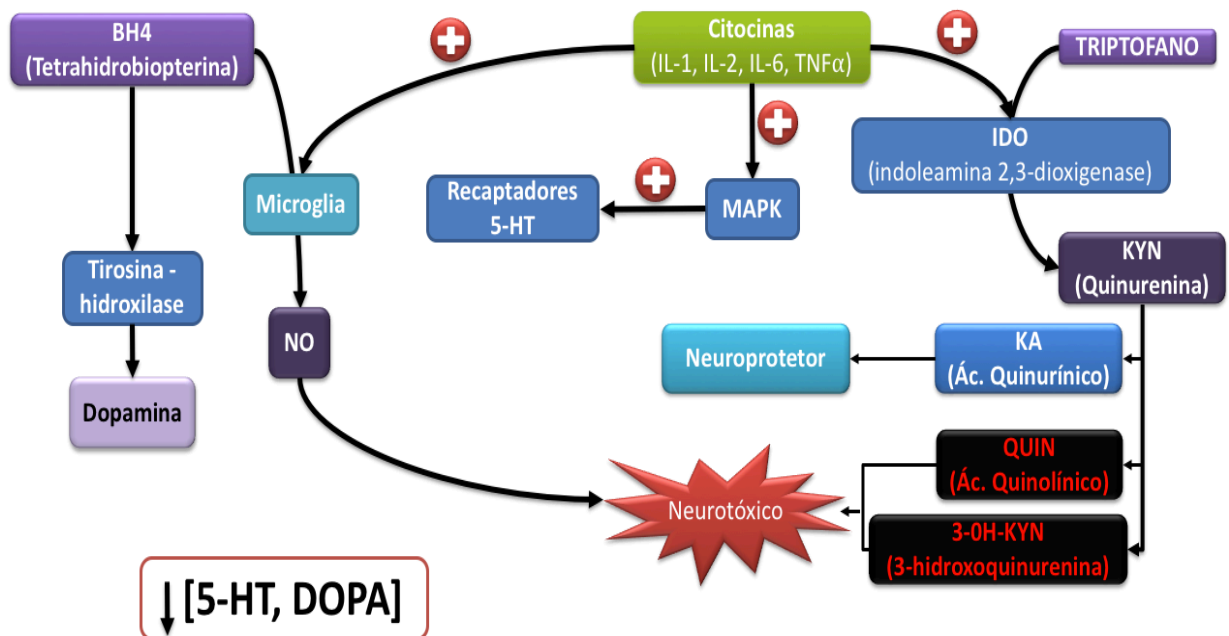


Figura 1- Relação de Citocinas Pró-inflamatórias e o Sistema Nervoso Central. Fonte: Braga, 2014.

Uma terceira teoria que vem ganhando força é a causada pelo estresse, gerando um aumento sustentado de cortisol que por sua vez provoca diminuição da atividade neuronal, que estudos mostraram ser revertido pelo uso de antidepressivos (GOMES, 2015). O eixo Hipófise-Pituitária-Adrenal (HPA) também tem demonstrado ser bastante afetado pelo estresse e presente em casos de depressão, principalmente pelo fato de gerar níveis elevados de cortisol que provocariam os sintomas depressivos (ROSA, 2014).

Sobre os fatores ambientais, existe a relação entre qualidade do meio ambiente em que o paciente vive, como situação socioeconômica, traumas, apoio social, atividade física com o desenvolvimento ou não da depressão (MILEVA, 2015).

Com base no que foi apresentado é possível perceber o quão complexo é a depressão, e como os seus mecanismos neurobiológicos precisam ainda serem estudados para ter uma melhor compreensão e tratamento da doença. Para tanto se faz necessário pesquisas com modelos animais para poder compreender um pouco mais dos mecanismos e também formas de tratamento.

O modelo mais aceito é o Estresse Crônico Imprevisível, descrito primeiro por Willner, 1997. E com o passar dos anos foi adaptado e modificado para ter melhores resultados e também para ser realizado de acordo com a realidade local. Entretanto tal modelo utiliza de 6-7 semanas de estressores, sendo excessivamente prolongado com um custo relativo, tornando-se assim necessário desenvolver novos métodos que possam ter resultados sólidos em menor tempo.



# FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

## **Classificação, Diagnóstico e Epidemiologia**

Classificar um transtorno comportamental é algo extremamente complexo, principalmente por depender de uma anamnese bastante detalhada, assim, a realização do diagnóstico diferencial da depressão leva em conta vários aspectos. Os sintomas depressivos são muito comuns e podem ser confundidos ou sobrepostos com outras doenças, podendo ainda ser confundida com negligência, alcoolismo e demência ou pode ocorrer como comorbidade de outras doenças (esclerose múltipla, hepatite, Parkinson, epilepsia, hipo e hipertireoidismo) (SOUZA, BAPTISTA, ALVES, 2015).

Deve-se também considerar que sentimentos momentâneos de tristeza, desânimo, angústia fazem parte da vida de qualquer pessoa e que esses sentimentos podem se apresentar frente a situações adversas comuns da vida como perda, fracasso, desapontamento o que pode tornar o quadro psicopatológico mascarado (PARANHOS, WERLANG, 2009) por serem sentimentos corriqueiros da vida (DEL PORTO, 2000; PERES, 2006).

Associado ao fato que não se possui marcadores bioquímicos específicos e padronizados que possam fechar um diagnóstico, e depender da subjetividade da análise, a depressão atualmente é diagnosticada principalmente por uma consulta a um psicólogo ou psiquiatra que utiliza as diretrizes indicadas pelo Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V) ou o Código Internacional de Doenças (CID-10).

De acordo com esses dois guias a depressão possui varias classificações que seguem na tabela a baixo:

**Tabela 1 - Classificação da Depressão pelo DSM-V e CID-10**

DSM-V (2014)	CID-10 (1998)		
Transtorno Disruptivo da Desregulação de humor	Episódio Depressivo	Leve	
Transtorno Depressivo Maior		Moderado	
Transtorno Depressivo Persistente (Distímia)		Grave	C/ sintoma psicótico
			S/ sintoma psicótico
Transtorno Disfórico Pré-menstrual	Outros Episódios Depressivos		
	Episódio Depressivo Não Especificado		
Transtorno Depressivo Induzido por Substância/Medicamento	Transtorno Depressivo Recorrente, Episódio Atual	Leve	
		Moderado	
Transtorno Depressivo Devido Outra Condição Médica		Grave	C/ sintoma psicótico
			S/ sintoma psicótico
Outro Transtorno Depressivo Especificado	Transtorno Depressivo Recorrente, atualmente em remissão		
Transtorno Depressivo Não Especificado	Outros Transtornos Depressivos Recorrentes		
	Transtorno Depressivo Recorrente Sem Especificação		

É importante destacar que dentre todos os quadros clínicos demonstrados anteriormente, a depressão abordada neste e na maioria dos trabalhos científicos se refere ao Transtorno Depressivo Maior (TDM) de acordo com o DSM-V (2014). Neste, o paciente deve apresentar por no mínimo duas semanas, dois sintomas principais: humor deprimido e anedonia, além de outros cinco dos sintomas característicos, que são descritos na tabela a baixo.

**Tabela 2 - Sintomas Para Diagnóstico da Depressão de acordo com o DSM-V**

Sintomas Para Diagnóstico
Humor deprimido na maior parte do dia
Diminuição do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades
Perda ou ganho significativo de peso sem estar fazendo dieta
Insônia ou hipersônia
Agitação ou retardo psicomotor
Fadiga ou perda de energia
Sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva
Capacidade diminuída para pensar ou se concentrar
Pensamentos recorrentes de morte não ideação suicida recorrente sem um plano específico, uma tentativa de suicídio ou plano específico para cometer suicídio.

Apesar das dificuldades é preciso destacar que os métodos de diagnóstico vem evoluindo com o uso de escalas e testes para se poder definir a presença da patologia, seu grau e se houve melhora no quadro clínico (SOUZA, BAPTISTA, ALVES, 2015).

No Brasil já existem alguns testes validados que identificam a presença de traços depressivos na personalidade do paciente (Escala Fatorial de Ajustamento Emocional/Neuroticismo, Bateria Fatorial de Personalidade, Inventário de Personalidade NEO), como a presença do transtorno ou de um episódio depressivo (Inventário de Depressão de Beck I e II, Escala Baptista de Depressão, Escala de Ideação Suicida, Escala de Desesperança, Rorschach, Zulliger, etc.), com esta variedade de testes se torna importante a capacitação dos profissionais para a interpretação dos mesmo e assim fechar o diagnóstico correto (ELY, NUNES, CARVALHO, 2014; CFP, 2017).

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 350 milhões de pessoas vivem com depressão e até 2020 ela se tornará a segunda maior doença no mundo (BRASIL, 2012; STOPA et al, 2015).

Pesquisas em diversos países demonstram uma diferença da prevalência da depressão em sua população, nos Estados Unidos, por exemplo, apresenta uma taxa de 7% na população de transtorno depressivo; na Europa por sua vez estudos mostram que 6,9% da população apresenta este transtorno; na Espanha 29,5% dos pacientes atendidos na atenção primária apresentaram o transtorno; em um trabalho internacional envolvendo 18 países se obteve uma prevalência de 11,1% da doença (MOLINA et al, 2012, DSM-V,2014; SLATERY, 2017).

Por sua vez, no Brasil, assim como em outros países, os estudos são escassos sobre sua epidemiologia, um estudo realizado com a população de São Paulo encontrou um total de 16% de pacientes depressivos na população estudada, outro trabalho com usuários de Unidades Básicas de Saúde se encontrou uma prevalência de 23,9% (MOLINA et al, 2012; ELY, NUNES, CARVALHO, 2014).

Porém o trabalho mais completo sobre a depressão no Brasil pertence a Stopa e colaboradores (2015), onde foram utilizados dados da Pesquisa Nacional de Saúde de 2013 e realizado um inquérito de base populacional, investigando o auto-relato do diagnóstico médico prévio de depressão, recebido

em algum momento da vida, onde foram realizadas mais de sessenta mil entrevistas e se encontrou uma prevalência da depressão em 7,6% da população.

Com relação a prevalência, todos os trabalhos encontram uma maior expressão em mulheres do que em homens, variando apenas as proporções que no geral é de duas vezes mais em mulheres do que em homens. A tabela a abaixo relata essa prevalência de forma bem significativa, onde os autores citados também encontraram em sua literatura ou pesquisa as seguintes proporções:

**Tabela 3** - Proporção de Casos Depressivos entre Homens e Mulheres

Prevalência	Fonte
Mulheres: 1,5-3 vezes mais prevalente que homens	AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014
Mulheres: 1,73% mais prevalente que homens	MOLINA et al, 2012
Mulheres: 3,2% mais prevalente que homens	DHINGRA, BANSAL, 2012
Mulheres: 10-15% mais prevalente que em homens	SLATTERY, CRYAN, 2017
Mulheres: 10-25% casos, Homens: 5-12% casos	PARANHOS, WERLANG, 2009
Mulheres: 21,4% dos casos, Homens: 12,3% dos casos	BRETANHA et al, 2015
Mulheres: 29,1% dos casos Homens: 24,8% dos casos	RAMOS et al, 2015
Mulheres: 10,9% dos casos Homens: 3,9% dos casos	STOPA et al, 2015
Mulheres: 21% dos casos Homens: 13% dos casos	MILEVAS, BIELAJEW, 2015
Mulheres: 15% dos casos Homens: 8% dos casos	GOLD, VIEIRA, PAVLATOU, 2015

Visto que esta prevalência é tão nítida, o uso de fêmeas em pesquisas envolvendo modelos de depressão seria o mais lógico, pois utilizaria uma predisposição presente no gênero para estudar esta patologia. Destacando assim a importância do nosso trabalho.

É importante também citar que a depressão pode estar associada a outras doenças como Parkinson, diabetes, Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) etc., o que torna também seu diagnóstico complexo pois em alguns casos não se pode definir que ela já estava presente antes da doença ou se a patologia levou a depressão.

É interessante notar que alguns tipos de comportamento também podem ser associados ao comportamento depressivo em alguns casos, pessoas que fumam e consomem bebida alcoólica de forma diária apresentam um risco três vezes maior de possuir T.D., porém não se tem ainda o conhecimento se o consumo de nicotina e álcool geraria o transtorno ou se a depressão promove o consumo dessas substâncias (FARINHA, 2013; MOLINA et al, 2012). Entretanto realização de atividades físicas aparenta mostrar melhora neste tipo de comportamento dos seus praticantes, onde em estudo feito por Batista e Onelas (2013), mostrou que não praticantes apresentam uma prevalência de 2,01 de depressão em relação aos que não praticam a atividade.

A relação entre a situação sócio econômica e a depressão já associada em alguns trabalhos (Stopa et al, 2013 e Molina et al, 2012) encontraram que pessoas com baixo nível de escolaridade e renda baixa, apresentavam índices maiores de depressão que as demais classes. Isso pode se dar em parte, não só as condições ambientais de estresse, levados a uma menor qualidade de vida, mas também ao fato que pessoas com maior nível socioeconômico tem mais acesso a serviços de saúde o que poderia gerar diagnósticos mais precoces e um tratamento mais efetivo.

## **Fisiopatologia**

Devido ser um transtorno multifatorial, entender como esses múltiplos fatores se associam para levar ao estado depressivo é extremamente complexo. Abaixo iremos relatar algumas das principais vias relacionadas com a fisiopatologia da depressão, em que o estresse serve como gatilho para levar as modificações bioquímicas e apresentação do quadro depressivo.

### **Teoria das Monoaminas**

A hipótese monoaminérgica foi a primeira teoria a explicar a fisiopatologia da depressão. Surgiu em 1965 e define que a depressão pode ser consequência de uma redução dos níveis de monoaminas na fenda sináptica e a

farmacoterapia envolve um aumento da concentração dessas monoaminas na fenda (PEREIRA, 2011; PIZINI, 2013).

Inicialmente, foi baseada na deficiência da NA e 5-HT, pois ao se observar a ação dos antidepressivos a maioria age como inibidores dos recaptadores desses neurotransmissores no neurônio pré-sináptico (ex: imipramina), com o tempo a diminuição da dopamina também foi relatada em alguns casos de depressão (SIBA, 2013). É possível ter uma melhor visualização desses dois sistemas de neurotransmissão a partir das ilustrações a seguir.

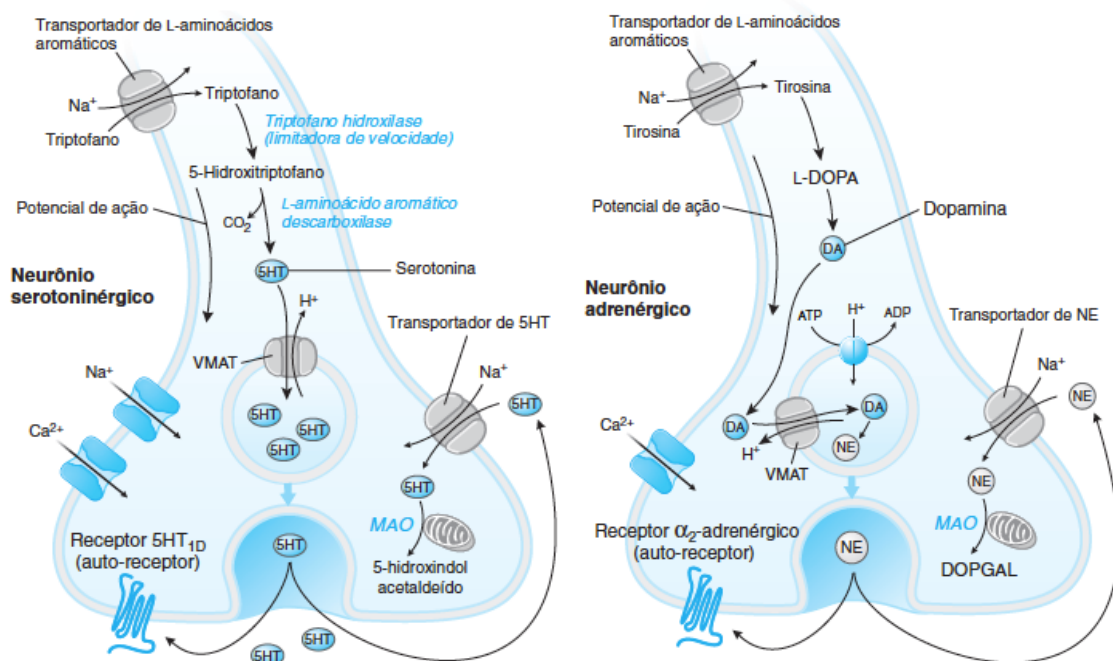


Figura 2- Neurotransmissão Serotonérgica e Noradrenérgica. Fonte: Golan et al, 2009.

Vários estudos corroboram com esta hipótese, pois indicam que importantes alterações nos sistemas serotonérgico e noradrenérgico estão relacionadas com o sucesso do tratamento farmacológico antidepressivo (PIZINI, 2013).

Esta hipótese, foi por muito tempo considerada o único mecanismo elucidado que justificasse o quadro depressivo e, que possuísse alvos para novos fármacos ou melhoria dos que já existiam (WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2012).

Entretanto esta teoria é considerada reducionista, uma vez que não explica o motivo no qual muitos antidepressivos apresentam um período de

latência para início do efeito terapêutico – aproximadamente em 40% dos pacientes - (PEREIRA, 2011). Analisando esta limitação, pesquisas foram direcionadas para outras prováveis vias que levassem ao comportamento depressivo, como por exemplo, o estresse que sempre esteve associado como gatilho para o transtorno depressivo maior. Assim iniciaram-se estudos desta relação bioquímica e farmacológica entre o estresse e a depressão.

### Estresse e Depressão

O estresse é um evento necessário ao organismo, ele sinaliza para situações de perigo, deixando o indivíduo em estado de alerta, e assim o preparando para reagir de forma efetiva ao estressor, porém quando o estresse perdura por mais tempo ele é tóxico ao corpo e pode levar a vários problemas, como desregulação hormonal e problemas neurotóxicos (SIBA, 2013). Ele pode ser dividido em três componentes principais: 1) o estressor, estímulo que perturba a homeostase; 2) estresse, aquilo que o cérebro percebe quando é confrontado com a alteração da homeostase; 3) resposta ao estresse, que é como o cérebro vai reagir diante do que lhe foi exposto e as reações fisiológicas/comportamentais que se seguem para enfrentar o estressor (GOLDSTEIN, 2010). É importante frisar que esta resposta ao estresse, pode levar a uma resposta adaptativa que busca resistir ou contornar o estressor, para que o organismo retorne a homeostase. Caso o processo seja muito intenso ou persistente - semanas, meses ou anos - pode vir a ocasionar diversos problemas ao organismo, como por exemplo: efeito deletério em órgãos do sistema circulatório, gastrointestinal, imunológico e SNC; promovendo então o surgimento de transtornos metabólicos e comportamentais; e por fim levar a exaustão do organismo podendo levar a morte por esgotamento (SIBA, 2013; ZIMMERMANN, 2013; MARTINO, 2014).

Os sistemas fisiológicos envolvidos nesta resposta são o sistema nervoso autônomo simpático e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), atuando em conjunto impulsionando a secreção de catecolaminas e glicocorticóides (GC) em circuitos de feedback negativo, resultando nas primeiras respostas fisiológicas ao estresse (GIONGO, 2016). Estes mecanismos proporcionam um reforço as funções do cérebro relacionadas a concentração, que irão focar na ameaça

observada (estressor), em paralelo o débito cardíaco e a respiração estão acelerados, o catabolismo aumenta, o fluxo do sangue é redirecionado para os locais ameaçados, preparando o organismo para reação de luta ou fuga (ZIMMERMANN, 2013).

Muitos trabalhos têm demonstrado uma forte ligação do estresse com a depressão, tendo relação direta com o eixo HPA, onde em situações de estresse muito intenso ou crônica, pode ocorrer uma desregulação deste eixo, levando a uma exacerbação da liberação de GC que em excesso possuem atividade neurotóxica, principalmente ao atuar em regiões específicas como hipocampo e córtex pré-frontal, causando alterações plásticas e estruturais nesses locais que são características em indivíduos com TDM (PEREIRA, 2011).

#### Eixo Hipófise-Pituitária-Adrenal (HPA)

O eixo HPA realiza suas atividades da seguinte forma, o estímulo estressor (seja externo ou interno) chega as células dos núcleos paraventriculares hipotalâmicos, e promove a secreção do fator (hormônio) de liberação da corticotrofina (CRF/CRH) e vasopressina, ao ser lançado na microcirculação hipofisária, o CRH estimula a pituitária (hipófise anterior) a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que é distribuído na circulação sanguínea, ao chegar na glândula adrenal, levará a produção de glicocorticoides no seu córtex, entre eles o cortisol (corticosterona em roedores), estes por sua vez irão modular a atividade do eixo HPA de forma negativa (feedback negativo), promovendo um estímulo inibitório à produção de CRH e ACTH agindo sobre o hipocampo e hipotálamo (BITENCOURT, 2008; SIBA, 2013; WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013; VILELA, JUREMA, 2014; GIONGO, 2016).

A amígdala e o hipocampo possuem papel importante na regulação deste eixo, exercendo controle excitatório sobre o hipotálamo, a amígdala estimula o eixo HPA, que sofre feedback positivo pelo cortisol quando em níveis elevados; por sua vez o hipocampo exerce controle inibitório sobre o eixo HPA, onde o cortisol atua de forma negativa sobre ele promovendo a inibição do eixo (WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013).



O feedback negativo deste eixo é de extrema importância, uma vez que sua desregulação pode promover níveis desregulados de cortisol que podem levar a sérios problemas para o organismo, esta desregulação vem sendo associada como um dos fatores para o TDM, devido níveis de cortisol estarem elevados no sangue de pacientes deprimidos (BITENCOURT, 2008; GIONGO, 2016). A figura 3 a seguir nos traz de forma didática o funcionamento deste eixo.

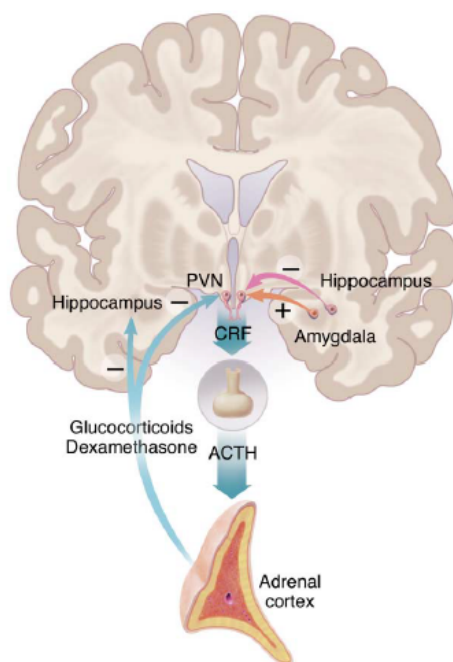


Figura 3- Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal. Núcleos Paraventriculares Hipotalâmicos (PVN); Fator de Liberação da Corticotrofina (CRF); Hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH). Fonte:Nestler et al, 2012.

### Eixo HPA e Depressão

O eixo HPA como exposto anteriormente, possui vários pontos regulatórios, que visam assim impedir que ocorra a sua desregulação e com isso ter um controle melhor dos níveis de cortisol, pois o mesmo em níveis elevados pode levar a diversos problemas, entre eles morte neuronal, diminuição da neurogênese que pode acarretar redução das atividades cognitivas (PIZINI, 2013).

Esta desregulação pode ocorrer por vários fatores como um estresse mais intenso e prolongado, que induz a liberação excessiva de cortisol

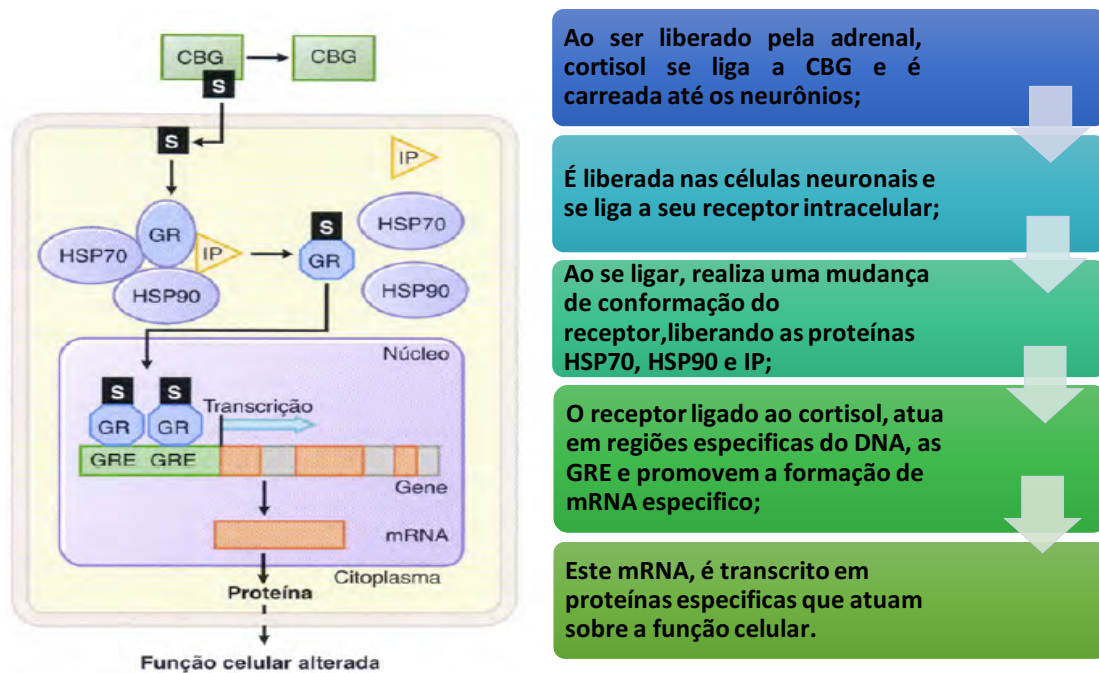
(ZIMMERMANN, 2013), defeitos no processo de feedback negativo (SIBA, 2013), desregulação do sistema imune, com a elevação crônica de diversas citocinas como IL-6 e TNF- $\alpha$  (BRAGA, CAMPAR, 2014).

Como resposta a estes níveis elevados de glicocorticoides (GC), ocorre uma dessensibilização dos seus receptores no hipotálamo, reduzindo seu efeito inibitório no feedback negativo, hipertrofia da pituitária e adrenal, alterações metabólicas, comportamentais, no sistema imune, além de diminuição da neuroplasticidade, redução do volume hipocampal e inibição dos sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico (SIBA, 2013, MARTINO, 2014).

O mecanismo que causa esta dessensibilização é complexo, pois o cortisol como glicocorticoide atua em nível na regulação de produção proteica, sobre receptores glucocorticóides (GR) ou tipo II, com presença especial no hipocampo (MARTINO, 2014).

Brunton, Chabner e Knollmann (2012) explicam que o mecanismo que envolve este processo está relacionado com a expressão gênica de um receptor truncado (GR $\beta$ ), que é incapaz de se ligar ao cortisol ou de ativar a expressão gênica do receptor efetor (GR $\alpha$ ), a expressão do GR $\beta$  é promovida por citocinas inflamatórias, fator de necrose tumoral e também a polimorfismos, que podem ser gerados pela atividade excessiva do receptor GR $\alpha$ , visto que o mesmo atua em sequências gênicas e quando hiperestimulado pelos níveis elevados de cortisol pode levar a produção do receptor truncado.

A forma como o cortisol realiza essa transcrição gênica pode ser observada na figura 4 a seguir.



Ao ser liberado pela adrenal, cortisol se liga a CBG e é carregado até os neurônios;

É liberada nas células neuronais e se liga a seu receptor intracelular;

Ao se ligar, realiza uma mudança de conformação do receptor, liberando as proteínas HSP70, HSP90 e IP;

O receptor ligado ao cortisol, atua em regiões específicas do DNA, as GRE e promovem a formação de mRNA específico;

Este mRNA, é transcrito em proteínas específicas que atuam sobre a função celular.

Figura 4- Mecanismo Molecular do Cortisol. CGB, Globulina de Ligação de Corticosteroides; S, Cortisol; GR, Receptor de Glicocorticoides; HSP70, Proteína de Choque Térmico de 70Kd; HSP90, Proteína de Choque Térmico de 90Kd; IP, Imunofilina; GRE, Elemento de Resposta a Glicocorticoides. Fonte: BRUNTON, CHABNER, KNOLLMAN, 2012.

Para os neurônios essa desregulação dos GC é extremamente prejudicial, pois promove uma hiperativação de enzimas dependentes de cálcio levando à produção de radicais livres neurotóxicos, diminuição no transporte de glicose para o interior da célula e uma redução da produção de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) que fornece suporte trófico à estrutura e função celular (WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013).

Estes efeitos sobre o SNC, refletem em alterações comportamentais como o TDM por exemplo, várias pesquisas já encontram níveis elevados de cortisol (hipercortisolemia) no plasma, urina e fluido cerebrospinal, além de redução dendrítica de neurônios piramidais e volume do giro denteado e hipocampo, elevação dos níveis de mediadores do eixo HPA (CRH, ADH), diminuição dos níveis de BDNF, alargamento da pituitária e adrenal em resposta a excessiva estimulação; importante registrar que ao se utilizar antagonistas do receptor CRF é possível observar reversão de sintomas depressivos, o que indicaria relação direta do sistema HPA e depressão (BITENCOURT, 2008; pereira, 2011; MARTINO, 2014; VILELA, JUREMA, 2014).

Além dos sintomas depressivos a hipercortisolemia também está presente em outras alterações comportamentais como distúrbios do sono, redução da atenção e libido, ansiedade, distúrbios psicomotores, efeitos negativos no humor, memória e aprendizado (WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013; MARTINO, 2014; VILELA, JUREMA, 2014). Outro ponto importante foi identificar uma presença maior de hipercortisolemia em mulheres do que em homens, o que é semelhante quando comparada com a depressão (VILELA, JUREMA, 2014).

Estes níveis elevados também atuam sobre enzimas presentes na fenda sináptica, as monoaminooxidases, que são responsáveis pela degradação de neurotransmissores na fenda, tem sua atividade aumentada pelo cortisol, o que gera uma diminuição da concentração dos níveis cerebrais de NA e 5-HT, o que correlacionaria a teoria das monoaminas com a desregulação do eixo HPA e a depressão (WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013).

A desregulação da concentração do GC também atua diretamente sobre o sistema imunológico podendo levar a exacerbação e perpetuação do processo inflamatório e gerar um quadro de inflamação crônica (IC) (BRAGA, CAMPAR, 2014). Com este processo IC, ocorre a liberação contínua de citocinas pró-inflamatórias de macrófagos e células da microglia, que contribuem para a dessensibilização do GR e estimulam o eixo HPA (WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013). O CRH também aparenta possuir uma relação com o sistema imune, onde a elevação de níveis de IL-6 no SNC, promove a produção e secreção de CRH que além de atuar no eixo HPA, ativa varias células do sistema imunológico como macrófagos, astrócitos e a micróglia para liberação de citocinas pró-inflamatórias, essas por sua vez podem prejudicar a neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica, levando a sintomas depressivos (VISMARI, ALVES, NETO, 2008). Esta relação de processos inflamatórios e depressão também pode ser embasada pelo comportamento de doença, que é bastante presente em mamíferos, onde na presença de alguma infecção ou processo inflamatório e caracteriza-se por sintomas de tipo depressivo como letargia, isolamento, astenia, inibição, anorexia, ansiedade e redução da função reprodutora (BRAGA, CAMPAR, 2014).

Por fim, a relação da desregulação do eixo HPA com estressores externos pode se relacionar em alguns casos a partir de traumas antes ou após o

nascimento, que podem levar à metilação do gene do promotor do receptor cerebral GR, reduzindo sua expressão ao longo da vida do indivíduo, afetando assim o feedback negativo e gerando uma hiperreatividade ao eixo HPA, podendo assim tornar a pessoa mais susceptível a depressão e outros transtornos mentais (MARTINO, 2014). Na maioria dos episódios depressivos (60%) são antecidos pela ocorrência de fatores estressantes, que pode levar ao aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticóides, gerando a desregulação do eixo (HPA) (PIZINI, 2013). A figura 5 a seguir correlaciona o como o estresse ao desencadear a hipercortisolemia pode resultar em alterações neuroquímicas que promovam o comportamento depressivo.

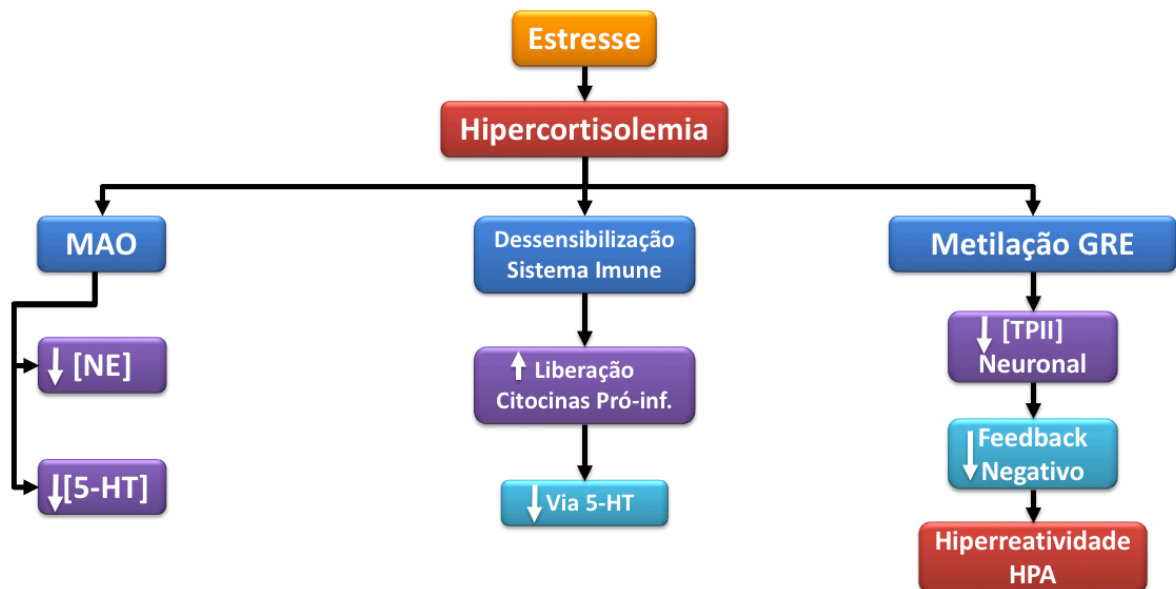


Figura 5- Relação Estresse e a Hipercortisolemia, seus efeitos sobre os sistemas fisiológicos. Fonte: Própria.

### Estruturas Cerebrais Envolvidas na Depressão

A natureza heterogênea da depressão sugere o envolvimento de múltiplas regiões cerebrais na fisiopatologia desta doença, evidências crescentes tem demonstrado que estas regiões podem estar agindo como mediadores desta diversidade de sintomas, onde por meio de estudos com neuroimagem, observou-se o envolvimento principalmente do hipocampo e do córtex pré-frontal, possivelmente associados às disfunções cognitivas presentes no transtorno, outras estruturas como hipotálamo, amígdala, tálamo, giro cingulado também teriam relação com o TDM, seja por problemas de plasticidade,

comunicação ou redução da carga neural que levaria ao quadro patológico (PEREIRA, 2011; PIZINI, 2013).

Dentre as estruturas acima citadas, a amígdala, é uma estrutura chave no processamento do estresse, que estabelece uma alta conectividade com o cérebro, buscando assim a detecção de estímulos potencialmente perigosos, para a contribuição de um tom emocional para as experiências, e memórias e ativação da resposta ao estresse (MARTINO, 2014).

O córtex pré-frontal (CPF) tem se destacado devido suas conexões com a amígdala, núcleo *accumbens* e outras estruturas límbicas, desempenhando atividade inibitória em resposta ao estresse, além de atuar sobre funções mais complexas como memória, aprendizado, tomada de decisões e modulação endócrina ao estresse. O feedback negativo descendente sobre o eixo HPA também é exercido pelo CPF (PEREIRA, 2011, WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013; MARTINO, 2014).

Como principal estrutura estudada e relacionada a depressão, o hipocampo está localizado em ambos os lobos temporais medianos e neste local as lembranças explícitas e contextuais são armazenadas, e assim como o CPF, age inibindo o estresse atuando sobre a amígdala (MARTINO, 2014). Estudos estruturais de imagens relataram que existe uma diminuição confiável no volume do hipocampo em pacientes com TDM, alterações neuroquímicas e estruturais observadas no hipocampo desses pacientes é muito semelhante ao observado após exposição prolongada a estresse ou altos níveis de glicocorticóides circulantes (WILLNER, KRUGER, BELZUNG, 2013).

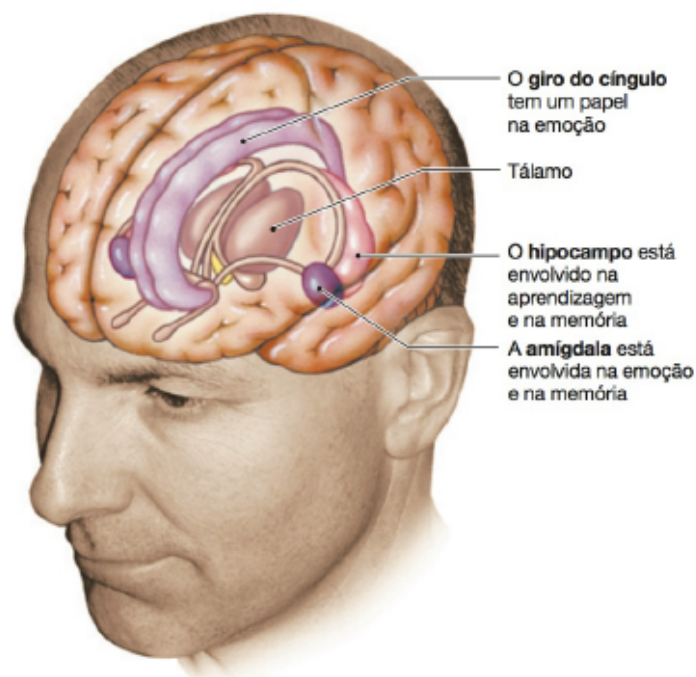


Figura 6- Sistema Límbico. Fonte:Silverthorn, 2010.

## Tratamento

Apesar de ser uma patologia tão antiga, apenas em meados de 1950 os primeiros antidepressivos foram descobertos, porém apenas anos mais tarde seu mecanismo de ação foi elucidado (BAPTISTA, 2015; VISMAR, ALVES, NETO, 2008).

As principais classes conhecidas são os inibidores da monoaminoxidase (IMAO), antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN) (GOLAN et al, 2009).

Os IMAO foram uma das primeiras classes a serem descobertas, a monoaminoxidase é a enzima responsável pelo catabolismo de moléculas monoaminérgicas na fenda sináptica, ao se inibir a ação da enzima, estes fármacos provocam um aumento da quantidade destes neurotransmissores na fenda e assim promovem o efeito antidepressivo, apesar de muito utilizados apresentam vários efeitos adversos, sendo atualmente, variantes dos fármacos originais ainda disponíveis (BAPTISTA, 2015).

Assim como os IMAO, os antidepressivos tricíclicos foram uma das primeiras famílias a serem descobertas, seu nome se da devido à sua estrutura química comum, que consiste em três anéis que incluem dois anéis aromáticos fixados a um anel de ciclo-heptano (GOLAN et al, 2009). Atuam principalmente bloqueando transportadores pré-sinápticos de recaptção de 5-HT e de NE, promovendo um aumento da disponibilidade destes neurotransmissores na fenda sináptica, além de efeito antidepressivo podem ser usados em outros transtornos como transtorno obsessivo-compulsivo, transtorno de estresse pós-traumático e fibromialgia dentre outros (BAPTISTA, 2015).

Apenas trinta anos após a descoberta destas duas classes surgiram os ISRSs, eles bloqueiam a ação das proteínas pré-sinápticas recaptadoras de serotonina, com uma alta seletividade (20-1.500 vezes). Atualmente são comumente o primeiro passo em tratamentos antidepressivos apesar de alguns pacientes ainda não responderem de forma satisfatória ou reclamarem de alguns efeitos colaterais indesejáveis como náuseas, insônia e disfunções sexuais (VISMAR, ALVES, NETO, 2008; BAPTISTA, 2015; FERNANDES et al, 2012; FLECK et al 2009).

Os IRSN surgiram como uma alternativa aos pacientes não responsivos aos ISRS, onde sua atuação varia de acordo com sua concentração, em baixas doses se comportam como ISRS, por sua vez quando é elevado atuam também em receptores NE, o que torna uma vantagem desta classe pois isto lhe da um maior espectro de ação, outra vantagem é a redução dos efeitos colaterais e poder ser utilizado para tratamento de cor crônica associada a depressão (GOLAN et al, 2009; FLECK et al, 2009; MENEZES et al, 2008).

Outros potenciais alvos farmacológicos que vem sendo descritos nas pesquisas são os receptores canabinóides, que apresentam atividade antidepressiva e também ansiolítica em modelos animais, além de elevarem níveis de neurotrofinas, induzir a neurogênese hipocampal e supressão do hormônio do estresse, porém ainda são necessários mais estudos devido a tolerância desses receptores, efeitos sedativos e prejudicar o aprendizado e a memória (SAITO, WOTJAK, MOREIRA, 2010).

Por sua vez os antagonistas dos receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) tem se mostrado fármacos promissores, exercem efeito antidepressivo de forma rápida e robusta até em pacientes com maior resistência, iniciando seu efeito em



duas horas após sua administração e mantendo por até 72 horas (ASSIS et al, 2009; LI et al, 2014; BAPTISTA, 2015).

Um ponto que vem sendo bastante estudado é a relação como estes medicamentos podem interagir com o sistema imune, pois como vimos anteriormente este pode sim estar relacionado diretamente com o transtorno depressivo maior. Em seu estudo, Vismar, Alves e Neto (2008) trazem que alguns medicamentos antidepressivos (fluoxetina e clomipramina) podem afetar diretamente a produção de citocinas inflamatórias, além de inibição da substância P, ou estimulação de citocinas antiinflamatórias e assim inibindo a produção de prostaglandinas, óxido nítrico, etc., fundamentais neste processo.

Apesar de todos os avanços e pesquisas a não adesão ao tratamento é ainda é comum, chegando a atingir 30% dos pacientes com TDM que não responde à sua primeira terapia antidepressiva e apenas 20 a 40% dos pacientes tratados conseguem remissão total (LEPINE et al, 2012). Dentre os fatores que podem interferir nessa não adesão Cunha e Gandini (2009) propuseram os seguintes interferentes:

- Intrapessoais - Crença no tratamento, aceitação da doença, motivação;
- Interpessoal - Comunicação e acompanhamento do profissional de saúde, apoio de amigos e familiares;
- Contextual - Disponibilidade do profissional de saúde, localização do serviço, gratuidade da medicação;
- Tratamento - Efeito adverso e colaterais da medicação, período de latência, resistência.

Dentre os fatores que interferem no cumprimento do tratamento o período de latência e a intolerância as medicações tem sido um dos principais, em média se leva de duas a quatro semanas para se obterem os efeitos desejados, e após este período um terço dos pacientes podem apresentar resistência ao tratamento, o que se faz necessário a pesquisa constante por novos fármacos que possam diminuir este tempo e resistência (ASSIS et al, 2009; LEPINE et al, 2012; BAPTISTA, 2015).

Neste ponto é que as pesquisas pré-clínicas se tornam tão importantes para o desenvolvimento de novos fármacos, pois é o passo inicial para se identificar substâncias que possam se tornar potenciais medicamentos, e é nesse processo que o desenvolvimento de técnicas que tentem mimetizar a patologia de forma econômica e efetiva e a mais similar possível a encontrada em humanos que se faz necessário o desenvolvimento e padronização de metodologias pré-clínicas.

### **Evidências Não-Clínicas**

Modelos animais são uma ferramenta importante na pesquisa, que busca simular como determinados procedimentos ou substâncias poderiam se comportar no organismo humano baseado na resposta obtida em animais que possuem alguma similaridade fisiológica. O primeiro estudo científico conhecido com modelos animais retrata de 1638 (MIXIARA et al, 2012).

Como ferramentas para o uso de animais temos o uso de modelos e testes, onde modelos podem ser definidos como construções que buscam mimetizar determinado quadro patológico, onde o objetivo final é observar similaridades em vários níveis com o transtorno mental estudado. Testes por sua vez não busca similaridades na patologia e sim determinar ou não a presença de um efeito (ALMEIDA, 2006).

Em estudos com depressão o uso de modelos e testes animais é bastante utilizado, isso se deve ao fato de que frente a drogas antidepressivas são observados diminuição do tempo de imobilidade em testes de situação de luta ou fuga que buscam identificar comportamento de autopreservação, que com uso de antidepressivos aparenta melhora nos animais, associado ao fato de que em experimentos de estresse crônico ocorre a depleção noradrenérgica central o que também é encontrado em pessoas com depressão (DIAS, 2009).

Os testes comportamentais buscam a eficácia de drogas antidepressivas após administração aguda ou crônica, os mais usados são o teste de nado forçado, teste de suspensão da cauda e mais recentemente o teste da borrifagem de sacarose (splash test) (CALDARONE, ZACHARIOU, KING, 2015).

Os modelos comportamentais por sua vez podem ser crônicos ou agudos, dentre os crônicos temos o desamparo aprendido, derrota social, e o estresse crônico imprevisível onde os animais são expostos a uma série de estressores diferentes de forma aleatória, como mudanças de luz, temperatura, mudanças em companheiros de gaiola, gaiolas inclinadas por um período de tempo, maravalha molhada e barulho alto, dentre outros. Esta exposição prolongada aos estressores produz mudanças no comportamento do tipo depressivo que podem ser revertidas pelo uso de antidepressivos (CALDARONE, ZACHARIOU, KING, 2015; FAROQ et al, 2012; LI et al, 2009).

Almeida, 2006 trás um ponto importante sobre a escolha de um modelo animal, e fala que deve ser levar em consideração ao menos dois fatores, a fidedignidade e validade. Onde modelos fidedignos são aqueles que apresentam consistência e estabilidade, podem ser reproduzidos de forma confiável gerando o mesmo resultado final; A validade por sua vez busca certificar que determinada metodologia cumpre o o seu objetivo e se subdivide em seis aspectos que seguem:

- Validade Preditiva – Capacidade em prevê algum aspecto clínico relevante para a pesquisa;
- Validade de Construção – Avalia a similaridade com os processos que levam ao comportamento no modelo a a patologia que pretende ser estudada;
- Validade de Contéudo - Precisão do modelo e quantificar/medir a presença da patologia desejada;
- Validade Etiológica – Quando o modelo e o quadro clínico possuem a mesma etiologia;
- Validade Discriminante – Descrever o nível correlação entre os modelos que buscam avaliar o quadro clínico estudado com os utilizados para patologias diferentes;
- Validade de Face – Similaridade entre o comportamento encontrado no animal e os sintomas específicos da doença.

Devido possuírem vários aspectos distintos é difícil um modelo cumprir todos estes pontos, entretanto a escolha de técnicas que tenham o máximo de

validades presentes é importante par que o estudo não seja questionado devido uso de metodologias não confiáveis.

Dentre os estudos não clínicos da depressão, o estresse imprevisível crônico é um dos mais utilizados, foi padronizado por Wilner e colaboradores inicialmente em 1997 e, desde e então vem sendo utilizada em diversas pesquisas internacionais com mais de 230 publicações até o ano de 2015 (WILLNER, 2017).

A partir deste modelo, nosso trabalho buscou adaptar esta metodologia, tornando à mais eficaz e utilizando um menor tempo (quatorze dias) através do uso intenso de estressores específicos de forma imprevisível. Buscando ao final uma técnica de fácil reprodução, para ser utilizada em outros laboratórios de pesquisa o que torna de extrema importância a pesquisa que foi realizada.

# OBJETIVOS

## **Geral**

- Realizar a padronização de um modelo de estresse sub-crônico imprevisível para indução da depressão em camundongos fêmeas.

## **Específicos**

- Estudar uma série de estressores diferentes de maneira imprevisível para padronizar um modelo de estresse sub-crônico imprevisível para indução da depressão;
- Avaliar a atividade locomotora espontânea utilizando o teste do campo aberto;
- Utilizar os testes comportamentais da suspensão da cauda e splash test para avaliação da atividade depressiva e de sua reversão pela imipramina;
- Realizar diariamente o registro do ganho e/ou perda ponderal dos animais.

## **METODOLOGIA**

### **Animais**

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) Swiss, fêmeas com dois a três meses de vida, pesando entre 25-35g, provenientes do Biotério Prof. Thomas George, do Instituto de Pesquisa de Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Para o melhor controle das condições experimentais, os animais permaneceram em salas diferentes, tendo livre acesso à água e ração, mantidos a uma temperatura de  $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ , em ciclo claro/escuro de 12h. Os animais foram alocados em gaiolas de polietileno, com no máximo 5 camundongos por caixa.

Os procedimentos experimentais foram feitos de acordo com as recomendações da Lei 11.794 de 08/10/2008 (Lei Arouca) e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais/UFPB (Protocolo N°046/2016).

### **Drogas e tratamento**

A droga padrão utilizada foi a imipramina (Novartis Biociências, São Paulo, Brasil), sendo dissolvida em solução salina (0.9% w/v cloreto de sódio) e administrada por via oral (v.o.) numa dose de 15 mg / kg (Dhingra, Bansal, 2014). O grupo estresse recebeu por via oral solução salina (0.9% w/v cloreto de sódio) ambos em proporção de 10 ml/kg de animal. Os grupos iniciaram o tratamento nos últimos 6 dias de experimento.

### **Métodos**

#### **Procedimento Experimental**

O modelo utilizado se remete ao protocolo de estresse sub-crônico imprevisível, adaptado do procedimento descrito por Moretti et al. (2012) e Deng et al (2015). Consiste na aplicação de uma série de estressores diferentes duas

ou três vezes ao dia de forma randomizada e inesperada por um período de 14 dias.

Os animais foram distribuídos em três grupos:

- I) Controle (não estressado), n-10;
- II) Estresse, n-10;
- III) Estresse + Imipramina, n-9;

Foram alocados em caixas de polietileno de medidas 30x20x13, com capacidade de 5 animais por caixa.

Inicialmente, os animais foram adaptados por 5 dias ao ambiente do laboratório e aos experimentadores e tiveram seu peso aferido uma vez ao dia (Schmidt et al, 2010). Para evitar possíveis interferências comportamentais, os animais dos grupos II e III foram mantidos em sala separada do grupo I. Segue o cronograma do experimento.

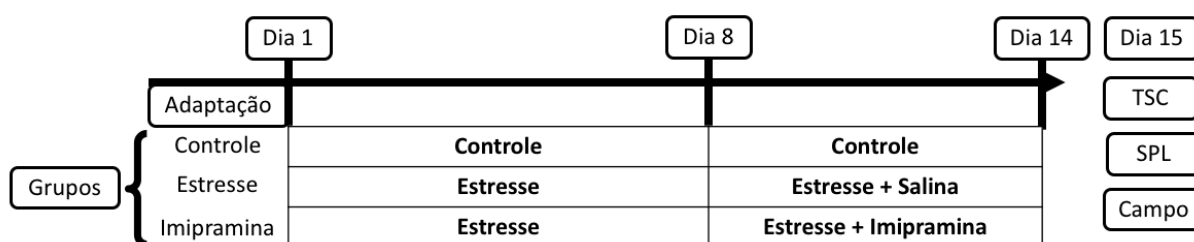


Figura 7 - Cronograma do experimento. Fonte: Própria.

Após os 5 dias de adaptação, iniciou-se a aplicação dos estressores. Ressaltamos, que a leitura do ciclo estral ocorreu no primeiro (1º) e no décimo quarto dia (14º) e, esta leitura foi registrada como estressor.

Detalhamento dos estressores:

- Nado frio foi realizado em uma temperatura de  $15^{\circ}\text{C} \pm 1$ , colocando um animal por vez em recipiente cilíndrico aberto (10 cm de diâmetro e 25 cm de altura). Entre cada animal foi realizada a troca de água e limpeza do recipiente.
- Choque inescapável: foi aplicado na caixa de Skinner que consiste em uma caixa plástica de 50 x 25 x 25 cm com uma parede de vidro dianteira, cujo piso tinha barras de bronze paralelas de 10 mm. Os camundongos foram colocados sobre a grade e receberam uma corrente elétrica (choque) de 0,7 mA a cada 10s por 3min.

- Oscilação da caixa: consistiu na agitação das próprias caixas/gaiolas dos animais, utilizando movimentos suaves.
- Superlotação da caixa: os animais que eram alocados em grupos de 5 por caixa, foram colocados em grupos de 10 ou 9.
- Inversão do Ciclo claro-escuro: os animais permaneceram com luzes acesas durante a noite e durante o dia são desligadas.
- Restrição do espaço: os animais foram alocados individualmente em pequenos espaços (potes), com restrição parcial de movimentação e permaneceram ali durante uma hora.
- Inclinação da caixa em 45°: foram colocadas bases de madeira sob as caixas a fim de promover a inclinação adequada.
- Maravalha molhada: foi colocado água sobre a maravalha da caixa dos animais, em uma proporção de 100/50 (maravalha/água).
- Som do predador consistiu de ruídos selvagens por um período de 6 ou 12 h.

No décimo quinto (15<sup>o</sup>) dia após a aplicação dos estressores, todos os grupos foram submetidos aos testes comportamentais: suspensão da cauda, splash test e campo aberto, na mesma sequência. Após os testes, os animais foram eutanasiados e o hipocampo removido para posterior análise das catecolaminas.

#### Avaliação da evolução ponderal

Comida e água foram ofertadas *ad libitum*, e os animais foram pesados diariamente em horário fixo durante a semana de adaptação e durante a aplicação dos estressores (antes da aplicação de salina e imipramina).

#### Teste de Suspensão da Cauda

Neste teste os camundongos são suspensos pela cauda a 50 cm do chão e presos por uma fita adesiva aproximadamente a 1cm da ponta final da cauda (Porsolt et al., 1987). O teste tem duração de 6 min, e para análise os 2 minutos iniciais foram desprezados (Deng et al, 2015). Os parâmetros analisados foram: a) tempo de latência para a imobilidade e, b) tempo total de imobilidade.



### Borrifagem de Sacarose (Splash Test)

Este teste consiste em borrifar uma solução aquosa contendo 10% de sacarose no dorso do animal, e em seguida coloca-o em caixas isoladas por 5 min, a fim de verificar: a) latência e, b) o tempo total do grooming (Rosa, 2014). A sacarose por ser uma solução viscosa causa uma sensação de sujeira ao animal que em comportamento normal irá realizar o processo de limpeza corporal, o autocuidado do animal é considerado um comportamento motivacional, que se opõe aos sintomas depressivos.

### Campo aberto

Busca-se observar o comportamento exploratório e a locomoção dos animais, por um período de 05 minutos, através: a) do registro do número de cruzamentos entre os quadrantes; b) percentual de tempo gasto no centro (tempo no centro/tempo nas extremidades)\*100; c) Quantidade de rearings realizada e a latência para a primeira ocorrência (Almeida, 2006).

O campo é feito de polietileno com medidas de 40 × 60 × 50 cm de altura e o piso possui 12 quadrados iguais. O aparelho foi limpo com uma solução de 10% de etanol entre os animais para ocultar possíveis pistas de animais.

### Gravação e análise dos vídeos

Todos os testes comportamentais, foram gravados utilizando uma câmera digital Canon t3i™.

I) Em seguida os vídeos foram editados pelo programa Adobe Premiere Pro C6® para o tempo de análise indicado para cada teste;

II) Um voluntário, não membro da pesquisa, foi selecionado para fazer a renomeação dos vídeos por meio de códigos;

III) Após, os mesmos vídeos foram distribuídos para dois analistas diferentes (previamente treinados) afim de analisarem e registrarem os comportamentos observados;

IV) Após, os dados foram enviados para um terceiro analista, e em casos discrepantes, este terceiro analista realizava uma última apreciação dos vídeos;

V) Após, concluída toda a análise dos vídeos, o voluntário informou a codificação original dos grupos.

#### Análise estatística

Os dados apresentados neste trabalho foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. Os dados foram inicialmente submetidos ao teste de Shapiro para avaliar a normalidade. As comparações entre os grupos foram por meio do teste ANOVA de uma via ou duas vias, seguida pelo *post-hoc* de Dunnet, Bonferroni ou Tukey. O teste estatístico utilizado para cada série experimental está descrito na legenda das figuras. Foram considerados significativos os valores de  $p < 0,05$ . Para estas análises foi utilizado o software Graphpad Prism® 6.

## RESULTADOS

### Avaliação Da Evolução Ponderal

Através desta avaliação continuada do peso dos animais, ao final dos 14 dias da aplicação dos estressores, foi possível perceber que os grupos estresse e estresse + imipramina tiveram seu peso reduzido de forma significativa em relação ao grupo controle, conforme evidenciado na Figura 4.

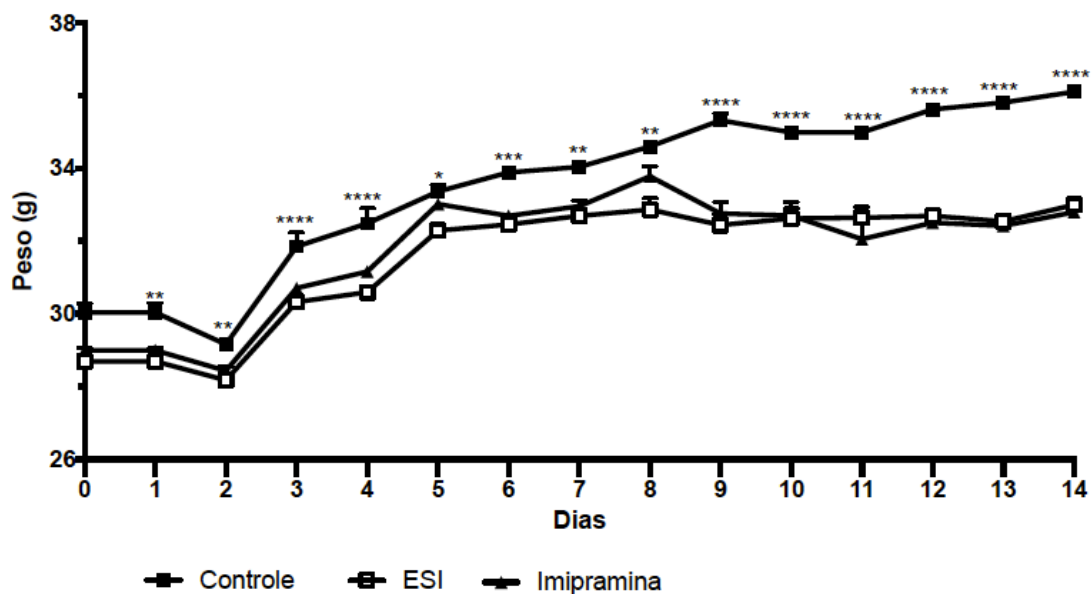


Figura 8 - Evolução Ponderal dos Animais durante os quatorze dias de experimentação (n: 9-10). ANOVA "medidas repetidas" teste Bonferroni. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,001$ . (n=9-10).

Outro dado que pode ser extraído desta avaliação é o comportamento do ganho de peso, que ao se dividir em períodos de tempo é possível perceber que do dia 1 ao dia 4 os animais tiveram alterações de ganho e perda de peso, indicando uma adaptação ao procedimento, em seguida do período dos dias 5 a 8 ocorreu um ganho em todos os grupos, e nos dias 9 a 14 os grupos que passaram pelo estresse iniciaram o processo de perda de peso em relação ao grupo controle.

No dia 0 a diferença no peso dos animais foi eliminada ao se realizar uma homogeneização dos dados obtidos.

## Teste De Suspensão Da Cauda

No teste de avaliação da atividade depressiva, os animais do grupo estresse apresentaram um aumento no tempo de imobilidade (Figura 5-A) em relação ao grupo controle ( $F(2,18)=7.371$ ,  $P=0.0046$ ) de forma significativa. Foi observado que a imipramina neste teste não conseguiu reduzir o tempo de imobilidade causado pelo estresse.

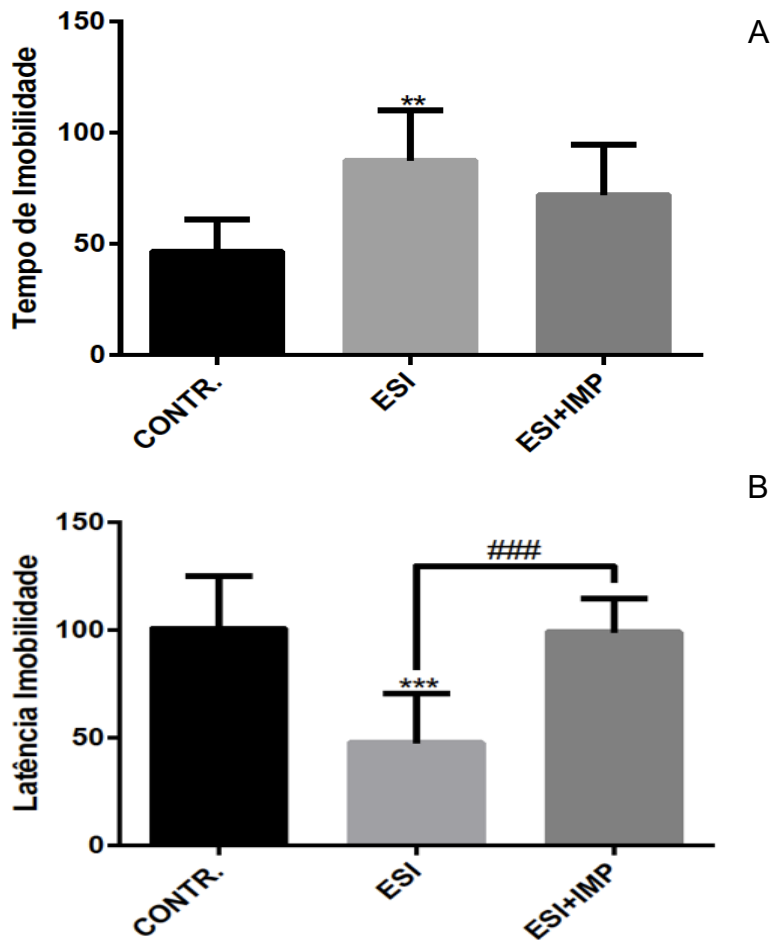


Figura 9 - A) Tempo de Imobilidade. \*\* $p<0,01$  em relação ao controle. B) Latência para Imobilidade. . ANOVA "one way" seguido pelo teste post hoc Dunnett; \*\*\* $p<0,001$  em relação ao controle.. ### $p<0,001$  em relação ao estresse. (n=9-10).

A figura 5-B, apresenta os dados relativos a latência para a imobilidade, um dado que a literatura ainda não trás mas que apresentou um resultado importante, pois mostrou que o grupo estresse também apresentou uma menor latência para imobilidade em relação ao grupos controle e estresse + imipramina ( $F(2,18)=13,96$ ,  $P=0.0002$ ). E que a imipramina neste caso conseguiu reduzir

esta latência que seria o comportamento de desistência do animal frente ao perigo.

### Teste de Borrifagem de Sacarose – Splash Test

Neste teste, o grupo estresse apresentou: I) o tempo de grooming (autocuidado) inferior aos grupos controle e estresse + imipramina ( $F(2,17)=9.439$ ,  $P=0.0017$ ) e, II) latência aumentada em relação aos demais grupos ( $F(2,18)=7,438$ ,  $P=0.0044$ ) (Figura 6 – A e B).

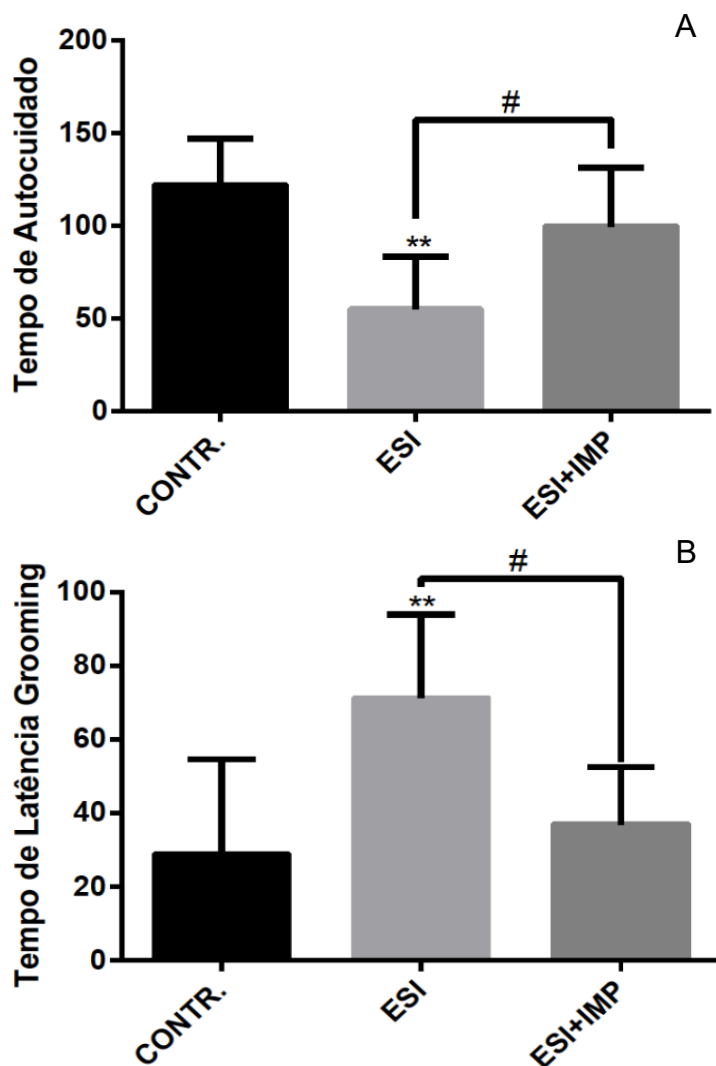


Figura 10 - A) Tempo de Autocuidado. \*\* $p < 0,01$ ; em relação ao controle. # $p < 0,05$ ; em relação ao estresse. B) Latência para Imobilidade. ANOVA "one way" seguido pelo teste post hoc Dunnett, \*\* $p < 0,01$ ; em relação ao controle. # $p < 0,05$ ; em relação ao estresse. (n=9-10).

## Campo Aberto

Neste teste foram analisados o total de cruzamentos realizados, o percentual de tempo gasto no centro no campo aberto, o número de rearing e latência para o rearing. Conforme pode ser observado na figura 7-A o não houve diferença nos cruzamentos entre os grupos ( $F(2,18)=2.2275, P=0,1316$ ).

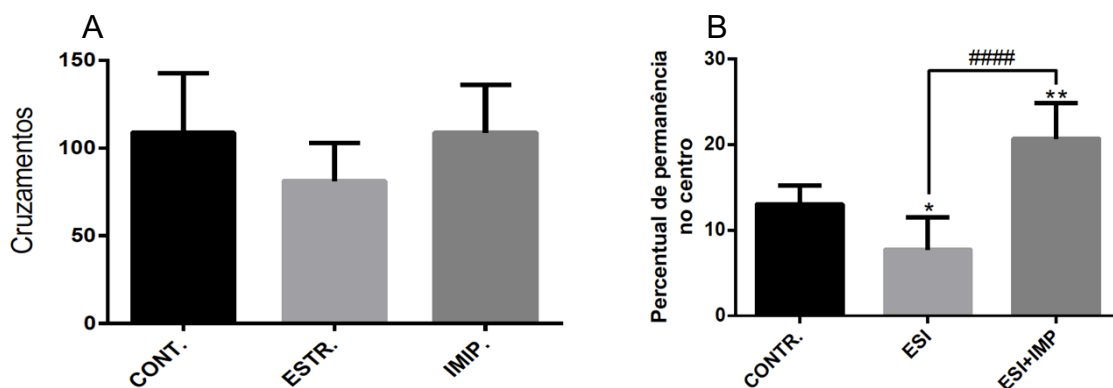


Figura 11 - A) Número Total de Cruzamentos. B) Percentual de Tempo no Centro. ANOVA "one way" seguido pelo teste post hoc Dunnett. \* p: 0.05, \*\*p: 0.01, em relação ao controle, ####p:0.001 em relação ao ESI. (n=9-10).

O percentual de tempo no centro por sua vez apresentou valores significativamente reduzidos do grupo estresse quando comparados com os grupos controle e estresse + imipramina, sendo o grupo estresse + imipramina com valores maiores que o controle ( $F(2,18)=24,47, P<0.0001$ ), Figura 7-B.

A latência para o rearing apresentou valores significativamente elevados para o grupo estresse em relação aos outros dois grupos ( $F(2,18)4,525, P=0,0256$ ). A quantidade de rearing por sua vez foi reduzida em relação aos dois grupos de forma significativa ( $F(2,18)=4.942, P=0,0195$ ), figura 8 A-B.

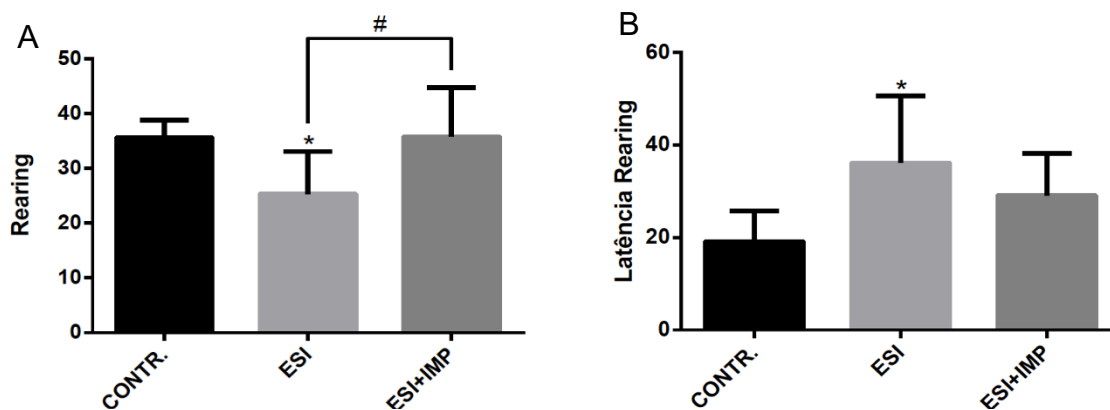


Figura 12 - A) Rearings realizados. \* p: 0.05, em relação ao controle. #p:0.05, em relação ao ESI. B) Latência para rearing. ANOVA "one way" seguido pelo teste post hoc Dunnett. \* p: 0.05, em relação ao controle (N: 9-10).

## DISCUSSÃO

A partir dos estressores aplicados e dos resultados obtidos nos testes comportamentais é possível sugerir a presença de um comportamento do tipo depressivo do grupo estresse no presente estudo, levando em consideração: a perda de massa corporal; o aumento do tempo de imobilidade e diminuição na latência para imobilidade no teste da suspensão da cauda; menor tempo de grooming (autocuidado) e aumento da latência para o grooming; além de uma menor permanência no centro do campo aberto e redução no comportamento de rearing.

A relação peso e depressão é bastante complexa pois em alguns casos pode levar a uma perda ou ganho de massa corporal. Em casos de modelos animais com o uso de estresse para induzir o comportamento tipo depressivo, no estudo de Moretti (2012) que utilizou o estresse para induzir a depressão, que foram aplicados pelo mesmo período de tempo que o nosso estudo porém não se obteve diferença significativa entre os grupos estresse e controle. Em outros estudos por sua vez essa mudança só foi percebida após períodos maiores de exposição dos animais ao estresse como de 3 a 7 semanas (HU et al, 2010; Deng et al, 2015; PAN et al,2015). Corroborando com nossos achados Deng et al, 2015 e Giongo, 2016 encontraram perda de peso corporal significativa de seus animais entre 11-14 dias. Ao ser observado os dias com maior diferença de peso entre o grupo estresse e controle, foi possível perceber que alguns estressores poderiam ter uma capacidade elevada de induzir o comportamento tipo depressivo. Isso foi percebido nos dias que ocorreram a troca da temperatura (fria ou quente), contenção, choque inescapável, nado frio, caixa em 45°, super lotação e som do predador houve uma perda de peso mais significativa desses animais.

Alterações da massa corporal sem a utilização de dieta fazem parte do escopo de sintomas presentes no diagnóstico da depressão pelo DSM-V. A elevação do peso corporal pode ocorrer devido os indivíduos buscarem na alimentação uma forma de alívio ao estresse e sentimentos negativos do TD (TOBARUELA, 2015). A perda por sua vez, se relaciona com a perda de apetite, fadiga que ocorre em muitos pacientes com TDM reduzindo assim seu peso corporal (ELY, NUNES, CARVALHO, 2014).

O tempo de imobilidade é outro padrão importante em estudos não clínicos da depressão, sendo utilizados os testes de nado forçado e suspensão da cauda. O teste de suspensão da cauda é validado e embasado para verificar a atividade depressiva em camundongos (LOCKRIDGE, SU, YUAN, 2010; KURHE et al, 2014; ZHANG et al, 2016; CARLSON et al, 2016). O tempo de imobilidade do grupo estresse encontrado em nosso estudo, diferiu significativamente do grupo controle, dado semelhante ao encontrado em outros trabalhos (MORETTI, 2012; DHINGRA, BANSAL, 2014; DENG et al, 2015; COLLA, 2015; GIONGO, 2016). Importante frisar que este resultado também foi encontrado em trabalhos que utilizaram modelos de indução química para a depressão como a aplicação de dexametasona ou corticosterona e tivemos resultados que também comprovaram o comportamento tipo depressivo ( PIZINI, 2013; SIBA, 2013; KURHE et al, 2014). Outro resultado importante, é a latência para a imobilidade, os animais do grupo estresse levaram menos tempo para a imobilidade que o controle, indicando uma desistência mais em situação de luta ou fuga. Outro ponto que fortalece esse aspecto da análise como um dado relevante é que a imipramina (droga padrão) aumentou esse tempo de latência de forma significativa, indicando uma melhora do comportamento depressivo.

O teste da borrifagem de sacarose (splash test) buscou verificar o comportamento de autocuidado através do tempo de grooming do animal, este teste assim como o TSC já é validado e amplamente utilizado, buscando identificar a presença deste comportamento anedônico nos animais (PIZINI, 2013). Nosso estudo, investigou a latência para o primeiro grooming e o tempo total de grooming. Na latência para o grooming, encontramos que animais que passaram pelo ESI levaram mais tempo para iniciar sua auto-limpeza, o que também foi encontrado por Colla (2015) ao utilizar do modelo de estresse crônico. Modelos de indução química de depressão também tiveram resultados semelhantes (ROSA, 2014; BRACHMANI et al, 2015; ZHANG et al, 2016).

Associado a estado de maior latência, o tempo de autocuidado foi reduzido de forma significativa nos animais ESI, indicando um comportamento do tipo depressivo devido a redução do comportamento anedônico, o que também foi encontrado em diversos trabalhos (MORETTI et al, 2012; TAKSAND et al, 2013; PESARICO et al, 2016; HU et al, 2017) e em outras pesquisas que



se utilizaram de modelos químicos de depressão como Pizini (2013), Rosa (2014), Zhang et al (2016).

Sobre o teste do campo aberto, ele foi utilizado para verificar se a sequência de estressores, quando aplicada de forma mais intensa poderia alterar o sistema locomotor e se aumentaria ou não o comportamento tipo ansiogênico nos animais, visto que que estes comportamentos ansiosos costumam estar associados com a depressão (DSM-V, 2014).

Assim, no teste do campo aberto, foi avaliado o número de cruzamentos entre os quadrantes realizado por animal, percentual de tempo gasto no centro, latência para o rearing e total de rearing realizado por animal.

O número total de cruzamentos não teve diferença significativa entre os grupos, o que indica que o ESI não altera a atividade locomotora dos animais. Este dado é interessante, pois outros trabalhos que utilizaram o estresse crônico em fêmeas também não tiveram alterações significativas neste comportamento do campo aberto (MORETTI et al, 2012; FILHO et al, 2016). Isso destaca o quanto o estudo com fêmeas se torna importante, pois isso poderia levar compreender melhor se outros resultados aqui obtidos não poderiam estar relacionados como o gênero do animal poderia predispor o comportamento do tipo depressivo. Entretanto devido a maior parte dos trabalhos com este modelo envolverem uso de machos, não seria possível ainda descrever um padrão comportamental de acordo com sexo.

Com relação ao tempo gasto no centro do campo aberto, os animais estressados tiveram um tempo menor em relação ao controle e o grupo tratado com imipramina que passou pelo estresse. Este último por sua vez teve um tempo muito superior ao estresse e ao próprio controle. Os animais que passaram por estresse em outras pesquisas também apresentaram tempo no centro reduzido (GIONGO, 2016; HU et al, 2010; LUO et al, 2017), corroborando nossos achados. Este comportamento de acordo com HU et al, 2010, pode ser justificado como uma tentativa de proteção do animal, aumentando sua cautela para evitar riscos, essa diminuição da atividade exploratório em ambiente novo pode indicar perda da motivação, comportamento este até certo ponto é presente em humanos que apresentam um quadro de depressão ou ansiedade.

Por fim o comportamento de levantamento (rearing) foi analisado, desde a latência para sua ocorrência, até o total de rearings realizados pelos animais.

No presente estudo os animais que passaram pelo ESI, levaram mais tempo para realizá-los e o fizeram em quantidade menor significativamente em comparação com o controle e o grupo estresse que foi tratado com imipramina. Este resultado é semelhante a outros encontrados, o número de rearings é reduzido em animais que passam pelo modelo do estresse (HU et al, 2010; JIN et al, 2015; LIU et al, 2013; HU et al, 2017). E assim como nosso trabalho, outros pesquisadores encontraram que ao se utilizar tratamento com antidepressivos este valor era revertido no grupo estresse (PAN et al, 2015; JIN et al, 2015). Assim como no parâmetro anterior, o fato dos animais apresentarem uma atividade reduzida do rearing após passar pelo procedimento, significa uma redução da atividade exploratória e interesse, atividades instintivas em animais normais, o que indicaria uma diminuição da motivação comum em pacientes depressivos (HU et al, 2010; HU et al, 2017).

Com base no que foi apresentado neste e em outros estudos citados, é possível associar comportamentos animais a sintomas depressivos, e para induzir estes comportamentos o uso de modelos de indução a depressão em animais são essenciais. Dentre estes modelos o uso de estresse já é bem fundamentado e reconhecido, dentre as características que o tornam uma ótima escolha é o fato de mimetizar em animais sintomas paralelos de depressão que incluem anedonia, perda de peso relativa (taxa mais lenta de ganho de peso), diminuição da atividade locomotora, etc. Os mecanismos que levam a este processo depressivo pelo modelo do estresse, se devem por várias alterações no sistema nervoso central (SNC), dentre elas como já dito anteriormente seria por alterações como no hipocampo devido suas conexões intrínsecas com o córtex pré-frontal, que está mais diretamente relacionado à emoção e cognição e contribui para outros principais sintomas de transtornos do humor. Dentre essas conexões temos o efeito direto da desregulação do eixo Hipofise-Hipotalamo-Adrenal, que promove a produções descontrolada de glicocorticoides que são neurotóxicos principalmente em células do hipocampo (JIN et al, 2015; WILLNER, 2017).

Outro ponto que torna este modelo eficaz é o fato de poder se reverter os sintomas depressivos ao utilizar medicações padronizadas para a patologia, entretanto neste modelo é necessário o uso crônico destes medicamentos como estabelecidos em alguns trabalhos (WILLNER, 2017; DENG, 2015; PESARICO

et al, 2016; TAKSANDE, 2013; MORETTI, 2012; DHINGRA, 2014; PAN et al, 2015).

Com base no que foi exposto, o modelo aqui apresentado além de induzir o comportamento do tipo depressivo, pode ser revertido pelo uso de um antidepressivo clássico (imipramina), e utilizou um tempo menor em comparação com outros modelos de 3-7 semanas.

## CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que o modelo de indução a depressão animal subcrônico pode induzir em animais (camundongos Swiss) e fêmeas um estado do tipo depressivo.

Que a imipramina consegue reverter esse comportamento encontrado indicando sua efetividade farmacológica neste modelo.

Que este modelo, procura aprimorar o modelo já desenvolvido por Willner, 1997 buscando assim em menos tempo, e através da aplicação de estressores simples e aplicados de forma randomizada induzir o estado depressivo e com base nos resultados obtidos foi possível induzir o comportamento do tipo depressivos de forma significativa, além de obter sinal de indução de comportamento ansioso, comumente associados a depressão.

Esperamos que este modelo possa ser útil em laboratório de pesquisa que tenham recursos e espaços limitados não podendo utilizar protocolos por longos períodos; assim, este modelo aqui apresentado pode ser reproduzido com baixo custo e de fácil execução.

Como perspectivas após a padronização neuroquímica com a quantificação de alguns marcadores bioquímicos, esperamos então validar presente método e utiliza-lo para teste de substâncias com potencial ação sobre antidepressiva.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p. 357.
- ALMEIDA, S. M.; GURJÃO, S. A. Frequency of depression among patients with neurocysticercosis. **Arq. Neuropsiquiatr.** v. 68, n. 1, p. 77-82, 2010.
- ALTAY, H. et al. Relação entre paratormônio e depressão na insuficiência cardíaca. **Arq. Bras. Cardiol.** v. 99, n. 4, p. 915-923, 2012.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, **DSM-V**. Porto Alegre: Artmed, 2014, 948 p.
- ANDRADE, S. V.; SESSO, R.; DINIZ, D. H. M. P. Desesperança, ideação suicida e depressão em pacientes renais crônicos em tratamento por hemodiálise ou transplante. **J. Bras. Nefrol.** v. 37, n. 1, p. 55-63, 2015.
- ASSIS, L. C. et al. Effect of acute administration of ketamine and imipramine on Creatine kinase activity in the brain of rats. **Rev. Bras. Psiquiatr.** v. 31, n. 2, p.247-252, 2009.
- BAPTISTA, P. P. **Depressão experimental e tratamento agudo com cetamina: Análise comportamental, neurometabólica e histofisiológica dopaminérgica**. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 92, 2015.
- BATISTA, W. S.; ORNELAS, F. H. Exercício físico e depressão: relação entre exercício físico e o grau de depressão. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**. v. 7, n. 42, p. 474-482, 2013.
- BITENCOURT, L. T. G. **Estudos das alterações do comportamento e da resposta psicofarmacológica em ratos sobreviventes de sepse**. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p.64, 2008.
- BRACHMAN, R. A. et al. Ketamine as a prophylactic against stress-induced depressive-like behavior. **Biological Psychiatry**. P. 1-11. 2015.
- BRAGA, J.; CAMPAR, A. Causas biológicas de depressão em doentes com Lúpus Eritematoso Sistêmico: um estudo de revisão. **Acta Reumatol Port.** v. 39, p. 218-226, 2014.
- BRASIL. Antidepressivos no transtorno depressivo maior em adultos. **Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde**. n. 18, p.1-35, 2012.
- BRETANHA, A. F. et al. Sintomas depressivos em idosos residentes em áreas de abrangência das unidades básicas de saúde da zona urbana de Bagé, RS. **Rev. Bras. Epidemiol.** v. 18, n. 1, p. 1-12, 2015.

CALDARONE, B. J., ZACHARIOU, V., KING, S. L. Rodent models of treatment-resistant depression. **European Journal of Pharmacology**. v. 753, p. 51-65, 2015.

CARLSON, G. C. et al. Dexas1 unique ras-GTPase interacts with NMDA receptor activity and provides a novel dissociation between anxiety, working memory and sensory gating. **Neuroscience**. v. 322, p. 408-415. 2016.

COLLA, A. R. S. **Efeito tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico do ácido ursólico em camundongos em diferentes modelos animais**. Universidade Federal de Santa Catarina. 2015.

Conselho Federal de Psicologia – CFP. **Sistema de Avaliação dos Testes Psicológicos SATEPSI**. Recuperado de <http://www.satepsi.cfp.br>, 2017.

COSTA, F. H. R. et al. Depression in parkinson's disease: diagnosis and treatment. **Arq. Neuropsiquiatr**. v. 70, n. 8, p. 617-620, 2012.

COUTINHO, M. P. L.; COSTA, F. G. Depressão e insuficiência renal crônica: uma análise psicossociológica. **Psicologia e Sociedade**. v 27, n. 2, p. 449-459, 2015.

CUNHA, M. F.; GANDINI, R. C. Adesão e não-adesão ao tratamento farmacológico para depressão. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**. v. 25, n. 3, p. 409-418, 2009.

DENG, X. et al. Geraniol produces antidepressant-like effects in a chronic unpredictable mild stress mice model. **Physiology & Behavior**. v. 152, p. 264-271, 2015.

DHINGRA, D; BANSAL, Y. Antidepressant-like activity of beta-carotene in unstressed and chronic unpredictable mild stressed mice. **Journal of Funcional Foods**. v. 7, p. 425-434, 2014.

DIAS, A. M. A depressão em humanos e outras espécies. **Estudo e Pesquisas em Psicologia**. n. 3, p. 582-595, 2009.

ELY, P.; NUNES, M. F. O.; CARVALHO, L. F. Avaliação psicológica da depressão: levantamento de testes expressivos e autorrelato no Brasil. **Avaliação Psicológica**. v. 13, n. 3, p. 419-426, 2014.

FARINHA, H. et al. Relação do tabagismo com ansiedade e depressão nos cuidados de saúde primários. **Revista Científica da Ordem dos Médicos**. v. 26, n. 5, p. 523-530, 2013.

FAROOQ, R. K. et al. Is unpredictable chronic mild stress (UCMS) a reliable model to study depression-induced neuroinflammation? **Behavioral Brain Research**. v. 231, p. 130-137, 2012.

FERNANDES, E. D. et al. Efeitos Comportamentais e imunológicos de fluoxetina em ratos submetidos ao nado forçado. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**. v. 28, n. 4, p. 409-415. 2012.

FILHO, C. B. et al. Chronic unpredictable mild stress decreases bdnf and ngf levels and Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity in the hippocampus and pré-frontal córtex of mice: antidepressant effect of chrysin. **Neuroscience**. v. 289, p. 367-380. 2015.

FLECK, M. P. et al. A eficácia do milnaciprano em pacientes ambulatoriais com transtorno depressivo maior não respondedores ao tratamento com ISRSs: um estudo aberto de 12 semanas. **Rev. Psiq. Clin.** v. 37, n. 6, p. 241-245, 2009.

GIONGO, F. K. **Efeitos da N-Acetilisteína em modelo de estresse sub-crônico por contenção em camundongos balb/c**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 55, 2016.

GOLD, P. W.; VIEIRA, R. M.; PAVLATOU, M. G. Clinical and biochemical manifestations of depression: relation to the neurobiology of stress. **Neural Plasticity**. p. 1-11, 2015.

GOLDSTEIN, D. S. Adrenal responses to stress. **Cell Mol Neurobiol**. v. 30, p. 1433–1440, 2010.

GOMES. P. H. Z. et al. Depressive behavior induced by social isolation of deposed female rats. **Physiology & Behavior**. v. 151, p. 292-297, 2015.

HU, C. et al. Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. **PLOS ONE**. v. 20, p.1-15. 2017.

HU, H et al. Behavioral and [F-18] fluorodeoxyglucose micro positron emission tomography imaging study in a rat chronic mild stress modelo of depression. **Neuroscience**. v. 169, p. 171-181, 2010.

JIN, P. et al Antidepressant-like effects of oleoythanolamide in a mouse modelo of chronic unpredictable mild stress. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 133, p.146-154. 2015.

KORTE, S. M. et al. The many diferente faces of major depression: It is time for personalized medicine. **European Journal of Pharmacology**. v. 753, p. 88-104, 2015.

KURHE, Y. et al. QCM-4, a serotonergic type 3 receptor modulator attenuates depression co-morbid with obesity in mice: An approach based on behavioral and biochemical investigations. **European Journal of Pharmacology**. v. 740, p. 611-618. 2014.

LEPINE, B. A. et al. Treatment-resistant depression increases health costs and resource utilization. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 34, p. 379-388, 2012.

LI, S. et al. Antidepressant effects of ketamine on depression-like behavior in juvenile mice after neonatal dexamethasone exposure. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience**. v. 12, n. 2, p. 124-127, 2014.

LI, Y. et al. Antidepressant-like effects of curcumin on serotonergic receptor-coupled AC-cAMP pathway in chronic unpredictable mild stress of rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 33, p. 435-449, 2009.

LIU, Y. et al. Antidepressant-like effects of tea polyphenols on mouse model of chronic unpredictable mild stress. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 104, p.27-32. 2013.

LOCKRIDGE, A.; SU, J. YUAN, L. L. Abnormal 5-HT modulation of stress behaviors in the Kv4.2 knockout mouse. **Neuroscience**. v. 170, p. 1086-1097. 2010.

LUO, L. et al. Advanced parental age impaired fear conditioning and hippocampal LTD in adult female rat offspring. **Neurochem. Res**. v. 42, p. 2869-2880. 2017.

MARTINO, P. Un análisis de las estrechas relaciones entre el estrés y la depresión desde la perspectiva psiconeuroendocrinológica. El rol central del cortisol. **Cuadernos de Neuropsicología Panamerican Journal of Neuropsychology**. v. 8, n. 1, p. 60-66, 2014.

MENEZES, H. S. et al. Antidepressant behavioral effects of duloxetine and amitriptyline in the rat forced swimming test. **Acta Cirurgica Brasileira**. v. 23, n. 5, p.447-450, 2008.

MILEVA, G. R.; BIELAJEW, C. Environmental manipulation affects depressive-like behaviours in female wistar-kyoto rats. **Behavioural Brain Research**. v. 293, p. 208-216, 2015.

MIZIARA, I. D. et al. Research ethics in animal models. **Braz. J. Otorhinolaryngol**. v. 78, n. 2, p. 128-131, 2012.

MOLINA, M. R. A. L. et al. Prevalência de depressão em usuários de unidades de atenção primária. **Rev. Psiq. Clin**. v. 39, n. 6, p. 194-197, 2012.

MORETTI, M. et al, Involvement of nitric oxid-cGMP pathway in the antidepressant-like effect of ascorbic acid in the tail suspension test. **Behavioural Brain Research**. v. 225, p. 328-333, 2011.

MORETTI, M. et al. Ascorbic acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress. **Journal of Psychiatric Research**. v. 46, p. 331-340, 2012.

NESTLER, E. J. Neurobiology of depression. **Neuron**. v. 34, p. 13-25, 2002.



NINA-E-SILVA, C. H. et al. Revisão sistemática da prevalência de depressão na diabetes mellitus tipo 2. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. v. 13, n. 1, p. 136-141, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **CID-10 Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde**. 10<sup>a</sup> rev. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1997. Vol. 1.

PAN, B.; LIU, Y. Effects of duloxetine on microRNA expression. Profile in frontal lobe and hippocampus in a mouse model of depression. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.** v. 8, n. 11, p. 15454-15461. 2015.

PARANHOS, M. E.; WERLANG, B. G. Diagnóstico e intensidade da depressão. **Barbarói**. n. 31, p. 111-125, 2009.

PAZINI, F. L. **Vias de sinalização implicadas no efeito tipo-antidepressivo induzido pela administração aguda de creatina e cetamina em um modelo de depressão**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p. 149, 2013.

PEREIRA, V. S. **Participação do sistema glutamatérgico do córtex pré-frontal medial ventral na modulação das consequências comportamentais do estresse de nado forçado**. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, p. 74, 2011.

PESARICO, A. P. et al. A novel isoquinoline compound abolishes chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behavior in mice. v. 307, p. 73-83. 2016.

PIZINI, F. L. **Vias de sinalização implicadas no efeito tipo-antidepressivo induzido pela administração aguda de creatina e cetamina em um modelo de depressão**. Universidade Federal de Santa Catarina. Curitiba. P. 149. 2013.

PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie**, v. 229, p. 327-336, 1977.

RAMOS, G. C. F. et al. Prevalência de sintomas depressivos e fatores associados em idosos no norte de Minas Gerais: um estudo de base populacional. **J. Bras. Psiquiatr.** v. 64, n. 2, p. 122-131, 2015.

RENN, B. N.; FELICIANO, L.; SEGAL, D. L. The bidirectional relationship of depression and diabetes: A systematic review. **Clinical Psychology Review**. v. 31, p. 1239-1246, 2011.

ROSA, P. B. et al. Folic acid prevents depressive-like behavior induced by chronic corticosterone treatment in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 127, p. 1-6, 2014.

SAITO, V. M.; WOTJAK, C. T.; MOREIRA, F. A. Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão. **Rev. Bras. Psiquiatr.** v. 32, supl 1, p. S7-S14, 2010.

SCHIMMER, B. P.; FUNDER, J. W. ACTH, esteroides suprarrenais e farmacologia do córtex suprarrenal. BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas Da Terapêutica De Goodman & Gilman.** Porto Alegre: AMGH. p. 2080, 2012.

SCHMIDT, M. V. et al. High susceptibility to chronic social stress is associated with a depression-like phenotype. **Psychoneuroendocrinology.** v. 35, p. 635-643, 2010.

SIBA, I. P. **Avaliação pré-clínica do potencial efeito antidepressivo da miricitrina em modelos animais.** Universidade Federal do Paraná. Curitiba. P.44. 2013.

SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. Modelling depression in animals: at the interface of reward and stress pathways. **Psychopharmacology.** v. 234, p. 1451-1465, 2017.

SOUSA, R. B. S. **Avaliação do papel do sistema purinérgico e dopaminérgico no efeito antidepressivo promovido por MK-801 em peixe-zebra (Danio rerio).** Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 77, 2015.

SOUZA, M. S.; BAPTISTA, M. N.; ALVES, G. A. S. Estudos psicométricos preliminares da escala Baptista de depressão em adultos. **Estudos de Psicologia.** v. 32, n. 3, p. 357-370, 2015.

SOUZA, T. R.; LACERDA, A. L. T. Depressão ao longo da história. CAP. 1. QUEVEDO, J.; SILVA, A. G. **Depressão: teoria e clínica.** Porto Alegre: Artmed, 2013. 248p.

STOPA, S. R. et al. Prevalência do autorrelato de depressão no Brasil: resultados da pesquisa nacional de saúde, 2013. **Rev. Bras. Epidemiol.** v. 18, supl. 2, p. 170-180, 2015.

TAKSANDE, B. G. et al. Agmatine attenuates chronic unpredictable mild stress induced behavioral alteration in mice. **European Journal of Pharmacology.** v. 720, p.115-120. 2013.

TOBARUELA, C. N. **Estudo fenotípico preliminar de camundongos fêmeas Swiss espontaneamente obesas.** Universidade de São Paulo. São Paulo. p. 65. 2015.

VICENS, M. N.; CHYUNG, J. H.; TURNER, T. J. Farmacologia da neurotransmissão serotoninérgica e adrenérgica central. GOLAN, David E. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

VILELA, L. H.; JURENA, M. F. Avaliação do funcionamento do eixo HPA em deprimidos por meio de medidas basais: revisão sistemática da literatura e análise das metodologias utilizadas. **J. Bras. Psiquiatr.** v. 63, n. 3, p. 232-241, 2014.

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

WILLNER, P. The chronic mild stress (CMS) modelo f depression: History, evaluation and usage. **Neurobiology of Stress.** v. 6, p. 78-93, 2017.

WILLNER, P.; KRUGER, J. S.; BELZUNG, C. The neurobiology of depression and antidepressant action. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews.** v. 37, p. 2331-2371, 2013.

ZHANG, K. et al. Antidepressant-like effects of Xiaochaihutang in a neuroendocrine mouse modelo f anxiety/depression. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 194, p. 674-683. 2016.

ZIMMERMANN, F. F. **Efeito do estresse crônico imprevisível no metabolismo de nucleotídeos e nucleosídeos em encéfalo de zebrafish.** Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 72, 2013.

## ANEXO-A

Certidão de aprovação do projeto junto à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Estudo pré-clínicos de substâncias isoladas de óleos essenciais no sistema nervoso central", protocolo nº 046/2016 sob a responsabilidade da pesquisadora Dra. Miriam Graciele da Silva Stiebbe Salvadori – que envolve a produção, manutenção e/ou a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

Vigência do Projeto	2016 – 2017
Espécie/linhagem	<i>Mus musculus</i> - Swiss
Número de animais	352
Idade/Peso	25-35 g / 2-3 meses
Sexo	Machos
Origem	Biotério Prof. Thomas George

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra  
CEUA-UFPB