



Universidade Federal da Paraíba – UFPB
Centro de Ciências Humanas, Letras e Artes – CCHLA
Programa de Pós-graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento – PPGNeC

**Investigação do Mecanismo de Ação Antidepressivo-símile da
quercetina em camundongos por meio de testes comportamentais e neuroquímicos.**

Bernardo Hollanda de Carvalho
Mestrando

João Pessoa, setembro de 2018

Bernardo Hollanda de Carvalho

**Investigação do Mecanismo de Ação Antidepressivo-símile da
quercetina em camundongos por meio de testes comportamentais e neuroquímicos.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento – PPGNeC da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador : Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe

João Pessoa – PB

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C331i Carvalho, Bernardo Hollanda de.

Investigação do Mecanismo de Ação Antidepressivo-Símile da Quercetina em camundongos por meio de testes comportamentais e neuroquímicos / Bernardo Hollanda de Carvalho. - João Pessoa, 2018.

87 f. : il.

Orientação: Cícero Francisco Bezerra Felipe.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCHLA.

1. depressão. 2. nado forçado. 3. flavonóides. 4. quercetina. 5. monoaminas. 6. estresse oxidativo. I. Felipe, Cícero Francisco Bezerra. II. Título.

UFPB/BC



ATA DE DEFESA (DISSERTAÇÃO)

Aos vinte e seis dias do mês de setembro de dois mil e dezoito, na Sala de Reuniões Centro de Ciências Humanas Letras e Artes da Universidade Federal da Paraíba - UFPB reuniram-se em solenidade pública os membros da comissão designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento para o exame da dissertação de mestrado do aluno **BERNARDO HOLLANDA DE CARVALHO**. Foram componentes da banca examinadora os professores doutores: Cícero Francisco Bezerra Felipe (Presidente/Orientador, CPF 617.994.243-91), Liana Clébia de Moraes Pordeus (PPGNeC/CCHLA/UFPB, Membro Interno ao Programa, CPF 714.294.334-34) e Temilce Simões de Assis Cantalice (DITM/CCS/UFPB, Membro Externo ao Programa, CPF 664.732.094-68). Dando início aos trabalhos, o presidente da banca, Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe, após declarar o objetivo da reunião, apresentou o examinando **BERNARDO HOLLANDA DE CARVALHO** e, em seguida, concedeu-lhe a palavra para que defendesse seu projeto de pesquisa, intitulado: **“Investigação do Mecanismo de ação antidepressivo-símile da quercetina em camundongos por meio de testes comportamentais e neuroquímicos”**. Passando então ao aludido tema, o candidato foi a seguir arguido pelos examinadores na forma regimentar. Ato contínuo passou a comissão, em secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito “Aprovado”, o qual foi proclamado pela presidência logo que esta foi franqueada ao recinto da solenidade pública. Nada mais havendo a tratar, eu **Mirian Stiebbe Salvadori**, Vice Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Neurociência Cognitiva e comportamento da UFPB, lavrei a presente ata, que depois de lida e aprovada por todos, assino juntamente com todos os membros da banca. João Pessoa, 26 de setembro de 2018.

Cícero Francisco Bezerra Felipe
Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe
(Orientador – DBM/UFPB)

Liana Clébia de Moraes Pordeus
Prof.ª Dr.ª Liana Clébia de Moraes Pordeus
(Membro interno ao programa – DFP/UFPB)

Temilce Simões de Assis Cantalice
Prof.ª Dr.ª Temilce Simões de Assis Cantalice
(Membro externo ao programa – DFP/UFPB)

Dedicatória

Ao meu filho Nuno, por me conceder a felicidade.

Agradecimentos

A todos aqueles que tenho como família, por me ajudarem a ser quem sou hoje em dia.

A minha mãe, Eliane Hollanda, por ter vindo de longe prestigiar e apoiar o filho.

A Paulo Roberto de Holanda Sales pela sua paciência e dedicação que só um pai tem pelo o filho.

Ao Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe pela sua contribuição fundamental para este trabalho e por estar genuinamente imbuído de um espírito acadêmico. Ou seja, verdadeiramente um professor!

A Prof^a. Dr^a. Liana Clébia de Moraes Pordeus que consegue com seu inesgotável bom humor e carisma transmitir os complexos ensinamentos da ciência. E, por sua grande contribuição na construção e avaliação deste trabalho.

A Prof^a. Dr^a. Temilce Simões de Assis Cantalice pela sua valiosa contribuição na banca de avaliação deste trabalho.

Aos integrantes da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte – Estácio/FMJ, sob a supervisão do Prof. Dr. Giovany Michely Pinto da Cruz, Maria Janice Pereira Lopes e Ana Elisa S. Ribeiro pela sua inestimável colaboração na parte experimental deste trabalho.

Aos integrantes Universidade Regional do Cariri-URCA sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Marta Regina Kerntopf Mendonça, Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes e o Mestrando Gyllyanderson de Araújo Delmondes pela sua inestimável colaboração na parte experimental deste trabalho.

Ao doutorando Álefe Brito Monteiro por ter cedido sua paciência, tempo e expertise para a fundamental colaboração nos experimentos deste trabalho.

A mestrande Maiane Daiara Lins Barreto pelo imenso auxilio na condução da parte experimental deste trabalho

Aos graduandos Ada Mirtes Pereira de Sousa e José Ítalo Vieira de Melo pela sua grande colaboração na parte experimental do trabalho.

Ao Dr. Francisco Romero Cabral pelo sua colaboração no processo de qualificação deste projeto.

Resumo

A depressão é um transtorno psiquiátrico com alta incidência na população. O tratamento envolve fármacos que possuem uma série de efeitos adversos que, em muitos casos, diminuem a adesão do paciente ao tratamento. Isto tem incentivado a busca por novos fármacos e o reino vegetal se apresenta como uma alternativa. Os flavonoides são uma classe de metabólitos secundários encontrados em diferentes espécies de plantas. A quercetina (3, 5, 7, 3' – 4' pentahidroxi flavona), um importante flavonoide, possui diversas atividades biológicas, entre elas: atividade anti-inflamatória, anti-agregante, anti-hipertensiva, anti-diabética, ansiolítica e antidepressiva. Esta última atividade, no entanto, ainda não é bem caracterizada e este fato levou ao desenvolvimento do presente trabalho, o qual teve como objetivo avaliar o efeito antidepressivo-símile da quercetina, por meio de testes comportamentais e neuroquímicos. Foram utilizados camundongos Swiss machos (protocolo CEUA/UFPB n. 112/2016), provenientes da Unidade de Produção Animal da Universidade Federal da Paraíba – UPA/UFPB. Os animais foram divididos em grupos compostos por seis camundongos, tratados por via oral com salina, quercetina 10 ou 40 mg/kg e por via intraperitoneal com imipramina 30 mg/kg, e submetidos aos testes do campo aberto e nado forçado. Para investigação do possível mecanismo de ação, a quercetina foi administrada isoladamente (0,5 mg/kg, v.o.) e em associação aos antidepressivos bupropiona (0,1 mg/kg, i.p.), fluoxetina (0,1 mg/kg, i.p.) ou imipramina (1 mg/kg, i.p.) em animais submetidos ao nado forçado. Em adição foram realizadas análises neuroquímicas para determinar a concentração estriatal de monoaminas e a concentração hipocampal de nitrito e TBARs. Os resultados mostraram que a quercetina não alterou a atividade locomotora no teste do campo aberto; por outro lado, o composto reduziu de forma significativa e dose-dependente o tempo de imobilidade dos animais no nado forçado. Este efeito foi potencializado na presença de bupropiona e imipramina, mas não de fluoxetina. A quercetina (10 mg/kg, v.o.) não alterou a concentração hipocampal de nitrito e TBARs; por outro lado, o composto aumentou significativamente a concentração de noradrenalina, mas não de dopamina, no estriado de animais submetidos ao teste do nado forçado. Tomados em conjunto, os resultados sugerem que o efeito antidepressivo-símile da quercetina parece depender, pelo menos em parte, do aumento da concentração estriatal de monoaminas, em especial, a noradrenalina.

Palavras chaves: depressão; nado forçado; flavonóides; quercetina; monoaminas; estresse oxidativo.

Abstract

Depression is a serious and disabling psychiatric disorder with a high incidence in the population. The treatment involves drugs that possesses undesired effects and in many cases, decreases the patient's adherence to the treatment. This fact has encouraged the search for new drugs and the vegetable kingdom has been widely investigated in this sense. Flavonoids are an important class of secondary metabolites found in different plant species. Quercetin (3, 5, 7, 3'-4' pentahydroxy flavone), is one of the most abundant flavonoids in the human diet, it has several biological activities such as: anti-inflammatory, anti-aggregating, antihypertensive, diabetic, anxiolytic and antidepressant. This last activity, however, is still not well characterized and this fact led to the development of the present study, which aimed to evaluate the antidepressant-like effect of quercetin, through behavioral and neurochemical tests. Male Swiss mice (CEUA / UFPB protocol 112/2016) were used, from the Animal Production Unit of the Federal University of Paraíba - UPA / UFPB. The animals were divided into groups composed of six mice, which were orally treated with saline, quercetin 10 and 40 mg / kg and intraperitoneally with imipramine 30 mg / kg and subjected to open field and forced swimming tests. For the purpose of investigating the possible mechanism of action, quercetin was administered alone (0.5 mg / kg, v) and in combination with antidepressants bupropion (0.1 mg / kg, ip), fluoxetine (0.1 mg / kg, ip) and imipramine (1 mg / kg, ip) in animals submitted to forced swimming. In addition, neurochemical analyzes were performed to determine the striatal concentration of monoamines and the hippocampal concentration of nitrite and TBARs. The results showed that the administration of quercetin did not alter the locomotor activity of the animals submitted to the open field; on the other hand, the compound in question significantly and dose-dependently reduced the immobility time of animals in the forced swimming. This effect was potentiated in the presence of bupropion and imipramine, but not of fluoxetine. Treatment with quercetin (10 mg / kg, v.o.) did not change the hippocampal concentration of nitrite and TBARs, two important markers of oxidative stress. Finally, oral administration of flavonoid significantly increased the concentration of noradrenaline, but not dopamine, in the striatum of animals subjected to the forced swimming test. Taken together, the results suggest that the antidepressant-like effect of quercetin seems to depend, at least in part, on the increase in the striatal concentration of monoamines, especially noradrenaline.

Keywords: depression; forced swim test; flavonoids; quercetin; monoamines; oxidative stress.

Lista de Figuras

FIGURA 1. PREVALÊNCIA DO TRANSTORNO DEPRESSIVO NOS EUA	14
FIGURA 2. DEFICIÊNCIA DA NEUROTRANSMISSÃO MONOAMINÉRGICA	18
FIGURA 3. VIAS NORADRENÉRGICAS	19
FIGURA 4. VIAS SEROTONINÉRGICAS	20
FIGURA 5. VIAS DOPAMINÉRGICAS	21
FIGURA 6. ATUAÇÃO DOS ANTIDEPRESSIVOS SOBRE OS NEURÔNIOS PRÉ E PÓS SINÁPTICO ...	22
FIGURA 7. METABOLISMO DA NORADRENALINA E METABÓLITOS	23
FIGURA 8. METABOLISMO DA SEROTONINA, DOPAMINA E SEUS METABÓLITOS	24
FIGURA 9. ELEMENTOS INFLUENCIADORES E MEDIADORES DO ESTRESSE	26
FIGURA 10. ESTRESSE OXIDATIVO	30
FIGURA 11. MODELO DE PATOGÊNESE DA DEPRESSÃO	33
FIGURA 12. TRATAMENTOS DISPONÍVEIS PARA O TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR	35
FIGURA 13. MOLÉCULA DA QUERCETINA.	38
FIGURA 14. PROTOCOLO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO	46
FIGURA 15. EQUIPAMENTO PARA O TESTE DO CAMPO ABERTO.....	47
FIGURA 16. EQUIPAMENTO PARA O MODELO DO NADO FORÇADO	48
FIGURA 17. PROTOCOLO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO	50
FIGURA 18. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA SOBRE O NÚMERO DE CRUZAMENTOS DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO TESTE DO CAMPO ABERTO	55
FIGURA 19. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA SOBRE O NÚMERO DE REARING DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO TESTE DO CAMPO ABERTO	56
FIGURA 20. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA SOBRE O NÚMERO DE GROOMING DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO TESTE DO CAMPO ABERTO	57
FIGURA 21. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA SOBRE O TEMPO DE IMOBILIDADE DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO MODELO DO NADO FORÇADO	58
FIGURA 22. MODELO DO NADO FORÇADO COM POTENCIALIZAÇÃO PELA IMIPRAMINA.....	60
FIGURA 23. MODELO DO NADO FORÇADO COM POTENCIALIZAÇÃO PELA BUPROPIONA	62
FIGURA 24. MODELO DO NADO FORÇADO COM POTENCIALIZAÇÃO PELA FLUOXETINA	63
FIGURA 25. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA SOBRE A CONCENTRAÇÃO ESTRIATAL DE NORADRENALINA EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO MODELO DO NADO FORÇADO	64
FIGURA 26. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA SOBRE A CONCENTRAÇÃO ESTRIATAL DE DOPAMINA EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO MODELO DO NADO FORÇADO.....	65
FIGURA 27. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA SOBRE A CONCENTRAÇÃO HIPOCAMPAL DE TBARS EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO MODELO DO NADO FORÇADO	66
FIGURA 28. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA QUERCETINA SOBRE A CONCENTRAÇÃO HIPOCAMPAL DE NITRITO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO MODELO DO NADO FORÇADO	67

Lista de Tabelas

TABELA 1. CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DE EPISÓDIO DEPRESSIVO (CID-10)	15
TABELA 2. CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DE EPISÓDIO DEPRESSIVO MAIOR (DSM-V)	16
TABELA 3. MODALIDADES DE TRATAMENTO	35
TABELA 4. MEDICAMENTOS ANTIDEPRESSIVOS	37
TABELA 5. DROGAS, FÁRMACOS E REAGENTES	44
TABELA 6. GRUPOS EXPERIMENTAIS UTILIZADOS NO TESTE DE POTENCIALIZAÇÃO COM ANTIDEPRESSIVOS	49

Lista de Abreviaturas e Siglas

5-HIAA	ácido 5-hidroxiindolacético
5-HT	serotonina
5-HT_{1a}	receptor 1A para serotonina
5-HT_{1b}	receptor 1B para serotonina
5-HT₂	receptor 2 para serotonina
5-HT₃	receptor 3 para serotonina
5-HTP	5-hidroxitriptofano
AADC	L-amino aromático descarboxilase
AMPA	receptor alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
ANOVA	análise de variância
ARTN	artemin
BHE	barreira hematoencefálica
BDNF	fator neurotrófico derivado do cérebro
CDC	Center of Disease Control
CID-10	Classificação Internacional de Doenças 10
COMT	catecol O-metiltransferase
CRH	hormônio liberador de corticotrofina
DA	dopamina
DBH	dopamina beta hidroxilase
DNA	ácido desoxirribonucléico
DSM-5	Manual Diagnóstico e Estatístico quinta edição
ECT	eletroconvulsoterapia
ERNs	espécies reativas do nitrogênio
EROs	espécies reativas do oxigênio
EPM	Erro padrão da média
GABA	ácido gama-aminobutírico
GNDF	fator neurotrófico derivado da linhagem glial
GR	receptor glicocorticóide
H₁	receptor histaminérgico 1
HPA	eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HVA	ácido homovanílico
I3G	isorhamnetina-3-glucoronídeo
IFN-γ	interferon gama
IL-1	interleucina 1
IL-10	interleucina 10
IL-13	interleucina 13
IL-4	interleucina 4
IL-6	interleucina 6
IL-β	interleucina beta
iMAO	inibidor da monoaminoxidase
ISRS	inibidores seletivos da recaptação de serotonina
M₁	receptor muscarínico
MAO	monoaminoxidase

MAO A	monoaminoxidase A
MAO B	monoaminoxidase B
MHPG	3-metil-4-hidroxifenilglicol
miRNA	microRNAs
mRNA	RNA mensageiro
NA	noradrenalina
NGF	fator de crescimento do nervo
NMDA	receptor ionotrópico ativado pelo ácido glutâmico (glutamato)/Aspartato
NT-3	neurotrofina 3
NT-4	neurotrofina 4
OMS	Organização Mundial da Saúde
p75	receptor de baixa afinidade do fator de crescimento nervoso
PET	tomografia com emissão de pósitrons
Q3'S	quercetina-3'-sulfato
Q3GA	3-O-quercetina
SGK1	soro e glicocorticóide cinase 1 induzida
Th-1	linfócitos T helper 1
Th-2	linfócitos T helper 2
TNF-α	fator de necrose tumoral alfa
α_1	receptor alfa 1 adrenérgico
α_2	receptor alfa 2 adrenérgico

Sumário

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 EPIDEMIOLOGIA	14
1.2 CLASSIFICAÇÃO E DIAGNÓSTICO	15
1.3 NEUROBIOLOGIA	17
1.3.1 NEUROANATOMIA	17
1.3.2 TEORIA MONOAMINÉRGICA	18
1.3.3 ESTRESSE E EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL	25
1.3.4 NEUROTROFINAS	27
1.3.5 NEUROINFLAMAÇÃO	29
1.3.6 REGULAÇÃO GÊNICA	32
1.4 TRATAMENTO	34
1.5 FLAVONÓIDES E QUERCETINA	38
2 JUSTIFICATIVA	40
3 OBJETIVOS	42
3.1 OBJETIVO GERAL	42
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4 MÉTODOS	43
4.1 ANIMAIS E ASPECTOS ÉTICOS	43
4.2 PROTOCOLO DOS TESTES E MODELOS COMPORTAMENTAIS	45
4.2.1 TESTE DO CAMPO ABERTO	46
4.2.2 MODELO DO NADO FORÇADO	48
4.2.3 POTENCIALIZAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO-SÍMILE DA QUERCETINA COM ANTIDEPRESSIVOS	49
4.3 PROTOCOLO DOS TESTES NEUROQUÍMICOS	49
4.3.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MONOAMINAS (DOPAMINA E NORADRENALINA)	50
4.3.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS REATIVAS DO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)	52
4.3.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NITRITO	53
5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO	54
6 RESULTADOS	55
7 DISCUSSÃO	68
8 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	77
REFERÊNCIAS	78

1 Introdução

1.1 Epidemiologia

De acordo com a estimativa da organização mundial da saúde, 350 milhões de pessoas, em todas as faixas etárias, sofrem de depressão. O transtorno depressivo constitui a causa líder no mundo de incapacitação. A prevalência mundial estimada é de 17% e, em 17 países estudados, notou-se que 1 a cada 20 pessoas sofreram um episódio depressivo no ano anterior (OMS, 2012). Comparativamente, a prevalência mundial do transtorno depressivo maior é estimada em 8 vezes mais do que a do transtorno afetivo bipolar, 14 vezes mais do que a esquizofrenia e 32 vezes mais do que o autismo (Durisko, Mulsant & Andrews, 2014). Na figura abaixo, observa-se que a prevalência do transtorno depressivo nos EUA entre 2007-2010. É importante notar que as mulheres são as mais acometidas em todos os grupos etários (CDC, 2012).

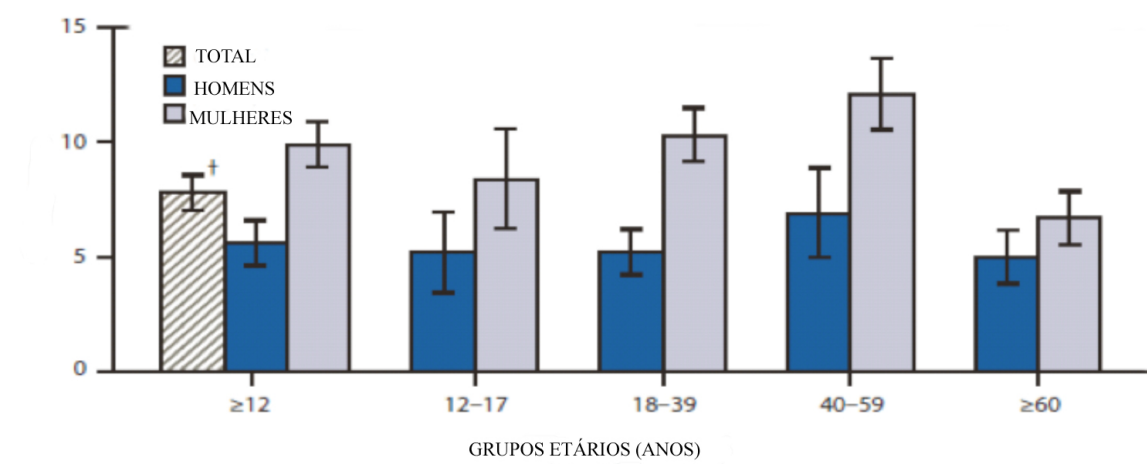


Figura 1. Prevalência do transtorno depressivo nos EUA

Fonte: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6051a7.htm?s_cid=mm6051a7_w#x2013; United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 2007-2010

Em termos prognósticos, o transtorno depressivo maior não se caracteriza por uma evolução benigna. Ele tende a ser crônico e recidivante. Estima-se que apenas 50% dos pacientes hospitalizados por transtorno depressivo maior se recuperem no primeiro ano. Cerca de 25% dos pacientes hospitalizados tem recidiva após 6 meses, 30-50% nos próximos 2 anos e 50-75% em 5 anos (Sadock, Sadock & Ruiz, 2015). Além disto, o transtorno depressivo maior é uma doença de alta prevalência, com risco de suicídio e que pode acarretar em sérias limitações sócio-econômicas (Czéh, Fuchs, Wiborg & Simon, 2016).

1.2 Classificação e Diagnóstico

Diante de uma perspectiva evolucionista da adaptabilidade das espécies, o episódio depressivo estaria ligado a algum fator estressante externo como limitação energética ou a tentativa de sobrepujar falhas, derrota, perigo, escassez de recursos. Portanto, a depressão seria um meio de conservar ou realocar energia durante uma situação adversa, proporcionando uma alteração no processo decisório, diminuição de comportamentos de risco, pensamento analítico estendido e redução da distração (Durisko, Mulsant & Andrews, 2014). O estresse tem se mostrado como uma fator predisponente para alguns tipos de depressão (Hellriegel & D'Mello, 1997) e, de acordo com observações clínicas de longa data, notou-se que eventos estressantes geralmente precedem episódios depressivos. Uma possível explicação envolveria alterações persistentes e duradouras na biologia cerebral, desencadeada pelo estresse, como a perda de familiares, cônjuge e desemprego (Sadock, Sadock & Ruiz, 2015).

As principais características do transtorno depressivo maior são o humor deprimido, anedonia, culpa, pessimismo e falta de esperança (Haas & Brown, 2014), e ele pode ser diagnosticado através dos critérios da Classificação Internacional de Doenças 10 (CID-10) e/ou pelo Manual Diagnóstico e Estatístico quinta edição (DSM-5) (tabelas 1 e 2).

Tabela 1

Critérios para o diagnóstico de episódio depressivo, segundo a CID-10

Sintomas fundamentais	• Humor deprimido • Perda de interesse • Fatigabilidade
Sintomas acessórios	• Redução da concentração e da atenção • Diminuição da autoestima e da autoconfiança • Ideias de culpa e inutilidade • Visões desoladas e pessimistas do futuro • Ideias de suicídio, ou atos autolesivos ou suicídio • Perturbação do sono • Diminuição do apetite

Nota. Adaptado de Classificação de Transtornos Mentais e de Comportamento da CID 10. (1993).Brasil: Artmed.

Tabela 2

Critérios para o diagnóstico de episódio depressivo maior, segundo o DSM-V

Cinco (ou mais) dos seguintes sintomas por mais de duas semanas	• Humor deprimido • Perda do interesse ou da capacidade de sentir prazer • Perda ou ganho significativo de peso • Insônia ou hipersonia • Agitação ou retardo psicomotor • Fadiga ou perda de energia • Sentimento de inutilidade ou culpa excessiva ou inadequada • Capacidade diminuída de pensar ou concentrar-se, ou indecisão • Pensamentos recorrentes de morte e/ou ideação suicida
--	--

Nota. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th Ed). (2013). Washington DC: American Psychiatric Association.

1.3 Neurobiologia

1.3.1 Neuroanatomia

A partir da evolução tecnológica dos métodos de imagem, surgiu a possibilidade de se tentar identificar as estruturas e circuitos cerebrais envolvidos no transtorno depressivo. As principais regiões estudadas na depressão são a do córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo. Com a utilização da ressonância nuclear magnética, estudos recentes de imagem, apontam para uma redução volumétrica expressiva no giro do cíngulo anterior e córtex órbito-frontal, além de reduções moderadas no hipocampo, putamên e núcleo caudado. Já em outras pesquisas que utilizaram a técnica da tomografia com emissão de pósitrons (PET), demonstrou-se anormalidades no fluxo sanguíneo e metabolismo da glicose em diversas estruturas pré-frontais e límbicas, envolvidas no processamento das emoções (Palazidou, 2012).

As áreas neuroanatômicas mais comumente envolvidas na depressão são o córtex pré-frontal ventromedial, látero-orbital e dorso-lateral; giro do cíngulo anterior, *striatum*, incluindo o núcleo *accumbens*, amígdala e hipocampo. A integração existente entre circuitos do córtex pré-frontal, cíngulo, amígdala e hipocampo atuam na regulação de funções como o amor, aprendizado e contextualização dos processos de memória. Já, predominantemente, o córtex pré-frontal ventro-medial medeia a dor, agressão, funcionamento sexual e apetite. E, a hiperatividade do córtex pré-frontal ventro-medial está associada a maior sensibilidade à dor, ansiedade, ruminações depressivas e à tensão (Maletic, et al., 2007).

A parte látero-orbital do córtex pré-frontal avalia os riscos das situações, modulando os estados afetivos que podem ser adaptativos ou não para cada situação. A parte dorso-lateral do córtex pré-frontal é responsável pelas funções executivas, atenção, memória de trabalho. A hipoatividade da parte dorso-lateral do córtex pré-frontal produz alentecimento psicomotor, apatia, déficits na atenção e memória de trabalho (Maletic, et al., 2007).

O giro anterior do cíngulo em sua porção dorsal, atua no funcionamento cognitivo e executivo e a parte ventral está relacionada as avaliações emocionais e motivacionais. O giro anterior do cíngulo também é capaz de fazer um balanço das decisões tomadas e fazer ajustes de acordo com situação apresentada (Maletic, et al., 2007).

1.3.2 Teoria Monoaminérgica

Apesar de extensas investigações, os processos neurobiológicos que levam a depressão ainda não foram totalmente elucidados. A hipótese mais amplamente aceita é a do desequilíbrio da neurotransmissão monoaminérgica na fenda sináptica (figura 2) (Czéh, Wiborg & Simon, 2016). A teoria monoaminérgica para depressão surgiu no início da década de 50 do século passado, com a descoberta do efeito da iproniazida em elevar o humor de pacientes depressivos em tratamento para tuberculose. Ela é baseada na suposição de que o efeito antidepressivo decorre de uma maior disponibilização das monoaminas como NA (noradrenalina), DA (dopamina) e 5-HT (serotonina) na fenda sináptica dos neurônios do sistema nervoso central (Elhwuegi, 2004). Dentro desta intrincada e complexa rede de fibras aminérgicas, há neurônios que possuem maior concentração de determinadas monoaminas. Eles são: os neurônios serotoninérgicos das vias que ligam o núcleo da rafe ao *striatum*; os neurônios noradrenérgicos que comunicam o *locus coeruleus* ao núcleo *accumbens*; e os neurônios dopaminérgicos da vias nigro-estriatal, mesolímbica e mesocortical (figuras 3, 4 e 5) (Hornykiewicz, 1982).

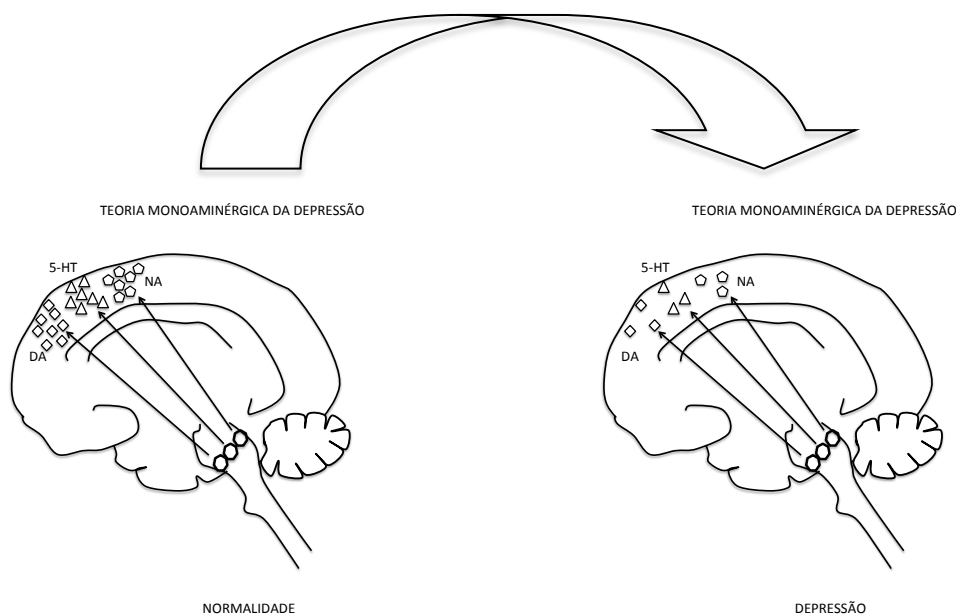


Figura 2. Deficiência da neurotransmissão monoaminérgica

Fonte: Adaptado de Stahl, S., & Muntner, N. (2013). *Stahl Online: Stahl's essential psychopharmacology: Neuroscientific basis and practical application*. Cambridge: Cambridge University Press.

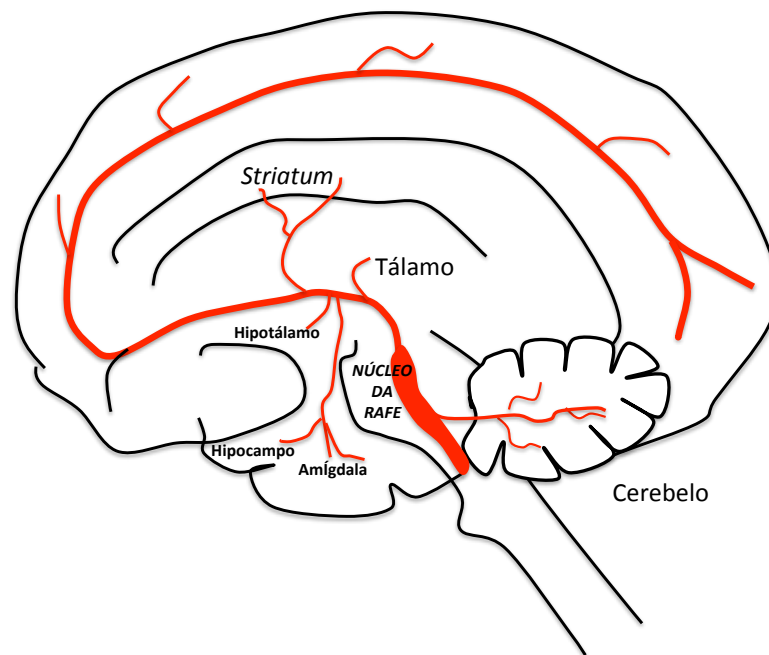


Figura 3. Vias noradrenérgicas

Fonte: Adaptado de Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J., Flower, R. J., & Henderson, G. (2012). *Rang and Dales pharmacology*. Edinburgh: Elsevier/Churchill Livingstone.

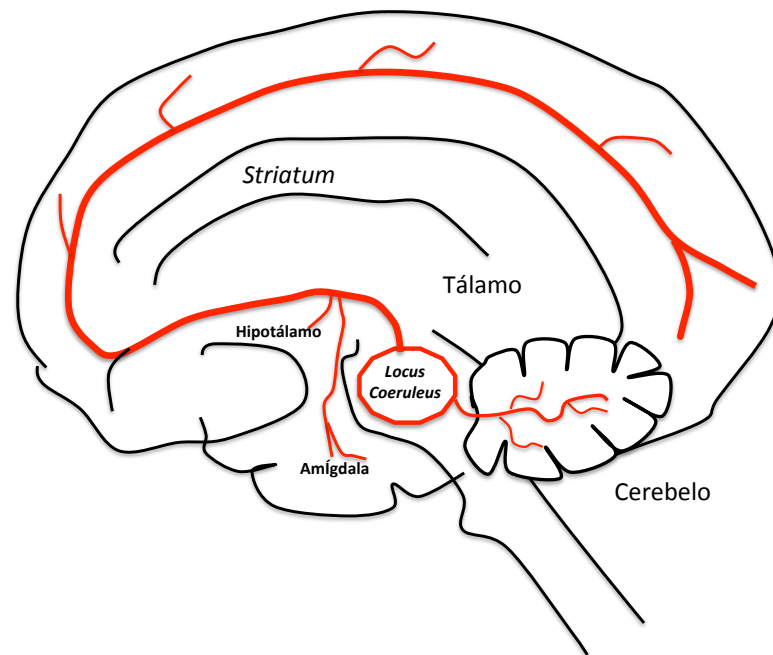


Figura 4. Vias serotoninérgicas

Fonte: Adaptado de Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J., Flower, R. J., & Henderson, G. (2012). *Rang and Dale's pharmacology*. Edinburgh: Elsevier/Churchill Livingstone.

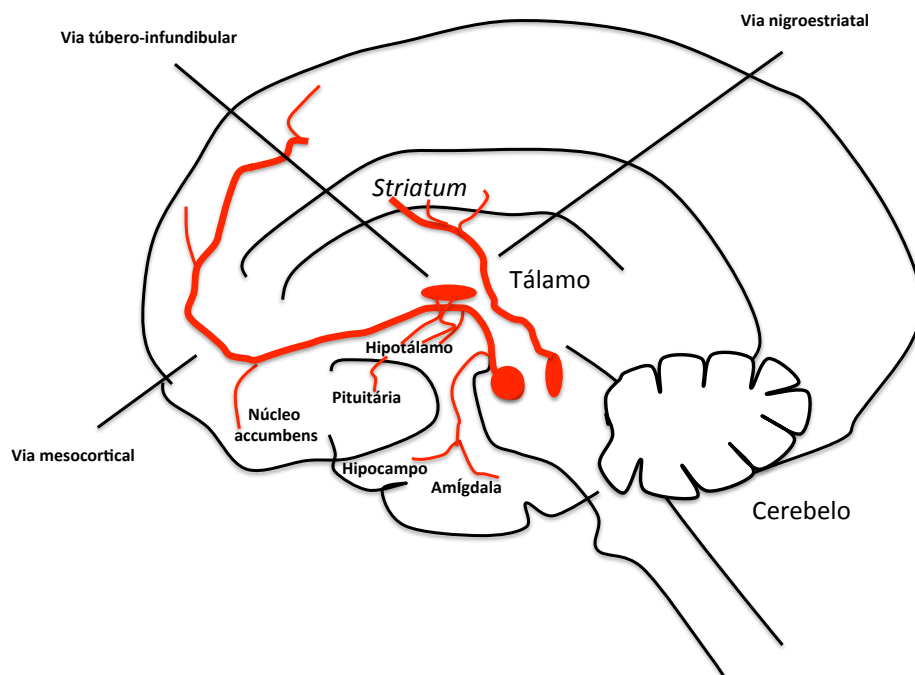


Figura 5. Vias dopaminérgicas

Fonte: Adaptado de Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J., Flower, R. J., & Henderson, G. (2012). *Rang and Dale's pharmacology*. Edinburgh: Elsevier/Churchill Livingstone.

Os mecanismos que permitem o aumento da concentração de monoaminas na fenda sináptica são variados e, dentre eles tem-se: a inibição da recaptação de monoaminas na fenda, diminuição do metabolismo intraneuronal das monoaminas com bloqueio da MAO (monoaminooxidase) e COMT (catecol O-metiltransferase), dessensibilização do receptor inibitório pré-sináptico α_2 e 5-HT_{1b} e do somatodendrítico 5-HT_{1a} (figura 6) (Elhwuegi, 2004). As aminas 5-HT, NA e DA, pertencem a classe dos neurotransmissores monoaminérgicos e possuem funções vitais tanto na regulação de diversos processos fisiológicos como na etiologia de doenças endócrinas, cardiovasculares, neurológicas e psiquiátricas (Eisenhofer, 2004). Além disso, as aminas biogênicas são fundamentais nos processos da sinalização celular, tanto no sistema nervoso central quanto no periférico. O processo da neurotransmissão envolve diversas etapas, a saber: síntese do neurotransmissor no terminal pré-sináptico do neurônio, armazenamento nas vesículas pré-sinápticas, liberação do neurotransmissor na fenda sináptica, atuação do neurotransmissor nos receptores pós-sinápticos e, terminação da ação do neurotransmissor através da degradação ou recaptação do mesmo.

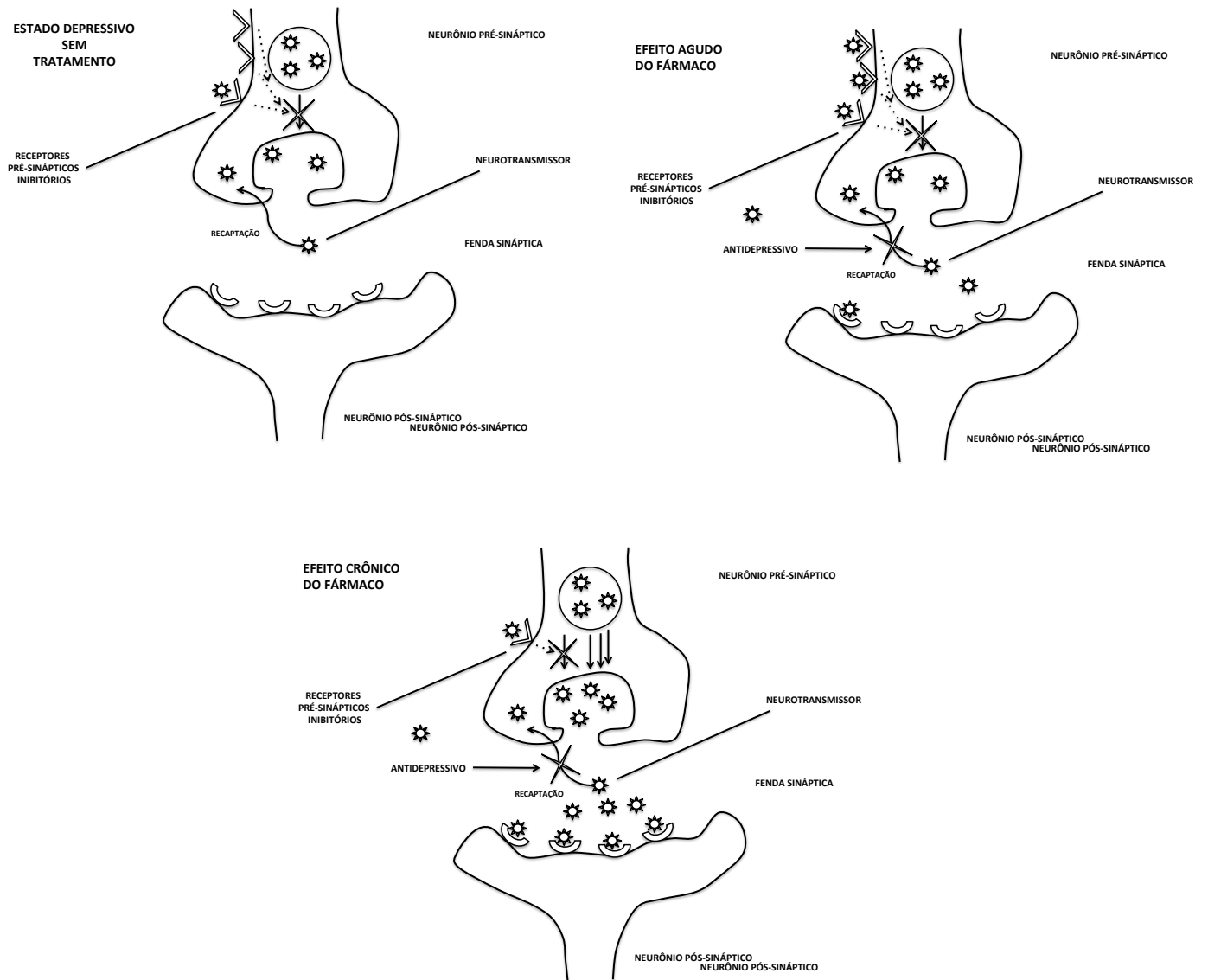


Figura 6. Atuação dos antidepressivos sobre os neurônios pré e pós sináptico

Fonte: Adaptado de Finkel, R., Whalen, K., Finkel, R., & Panavelli, T. A. (2016). *Farmacologia ilustrada* (6ª ed.). Porto Alegre: Artmed.

Os substratos precursores destas aminas biogênicas são os aminoácidos triptofano, precursor da 5-HT e a fenilalanina/tirosina, precursor da NA e DA (figuras 7 e 8), que chegam ao cérebro através de transportadores de L-aminoácidos. A primeira etapa envolve a hidroxilação destes aminoácidos pela triptofano hidroxilase e tirosina hidroxilase, originando o 5-hidroxitriptofano (5-HTP) e a levodopa (L-dopa) respectivamente. Então, ambos são descarboxilados pela AADC (L-amino aromático descarboxilase), originando a 5-HT e DA respectivamente. A dopamina ainda poderá ser metabolizada pela DBH (dopamina beta hidroxilase), gerando a NA. A 5-HT, NA e DA podem ser catabolizadas pela MAO e COMT, gerando os metabólitos 5-HIAA (ácido 5-hidroxiindolacético), MHPG (3-metil-4-hidroxifenilglicol) e HVA (ácido homovanílico), os quais podem ser encontrados no líquido (Ng, Heales & Kurian, 2014).

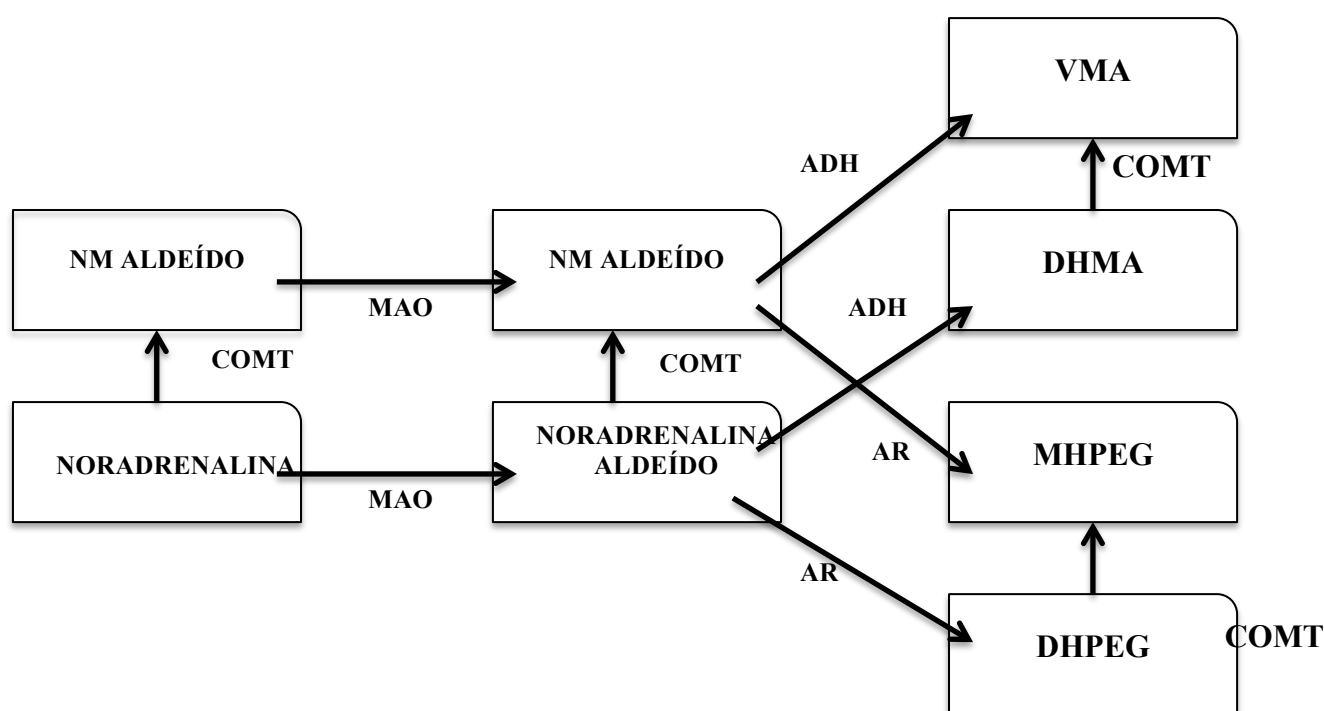


Figura 7. metabolismo da noradrenalina e metabólitos

Fonte : adaptado de Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J., Flower, R. J., & Henderson, G. (2012). *Rang and Dale pharmacology*. Edinburgh: Elsevier/Churchill Livingstone.

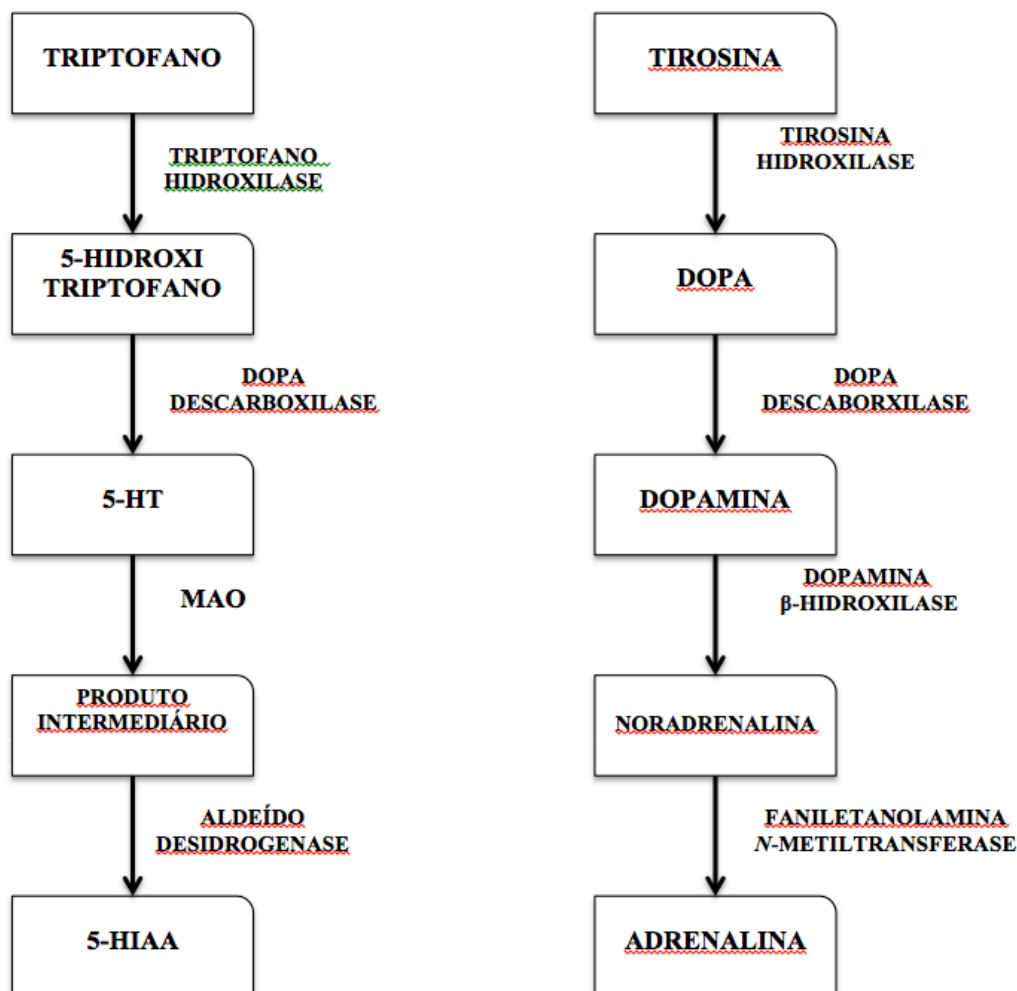


Figura 8. metabolismo da serotonina, dopamina e seus metabólitos

Fonte : Adaptado de Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J., Flower, R. J., & Henderson, G. (2012). *Rang and Dale pharmacology*. Edinburgh: Elsevier/Churchill Livingstone.

A maioria dos antidepressivos exerce sua ação ao aumentar a disponibilidade de monoaminas na fenda sináptica bloqueando a receptação de 5-HT e NA, ou impedindo o catabolismo das monoaminas inibindo a MAO (D'Aquila, Collu, Gessa & Serra, 2000) e a COMT. A MAO-A metaboliza preferencialmente a 5-HT e NA, enquanto a DA serve de substrato tanto à MAO-A quanto à MAO-B (Elhwuegi, 2004). No SNC, MAO-A se localiza no compartimento extraneural junto as terminações nervosas que contém 5-HT, NA e DA. Enquanto a MAO-B se localiza nas células da glia (Jäger & Saaby, 2011). De acordo com os mecanismos de ação mencionados acima, o presente estudo utilizou os antidepressivos fluoxetina, imipramina e bupropiona que, de acordo com Stahl (2014), atuam

respectivamente, através do bloqueio da receptação de 5-HT; do bloqueio da recaptção de NA e 5-HT e do bloqueio da receptação de NA e DA. Desta forma, presume-se que estas drogas sejam capazes de aumentar a concentração destas monoaminas na fenda sináptica, modulando assim a neurotransmissão no cérebro. Por sua vez, a quercetina, flavonóide utilizado neste estudo, também possui indícios de atuar bloqueando a recaptção de 5-HT, NA, DA (D'Andrea, 2015) e de inibir a MAO-A e MAO-B (Jäger & Saaby, 2011).

Essa teoria, no entanto, é incapaz de justificar a demora do início da ação dos antidepressivos (que em média, leva de 2 a 4 semanas), as alterações macro e microscópicas cerebrais, a desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, alterações da microbiota intestinal e potenciais mecanismos inflamatórios envolvidos no transtorno depressivo (Czeh et al., 2016).

1.3.3 Estresse e Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

O cérebro é o principal órgão na regulação da resposta ao estresse e acredita-se que o estímulo estressante atue de forma importante na patogênese do transtorno depressivo maior (Frodl et O'Keane, 2012). Em sua forma aguda ou crônica, o estresse, seja ele proveniente do ambiente social ou de modelos animais comportamentais, se associa a alterações de neurotransmissores (França, Rufino, Soares & Ribeiro, 2016), níveis de glicocorticóides e dos processos oxidativos, impondo assim uma desregulação do sistema monoaminérgico com desequilíbrio do balanço redox (Figura 9), culminando com uma ampla gama de desordens (Ahmad et al., 2012) e, cujas evidências, sugerem danos aos neurônios hipocámpais e prejuízo de funções cerebrais como memória e aprendizado (Frodl et O'Keane, 2012). Portanto, o eixo HPA tem função preponderante na capacidade do indivíduo lidar com o estresse e sua estimulação excessiva tem sido implicada em casos de depressão (Berton & Nestler, 2006).

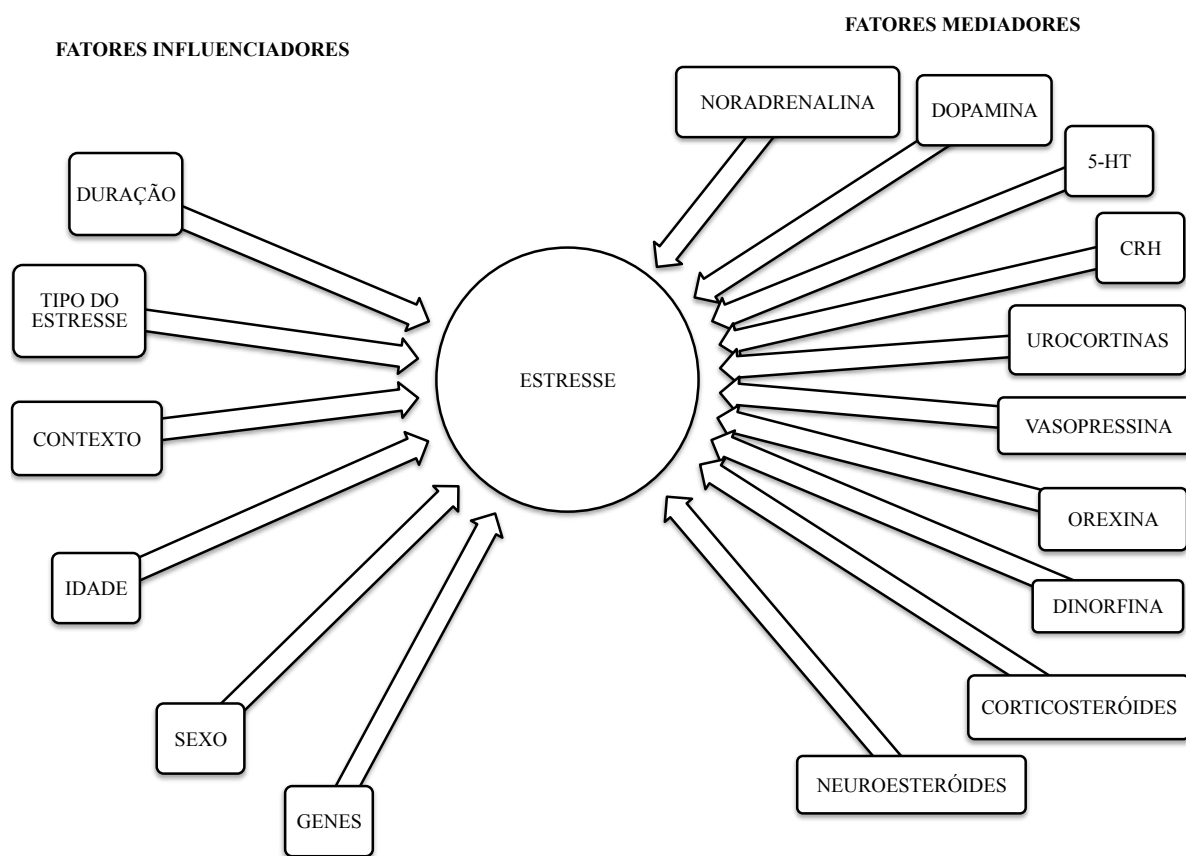


Figura 9. Elementos influenciadores e mediadores do estresse

Fonte: Adaptado de Joëls, M., & Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 459–466. <https://doi.org/10.1038/nrn2632>

Os estímulos emocionais chegam ao eixo HPA através da amígdala. Esta, por sua vez, exerce um papel de controle excitatório sobre o hipotálamo, aumentando a secreção de cortisol que estimula positivamente a própria amígdala. O hipocampo, por outro lado, exerce efeito negativo sobre o eixo, ou seja, há uma retroalimentação negativa, contrabalançando a retroalimentação positiva da amígdala (Willner, Scheel-Kruger & Belzung, 2013). A amígdala atua no recrutamento e coordenação da excitabilidade cortical, resposta neuroendócrina a estímulos indeterminados, aprendizado emocional e memória. A ativação anormal da amígdala está relacionada com a intensidade dos sintomas depressivos (Palazidou, 2012).

Por outro lado, já no hipotálamo, há uma dessensibilização dos receptores de corticóide, dificultando resposta inibitória do hipocampo ao excesso de cortisol. Este excesso, em conjunto com a ativação da amígdala, estimula a liberação de citocinas dos macrófagos que por sua vez diminuem a sensibilidade do receptor GR (receptor glicocorticóide) ao corticóide (Maletic, et al., 2007). Os glicocorticóides são capazes de diminuir a neurogênese

hipocampal, e o upregulation do SGK1 (soro e glicocorticóide cinase 1 induzida), encontrado em pacientes com transtorno depressivo maior, inibiria a neurogênese do hipocampo (Villanueva, 2013).

Outro achado seria a redução da expressão do mRNA (RNA mensageiro) do receptor para glicocorticóide GR-alfa em células periféricas sanguíneas, em pacientes com doença depressiva, mesmo naqueles em remissão (Palazidou, 2012). Existe também uma outra alça de retroalimentação negativa originada do córtex pré-frontal dorso-medial e córtex pré-límbico, permitindo que essas áreas emocionais também ajudem no controle do eixo HPA (Willner, Scheel-Kruger & Belzung, 2013).

Com a persistência do quadro de estresse, mecanismos glutamatérgicos hiperativam enzimas dependentes do cálcio, aumentando a produção de radicais livres, reduzindo o transporte de glicose para dentro da célula e consequente redução na capacidade energética e diminuição da produção de BDNF (Willner, Scheel-Kruger & Belzung, 2013).

1.3.4 Neurotrofinas

A regulação da atuação das neurotrofinas e citocinas sobre a plasticidade neuronal é fundamental para o equilíbrio do sistema nervoso central em situações de estresse. A falha deste bom funcionamento pode incorrer em disfunção e morte neuronal (Stepanichev, Dygalo, Grigoryan, Shishkina & Gulyaeva, 2014). O Glutamato é um neurotransmissor que possui relações estreitas com a neuroplasticidade cerebral. A sua liberação é capaz de induzir rapidamente potenciação de longa duração e promover sinaptogênese. Já o bloqueio do receptor NMDA (receptor ionotrópico ativado pelo ácido glutâmico (glutamato)/Aspartato) e a ativação do receptor AMPA (alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico) são capazes de induzir a expressão do gene de BDNF, atuando sinergicamente na neuroplasticidade (Liu, Liu, Wang, Zhang & Li, 2017).

O hipocampo é uma região com altos níveis da neurotrofina BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro). O BDNF é capaz de estimular o crescimento neuronal, a sobrevivência, a maturação, a arborização e a plasticidade sináptica neuronal. As medicações antidepressivas são capazes de aumentar a síntese de BDNF enquanto o estresse promove a diminuição de sua síntese (Palazidou, 2012). Sem o BDNF não há o sustento “trófico” da estrutura celular, acarretando a atrofia dos dendritos apicais e a morte das células granulosas (Willner, Scheel-Kruger & Belzung, 2013).

A formação do BDNF é oriunda da clivagem da molécula precursora, o pró-BDNF. O pró-BDNF é capaz de ligar ao receptor p75 (receptor de baixa afinidade do fator de crescimento nervoso), exercendo uma função antagônica a sinalização complexo BDNF/TrKB (receptor tirosina cinase B). Portanto, uma das possíveis justificativas para o sintomas depressivos seria o desequilíbrio da relação BDNF/TrKB e pró-BDNF/p75. Esse desequilíbrio de maior expressão do complexo pró-BDNF/p75 foi detectado no soro e nos linfócitos circulantes de pacientes com transtorno depressivo maior (Villanueva, 2013).

As alterações neuroquímicas e estruturais observadas no hipocampo são comparáveis às de pessoas submetidas cronicamente ao estresse e com altos níveis de glicocorticóide circulante. Esses efeitos podem lesar o hipocampo favorecendo uma diátese para depressão. Embora o hipocampo seja uma das áreas mais sensíveis ao eixo HPA, o córtex pré-frontal também sofre eixo HPA através da ativação microglia e atrofia dos neurônios piramidais, retração dos dendritos e redução de proteínas sinópticas. Essas mudanças estruturais do hipocampo foram relacionadas com alterações na memória verbal e declarativa, bem como achado o achado de baixos níveis de BDNF em vítimas de suicídio. (Willner, Scheel-Kruger & Belzung, 2013).

Múltiplos episódios depressivos podem levar a redução do volume hipocampal e, em contrapartida, a remissão está associado a reversão das alterações estruturais juntamente com recuperação do volume do hipocampo (Palazidou, 2012). Dentro do córtex pré-frontal, a área mais sensível é a do giro anterior do cíngulo. A qual pode ter seu volume reduzido em pacientes depressivos. Inclusive se criou a hipótese que a neurogênese que ocorre na ação antidepressiva e dá base a novos aprendizados de processos cognitivos mais adaptados e de novos comportamentos (Willner, Scheel-Kruger & Belzung, 2013).

Há outras neurotrofinas além do BDNF que, embora menos exploradas, podem fazer parte da etiologia do transtorno depressivo maior. As neurotrofinas são constituídas por uma família de 4 fatores de crescimento. NGF, fator de crescimento do nervo, BDNF, fator de crescimento derivado do cérebro, e as NT-3 e NT-4, neurotrofinas 3 e 4. Todas essas neurotrofinas são capazes de se ligar aos receptores de membrana neuronal, ligados a tirosina cinase, desencadeando uma cascata de mensageiros secundários e, culminar com a produção de substâncias que ajudam a preservação neuronal. Também se observou que a expressão do NT-3, GDNF (fator neurotrófico derivado da linhagem glial) e ARTN (artemin) estavam dessensibilizadas em pacientes com transtorno depressivo maior (Villanueva, 2013).

1.3.5 Neuroinflamação

Entre os mecanismos inflamatórios envolvidos no transtorno depressivo haveria a liberação citocinas pró-inflamatórias (Kim, Na, Myint & Leonard, 2016). O processo inflamatório crônico e o estresse oxidativo têm sido implicados na fisiopatologia de diversas doenças. Entre elas estão as doenças cardiovasculares, aterosclerose, doença renal crônica, doenças pulmonares, câncer, artrite reumatóide, demência, obesidade, diabetes e por fim, o transtorno depressivo maior (Rawdin et al., 2012). O estresse oxidativo (figura 10) surge através das espécies reativas oriundas do oxigênio e nitrogênio (EROs e ERNs). Embora sejam produzidas pelo metabolismo celular, o seu excesso está envolvido em injúria celular e tem participação importante na fisiopatologia do transtorno depressivo. O aumento do estresse oxidativo causado pelo oxigênio e nitrogênio são capazes de induzir respostas autoimunes deletérias ao organismo, devido a uma desregulação da sinalização dos processos de oxirredução (Moylan et al., 2014). Esse desequilíbrio, entre o sistema antioxidante e o estresse oxidativo causado pelas citocinas pode ser associado à depressão (Kim, Na, Myint & Leonard, 2016).

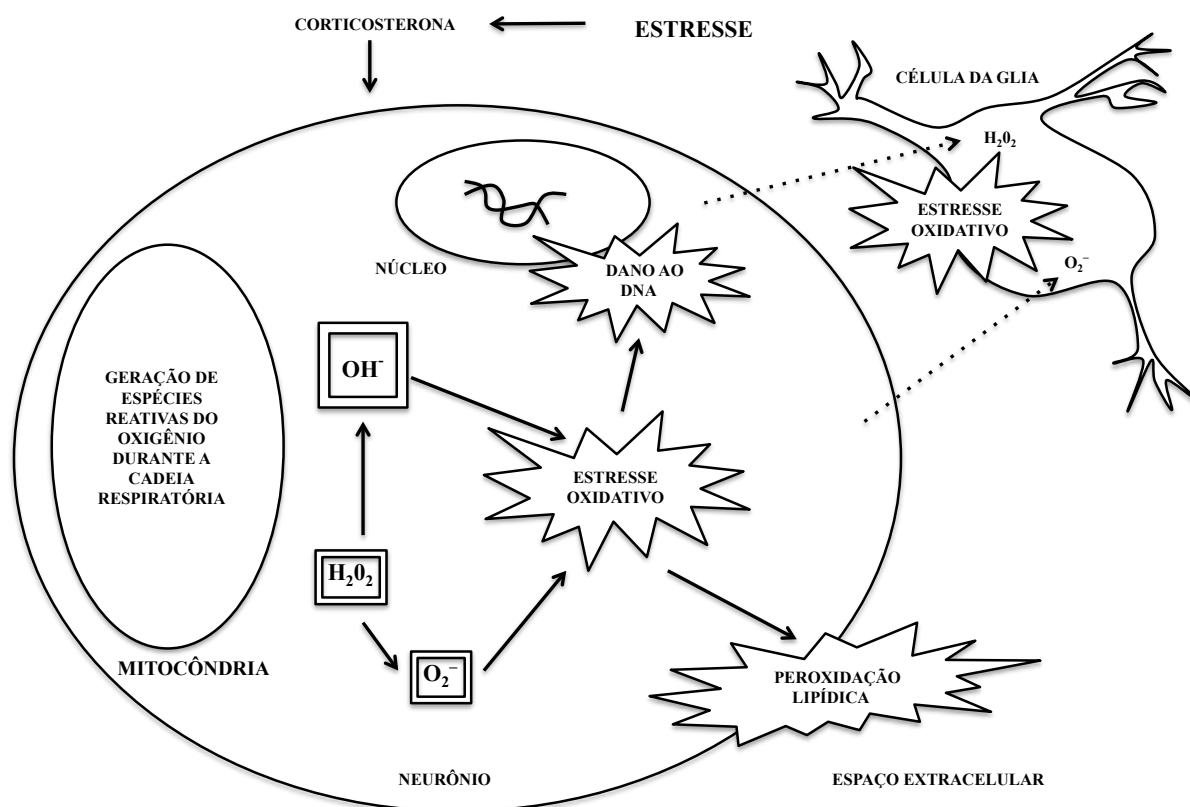


Figura 10. Estresse oxidativo

Fonte: Adaptado de Spiers, J. G., Chen, H. J. C., Sernia, C., & Lavidis, N. A. (2015). Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal stress axis induces cellular oxidative stress. *Frontiers in Neuroscience*, 9(JAN), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00456>

As Citocinas pró-inflamatórias são capazes de causar fadiga, letargia, sintomas de ansiedade e depressão. Casos graves de depressão tem sido associados à ativação do sistema imune e com maiores níveis de citocinas inflamatórias. O excesso de citocinas inflamatórias circulantes está associado à depleção do triptofano, aminoácido precursor da serotonina, além de estímulo sobre o eixo HPA através de atividade adrenérgica. Outro mecanismo seria a redução da capacidade de funcionamento dos receptores de corticóide (Palazidou, 2012). Os níveis de superóxido dismutase e glutathione peroxidase estão reduzidos em pacientes depressivos bem como há níveis reduzidos dos sistemas antioxidantes representados pelos baixos níveis de glutathione, triptofano e tirosina (Moylan et al., 2014). As IL-1 (interleucina 1) e IL-6 (interleucina 6), IFN- γ (interferon gama) e o TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) estão associados com os principais sintomas do transtorno depressivo. Já por outro lado, as IL-4, IL-10 e IL-13 tem papel anti-inflamatórios e se encontram reduzidas no transtorno depressivo (Leonard, 2013).

As citocinas pró-inflamatórias também são capazes de reduzir o suporte neurotrófico, diminuir neurotransmissão monoaminérgica que levam apoptose neuronal e dano a glia. As células da glia possuem relação íntima com os neurônios e são vitais para a sobrevivência deles. A exemplo, a astroglia e a microglia são capazes de manter o meio apropriado para o neurônio pela regulação dos neurotransmissores, citocinas e fatores neurotróficos como o BDNF (Maletic, et al., 2007). Por outro lado, as células da microglia, que representam os macrófagos no SNC, podem causar apoptose através da liberação de IL-6, TNF- α e IFN- γ (Leonard, 2013).

Os linfócitos Th-1 secretam predominantemente IFN- γ e TNF- α que são substâncias pró-inflamatórias. Essa liberação causada pelo linfócito Th-1 fazem parte da resposta ao estresse e participa na síntese do NO que contribui para uma reação inflamatória tardia. Por sua vez, os linfócitos Th-2 secretam a IL-10 que tem função antiinflamatória. Portanto os linfócitos Th-1 e Th-2 têm atividades antagônicas (Leonard, 2013).

Em estudo com modelo animal utilizando camundongos, demonstrou-se comportamento de doença, ou seja, redução da exploração e atividade sexual pelo animal, ao se administrar pequenas doses de IL-1. A IL-1 foi capaz de influenciar a liberação de TNF- α , IL-6 e IL- β que interferem com eixo HPA e o sistema monoaminérgico (Krishna & Nestle, 2008). Em seres humanos, o tratamento para câncer com IL-2 foi capaz de induzir sintomas depressivos (Moylan et al., 2014).

E por último, o próprio IFN- γ foi capaz de ativar a microglia e estimular a liberação de citocinas pró-inflamatórias e, em estudo prévio, demonstrou-se que ativação da microglia em modelo murino foi atenuada pela imipramina, fluvoxamina e reboxetina. Porém, esses efeitos atenuantes não são partilhados por todos os antidepressivos. A bupropiona e agomelatina são incapazes de inibir a liberação de citocinas inflamatórias pelas células da microglia (Leonard, 2013). A administração de antidepressivos tricíclicos e de inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) em modelos animais suprimiram a imunidade celular, atenuando os níveis de biomarcadores inflamatórios e de proteínas de fase aguda (Moylan et al., 2014).

1.3.6 Regulação gênica

As anormalidades na regulação gênica também contribuem na gênese da depressão. Os microRNAs (miRNA) são moléculas pequenas, não codificadoras, geradas junto a produção do mRNA, que tem características regulatórias capazes de controlar a função gênica através da clivagem ou a repressão da tradução do mRNA alvo. As alterações de miRNA tem sido associados ao transtorno depressivo maior, pois essas moléculas contribuem para sobrevivência, tropismo e sinaptogênese neuronal. O miRNA-182 e o miRNA-132 regulam negativamente a expressão do BDNF e estão presentes em níveis séricos elevados em pacientes com transtorno depressivo maior. Outro indício da participação do miRNA nas doenças psiquiátricas seria a maior superexpressão do miRNA-212. Níveis séricos aumentados do miRNA-212, cuja função é aumentar a expressão do BDNF, foram encontrados após ECT (eletroconvulsoterapia) (Villanueva, 2013). Já a metilação do DNA se mostrou um modificação epigenética estável que pode ocorrer precocemente na vida do indivíduo e persistir até a vida adulta, conferindo risco para depressão. O abuso infantil também tem sido associado à metilação de *loci* genéticos específicos como os da região promotora do receptor para corticóide, alterando sua transcrição e conferindo risco para depressão e suicídio (Albert & Benkelfat, 2016).

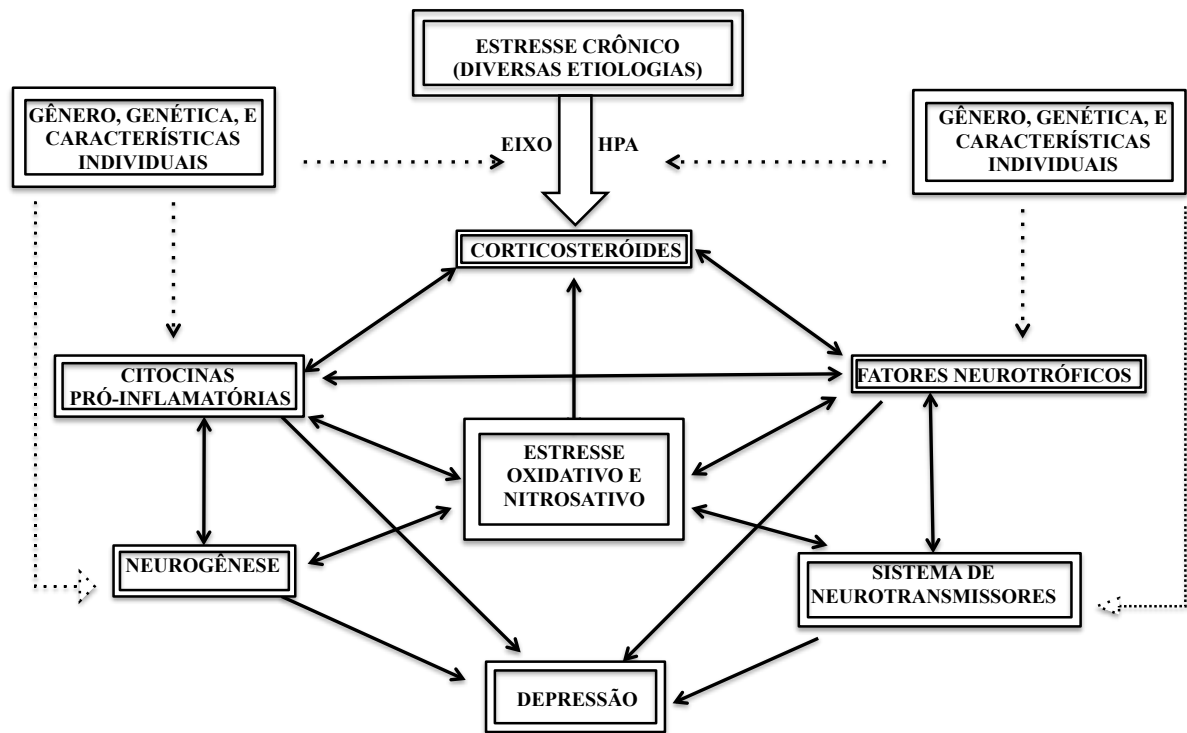


Figura 11. Modelo de patogênese da depressão

Fonte: Adaptado de Stepanichev, M., Dygalo, N. N., Grigoryan, G., Shishkina, G. T., & Gulyaeva, N. (2014). Rodent models of depression: Neurotrophic and neuroinflammatory biomarkers. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/932757>

1.4 Tratamento

Atualmente, os tratamentos disponíveis (figura 12) para o transtorno depressivo maior são a terapia cognitiva, terapia interpessoal, terapia comportamental, psicanálise, terapia familiar, privação do sono, fototerapia, estimulação do nervo vago, estimulação magnética transcraniana, ECT e farmacoterapia com medicações antidepressivas (Sadock, Sadock & Ruiz, 2015).

Tabela 3

Modalidades de tratamento

TIPO DE TRATAMENTO	MECANISMO DE AÇÃO	EXEMPLOS
MEDICAÇÕES		
Tricíclicos	Inibição da recaptura da serotonina e noradrenalina	Imipramina e desimipramina
Inibidores seletivos da recaptura de serotonina (IRSS)	Inibição seletica da recaptura da serotonina	Fluoxetina e citalopram
Inibidores da recaptura de noradrenalina (IRN)	Inibição seletivo da recaptura de noradrenalina	Atomoxetine e reboxetina
Inibidores da recaptura de serotonina e noradrenalina (ISRSN)	Inibição da recaptura da serotonina e noradrenalina	Venlafaxina e duloxetina
Inibidores da monoaminoxidase (iMAO)	Inibição da monoaminoxidase A, inibição da monoaminoxidaseB não tem efeitos antidepressivo	Tranilcipromina e fenelzina
Lítio	O lítio possui diversos mecanismo moleculares, como por exemplo a inibição da fosfatidilinositol fosfatase, adenilil ciclases, glicogênio sintase cinase 3 β e proteínas G. No entanto, quais as ações responseveis pelos mecanismos antimaníacos e antidepressivos permanecem desconhecidos.	
Antidepressivos atípicos	Desconhecido. Apesar dasmedicações serem baseadas em mecanismos de inibçãodas monoaminas, esses mecanismos não são necessarimentes responsáveis pelos efeitos antidepressivos.	Bupropiona e mirtazapina
NÃO MEDICAMENTOSO		
Eletroconvulsoterapia (ECT)	Estimulação cerebral generalizada	
Estimulação magnética	Estimulação cerebral generalizada? Acredita-se que o campo eletromagnético criado seja responsável por induzir correntes elétricas e despolarização no neurônio	
Estimulação do nervo vago	Desconhecido	
Psicoterapia	Mecanismo exato é desconhecido.	Terapia cognitive-comportamental e terapia interpessoal
Estimulação profunda do cérebro	Em pacientes com doença grave, o estímulo do giro do cíngulo aparenta ter efeitos antidepressivos	

Fonte: Adaptado Berton, O., & Nestler, E. J. (2006). New approaches to antidepressant drug discovery: Beyond monoamines. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(2), 137–151. <https://doi.org/10.1038/nrn1846>

Os antidepressivos atuais têm suas ações calcadas na inibição da recaptação da monoaminas, porém, possuem uma série de limitações. Entre elas os efeitos adversos persistentes, início de ação retardado, levando uma média de 10 dias a 3 semanas para iniciar o efeito, baixa tolerabilidade e potencial para interações medicamentosas significativas. A imipramina, um antidepressivo tricíclico capaz de bloquear a recaptação de 5-HT e NA, pode causar tontura, confusão mental, constipação, retenção urinária e xerostomia entre outros efeito colaterais. Estes, por sua vez, são atribuídos à atuação da substância nos receptores H_1 (receptor histaminérgico), M_1 (receptor muscarínico), α_1 (receptor alfa 1 adrenérgico). Já a fluoxetina se associa a náuseas, ansiedade, insônia, xerostomia, cefaléia, sonolência, tontura, agitação psicomotora, anorexia, diarreia, constipação, tremor, sudorese e disfunção sexual. Aparentemente esses efeitos são mediados pelos receptores 5-HT₂ e 5-HT₃ em certas vias serotoninérgicas. E, por fim, a bupropiona é capaz de causar insônia, náusea, faringite, perda ponderal, constipação, tontura, cefaleia e xerostomia, sendo alguns deles em decorrência da superstimulação da substância aos sistemas noradrenérgico e dopaminérgico (Khusboo, 2017).

Tabela 4

Medicamentos antidepressivos

Antidepressivo	Dose	Índice terapêutico	Efeitos adversos	Toxicidade
Amitriptilina (tricíclico)	Até 100mg	curto	Constipação, náuseas, parestesias, rash, borramento visual, diarreia, ganho ou perda ponderal	alta
Clomipramina (tricíclico)	Até 250mg	curto	Tontura, confusão, constipação, retenção urinária e xerostomia	moderada
Imipramina (tricíclico)	Até 50mg	curto	Tontura, confusão, constipação, retenção urinária e xerostomia	alta
Nortriptilina (tricíclico)	Até 25mg	curto	Tontura, confusão mental, constipação, retenção urinária, xerostomia	alta
Citalopram	Até 40mg	amplo	Náusea, ansiedade, insônia, xerostomia, cefaleia, agitação, tremor, sudorese, disfunção sexual	moderada
Fluoxetina	Até 20mg	amplo	Náusea, ansiedade, insônia, xerostomia, cefaleia, agitação, tremor, sudorese, disfunção sexual	baixa
Fluvoxamina	Até 100mg	amplo	Náusea, ansiedade, insônia, xerostomia, cefaleia, agitação, tremor, sudorese, disfunção sexual	baixa
Paroxetina	Até 30mg	amplo	Náusea, ansiedade, insônia, xerostomia, cefaleia, agitação, tremor, sudorese, disfunção sexual	baixa
Sertralina	Até 100mg	amplo	Náusea, ansiedade, insônia, xerostomia, cefaleia, agitação, tremor, sudorese, disfunção sexual	baixa
Agomelatina (Atípicos)	Até 50mg	curto	Tontura, alterações da função hepática, dor abdominal	-
Bupropiona (Atípicos)	Até 150mg	curto	Insônia, náusea, faringite, perda ponderal, constipação, tontura, xerostomia e cefaleia	moderada
Duloxetina (Atípicos)	Até 60mg	amplo	Astenia, constipação, diarreia. Tontura, fadiga, náusea, xerostomia, sedação, insônia e xerostomia	moderada
Trazodone (Atípicos)	Até 400mg	amplo	Náusea, ansiedade, insônia, xerostomia, cefaleia, tontura, sonolência, diarreia, tremores e sudorese	baixa
Venlafaxina	Até 75mg	curto	Hipertensão, glaucoma de ângulo agudo, distúrbios da coagulação, hiponatremia, cirrose	moderada
Fenelzina (iMAO)	Até 60mg	amplo	Tontura, cefaleia, alterações do sono, fadiga, fraqueza, tremores, hiperreflexia	alta
Isocarboxazida (iMAO)	Até 60mg	amplo	Tontura, cefaleia, tremores, constipação, náusea e xerostomia	alta
Tranilcipromina (iMAO)	Até 60mg	amplo	Esclerodermia, ataxia, confusão mental, polaciúria, urticária e desorientação	baixa

Fonte: Khusboo, S. B. (2017). Antidepressants: Mechanism of Action, Toxicity and Possible Amelioration. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 3(5), 437–448.
<https://doi.org/10.15406/jabb.2017.03.00082>

Diante disto, preconiza-se uma busca por novas alternativas que não possuam as mesmas limitações (Robinson, 2003). Os extratos vegetais são, supostamente, mais seguros e com melhor custo benefício (Khusboo, 2017). Neste contexto, os flavonóides se apresentam como moléculas de particular interesse pelo seu potencial antidepressivo (Gong et al., 2014) e, os fitoterápicos ricos em flavonóides como a Erva-de-São-João (*Hypericum perforatum*), se mostram como alternativas pela sua melhor aceitação e perfil de tolerabilidade (Solomon, Adams & Graves, 2013).

1.5 Flavonóides e Quercetina

Os flavonóides são moléculas polifenólicas, de baixo peso molecular (Singh et al., 2014), ubíquas e sintetizadas a partir da fenilalanina (Havsteen, 2002). Os flavonóides estão presentes em várias plantas comestíveis, frutas, vegetais e bebidas, a exemplo do café, chá, cerveja e vinho. Entre as diversas moléculas de flavonóides existentes, pode-se citar a quercetina, rutina e catequina (Singh et al., 2014). Eles desempenham um importante papel em vários processos biológicos e apresentam propriedades benéficas à saúde humana e sua ação se dá pela atuação em alvos celulares específicos dos caminhos de sinalização celular. (Singh, Kaur & Silakari, 2014). Dentre as inúmeras atividades biológicas dos flavonóides, destacam-se: atividade antitumoral, antiviral, antibacteriana, antidiarréica, antiasmática, antiespasmódica, antiosteoporótica, vasorrelaxante, fotoprotetora, antiaterogênica, hipolipemiante, antiagregante plaquetária, agonista GABAérgico (Singh et al., 2014), e antidepressiva (Gong, Huang, Ge, Chen & Zhang, 2014). A ingestão diária estimada de flavonóides nos EUA e Japão é de aproximadamente 20mg/dia, constituída em torno de 50% por quercetina, a qual tem na cebola a sua fonte mais importante. Esta dieta normal proporciona à quercetina e seus metabólitos alcançarem concentrações plasmáticas nanomolares, no entanto, com suplementação dietética do composto, essa concentração pode chegar a níveis micromolares (Poór, 2017). A quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona), flavonóide mais comum da natureza (Poór, 2017), é uma típica molécula polifenólica (Ishisaka et.al., 2011) do subgrupo dos flavonóis, é caracterizada por um radical cetona em sua estrutura química (Panche, Diwan & Chandra, 2106) (figura 1).

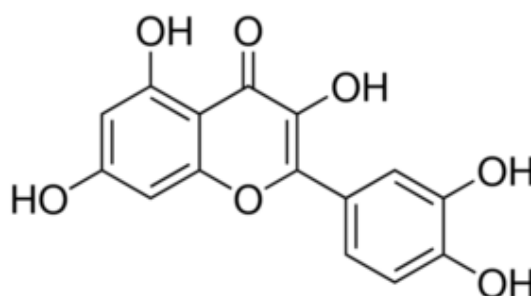


Figura 13. Molécula da Quercetina.

Fonte: Recuperado de <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/q4951?lang=pt®ion=BR>

A quercetina encontra-se comumente associada a moléculas de glicosídeos, presentes nas mais variadas partes dos vegetais. A quercetina e seus glicosídeos conseguem ser absorvidos pelo intestino delgado e grosso (Ishisaka, Mukai, Terao, Shibata & Kawai, 2104), porém apenas os metabólitos hidrolisáveis da quercetina apresentam uma boa biodisponibilidade oral, tendo pico plasmático de 0,7h e meia-vida de 11-28h (Oliveira et. al., 2015). Os metabólitos predominantes da quercetina na circulação são a quercetina-3'-sulfato (Q3'S), 3-O-quercetina (Q3GA) e isorhamnetina-3-glucoronídeo (I3G) (Poór, 2017), sendo o metabólito 3-O-quercetina aquele que obtém maior concentração plasmática em humanos e ratos, preservando sua função antioxidante pela permanência do anel catecol em sua estrutura molecular (Ishisaka, Mukai, Terao, Shibata & Kawai, 2104). A quercetina tem demonstrado potencial com suas ações antienvhecimento, angioprotetora, antialérgica, antineoplásica, anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, antidepressiva e ansiogênica (D'Andrea, 2015). Porém, para conseguir atuar diretamente na receptação de monoaminas no sistema nervoso central, a passagem dos flavonóides pela barreira hematoencefálica (BHE) é necessária. Para verificar essa propriedade, a concentração dos metabólitos da quercetina foi mensurada em homogenatos de hipocampo, *striatum* e cerebelo de ratos, evidenciando sua capacidade de atravessar a BHE. Houve também estudos *in vivo* que demonstraram a capacidade dos flavonóides de cruzarem a BHE, após absorção oral (Jäger & Saaby, 2011). D'Andrea (2015) relata que o efeito antidepressivo da quercetina envolve o aumento dos neurotransmissores monoaminérgicos como noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e dopamina (DA) através da inibição da receptação de monoaminas e inibição da monoaminoxidase (MAO) e inibição dos receptores NMDA. Porém, a quercetina também parece atuar na modulação dos hormônios de estresse do eixo hipotálamo-hipófise além de possuir efeito antioxidante protegendo neurônios hipocámpais de radicais livres. Em outro estudo, a quercetina demonstrou possuir a mesma eficácia quando comparada a imipramina, um antidepressivo clássico, confirmando os indícios de ser uma molécula dotada de potencial antidepressivo (Gong et al., 2014).

2 Justificativa

De acordo com a OMS (2012) a prevalência mundial do transtorno depressivo maior, considerando todas as faixas etárias, é de 350 milhões de pessoas. As opções terapêuticas para a depressão podem ser divididas em 3 grandes categorias: Uso de medicações antidepressivas, eletroconvulsoterapia e intervenções psicossociais (Gautam, Jain, Gautam, Vahia & Grover, 2017). No momento, as opções farmacológicas disponíveis possuem uma série de limitações. Elas são decorrentes dos efeitos colaterais causados pela não seletividade dos antidepressivos, pela potencial letalidade em casos de superdosagem e pelo longo período de latência para o efeito terapêutico. Estas características comprometem a segurança e a aceitação do tratamento por parte dos pacientes com transtorno depressivo (Solomon, Adams & Graves, 2013). Por estas razões, apesar da variedade medicamentosa existente, a busca por novas substâncias bioativas com maior seletividade, menor latência de ação, menor toxicidade e efeitos colaterais, vem se consolidando nas últimas décadas, como uma tentativa de solucionar as lacunas existentes na terapia antidepressiva existente (Kasper, Caraci, Forti, Drago & Aguglia, 2010).

Já é sabido que os flavonóides representam um grupo importante de substâncias bioativas e que eles estão associados a diversos efeitos benéficos à saúde (Panche, Diwan & Chandra, 2016). Neste contexto, a Erva-de-São-João (*Hypericum perforatum*) representa um fitoterápico rico em flavonóides e dotado de efeito antidepressivo. Kasper et al. (2010) afirmam que extratos do *hypericum* tem eficácia comparável aos antidepressivos tricíclicos, além de apresentar grande aceitação por parte da população em virtude dos seus menores efeitos adversos. Dentre a variedade de compostos presentes no extrato da Erva-de-São-João está a quercetina, um flavonóide facilmente encontrado em diversas espécies vegetais brasileiras (Huber & Rodriguez-Amaya, 2008) e que surge como uma alternativa promissora, pois assim como a Erva-de-São-João, também é dotada de eficácia semelhante ao antidepressivo tricíclico clássico imipramina (Gong et al., 2014). No entanto, diversos desafios se impõem ao uso dos extratos vegetais em decorrência da grande variedade de flavonóides presentes neles e, dentre estes, quais seriam os detentores de atividade biológica (Thiede & Walper, 1994; Elkhayat, Alorainy, El-Ashmawy & Fat'hi, 2016). Soma-se a isso, a vasta complexidade da neurobiologia da depressão e a limitação atual do conhecimento em integrar os modelos atuais que tentam explicar a gênese do transtorno depressivo (Palazidou, 2012; Villanueva, 2013). Surge então a necessidade de um maior aprofundamento científico no que se refere aos mecanismos envolvidos, especificamente, no efeito antidepressivo-símile

da quercetina e seu impacto na neurobiologia da depressão (Holzmann, Silva, Silva, Steimbach & Souza, 2015). Supõe-se que a quercetina consiga desenvolver suas ações antidepressivas através da inibição do sistema de recaptação de monoaminas, inibição da enzima monoaminoxidase (MAO), da modulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, e do possível efeito antioxidante e neuroprotetor (Gong et al., 2014). E, apesar da abundância de estudos sobre a quercetina e seus metabólitos, ainda existem barreiras que impedem a recomendação do seu uso, principalmente sobre as características farmacocinéticas farmacodinâmicas e da toxicidade.

Nos últimos anos, embora vários mecanismos de ação tenham sido propostos para a quercetina, não se sabe se todos eles são necessários para que o composto, no sistema nervoso central, exerça a sua função antidepressiva (D'Andrea, 2015). Neste contexto, o presente estudo apresenta o objetivo de elucidar maiores detalhes acerca do efeito antidepressivo-símile da quercetina, avaliando o seu impacto sobre a neurotransmissão monoaminérgica e estresse oxidativo.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Investigar o mecanismo de ação antidepressivo-símile da quercetina em camundongos, por meio de modelos comportamentais e neuroquímicos.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito da administração aguda da quercetina sobre a atividade locomotora de camundongos submetidos ao teste do campo aberto;

Avaliar o efeito da administração aguda da quercetina isoladamente ou associada a antidepressivos clássicos sobre o tempo de imobilidade de camundongos submetidos ao modelo do nado forçado;

Estudar o efeito da administração aguda da quercetina sobre a concentração de monoaminas (dopamina e noradrenalina) em corpo estriado de camundongos submetidos ao modelo do nado forçado;

Estudar o efeito da administração aguda da quercetina sobre a concentração dos marcadores não enzimáticos (substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico – TBARS e nitrito) do estresse oxidativo em hipocampo de camundongos submetidos ao modelo do nado forçado;

Traçar um possível mecanismo de ação que explique o efeito antidepressivo-símile da quercetina, com base nos parâmetros anteriormente citados.

4 Métodos

Os modelos comportamentais foram realizados na Universidade Federal da Paraíba – UFPB, nas dependências do Laboratório de Farmacologia e Bioquímica Experimental - LAFABE, o qual está sob a coordenação do Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe; as análises neuroquímicas foram realizadas no Laboratório de Biofisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte – Estácio/FMJ, sob a supervisão do Prof. Dr. Giovany Michely Pinto da Cruz.

4.1 Animais e aspectos éticos

Foram utilizados camundongos Swiss albinos (*Mus musculus*), machos, com peso médio de 25 g, obtidos do Biotério Prof. George Thomas, da universidade Federal da Paraíba – UFPB, forma utilizados na execução do projeto. Os animais foram divididos em grupos contendo 6 camundongos, todos acondicionados em gaiolas de polipropileno e mantidos em ambiente com temperatura entre 23 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro de 12 h, sem limitação de água e ração. Os protocolos experimentais foram desenvolvidos em acordo com as determinações do Comitê de Ética de Uso de Animais – CEUA da Universidade Federal da Paraíba – UFPB (certidão de aprovação nº 112/2016 – Anexo 1). Os procedimentos estão em acordo com os seguintes diplomas legais:

- a) Decreto nº. 24.645 de 10 de julho de 1934 que assegura os direitos dos animais, estabelecendo medidas de proteção aos mesmos;
- b) Lei n.º. 6.638 de 8 de maio de 1979, que normatiza as práticas didático -científicas da vivisseção de animais (BRASIL, 1934; BRASIL, 1979)
- c) Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca), que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais.

No presente estudo, todos os animais foram eutanasiados com uma injeção intraperitoneal de tiopental (150 mg/kg) + lidocaína (10 mg/ml), como o recomendado pelas Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA, de 2013.

Tabela 5

DROGAS, FÁRMACOS E REAGENTES	PROCEDÊNCIA
Acetonitrila	Sigma-Aldrich
Ácido Cítrico	Merck Millipore
Álcool Etílico Absoluto	Merck Millipore
Ácido Fosfórico	Merck Millipore
Ácido Octanosulfônico	Sigma-Aldrich
Ácido Perclórico	Merck Millipore
Ácido Tiobarbitúrico	Sigma-Aldrich
Ácido Tricloroacético	Merck Millipore
Cloreto de Potássio	Merck Millipore
Cloridrato de Bupropiona	Cristália
Cloridrato de Fluoxetina	Cristália
Hidróxido de Sódio	Merck Millipore
Lidocaína	Cristália
Malonilaldeído	Sigma-Aldrich
N-1-naftiletilenodiamina	Sigma-Aldrich
Cloridrato de Imipramina	Novartis
Quercetina	Sigma-Aldrich
Solução Fisiológica 0,9%	Eurofarma
Sulfonilamida	Sigma-Aldrich
Tetrahidrofurano	Sigma-Aldrich
Tiopental	Cristália
Tween 80	Sigma-Aldrich

4.2 Protocolo dos testes e modelos comportamentais

Os animais utilizados no presente trabalho foram levados ao laboratório 24h antes da execução dos modelos, os quais se realizaram sempre no mesmo horário (12:00 às 16:00 horas), em sala devidamente livre de ruídos, com temperatura constante ($23 \pm 2^\circ \text{C}$) e iluminação de pouca intensidade (lâmpada vermelha de 15V). A manipulação dos animais foi realizada seguindo os princípios éticos para a experimentação animal, relatados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (Schneider & Souza, 2003), tendo havido um único observador responsável pela análise de cada etapa do modelo e outro para aplicação das substâncias escolhidas neste estudo. Os observadores foram previamente treinados em boas práticas de bioterismo e cuidados básicos com animais e nas metodologias comportamentais.

Os animais foram divididos em grupos contendo seis camundongos, os quais foram tratados por via oral com salina (10 ml/kg) e quercetina (10 e 40 mg/kg) e por via intraperitoneal com os antidepressivos imipramina (30 mg/kg), bupropiona (20 mg/kg) e fluoxetina (10 mg/kg). O volume administrado foi de 0,1 ml/10 g de peso corporal e, para manter o volume constante, as concentrações das soluções foram ajustadas de acordo com a dose e peso dos animais. As doses da quercetina foram determinadas com base no estudo de (Bhutada et al., 2010). Todas as substâncias e fármacos foram diluídas em salina; aquelas que apresentaram baixa solubilidade foram emulsificadas com Tween 80 a 0,5%. Decorridos 30 – 60 minutos após a administração das drogas, os animais foram submetidos aos modelos comportamentais descritos a seguir (figura 14).

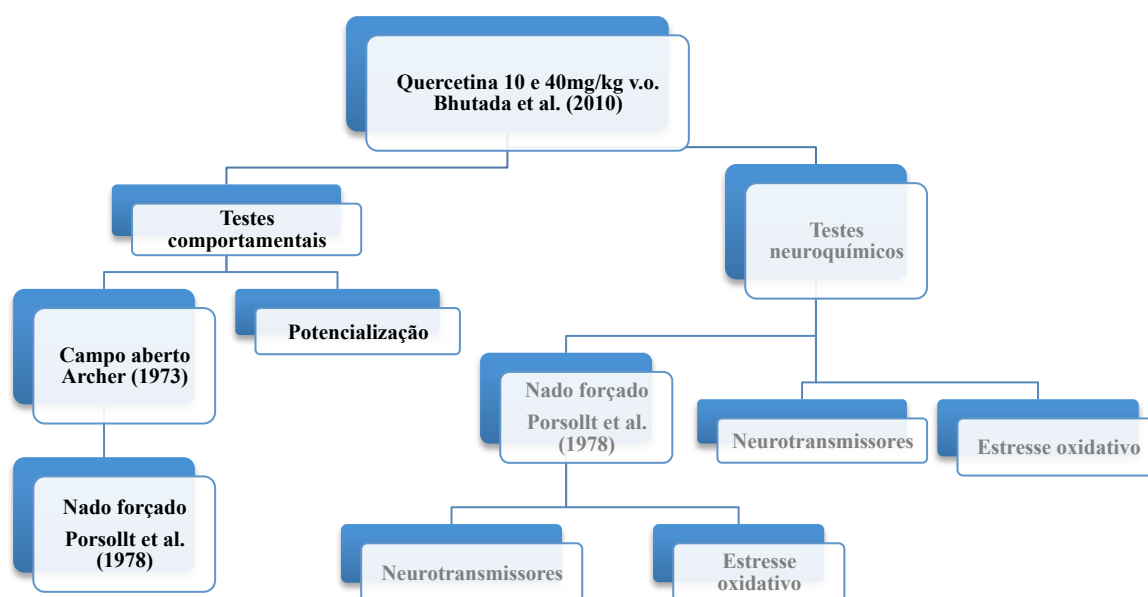


Figura 14. Protocolo comportamental e neuroquímico empregado no presente estudo

4.2.1 Teste do campo aberto

Os efeitos de diferentes tipos de substâncias têm sido investigados no teste do campo aberto, incluindo compostos com efeitos ansiolíticos (benzodiazepínicos, neuropeptídeos e drogas serotoninérgicas), estimulantes (anfetaminas, cocaína), sedativos (neurolepticos) ou indutores de convulsão (drogas epileptogênicas) (Pruet et al., 2003). Um teste com animais é caracterizado pela avaliação de um desfecho a partir de uma manipulação experimental (Pollak, Rey & Monje, 2010). Portanto, o teste do campo aberto possibilita discutir a especificidade da ação do efeito de uma substância no sistema nervoso central, caso ela seja estimulante, sedativa, ansiolítica ou ansiogênica (Lister, 1987). O campo aberto (figura 12) consistiu em uma arena circular confeccionada de acrílico transparente (30 x 30 cm) e piso de acrílico branco/opaco (30 x 30 x 15 cm), dividido em doze seções dispostas em dois círculos concêntricos (Archer, 1973). Os animais foram divididos em 4 grupos, de 6 camundongos cada, os quais receberam salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 ml/10 g), imipramina (30 mg/kg, i.p.) e quercetina (10 e 40 mg/kg, v.o.). Após 30 minutos da administração das substâncias, cada animal foi colocado individualmente no centro do campo aberto e observado por 5 minutos. Os parâmetros comportamentais analisados foram: número de cruzamentos (NC – exploração horizontal, contando os quadrantes cruzados pelo animal, quando este se encontrar com as quatro patas dentro do mesmo quadrante), número de *rearing* (NR –

exploração vertical, postura na qual o animal fica apoiado somente pelas patas traseiras), e número de *grooming* (NG – ação de autolimpeza). Ao final do modelo, os mesmo animais foram imediatamente submetidos ao modelo do nado forçado.

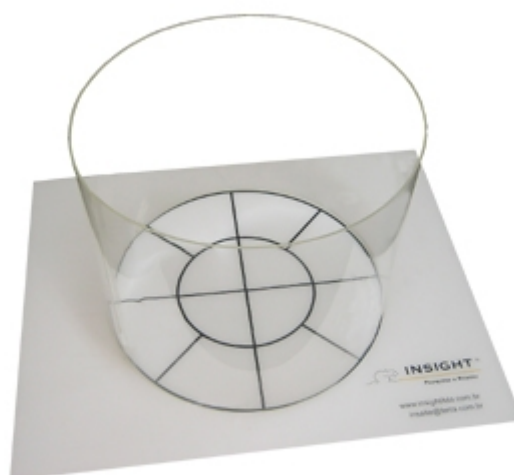


Figura 15. Equipamento para o teste do campo aberto.

Fonte: Recuperado de <http://insightltda.com.br/insight-equipamento-cientifico-257-Campo-Aberto---Open-Field-Acr%C3%ADlico-Rato>

4.2.2 Modelo do nado forçado

Atualmente os modelos animais para depressão, entre eles, o nado forçado, obedecem a 3 critérios: validade de face (semelhança de sintomas), validade de constructo (etiologia similar) e validade farmacológica ou preditiva (reversão dos sintomas depressivos por substâncias antidepressivas) (Krishnan & Nestler, 2011). O modelo do nado forçado possui uma forte validade preditiva, uma validade de face intermediária e uma limitada validade de constructo. Porém, ele se apresenta como um modelo de baixo custo e com fácil reprodução entre laboratórios (Petit-Demouliere, Chenu & Bourin, 2005). O modelo do nado forçado, também chamado de desespero comportamental ou modelo de Porsolt, foi inicialmente proposto como uma variação mais simples do desespero aprendido e, é possivelmente o modelo mais amplamente usado para o *screening* de novos compostos com potencial efeito antidepressivo (Cryan et al., 2005). O modelo do nado forçado foi realizado em um cilindro de acrílico ou vidro transparente de 20 cm de altura e 15 cm de diâmetro, preenchido com água a 25°C até 2/3 da capacidade volumétrica do aparelho (figura 16). Neste modelo, os animais foram colocados individualmente no cilindro por 5 minutos, tempo durante o qual foi registrado o tempo de imobilidade (em segundos). Parâmetros utilizados para avaliar o efeito da droga neste modelo experimental (Porsolt et al., 1978). Após o experimento, os camundongos foram enxutos em toalha de papel e secaram sob uma lâmpada incandescente que não ultrapassou 32°C, antes de retornarem a gaiola.



Figura 16. Equipamento para o modelo do nado forçado.

Fonte: Recuperado de <http://ohara-time.co.jp/products/porsolt-forced-swim-tail-suspension-test/>

4.2.3 Potencialização do efeito antidepressivo-símile da quercetina com antidepressivos

O modelo do nado forçado foi realizado com o intuito de verificar a possível potencialização do efeito antidepressivo símile da quercetina, quando associada aos antidepressivos bupropiona, fluoxetina e imipramina. Para tanto, os animais foram distribuídos em grupos, como descritos na tabela 2 abaixo:

Tabela 6

Grupos experimentais utilizados no teste de potencialização com antidepressivos

Grupos	Dose/Via de Administração	Animais
Controle	Salina 10 mL/kg v.o.	06
Q 0,5	Quercetina 0,5 mg/kg v.o.	06
Q 10	Quercetina 10 mg/kg v.o.	06
IMI 30	Imipramina 30 mg/kg i.p.	06
BUP 20	Bupropiona 20 mg/kg i.p.	06
FLU 10	Fluoxetina 10 mg/kg i.p.	06
IMI 1	Imipramina 1mg/kg i.p	06
BUP 0,1	Bupropiona 0,1mg/kg i.p	06
FLU 0,1	Fluoxetina 0,1mg/kg i.p	06
Q 0,5 + IMI 1	Quercetina 0,5 mg/kg v.o. + Imipramina 1 mg/kg i.p.	06
Q 0,5 +BUP 0,1	Quercetina 0,5 mg/kg v.o. + Bupropiona 0,1 mg/kg i.p.	06
Q 0,5 + FLU 1	Quercetina 0,5 mg/kg v.o. + Fluoxetina 0,1 mg/kg i.p.	06

4.3 Protocolo dos testes neuroquímicos

Os animais utilizados nesta etapa foram tratados, via oral, com salina e quercetina e, uma hora após o tratamento, os mesmos foram submetidos ao modelo do nado forçado. Um outro grupo tratado com salina, mas não submetido ao modelo do nado forçado, foi utilizado como controle do experimento. Ao final do teste, todos os animais foram eutanasiados com uma injeção intraperitoneal de tiopental (150 mg/kg) + lidocaína (10 mg/mL), imediatamente decapitados e dissecados para a retirada dos encéfalos, para obtenção do hipocampo (HC) e do corpo estriado (CE). Estas áreas foram armazenadas em frascos tipo *ependorf*, previamente identificados e pesados. Todo o material foi mantido a -80°C em um *freezer* apropriado para análise neuroquímica (figura 17).

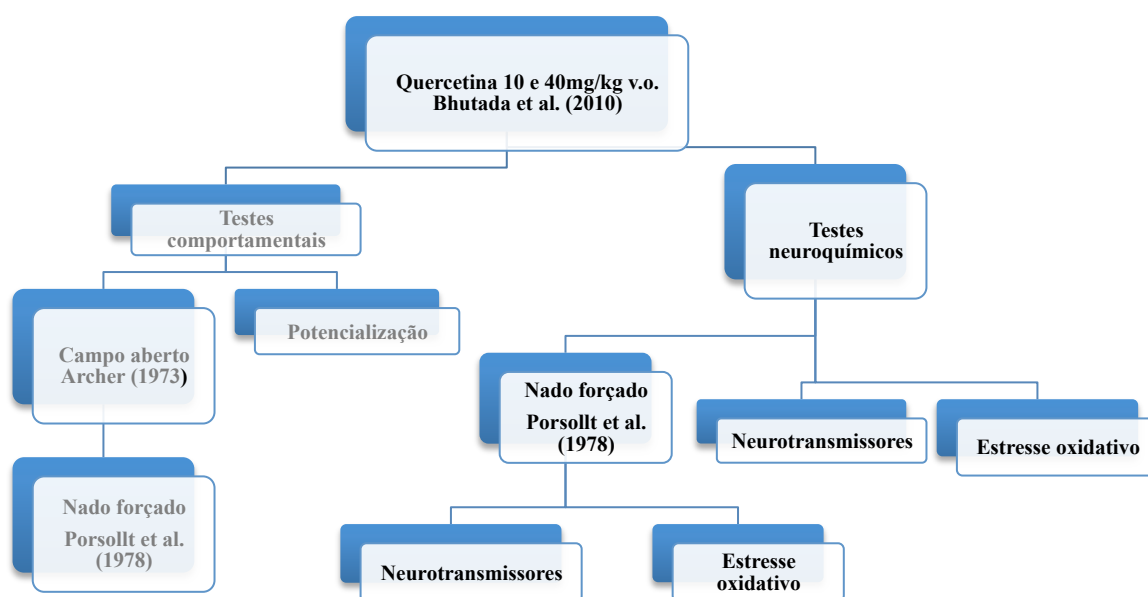


Figura 17. Protocolo comportamental e neuroquímico empregado no presente estudo

4.3.1 Determinação da concentração de monoaminas (dopamina e noradrenalina)

A região dos gânglios da base: núcleo caudado e putâmên (em conjunto são denominados de *striatum*), *globus pallidus*, *nucleus accumbens* e *substantia nigra* são as que possuem melhor detalhamento do desequilíbrio do metabolismo monoaminérgico (Hornykiewicz, 1982) e por isso foi escolhida para a determinação da concentração de monoaminas.

Inicialmente foram preparados homogenatos a 10% p/v., a partir do *striatum*, os quais foram sonicados em ácido perclórico (HClO₄) por 30 segundos e depois centrifugados por 15 minutos em uma centrífuga refrigerada (4° C) a 15.000 rpm. Uma alíquota de 20 µL do sobrenadante foi filtrado através de uma membrana (Millipore - 0,2 µm) e posteriormente injetada no equipamento de CLAE (Shimadzu) para análise química, como descrita a seguir:

Na cromatografia líquida clássica, um adsorvente (alumina ou sílica) é empacotado em uma coluna e eluído por um líquido ideal (fase móvel). Uma determinada mistura a ser separada é então introduzida na coluna, a qual é carregada através da mesma por um líquido eluente. Caso um composto presente na mistura (soluto) seja adsorvido fracamente pela superfície da fase sólida estacionária, este atravessará a coluna mais rapidamente que outro soluto que seja mais fortemente adsorvido. A separação dos solutos, então, torna-se possível caso existam diferenças na adsorção pelo sólido.

Os detectores eletroquímicos medem a condutância do eluente, ou a corrente associada com a oxidação ou redução dos solutos. Para que a detecção ocorra, faz-se necessário que, no primeiro caso, os solutos sejam iônicos, e, no segundo caso, os solutos devem ter a característica de serem relativamente fáceis de sofrerem oxidação ou redução. Os detectores eletroquímicos são também chamados de detectores amperimétricos ou colorimétricos, uma vez que medem a corrente associada com a oxidação ou redução de solutos. No presente estudo, foi utilizado o tipo amperométrico, o qual reage com uma quantidade muito menor de soluto (em torno de 1%). Todas as técnicas eletroquímicas envolvem a aplicação de um potencial para um eletrodo (geralmente de carbono vítreo), oxidação da substância que está sendo estudada, próxima à superfície do eletrodo, seguindo a amplificação e medida da corrente produzida. As catecolaminas (monoaminas e metabólitos) sofrem oxidação nos grupos de anel hidroxil, com consequente produção de um derivado ortoquinônico, com liberação de dois elétrons.

Para a análise das monoaminas, uma coluna analítica de sílica octadecil CLC-ODS(M)-C18 com comprimento de 25 cm, calibre 4,6 mm e diâmetro de partícula de 3 μ m (Shimadzu, Japão) foi utilizada. A fase móvel é composta por tampão de ácido cítrico 0,163M pH 3.0, contendo ácido octanosulfônico sódico, 0,69M (SOS), como reagente formador do par iônico; acetonitrila 4% v/v e tetrahidrofurano 1,7% v/v. A solução é preparada pesando-se 17,75 g de ácido cítrico (Grupo Química, Rio de Janeiro, Brasil), o qual é dissolvido com água milli-Q para um volume de 400 mL e o pH ajustado para um valor igual a 3.0 com hidróxido de sódio 12,5 M (Reagen, Rio de Janeiro, Brasil). A esta solução foram adicionados 75mg de SOS (ácido octanosulfônico sódico - Sigma Chemical, Co, USA) e o volume acrescido para 471,5 mL com água milli-Q. A solução preparada foi filtrada e degaseificada e acrescidos 20mL de acetonitrila (Carlo Erba Reagenti, MI, Itália) e 10 mL de tetrahidrofurano (Sigma Chemical, Co, USA), completando um volume final de 500 mL.

Os padrões utilizados foram preparados em uma concentração final de 4ng de DA e NA (Sigma Chemical, Co, USA). A partir da altura ou área dos picos destes padrões, as amostras serão calculadas no programa Microsoft Excel em um computador PC, e os resultados expressos em ng/g de tecido

4.3.2 Determinação da concentração das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Estudos conduzidos em roedores, demonstraram que o estresse é capaz de induzir alterações morfológicas no sistema nervoso central, principalmente no hipocampo, e de alterar o funcionamento normal do eixo-HPA, induzindo assim a um aumento da produção de espécies reativas do oxigênio (Schiavone, Jaquet, Trabace, & Krause, 2013). E por isso a região do hipocampo foi selecionada para avaliação do estresse oxidativo.

A peroxidação lipídica foi avaliada pela determinação da concentração das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme o método de (Draper & Hadley, 1990). Para tanto, foram preparados homogenatos a 10% p/v de hipocampo, utilizando tampão de cloreto de potássio a 1,15% p/v. Em um tubo de ensaio 50 μ L do homogenatos foram misturados a 200 μ L de uma solução de ácido tiobarbitúrico a 0,6% p/v em hidróxido de sódio 0,5 N e 200 μ L de ácido tricloroacético a 10% p/v. Em seguida a mistura foi submetida à agitação e posterior incubação em banho-maria (95 – 100°C) por 15 minutos. Decorrido este tempo, os tubos foram introduzidos em um banho de gelo para cessar a reação. O material resfriado foi, então, centrifugado por 5 minutos a 4.000 rpm; 100 μ L do sobrenadante serão transferidos para uma placa de Elisa onde foi determinada a absorbância do produto da reação, em um comprimento de onda de 540 nm. Os valores das absorbâncias foram interpolados em uma curva-padrão de malonildialdeído e os resultados foram expressos em micromol (μ mol) de malonildialdeído (MDA) por grama de tecido. Para a curva-padrão foi preparada uma solução de malonildialdeído a 326,4 μ mol/L em KCl 1,15% p/v. A partir desta solução, foram feitas diluições seriadas da mesma (tabela 5), as quais foram submetidas à reação descrita anteriormente.

4.3.3 Determinação da concentração de nitrito

Em condições ácidas, o nitrito reage com a sulfonilamida formando um composto intermediário, o sal diazônico. Em seguida este sal reage com o N-naftil-etilenodiamina (NEED) formando um azo estável de coloração púrpura. A concentração de nitrito foi determinada conforme o método de Green, Tannenbaum & Goldman, (1981). Para tanto, foram preparados homogenatos a 10% p/v de hipocampo, utilizando tampão de cloreto de potássio a 1,15% p/v, os quais foram submetidos à centrifugação por 15 minutos em uma centrífuga refrigerada (4° C) a 15.000 rpm. A técnica utilizou o reagente de Griess (N-1-naftiletilenodiamina a 0,1%, água bidestilada, sulfanilamida a 1% e ácido fosfórico a 5%, na proporção de 1:1:1:1). Este reativo revela a presença de nitrito em amostras biológicas por meio de uma reação de diazotização que forma um cromóforo de cor rósea, com um pico de absorbância em 560 nM). A 100 µL do reagente de Griess foram adicionados 100 µL do sobrenadante homogenato. Para o ensaio do branco foram usados 100 µL do reagente de Griess acrescidos de 100 µL de salina. Finalmente, 100 µL do branco e das amostras foram transferidos para uma placa de Elisa onde foi determinada a absorbância do produto da reação, em um comprimento de onda de 540 nM. Os valores das absorbâncias foram interpolados em uma curva-padrão de nitrito de sódio e os resultados foram expressos em micromolar (µM). Para a curva-padrão foi preparada uma solução de nitrito 10 mM. A partir desta solução, foram feitas diluições seriadas da mesma (tabela 6), as quais foram submetidas à reação descrita anteriormente.

5 Tratamento estatístico

O primeiro passo foi realizar uma análise exploratória dos dados e, na sequência, passou-se a análise inferencial ou indutiva. Os resultados obedeceram a uma distribuição normal e foram tratados por Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Os resultados foram representados pela Média $\pm$ Erro Padrão da Média (EPM), também conhecido como erro padrão da estimativa, sendo considerado o nível crítico para rejeição (nível de significância) da hipótese nula os valores inferiores a 0,05 de probabilidade ($p < 0,05$).

6 Resultados

Para avaliar o efeito da quercetina sobre a motricidade do animal e discriminar efeitos estimulantes ou sedativos do flavonóide, foi empregado o teste do campo aberto previamente ao modelo do nado forçado, tendo como parâmetros o número de cruzamentos, número de *rearing* e número de *grooming* dos camundongos. No teste do campo aberto (CA), a administração imipramina 30 mg/kg i.p. reduziu de forma significativa o número de cruzamentos dos animais ($54,5 \pm 11,5$) em relação ao grupo controle ($85,8 \pm 5,4$), aproximadamente 38,6% . Por outro lado, a administração oral de Quercetina 10 e 40 mg/kg ($67,8 \pm 1,7$; $69,6 \pm 15,0$, respectivamente) não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle (figura 18).

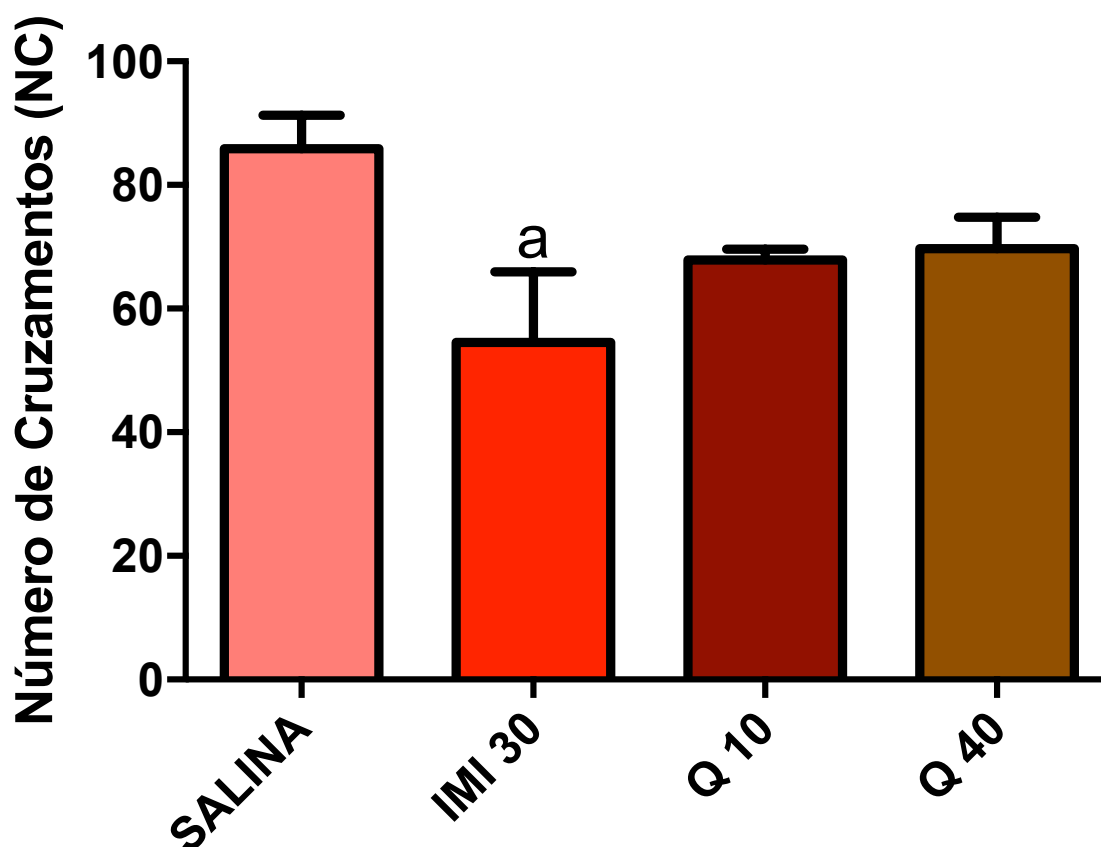


Figura 18. Avaliação do efeito da Quercetina sobre o número de cruzamentos de camundongos ($n = 6$) submetidos ao teste do Campo Aberto. As barras representam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM), analisados por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Valores significativos “a” *versus* SALINA, quando $p < 0,05$. IMI 30 = imipramina 30mg/kg; Q 10 = quercetina 10mg/kg; Q 40 = quercetina 40mg/kg.

No teste do campo aberto (CA), a administração imipramina 30 mg/kg i.p. reduziu de forma significativa o número de *rearing* dos animais ($15,6 \pm 5,3$) em relação ao grupo controle ($30,2 \pm 1,1$), aproximadamente 48,4%. Por outro lado, a administração oral de Quercetina 10 e 40 mg/kg ($30,8 \pm 2,0$; $27,1 \pm 4,2$, respectivamente) não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle (figura 19).

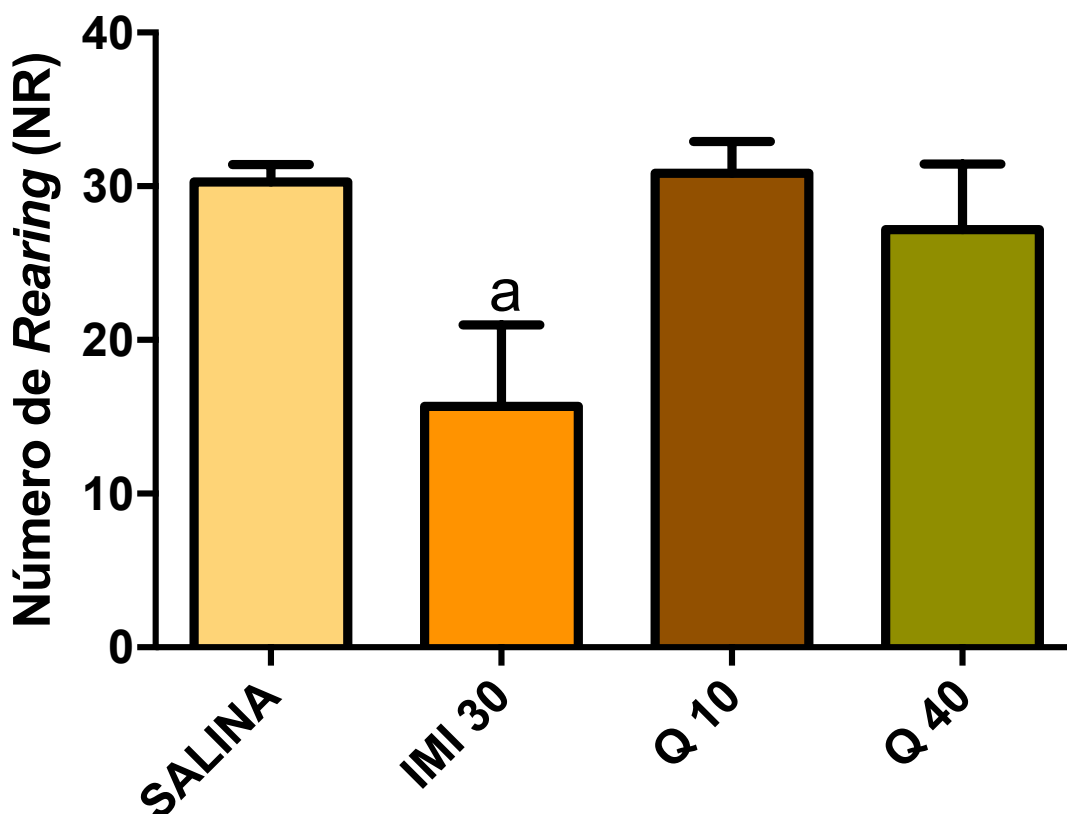


Figura 19. Avaliação do efeito da Quercetina sobre o número de rearing de camundongos (n = 6) submetidos ao teste do Campo Aberto. As barras representam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM), analisados por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Valores significativos “a” *versus* SALINA, quando $p < 0,05$. IMI 30 = imipramina 30mg/kg; Q 10 = quercetina 10mg/kg; Q 40 = quercetina 40mg/kg.

No teste do campo aberto (CA), a administração imipramina 30 mg/kg i.p. e Quercetina 10 e 40 mg/kg ($0,5 \pm 0,2$; $1,5 \pm 0,5$; $1,6 \pm 0,2$, respectivamente) não alterou o número de *grooming* dos animais significativa em relação ao grupo controle ($1,1 \pm 0,4$) (figura 20).

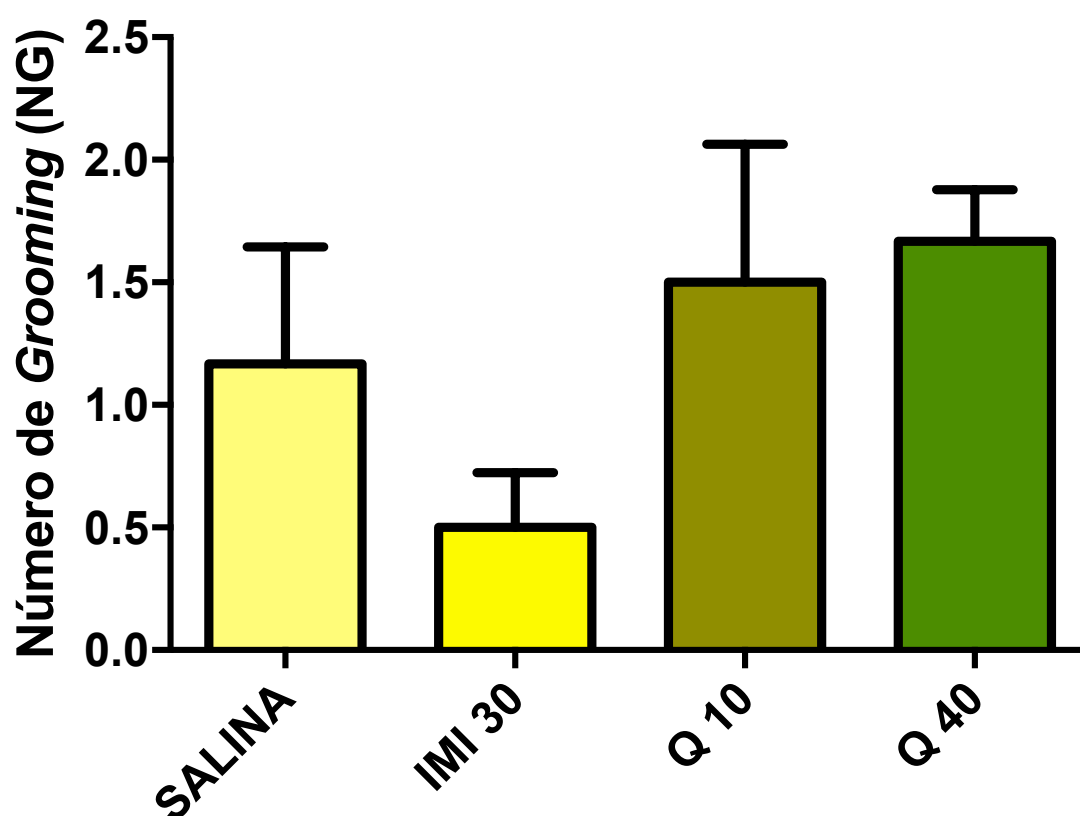


Figura 20. Avaliação do efeito da Quercetina sobre o número de grooming de camundongos ($n = 6$) submetidos ao teste do Campo Aberto. As barras representam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM), analisados por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Valores significativos “a” *versus* SALINA, quando $p < 0,05$. IMI 30 = imipramina 30mg/kg; Q 10 = quercetina 10mg/kg; Q 40 = quercetina 40mg/kg.

Para avaliar o efeito antidepressivo-símile da quercetina em camundongos, foi empregado o modelo do nado forçado e contabilizado o tempo de imobilidade do animal. Neste modelo a administração imipramina 30 mg/kg i.p. e Quercetina 10 e 40 mg/kg reduziu significativamente o tempo de imobilidade (TI) dos animais ($27,5 \pm 14,6$ s; $31,3 \pm 8,6$ s; $74,1 \pm 20,9$ s, respectivamente) em relação ao grupo controle ($157,7 \pm 20,2$ s), em aproximadamente 79%, 62,9% e 57,8% respectivamente (figura 21).

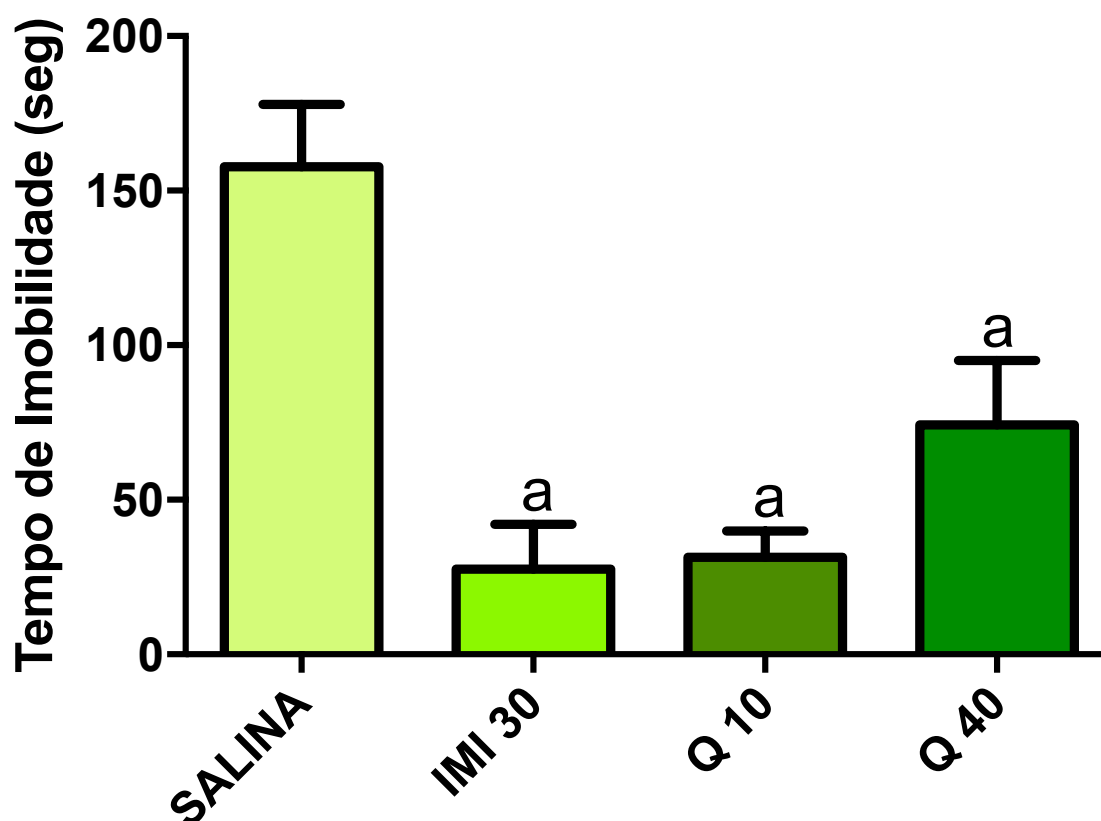


Figura 21. Avaliação do efeito da Quercetina sobre o tempo de imobilidade de camundongos ($n = 6$) submetidos ao modelo do Nado Forçado. As barras representam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM), analisados por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Valores significativos “a”, *versus* SALINA, quando $p < 0,05$. IMI 30 = imipramina 30mg/kg; Q 10 = quercetina 10mg/kg; Q 40 = quercetina 40mg/kg.

Para investigar o possível mecanismo de ação da quercetina, o composto foi associado com antidepressivos clássicos para avaliar a ocorrência de uma possível potencialização no nado forçado. A figura 22 apresenta os resultados obtidos no teste de potencialização com imipramina, sobre o tempo de imobilidade. Observa-se que o tratamento com imipramina 1 mg/kg, i.p. não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais ($76,1 \pm 6,1$ s) em relação ao grupo tratado com salina ($74,1 \pm 10,4$ s). Por outro lado, o grupo tratado com imipramina 30 mg/kg, i.p. apresentou uma redução significativa no tempo de imobilidade ($12,1 \pm 3,7$ s,) em relação aos grupos tratados com salina e imipramina 1 mg/kg, em respectivamente 86,6% e 84%, aproximadamente. O tratamento com quercetina 0,5 mg/kg, i.p. não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais ($67,5 \pm 9,7$ s) em relação ao grupo tratado com salina; a administração oral de quercetina 10 mg/kg, por outro lado, reduziu de forma significativa o tempo de imobilidade dos animais ($12,3 \pm 2,9$ s) em relação aos grupos tratados com salina e quercetina 0,5 mg/kg, em respectivamente 83,4% e 81,7%, aproximadamente. Por fim, a associação de imipramina 1 mg/kg e quercetina 0,5 mg/kg também reduziu de maneira significativa o tempo de imobilidade dos animais ($38,5 \pm 6,0$ s) em relação aos grupos tratados com salina, imipramina 1 mg/kg e quercetina 0,5 mg/kg, em respectivamente 48,1%, 49,4% e 42,9%, aproximadamente.

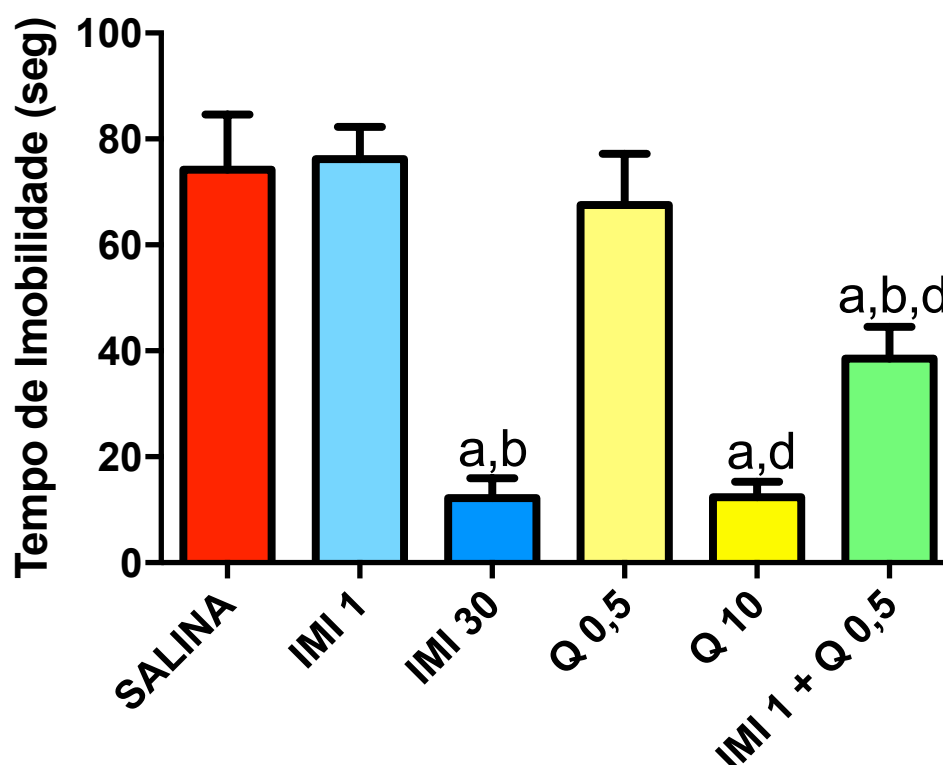


Figura 22. Modelo do nado forçado com potencialização pela imipramina ($n = 6$). As barras representam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM), analisado por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). “a”, “b” e “d” *versus* SALINA, IMI 1 e Q 0,5, respectivamente, quando $p < 0,05$. IMI 1 = imipramina 1mg/kg; IMI 30 = imipramina 30mg/kg; Q 0,5 = quercetina 0,5 mg/kg; Q 10 = quercetina 10mg/kg; IMI 1 + Q 0,5 = potencialização de IMI 1 = imipramina 1mg/kg com Q 0,5 = quercetina 0,5 mg/kg.

Nos resultados obtidos no teste de potencialização com bupropiona sobre o tempo de imobilidade (figura 23), observa-se que o tratamento com bupropiona 0,1 mg/kg, i.p. não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais ($67,0 \pm 10,1$ s) em relação ao grupo tratado com salina ($74,1 \pm 10,4$ s). Por outro lado, o grupo tratado com bupropiona 20 mg/kg, i.p. apresentou uma redução significativa no tempo de imobilidade ($0,16 \pm 0,16$ s) em relação aos grupos tratados com salina e bupropiona 0,1 mg/kg, respectivamente 99,7% e 99,7% aproximadamente. O tratamento com quercetina 0,5 mg/kg, i.p. não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais ($67,5 \pm 9,7$ s) em relação ao grupo tratado com salina; a administração oral de quercetina 10 mg/kg, por outro lado, reduziu de forma significativa o tempo de imobilidade dos animais ($12,3 \pm 2,9$ s) em relação aos grupos tratados com salina e quercetina 0,5 mg/kg, respectivamente em 83,4% e 81,7% aproximadamente. Por fim, a associação de bupropiona 0,1 mg/kg e quercetina 0,5 mg/kg também reduziu de maneira significativa o tempo de imobilidade dos animais ($23,5 \pm 5,2$ s) em relação aos grupos tratados com salina, bupropiona 0,1 mg/kg e quercetina 0,5 mg/kg respectivamente em 68%, 65% e 65% aproximadamente.

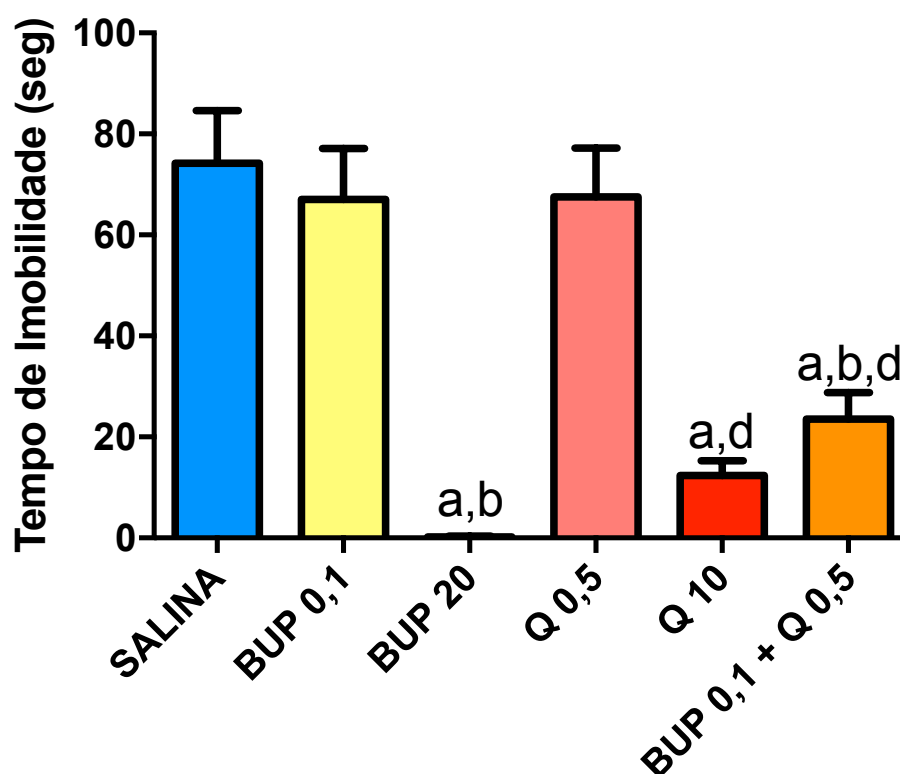


Figura 23. Modelo do nado forçado com potencialização pela bupropiona (n = 6). As barras representam a média ± erro padrão da média (EPM), analisado por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). “a”, “b” e “d” *versus* SALINA, BUP 0,1 e Q 0,5, respectivamente, quando $p < 0,05$. BUP 0,1 = bupropiona 0,1mg/kg; BUP 20 = bupropiona 20mg/kg; Q 0,5 = quercetina 0,5 mg/kg; Q 10 = quercetina 10mg/kg; BUP 0,1 + Q 0,5 = potencialização de BUP 0,1 = bupropiona 0,1mg/kg com Q 0,5 = quercetina 0,5 mg/kg.

Na figura 24 estão os resultados obtidos no teste de potencialização com fluoxetina, sobre o tempo de imobilidade. De acordo com a figura, observa-se que o tratamento com fluoxetina 0,1 mg/kg, i.p. não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais ($64,5 \pm 15,7$ s) em relação ao grupo tratado com salina ($74,1 \pm 10,4$ s). Por outro lado, o grupo tratado com fluoxetina 10 mg/kg, i.p. apresentou uma redução significativa no tempo de imobilidade ($28,5 \pm 5,6$ s) em relação aos grupos tratados com salina e fluoxetina 0,1 mg/kg, respectivamente em 61,6% e 56% aproximadamente. O tratamento com quercetina 0,5 mg/kg, i.p. não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais ($67,5 \pm 9,7$ s) em relação ao grupo tratado com salina; a administração oral de quercetina 10 mg/kg, por outro lado, reduziu de forma significativa o tempo de imobilidade dos animais ($12,3 \pm 2,9$ s) em relação aos grupos tratados com salina e quercetina 0,5 mg/kg, respectivamente em 83,4% e 81,7% aproximadamente. Por fim, a associação de fluoxetina 0,1 mg/kg e quercetina 0,5 mg/kg não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais ($45,0 \pm 9,8$ s) em relação aos grupos tratados com salina, fluoxetina 0,1 mg/kg e quercetina 0,5 mg/kg.

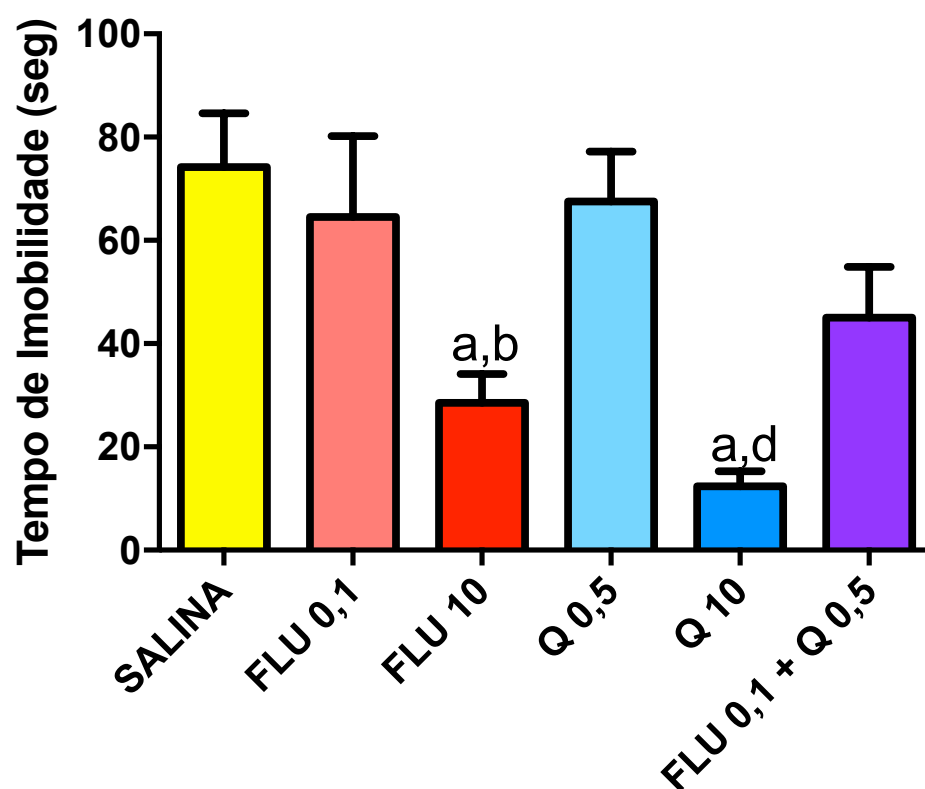


Figura 24. Modelo do nado forçado com potencialização pela fluoxetina (n = 6). As barras representam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM), analisado por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). “a”, “b” e “d” *versus* SALINA, FLU 0,1 e Q 0,5, respectivamente, quando $p < 0,05$. FLU 0,1 = fluoxetina 0,1mg/kg; FLU 10 = fluoxetina 10mg/kg; Q 0,5 = quercetina 0,5 mg/kg; Q 10 = quercetina 10mg/kg; BUP 0,1 + Q 0,5 = potencialização de FLU 0,1 = fluoxetina 0,1mg/kg com Q 0,5 = quercetina 0,5 mg/kg.

Para a avaliação do efeito da quercetina sobre concentração de monoaminas em camundongos submetidos ao estresse do nado forçado, foi determinada a concentração de NA e DA em *striatum*. Na figura 25, tem-se os resultados obtidos referentes à concentração estriatal de noradrenalina em camundongos tratados com quercetina e submetidos ao nado forçado. De acordo com os resultados presentes na figura 25, a administração oral de quercetina 10 mg/kg aumentou significativamente a concentração de noradrenalina ($2,3 \pm 0,2$ ng/g de tecido) em relação ao grupo de animais tratados com salina e submetidos ao nado forçado ($1,1 \pm 0,1$ ng/g de tecido). Estes resultados, entretanto, não diferem significativamente em relação ao grupo tratado com salina e não submetido ao referido teste comportamental ($1,5 \pm 0,2$ ng/g de tecido).

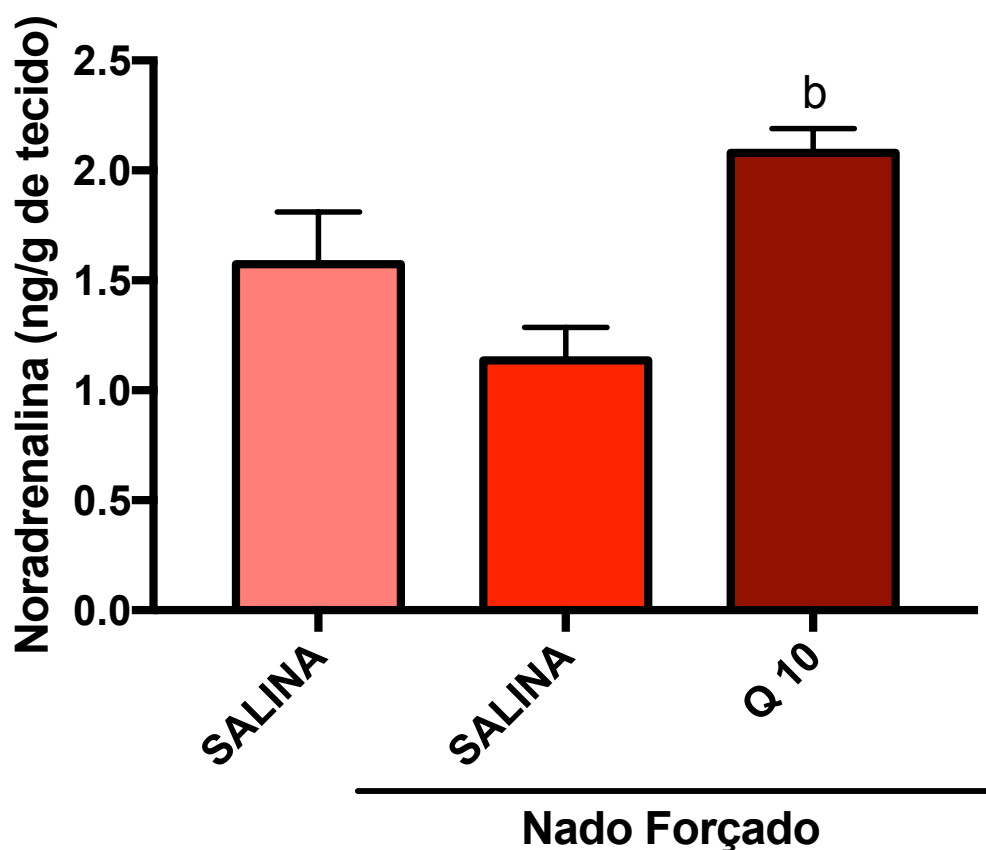


Figura 25. Avaliação do efeito da Quercetina sobre a concentração estriatal de noradrenalina em camundongos ($n = 6$) submetidos ao modelo do Nado Forçado. As barras representam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM), analisado por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). “b” *versus* SALINA + Nado Forçado, quando $p < 0,05$. Q 10 = quercetina 10mg/kg.

De acordo com a figura 26, os resultados obtidos mostram que não houve diferença estatisticamente significativa na concentração estriatal de dopamina entre os grupos experimentais (Salina: $0,06 \pm 0,007$ ng/g de tecido; Salina + Nado Forçado: $0,2 \pm 0,08$ ng/g de tecido; Q 10 + Nado Forçado: $0,2 \pm 0,07$ ng/g de tecido).

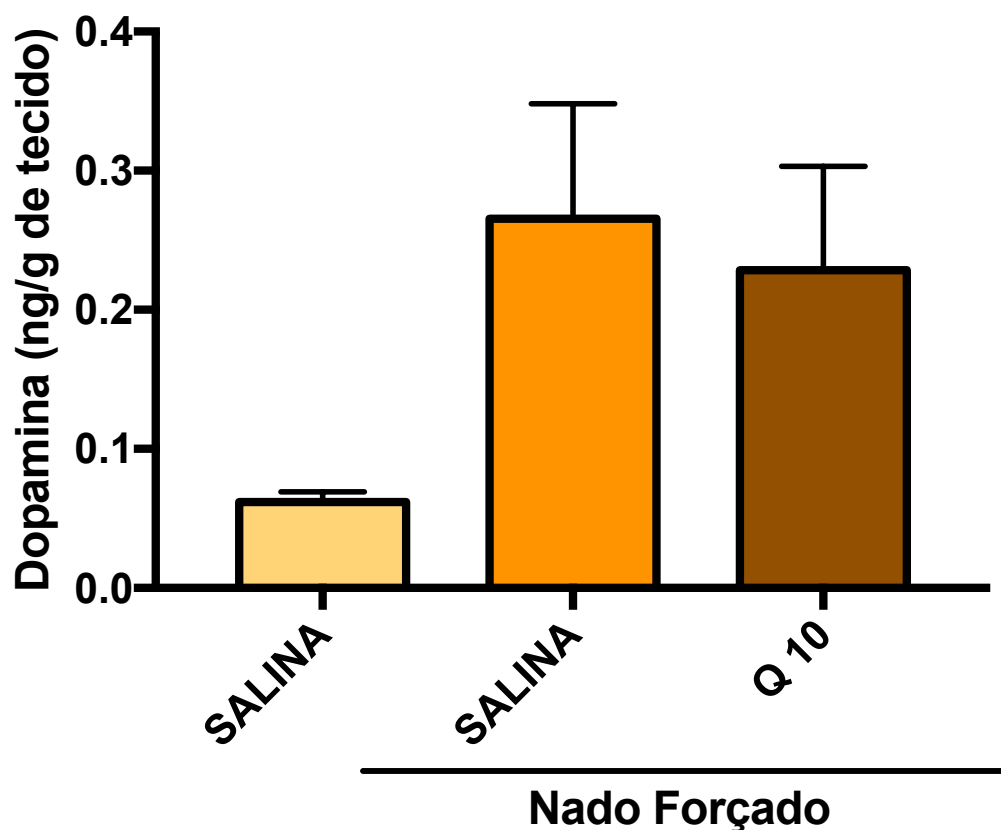


Figura 26. Avaliação do efeito da Quercetina sobre a concentração estriatal de dopamina em camundongos ($n = 6$) submetidos ao modelo do Nado Forçado. As barras representam a média $\pm$ E.P.M., analisado por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Q 10 = quercetina 10mg/kg.

Para a avaliação neuroquímica do estresse oxidativo, foi realizada a determinação da concentração hipocampal das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrito. De acordo com a figura 27, os resultados obtidos mostram que não houve diferença estatisticamente significativa na concentração de TBARS entre os grupos experimentais (Salina: $437 \pm 90,8$ $\mu\text{Mol/g}$ de tecido; Salina + Nado Forçado: $449,9 \pm 61,1$ $\mu\text{Mol/g}$ de tecido; Q10: $478,2 \pm 108,1$ $\mu\text{Mol/g}$ de tecido).

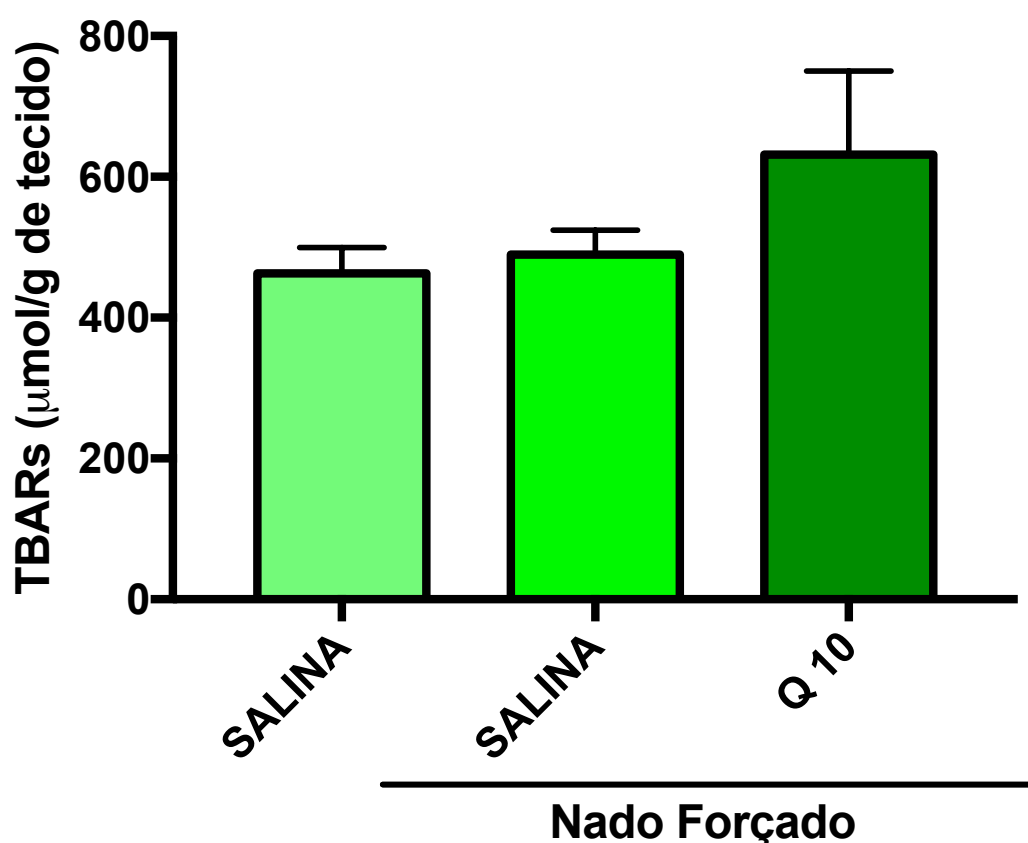


Figura 27. Avaliação do efeito da Quercetina sobre a concentração hipocampal de TBARS em camundongos ($n = 6$) submetidos ao modelo do Nado Forçado. As barras representam a média $\pm$ EPM, analisado por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Q 10 = quercetina 10mg/kg.

De acordo com a figura 28, os resultados obtidos mostram que não houve diferença estatisticamente significativa na concentração de nitrito entre os grupos experimentais (Salina: $15,1 \pm 3,9 \mu\text{Mol/g}$ de tecido; Salina + Nado Forçado: $16,1 \pm 1,5 \mu\text{Mol/g}$ de tecido; Q10: $17,37 \pm 2,3 \mu\text{Mol/g}$ de tecido).

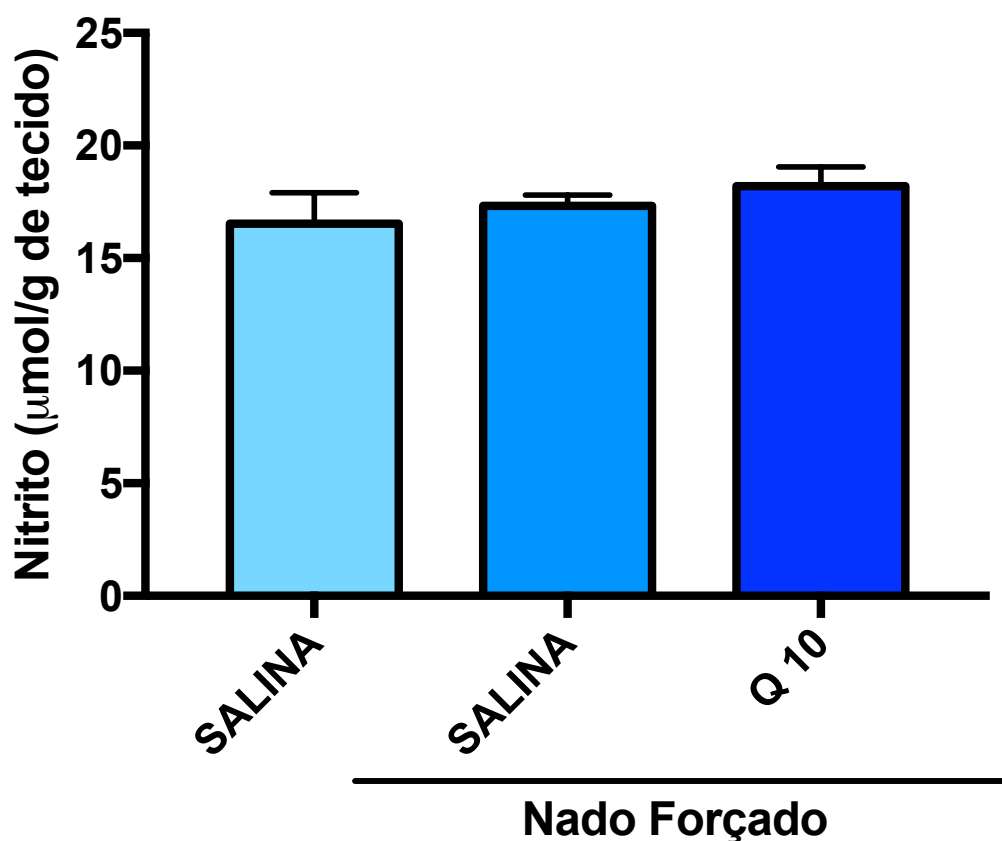


Figura 28. Avaliação do efeito da Quercetina sobre a concentração hipocampal de nitrito em camundongos ($n = 6$) submetidos ao modelo do Nado Forçado. As barras representam a média $\pm$ erro padrão da média (EPM), analisado por ANOVA, seguido o teste de Student-Newman-Keuls (*post hoc*). Q 10 = quercetina 10mg/kg.

7 Discussão

O transtorno depressivo maior acomete 350 milhões de pessoas de todas as faixas etárias, tendo a expressiva prevalência de 17% sobre a população mundial, não obstante ao fato de ser a doença que mais causa incapacitação no mundo (OMS, 2012). Embora, a despeito do seu enorme impacto sócio-econômico e as inúmeras pesquisas realizadas acerca da doença, o transtorno depressivo maior ainda necessita de maior esclarecimento sobre seus processos neurobiológicos subjacentes (Czéh, Fuchs, Wiborg & Simon, 2016). A base investigativa do transtorno depressivo se deu sob a perspectiva farmacocêntrica dos efeitos psiquiátricos induzidos e tratados por medicações, originando assim os primeiros conceitos para a formulação da hipótese monoaminérgica (Goodman, Gilman, Brunton, Chabner & Knollmann, 2011). Esta teoria pressupõe que ao aumentar a disponibilidade das monoaminas como serotonina, dopamina e noradrenalina, dentre os seus diversos mecanismos celulares possíveis, na fenda sináptica, acarretaria uma melhora dos sintomas depressivos (Elhwuegi, 2004). Apesar de não englobar a diversidade imensa de mecanismos biológicos, a teoria monoaminérgica, datada de 1960, foi capaz de ajudar a direcionar as pesquisas e buscas de novas substâncias que auxiliem no tratamento da depressão (López-Muñoz & Alamo, 2009). Uma doença que, a despeito de toda pesquisa e estudos realizados, possui um tratamento com uma série de importantes limitações como início de ação lento, baixa tolerabilidade e importantes interações medicamentosas. E, como o transtorno depressivo maior possui um perfil prognóstico reservado por apresentar risco ao suicídio e ter uma chance de recidiva dos sintomas em 50-75% dos pacientes em um período de 5 anos (Sadock, Sadock & Ruiz, 2015), é natural que se busque alternativas mais eficazes e bem toleradas. Ervas e produtos naturais têm sido utilizados para o tratamento da depressão leve a moderada. Do ponto de vista etnofarmacológico, ao longo dos anos, diversas moléculas com perfil antidepressivo têm sido reveladas a partir de pesquisas com plantas (Khan, Perviz, Sureddi, Nabavi et Tejada, 2018). A exemplo disto, tem-se a Erva-de-São-João (*Hypericum perforatum*), um fitoterápico com efeito antidepressivo já comprovado e comparável aos antidepressivos tricíclicos (Kasper et al., 2010) que, dentre seus inúmeros componentes, tem na quercetina seu maior representante responsável pelos efeitos sobre o humor (Gong et al., 2014), e cuja aceitação por parte da população é maior pelo menor número de efeitos adversos (Solomon, Adams & Graves, 2013).

Após sua ingestão, os flavonóides são metabolizados pelo trato gastrointestinal e fígado e conseguem chegar à corrente sanguínea (Rodríguez-Mateos et al., 2014). Porém, para conseguir atuar diretamente no sistema nervoso central, a passagem dos flavonóides pela barreira hematoencefálica (BHE) se faz necessária (Jäger & Saaby, 2011). Embora ainda seja controversa a capacidade da quercetina atingir níveis significativos no SNC (Rodríguez-Mateos et al., 2014), de acordo Jäger & Saaby (2011) há estudos *in vivo* que demonstraram a capacidade dos flavonóides de cruzarem a BHE, após absorção oral. Os próprios autores mensuraram a concentração dos metabólitos da quercetina em homogenatos de hipocampo, *striatum* e cerebelo de ratos, evidenciando sua capacidade de atravessar a BHE. Esta característica está relacionada às diversas atividades que os flavonóides desenvolvem no SNC, dentre as quais, destacam-se: atividade anti-convulsivante e anti-nociceptiva (Nieockzym, Socala, Raszewski et Wlaz, 2014), ansiolítica-símile (Fernández et al., 2006), antimaníaca-símile (Kanazawa et al., 2016) e antidepressiva-símile (Gong et al., 2014; Singh et al., 2014). Apesar do mecanismo de ação dos flavonóides ainda ser objeto de discussão, vários sítios de ligação para estes compostos têm sido relatados, incluindo os receptores para adenosina, estrógeno, testosterona, além dos receptores GABA-A, opióide e nicotínico (Matias, Buosi et Gomes, 2016). Várias moléculas de flavonóides têm sido descritas na literatura como dotadas de efeito antidepressivo-símile, a saber: kaempferol, rutina, apigenina, catequina, epicatequina, hesperidina, quercetina, dentre outros (Khan, Perviz, Sureda, Nabavi et Tejada, 2018).

A literatura tem indicado que a quercetina apresenta efeito antidepressivo-símile em modelos animais para o transtorno em questão. No entanto, o mecanismo de ação que envolve tal efeito ainda permanece inconclusivo (Holzmann, Silva, Silva, Steimbach & Souza, 2015). Dessa forma, para tentar elucidar parte do mecanismo de ação responsável pelo efeito antidepressivo-símile da quercetina, foi realizado um protocolo experimental envolvendo modelos comportamentais e testes neuroquímicos. Um dos testes comportamentais empregados foi o campo aberto, o qual é utilizado principalmente para pesquisa de substâncias com potencial ansiolítico. No entanto, o modelo permite avaliar outros quesitos além da ansiedade (Carlini & Mendes, 2011). Neste modelo experimental é possível avaliar o efeito sedativo ou estimulante da substância testada (Lister, 1987), podendo o animal apresentar uma redução ou aumento da atividade locomotora e exploratória ao se contabilizar o número de cruzamentos, *rearing* (exploração vertical) e *grooming* (autolimpeza) (Carlini & mendes, 2011). Portanto, o teste do campo aberto, no presente trabalho, foi aplicado com uma função discriminatória, ou seja, detectar algum efeito estimulante ou sedativo da

quercetina, de forma a antecipar efeitos que pudessem interferir no tempo de imobilidade dos animais no modelo do nado forçado, equivocando a sua interpretação. Como foi observado, a quercetina nas doses de 10 e 40 mg/kg v.o. não alterou o número de cruzamentos, de *grooming* e de *rearing* dos animais no campo aberto, sugerindo que o composto, nas condições experimentais empregadas, não interferiu na atividade locomotora dos camundongos (Holzmann, Silva, Silva, Steimbach & Souza, 2015). Este achado revela uma vantagem da quercetina sobre fármacos antidepressivos com potencial sedativo, o qual pode interferir com atividades normais do cotidiano (Wichniak, Wierzbicka, Walęcka & Jernajczyk, 2017). O referido efeito foi observado com a administração de imipramina, a qual reduziu o número de cruzamentos e de *rearing*, mas não de *grooming* dos animais submetidos ao campo aberto. Este efeito sobre a motricidade é decorrente do bloqueio de receptores histaminérgicos (H₁) presentes no sistema nervoso central (Katzung, 2018).

Uma vez identificado que a quercetina não causou alterações na motricidade dos animais, a mesma foi administrada nos camundongos, os quais foram testados no modelo do nado forçado. Este teste foi desenvolvido para ratos e depois adaptados a camundongos e, desde então, ele é o modelo mais empregado para o rastreamento de drogas com potencial antidepressivo. Para a sua realização, o camundongo é colocado para nadar em um espaço confinado e do qual ele não pode escapar. Inicialmente, o roedor nada vigorosamente para depois manter uma postura imóvel, capaz apenas de manter sua cabeça para fora da água. Esta postura imóvel é interpretada como se o animal houvesse desistido de enfrentar a situação estressante, ou seja, o “desespero aprendido” (Castagné, Moser, Roux & Porsolt, 2011). Portanto, o modelo do nado forçado utiliza o tempo de imobilidade dos animais como parâmetro de “medida da depressão”. Sendo assim, espera-se que os animais que ficaram sob o efeito de antidepressivos tenham um menor tempo de imobilidade (Carlini & Mendes, 2011). Neste estudo, é possível ver que a administração de quercetina nas doses testadas, foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade dos animais no modelo do nado forçado, de forma semelhante à imipramina. Os resultados encontrados estão em concordância com Sakakibara et. al. (2006), que observaram uma redução do tempo de imobilidade de ratos tratados por 14 dias com um extrato de *Ginkgo biloba* (rico em glicosídeos da quercetina), na dose de 10mg/kg. Por outro lado, os resultados contrariam os experimentos de Bhutada (2014) que usaram a dose de 10mg/kg de quercetina como uma subdose, desprovida de efeitos, em seus experimentos. Por fim, Anjaneyulu, Chopra & Kaur (2003), observaram que a administração intraperitoneal de quercetina, nas doses de 50 e 100 mg/kg, reduziu o tempo de imobilidade de camundongos diabéticos, mas não demonstrou atividade antidepressiva-símile em

camundongos euglicêmicos submetidos ao modelo do nado forçado. Tomados em conjunto, esses achados revelam uma disparidade de resultados, o que justifica o desenvolvimento de novos estudos que melhor caracterizem o efeito antidepressivo-símile da quercetina. Neste sentido, buscou-se investigar o possível mecanismo de ação antidepressivo-símile da quercetina, associando-a a antidepressivos, a saber: bupropiona, fluoxetina e imipramina.

Há evidências robustas de que a 5-HT e NA, bem como a interação entre estes dois sistemas são importantes tanto na patogênese como no tratamento do transtorno depressivo. Inclusive, há relatos de que a combinação de drogas que inibam a receptação de 5-HT com drogas que inibam a receptação de NA possa ser mais vantajosa que o uso de cada uma delas isoladamente (Rénéric & Lucki, 1997). Para tanto, os ensaios pré-clínicos podem ser usados para tentar inferir o mecanismo de ação da substância testada. Neste sentido, o modelo do nado forçado foi utilizado para avaliar o efeito da substância testada isoladamente e em associação com antidepressivos cujo mecanismo de ação já é bem estabelecido (Kedzierska & Wach, 2016). Evidências sugerem que os modelos comportamentais que utilizam o estresse agudo são relevantes para a compreensão da neurobiologia da depressão, elucidando, assim, as possíveis conexões neurais que coordenam a resposta do animal ao estresse imposto pelo modelo (Commons, Cholanians, Babb & Ehlinger, 2017), traçando um paralelo com as alterações neuroquímicas observadas no transtorno depressivo. Portanto, o modelo do nado forçado constitui uma boa ferramenta para o rastreamento de substâncias com potencial antidepressivo, apresentando boa confiabilidade e bom valor preditivo. Além disso, o uso de camundongos Swiss tem-se mostrado adequado para auxiliar na discriminação dos mecanismos de ação das drogas testadas (Petit-Demouliere, Chenu & Bourin, 2005). A realização dos testes de potencialização é feita com a administração da substância teste com antidepressivos que já tem sua ação estabelecida sobre determinados neurotransmissores (Kedzierska & Wach, 2016). De acordo com Prica, Hascoet & Bourin (2008), vários estudos sugerem que a deficiência de dopamina, assim como a de NA e 5-HT, também está presente em quadros de depressão e que as drogas que atuam nas vias noradrenérgicas como a imipramina, nas vias serotoninérgicas como fluoxetina, e nas vias dopaminérgicas como a bupropiona (Taylor, Fricker, Devi & Gomes, 2005) são capazes de reduzir o tempo de imobilidade de animais submetidos ao nado forçado (Abelaira, Réus & Quevedo, 2013). Portanto, a estratégia de desenvolver novos antidepressivos que combinem efeitos sobre a neurotransmissão de NA, 5-HT e DA, considerando que cada neurotransmissor contribui a sua maneira na terapia antidepressiva, poderia trazer benefícios terapêuticos proporcionando maior resposta ao tratamento e reduzindo o seu tempo de latência (Rénéric & Lucki, 1997).

Neste estudo, ao se associar a quercetina com imipramina ou bupropiona, notou-se que houve redução do tempo de imobilidade dos camundongos no modelo do nado forçado. Esses dados sugerem que a potencialização foi bem sucedida e que há similaridade, ao menos em parte, do mecanismo de ação da quercetina com a imipramina, droga prioritariamente noradrenérgica e bupropiona, que é uma droga prioritariamente dopaminérgica. Porém, ao se associar a quercetina com fluoxetina, percebe-se que não houve potencialização, sugerindo que a via serotoninérgica não represente a principal via de neurotransmissão envolvida no efeito antidepressivo-símile da quercetina. Os resultados aqui apresentados são corroborados, em parte, por D'Andrea (2015), ao mostrar que a quercetina foi capaz de aumentar a concentração de neurotransmissores monoaminérgicos como noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e dopamina (DA) através da inibição dos sistemas de recaptação e da monoamina oxidase (MAO).

Os modelos animais para depressão, entre eles o do nado forçado, se baseiam na reversibilidade dos sintomas depressivos com o uso de substâncias que atuam sobre o sistema monoaminérgico no sistema nervoso central (Nestler et al., 2002). De acordo com o estudo conduzido por Abbas, Naqvi, Mehmood, Kabir & Dar (2011), apesar de o modelo do nado forçado ser utilizado para a aplicação do estresse agudo e subcrônico, os animais submetidos a este teste, não tiveram uma redução significativa da concentração hipocampal dos neurotransmissores NA e DA, mas foi capaz de causar um aumento da concentração de 5-HT. Em contrapartida, Hellriegel & D'Mello (1997) detectaram, após a aplicação do estresse por imobilização em ratos, a redução dos níveis de NA em hipocampo acompanhado de um aumento da concentração do metabólito MHPG-sulfato (3-metoxi-4-hidroxifeniletilenoglicol-sulfato) em regiões do hipocampo, hipotálamo, *locus coeruleus* e córtex cerebral. No estudo de Sakakibara et al. (2005), a aplicação do modelo do nado forçado em ratos foi capaz de reduzir a relação 5-HIAA/5-HT (Ácido-5-hidroxi-indolacético/serotonina) no hipotálamo, em função dos maiores níveis de 5-HT e menores de 5-HIAA, quando comparado ao grupo controle. E, por fim, na avaliação da concentração de monoaminas em encéfalo de camundongos submetidos ao modelo do nado forçado por Renard, Dailly, David, Hascoet & Bourin (2003), observou-se que o tempo de aplicação do teste, teve importante influência nas mensurações de 5-HT, NA e DA. As concentrações de dopamina subiram somente a partir do 5º minuto, de 5-HT a partir do 8º minuto e as de NA se mantiveram estáveis durante o teste, o que está parcialmente de acordo com o proposto por Joëls & Baram (2009). Segundo eles, imediatamente após a um evento estressante, há um aumento da liberação das monoaminas, NA, 5-HT e DA em hipocampo, amígdala, córtex pré-frontal e *nucleus accumbens*.

Entretanto, este aumento da liberação de monoaminas induzido rapidamente pelo estresse, possui uma curta duração e dificilmente persiste após a cessação do evento estressor. Por outro lado, Roth, Mefford & Barchas (1982) propuseram que o estresse agudo causa a redução da concentração das monoaminas com aumento de concentração dos seus metabólitos. Pode se perceber então, que as evidências acerca da concentração das monoaminas no SNC em decorrência a estímulos estressantes apresentada nos trabalhos acima, é diversa e por vezes conflitante.

No protocolo experimental deste estudo, a aplicação do modelo do nado forçado proposto por Porsolt, não foi capaz de causar alterações da concentração *estriatal* [grifo do autor] de monoaminas. Embora a região escolhida para esta análise seja adequada (Hornykiewicz, 1982). Outra possível interpretação seria que o nível de estresse imposto pelo modelo tenha sido insuficiente para causar alterações nitidamente mensuráveis pelo seu tempo de duração (Renard, Dailly, David, Hascoet & Bourin, 2003). Caberia também analisar a função dos modelos animais para depressão que empregam o estresse. Embora, eles busquem induzir desespero ou derrota, este aspecto do comportamento em mamíferos pode simplesmente caracterizar uma resposta fisiológica adaptativa ao invés de representar uma doença (Krishnan & Nestler, 2011). Portanto, questiona-se a capacidade do modelo do nado forçado realmente causar sintomas similares aos depressivos, representando a doença, ou se ele apenas serve como um teste para detectar substâncias com potencial antidepressivo (Nestler et al., 2002). Sendo assim, é necessário ponderar sobre a diversidade dos achados existentes na literatura e ter cuidado no momento de sua interpretação.

Os radicais livres são produtos naturais do metabolismo celular e, por definição, são átomos ou moléculas que contêm um ou mais elétrons desemparelhados. Em decorrência de serem altamente reativos, os radicais livres conseguem se apropriar dos elétrons de outras moléculas, desestabilizando-as e iniciando uma cascata de reações que culmina com lesão celular (Phaniendra, Jestadi & Periyasamy, 2015), como por exemplo, a peroxidação das membranas celulares. Este fenômeno interfere com a sua fluidez da membrana, podendo causar queda do potencial de ação e por fim ruptura da célula com perda do citoplasma e de organelas (Bilici et al., 2001). Tanto as espécies reativas de oxigênio (EROs), quanto as espécies reativas do nitrogênio (ERNs) fazem parte do grupo de radicais livres. Em concentrações baixas a moderadas, os radicais livres podem ser benéficos ao sistema imune, na sinalização celular e na regulação redox. No entanto, níveis elevados desses elementos incorrem em estresse oxidativo e estresse nitrosativo, lesando as moléculas biológicas (Phaniendra, Jestadi & Periyasamy, 2015) como fosfolipídeos da membrana celular (Bilici et

al., 2001). As ERNs são produzidas normalmente durante a síntese de NO (óxido nítrico), um importante segundo mensageiro capaz de estimular a guanilil ciclase e cinases protéicas e que possui diversas funções como: regulação pressórica, regulação do sistema imune, balanço redox e efeitos na neurotransmissão (Phaniendra, Jestadi & Periyasamy, 2015). O nitrito, um produto do metabolismo do NO, é capaz de reagir com a dopamina transformando-a em 6-hidroxidopamina, uma potente neurotoxina (Vatassery, SantaCruz, DeMaster, Quach & Smith, 2004). Por outro lado, as EROs são produzidas principalmente na mitocôndria, local em que há alto consumo de oxigênio na respiração celular. Os radicais livres de oxigênio podem reagir com os fosfolípidos da membrana celular, tendo como um dos produtos finais da reação o MDA (Phaniendra, Jestadi & Periyasamy, 2015). Segundo Ahmad et al. (2012), estímulos estressantes podem prejudicar diversas regiões do cérebro pela perturbação do equilíbrio das reações anti-oxidantes. Isto é particularmente importante, pois o cérebro é, comparativamente, mais vulnerável ao estresse oxidativo que outros órgãos. Isto ocorre por ele possuir uma alta taxa de consumo de oxigênio por unidade de massa de tecido, por ter altas concentrações de lípidos peroxidáveis e por possuir aminoácidos excitotóxicos com baixos níveis de antioxidantes. Qualquer perturbação no ambiente do indivíduo percebida como adversa, pode ser compreendida como estresse. O estresse indica uma possível ou efetiva ameaça, a qual requer uma mudança imediata no comportamento, a qual pode contribuir para modificações comportamentais no futuro. Esta resposta dada pelo indivíduo ao ambiente para sua adaptação a nova situação, conhecida como resposta ao estresse, é complexa e mediada por neurotransmissores com 5-HT, NA, DA e hormônios como o CRH (hormônio liberador de corticotropina) (Joëls & Baram, 2009). O eixo-HPA possui especial importância na resposta ao estresse. Os neurônios hipotalâmicos liberam CRH que, por sua vez, estimula a secreção de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) que estimula o córtex da adrenal a liberar glicocorticoides na circulação sanguínea (Taylor, Fricker, Devi & Gomes, 2005). Esta resposta neuroendócrina que envolve o sistema nervoso autônomo simpático, a inervação direta do córtex da adrenal e a cascata hipotalâmica de mensageiros hormonais, com aumento da secreção de glicocorticoide em resposta ao estresse físico ou psicológico, é capaz de induzir a gliconeogênese, glicogenólise e a lipólise. Desta maneira, ao aumentar a respiração celular sobrecarregando a mitocôndria e ao aumentar a fosforilação oxidativa os glicocorticoides induzem ao estresse oxidativo, promovendo a gliogênese sobre a neurogênese em células hipocâmpais. (Spiers, Chen, Sernia & Lavidis, 2015). O hipocampo tem papel inibitório fundamental sobre o eixo hipotálamo-hipófise-pituitária. As alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) surgem em aproximadamente 50% dos pacientes

depressivos e suas anormalidades afetam a alça de retroalimentação negativa do CRH (hormônio liberador de corticotrofina), a despeito da glândula pituitária e das glândulas adrenais estarem intactas (Palazidou, 2012). Outra possível contribuição do estresse oxidativo na fisiopatologia do transtorno depressivo seria através da ativação do sistema imune, em especial os leucócitos polimorfonucleares, os quais produzem em demasia espécies reativas do oxigênio, levando a ao aumento dos níveis de MDA (malonilaldeído). Essa superprodução de EROs interfere com a estrutura dos lipídios poliinsaturados da membrana celular induzindo a produção de citocinas. Os níveis elevados de MDA por si só também seriam capazes de estimular a fosfolipase A2, a qual alteraria as funções dos receptores de membrana levando à secreção de interleucinas por células T (Bilici et al., 2001). Há também evidências de interações entre o sistema serotoninérgico e o eixo-HPA (Taylor, Fricker, Devi & Gomes, 2005)e, além disto, foi proposto que alterações da viscosidade da membrana celular pela peroxidação lipídica também seriam capazes influenciar na redução da concentração de monoaminas e diminuir a densidade de receptores serotoninérgicos e catecolaminérgicos (Bilici et al., 2001).

No momento, já existem evidências de que as medicações antidepressivas possam exercer efeito antioxidante, o que foi demonstrado em modelos animais que envolvem estresse crônico. Antidepressivos tricíclicos demonstraram ter papel positivo no estresse oxidativo e nitrosativo; a exemplo disto, a paroxetina mostrou-se um potente inibidor da atividade da NOS (óxido nítrico sintase), a fluoxetina, reduziu os níveis de NO e a venlafaxina, conseguiu proteger o DNA (ácido desoxirribonucléico) de danos oxidativos (Lee et al., 2014). De acordo com Fiorani, et al. (2010), a quercetina consegue atingir altas concentrações na mitocôndria ajudando na neutralização das espécies reativas do oxigênio. Além disso, há indícios de que o flavonóide em questão atua modulando os hormônios de resposta ao estresse relacionados ao eixo hipotálamo-hipófise, sendo dotado de efeito antioxidante, protegendo neurônios hipocâmpais de radicais livres (Gong et al., 2014).

Para a avaliação neuroquímica, foi determinada a concentração de TBARS e nitrito em hipocampo. Segundo Akhtar, Pillai & Vohora (2005), camundongos submetidos ao modelo do nado forçado *modificado* [grifo do autor], exibem aumento do estresse oxidativo evidenciado pelo aumento de TBARS. No presente trabalho, ao analisar a concentração deste marcador, é possível perceber que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais, inclusive para aquele tratado com salina e submetido ao nado forçado. Esta observação induz a pensar que o modelo empregado foi incapaz, ao menos no protocolo utilizado, de aumentar a concentração de radicais livres, ao contrário do que seria esperado.

Desta forma, o efeito antioxidante da quercetina não ficou aparente, frente à concentração hipocampal de TBARs e nitrito, assumindo que não houve precipitação de estresse oxidativo pelo modelo experimental empregado. Esta hipótese pode explicar, ao menos em parte, o fato de o modelo não ter alterado a concentração estriatal das monoaminas, como seria esperado.

Em suma, este estudo conseguiu investigar, parcialmente, o mecanismo de ação antidepressivo-símile da quercetina. O protocolo experimental empregado demonstrou que a administração oral da quercetina, nas doses de 10 e 40mg/kg, não teve efeito sedativo ou estimulante em animais submetidos ao teste do campo aberto. Em adição, ambas as doses mostraram-se capazes em reduzir o tempo de imobilidade dos roedores no modelo do nado forçado, indicando seu potencial efeito antidepressivo-símile. Nos testes de potencialização, houve indícios de partilhamento do mecanismo de ação quando a quercetina foi associada à imipramina e bupropiona, sugerindo que os neurotransmissores NA e DA podem estar envolvidos na atividade antidepressiva-símile do flavonóide. Por outro lado, a concentração estriatal de NA e DA e hipocampal de TBARs e nitrito não demonstrou as alterações significativas esperadas para o modelo, ou seja, não houve diminuição de concentração de NA e DA ou aumento da concentração de TBARs e nitrito no grupo tratado com salina submetido ao nado forçado, limitando a interpretação dos resultados no tocante aos efeitos neuroquímicos da quercetina.

8 Conclusões e Perspectivas

De acordo com os dados apresentados, conclui-se que a administração aguda da quercetina, nas condições experimentais empregadas não interferiu na atividade locomotora de camundongos submetidos ao teste do campo aberto e reduziu o tempo de imobilidade de camundongos submetidos ao modelo do nado forçado. Este efeito foi potencializado na presença dos antidepressivos imipramina e bupropiona, mas não de fluoxetina, sugerindo o envolvimento, pelo menos em parte, de NA e DA no mecanismo de ação do composto;

Além disso, os resultados indicam que o modelo do nado forçado, nas condições experimentais empregadas, não foi capaz de induzir as alterações neuroquímicas esperadas que viessem a esclarecer melhor o efeito da quercetina sobre a concentração estriatal de neurotransmissores monoaminérgicos e da concentração hipocampal de marcadores de estresse oxidativo.

Dessa forma, para melhor esclarecer o efeito antidepressivo-símile da quercetina, são necessárias investigações que utilizem outros modelos comportamentais de estresse que possam melhor mimetizar as alterações neurobiológicas análogas àquelas apresentadas no transtorno depressivo maior, a saber: diminuição da concentração de monoaminas e BDNF, aumento da concentração de metabólitos dos neurotransmissores monoaminérgicos, de marcadores de estresse oxidativo e de citocinas pró-inflamatórias. Desta feita, estudos que prossigam com esta premissa poderão trazer informações importantes e novas perspectiva terapêuticas no futuro, para que a quercetina, eventualmente, possa ser incorporada como mais uma opção no tratamento da depressão, uma doença que a cada ano que passa torna-se mais prevalente.

Referências

- Abbas, G., Naqvi, S., Mehmood, S., Kabir, N., & Dar, A. (2011). Forced swimming stress does not affect monoamine levels and neurodegeneration in rats. *Neuroscience Bulletin*, 27(5), 319–324. <https://doi.org/10.1007/s12264-011-1032-6>
- Abelaira, H. M., Reus, G. Z., & Quevedo, J. (2013). Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 35(suppl 2), S112–S120. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2013-1098>
- Ahmad, A., Rasheed, N., Ashraf, G. M., Kumar, R., Banu, N., Khan, F., ... Palit, G. (2012). Brain region specific monoamine and oxidative changes during restraint stress. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 39(3), 311–318. <https://doi.org/10.1017/S0317167100013433>
- Akhtar, M., Pillai, K. K., & Yohora, D. (2005). Effect of thioperamide on modified forced swimming test-induced oxidative stress in mice. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 97(4), 218–221. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2005.pto_140.x
- Albert, P. R., Benkelfat, C., Albert, P. R., & Descarries, L. (2013). The neurobiology of depression — revisiting the serotonin hypothesis . II . Genetic , epigenetic and clinical studies †, 3-6.
- American Psychiatric Association. (1994). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed.). Washington, DC: Autor
- Anjaneyulu, M., Chopra, K., & Kaur, I. (2003). in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice, 6(4), 391–395.
- Archer, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behaviour*, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.
- Berthold-Losleben, M., & Himmerich, H. (2008). The TNF-alpha system: functional aspects in depression, narcolepsy and psychopharmacology. *Current Neuropharmacology*, 6(3), 193–202. <http://doi.org/10.2174/157015908785777238>
- Berton, O., & Nestler, E. J. (2006). New approaches to antidepressant drug discovery: Beyond monoamines. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(2), 137–151. <https://doi.org/10.1038/nrn1846>
- Bhagwat, S., Haytowitz, D. B., & Holden, J. M. (2011). USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods. *USDA Agricultural Research Service*, 3.
- Bilici, M., Efe, H., Köroğlu, M. A., Uydu, H. A., Bekaroğlu, M., & Değer, O. (2001). Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: Alterations by antidepressant treatments. *Journal of Affective Disorders*, 64(1), 43–51. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(00\)00199-3](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(00)00199-3)
- Bhutada, P., Mundhada, Y., Bansod, K., Ubgade, A., Quazi, M., Umathe, S., & Mundhada, D. (2010). Reversal by quercetin of corticotrophin releasing factor induced anxiety- and depression-like effect in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 34(6), 955–60. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.04.025>

- Classificação de Transtornos Mentais e de Comportamento da CID 10. (1993). Brasil: Artmed.
- Carlini, E. A., & Mendes, F. R. (2011). Protocolos em psicofarmacologia comportamental: um guia para pesquisa de drogas com ação sobre o SNC, com ênfase nas plantas medicinais. São Paulo, SP: Editora Fap-Unifesp
- Castagné, V., Moser, P., Roux, S., & Porsolt, R. D. (2011). Rodent models of depression: Forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. *Current Protocols in Neuroscience*, (SUPPL.55), 1–14. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0810as55>
- Commons, K. G., Cholanians, A. B., Babb, J. A., & Ehlinger, D. G. (2017). The Rodent Forced Swim Test Measures Stress-Coping Strategy, Not Depression-like Behavior. *ACS Chemical Neuroscience*, 8(5), 955–960. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.7b00042>
- Chirisse Taylor, Ashwana D. Fricker, L. D. (2013). Mechanisms of action of antidepressants: from neurotransmitter systems to signalling pathways. *Cell Signal*, 17(5), 549–557. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2004.12.007.Mechanisms>
- Cryan, J. F.; Holmes, A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 4, p. 775-790, 2005.
- Czéh, B., Fuchs, E., Wiborg, O., & Simon, M. (2016). Animal models of major depression and their clinical implications. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64, 293–310. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.04.004>
- D’Andrea, G. (2015). Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*, 106, 256–271. <http://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.09.018>
- D’Aquila, P. S., Collu, M., Gessa, G. L., & Serra, G. (2000). The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. *European Journal of Pharmacology*, 405(1–3), 365–373. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00566-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00566-5)
- DECRETO Nº 24.645, DE 10 DE JULHO DE 1934. *Portal Da Câmara Dos Deputados*, (n.d.). Recuperado de www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1930-1939/decreto-24645-10-julho-1934-516837-publicacaooriginal-1-pe.html.
- Dhawan, K. N., Jaju, B. P., & Gupta, G. P. (1970). Validity of antagonism of different effects of reserpine as test for anti-depressant activity. *Psychopharmacologia*, 18(1), 94–98. <http://doi.org/10.1007/BF00402388>
- Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th Ed)*. (2013). Washington DC: American Psychiatric Association.
- Durisko, Z., Mulsant, B. H., & Andrews, P. W. (2015). An adaptationist perspective on the etiology of depression. *Journal of Affective Disorders*, 172, 315-323. Elsevier. doi: 10.1016/j.jad.2014.09.032.
- Draper, H., & Hadley, M. (1990). [43] Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Oxygen Radicals in Biological Systems Part B: Oxygen Radicals and Antioxidants Methods in Enzymology*, 421-431. doi:10.1016/0076-6879(90)86135-i

- Elhwuegi, A. S. (2004). Central monoamines and their role in major depression \$. *Progress in Neuro-Psychopharmacology*, 28, 435 - 451. doi: 10.1016/j.pnpbp.2003.11.018.
- Elkhayat, E., Alorainy, M., El-Ashmawy, I., & Fat'hi, S. (2016). Potential antidepressant constituents of *Nigella sativa* seeds. *Pharmacognosy Magazine*, 12(45), 27. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.176118>
- Eisenhofer, G. (2004). Catecholamine Metabolism: A Contemporary View with Implications for Physiology and Medicine. *Pharmacological Reviews*, 56(3), 331–349. <https://doi.org/10.1124/pr.56.3.1>
- Fernández, S. P., Wasowski, C., Loscalzo, L. M., Granger, R. E., Johnston, G. A. R., Paladini, A. C., & Marder, M. (2006). Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. *European Journal of Pharmacology*, 539(3), 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.04.004>
- Finkel, R., Whalen, K., Finkel, R., & Panavelli, T. A. (2016). *Farmacologia ilustrada*(6^a ed.). Porto Alegre: Artmed.
- Fiorani, M., Guidarelli, A., Blasa, M., Azzolini, C., Candiracci, M., Piatti, E., & Cantoni, O. (2010). Mitochondria accumulate large amounts of quercetin: Prevention of mitochondrial damage and release upon oxidation of the extramitochondrial fraction of the flavonoid. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(5), 397–404. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.01.014>
- França, A. S. C., Rufino, F. P. S., Soares, B. L., & Ribeiro, S. (2016). Nado forçado crônico diminui a ansiedade em camundongos. *Revista Da Biologia*, 16(1), 15–23. <https://doi.org/10.7594/revbio.16.01.03>
- Frodl, T., & O'Keane, V. (2013). How does the brain deal with cumulative stress? A review with focus on developmental stress, HPA axis function and hippocampal structure in humans. *Neurobiology of Disease*, 52, 24–37. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.03.012>
- Gomes, A., Matias, I., & Buosi, A. S. (2016). Neurochemistry International Functions of flavonoids in the central nervous system : Astrocytes as targets for natural compounds, 95, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.01.009>
- Gong, J., Huang, J., Ge, Q., Chen, F., & Zhang, Y. (2014). Advanced Research on the Antidepressant Effect of Flavonoids, 1(2), 1–6. <http://doi.org/10.7178/cocam.00011>
- Goodman, L. S., Gilman, A., Brunton, L. L., Chabner, B. A., & Knollmann, B. C. (2011). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw Hill Medical.
- Green, L. C., Tannenbaum, S. R., & Goldman, P. (1981). Nitrate Synthesis in the Germfree and Conventional Rat Abstract. *Science*, 212(Issue 4490), 56–58. <https://doi.org/10.1126/science.6451927>
- Grover, S., Gautam, S., Jain, A., Gautam, M., & Vahia, V. (2017). Clinical Practice Guidelines for the management of Depression. *Indian Journal of Psychiatry*, 59(5), 34. doi:10.4103/0019-5545.196973

- Guan, L., & Liu, B. (2016). European Journal of Medicinal Chemistry Antidepressant-like effects and mechanisms of flavonoids and related analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 121, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.05.026>
- Haase, J., & Brown, E. (2014). Integrating the monoamine, neurotrophin and cytokine hypotheses of depression - A central role for the serotonin transporter? *Pharmacology & Therapeutics*, 147, 1–11. <http://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.10.002>
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96(2-3), 67-202. doi:10.1016/s0163-7258(02)00298-x
- Hellriegel, E. T., & D'Mello, A. P. (1997). The effect of acute, chronic and chronic intermittent stress on the central noradrenergic system. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 57(1–2), 207–214. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(96\)00341-3](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(96)00341-3)
- Hollman, P. C. H., Van Trijp, J. M. P., Buysman, M. N. C. P., Martijn, M. S., Mengelers, M. J. B., De Vries, J. H. M., & Katan, M. B. (1997). Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Letters*, 418(1–2), 152–156. [http://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01367-7](http://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01367-7)
- Holzmann, I., Da Silva, L. M., Corrêa Da Silva, J. A., Steimbach, V. M. B., & De Souza, M. M. (2015). Antidepressant-like effect of quercetin in bulbectomized mice and involvement of the antioxidant defenses, and the glutamatergic and oxidonitrergic pathways. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 136, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.07.003>
- Hornykiewicz, O. (1982). Imbalance of Brain Monoamines and Clinical Disorders. *Chemical Transmission in the Brain: The Role of Amines, Amino Acids and Peptides, Proceedings of the 12th International Summer School of Brain Research, Held at the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences Progress in Brain Research*, 419-429. doi:10.1016/s0079-6123(08)64212-0
- Huber, L. S., & Rodriguez-amaya, D. B. (2008). Flavonóis E Flavonas : Fontes Brasileiras E Fatores Que Influenciam a Composição Em. *Alimentos Nutrição*, 19(1), 97–108.
- Ishisaka, A., Ichikawa, S., Sakakibara, H., Piskula, M. K., Nakamura, T., Kato, Y., . . . Terao, J. (2011). Accumulation of orally administered quercetin in brain tissue and its antioxidative effects in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(7), 1329-1336. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.017
- Ishisaka, A., Mukai, R., Terao, J., Shibata, N., & Kawai, Y. (2014). Specific localization of quercetin-3-O-glucuronide in human brain. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 557(June), 11–17. <http://doi.org/10.1016/j.abb.2014.05.025>
- Jäger, A., & Saaby, L. (2011). Flavonoids and the CNS. *Molecules*, 16(2), 1471-1485. doi:10.3390/molecules16021471
- Joëls, M., & Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 459–466. <https://doi.org/10.1038/nrn2632>

- Kanazawa, L. K. S., Vecchia, D. D., Wendler, E. M., Hocayen, P. de A. S., dos Reis Lívero, F. A., Stipp, M. C., ... Andreatini, R. (2016). Quercetin reduces manic-like behavior and brain oxidative stress induced by paradoxical sleep deprivation in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 99, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.07.027>
- Kasper, S., Caraci, F., Forti, B., Drago, F., & Aguglia, E. (2010). Efficacy and tolerability of Hypericum extract for the treatment of mild to moderate depression. *European Neuropsychopharmacology*, 20(11), 747–765. <http://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2010.07.005>
- Katzung, B. G. (2018). *Basic & clinical pharmacology*. New York: McGraw-Hill.
- Kedzierska, E., & Wach, I. (2016). Using tests and models to assess antidepressant-like activity in rodents. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 29(2), 61–65. <https://doi.org/10.1515/cipms-2016-0013>
- Khusboo, S. B. (2017). Antidepressants: Mechanism of Action, Toxicity and Possible Amelioration. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 3(5), 437–448. <https://doi.org/10.15406/jabb.2017.03.00082>
- Kim, Y. K., Na, K. S., Myint, A. M., & Leonard, B. E. (2016). The role of pro-inflammatory cytokines in neuroinflammation, neurogenesis and the neuroendocrine system in major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64, 277–284. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.06.008>
- Khan, H., Perviz, S., Sureda, A., Nabavi, S. M., & Tejada, S. (2018). Current standing of plant derived flavonoids as an antidepressant. *Food and Chemical Toxicology*, (March). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.04.052>
- Krishnan, Vaishnav, and Eric J. Nestler. (2011). “Animal Models of Depression: Molecular Perspectives.” *Molecular and Functional Models in Neuropsychiatry Current Topics in Behavioral Neurosciences*, pp. 121–147., doi:10.1007/7854_2010_108.
- Lee, S. Y., Lee, S. J., Han, C., Patkar, A. A., Masand, P. S., & Pae, C. U. (2013). Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: Targets for novel antidepressants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 46, 224–235. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.09.008>
- Leonard, B. E. (2014). Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry Impact of inflammation on neurotransmitter changes in major depression : An insight into the action of antidepressants. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 48, 261–267. Elsevier Inc. doi: 10.1016/j.pnpbp.2013.10.018.
- Lister, G. (1990). Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 46, p. 321–340,
- Liu, B., Liu, J., Wang, M., Zhang, Y., & Li, L. (2017). From Serotonin to Neuroplasticity: Evolvement of Theories for Major Depressive Disorder. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11(September), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00305>

- Liu, D.; Xie, K.; Yang, X.; Gu, J.; Ge, L.; Wandg, X. et al. (2014). Resveratrol reverses the effects of chronic unpredictable mild stress on behavior, serum corticosterone levels and BDNF expression in rats. *Behavioural Brain Research*, v. 264, p. 9-16.
- Lopez-Munoz, F., & Alamo, C. (2009). Monoaminergic Neurotransmission: The History of the Discovery of Antidepressants from 1950s Until Today. *Current Pharmaceutical Design*, 15(14), 1563-1586. doi:10.2174/138161209788168001
- L11794. (n.d.). Recuperado de http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm
- Maletic, V., Robinson, M., Oakes, T., Iyengar, S., Ball, S. G., Russell, J., et al. (2007). Neurobiology of depression : an integrated view of key findings. *International Journal*, (December), 2030-2040. doi: 10.1111/j.1742-1241.2007.01602.x.
- Manuscript, A. (2009). The molecular neurobiology of depression. *October*, 455(7215), 894-902. doi: 10.1038/nature07455.The.
- Maurya, P. K., Noto, C., Rizzo, L. B., Rios, A. C., Nunes, S. O. V, Barbosa, D. S., ... Brietzke, E. (2016). The role of oxidative and nitrosative stress in accelerated aging and major depressive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 65, 134–144. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.08.016>
- Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC). (2016). Normativas do Conceia para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica. (3ª ed.) Brasília. Autor. Recuperado de <https://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/publicacoes/ebook-normativas.pdf>
- Moylan, S., Berk, M., Dean, O. M., Samuni, Y., Williams, L. J., Neil, A. O., et al. (2014). Neuroscience and Biobehavioral Reviews Oxidative & nitrosative stress in depression : Why so much stress ? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 45, 46-62. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.neubiorev.2014.05.007.
- (n.d.).Recupeado de <http://insightltda.com.br/insight-equipamento-cientifico-257-Campo-Aberto---Open-Field-Acr%C3%ADlico-Rato>
- (n.d.). Recuperado de <http://ohara-time.co.jp/products/porsolt-forced-swim-tail-suspension-test/>
- Nestler, E. J., Gould, E., & Manji, H. (2002). Preclinical models: Status of basic research in depression. *Biological Psychiatry*, 52(6), 503–528. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(02\)01405-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01405-1)
- Nieoczym, D., Socała, K., Raszewski, G., & Wlś, P. (2014). Effect of quercetin and rutin in some acute seizure models in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 54, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.05.007>
- Ng, J., Heales, S. J. R., & Kurian, M. A. (2014). Clinical features and pharmacotherapy of childhood monoamine neurotransmitter disorders. *Pediatric Drugs*, 16(4), 275–291. <https://doi.org/10.1007/s40272-014-0079-z>

- de Oliveira, M. R., Nabavi, S. M., Braidý, N., Setzer, W. N., Ahmed, T., & Nabavi, S. F. (2016). Quercetin and the mitochondria: A mechanistic view. *Biotechnology Advances*, 34(5), 532–549. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.014>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <http://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Palazidou, E. (2012). The neurobiology of depression. *British Medical Bulletin*, 127-145. doi: 10.1093/bmb/lds004.
- Petit-Demouliere, B., Chenu, F., & Bourin, M. (2005). Forced swimming test in mice: A review of antidepressant activity. *Psychopharmacology*, 177(3), 245–255. <https://doi.org/10.1007/s00213-004-2048-7>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pollak, D. D., Rey, C. E., & Monje, F. J. (2010). Rodent models in depression research: Classical strategies and new directions. *Annals of Medicine*, 42(4), 252–264. <https://doi.org/10.3109/07853891003769957>
- Poór, M., Boda, G., Needs, P. W., Kroon, P. A., Lemli, B., & Bencsik, T. (2017). Interaction of quercetin and its metabolites with warfarin: Displacement of warfarin from serum albumin and inhibition of CYP2C9 enzyme. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 88, 574–581. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.092>
- Porsolt, R. D.; Anton, G.; Blavet, N.; Jalfre, M. (1978). Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology*, v. 47, n. 4, p. 379-391.
- Prica, C., Hascoet, M., & Bourin, M. (2008). Is co-administration of bupropion with SSRIs and SNRIs in forced swimming test in mice, predictive of efficacy in resistant depression? *Behavioural Brain Research*, 194(1), 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.06.028>
- Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur. J. Pharmacol.* 2003;463:3–33
- Quercetin Q4951. (n.d.). Recuperado de <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/q4951?lang=pt@ion=BR>
- QuickStats: Prevalence of Current Depression Among Persons Aged ≥ 12 Years, by Age Group and Sex - United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 2007–2010. (2012, January 06). Recuperado de http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6051a7.htm?s_cid=mm6051a7_w#x2013; United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 2007-2010
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J., Flower, R. J., & Henderson, G. (2012). *Rang and Dales pharmacology*. Edinburgh: Elsevier/Churchill Livingstone.

- Rawdin, B. J., Mellon, S. H., Dhabhar, F. S., Epel, E. S., Puterman, E., Su, Y., et al. (2013). Brain , Behavior , and Immunity Dysregulated relationship of inflammation and oxidative stress in major depression. *Obstetrics & Gynecology*, 31, 143-152. doi: 10.1016/j.bbi.2012.11.011.
- Renard, C. E., Dailly, E., David, D. J. P., Hascoet, M., & Bourin, M. (2003). Monoamine metabolism changes following the mouse forced swimming test but not the tail suspension test. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 17(4), 449–455. <https://doi.org/10.1046/j.1472-8206.2003.00160.x>
- Rénéric, J. P., & Lucki, I. (1998). Antidepressant behavioral effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology*, 136(2), 190–197. <https://doi.org/10.1007/s002130050555>
- Rodriguez-Mateos, A., Vauzour, D., Krueger, C. G., Shanmuganayagam, D., Reed, J., Calani, L., ... Crozier, A. (2014). Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. *Archives of Toxicology*, 88(10), 1803–1853. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1330-7>
- Roth, K. a, Mefford, I. M., & Barchas, J. D. (1982). Epinephrine, norepinephrine, dopamine and serotonin: differential effects of acute and chronic stress on regional brain amines. *Brain Research*, 239, 417–424. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(82\)90519-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(82)90519-4)
- Robinson, M. J. (2003). Antidepressant Psychopharmacology: Current Limitations and Future Directions. *Primary Psychiatry*, 10(1), 43–49.
- Sadock, B. J., Sadock, V. A., & Ruiz, P. (2015). *Synopsis of psychiatry behavioral sciences, clinical psychiatry*. Philadelphia, Pa: Wolters Kluwer.
- Sakakibara, H., Ishida, K., Izawa, Y., Minami, Y., Saito, S., Kawai, Y., ... Terao, J. (2005). Effects of forced swimming stress on rat brain function. *The Journal of Medical Investigation*, 52, 300–301.
- Sakakibara, H., Ishida, K., Grundmann, O., Nakajima, J., Seo, S., Butterweck, V., ... Terao, J. (2006). Antidepressant effect of extracts from Ginkgo biloba leaves in behavioral models. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 29(8), 1767–1770. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16880641>
- Schiavone, S., Jaquet, V., Trabace, L., & Krause, K.-H. (2013). Severe Life Stress and Oxidative Stress in the Brain: From Animal Models to Human Pathology. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(12), 1475–1490. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4720>
- Schnaider, T. B.; Souza, C. (2003). Aspectos éticos da experimentação animal. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, v. 53, n. 2, p. 278-85.
- Shiotsuki, H., Yoshimi, K., Shimo, Y., Funayama, M., Takamatsu, Y., Ikeda, K., ... Hattori, N. (2010). A rotarod test for evaluation of motor skill learning. *Journal of Neuroscience Methods*, 189(2), 180–5. <http://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2010.03.026>
- Singh, M., Kaur, M., & Silakari, O. (2014). Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84, 206–239. <http://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.013>

- Shim-pack Series. (n.d.). Recuperado de <https://www.shimadzu.com/an/hplc/column/index.html>
- Solomon, D., Adams, J., & Graves, N. (2013). Economic evaluation of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) for the treatment of mild to moderate depression. *Journal of Affective Disorders*, 148(2-3), 228–234. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2012.11.064>
- Spiers, J. G., Chen, H. J. C., Sernia, C., & Lavidis, N. A. (2015). Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal stress axis induces cellular oxidative stress. *Frontiers in Neuroscience*, 9(JAN), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00456>
- Stahl, S. M. (2014). *Stahls essential psychopharmacology: Prescribers guide*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Stahl, S., & Muntner, N. (2013). *Stahl Online: Stahls essential psychopharmacology: Neuroscientific basis and practical application*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Stepanichev, M., Dygalo, N. N., Grigoryan, G., Shishkina, G. T., & Gulyaeva, N. (2014). Rodent models of depression: Neurotrophic and neuroinflammatory biomarkers. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/932757>
- Thiede, H. M., & Walper, A. (1994). Inhibition of MAO and COMT by hypericum extracts and hypericin. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7(SUPPL. 1), 54–56. <https://doi.org/10.1177/089198879400700114>
- Vatassery, G. T., SantaCruz, K. S., DeMaster, E. G., Quach, H. T., & Smith, W. E. (2004). Oxidative stress and inhibition of oxidative phosphorylation induced by peroxynitrite and nitrite in rat brain subcellular fractions. *Neurochemistry International*, 45(7), 963–970. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2004.06.009>
- Villanueva, R. (2013). Review Article Neurobiology of Major Depressive Disorder. *Neural Plasticity*, 2013.
- Yadav, Y. C., Jain, A., Deb, L., & P, P. V. G. (2010). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 10–14.
- Wichniak, A., Wierzbicka, A., Walęcka, M., & Jernajczyk, W. (2017). Effects of Antidepressants on Sleep. *Current Psychiatry Reports*, 19(9), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11920-017-0816-4>
- Willner, P., Scheel-krüger, J., & Belzung, C. (2013). Neuroscience and Biobehavioral Reviews The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2331–2371. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.neubiorev.2012.12.007.
- World Federation For Mental Health (WFMH). (2012). Depression: A Global Crisis. *World Mental Health Day*, 32. Recuperado de http://www.who.int/mental_health/management/depression/wfmh_paper_depression_wmhd_2012.pdf.

Anexo A – Certificado de Aprovação da Comissão de Ética (CEUA)



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



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “**Identificação do mecanismo de ação antidepressivo-símile da quercetina em camundongos**”, protocolo nº **112/2016** sob a responsabilidade do pesquisador **Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe** – 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	2017
Espécie/linhagem	<i>Mus musculos</i> / Swiss
Número de animais	200
Idade/Peso	25 - 30 g / 6-8 semanas
Sexo	Machos
Origem	Biotério Thomas George - UFPB

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
CEUA-UFPB