



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**Brenda Moreira dos Santos**

**ENVOLVIMENTO DE FATORES OXIDATIVOS E INFLAMATÓRIOS SOBRE A  
RESISTÊNCIA AO TRATAMENTO COM FLUOXETINA EM UM MODELO DE  
DEPRESSÃO EM CAMUNDONGOS**

Santa Maria, RS, Brasil  
2021

**Brenda Moreira dos Santos**

**ENVOLVIMENTO DE FATORES OXIDATIVOS E INFLAMATÓRIOS SOBRE A  
RESISTÊNCIA AO TRATAMENTO COM FLUOXETINA EM UM MODELO DE  
DEPRESSÃO EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de Concentração em Neuropsicofarmacologia e Imunofarmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para aprovação obtenção do título de **Mestre em Farmacologia**.

**Orientador: Prof. Dr. Guilherme Vargas Bochi**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2021**

Santos, Brenda Moreira  
ENVOLVIMENTO DE FATORES OXIDATIVOS E INFLAMATÓRIOS  
SOBRE A RESISTÊNCIA AO TRATAMENTO COM FLUOXETINA EM UM  
MODELO DE INDUÇÃO DE COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO EM  
CAMUNDONGOS / Brenda Moreira Santos.- 2021.  
86 p.; 30 cm

Orientador: Guilherme Bochi  
Coorientadora: Gabriela Trevisan  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós  
Graduação em Farmacologia, RS, 2021

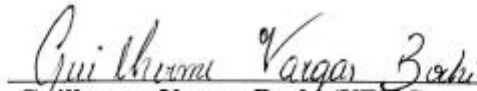
1. Depressão Maior 2. Depressão Resistente ao  
tratamento 3. Neuroinflamação I. Bochi, Guilherme II.  
Trevisan, Gabriela III. Título.

**Brenda Moreira dos Santos**


**ENVOLVIMENTO DE FATORES OXIDATIVOS E INFLAMATÓRIOS SOBRE A  
RESISTÊNCIA AO TRATAMENTO COM FLUOXETINA EM UM MODELO DE  
DEPRESSÃO EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de Concentração em Neuropsicofarmacologia e Imunofarmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para aprovação obtenção do título de **Mestre em Farmacologia**.

**Aprovado em 27 de outubro de 2021:**

  
**Guilherme Vargas Bochi (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

  
**Roselei Fachinetto (UFSM)**

  
**Carina Rodrigues Boeck (UFN)**

Santa Maria, RS  
2021

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho aos meus queridos pais e aos meus amados avós. Pessoas que através do amor me deram, além da vida, a minha essência.*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço, primeiramente, à Deus pela graça da vida e por toda a Sua bondade para comigo. Agradeço, infinitamente, às pessoas mais importantes da minha vida, meus pais. Que sempre foram e seguem sendo grandes exemplos de dedicação, amor, gentileza e fé, tanto para mim, como para a minha querida irmã Letícia.*

*Agradeço, imensamente, ao estimado professor Guilherme Bochi, não só pelo seu grande comprometimento, compreensão, dedicação e apoio como meu orientador neste projeto, mas principalmente, pelo tanto que ele representa para nós, seus alunos.*

*Sou muito grata aos meus queridos colegas do grupo LEDep. Gabriele Cheiran Pereira, Elisa Piton, Luís Fernando Camargo, Luís Guilherme Ramanzini, Francine Arboit e Prof. Eliane Zanchet foram imprescindíveis para a realização deste trabalho e também para o meu crescimento e aprendizagem no decorrer do mestrado. Todos sempre terão um lugar especial no meu coração!*

*Agradeço às parcerias que nos ajudaram a chegar em nossos resultados. Prof. Carlos de Mello, Michele Mainardi, prof. Gabriela Trevisan e prof. Sara Marchesan, assim como seus respectivos alunos, obrigada por todo auxílio oferecido!*

*Como aluna agradeço à todo corpo docente do PPG em farmacologia e a todos os funcionários, especialmente, à Zeli e ao Jaime por toda atenção e ajuda prestada durante o curso.*

*Agradeço muito à família que construí na faculdade, meus amados colegas de profissão, Gerson Fernandes de Brum, Camila Ritter e Cristiane Teixeira. Pessoas que sempre são amparo, fortaleza e incentivo em todos os momentos da caminhada. Também agradeço aos meus inseparáveis amigos do colégio, pessoas que me acompanham de longa data e que estão presentes em todos os momentos importantes da minha vida.*

*Por fim, agradeço à UFSM por ter sido também minha casa nesses últimos anos e ter me proporcionado crescimento e desenvolvimento.*

*“(...) Tudo vale a pena  
Se a alma não é pequena. (...)”*

Fernando Pessoa

## RESUMO

### ENVOLVIMENTO DE FATORES OXIDATIVOS E INFLAMATÓRIOS SOBRE A RESISTÊNCIA AO TRATAMENTO COM FLUOXETINA EM UM MODELO DE DEPRESSÃO EM CAMUNDONGOS

AUTOR: Brenda Moreira dos Santos

ORIENTADOR: Prof. Dr. Guilherme Vargas Bochi

A depressão maior (DM) está entre um dos transtornos mentais mais incapacitantes do mundo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 300 milhões de pessoas são acometidas pela DM. O transtorno é caracterizado por um conjunto de sinais e sintomas, os quais incluem humor deprimido, anedonia, ideias de arrependimento e culpa, distúrbios alimentares e de sono, dentre outros. A DM está altamente relacionada com as taxas de suicídio. De forma preocupante, uma parcela significativa de pacientes com DM são refratários aos agentes antidepressivos disponíveis (aproximadamente 30 a 50%), sendo esses considerados portadores da depressão resistente ao tratamento (DRT). A fisiopatologia da DM, bem como da DRT ainda não está totalmente elucidada. No entanto, o estresse oxidativo e o processo inflamatório podem ser importantes mecanismos envolvidos nestes processos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar se marcadores oxidativos e inflamatórios podem estar envolvidos na resistência ao tratamento de fluoxetina em camundongos submetidos ao protocolo de indução de comportamento tipo-depressivo. Para isso, foi utilizado o modelo de administração crônica de corticosterona (ACC). Para estratificar os animais em responsivos ao tratamento (fluoxetina) e não responsivos, foi utilizado o teste de suspensão da cauda. Além deste teste comportamental, os animais foram avaliados no teste de nado forçado, labirinto de cruz elevada e campo aberto. Após os testes comportamentais, os animais foram sacrificados e amostras de sangue e estruturas cerebrais (hipocampo, córtex pré-frontal e estriado) foram retiradas para as análises oxidativas e inflamatórias. Foi observado que os animais que tiveram uma pior resposta a fluoxetina no teste de suspensão da cauda, apresentaram um comportamento tipo-ansioso no teste do labirinto em cruz elevado e um maior tempo de luta no teste no nado forçado. Além disso, este mesmo grupo de animais apresentaram maiores níveis de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e menor atividade da catalase no hipocampo. Também foi demonstrado que os animais resistentes à fluoxetina apresentaram níveis periféricos aumentados de IL-17 e INF- $\gamma$  quando comparados aos níveis dessas citocinas nos animais que tiveram uma boa resposta à fluoxetina. Assim, pode ser sugerido que a refratariedade ao tratamento antidepressivo com fluoxetina pode estar relacionada a um desequilíbrio oxidativo hipocampal, bem como a um aumento de interleucinas periféricas.

**Palavras-chave:** Comportamento do tipo-depressivo. Depressão resistente ao tratamento. Neuroinflamação. Estresse Oxidativo.



## ABSTRACT

### INVOLVEMENT OF OXIDATIVE AND INFLAMMATORY FACTORS IN RESISTANCE TO FLUOXETINE TREATMENT IN A DEPRESSION MODEL IN MICE

AUTOR: Brenda Moreira dos Santos

ORIENTADOR: Prof. Dr. Guilherme Vargas Bochi

Major depression (DM) is among the most disabling mental disorders in the world. According to the World Health Organization (WHO), more than 300 million people are affected by DM. The disorder is characterized by a set of signs and symptoms, which include depressed mood, anhedonia, ideas of regret and guilt, eating and sleep disorders, among others. DM is highly related to suicide rates. Worryingly, a significant portion of patients with DM are refractory to available antidepressant agents (approximately 30 to 50%), and these are considered to have treatment-resistant depression (TRD). The pathophysiology of DM, as well as of TRD, is still not fully elucidated. However, oxidative stress and the inflammatory process may be important mechanisms involved in these processes. Thus, the aim of this study was to evaluate whether oxidative and inflammatory markers may be involved in resistance to fluoxetine treatment in mice submitted to a depressive-like behavior induction protocol. For this, the chronic corticosterone administration (ACC) model was used. To stratify the animals into treatment-responsive (fluoxetine) and non-responsive, the tail suspension test was used. In addition to this behavioral test, the animals were evaluated in the forced swim test, elevated plus maze and open field test. After the behavioral tests, the animals were sacrificed and blood samples and brain structures (hippocampus, prefrontal cortex and striatum) were taken for oxidative and inflammatory analyses. It was observed that the animals that had a worse response to fluoxetine in the tail suspension test, showed an anxious-like behavior in the elevated plus maze test and a longer fight time in the forced swim test. Furthermore, this same group of animals had higher levels of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and lower catalase activity in the hippocampus. It was also shown that animals resistant to fluoxetine had increased peripheral levels of IL-17 and INF- $\gamma$  when compared to the levels of these cytokines in animals that had a good response to fluoxetine. Thus, it can be suggested that refractoriness to antidepressant treatment with fluoxetine may be related to a hippocampal oxidative imbalance, as well as an increase in peripheral interleukins.

**Keywords:** Depressive-like behavior. Treatment-Resistant Depression. Neuroinflammation. Oxidative Stress.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### INTRODUÇÃO

Figura 1. Ação dos ISRS na fenda sináptica .....	19
Figura 2. Processo de neuroinflamação .....	26

### ARTIGO CIENTÍFICO

<b>Figure 1.</b> Experimental design and Tail Suspension Test (TST).....	40
<b>Figure 2.</b> Forced Swimming Test (FST).....	42
<b>Figure 3.</b> Elevated Plus Maze Test (EPMT).....	44
<b>Figure 4.</b> Open Field Test (OFT).....	45
<b>Figure 5.</b> Oxidative stress analysis .....	46
<b>Figure 6.</b> NADPH oxidase activity in A) hippocampus, and B) prefrontal cortex.....	47
<b>Figure 7.</b> Peripheral cytokine levels.. .....	48
<b>Figure 8.</b> Serum levels of corticosterone expressed in a logarithmic form.. .....	49
<b>Figure 9.</b> Summary of the main findings of the study... .....	50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina
ACC	Administração Crônica de Corticosterona
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico (do inglês, <i>Adrenocorticotropic Hormone</i> )
APA	Associação Americana de Psiquiatria (do inglês, <i>American Psychiatric Association</i> )
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo (do inglês, <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i> )
BHE	Barreira Hemato Encefálica
BRA	Boa Resposta ao Antidepressivo
CAT	Catalase
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina (do inglês, <i>Corticotropin-Releasing Hormone</i> )
DA	Dopamina
DM	Depressão Maior
DMS-5	Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
DRT	Depressão Resistente ao Tratamento (do inglês, <i>Treatment-resistant Depression</i> )
ECT	Eletroconvulsoterapia
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GPH-Px	Glutathione peroxidase
GPH-R	Glutathione reductase
HOBr	Ácido hipobromoso
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
iMAOs	Inibidores da Monoaminoxidase
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDO	Enzima indolamina-2,3-dioxigenase (do inglês, <i>Indoleamine 2,3-dioxygenase</i> )
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-17	Interleucina 17
IFN- $\gamma$	Interferon gama
ISRS	Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina

MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno (do inglês, <i>Mitogen-activated Protein Kinase</i> )
MDA	Malondialdeído
MAO	Monoaminoxidase
NA	Noradrenalina
NICE	Instituto Nacional de saúde e excelência clínica (do inglês <i>National Institute for Health and Clinical Excellence</i> )
RT	Resistentes ao Tratamento
TLCE	Teste do Labirinto em Cruz Elevado
TCA	Teste do Campo Aberto
TNF	Teste do Nado Forçado
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral Alfa (do inglês, <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> )
TSC	Teste de Suspensão da Cauda
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido Dismutase

## SUMÁRIO

<b>1 APRESENTAÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
3.1 DEPRESSÃO MAIOR (DM) .....	16
3.2 FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO MAIOR (DM) .....	19
3.3 DEPRESSÃO E O ESTRESSE OXIDATIVO .....	21
3.4 DEPRESSÃO E A NEUROINFLAMAÇÃO .....	23
3.5 DEPRESSÃO RESISTENTE AO TRATAMENTO (DRT) .....	26
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
4.1 OBJETIVO GERAL .....	29
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>5 PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA</b> .....	<b>30</b>
5.1 ARTIGO CIENTÍFICO .....	30
<b>4. DISCUSSÃO GERAL</b> .....	<b>71</b>
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	<b>73</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>74</b>
<b>ANEXO</b> .....	<b>88</b>

## 1 APRESENTAÇÃO

Os resultados que fazem parte dessa dissertação estão apresentados sob a forma de artigo científico, sendo que este se encontra no item **ARTIGO CIENTÍFICO**. As seções Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências encontram-se no próprio artigo e representam a íntegra desse estudo. No item **DISCUSSÃO GERAL** está apresentada uma retomada geral dos resultados obtidos neste trabalho. A seção **REFERÊNCIAS** compreende somente as citações presentes nos itens **INTRODUÇÃO, REVISÃO DE LITERATURA** e **DISCUSSÃO GERAL** dessa dissertação.

## 2 INTRODUÇÃO

A depressão maior (DM) é um dos transtornos mentais mais incapacitantes do mundo (OMS, 2020). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), esse transtorno de humor acomete cerca de 300 milhões de pessoas ao redor do mundo (WHO, 2018) e está diretamente relacionado à baixa qualidade de vida, prejuízo social, laboral e econômico. Os sintomas causados pela DM são heterogêneos e dentre eles pode-se observar sintomas de cunho emocional como o humor deprimido, baixa autoestima e anedonia; como também sintomas que resultam em alterações físicas como fadiga, cansaço fácil e constante, distúrbios do sono (insônia terminal ou hipersonia), dentre outros (WHO, 2012).

A fisiopatologia da DM não está completamente elucidada e diferentes mecanismos são propostos na tentativa de esclarecê-la. Uma possível redução na disponibilidade de monoaminas cerebrais, alterações funcionais em estruturas cerebrais e redução da neurogênese e dos níveis de neurotrofinas já foram sugeridas (DUMAN, 2002; DUSI et al. 2015; CASTRÉN e KOJIMA, 2017). Além disso, os processos inflamatórios e oxidativos também parecem desempenhar papel importante no desenvolvimento da DM. Nesse contexto, foi demonstrado que pacientes com depressão apresentam maiores níveis de citocinas inflamatórias, bem como um desequilíbrio entre o sistema antioxidante e a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (DOWLATI et al. 2010; KLINEDIST e REGENOLD, 2015).

Apesar dos avanços no estudo da fisiopatologia da DM, nenhum dos mecanismos até hoje propostos conseguem explicá-la em sua totalidade (MALHI e MANN, 2018). Entretanto, o estresse já foi identificado como um fator comum à quase todos eles, podendo atingir os mais diversos sistemas do organismo, incluindo o sistema nervoso central (SNC), imunológico e endócrino (ANISMAN e MATHESON, 2005). Assim, a maioria dos modelos de sintomas tipo-depressivos em animais são baseados na exposição a uma variedade de agentes estressores. A administração crônica de corticosterona (ACC), principal hormônio glicocorticoide dos roedores, consiste em um modelo amplamente utilizado para indução do comportamento tipo-depressivo (DAVID et al. 2009; RAINER et al. 2012).

Além da DM demonstrar uma prevalência de proporções epidêmicas, outro fator preocupante é a refratariedade ao tratamento. Cerca de um terço dos pacientes não atinge a remissão dos sintomas, sendo portadores da depressão resistente ao tratamento (DRT) e considerados pacientes refratários ou não responsivos (KRISHNAN e NESTLER, 2008; BSCHOR, 2012). Os mecanismos que impedem os pacientes não responsivos de alcançarem a remissão através dos fármacos disponíveis não são conhecidos. Tem sido reportado o papel do

processo inflamatório e oxidativo na DRT (O'BRIEN et al. 2021). Já foi sugerido que a desregulação imunológica não esteja presente em todos os pacientes deprimidos, mas apenas em subpopulações específicas (CARVALHO et al. 2013). Além disso, foi demonstrado que os pacientes com DRT apresentaram níveis de cortisol aumentados em relação aos pacientes com DM responsivos ao tratamento (PEREIRA et al. 2010). Esses achados tornam possível a hipótese que mecanismos oxidativos e inflamatórios podem desempenhar um papel na não responsividade ao tratamento antidepressivo. Contudo, é de extrema importância a investigação dos mecanismos subjacentes a uma resposta inadequada a terapia antidepressiva, uma vez que o número de pacientes que apresentam DRT é significativamente elevado.

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 DEPRESSÃO MAIOR (DM)**

A DM é um transtorno de humor comum e frequente tanto na população mundial como na população brasileira (OMS, 2018). Segundo a OMS, esse distúrbio atinge mais de 300 milhões de pessoas ao redor do mundo (WHO, 2018). Isso equivale à cerca de 6% da população mundial. Dentre os países da América Latina, o Brasil lidera o número de casos de depressão, sendo 5,8% da população acometida pelo transtorno, representando cerca de 11,5 milhões de brasileiros (WHO, 2015). Ainda se estima que 15,5% dos brasileiros sofrerão pelo menos um episódio depressivo ao longo da vida (OMS, 2015).

A DM além de estar diretamente relacionada com redução da qualidade de vida, incapacidade e prejuízos laborais, sociais e econômicos, também influencia no aumento da taxa de suicídio, uma vez que a depressão corresponde a um dos transtornos mentais com maior risco de suicídio (CHESNEY et al. 2014). Estima-se que mais de 50% dos 800.000 casos de suicídios relatados por ano em todo o mundo ocorram durante um episódio depressivo (WHO, 2016). O Brasil ocupa a oitava posição no ranking mundial quanto à ocorrência de suicídios (WHO, 2012).

As mulheres são duas vezes mais acometidas que os homens (20% das mulheres, 12% dos homens) pela DM (SEEDAT et al. 2009). Em 2019 uma pesquisa realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) demonstrou que dentre 11,8 milhões de estudantes de 13 a 17 anos entrevistados, a autopercepção de saúde mental negativa foi bem maior entre as meninas (27%) que entre os meninos (8%). Considerando ambos os sexos, a idade média de



início do transtorno depressivo maior é de 25 anos e o pico de risco para o seu desenvolvimento varia entre o final da adolescência e o início dos 40 anos (BROMET et al. 2011).

Tradicionalmente, a depressão é definida como um transtorno afetivo complexo e heterogêneo caracterizado por prejuízo afetivo, cognitivo e fisiológico (ATHIRA et al. 2018). Os indivíduos acometidos pelo transtorno podem apresentar diferentes sintomas que abrangem humor deprimido, anedonia, insônia ou hipersonia, perda ou ganho de peso significativo, sentimento de culpa e/ou inutilidade, assim como pensamentos recorrentes de morte e ideação ou tentativa suicida (KESSLER et al. 2003; CHIU et al. 2015; BAI et al. 2018). Com característica multifatorial, a DM pode estar relacionada tanto com fatores genéticos quanto ambientais. Estudos com gêmeos sugerem que 40% da suscetibilidade ao transtorno é composta por fatores genéticos, demonstrando a importância e relevância da influência ambiental (RICE et al. 2002; VIKTORIN et al. 2016). Isso, somado à heterogeneidade de sintomas que podem ser observados, dificulta o diagnóstico do transtorno depressivo, o qual é exclusivamente clínico (BOAS et al. 2019).

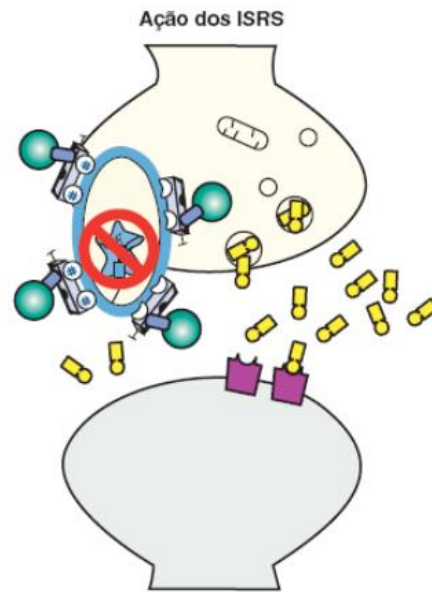
Segundo a quinta edição do Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), a depressão pode ser subdividida em DM, distímia, depressão sazonal e transtorno disfórico pré-menstrual, sendo que todos eles têm em comum a presença do humor triste, vazio ou irritável. Para um indivíduo ser diagnosticado com DM ele precisa apresentar durante um período de pelo menos 2 semanas, 5 sintomas depressivos, sendo que obrigatoriamente um dos sintomas seja humor deprimido ou perda de interesse ou prazer. Dentre os outros sintomas avaliados estão: perda ou ganho significativo de peso sem estar fazendo dieta, insônia ou hipersonia quase todos os dias, agitação ou retardo psicomotor diário e observáveis por outras pessoas do convívio, fadiga ou perda de energia quase todos os dias, sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inapropriada, capacidade diminuída para pensar ou se concentrar ou indecisão quase todos os dias e pensamentos recorrentes de morte, ideação suicida recorrente sem um plano específico, uma tentativa de suicídio ou plano específico para cometer suicídio (LIU et al., 2015; GAFFEY et al. 2016; DAVIES et al. 2019; LIEBERMAN et al. 2021).

Nas últimas décadas, a psicofarmacologia se consolidou na busca e produção de diferentes classes de agentes terapêuticos úteis no tratamento de diversos transtornos psiquiátricos como psicose, ansiedade e DM (JACOBSEN et al. 2012). Em 1950 surgiu a primeira classe terapêutica antidepressiva, os inibidores da monoamina oxidase (iMAO), que através da inibição da enzima monoamina-oxidase (MAO) diminuem a degradação das monoaminas noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e dopamina (DA) (ZELLER, 1955). Mas passaram a ser implementados na clínica só a partir de 1958 (KLINE, 1958). Paralelo a esses

achados, surgiu a classe dos tricíclicos, sendo a imipramina a primeira pertencente da classe a entrar na prática clínica (POGGIAL, 1960). Os agentes tricíclicos inibem a recaptação de NA e 5-HT da fenda sináptica, aumentando assim a disponibilidade destes neurotransmissores para a ligação com os seus receptores por mais tempo (LÓPEZ-MUÑOZ e ALAMO, 2009; WIMBISCUS et al. 2010). Na década de 1970 surgiram os inibidores seletivos da receptação de serotonina (ISRS) (WONG et al. 2005; JACOBSEN et al. 2012). Estes fármacos são amplamente utilizados na prática clínica atual e agem inibindo a receptação de 5-HT na fenda sináptica, prolongando a ação deste neurotransmissor com receptores específicos. Aproximadamente em 1988 surgiu a fluoxetina, que se tornou um dos ISRS mais conhecidos até hoje e que marcou o início de uma nova era no tratamento da depressão com efeitos adversos mais amenos (LIEBERMAN, 2003).

Nos últimos 60 anos, os fármacos que aumentam a disponibilidade de monoaminas na fenda sináptica têm sido utilizados no tratamento da DM (Figura 1), porém esses medicamentos possuem diversas limitações (THASE, 2003). Tais fármacos apresentam efeitos tardios, sendo necessário em torno de três a quatro semanas para que seja observada uma melhora parcial ou remissão dos sintomas em pacientes depressivos (JACOBS et al. 2000; BERTON E NESTLER, 2006). Além do mais, eles também apresentam alguns efeitos adversos como: sedação, alterações de peso, indigestão, disfunção sexual e alteração da pressão sanguínea, muitas vezes dificultando a adesão do paciente ao tratamento (KELLER et al., 2002).

Figura 1. Ação dos ISRS na fenda sináptica.



**Figura 7.12 Ação dos ISRS.** Nesta figura, a parte inibidora da recaptação de serotonina (IRS) da molécula do ISRS é mostrada inserida na bomba de recaptação de serotonina (o transportador de serotonina), bloqueando-o e causando o efeito antidepressivo.

Fonte: Psicofarmacologia - Bases Neurocientíficas e Aplicações Práticas – STAHL.

### 3.2 FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO MAIOR (DM)

Diversas hipóteses tentam explicar a fisiopatologia da DM, porém nenhuma ainda foi capaz de esclarecê-la em sua totalidade. Entender os mecanismos ativos nessa patologia é de grande importância na busca de novos alvos terapêuticos e pode ser a chave para a compreensão e tratamento da DM, bem como na DRT. A hipótese monoaminérgica foi uma das primeiras a ser predominantemente aceita. Surgiu na década de 1960 a partir da observação clínica de resposta a fármacos como a reserpina e a imipramina. Foi sugerido que a depressão era causada por uma deficiência absoluta ou relativa de monoaminas (SCHILDKRAUT, 1965), uma vez que a reserpina é um agente que promove a depleção das reservas de monoaminas e está associada a sintomas depressivos (GARDNER e BOOLES, 2011). Por outro lado, a imipramina que inibe a recaptação da NA cerebral era capaz de reverter os efeitos depressivos induzidos pela reserpina em roedores (HERTING et al.1961). Assim, assumiu-se que a DM está relacionada a um déficit de monoaminas na fenda sináptica e que o restabelecimento desses níveis é capaz de melhorar os sintomas depressivos (HIRSCHFELD, 2000). O papel de outros

neurotransmissores, como a DA no SNC, reforçaram a ideia mais tarde (LAPIN e OXENKUG, 1969). Apesar de até hoje essa hipótese fundamentar o uso dos antidepressivos disponíveis atuais, acredita-se que ela tenha muitas limitações. Afinal, antidepressivos elevam imediatamente os níveis de monoaminas na fenda sináptica e sabe-se que apenas depois de semanas é possível observar os seus efeitos terapêuticos. Ademais a depleção de monoaminas endógenas não é capaz de produzir alteração de humor em indivíduos saudáveis, apenas em pacientes com depressão (RUHÉ et al. 2007). Esses dados sugerem que os antidepressivos atuais também ajam através de outras vias.

A hipótese neuroendócrina também amplamente aceita consiste na possível explicação da DM através de um desequilíbrio no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). O eixo HPA consiste no principal sistema de resposta ao estresse, conectando órgãos periféricos ao SNC (CHROUSOS e GOLD, 1992). Diferentes estressores são capazes de ativar este eixo, estimulando o núcleo paraventricular do hipotálamo a secretar o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), liberando-o na glândula pituitária (ou hipófise). Lá, o CRH estimula a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que por sua vez ativa a secreção adrenocortical de glicocorticoides, o cortisol, em humanos, e a corticosterona, em roedores (KATO et al. 2013; BOAS et al., 2019). A desregulação deste eixo já foi relacionada à uma variedade de distúrbios psiquiátricos, incluindo a depressão, uma vez que o estresse crônico é capaz de induzir a hiperativação do mesmo (ROY et al. 1988). Com isso, há um aumento na liberação de glicocorticoides com prejuízo na retroalimentação negativa (*feedback* negativo) exercida por estes hormônios, incitando a constante secreção e perpetuando os níveis elevados dos mesmos (GAFFEY et al. 2016). Hinkelmann e colaboradores (2009) demonstraram a presença de atividade exacerbada do eixo HPA em pacientes com DM. Nestes indivíduos, foram observadas anormalidades como aumento no tamanho das glândulas pituitária e adrenal, além de hipercortisolismo e alterações cognitivas. Ainda, pacientes com depressão já demonstraram níveis aumentados de CRH no líquido cefalorraquidiano bem como secreção aumentada de ACTH, hormônio que já foi testado em ratos e induziu comportamento tipo-depressivo (NEMEROFF et al. 1984; CARROLL et al. 2007; TOKITA et al. 2012).

A redução de uma importante neurotrofina no SNC, o Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo (BDNF), é base da hipótese neurotrófica. As neurotrofinas são importantes para a sobrevivência neuronal, uma vez que são responsáveis pela regulação, diferenciação, modulação da plasticidade na transmissão sináptica (DUMAN et al. 2012). O estresse é capaz de reduzir consideravelmente a expressão de BDNF. Esta redução está relacionada com atrofia em determinadas regiões cerebrais relevantes na DM, como o hipocampo e córtex pré-frontal

(KAREGE et al. 2005). Em modelos animais foi possível observar que o estresse reduziu a expressão de BDNF no hipocampo e também induziu atrofia hipocampal, sendo posteriormente demonstrado em estudos de neuroimagem que hipocampo apresentava volume diminuído em pacientes com depressão (DUMAN, 1997). Ademais, sabe-se que além do estresse, concentrações elevadas de citocinas inflamatórias, bem como sua ativação prolongada no SNC também podem resultar em uma diminuição dos níveis e da síntese de neurotrofinas, resultando em diminuição da neurogênese e maior ativação da via glutamatérgica (MARQUES et al. 2007). Ainda, sugere-se que uma regulação negativa de BDNF também está relacionada com um aumento dos níveis de glicocorticoides na fisiopatologia da depressão (GULYAEVA et al. 2017). Além do mais, alterações na via do BDNF vem sendo relacionadas com estresse na infância e a sintomas de depressão na vida adulta (JIANG et al. 2017).

Ultimamente têm sido amplamente investigado se o processo inflamatório desempenha papel na depressão. A hipótese inflamatória sugere que sintomas depressivos sejam experimentados a partir de uma superativação microglial crônica (ROSENBLAT et al. 2014) que leva ao aumento da secreção de citocinas, neurotoxinas, radicais livres, quimiocinas e proteínases (VENNETI et al. 2013) que podem causar disfunção neuronal e agravar patologias subjacentes (VENNETI et al. 2006). Tem sido demonstrado que mediadores inflamatórios, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 (IL-1), podem contribuir para a neuroinflamação, além de suprimir a neurogênese no SNC (BLUME et al. 2011). Chiu e colaboradores (2017) demonstraram que pacientes com hepatite C em tratamento com interferon- $\gamma$  apresentam alta prevalência e recorrência de DM, corroborando com a hipótese que envolve a inflamação. Outro dado que sustenta essa hipótese é a presença de níveis plasmáticos aumentados de citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ) em pacientes depressivos de ambos os sexos. Dahl e colaboradores (2014) demonstraram que tal alteração foi contornada após 12 semanas de terapia antidepressiva, quando esses níveis se tornaram semelhantes aos do grupo controle. Além disso, algumas citocinas, principalmente a IL-1, podem estar relacionadas com a ativação do eixo HPA bem como com a geração de radicais livres (LEE et al. 2002). Portanto, a microglia ativada e a secreção de citocinas podem ser um fator importante para o desenvolvimento do transtorno depressivo (ROSENBLAT et al. 2014).

### 3.3 DEPRESSÃO E ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo também é sugerido como participante no transtorno depressivo (MICHEL et al. 2012). O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a

formação de radicais livres e o complexo antioxidante do organismo (VALKO et al. 2007). Em baixas concentrações, essas espécies reativas desempenham um importante papel fisiológico, através da sua participação em respostas celulares e na sinalização celular (VALKO et al., 2006). Porém, quando o equilíbrio não é mantido, o resultado acarreta prejuízo dos mecanismos celulares normais, podendo comprometer a viabilidade celular (KOSKENKORVA-FRANK et al. 2013). Os mais abundantes radicais livres existentes são representados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), incluindo: radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), peróxil ( $ROO^{\bullet}$ ), alcóxil ( $RO^{\bullet}$ ), hidroperoxil ( $HO_2$ ), radical óxido nítrico ( $ON^{\bullet}$ ) e dióxido de nitrogênio ( $NOO_2^{\bullet}$ ). Além dessas, existem também espécies reativas não radicalares, como o  $H_2O_2$ , ácido hipobromoso (HOBr) e peroxinitrito ( $ONOO^{\bullet}$ ) (PHAM-HUY et al. 2008). Os agentes antioxidantes são substâncias capazes de promover a regeneração do substrato oxidável ou até mesmo evitar de forma significativa a sua oxidação, dividindo-se entre os enzimáticos e não enzimáticos, sendo os primeiros representados pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPH-Px), glutatona redutase (GPH-R). Já os não enzimáticos incluem a glutatona reduzida (GSH), alfa-tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), carotenoides, flavonoides e o ácido lipóico (PISOSCHI; POP, 2015; MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA; WITKOWSKA; ZUJKO, 2018).

Quando ocorre o escape de elétrons da cadeia transportadora associado a moléculas de oxigênio, se dá a formação de EROs. Essas espécies, por sua vez, atacam a mitocôndria, organela essencial para o metabolismo celular neuronal, levando a danos irreparáveis ao SNC (PATEL, 2016). Os principais alvos das EROs são DNA, lipídeos, proteínas e açúcares (BHAT et al., 2015). Várias doenças relacionadas ao SNC estão associadas ao dano ocasionado pelo estresse oxidativo e apresentam esse componente como um dos fatores etiológicos (PATEL, 2016). Doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas, como a depressão, estão associadas a uma produção exacerbada de produtos oxidativos (DIAS; JUNN; MOURADIAN, 2013; KIM et al. 2015; NG et al. 2008; WU; XU; SONG, 2014).

O cérebro apresenta certa vulnerabilidade ao estresse oxidativo por ser um órgão com metabolismo ativo constante, além do alto consumo de oxigênio e adenosina trifosfato (ATP) e das EROs e outros oxidantes gerados a partir do metabolismo dos aminoácidos excitatórios e de neurotransmissores (SALIM, 2016). Alterações na função mitocondrial e o próprio processo inflamatório induzem um aumento da geração de EROs e ERNs, as quais afetam diferentes mecanismos de sinalização celular, podendo contribuir para desenvolvimento da DM (KLINEDINST e REGENOLD, 2015). Estudos sugerem a existência de um desequilíbrio

característico entre a produção e neutralização de EROs em pacientes depressivos (WIGNER et al. 2017). Esta condição é exemplificada pela observação do aumento sérico de marcadores do estresse oxidativo como óxido nítrico (ON) e malondialdeído (MDA) na depressão (MAES et al. 2013). Achados a partir de estudos clínicos confirmam esse relatado desequilíbrio ao mostrar que pacientes com depressão apresentaram altos níveis de  $H_2O_2$  no plasma durante a fase aguda da doença (LINDQVIST et al., 2017; LIU et al., 2015; MAES et al., 2009). No entanto, os mecanismos subjacentes à geração dos processos oxidativos na DM, ainda não estão totalmente esclarecidos, nem os questionamentos sobre a sua possível interferência na refratariedade terapêutica antidepressiva na DRT.

### 3.4 DEPRESSÃO E NEUROINFLAMAÇÃO

Estudos têm evidenciado que há ativação de respostas imunoinflamatórias na DM, pois pacientes depressivos exibem aumento no número de leucócitos periféricos, elevação na concentração plasmática de proteínas de fase aguda (proteína C reativa) e um aumento nos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias tais como a IL-6, IL-1, IL-2 e o TNF- $\alpha$  (ABELAIRA et al. 2014; MILLER et al. 2016). As citocinas são glicoproteínas de baixo peso molecular que participam na sinalização celular entre o sistema imune, o sistema nervoso e o sistema endócrino (KHAIVORA et al. 2009). São secretadas principalmente a partir de monócitos, macrófagos ou linfócitos, bem como no encéfalo por neurônios, células endoteliais, astrócitos e principalmente micróglia, atuando como neuromoduladores, mediando aspectos neuroquímicos, neuroendócrinos e inclusive comportamentais (FELGER et al. 2013).

As citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  estão implicadas no desenvolvimento neuronal, na sinaptogênese, no reparo tecidual, além de promoverem necrose neuronal após lesões cerebrais traumáticas (JEON et al. 2016). Durante o processo inflamatório crônico, geralmente seus níveis encontram-se aumentado, ao contrário das citocinas anti-inflamatórias que ficam diminuídas. As consequências desta desregulação podem estar associadas aos transtornos psiquiátricos, incluindo os transtornos de humor, de ansiedade e a esquizofrenia (FELGER et al. 2014).

Em 1991 foi proposto pelo pesquisador Smith que as citocinas desempenhavam um papel da DM. Posteriormente, com base na observação de pacientes com diagnóstico de depressão clínica grave, foi demonstrado que eles apresentavam aumento das concentrações sanguíneas de biomarcadores inflamatórios (ex.: citocinas pró-inflamatórias IL-1; IL-6, TNF- $\alpha$ ), propondo assim que a depressão poderia estar associada a uma resposta de fase aguda, ou

seja, a um aumento na atividade inflamatória local ou sistêmica (DANTZER et al. 2008). Maes e colaboradores (1995) descreveram que a IL-6 estava aumentada no soro de pacientes com depressão e observaram também que 45% dos pacientes tratados terapêuticamente com IFN- $\alpha$  desenvolveram sintomas depressivos que terminaram quando essas citocinas foram normalizadas. Outro estudo mostrou que a exposição a longo prazo à terapia com IFN- $\alpha$  para tratamento de doenças infecciosas ou câncer conduziu entre 20% a 50% dos pacientes a desenvolver depressão clinicamente significativa (VISMARI et al. 2008). Em um estudo clínico realizado por Duman e colaboradores (2016) notou-se que a inibição de TNF- $\alpha$  em pacientes com psoríase reduziu os sintomas depressivos. Outro ensaio conduzido por Raison e colaboradores (2013) observou-se que somente pacientes depressivos com proteína C reativa elevada, apresentaram uma resposta antidepressiva ao infliximab, um antagonista de TNF- $\alpha$ .

Já em modelos animais, percebeu-se que o desequilíbrio sobre os níveis de citocinas gera um estado inflamado que promove comportamento semelhante ao observado na depressão, denominado em inglês de “*sickness behavior*”. Comim e colaboradores (2010) mostraram que após 14 dias da indução de sepse por ligação e perfuração cecal, os animais apresentaram parâmetros relacionados a depressão caracterizados por comportamento anedônico, elevação dos níveis de corticosterona e de ACTH, aumento do volume da glândula adrenal, diminuição do volume do hipocampo e uma diminuição dos níveis BDNF. Neste contexto, a hipótese das citocinas sugere que a vulnerabilidade genética (FLINT et al. 2014), doenças como câncer e diabetes (WILKOWSKA et al. 2015; BADESCU et al. 2016) doenças autoimunes (UGUZ et al. 2009), eventos estressantes no decorrer da vida (CATTANEO et al. 2015), infecções virais, bacterianas e parasitárias (RAWDIN et al. 2013) podem estar relacionados ao desencadeamento da depressão através da ativação do sistema imune.

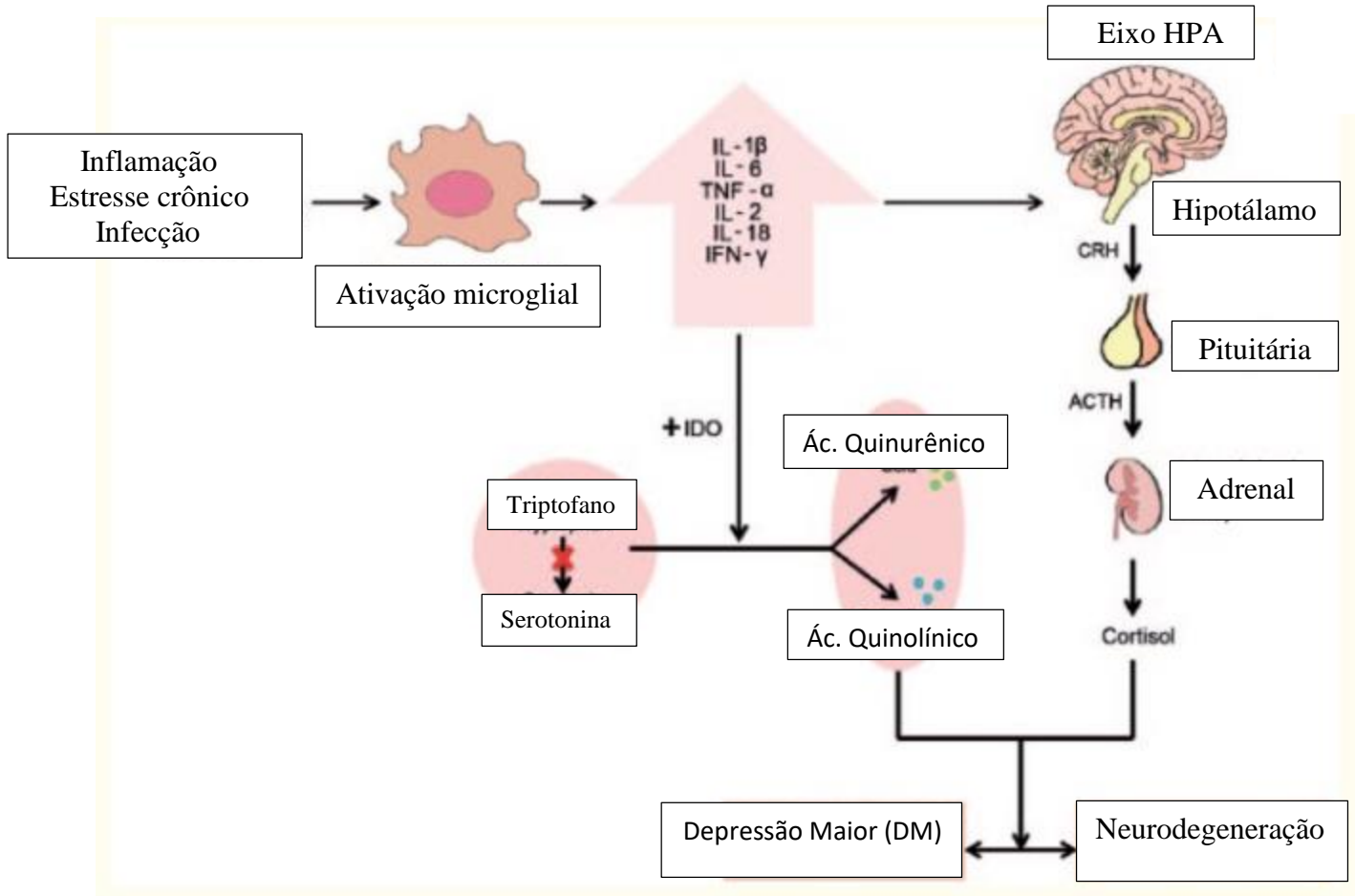
Sabe-se que receptores de citocinas estão localizados tanto no sistema imunológico periférico como em outros tecidos, como no SNC (DANTZER et al. 2008). As citocinas produzidas no sistema imune periférico podem adentrar o encéfalo por diferentes vias: a humoral, que envolve a passagem através de regiões onde a barreira hematoencefálica (BHE) está menos restritiva; a neural, que envolve a ligação de citocinas a fibras nervosas aferentes periféricas, como o nervo vago, estimulando fibras catecolaminérgicas ascendentes no cérebro (DANTZER et al. 2008); e a celular, que envolve o tráfico de células imunes ativadas pela vasculatura encefálica (D’MELLO et al. 2009). No encéfalo, células neuronais e microgliais ativadas liberam citocinas pro-inflamatórias (JEON et al. 2016), dando início à neuroinflamação. As estruturas encefálicas que são afetadas pelas citocinas incluem o hipocampo, o córtex pré-frontal e o hipotálamo, que estão associadas a processos biológicos



que fundamentam alterações psicológicas (CAMPBELL et al. 2004). As citocinas inflamatórias podem interagir com diversas vias envolvidas no desenvolvimento da depressão, incluindo o metabolismo das monoaminas, a plasticidade sináptica, os neurocircuitos para a regulação do humor, a função neuroendócrina, transcrição de genes e alterações epigenéticas que podem contribuir para desequilíbrios a curto e a longo prazo das funções neuroquímicas e do comportamento neuronal (HAROON et al. 2012; DUMAN et al. 2016).

As citocinas são capazes de comprometer o metabolismo das monoaminas por diferentes mecanismos, sendo um deles pela capacidade de reduzir a disponibilidade de triptofano que é essencial na síntese de serotonina, através da sua implicação na estimulação de aminoácidos que competem com o triptofano pela recaptação (KRISHNAN et al. 2008). Um outro mecanismo proposto é o de que essas citocinas reduziriam a quantidade do triptofano disponível via ativação da enzima indolamina-2,3-dioxigenase (IDO) (BLUME et al. 2011). Essa enzima é responsável por converter o triptofano em quinurenina e ácido quinolínico, este último uma substância neurotóxica implicada em transtornos neurodegenerativos e cuja via resulta na produção de metabólitos neurotóxicos já observados em indivíduos depressivos (PITTENGER et al. 2008). O ácido quinolínico é também um agonista de receptores N-metil D-aspartato (NMDA) que prejudica o *feedback* negativo dos glicocorticoides e causa atrofia hipocampal e perda de receptores de glicocorticoides (HE et al. 2016). Com isso, indivíduos depressivos teriam um aumento nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, levando à ativação da enzima IDO com consequente redução na disponibilidade de serotonina e um aumento na liberação de glutamato no estriado e no córtex (MILER et al. 2013). Outra via sugerida que pode influenciar o metabolismo das monoaminas é a via de sinalização via proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), podendo aumentar a expressão do polimorfismo 5-HTTLPR, sendo essa a região promotora do gene SLC6A4 para o transportador da serotonina (SERT) (GOTLIB et al. 2008; VAN DER DOELEN et al. 2014). Além das monoaminas, o glutamato desempenha um papel crucial nos processos patológicos associados à depressão (HAN et al. 2017). O mediador inflamatório NO<sup>\*</sup>, aumenta a liberação de glutamato e diminui a expressão de transportadores de glutamato em astrócitos e oligodendrócitos, diminuindo assim a recaptação do glutamato e aumentando a concentração sináptica (GULYAEVA et al. 2017). A estimulação do receptor de glutamato NMDA não só causa danos excitotóxicos aos neurônios e aos astrócitos, mas também resulta em uma diminuição na síntese de BDNF (DUMAN et al. 2006). Entretanto, ainda existem lacunas na compreensão da participação do processo inflamatório na fisiopatologia da DM, consequentemente gerando especulações sobre a sua participação também na baixa responsividade dos pacientes depressivos resistentes.

Figura 2. Processo de neuroinflamação.



Fonte: KOPSCHINA FELTES et al. (2017) – Adaptado.

### 3.4 DEPRESSÃO RESISTENTE AO TRATAMENTO (DRT)

Apesar de haver uma ampla gama de fármacos disponíveis para o tratamento da DM, uma parcela considerável dos pacientes não se beneficia das terapias medicamentosas oferecidas. A presença da DRT além de gerar um elevado e mais prolongado prejuízo funcional, social e econômico, também aumenta as chances de recorrência, recaída e cronicidade, além das chances de suicídio e a necessidade de hospitalização dos pacientes quando comparado aos pacientes depressivos que apresentam resposta à medicação (BERLIM et al. 2015; DE SOUZA et al. 2018; LIEBERMAN et al. 2021).

Cerca de 50% dos pacientes diagnosticados com DM que iniciam o tratamento farmacológico não respondem à primeira medicação antidepressiva utilizada (THASE et. al.

2004). Além de que aproximadamente 30 a 50% dos pacientes não respondem a nenhum antidepressivo disponível na prática clínica (BSCHOR et al. 2012). É amplamente aceito que um paciente não apresenta resposta ao tratamento quando a melhora é inferior a 25% em uma escala de teste psicométrico, como, por exemplo, escala de avaliação de depressão de Hamilton. Já uma resposta parcial ao tratamento é considerada quando há melhora de 25-49% nas pontuações de avaliação. A boa resposta corresponde a uma melhora de pelo menos 50% nos escores de depressão, enquanto a remissão é um estado em que não há nenhum sintoma presente ou apenas sintomas mínimos (DE SOUZA et al. 2015). Contudo, a definição amplamente aceita pela comunidade científica de DRT é a falha em responder adequadamente a duas ou mais classes de tratamento antidepressivo (SOUERY et al. 2006; DAVIES et al. 2019).

A complexidade das diferenças individuais pode complicar ainda mais o processo de identificação de um tratamento adequado para esses pacientes. Atualmente não existe uma abordagem padrão para o tratamento de DRT. A orientação segundo a *American Psychiatric Association* (APA) (GELENBERG et al. 2010) e o *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE, 2009) sugere incluir o aumento da dose do medicamento antidepressivo ou a troca por outro antidepressivo (dentro da mesma ou uma classe farmacológica diferente) ou complementação com outro tratamento farmacológico ou ferramenta não farmacológica, incluindo a eletroconvulsoterapia (ECT).

A base subjacente à fisiopatologia que leva certos pacientes a se tornarem resistentes ao tratamento ainda é desconhecida, porém é de grande necessidade que estudos sejam realizados para compreender a sua natureza e possíveis causas (PILON et al. 2019). Para isso, foram criados e padronizados novos modelos animais, que mimetizam a DRT a fim de estudá-la de forma mais minuciosa. A maioria dos modelos animais que avaliam a eficácia antidepressiva após administração aguda, crônica ou subcrônica de antidepressivos tradicionais, usa-se de testes comportamentais populares como o teste de nado forçado (TNF) (PORSOLT et al., 1977) e o teste de suspensão da cauda (TSC) (STERU et al. 1985). Sendo o TSC menos estressantes para os animais (THIERRY ET AL., 1986) e mais “sensível” que o TNF, uma vez que doses menores de antidepressivos são necessárias para chegar ao mesmo resultado que no TNF (LIU e GERSHENFELD, 2001).

Estabelecer os animais resistentes ao tratamento no modelo experimental de DRT é um desafio. Atualmente modelos animais que avaliam a resistência antidepressiva têm usado três abordagens eficazes. Uma delas usa-se da separação de animais em subpopulações que respondem ou são resistentes ao tratamento de antidepressivos tradicionais. Para isso, os animais devem receber o tratamento após um agente estressor, como estresse leve crônico

(BERGSTRÖM et al. 2007) ou administração crônica de corticosterona (LEVINSTEIN e SAMUELS, 2011). Outra alternativa é utilizar tratamentos que induzem resistência a antidepressivos nos animais como, por exemplo, a administração de ACTH (KITAMURA et al. 2002). Também existem linhagens de camundongos geneticamente modificados que apresentam resistência ao tratamento antidepressivo (O'LEARY et al. 2013).

Nesse contexto, estudos começaram a se concentrar no desenvolvimento de hipóteses, ensaios clínicos e testes experimentais *in vivo* para compreender e elucidar os mecanismos envolvidos na resposta e na resistência aos antidepressivos. Alguns achados sugerem que mecanismos inflamatórios e oxidativos possam desempenhar um papel importante na resistência terapêutica. Chamberlain e colaboradores (2019) em um estudo clínico observaram níveis elevados de proteína C reativa em pacientes depressivos responsivos, quando comparados ao grupo controle. Níveis maiores desse marcador inflamatório foram encontrados em pacientes resistentes ao tratamento, mesmo quando comparados ao grupo responsivo, indicando que os pacientes resistentes possam apresentar um estado inflamado mais severo.

Além disso, estudos têm demonstrado que pacientes resistentes apresentam maiores níveis de citocinas pró-inflamatórias séricas como IL-6 e TNF- $\alpha$  que os pacientes responsivos (O'BRIEN et al. 2007). Também se salienta que os níveis desses biomarcadores podem ser preditores úteis da resposta ao tratamento, pois percebe-se que a supressão de citocinas pró-inflamatórias pode ser necessária para a recuperação clínica da depressão e que a redução da inflamação pode não ocorrer em pacientes deprimidos resistentes ao tratamento (ELLER et al. 2008). Estudos experimentais demonstraram que as citocinas pró-inflamatórias podem reduzir a disponibilidade extracelular de 5-HT (JANSSEN et al. 2010; LEDAY et al. 2018) e a redução dos níveis desse neurotransmissor estão relacionados com a DM. Além disso, as citocinas pró-inflamatórias podem ter efeito sobre o eixo HPA. Sabe-se que anormalidades nesse eixo podem desempenhar um papel fundamental na recorrência da depressão. Isso sugere que a origem da DRT pode se dar a partir de desregulações inflamatórias pois os sistemas imunológico e neuroendócrino atuam juntos para restaurar e manter a homeostase fisiológica durante a inflamação e outros estímulos prejudiciais (LAUMET, 2018).

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o envolvimento do processo inflamatório e oxidativo sobre a resistência ao tratamento com fluoxetina em camundongos submetidos ao protocolo de administração crônica de corticosterona (ACC).

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o comportamento induzido pela ACC em camundongos através de testes comportamentais (TSC, TNF, LCE, TCA);
- Estratificar dois subgrupos de animais tratados com fluoxetina (boa resposta ao antidepressivo - BRA e resistentes ao tratamento - RT) com base nos resultados do TSC;
- Verificar os níveis séricos de corticosterona nos grupos BRA e RT;
- Investigar alterações nas atividades enzimáticas de SOD, CAT, NADPH oxidase em estruturas cerebrais (córtex pré-frontal, hipocampo, estriado) dos animais dos grupos BRA e RT;
- Avaliar os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em estruturas cerebrais (córtex pré-frontal, hipocampo, estriado) dos animais dos grupos BRA e RT;
- Determinar os níveis séricos de citocinas inflamatórias (IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4 e IL-17).

## **5 PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA**

### **5.1 ARTIGO CIENTÍFICO**

O artigo intitulado “LOWER ANTIDEPRESSANT RESPONSE TO FLUOXETINE IS ASSOCIATED WITH ANXIETY-LIKE BEHAVIOR, HIPPOCAMPAL OXIDATIVE IMBALANCE, AND INCREASE ON PERIPHERAL IL-17 AND IFN- $\gamma$  LEVELS” foi submetido para o periódico *Brain Research Bulletin* (Qualis – B1, Ciências Biológicas II) e se encontra na situação de revisão.

LOWER ANTIDEPRESSANT RESPONSE TO FLUOXETINE IS ASSOCIATED WITH ANXIETY-LIKE BEHAVIOR, HIPPOCAMPAL OXIDATIVE IMBALANCE, AND INCREASE ON PERIPHERAL IL-17 AND IFN- $\gamma$  LEVELS

Brenda Moreira dos Santos<sup>a,b,¥</sup>, Gabriele Cheiran Pereira<sup>a,b,¥</sup>, Elisa Piton<sup>a</sup>, Maria Fernanda Pessano Fialho<sup>c</sup>, Gabriela Becker<sup>c</sup>, Marieli da Silva Carlotto<sup>a,b</sup>, Sara Marchesan Oliveira<sup>c</sup>, Gabriela Trevisan<sup>a,b</sup>, Eliane Maria Zanchet<sup>a,b</sup>, Micheli Mainardi Pillat<sup>b</sup>, Guilherme Vargas Bochi<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>*Center of Health Sciences, Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.*

<sup>b</sup>*Center of Health Sciences, Postgraduate Program in Pharmacology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.*

<sup>c</sup>*Center of Natural and Exact Sciences, Postgraduate Program in Biological Sciences: Biochemistry Toxicology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.*

¥ Both authors contributed equally to this manuscript.

\*Corresponding author: Guilherme Vargas Bochi, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima 1000, Prédio 21, Sala 5117, Camobi, 97105-900, Santa Maria-RS, Brazil, E-mail: guilherme.bochi@ufsm.br.

Declarations of interest: none.

## ABSTRACT

Major depression is a leading contributor to the global burden of disease. This situation is mainly related to the chronicity and/or recurrence of the disorder, and to poor response to antidepressant therapy. Limited efficacy with currently available antidepressant drugs highlights the need to develop more effective medications for treatment resistant patients and emphasizes the importance of developing better preclinical models that focus on treatment resistant populations. Treatment-resistant depression (TRD) is generally defined as a failure to respond to two or more courses of antidepressant treatment. In this study, we investigated the effect of fourteen days of treatment with fluoxetine on depressive-like behavior, and oxidative and inflammatory parameters, in mice submitted to chronic corticosterone administration. After 21 days of corticosterone administration (20 mg/Kg/day, subcutaneously, s.c.) and 14 days of fluoxetine treatment (10mg/Kg/day, orally, p.o., started on day 7 of induction protocol), we separated the antidepressant responders (good response to antidepressant, GRA) from non-responders (antidepressant resistant, AR) analyzing the results of tail suspension test (TST). We found that the animals classified as AR (i.e., those with higher immobility values in the TST) demonstrated anxiety-like behavior, increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels and decreased catalase activity in hippocampus, as well as increased levels of IL-17 and IFN- $\gamma$  in serum. Therefore, our findings suggest that a redox imbalance in the hippocampus, combined with increased levels of peripheral IL-17 and INF- $\gamma$ , may be involved in an impaired fluoxetine response.

**Keywords:** Treatment-resistant depression; Inflammation; Oxidative Stress.



## 1. INTRODUCTION

Major depressive disorder (MDD) is the most prevalent mood disorder in the world, affecting about 300 million people worldwide (WHO, 2020). This disorder is characterized by symptoms like depressed mood, anhedonia, sleep and appetite problems, recurring feelings of guilt and worthlessness and suicidal ideation (Kessler et al., 2003; American Psychiatric Association, 2013; Chiu et al., 2015; Bai et al., 2018). According to the fifth edition of Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5), to receive a diagnosis of MDD, a person must experience five or more depressive symptoms within the 2-week period (American Psychiatric Association, 2013). About 5% to 17% of the world population suffers from MDD at least once in their lives (WHO, 2020). Moreover, MDD was one of the most disabling diseases in the world in 2020, and in 10 years' time it is estimated to be the biggest cause of global disease burden overtaking cardiovascular diseases (WHO, 2020). In addition to the emotional and socioeconomic damage, there is a high rate of suicide among depressed individuals. This scenario demonstrates a great need for adequate treatments for MDD. Unfortunately, it is estimated that 30–50% of patients do not respond to treatment with antidepressants and only half of the patients achieve complete remission of symptoms (Rush et al., 2006; Bschor et al., 2012).

Treatment-resistant depression (TRD) is a subset of MDD which does not respond to traditional and first-line therapeutic options. There are several definitions and staging models of TRD and a consensus for each has not yet been established. However, in common for each model is the inadequate response to at least 2 trials of antidepressant pharmacotherapy (Souery et al., 2006; Murphy et al., 2017; Mahlich et al., 2018; Ng et al., 2019; Gaynes et al., 2020; Voineskos et al., 2020). Although there are some induction models of TRD, it is exceedingly difficult to mimic this situation in animal models. One of the options is the separation of animals into subpopulations that respond or non-respond to traditional antidepressant treatments, which is often used following a behavioral stressor (such chronic corticosterone administration) (Jayatissa et al., 2006; Samuels et al., 2011; Levinstein and Samuels, 2014). Fluoxetine is a widely used antidepressant, which has been thought to act by inhibiting 5-hydroxytryptamine (5-HT) reuptake in the central nervous system (CNS) (Cipriani et al., 2013). Some studies have also suggested that its immunomodulatory capacity may be involved in antidepressant-like effect in mice (Brunello et al., 2006; Sacre et al., 2010; Obuchowicz et al., 2014; Alboni et al., 2016; Bhat et al., 2017; Zhao et al., 2020; Zhao et al., 2018; Li et al., 2021).

There are some hypotheses to try to explain the pathophysiology of the MDD and the antidepressant treatment actions. However, the lack of responsiveness to conventional treatment with antidepressants and high rates of treatment resistance suggests that additional mechanisms might play a role in depression. The number of studies that link the immune system and oxidative stress with depressive-like behaviors indicates that these may be the keys to understand TRD (Song and Wang, 2011; Carvalho et al., 2014; Rosenblat et al., 2014; Gaynes et al., 2020). Oxidative stress is a complex process characterized by a persistent imbalance between free radical or nonradical molecules synthesis and their degradation by antioxidant mechanisms (Liu et al., 2015). Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) are molecules involved in the process that generate radicals like, for example, hydroxyl ( $\text{OH}^\cdot$ ) and superoxide anion ( $\text{O}_2^\cdot^-$ ), as well as non-radical species such as hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), nitric oxide (NO), and nitrogen dioxide ( $\text{NO}_2$ ) (Phaniendra et al., 2015). These species participate in cellular signaling and homeostasis. However, their overproduction can damage cellular components and compromise the functionality of many and cells including cells of the CNS and immune system (Salim, 2017).

Inflammatory factors play important roles in tissue repair and defense against pathogens. Stimuli like inflammation, increased levels of ROS, chronic stress and infection can trigger the microglia, the brain's immune cells, to release pro-inflammatory cytokines. The neuroinflammation may be involved in the development of MDD and neurodegeneration in different ways, activating the HPA axis and, generating an imbalance in the serotonergic and noradrenergic circuits (Maes et al., 2009; Anderson and Maes, 2014; Czarny et al., 2018; Gałeczki and Talarowska, 2018). Numerous studies have indicated that MDD is accompanied by elevated levels of inflammatory biomarkers, such as the pro-inflammatory cytokines interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-18, tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), and interferon-gamma (INF- $\gamma$ ) (Leonard and Maes, 2012; Haapakoski et al., 2015; Ng et al., 2019; Köhler et al., 2018; Carvalho et al., 2020; Osimo et al., 2020).

Thus, the aim of this study was to investigate whether these parameters related to MDD remain the same or different in serum and brain structures of 2 subpopulations of mice submitted to the chronic corticosterone administration and that responded adequately or not to fluoxetine treatment.

## 2. MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Animals

Swiss male mice (20–30 g; 6-8 week-old) were maintained at  $22 \pm 2$  ° C, under 12 h light-dark cycle and with free access to food and water. Firstly, the animals were submitted to a week of environmental adaptation. All experiments were performed according to the National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and approved by our Institutional Ethics Committee (Process number 7698200617/2017). The number of animals used in this study was the minimum necessary to demonstrate consistent effects and every effort was made to minimize their suffering.

### 2.2 Chemicals and reagents preparation

When unspecified, the reagents used were from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Corticosterone (Sigma-Aldrich Catalog Number C2505, Lot Number SLBT2966) was dissolved in hypotonic saline solution with 0.2% of Tween 80 and 0.2% of dimethyl sulfoxide (DMSO) at dose of 20 mg/Kg (solution concentration: 2 mg/mL) for the subcutaneous administration (s.c.) (Oliveira et al., 2017; KV et al., 2018; Parente et al., 2018). The vehicle used was a hypotonic saline solution containing 0.2% of Tween 80 and 0.2% of DMSO but without corticosterone. For the oral treatment, fluoxetine (Fluoxetina, Medley<sup>®</sup>) was diluted in hypotonic saline solution and administered orally (oral gavage, p.o.) at dose of 10 mg/Kg (Jiang et al., 2018).

### 2.3 Experimental design

Depressive-like behavior was induced by chronic corticosterone administration (20mg/kg s.c.) for 21 consecutive days. In the last 14 days of protocol, fifteen animals (n=15) received fluoxetine (10mg/kg, p.o.) once daily. Twenty-four hours after the last injection of corticosterone and fluoxetine treatment, behavioral tests were performed in the following order: open field test (OFT), Elevated Plus-Maze Test (EPMT), Tail Suspension Test (TST) and Forced Swimming Test (FST). In this behavioral evaluation, were obtained four groups:

Vehicle (VEH), Corticosterone (CORT), Good Response to Antidepressant (GRA) and Antidepressant Resistance (AR). The subdivision of animals that received fluoxetine in GRA or AR groups was based on the results of immobility time obtained in the TST. For this, we organized the values in a crescent manner and calculate the median. Immobility times above the median value were considered AR (longer immobility), while immobility times below the median value were considered GRA (lower immobility) (Figure 1A). According to this definition, the results of other behavioral tests were organized. At the end of the behavioral tasks, mice were anesthetized by isoflurane inhalation, blood was collected by cardiac puncture, and cerebral structures (prefrontal cortex, hippocampus, and striatum) were collected. Serum and tissues were stored frozen at -20°C until oxidative stress and inflammatory parameters analysis. The oxidative stress and inflammatory parameters analyses were performed only in groups GRA and AR.

## *2.4 Behavioral Tests*

### *2.4.1 Open field Test (OFT)*

The locomotor and exploratory activity of the animals was assessed through the OFT (Prut and Belzung, 2003). Each animal was placed in the center of an apparatus (60 cm x 60 cm) surrounded by walls 60 cm high, in which the floor is divided into 12 equal squares. For 5 minutes, the total number of crossings (assessment of locomotor activity) and rearings (assessment of exploratory capacity) were observed.

### *2.4.2 Tail Suspension Test (TST)*

The TST was carried out according to the method described by Steru et al., (1985) with minor modifications. In this test, each animal was suspended by the tail at the edge of a vertical surface positioned 60 cm high from the floor. The tail was fixed in the apparatus using an adhesive tape. The test lasted 6 minutes and the animal's immobility time was counted, in seconds, in the last 4 minutes of test, reserving the first 2 minutes for adaptation of the animal (Bai et al., 2018).

### 2.4.3 Forced Swimming Test (FST)

The FST was performed according to Porsolt, R.D., Pichon, M. Le., Jalfre, (1977). Each animal will be placed individually in a colorless cylindrical tank (45 cm high x 35 cm diameter) containing 40 cm of water at  $25 \pm 2$  °C and was forced to swim, without escape possibility. The immobility time of each animal was counted, in seconds, during the 6 minutes of the test. Immobility behavior was considered when the animal remained passively floating, reflecting a behavioral state of demotivation. Also was evaluated the fight response, in which mice tried to escape the apparatus with climbing movements.

### 2.4.4 Elevated Plus-Maze Test (EPMT)

EPMT was performed to verify the anxiety-like behavior and was carried out according to Anseloni and Brandão, (1997). The apparatus used in this test is elevated 50 cm from the floor and consists of two open arms and two closed arms, opposite each other, and a central platform. Animals were placed on the central platform and, during 5 minutes, the number of entries in the open and closed arms, as well as the time spent in each arm were evaluated. In addition, the immersions of the animal's head below the surface of the plus-maze (also called dives) were counted

## 2.5 *Biochemical assessments*

### 2.5.1 Serum Corticosterone

In order to check the circulating levels of corticosterone, the serum obtained after cardiac puncture and blood centrifugation (3000 xg at room temperature for 10 min) was evaluated. This analysis was performed using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kit (Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, USA), following the instructions in the manufacturer's manual.

### 2.5.2 Oxidative parameters

Oxidative parameters were evaluated in the brain structures (prefrontal cortex, hippocampus and striatum). The H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels were determined using the phenol red method (Trevisan et al., 2013). In addition, it was evaluated superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzyme activities, responsible for the formation and degradation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, respectively. Another enzyme investigated was NADPH oxidase, responsible for the formation of O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. SOD activity was assessed using method previously described by Misra and Fridovich (1972). Measurement of CAT activity was performed using technique described by Aebi (1984) and NADPH oxidase using a commercial kit, following the guidelines from the manufacturer (Cytochrome c Reductase - NADPH KIT - Sigma Aldrich, USA).

### 2.5.3 Inflammatory parameters

To investigate the participation of inflammatory parameters in antidepressant responses, the cytokines levels IL-2, IL-4, IL-17 and IFN- $\gamma$  were evaluated in serum by flow cytometry using a commercial kit, following the guidelines from the manufacturer (BD Cytometric Bead Array (CBA) Mouse Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit).

## 2.6. *Statistical analysis*

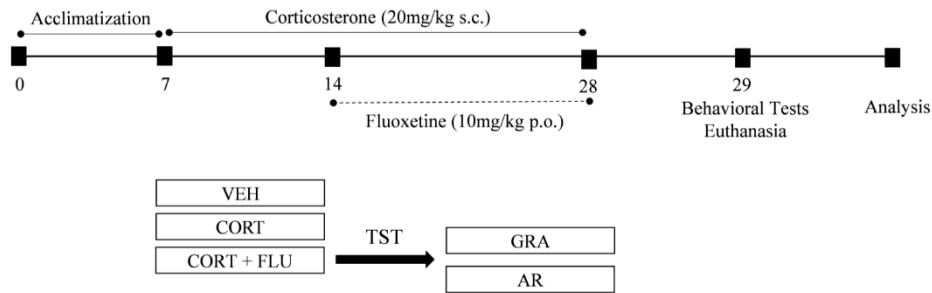
Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM) and were analyzed using Graph Pad Prism (version 8.0, San Diego, USA). Previously, the values were tested by the Kolmogorov-Smirnov normality test. Parametric data were analyzed by Student's *t* test or one-way analyses of variance (ANOVA) followed by the Tukey's post hoc test, when appropriated. Results with *p* values less than 0.05 (*p* < 0.05) were considered significant.

### 3. RESULTS

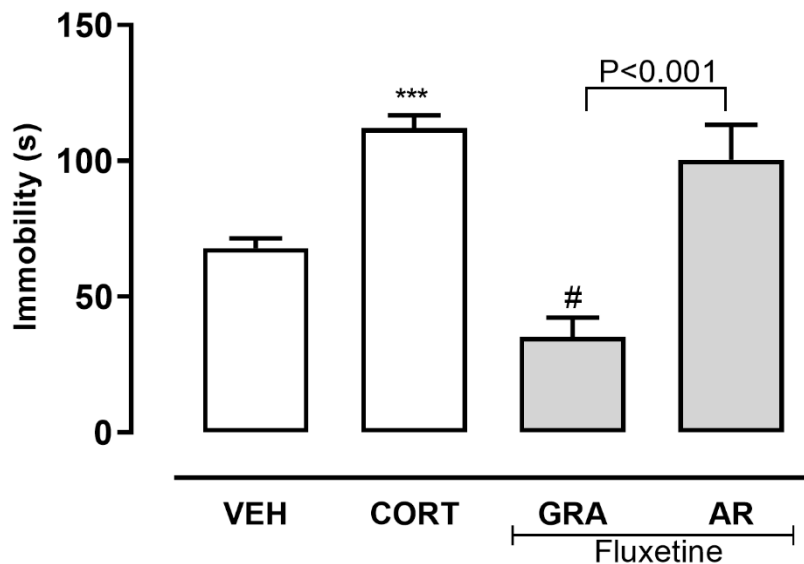
#### *3.1 Chronic corticosterone administration induced depressive- and anxiety-like behaviors in mice*

Firstly, we investigated the depressive-like behavior of the animals after the corticosterone administration protocol. In TST, one-way ANOVA indicated a significant difference between the groups ( $F_{3,31} = 24.5$ ,  $p < 0.0001$ ). We observed that the animals submitted to chronic corticosterone administration showed longer immobility time when compared with VEH group in the TST ( $112.1 \pm 4.6$  vs.  $67.9 \pm 3.6$ ,  $p < 0.001$ , respectively). The animals classified as GRA group had lower immobility values when compared with CORT group ( $35.2 \pm 7.0$  vs.  $112.1 \pm 4.6$ ,  $p < 0.0001$ , respectively). It was also demonstrated that GRA group present lower immobility time in TST than AR group ( $35.2 \pm 7.0$  vs.  $100.3 \pm 12.9$ ,  $p < 0.0001$ , respectively) (Figure 1B).

A



B

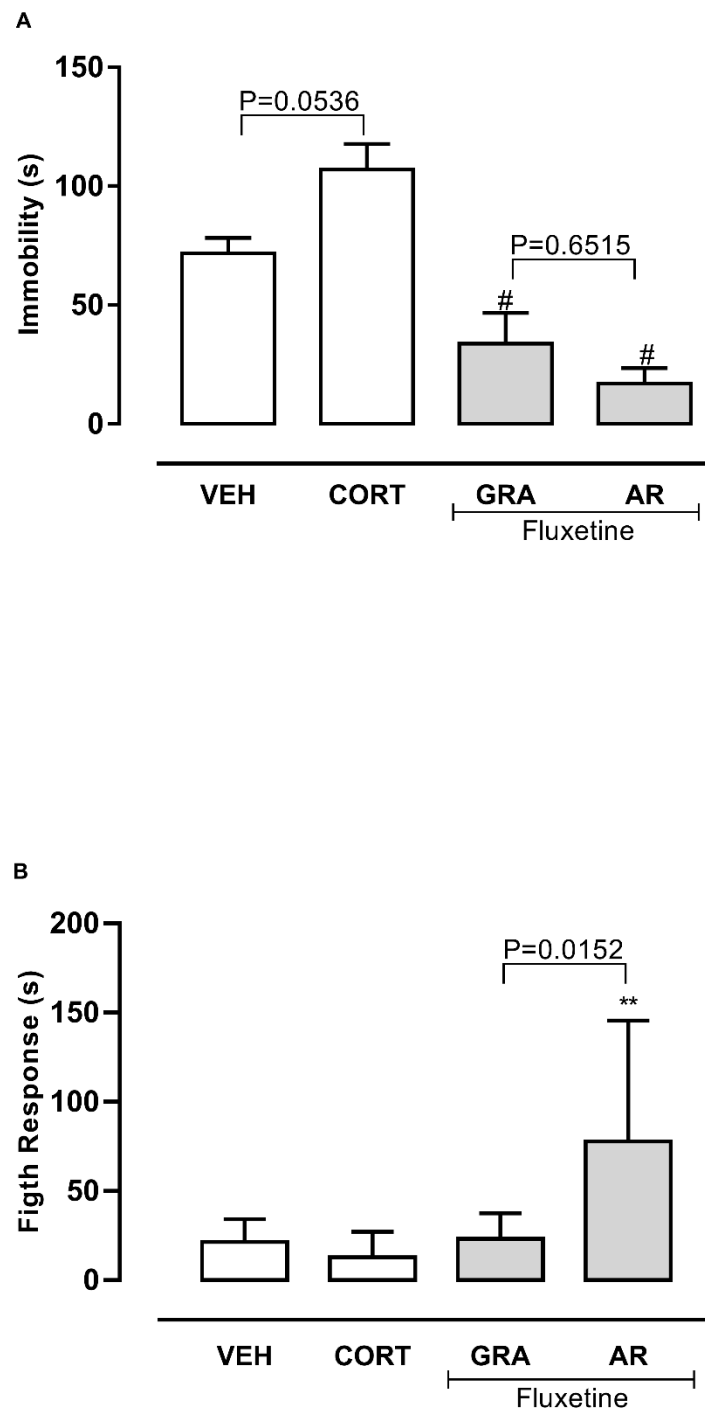


**Figure 1.** Experimental design and Tail Suspension Test (TST). A) Experimental schedule showing the depressive-like behavior induction protocol with chronic corticosterone administration (20 mg/Kg, s.c.) for 21 consecutive days. In the last 14 days of protocol, fifteen animals (n=15) received fluoxetine (10mg/Kg, p.o.) once daily. 24 hours after the last corticosterone and fluoxetine administrations, animals were submitted to behavioral analysis, followed by euthanasia. The subdivision of fluoxetine treated animals into GRA and AR was based on immobility time in the TST. B) Immobility time in the TST. \*\*\* P < 0.001 when compared to VEH group; # P < 0.05 when compared to CORT group. The difference between GRA and AR groups is shown with the P value above the indicative bar. The data obtained were evaluated using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test (n=7-10). VEH: animals that



received vehicle (s.c.) for 21 days. CORT: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days. GRA: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a good response to antidepressant. AR: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a poor response to antidepressant.

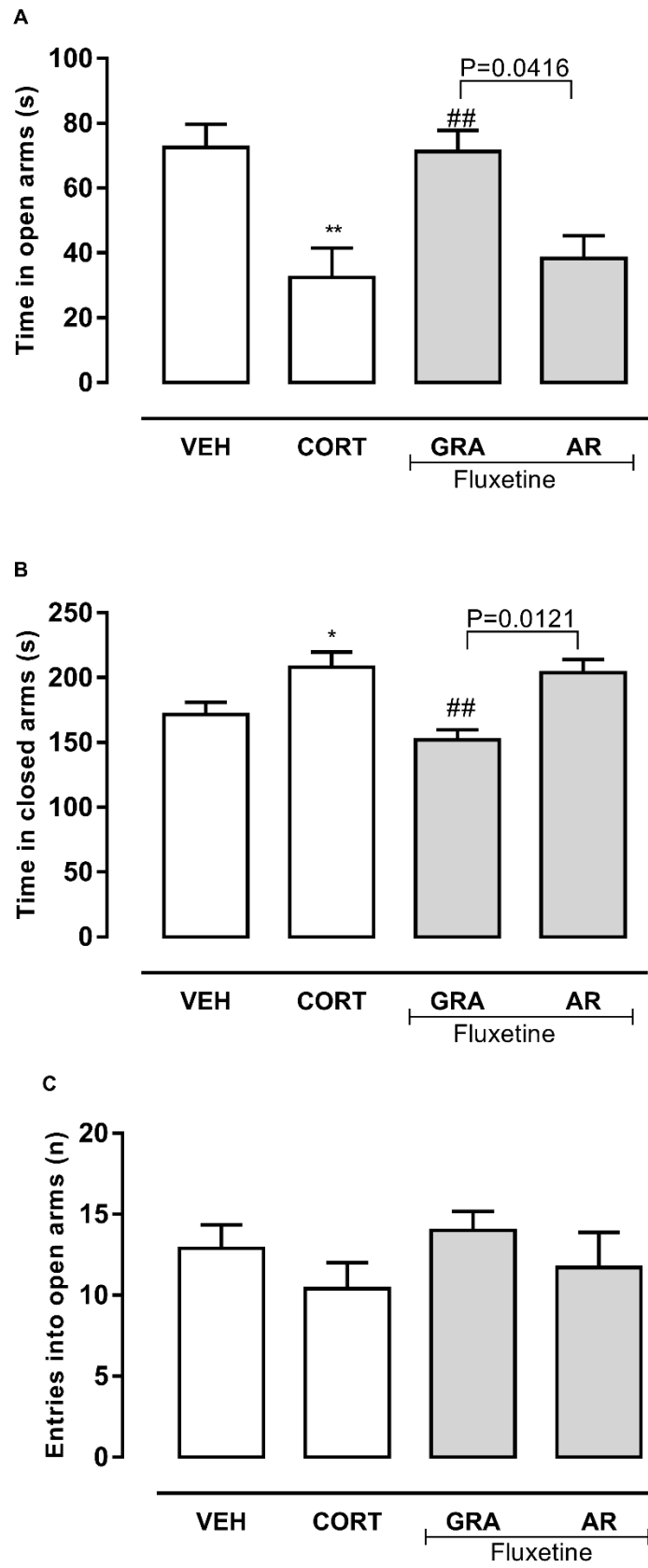
In FST, one-way ANOVA indicated a significant difference between the groups ( $F_{3,29} = 17.1$ ,  $p < 0.0001$ ). It was observed that CORT group showed a strong trend to increase the immobility time when compared to VEH group ( $107.0 \pm 10.6$  vs.  $71.8 \pm 6.4$ ,  $p = 0.0536$ , respectively). Both the AR and GRA groups were significantly different from the CORT group ( $p < 0.0001$ ) (Figure 2A). About the fight response, there was no difference statistic among the CORT group and the VEH group ( $12.9 \pm 4.5$  vs.  $21.4 \pm 4.0$ ,  $p = 0.9434$ , respectively) (Figure 2B). However, it was demonstrated that AR group presented an increase in fight response compared with VEH and GRA group ( $p = 0.0074$  and  $p = 0.0152$ , respectively).



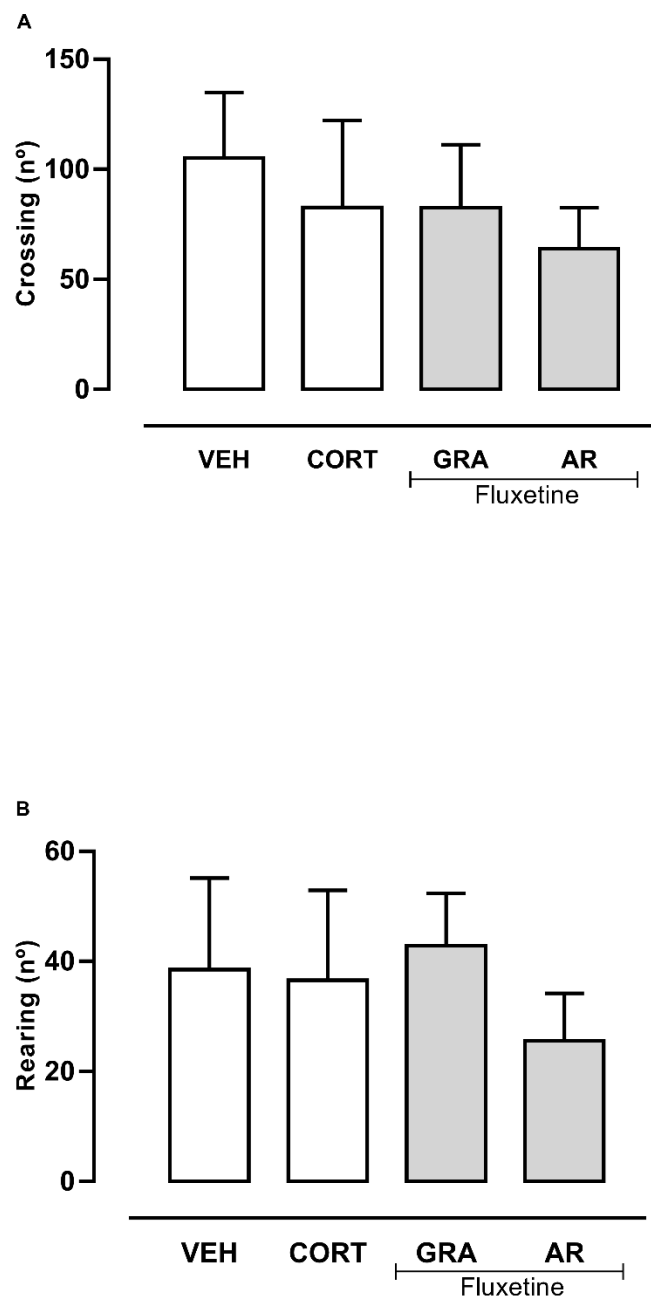
**Figure 2.** Forced Swimming Test (FST). A) Immobility time. B) Fight response. \*\*  $P < 0.01$  when compared to VEH group. The difference between GRA and AR groups is shown with the P value above the indicative bar. The data obtained were evaluated using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test ( $n=7-10$ ). VEH: animals that received vehicle (s.c.) for 21 days. CORT: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days. GRA: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a good response to antidepressant. AR: animals

that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a poor response to antidepressant.

We also evaluated the anxiety-like behavior of mice by the EPMT. Regarding the time in open arms, one-way ANOVA indicated a significant difference between the groups ( $F_{3,30} = 7.6$ ,  $p < 0.001$ ). It was observed that the CORT group showed lower time in open arms when compared with VEH group ( $32.5 \pm 9.0$  vs.  $72.5 \pm 7.1$ ,  $p = 0.0031$ , respectively). In addition, GRA group spent more time in open arms than the CORT group ( $71.2 \pm 6.6$  vs.  $32.5 \pm 9.0$ ,  $p = 0.0059$ , respectively) and AR group ( $71.2 \pm 6.6$  vs.  $38.3 \pm 7.0$ ,  $p = 0.0416$ ) (Figure 3A). Also, it was observed difference on the time in closed arms ( $F_{3,31} = 6.7$ ,  $p = 0.0013$ ). CORT group showed longer time in closed arms when compared with the VEH group ( $208.1 \pm 11.6$  vs.  $171.3 \pm 9.6$ ,  $p = 0.0488$ ). GRA group spent less time in closed arms than the CORT group ( $152.0 \pm 7.83$  vs.  $208.1 \pm 11.6$ ,  $p = 0.0025$ ) and AR group ( $152.0 \pm 7.83$  vs.  $203.7 \pm 10.1$ ,  $p = 0.0121$ ) (Figure 3B). However, regarding the number of entries, there was no statistical difference between any group ( $p = 0.4191$ ) (Figure 3C). No significant differences were found regarding the locomotor and exploratory activity in the OFT, neither on crossing ( $p = 0.0896$ ) (Figure 4A) nor on rearing ( $p = 0.1221$ ) (Figure 4B).



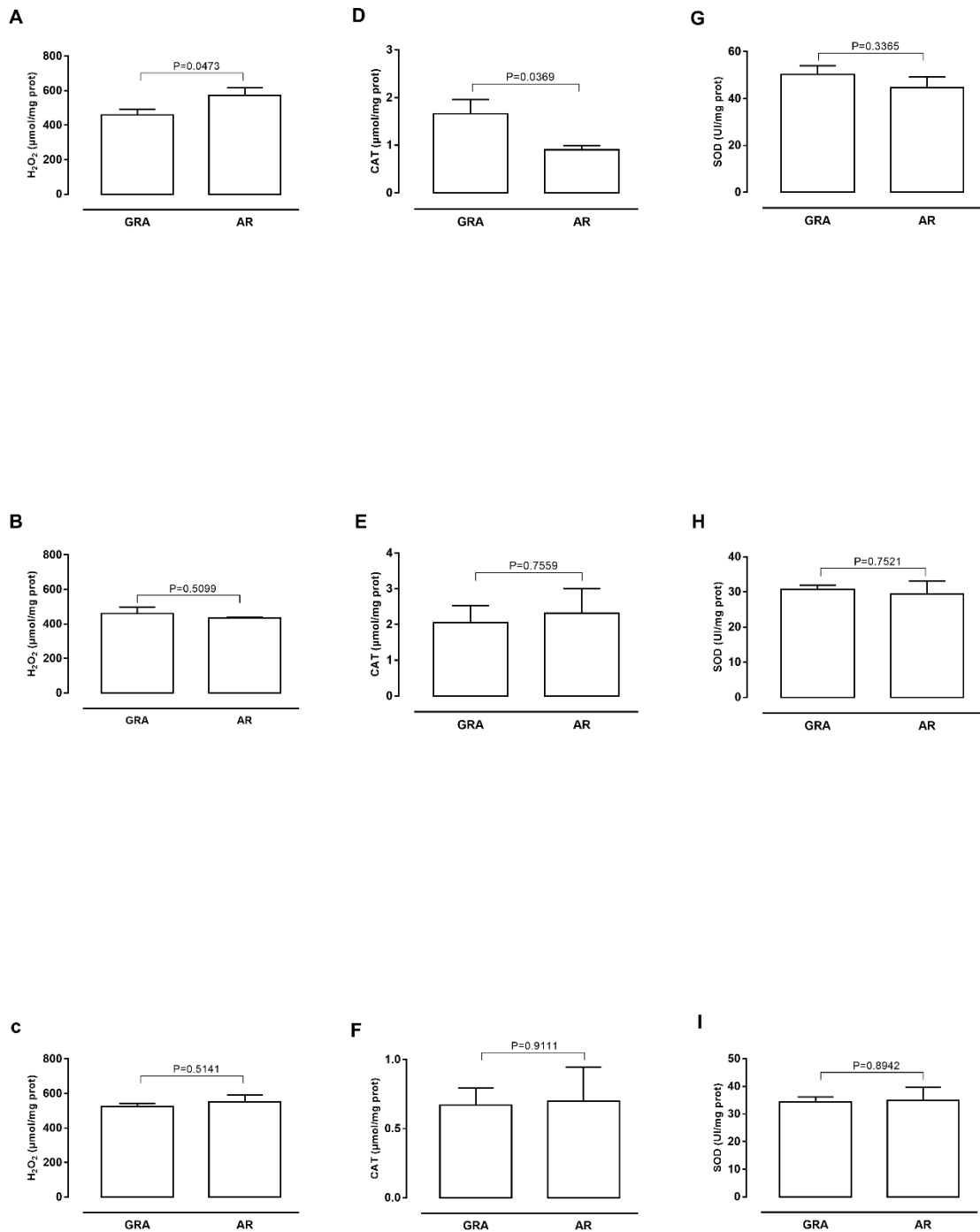
**Figure 3.** Elevated Plus Maze Test (EPMT). A) Time spent in open arms. B) Time spent in closed arms. C) Number of entries in open arms. \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$  when compared to VEH group; ##  $P < 0.01$  when compared to CORT group. The difference between GRA and AR groups is shown with the P value above the indicative bar. The data obtained were evaluated using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test ( $n=7-10$ ). VEH: animals that received vehicle (s.c.) for 21 days. CORT: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days. GRA: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a good response to antidepressant. AR: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a poor response to antidepressant.



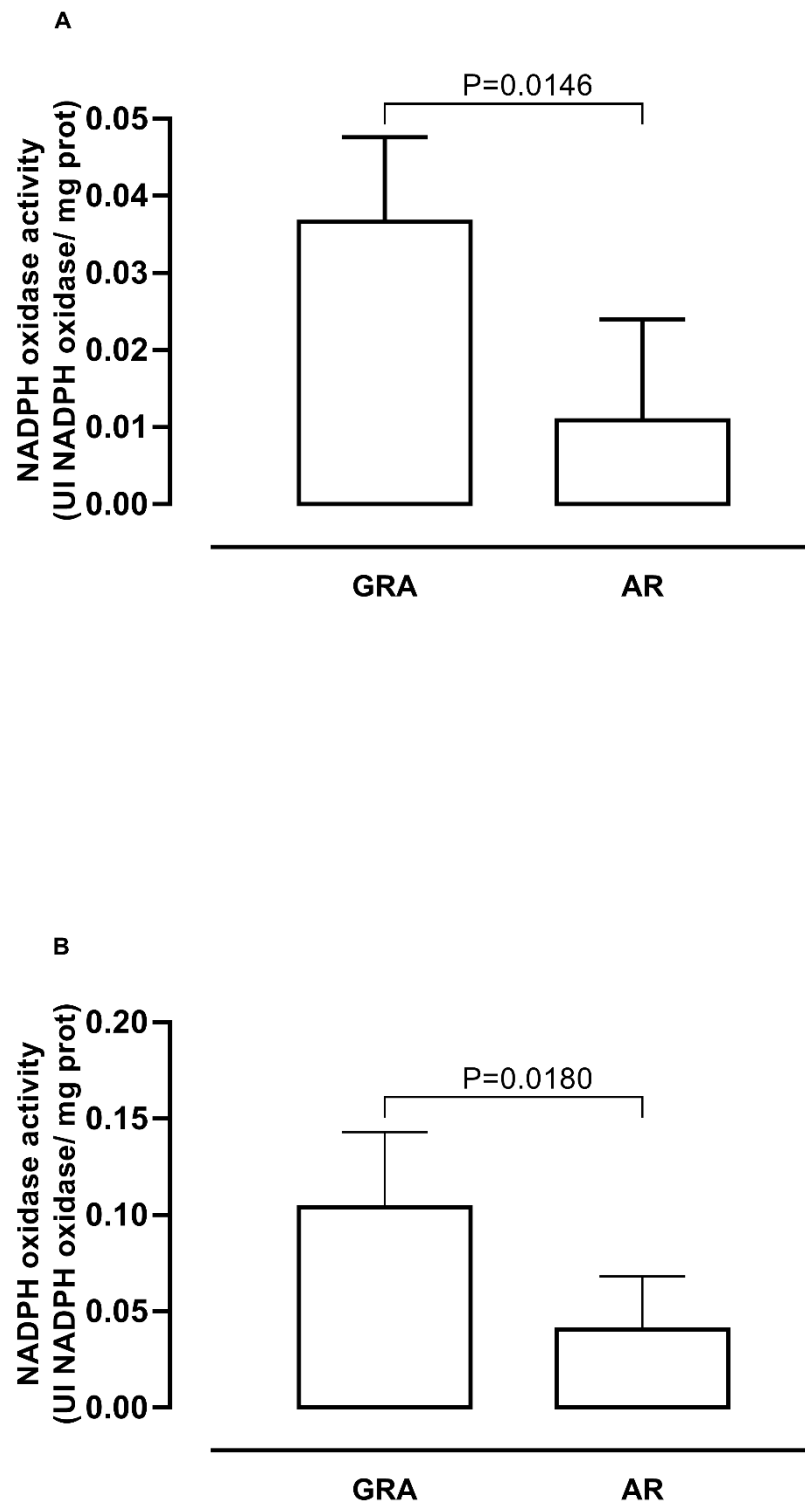
**Figure 4.** Open Field Test (OFT). A) Number of crossings. B) Number of rearings. The data obtained were evaluated using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test (n=7-10). VEH: animals that received vehicle (s.c.) for 21 days. CORT: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days. GRA: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a good response to antidepressant. AR: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a poor response to antidepressant.

### *3.2 Oxidative stress hippocampal are related with antidepressant resistance to fluoxetine*

We observed that the AR group presented an increase on the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels in hippocampus when compared with GRA group (t(13) = 2.191, p = 0.0473) (Figure 5A). However in prefrontal cortex (t(12) = 0.6793, p = 0.5099) (Figure 5B) and striatum (t(13) = 0.6707, p = 0.5141) (Figure 5C) no statistical difference between groups was observed. As regards to antioxidant enzymes, CAT activity was decreased in hippocampus of the animals from AR group comparing to GRA group (t(13) = 2.325, p = 0.0369) (Figure 5D), but there was no statistical difference in prefrontal cortex (t(11) = 0.3187, p = 0.7559) (Figure 5E) and striatum (t(12) = 0.1140, p = 0.9111) (Figure 5F). Analysis of activity of SOD showed no difference statistics between AR group and GRA group in hippocampus (t(13) = 0.9980, p = 0.3365) (Figure 5G), prefrontal cortex (t(12) = 0.3233, p = 0.7521) (Figure 5H) or striatum (t(12) = 0.1359, p = 0.8942) (Figure 5I). NADPH oxidase, an important source of O<sub>2</sub><sup>-</sup>, was increased in hippocampus (t(7) = 3.222, p = 0.0146) (Figure 6A) and prefrontal cortex (t(8) = 2.966, p = 0.0180) (Figure 6B) of GRA group when compared to AR group.



**Figure 5.** Oxidative stress analysis. Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) levels in A) hippocampus, B) prefrontal cortex, and C) striatum. Catalase (CAT) activity in D) hippocampus, E) prefrontal cortex, and F) striatum. Superoxide dismutase (SOD) activity in G) hippocampus, H) prefrontal cortex, and I) striatum. The difference between GRA and AR groups is shown with the P value above the indicative bar. The data obtained were evaluated using Student's *t* test (n=6-8). GRA: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a good response to antidepressant. AR: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a poor response to antidepressant.



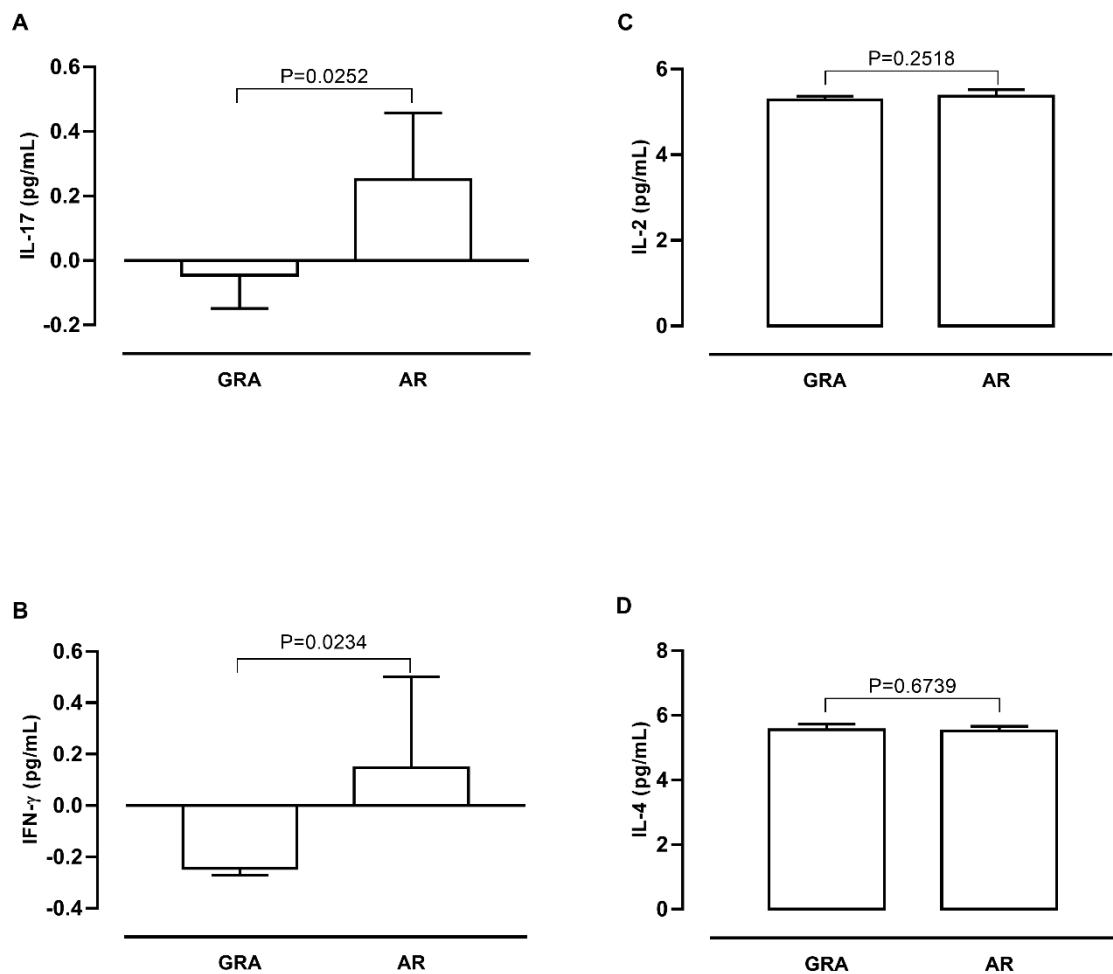
**Figure 6.** NADPH oxidase activity in A) hippocampus, and B) prefrontal cortex. The difference between GRA and AR groups is shown with the P value above the indicative bar. The data obtained were evaluated using Student's *t* test (n=4-5). GRA: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a good response to antidepressant.



AR: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a poor response to antidepressant.

### 3.3. IL-17 and IFN- $\gamma$ are increased in serum of the fluoxetine resistant mice subpopulation

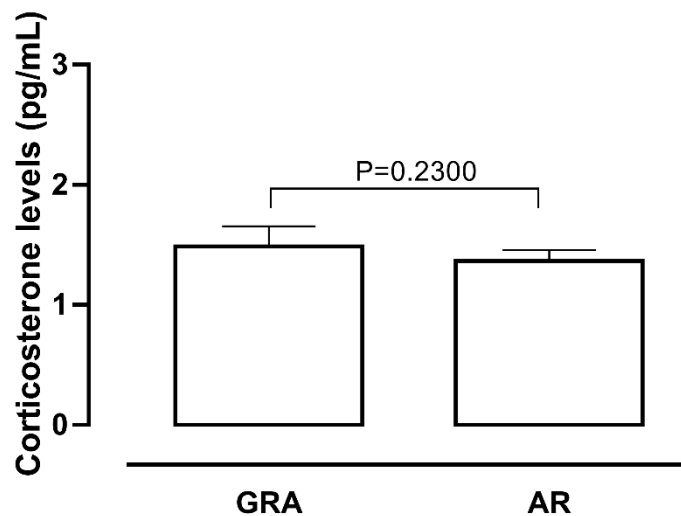
To investigate whether the inflammatory process is involved in fluoxetine resistance, we measured the serum levels of cytokines. Levels of IL-17 were increased in AR group when compared with GRA group ( $t(7) = 2.835$ ,  $p = 0.0252$ ) (Figure 7A). Also, it was observed an increase in IFN- $\gamma$  levels in the AR group compared with GRA group ( $t(9) = 2.726$ ,  $p = 0.0234$ ) (Figure 7B). However, no differences were observed about levels of IL-2 ( $p = 0.2518$ ) (Figure 7C) and IL-4 ( $p = 0.6739$ ) (Figure 7D) among AR group and GRA group.



**Figure 7.** Peripheral cytokine levels. A) IL-17. B) IL-2. C) IFN- $\gamma$ . D) IL-4. The difference between GRA and AR groups is shown with the P value above the indicative bar. The data obtained were evaluated using Student's *t* test (n=4-6). GRA: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a good response to antidepressant. AR: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a poor response to antidepressant.

### 3.4. Levels of corticosterone do not interfere to good antidepressant response of fluoxetine

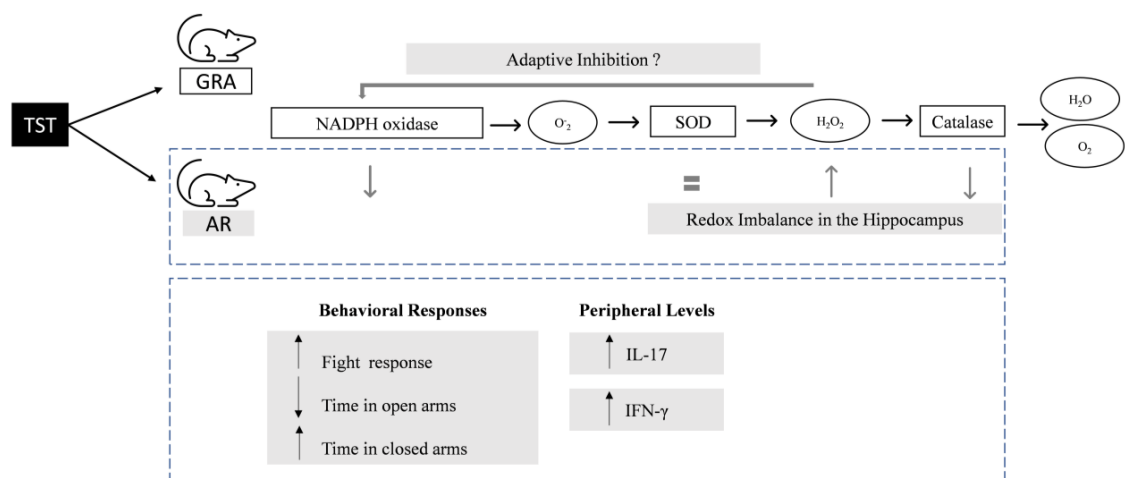
In order to inquire whether the corticosterone can be involved in antidepressant resistance in mice, we measured its serum levels. We observed that there was no difference statistics among AR group and GRA group ( $t(7) = 1.315$ ,  $p = 0.2300$ ) (Figure 8).



**Figure 8.** Serum levels of corticosterone expressed in a logarithmic form. The difference between GRA and AR groups is shown with the P value above the indicative bar. The data obtained were evaluated using Student's *t* test (n=4-5). GRA: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a good response to antidepressant. AR: animals that received corticosterone (s.c.) for 21 days and fluoxetine (10 mg/Kg, p.o.) in the last 14 days, showing a poor response to antidepressant.

#### 4. DISCUSSION

Major depression is a prevalent and debilitating disorder, and a substantial proportion of patients fail to reach remission following standard antidepressant pharmacological treatment. Specifically, more than 30% of depressed patients fail to achieve remission despite multiple treatment trials (Rush, 2007). In this context, individuals who do not respond adequately to two or more therapeutic strategies are considered patients with TRD (Souery et al., 2006). The mechanisms that can interfere in pharmacological resistance in antidepressant action is not completely defined. However, TRD can be studied in basic research by inducing depressive-like behavior in rodents, using protocols such as chronic corticosterone administration, and then separating antidepressant-resistant populations (Samuels et al., 2011; Caldarone et al., 2016). Here, we use the TST results to define the population that showed less responsiveness to fluoxetine, separating responders to antidepressants (GRA) from non-responders (AR). In our study, we found that the animals submitted to chronic corticosterone administration developed a depressive-like behavior when compared to the control group in the TST and an almost significant difference was observed in the FST. Interestingly, the animals classified as AR (i.e., those with higher immobility values in the TST) demonstrated an anxiety-like behavior in EPMT, a redox imbalance in the hippocampus, as well as increased levels of peripheral IL-17 and INF- $\gamma$ . All these findings are outlined in Figure 9.



**Figure 9.** Summary of the main findings of the study. A lower response to fluoxetine treatment has been shown to be related to a redox imbalance in the hippocampus (represented by increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels and decreased catalase activity) as well as increased levels of IL-17 and IFN- $\gamma$ . It was also demonstrated

that the animals in the AR group presented anxious-like behavior (verified through the Elevated Plus Maze Test - EPMT) and an increase on the fighting response in the Forced Swimming Test -FST).

As briefly mentioned above, the chronic corticosterone administration protocol can be a useful tool for studying both the mechanisms of MDD and TRD (Samuels et al., 2011; Caldarone et al., 2016). This model triggers HPA axis dysregulation similar to that observed in patients with MDD. Moreover, this protocol also promotes a series of behavioral changes, such as increased immobility time in TST and FST, decreased self-care behavior in the splash test, increased anxiety-like behavior in the EPMT and anhedonic-like behavior in the sucrose preference test (Johnson et al., 2006; Gourley et al., 2008; David et al., 2009; Weng et al., 2016). In our study, the antidepressant resistant populations were identified by a behavioral testing (TST) using a traditional pharmacological treatment (fluoxetine). Animals that received only chronic corticosterone administration had a longer immobility time in FST, however it was not significantly significant ( $P = 0.0535$ ). Both the GRA group and the AR group had a shorter immobility time when compared to the CORT group, suggesting the antidepressant potential of fluoxetine in this test. Curiously, the AR group showed a greater fighting behavior in the FST than the other groups, including the animals in the GRA group.

Anxiety is a common comorbidity to MDD and TRD (Perugi et al., 2019). Some studies suggest that anxiety is associated to the low antidepressant response (Dold and Kasper, 2016). In EPMT, we observed that the chronic corticosterone administration was able to induce anxiety-like behavior and the treatment with fluoxetine was able to reverse this behavioral change only in GRA group, suggesting anxiety can be present in antidepressant resistance in mice. Chronic administration of corticosterone also able to increase anxiety-like behavior in C57BL/6 mice in the novelty suppressed feeding test. However, in the study cited above, the corticosterone-exposed mice showed a bimodal response to chronic fluoxetine, with some not responding (Samuels et al., 2011). In another study, using the repeated social defeat as induction protocol was observed an increased anxiety, and this behavior also presented in a bimodal distribution of stress-susceptible and stress-resistant animals (Berton et al., 2006; Berton et al., 2006; Krishnan et al., 2007).

The relationship between oxidative stress and MDD is already known. In addition, Sowa-Kúćma et. al. (2018) observed that individuals with TRD has highest levels ROS in the plasma than responsive patients. Preclinical and clinical studies suggest that chronic stress exposure is associated with increased ROS production and inflammatory cytokines (Patki et al., 2013; Rawdin et al., 2013; Rosenblat et al., 2015; Rochfort et al., 2014). These oxidative products can

cause neurodegeneration and impair the function of cerebral structures such as prefrontal cortex, hippocampus and striatum. In fact, this can compromise the control of cognitive functions and mood, which are often impaired in depressed patients and in those diagnosed with TRD (Wang and Michaelis, 2010; Moylan et al., 2014; Sowa-Kúćma et al., 2018; Nobis et al., 2000). In this context, a study carried out by our research group showed that apocynin, an antioxidant and NADPH-oxidase inhibitor, was able to reverse the depressive-like behavior induced by chronic corticosterone administration (Pereira et al., 2020). Moreover, a general review emphasized the benefits of vitamin D and N-acetylcysteine supplementation on depressive symptoms in patients with TRD (di Michele et al., 2020).

However, the exact mechanisms by which oxidative stress related to depressive symptoms and its involvement in TRD are not yet clear. Here, we found that the animals with antidepressant resistance (AR group) showed an increase in hippocampal levels of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> when compared to group with good antidepressant response (GRA group). We also observed that the animals in the AR group had lower hippocampal catalase activity than the animals in the GRA group. These findings suggest that the increase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels may be due to its lesser degradation by the action of catalase, even without changes in SOD activity. Interestingly, the AR group showed lower NADPH oxidase activity in the hippocampus and prefrontal cortex. We suggest that this result is due to a regulatory mechanism induced by high levels of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

A significant proportion of depressed patients exhibit hyperactivation of the HPA axis resulting in increased secretion of the stress hormone cortisol as well as elevated levels of inflammatory biomarkers (Perrin et al., 2019). It has been suggested that such disturbances are due to the dysfunction of glucocorticoid receptors (GR), and consequent impairment to mediate HPA axis negative feedback by cortisol. Based on this evidence, HPA axis has been regarded as a possible target for novel therapeutic agents in TRD. Markopoulou et al. (2021) showed that patients with TRD presented higher total cortisol concentrations in the morning hours when compared to healthy controls, but there was no difference between TRD patients and healthy controls about total cortisol concentrations over to two days. Galvão et al. (2018) observed hypocortisolemia in patients with TRD compared to healthy controls. Therefore, many studies suggest difference about levels of cortisol in TRD patients to control groups, but still there are some contradictions. In our study, fluoxetine treatment did not change corticosterone levels comparing the GRA group and the RA group. This suggests that antidepressant resistance may be more associated with other mechanisms.

Several studies demonstrated that various cytokines such as interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) and tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) are overexpressed in the brain and periphery of

many patients suffering from MDD (Raison et al., 2006; Lichtblau et al., 2013; Miller and Raison, 2016). Remarkably, increased inflammation has been shown to contribute to the treatment resistance in depression (Carvalho et al., 2014; Strawbridge et al., 2015; Yoshimura et al., 2009). The data indicate that peripheral cytokine signals can also access the brain and activate relevant cell types that serve to amplify central inflammatory responses. For example, peripheral administration of IFN- $\alpha$  to patients with hepatitis C led to an increase in IFN- $\alpha$  in the cerebrospinal fluid (CSF), which correlated with increased concentrations of IL-6 and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in CSF (Raison et al., 2009).

Further, increased pro-inflammatory cytokines in circulation have the propensity to repress the expression of several tight-junction proteins of the blood-brain barrier (BBB), including claudin-5 (cldn5) (Dudek et al., 2020). In this context, chronic stress-induced BBB leakage in an animal model of depression allows the passage of pro-inflammatory mediators. It has already been reported that mice exposed to chronic social defeat stress (CSDS) exhibit decreased expression of cldn-5, positively correlating with heightened peripheral TNF $\alpha$  in circulation (Dudek et al., 2020). In our study, we found that the AR group (non-responders) showed higher levels of IL-17 and IFN- $\gamma$  than GRA group (responders), indicating that these cytokines can be involved in the antidepressant resistance.

Corroborating with our results, other data from basic research highlight the relevance of IFN- $\gamma$  levels in depression. Nettis et al. (2021) observed that minocycline had an antidepressant-like effect in mice by reducing the levels of this interleukin. Complementarily, clinical studies have shown that 20% to 50% of patients receiving chronic IFN- $\alpha$  therapy for the treatment of infectious diseases or cancer develop clinically significant depression (Musselman et al., 2001; Capuron et al., 2002). In addition, IFN- $\gamma$  therapy in patients with hepatitis C is also associated with a high prevalence and recurrence of MDD, reinforcing the involvement of this cytokine and inflammation in the development of depression (Chiu et al., 2017).

Th17 cells have already been suggested to participate in depressive disorder (Cui et al., 2021). These cells are a subpopulation of T helper (CD4+) cells that play important roles in various inflammatory and autoimmune diseases. In addition to working as adaptive immune cells, Th17 cells and the pro-inflammatory cytokines produced by them may be related to brain development, behavior and memory (Derecki et al., 2010). Among the cytokines produced by Th17 cells, IL-17 stands out (Harrington et al., 2005). However, in pathological conditions, other cells besides Th17 cells, such as astrocytes, microglia, and neurons, can produce IL-17 (Moynes et al., 2014). Recently, with growing evidence suggesting the inflammation as participant in the pathophysiology of depression, the role of Th17 cell and IL-17 has come to

be investigated (Beurel and Lowell, 2018). Beurel et al. (2013) suggested that, besides the infusion of these cells being able to induce depressive-like behavior, Th17 cells are also increased in the brain during depressive-like states. Additionally, it was found that the inhibition of the production and/or function of these cells can exert an antidepressant-like effect, since it promotes a reduction in the vulnerability to the development of depressive-like behavior (Beurel et al., 2013).

In addition to the possible role of Th17 cells as a therapeutic target, other study suggests that IL-17 may act as a biomarker for antidepressant medication selection. Jha et al. (2017) demonstrated that the response to treatment with bupropion and escitalopram was better in those depressed patients with high basal plasma levels of IL-17. The measurement of IL-17 in the CSF was also shown to be important in the follow-up of patients with TRD undergoing electroconvulsive therapy (ECT). Mindt et al. (2020) observed that ECT responders had lower levels of IL-17, MIP-1a and Rantes in the CSF, emphasizing the idea that the antidepressant efficacy of this method is partially mediated by the neuroinflammation modulation.

## 5. CONCLUSIONS

Based on our results, it is suggested that a redox imbalance in the hippocampus, as well as increased levels of peripheral IL-17 and INF- $\gamma$  may be involved in an impaired fluoxetine antidepressant response. More studies are needed to elucidate the mechanisms behind resistance to treatment with the antidepressant fluoxetine, as well as other classes of therapies.

### **Credit authorship contribution statement**

**Brenda Moreira dos Santos:** Conceptualization, Methodology, Formal Analysis, Investigation, Data Curation, Writing - Original Draft.

**Gabriele Cheiran Pereira:** Conceptualization, Methodology, Formal Analysis, Investigation, Data Curation, Writing - Original Draft.

**Elisa Piton:** Methodology, Investigation, Data curation.

**Maria Fernanda Pessano Fialho:** Methodology, Investigation.

**Gabriela Becker:** Methodology, Investigation.

**Marieli da Silva Carlotto:** Formal Analysis, Writing - Original Draft.

**Sara Marchesan Oliveira:** Resources, Supervision.

**Gabriela Trevisan:** Resources, Supervision.

**Eliane Maria Zanchet:** Supervision.

**Micheli Mainardi Pillat:** Formal Analysis, Supervision.

**Guilherme Vargas Bochi:** Conceptualization, Formal Analysis, Resources, Writing - Original Draft, Supervision, Project Administration, Funding Acquisition.

### **Declaration of Interest**

The authors declare they have no conflict of interest.

### **Acknowledgements**

This work was supported by scholarships from Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES/Brazil) and the National Council for Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico - CNPq/Brazil). This study was supported by CNPq/Brazil (process # 424414/2018-0).



## REFERENCES

- Aebi, H., 1984. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* 105, 121–126.  
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Alboni, S., Poggini, S., Garofalo, S., Milior, G., El Hajj, H., Lecours, C., Girard, I., Gagnon, S., Boisjoly-Villeneuve, S., Brunello, N., Wolfer, D.P., Limatola, C., Tremblay, M.È., Maggi, L., Branchi, I., 2016. Fluoxetine treatment affects the inflammatory response and microglial function according to the quality of the living environment. *Brain. Behav. Immun.* 58, 261–271. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.07.155>
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-V)*. Arlington, VA: American Psychiatric Association, 2013.
- Anderson, G., Maes, M., 2014. Oxidative/Nitrosative Stress and Immuno-inflammatory Pathways in Depression: Treatment Implications. *Curr. Pharm. Des.* 20, 3812–3847.  
<https://doi.org/10.2174/13816128113196660738>
- Anseloni, V.Z., Brandão, M.L., 1997. Ethopharmacological analysis of behaviour of rats using variations of the elevated plus-maze. *Behavioral Pharmacol.* 533–540.
- Bai, Y., Song, L., Dai, G., Xu, M., Zhu, L., Zhang, W., Jing, W., Ju, W., 2018. Antidepressant effects of magnolol in a mouse model of depression induced by chronic corticosterone injection. *Steroids* 135, 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2018.03.005>
- Berton, O., McClung, C.A., DiLeone, R.J., Krishnan, V., Renthal, W., Russo, S.J., Graham, D., Tsankova, N.M., Bolanos, C.A., Rios, M., Monteggia, L.M., Self, D.W., Nestler, E.J., 2006. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science* (80-. ). 311, 864–868. <https://doi.org/10.1126/science.1120972>

- Beurel, E., Harrington, L.E., Jope, R.S., 2013. Inflammatory Th17 cells promote depression-like behavior in mice. *Biol. Psychiatry* 73, 622–630.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.09.021>.Inflammatory
- Beurel, E., Lowell, J., 2018. Th17 cells in depression Eléonore. *Physiol. Behav.* 69, 28–34.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.08.001>.Th17
- Bhat, R., Mahapatra, S., Axtell, R.C., Steinman, L., 2017. Amelioration of ongoing experimental autoimmune encephalomyelitis with fluoxetine. *J. Neuroimmunol.* 313, 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2017.10.012>
- Brunello, N., Alboni, S., Capone, G., Benatti, C., Blom, J.M.C., Tasedda, F., Kriwin, P., Mendlewicz, J., 2006. Acetylsalicylic acid accelerates the antidepressant effect of fluoxetine in the chronic escape deficit model of depression. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 21, 219–225. <https://doi.org/10.1097/00004850-200607000-00004>
- Bschor, T., Ising, M., Erbe, S., Winkelmann, P., Ritter, D., Uhr, M., Lewitzka, U., 2012. Impact of citalopram on the HPA system. A study of the combined DEX/CRH test in 30 unipolar depressed patients. *J. Psychiatr. Res.* 46, 111–117.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2011.09.020>
- Caldarone, B.J., Zachariou, V., King, S.L., 2016. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Eur. J. Pharmacol.* 753, 1–34. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.10.063>.Rodent
- Capuron, L., Gumnick, J.F., Musselman, D.L., Lawson, D.H., Reemsnyder, A., Nemeroff, C.B., Miller, A.H., 2002. Neurobehavioral effects of interferon- $\alpha$  in cancer patients: Phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology* 26, 643–652. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00407-9](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00407-9)
- Carvalho, A.F., Berk, M., Hyphantis, T.N., McIntyre, R.S., 2014. The integrative

management of treatment-resistant depression: A comprehensive review and perspectives. *Psychother. Psychosom.* 83, 70–88. <https://doi.org/10.1159/000357500>

Carvalho, A.F., Solmi, M., Sanches, M., Machado, M.O., Stubbs, B., Ajnakina, O., Sherman, C., Sun, Y.R., Liu, C.S., Brunoni, A.R., Pigato, G., Fernandes, B.S., Bortolato, B., Husain, M.I., Dragioti, E., Firth, J., Cosco, T.D., Maes, M., Berk, M., Lanctôt, K.L., Vieta, E., Pizzagalli, D.A., Smith, L., Fusar-Poli, P., Kurdyak, P.A., Fornaro, M., Rehm, J., Herrmann, N., 2020. Evidence-based umbrella review of 162 peripheral biomarkers for major mental disorders. *Transl. Psychiatry* 10. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0835-5>

Chiu, L.Y.L., Stewart, K., Woo, C., Yatham, L.N., Lam, R.W., 2015. The relationship between burnout and depressive symptoms in patients with depressive disorders. *J. Affect. Disord.* 172, 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.10.029>

Chiu, W.C., Su, Y.P., Su, K.P., Chen, P.C., 2017. Recurrence of depressive disorders after interferon-induced depression. *Transl. Psychiatry* 7, 1–9. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.274>

Cipriani, A., Brambilla, P., Furukawa, T.A., Geddes, J., Gregis, M., Hotopf, M., Malvini, L., Barbui, C., 2013. Fluoxetine versus other types of pharmacotherapy for depression. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013, 1–107. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004185.pub3>

Cui, M., Dai, W., Kong, J., Chen, H., 2021. Th17 Cells in Depression: Are They Crucial for the Antidepressant Effect of Ketamine? *Front. Pharmacol.* 12, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.649144>

Czarny, P., Wigner, P., Galecki, P., Sliwinski, T., 2018. The interplay between inflammation, oxidative stress, DNA damage, DNA repair and mitochondrial dysfunction in depression. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 80, 309–321.

<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.06.036>

David, E.J.R., Okazaki, S., Saw, A., 2009. Bicultural Self-Efficacy Among College Students: Initial Scale Development and Mental Health Correlates. *J. Couns. Psychol.* 56, 211–226. <https://doi.org/10.1037/a0015419>

Derecki, N.C., Cardani, A.N., Yang, C.H., Quinnes, K.M., Cirifield, A., Lynch, K.R., Kipnis, J., 2010. Regulation of learning and memory by meningeal immunity: A key role for IL-4. *J. Exp. Med.* 207, 1067–1080. <https://doi.org/10.1084/jem.20091419>

di Michele, F., Talamo, A., Niolu, C., Siracusano, A., 2020. Vitamin D and N-Acetyl Cysteine Supplementation in Treatment-Resistant Depressive Disorder Patients: A General Review. *Curr. Pharm. Des.* 26, 2442–2459. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200406090051>

Dold, M., Kasper, S., 2016. Evidence-based pharmacotherapy of treatment-resistant unipolar depression. *Int. J. Psychiatry Clin. Pract.* 21, 13–23. <https://doi.org/10.1080/13651501.2016.1248852>

Dudek, K.A., Dion-Albert, L., Lebel, M., LeClair, K., Labrecque, S., Tuck, E., Perez, C.F., Golden, S.A., Tamminga, C., Turecki, G., Mechawar, N., Russo, S.J., Menard, C., 2020. Molecular adaptations of the blood–brain barrier promote stress resilience vs. Depression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 117, 3326–3336. <https://doi.org/10.1073/pnas.1914655117>

Galecki, P., Talarowska, M., 2018. Teoria zapalna depresji - najwazniejsze fakty. *Psychiatr. Pol.* 52, 437–447.

Galvão, A.C. d. M., de Almeida, R.N., Silva, E.A. do. S., Freire, F.A.M., Palhano-Fontes, F., Onias, H., Arcoverde, E., Maia-de-Oliveira, J.P., de Araújo, D.B., Lobão-Soares, B., Galvão-Coelho, N.L., 2018. Cortisol modulation by ayahuasca in patients with treatment

resistant depression and healthy controls. *Front. Psychiatry* 9, 1–10.  
<https://doi.org/10.3389/fpsyt.2018.00185>

Gaynes, B.N., Lux, L., Gartlehner, G., Asher, G., Forman-Hoffman, V., Green, J., Boland, E., Weber, R.P., Randolph, C., Bann, C., Coker-Schwimmer, E., Viswanathan, M., Lohr, K.N., 2020. Defining treatment-resistant depression. *Depress. Anxiety* 37, 1–12.  
<https://doi.org/10.1002/da.22968>

Gourley, S.L., Kiraly, D.D., Howell, J.L., Olausson, P., Taylor, J.R., 2008. Acute Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor Restores Motivational and Forced Swim Performance After Corticosterone. *Biol. Psychiatry* 64, 884–890.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.06.016>

Haapakoski, R., Mathieu, J., Ebmeier, K.P., Alenius, H., Kivimäki, M., 2015. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 $\beta$ , tumour necrosis factor  $\alpha$  and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain. Behav. Immun.* 49, 206–215.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.06.001>

Harrington, L.E., Hatton, R.D., Mangan, P.R., Turner, H., Murphy, T.L., Murphy, K.M., Weaver, C.T., 2005. Interleukin 17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat. Immunol.* 6, 1123–1132.  
<https://doi.org/10.1038/ni1254>

Jayatissa, M.N., Bisgaard, C., Tingström, A., Papp, M., Wiborg, O., 2006. Hippocampal cytochrome correlates to escitalopram-mediated recovery in a chronic mild stress rat model of depression. *Neuropsychopharmacology* 31, 2395–2404.  
<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301041>

Jha, M.K., Minhajuddin, A., Gadad, B.S., Greer, T.L., Mayes, T.L., Trivedi, M.H., 2017. Interleukin 17 selectively predicts better outcomes with bupropion-SSRI combination: Novel T cell biomarker for antidepressant medication selection. *Brain. Behav. Immun.*

66, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.07.005>

- Jiang, C.Y., Qin, X.Y., Yuan, M.M., Lu, G.J., Cheng, Y., 2018. 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside reverses stress-induced depression via inflammatory and oxidative stress pathways. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2018/9501427>
- Johnson, S.A., Fournier, N.M., Kalynchuk, L.E., 2006. Effect of different doses of corticosterone on depression-like behavior and HPA axis responses to a novel stressor. *Behav. Brain Res.* 168, 280–288. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.11.019>
- Kessler, R.C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., Merikangas, K.R., Rush, A.J., Walters, E.E., Wang, A., Rovner, B., Casten, R., 2003. The epidemiology of major depressive disorder. *Evidence-Based Eye Care* 4, 186–187. <https://doi.org/10.1097/00132578-200310000-00002>
- Köhler, C.A., Freitas, T.H., Stubbs, B., Maes, M., Solmi, M., Veronese, N., de Andrade, N.Q., Morris, G., Fernandes, B.S., Brunoni, A.R., Herrmann, N., Raison, C.L., Miller, B.J., Lanctôt, K.L., Carvalho, A.F., 2018. Peripheral Alterations in Cytokine and Chemokine Levels After Antidepressant Drug Treatment for Major Depressive Disorder: Systematic Review and Meta-Analysis. *Mol. Neurobiol.* 55, 4195–4206. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0632-1>
- Krishnan, V., Han, M.H., Graham, D.L., Berton, O., Renthal, W., Russo, S.J., LaPlant, Q., Graham, A., Lutter, M., Lagace, D.C., Ghose, S., Reister, R., Tannous, P., Green, T.A., Neve, R.L., Chakravarty, S., Kumar, A., Eisch, A.J., Self, D.W., Lee, F.S., Tamminga, C.A., Cooper, D.C., Gershenfeld, H.K., Nestler, E.J., 2007. Molecular Adaptations Underlying Susceptibility and Resistance to Social Defeat in Brain Reward Regions. *Cell* 131, 391–404. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.09.018>
- KV, A., Madhana, R.M., JS, I.C., Lahkar, M., Sinha, S., Naidu, V.G.M., 2018. Antidepressant

activity of vorinostat is associated with amelioration of oxidative stress and inflammation in a corticosterone-induced chronic stress model in mice. *Behav. Brain Res.* 344, 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.02.009>

Leonard, B., Maes, M., 2012. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36, 764–785. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.12.005>

Levinstein, M.R., Samuels, B.A., 2014. Mechanisms underlying the antidepressant response and treatment resistance. *Front. Behav. Neurosci.* 8, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00208>

Li, W., Ali, T., Zheng, C., Liu, Z., He, K., Shah, F.A., Ren, Q., Rahman, S.U., Li, N., Yu, Z.J., Li, S., 2021. Fluoxetine regulates eEF2 activity (phosphorylation) via HDAC1 inhibitory mechanism in an LPS-induced mouse model of depression. *J. Neuroinflammation* 18, 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02091-5>

Lichtblau, N., Schmidt, F.M., Schumann, R., Kirkby, K.C., Himmerich, H., 2013. Cytokines as biomarkers in depressive disorder: Current standing and prospects. *Int. Rev. Psychiatry* 25, 592–603. <https://doi.org/10.3109/09540261.2013.813442>

Liu, T., Zhong, S., Liao, X., Chen, J., He, T., Lai, S., Jia, Y., 2015. A meta-analysis of oxidative stress markers in depression. *PLoS One* 10, 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138904>

Maes, M., Yirmiya, R., Norberg, J., Brene, S., Hibbeln, J., Perini, G., Kubera, M., Bob, P., Lerer, B., Maj, M., 2009. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: Leads for future research and new drug developments in depression. *Metab. Brain Dis.* 24, 27–53. <https://doi.org/10.1007/s11011-008-9118-1>

- Mahlich, J., Tsukazawa, S., Wiegand, F., 2018. Estimating Prevalence and Healthcare Utilization for Treatment-Resistant Depression in Japan: A Retrospective Claims Database Study. *Drugs - Real World Outcomes* 5, 35–43.  
<https://doi.org/10.1007/s40801-017-0126-5>
- Markopoulou, K., Fischer, S., Papadopoulos, A., Poon, L., Rane, L.J., Fekadu, A., Cleare, A.J., 2021. Comparison of hypothalamo-pituitary-adrenal function in treatment resistant unipolar and bipolar depression. *Transl. Psychiatry* 11, 1–8.  
<https://doi.org/10.1038/s41398-021-01343-5>
- Miller, A.H., Raison, C.L., 2016. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol* 16, 22–34.  
<https://doi.org/10.1038/nri.2015.5.The>
- Mindt, S., Neumaier, M., Hoyer, C., Sartorius, A., Kranaster, L., 2020. Cytokine-mediated cellular immune activation in electroconvulsive therapy: A CSF study in patients with treatment-resistant depression. *World J. Biol. Psychiatry* 21, 139–147.  
<https://doi.org/10.1080/15622975.2019.1618494>
- Misra, H.P., Fridovich, I., 1972. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 247, 3170–3175. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)45228-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)45228-9)
- Moylan, S., Berk, M., Dean, O.M., Samuni, Y., Williams, L.J., O’Neil, A., Hayley, A.C., Pasco, J.A., Anderson, G., Jacka, F.N., Maes, M., 2014. Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much stress? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 45, 46–62.  
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.05.007>
- Moynes, D.M., Vanner, S.J., Lomax, A.E., 2014. Participation of interleukin 17A in neuroimmune interactions. *Brain. Behav. Immun.* 41, 1–9.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.004>



- Murphy, J.A., Sarris, J., Byrne, G.J., 2017. A Review of the Conceptualisation and Risk Factors Associated with Treatment-Resistant Depression 2017, 1–10.
- Musselman, D.L., Lawson, D.H., Gumnick, J.F., Manatunga, A.K., Penna, S., Goodkin, R.S., Greiner, K., Nemeroff, C.B., Miller, A.H., 2001. Paroxetine for the prevention of depression induced by high-dose interferon alfa. *N. Engl. J. Med.* 344, 961–966.
- Nettis, M.A., Lombardo, G., Hastings, C., Zajkowska, Z., Mariani, N., Nikkheslat, N., Worrell, C., Enache, D., McLaughlin, A., Kose, M., Sforzini, L., Bogdanova, A., Cleare, A., Young, A.H., Pariante, C.M., Mondelli, V., 2021. Augmentation therapy with minocycline in treatment-resistant depression patients with low-grade peripheral inflammation: results from a double-blind randomised clinical trial. *Neuropsychopharmacology* 46, 939–948. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-00948-6>
- Ng, C.H., Kato, T., Han, C., Wang, G., Trivedi, M., Ramesh, V., Shao, D., Gala, S., Narayanan, S., Tan, W., Feng, Y., Kasper, S., 2019. Definition of treatment-resistant depression – Asia Pacific perspectives. *J. Affect. Disord.* 245, 626–636. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.11.038>
- Nobis, A., Zalewski, D., Waszkiewicz, N., 2000. Peripheral markers of depression. *J. Clin. Med.* 13, 1–54. <https://doi.org/10.1097/00001504-200001000-00011>
- Obuchowicz, E., Bielecka, A.M., Paul-Samojedny, M., Pudełko, A., Kowalski, J., 2014. Imipramine and fluoxetine inhibit LPS-induced activation and affect morphology of microglial cells in the rat glial culture. *Pharmacol. Reports* 66, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2013.08.002>
- Oliveira, T. de Q., Sousa, C.N.S. de, Vasconcelos, G.S., de Sousa, L.C., de Oliveira, A.A., Patrocínio, C.F.V., Medeiros, I. da S., Honório Júnior, J.E.R., Maes, M., Macedo, D., Vasconcelos, S.M.M., 2017. Brain antioxidant effect of mirtazapine and reversal of sedation by its combination with alpha-lipoic acid in a model of depression induced by

corticosterone. *J. Affect. Disord.* 219, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.05.022>

Osimo, E.F., Pillinger, T., Rodriguez, I.M., Khandaker, G.M., Pariante, C.M., Howes, O.D., 2020. Inflammatory markers in depression: A meta-analysis of mean differences and variability in 5,166 patients and 5,083 controls. *Brain. Behav. Immun.* 87, 901–909. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.02.010>

Parente, M.S.R., Custódio, F.R., Cardoso, N.A., Lima, M.J.A., De Melo, T.S., Linhares, M.I., Siqueira, R.M.P., Do Nascimento, A.Á., Catunda Júnior, F.E.A., De Melo, C.T.V., 2018. Antidepressant-like effect of lippia sidoides CHAM (Verbenaceae) essential oil and its major compound thymol in mice. *Sci. Pharm.* 86, 1–19. <https://doi.org/10.3390/scipharm86030027>

Patki, G., Solanki, N., Atrooz, F., Allam, F., Salim, S., 2013. Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress. *Brain Res.* 1539, 73–86. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.09.033>

Pereira, G.C., Piton, E., dos Santos, B.M., da Silva, R.M., de Almeida, A.S., Dalenogare, D.P., Schiefelbein, N.S., Fialho, M.F.P., Moresco, R.N., dos Santos, G.T., Marchesan, S., Bochi, G.V., 2020. Apocynin as an antidepressant agent: in vivo behavior and oxidative parameters modulation. *Behav. Brain Res.* 388, 112643. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112643>

Perrin, A.J., Horowitz, M.A., Roelofs, J., Zunszain, P.A., Pariante, C.M., 2019. Glucocorticoid resistance: Is it a requisite for increased cytokine production in depression? A systematic review and meta-analysis. *Front. Psychiatry* 10, 1–24. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00423>

Perugi, G., Pacchiarotti, I., Mainardi, C., Verdolini, N., Menculini, G., Barbuti, M., Angst, J., Azorin, J.M., Bowden, C.L., Mosolov, S., Young, A.H., Vieta, E., 2019. Patterns of

response to antidepressants in major depressive disorder: Drug resistance or worsening of depression are associated with a bipolar diathesis. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 29, 825–834. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2019.06.001>

Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L., 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* 30, 11-26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>.

Porsolt, R.D., Pichon, M. Le., Jalfre, M., 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266, 730–732.

Prut, L., Belzung, C., 2003. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *Eur. J. Pharmacol.* 463, 3–33. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X)

Raison, C.L., Borisov, A.S., Majer, M., Drake, D.F., Pagnoni, G., Woolwine, B.J., Vogt, G.J., Massung, B., Miller, A.H., 2009. Activation of CNS Inflammatory Pathways by Interferon-alpha: Relationship to Monoamines and Depression. *Biol. Psychiatry* 65, 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.08.010>. Activation

Raison, C.L., Capuron, L., Miller, A.H., 2006. Beyond Colonialism, Development and Globalization: Social Movements and Critical Perspectives. *Trends Immunol.* 27, 24–31. <https://doi.org/10.1080/13552074.2017.1286809>

Rawdin, B.J., Mellon, S.H., Dhabhar, F.S., Epel, E.S., Puterman, E., Su, Y., Burke, H.M., Reus, V.I., Rosser, R., Hamilton, S.P., Nelson, J.C., Wolkowitz, O.M., 2013. Dysregulated relationship of inflammation and oxidative stress in major depression. *Brain. Behav. Immun.* 31, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.11.011>

Rochfort, K.D., Collins, L.E., Murphy, R.P., Cummins, P.M., 2014. Downregulation of blood-brain barrier phenotype by proinflammatory cytokines involves NADPH oxidase-dependent ROS generation: Consequences for interendothelial adherens and tight

junctions. *PLoS One* 9, 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101815>

Rosenblat, J.D., Cha, D.S., Mansur, R.B., McIntyre, R.S., 2014. Inflamed moods: A review of the interactions between inflammation and mood disorders. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 53, 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.01.013>

Rosenblat, J.D., McIntyre, R.S., Alves, G.S., Fountoulakis, K.N., Carvalho, A.F., 2015. Beyond Monoamines-Novel Targets for Treatment-Resistant Depression: A Comprehensive Review. *Curr. Neuropharmacol.* 13, 636–655. <https://doi.org/10.2174/1570159x13666150630175044>

Rush, A.J., 2007. The varied clinical presentations of major depressive disorder. *J. Clin. Psychiatry* 68, 4–10.

Rush, J.A., Trivedi, M.H., Wisniewski, S.R., Nierenberg, A.A., Stewart, J.W., Warden, D., Niederehe, G., Thase, M.E., Lavori, P.W., Lebowitz, B.D., McGrath, P.J., Rosenbaum, J.F., Sackeim, H.A., Kupfer, D.J., Luther, J., Maurizio Fava, M., 2006. Acute and Longer-Term Outcomes in Depressed Outpatients Requiring One or Several Treatment Steps: A STAR\*D Report. *Am J Psychiatry* 163, 1905–1917.

Sacre, S., Medghalchi, M., Gregory, B., Brennan, F., Williams, R., 2010. Fluoxetine and citalopram exhibit potent antiinflammatory activity in human and murine models of rheumatoid arthritis and inhibit toll-like receptors. *Arthritis Rheum.* 62, 683–693. <https://doi.org/10.1002/art.27304>

Samuels, B.A., Leonardo, E.D., Gadiant, R., Williams, A., Zhou, J., David, D.J., Gardier, A.M., Wong, E.H.F., Hen, R., 2011. Modeling treatment-resistant depression. *Neuropharmacology* 61, 408–413. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.02.017>

Salim, S., 2017. Oxidative Stress and the Central Nervous System, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*

360, 201–205. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503>

Song, C., Wang, H., 2011. Cytokines mediated inflammation and decreased neurogenesis in animal models of depression. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 35, 760–768. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.06.020>

Souery, D., Papakostas, G., Trivedi, M.H., 2006. Treatment-resistant depression. *J. Clin. Psychiatry* 67, 16–22. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12050648>

Sowa-Kúćma, M., Styczeń, K., Siwek, M., Mistak, P., Nowak, R.J., Dudek, D., Rybakowski, J.K., Nowak, G., Maes, M., 2018. Lipid Peroxidation and Immune Biomarkers Are Associated with Major Depression and Its Phenotypes, Including Treatment-Resistant Depression and Melancholia. *Neurotox. Res.* 33, 448–460.

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Simon, P., 1985. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 85, 367–370. <https://doi.org/10.1007/BF00428203>

Strawbridge, R., Arnone, D., Danese, A., Papadopoulos, A., Herane Vives, A., Cleare, A.J., 2015. Inflammation and clinical response to treatment in depression: A meta-analysis. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 25, 1532–1543. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.06.007>

Trevisan, G., Hoffmeister, C., Rossato, M.F., Oliveira, S.M., Silva, M.A., Ineu, R.P., Guerra, G.P., Materazzi, S., Fusi, C., Nassini, R., Geppetti, P., Ferreira, J., 2013. Transient receptor potential ankyrin 1 receptor stimulation by hydrogen peroxide is critical to trigger pain during monosodium urate-induced inflammation in rodents. *Arthritis Rheum.* 65, 2984–2995. <https://doi.org/10.1002/art.38112>

Voineskos, D., Daskalakis, Z.J., Blumberger, D.M., 2020. Management of treatment-resistant depression: Challenges and strategies. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 16, 221–234.

<https://doi.org/10.2147/NDT.S198774>

Wang, X., Michaelis, E.K., 2010. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Front. Aging Neurosci.* 2, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2010.00012>

Weng, L., Guo, X., Li, Y., Yang, X., Han, Y., 2016. Apigenin reverses depression-like behavior induced by chronic corticosterone treatment in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 774, 50–54. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.01.015>

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020. Depression – Fact sheets.  
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>.

Yoshimura, R., Hori, H., Ikenouchi-Sugita, A., Umene-Nakano, W., Ueda, N., Nakamura, J., 2009. Higher plasma interleukin-6 (IL-6) level is associated with SSRI- or SNRI-refractory depression. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 33, 722–726. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.03.020>

Zhao, Y., Shang, P., Wang, M., Xie, M., Liu, J., 2020. Neuroprotective Effects of Fluoxetine Against Chronic Stress-Induced Neural Inflammation and Apoptosis: Involvement of the p38 Activity. *Front. Physiol.* 11, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00351>

Zhao, Y.W., Pan, Y.Q., Tang, M.M., Lin, W.J., 2018. Blocking p38 signaling reduces the activation of pro-inflammatory cytokines and the phosphorylation of p38 in the habenula and reverses depressive-like behaviors induced by neuroinflammation. *Front. Pharmacol.* 9, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00511>

## 5 DISCUSSÃO GERAL

Há muitas lacunas não esclarecidas a respeito da fisiopatologia da DM, assim como ainda há dúvidas sobre quais mecanismos interferem na resistência farmacológica na DRT. Em vista disso, nesse trabalho investigamos se alterações oxidativas e inflamatórias estão envolvidas em uma menor resposta a fluoxetina. Para isso, utilizamos o protocolo de administração crônica de corticosterona (ACC) para induzir comportamento tipo-depressivo. Durante o protocolo de indução, um grupo de animais recebeu a administração de fluoxetina por 14 dias. Com base nos resultados no TSC, foi possível selecionar dois subgrupos: aqueles que apresentaram um tempo de imobilidade menor no TSC (ou seja, apresentaram uma resposta adequada ao tratamento – BRA) e aqueles que apresentaram um tempo de imobilidade maior no TSC (ou seja, apresentaram uma menor resposta ao antidepressivo – RT).

Primeiramente, observamos que a ACC induziu comportamento tipo-depressivo, além do comportamento tipo-ansioso nos animais. Este resultado está de acordo com estudos anteriores, uma vez que há hipercortisolemia, decorrente de alterações funcionais do eixo HPA, em pacientes com DM (LISIECKA et al. 2013). Além disso, em modelos animais, os níveis de corticosterona está elevado em camundongos que apresentam comportamento tipo-depressivo/ansioso, sendo a administração crônica deste hormônio capaz de mimetizar estresse crônico, servindo como um modelo de indução de DM (KINLEIN et al. 2015; WENG et al. 2016; PLANCHEZ; SURGET e BELZUNG, 2019). Além disso, foi demonstrado que os animais RT apresentaram comportamento tipo-ansioso quando comparados aos grupos controle e BRA.

Em relação aos fatores oxidativos, observamos que os animais RT apresentaram maiores níveis  $H_2O_2$  e menores níveis de um importante agente antioxidante, a CAT, no hipocampo. Em contrapartida, a atividade da enzima NADPH oxidase, geradora de  $O_2^{\cdot-}$ , mostrou-se aumentada nos animais com boa resposta antidepressiva. Especulamos que este achado pode ser uma resposta adaptativa ao aumento dos níveis de  $H_2O_2$  observados no grupo RT. De forma geral, nossos resultados sugerem que uma menor atividade da CAT promova uma maior formação de  $H_2O_2$ , especialmente no hipocampo. Pereira e colaboradores (2020) demonstraram em um modelo animal que a apocinina, um potente antioxidante e inibidor da NADPH oxidase, foi capaz de reverter o comportamento tipo-depressivo. Gomes et al. (2009) sugerem que agentes antioxidantes, vitaminas C e E associadas, têm o potencial de produzir efeitos benéficos tanto em pacientes portadores de DM sensível aos agentes antidepressivos convencionais como em pacientes resistentes a estes fármacos.

Apesar de estudos indicarem que as citocinas inflamatórias estão associadas à DM e também à DRT, não se sabe exatamente como e nem quais delas participam ativamente do processo. Neste estudo, demonstramos que os níveis de IFN- $\gamma$  e IL-17 estavam aumentados no soro dos animais resistentes à fluoxetina, enquanto não observamos alterações significativas sobre a IL-2 e a IL-4. KIM et al. (2019) observaram, em um modelo animal, que o estresse leve cumulativo foi capaz de induzir a elevação de IL-17, sugerindo que ela está envolvida no comportamento do tipo depressivo. A IL-17 também já foi sugerida como um marcador de piora na resposta à monoterapia antidepressiva, na qual os pacientes que apresentam maiores níveis dela, têm uma menor redução dos sintomas (JHA et al. (2017).

Outro parâmetro avaliado entre as subpopulações foi o nível sérico de corticosterona, e apesar de muitos estudos reforçarem a sua conexão com a DM e o comportamento do tipo depressivo em animais, também há resultados divergentes. Nós não observamos diferenças significativas sobre os níveis de corticosterona entre os animais resistentes e com boa resposta ao tratamento antidepressivo. No entanto, Galvão et al. (2018) observou hipercortisolemia em pacientes com DRT. Por outro lado, Markopouou et al. (2021) não demonstraram diferenças significantes nos níveis de cortisol de pacientes saudáveis e DRT. Ventura-Juncá et al. (2014) observaram que animais portadores do polimorfismo rs242939 do gene CRHR1 apresentaram resposta precoce ao tratamento de fluoxetina, mas não constataram relação entre os níveis de cortisol e os polimorfismos estudados.

Assim, nossos achados sugerem que uma menor resposta à fluoxetina está relacionada a um desequilíbrio oxidativo hipocampal, bem como a um aumento periférico nos níveis de IL-17 e IFN- $\gamma$ , sugerindo que esses elementos possam ser alvos importantes no tratamento da DRT. Embora ainda sejam necessários mais estudos à respeito de como esses processos interferem detalhadamente na resistência farmacológica.



## 6 CONCLUSÕES

- A administração crônica de corticosterona (ACC) foi capaz de induzir comportamento tipo -depressivo e tipo-ansioso nos animais;
- Os animais que apresentaram uma resposta diminuída a fluoxetina (RT) demonstraram um comportamento tipo-ansioso quando comparado aos grupos controle e BRA.
- Os animais do grupo RT apresentaram maiores níveis de  $H_2O_2$  e menor atividade da catalase quando comparados ao grupo BRA.
- A IL-17 e o IFN- $\gamma$  parecem estar envolvidos na resistência à fluoxetina, uma vez que os animais do grupo RT apresentaram maiores níveis periféricos dessas citocinas;
- Uma menor resposta à fluoxetina parece estar mais envolvida com a presença de processos inflamatórios e oxidativos que com nível sérico de corticosterona.

## REFERÊNCIAS

- ABELAIRA, Helena M. et al. Neuroimmunomodulation in depression: a review of inflammatory cytokines involved in this process. **Neurochemical research**, v. 39, n. 9, p. 1634-1639, 2014. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11064-014-1372-5>> Acesso em: 12 ago 2021. DOI: 10.1007/s11064-014-1372-5
- ATHIRA, K.V. et al. Antidepressant activity of vorinostat is associated with amelioration of oxidative stress and inflammation in a corticosterone-induced chronic stress model in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 344, p. 73-84, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29452193>>. Acesso em: 25 jul 2020. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.02.009
- ANISMAN, H.; MATHESON, K. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4-5, p. 525-546, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15925696>>. Acesso em: 20 maio 2020. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2005.03.007
- BAI, Y. et al. Antidepressant effects of magnolol in a mouse model of depression induced by chronic corticosterone injection. **Steroids**, v. 135, p. 73-78, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29555480>>. Acesso em: 4 jul. 2020. DOI: 10.1016/j.steroids.2018.03.005.
- BERGSTRÖM, Anders et al. Molecular pathways associated with stress resilience and drug resistance in the chronic mild stress rat model of depression—a gene expression study. **Journal of molecular neuroscience**, v. 33, n. 2, p. 201-215, 2007. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12031-007-0065-9>> Acesso em: 29 ago 2021. DOI: 10.1007/s12031-007-0065-9
- BERLIM, Marcelo T.; TOVAR-PERDOMO, Santiago; FLECK, Marcelo PA. Treatment-resistant major depressive disorder: current definitions, epidemiology, and assessment. **Treatment-Resistant Mood Disorders**, p. 1-12, 2015. Disponível em: <<http://ndl.ethernet.edu.et/bitstream/123456789/34238/1/2839.pdf#page=16>> Acesso em: 4 jul. 2020.
- BERTON, O. AND E. J. NESTLER. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Nat Rev Neurosci**, v.7, n.2, p137- 151, 2006. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrn1846>> Acesso em: 23 ago 2021. DOI: 10.1038/nrn1846
- BROMET, E. et al. Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. **BMC medicine**, v. 9, n. 1, p. 90, 2011. Disponível em: <<https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7015-9-90>>. Acesso em: 22 jul. 2020. DOI: 10.1186/1741-7015-9-90.
- BSCHOR, Tom et al. Impact of citalopram on the HPA system. A study of the combined DEX/CRH test in 30 unipolar depressed patients. **Journal of psychiatric research**, v. 46, n. 1, p. 111-117, 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022395611002251>> Acesso em: 22 jul 2021. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2011.09.020

BLUME, J.; DOUGLAS, S. D.; EVANS, D. L. Immune suppression and immune activation in depression. **Brain, behavior, and immunity**, v. 25, n. 2, p. 221-229, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3025086/>>. Acesso em: 12 jul. 2020. DOI: 10.1016/j.bbi.2010.10.008.

CAMPBELL, Stephanie; MACQUEEN, Glenda. The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. **Journal of psychiatry & neuroscience**, 2004. Disponível em: <<https://psycnet.apa.org/record/2005-02137-002>> Acesso em: 12 jul 2021. DOI: 10.1037/t01554-000

CARROL, B. J. et al. Pathophysiology of hypercortisolism in depression. **Acta psychiatrica Scandinavica**, v. 433, p. 90-103, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17280575>>. Acesso em: 26 jul 2020. DOI: 10.1111/j.1600-0447.2007.00967

CARVALHO, L. A. et al. Lack of clinical therapeutic benefit of antidepressants is associated overall activation of the inflammatory system. **Journal of affective disorders**, v. 148, n. 1, p. 136-140, 2013. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032712007331?casa\\_token=rDIN0b1Y58wAAAAA:7CGfi2g1AsOjEHxOriHHL65rY6bwAAV6m5PFE7POk4XuFalbNiizxEnxI74MNGQeTwu0v-GM6g](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032712007331?casa_token=rDIN0b1Y58wAAAAA:7CGfi2g1AsOjEHxOriHHL65rY6bwAAV6m5PFE7POk4XuFalbNiizxEnxI74MNGQeTwu0v-GM6g)> Acesso em: 26 jul 2020. DOI: 10.1016/j.jad.2012.10.036

CASTRÉN, E., KOJIMA, M., 2017. Brain-derived neurotrophic factor in mood disorders and antidepressant treatments. **Neurobiology of Disease**, v. 97, 119-126, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27425886>>. Acesso em: 23 mai. 2020. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.07.010.

CHAMBERLAIN, Samuel R. et al. Treatment-resistant depression and peripheral C-reactive protein. **The British Journal of Psychiatry**, v. 214, n. 1, p. 11-19, 2019. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/the-british-journal-of-psychiatry/article/treatment-resistant-depression-and-peripheral-creactive-protein/D23E125023396A714C7AAB8372FA3155>> Acesso em: 25 ago 2021. DOI: 10.1192/bjp.2018.66

CHESNEY, E.; GOODWIN, G. M.; FAZEL, S. Risks of all-cause and suicide mortality in mental disorders: a meta-review. **World psychiatry**, v. 13, n. 2, p. 153-160, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24890068>>. Acesso em: 15 jul 2020. DOI: 10.1002/wps.20128.

CHIU, L. Y. L. et al. The relationship between burnout and depressive symptoms in patients with depressive disorders. **Journal of Affective Disorders**, v. 172, p. 361-366, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016503271400651X?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 jul 2020. DOI: 10.1016/j.jad.2014.10.029.

CHIU, W. C. et al. Recurrence of depressive disorders after interferon-induced depression. **Translational Psychiatry**, v. 7, n. 2, p. e1026, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28170005>>. Acesso em: 18 ago 2020. DOI: 10.1038/tp.2016.274.

CHROUSOS, G. P.; GOLD, P. W. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. **JAMA**, v. 267, n. 9, p. 1244-1252, 1992. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1538563>>. Acesso em: 24 jul 2020. DOI: 10.1001/jama.1992.03480090092034.

DAHL, J. et al. The plasma levels of various cytokines are increased during ongoing depression and are reduced to normal levels after recovery. **Psychoneuroendocrinology**, v. 45, p. 77-86, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24845179>>. Acesso em: 10 maio 2019. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2014.03.019.

DANTZER, R., Kelley, K.W., 2007. Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. **Brain. Behav. Immun.** 21, 153–160. Disponível em : <<https://www.sciencedirect.com/science/article/>> Acesso em: 16 jun 2021. tdJMBjNm7B5HwDOI:10.1016/j.bbi.2006.09.006

DANTZER, R., O'Connor, J.C., Freund, G.G., Johnson, R.W., Kelley, K.W., 2008. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nat. Rev. Neurosci.** 9, 46–56. DOI:10.1038/nrn2297

DAVID, D. J. et al. Neurogenesis-dependent and independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. **Neuron**. v. 62, p. 479-493, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19477151>>. Acesso em: 15 mai. 2020. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.04.017

DAVIES, Philippa et al. Pharmacological interventions for treatment-resistant depression in adults. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 12, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6916711/>> Acesso em: 15 jun 2021. DOI: 10.1002/14651858.CD010557.pub2

DE SOUSA, Rafael T. et al. Challenging treatment-resistant major depressive disorder: a roadmap for improved therapeutics. **Current neuropharmacology**, v. 13, n. 5, p. 616-635, 2015. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4761633/>> Acesso em: 20 jul 2020. DOI: 10.2174/1570159X13666150630173522

DE SOUZA, Juliet Araújo et al. Pre-weaning maternal separation increases eating later in life in male and female offspring, but increases brainstem dopamine receptor 1a and 2a only in males. **Appetite**, v. 123, p. 114-119, 2018. Disponível em:< <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195666317313892> > Acesso em: 22 ago 2021. DOI: 10.1016/j.appet.2017.12.004

DIAS, V.; JUNN, E.; MOURADIAN, M. M. The role of oxidative stress in parkinson's disease. **Journal of Parkinson's Disease**, 2013.

D'MELLO, Charlotte; LE, Tai; SWAIN, Mark G. Cerebral microglia recruit monocytes into the brain in response to tumor necrosis factor $\alpha$  signaling during peripheral organ inflammation. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 7, p. 2089-2102, 2009. Disponível em: <<https://www.jneurosci.org/content/29/7/2089.shot>> Acesso em: 25 ago 2021. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3567-08.2009

DOWLATI, Y. et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. **Biological Psychiatry**, v. 67, n. 5, p. 446-457, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20015486>>. Acesso em: 29 mai. 2020. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.09.033.

DUMAN, R. S. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. **European psychiatry**, v. 17, p. 306-310, 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15177086>>. Acesso em: 24 maio 2020. DOI: 10.1016/S0924-9338(02)00654-5.

DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biological psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1116-1127, 2006. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322306002319?casa\\_token=-HuFx7qav00AAAAA:UTztyYew-0bsSSn2acictXJFjiIGdSGK0dYy92\\_MJpV5POqra0xIS0-nR7BcvNcEHuZbYQB2AA](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322306002319?casa_token=-HuFx7qav00AAAAA:UTztyYew-0bsSSn2acictXJFjiIGdSGK0dYy92_MJpV5POqra0xIS0-nR7BcvNcEHuZbYQB2AA)> Acesso em: 15 jun 2021. DOI: 10.1016/j.biopsych.2006.02.013

DUMAN, R. S.; VOLETI, B. Signaling pathways underlying the pathophysiology and treatment of depression: novel mechanisms for rapid-acting agents. **Trends in neurosciences**, v. 35, n. 1, p. 47-56, 2012.

DUSI, N. et al. Brain Structural Effects of Antidepressant Treatment in Major Depression. **Current Neuropharmacology**, v. 13, p. 458–465, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4790407/>>. Acesso em: 12 mai. 2020. doi: 10.2174/1570159X1304150831121909.

DIAGNOSTIC, A. P. A. statistical manual of mental disorders,(DSM-5) Washington. **DC: Author**, 2013.

ELLER, Triin et al. Pro-inflammatory cytokines and treatment response to escitalopram in major depressive disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 32, n. 2, p. 445-450, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278584607003442>> Acesso em: 26 jun 2021. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2007.09.015

EMERY, P. C.; WILSON, K. G.; KOWAL, J. Major depressive disorder and sleep disturbance in patients with chronic pain. **Pain Research and Management**, v. 19, n. 1, p. 35-41, 2014. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24367795>>. Acesso em: 27 jul 2020.

ETKIN, A. et al. A cognitive–emotional biomarker for predicting remission with antidepressant medications: a report from the iSPOT-D trial. **Neuropsychopharmacology**, v. 40, n. 6, p. 1332, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25547711>>. Acesso em: 05 jul 2020. DOI: 10.1038/npp.2014.333.

FELGER, Jennifer C. et al. Effects of interferon-alpha on rhesus monkeys: a nonhuman primate model of cytokine-induced depression. **Biological psychiatry**, v. 62, n. 11, p. 1324-1333, 2007. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322307005227?casa\\_token=wn9bwinN6UQAAAAA:kimrSiJMkRkfuS5nXfdxAqSb3v-CsUa1vYMt3UGAIECoseNipEqI-OD0o7Hlc17EyKLexh0g\\_g](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322307005227?casa_token=wn9bwinN6UQAAAAA:kimrSiJMkRkfuS5nXfdxAqSb3v-CsUa1vYMt3UGAIECoseNipEqI-OD0o7Hlc17EyKLexh0g_g)> Acesso em: 12 ago 2021. DOI: 10.1016/j.biopsych.2007.05.026

FLINT, A. J. et al. Abnormal speech articulation, psychomotor retardation, and subcortical dysfunction in major depression. **Journal of Psychiatric Research**, 1993.

FOUNTOULAKIS, K. N. Pharmaceutical treatment of acute bipolar depression. *F1000 Medicine Reports*, v. 2, 2010. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002239569390041Y>> Acesso em: 25 ago 2021. DOI: /10.1016/0022-3956(93)90041-Y

GAFFEY, A. E. et al. Aging and the HPA axis: Stress and resilience in older adults.

**Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 68, p. 928-945, 2016. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27377692>>. Acesso em: 25 jun 2020. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.05.036.

GALVÃO, Ana C. et al. Cortisol modulation by ayahuasca in patients with treatment resistant depression and healthy controls. **Frontiers in psychiatry**, v. 9, p. 185, 2018. Disponível em:<

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyt.2018.00185/full>> Acesso em: 22 jun 2021. DOI: 10.3389/fpsyt.2018.00185

GARDNER, Ann; BOLES, Richard G. Beyond the serotonin hypothesis: mitochondria, inflammation and neurodegeneration in major depression and affective spectrum

disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 3, p. 730-743, 2011. Disponível em: <

[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584610002964?casa\\_token=uYQP0knQ7OgAAAAA:j0noMhwpSIBH4qfy-qrYi1YCpm5z9F3gUqjZNejdh\\_T1S9EuACi-C81ob2CrSOpEiIcUxa-wA](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584610002964?casa_token=uYQP0knQ7OgAAAAA:j0noMhwpSIBH4qfy-qrYi1YCpm5z9F3gUqjZNejdh_T1S9EuACi-C81ob2CrSOpEiIcUxa-wA)> Acesso em: 19 jul 2021. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.07.030

GELENBERG, A. J. et al. American psychiatric association practice guideline for the

treatment of patients with major depressive disorder. **Am J Psychiatry**, v. 167, n. Suppl 10, p. 9-118, 2010. Disponível em: <

[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/44809470/Complementary\\_and\\_Alternative\\_Medicine\\_i20160416-19126-1d1hefh.pdf?146086752](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/44809470/Complementary_and_Alternative_Medicine_i20160416-19126-1d1hefh.pdf?146086752)> Acesso em: 25 jun 2021.

GULYAEVA, N. V. Interplay between brain BDNF and glutamatergic systems: a brief state of the evidence and association with the pathogenesis of depression. **Biochemistry**

(**Moscow**), v. 82, n. 3, p. 301-307, 2017. Disponível em: <

<https://link.springer.com/article/10.1134/S0006297917030087>> Acesso em: 22 ago 2021. DOI: 10.15761/TBR.1000107.

GOMES, Patricia Helena Zanier. Atividade antidepressiva de agentes antioxidantes em um modelo animal de depressão resistente a antidepressivos. 2008. Disponível em:<

<https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/8995>> Acesso em: 28 ago 2021.

GOTLIB, Ian H. et al. HPA axis reactivity: a mechanism underlying the associations among 5-HTTLPR, stress, and depression. **Biological psychiatry**, v. 63, n. 9, p. 847-851, 2008.

Disponível em:< [www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322307009912](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322307009912)> Acesso em: 24 ago 2021. DOI: 10.1016/j.biopsych.2007.10.008

GULYAEVA, N. V. Interplay between brain BDNF and glutamatergic systems: a brief state of the evidence and association with the pathogenesis of depression. **Biochemistry**

(**Moscow**), v. 82, n. 3, p. 301-307, 2017. Disponível em: <

<https://link.springer.com/article/10.1134/S0006297917030087>> Acesso em: 22 ago 2021.  
DOI: 10.15761/TBR.1000107.

HAN, Qianpeng et al. Microglia-derived IL-1 $\beta$  contributes to axon development disorders and synaptic deficit through p38-MAPK signal pathway in septic neonatal rats. **Journal of neuroinflammation**, v. 14, n. 1, p. 1-18, 2017. Disponível em:<  
<https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-017-0805-x>> Acesso em: 17 jul 2021. DOI: 10.1186/s12974-017-0805-x

HAROON, Ebrahim; RAISON, Charles L.; MILLER, Andrew H. Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behavior. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 1, p. 137-162, 2012. Disponível em:<  
<https://www.nature.com/articles/npp2011205>> Acesso em: 22 jul 2021. DOI: 10.1038/npp.2011.205

HE, Hao et al. NK cells promote neutrophil recruitment in the brain during sepsis-induced neuroinflammation. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2016. Disponível em:<  
<https://www.nature.com/articles/srep27711>> Acesso em: 26 jul 2021. DOI: 10.1038/srep27711

HINKELMANN, K. et al. Cognitive impairment in major depression: association with salivary cortisol. **Biological Psychiatry**, v. 66, n. 9, p. 879-885, 2009. Disponível em:<  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19709646>>. Acesso em: 26 jul 2020. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.06.023.

HIRSCHFELD, R. M. History and evolution of the monoamine hypothesis of depression. **J Clin Psychiatry**, v.61, n.6, p.4-6, 2000.

JACOBS, B. L., H. VAN PRAAG, et al. Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. **Molecular Psychiatry**, v.5, n.3, p. 262-269, 2000 Disponível em:<  
<https://www.nature.com/articles/4000712>> Acesso em: 15 ago 2021 DOI: 10.1038/sj.mp.4000712

JACOBSEN, J.P.R.; MEDVEDEV, I.O.; CARON, M.G. The 5-HT deficiency theory of depression: perspectives from a naturalistic 5-HT deficiency model, the tryptophan hydroxylase 2Arg439His knockin mouse. *Philosophical Transactions of Royal Society Biological Sciences*, v. 367, p. 2444–2459, 2012. Disponível em:<  
<https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rstb.2012.0109>> DOI: 10.1098/rstb.2012.0109

JHA, Manish K. et al. Interleukin 17 selectively predicts better outcomes with bupropion-SSRI combination: Novel T cell biomarker for antidepressant medication selection. **Brain, behavior, and immunity**, v. 66, p. 103-110, 2017. Disponível em:<  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5699207>> Acesso em: 21 jul 2021. DOI: 10.1016/j.bbi.2017.07.005

JANSSEN, Daisy JA et al. Symptoms of anxiety and depression in COPD patients entering pulmonary rehabilitation. **Chronic respiratory disease**, v. 7, n. 3, p. 147-157, 2010. Disponível em:<  
<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1479972310369285>> Acesso em: 12 jul 2021. DOI: 10.1177/1479972310369285

JEON, Sang Won; KIM, Yong Ku. Neuroinflammation and cytokine abnormality in major depression: cause or consequence in that illness?. **World journal of psychiatry**, v. 6, n. 3, p. 283, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC503192/>> Acesso em: 25 jul 2021. DOI: 10.5498/wjp.v6.i3.283

JIANG, Rong et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism interacts with gender to influence cortisol responses to mental stress. **Psychoneuroendocrinology**, v. 79, p. 13-19, 2017. Disponível em: < [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453016306369?casa\\_token=iyudO89CcHoAAAAA:O4wsQXprWQZ-SpKp2kToIVq6oookqmJRKOCyxKwKyldy76BqSDCOyJbio4wtCVJ18AVK6S0FDw](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453016306369?casa_token=iyudO89CcHoAAAAA:O4wsQXprWQZ-SpKp2kToIVq6oookqmJRKOCyxKwKyldy76BqSDCOyJbio4wtCVJ18AVK6S0FDw)> Acesso em: 15 ago 2021. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.02.005

KATO, T.A. et al. Missing and Possible Link between Neuroendocrine Factors, Neuropsychiatric Disorders, and Microglia. **Frontiers in Integrative Neuroscience**, v. 7, n. 53, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23874274>>. Acesso em: 22 jul. 2020. DOI: 10.3389/fnint.2013.00053.

KELLER, M. B., R. M. HIRSCHFELD, et al. Optimizing outcomes in depression: focus on antidepressant compliance. **International Clinical Psychopharmacol**, v.17, n.6, p.265-271, 2002. Disponível em: <[https://journals.lww.com/intclinpsychopharm/Abstract/2002/11000/Optimizing\\_outcomes\\_in\\_depression\\_\\_focus\\_on.1.aspx](https://journals.lww.com/intclinpsychopharm/Abstract/2002/11000/Optimizing_outcomes_in_depression__focus_on.1.aspx)> Acesso em: 23 ago 2021.

KESSLER, R. C. et al. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). **Jama**, v. 289, n. 23, p. 3095-3105, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12813115>>. Acesso em: 25 jul. 2020. DOI: 10.1001/jama.289.23.3095.

KHAIROVA, Rushaniya A. et al. A potential role for pro-inflammatory cytokines in regulating synaptic plasticity in major depressive disorder. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 12, n. 4, p. 561-578, 2009. Disponível em: < <https://academic.oup.com/ijnp/article/12/4/561/657745?login=true>> Acesso em: 12 jun 2021. DOI: 10.1017/S1461145709009924

KINLEIN, Scott A.; WILSON, Christopher D.; KARATSOREOS, Ilia N. Dysregulated hypothalamic–pituitary–adrenal axis function contributes to altered endocrine and neurobehavioral responses to acute stress. **Frontiers in psychiatry**, v. 6, p. 31, 2015. Disponível em:< <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2015.00031/full>> Acesso em: 12 jul 2021. DOI: 10.3389/fpsy.2015.00031

KIM, Jinho; SUH, Yoo-Hun; CHANG, Keun-A. Interleukin-17 induced by cumulative mild stress promoted depression-like behaviors in young adult mice. **Molecular brain**, v. 14, n. 1, p. 1-13, 2021. Disponível em:< <https://link.springer.com/article/10.1186/s13041-020-00726-x>> Acesso em: 15 jun 2021. DOI: 10.1186/s13041-020-00726-x

KITAMURA, Yoshihisa; ARAKI, Hiroaki; GOMITA, Yutaka. Influence of ACTH on the effects of imipramine, desipramine and lithium on duration of immobility of rats in the forced swim test. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 71, n. 1-2, p. 63-69, 2002.



Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305701006256?>>  
Acesso em: 12 ago 2021. DOI: 10.1016/S0091-3057(01)00625-6

KRISHNAN, Vaishnav; NESTLER, Eric J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, v. 455, n. 7215, p. 894-902, 2008. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nature07455>> Acesso em: 12 ago 2021. DOI: 10.1038/nature07455

KLINE, N.S. Clinical experience with iproniazid (Marsilid). **Journal of Clinical and Experimental Psychopathology**, v. 19, p. 72–78, 1958. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13549569/>> Acesso em: 02 ago 2021.

KLINEDINST, N. J., REGENOLD, W. T. A mitochondrial bioenergetic basis of depression. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 47, p. 155-171, 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10863-014-9584-6>> Acesso em: 26 jun 2021. DOI: 10.1016/j.pbb.2012.12.027

KRISHNAN, V.; NESTLER, E. J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, v. 455, n. 7215, p. 894, 2008. Disponível em: <[.nature.com/articles/nature07455](https://www.nature.com/articles/nature07455)> Acesso em: 24 jun 2021. DOI: 10.1038/nature07455.

KOPSCHINA FELTES, Paula et al. Anti-inflammatory treatment for major depressive disorder: implications for patients with an elevated immune profile and non-responders to standard antidepressant therapy. **Journal of Psychopharmacology**, v. 31, n. 9, p. 1149-1165, 2017. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0269881117711708>> Acesso em: 25 jun 2021; DOI: 10.1177/0269881117711708

KOSKENKORVA-FRANK, T. S. et al. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. **Free Radic Biol Med**, v. 65, p. 1174-1194, 2013.

LAPIN, I. Po; OXENKRUG, G. F. Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect. **The Lancet**, v. 293, n. 7586, p. 132-136, 1969. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673669911404](http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673669911404)> Acesso em: 24 jun 2021. DOI: 10.1016/S0140-6736(69)91140-4

LAUMET, Geoffroy et al. Resolution of inflammation-induced depression requires T lymphocytes and endogenous brain interleukin-10 signaling. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 13, p. 2597-2605, 2018. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41386-018-0154-1>> Acesso em: 5 jun 2021. DOI: 10.1038/s41386-018-0154-1

LEE, A. L., OGLE, W. O., SAPOLSKY, R. M. Stress and depression: possible links to neuron death in the hippocampus. **Bipolar Disorders**, v. 4, n. 2, p. 117-128, 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12071509>>. Acesso em: 29 ago. 2020. DOI: 10.1034/j.1399-5618.2002.01144.x.

LEDAY, Gwenaél GR et al. Replicable and coupled changes in innate and adaptive immune gene expression in two case-control studies of blood microarrays in major depressive disorder. **Biological psychiatry**, v. 83, n. 1, p. 70-80, 2018. Disponível em: <

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322317316177>> Acesso em: 10 ago 2021. DOI: 10.1016/j.biopsycho.2017.01.021

LEVINSTEIN, Marjorie R.; SAMUELS, Benjamin A. Mechanisms underlying the antidepressant response and treatment resistance. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 8, p. 208, 2014. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnbeh.2014.00208/full>> Acesso em: 15 jul 2021. DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00208

LI, Gang et al. A retrospective analysis to estimate the healthcare resource utilization and cost associated with treatment-resistant depression in commercially insured US patients. **PloS one**, v. 15, n. 9, p. e0238843, 2020. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0238843>> Acesso em: 12 jun 2021

LIEBERMAN, J.A. History of the Use of Antidepressants in Primary Care. Primary care companion. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 5, p. 6-10, 2003. Disponível em: <[https://www.psychiatrist.com/wp-content/uploads/2021/02/24793\\_history-antidepressants-primary-care.pdf](https://www.psychiatrist.com/wp-content/uploads/2021/02/24793_history-antidepressants-primary-care.pdf)> Acesso em: 20 jul 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0238843

LINDQVIST, Daniel et al. Oxidative stress, inflammation and treatment response in major depression. **Psychoneuroendocrinology**, v. 76, p. 197-205, 2017. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453016306862?casa\\_token=PbZDTK-AFjUAAAAA:vZtWB6W2zEV7JiXkR8MpR2Tq3eOWO10pmVu5wUJrQ8T\\_HOQIBJNsmqhrKcdK9RndutPJS7P0LQ](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453016306862?casa_token=PbZDTK-AFjUAAAAA:vZtWB6W2zEV7JiXkR8MpR2Tq3eOWO10pmVu5wUJrQ8T_HOQIBJNsmqhrKcdK9RndutPJS7P0LQ)> Acesso em: 12 ago 2021. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2016.11.031

LISIECKA, Danuta M. et al. Recruitment of the left hemispheric emotional attention neural network in risk for and protection from depression. **Journal of psychiatry & neuroscience: JPN**, v. 38, n. 2, p. 117, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3581592/>> Acesso em: 22 jun 2021. DOI: 10.1503/jpn.110188

LIU, Hui et al. Depression after myocardial infarction: TNF- $\alpha$ -induced alterations of the blood-brain barrier and its putative therapeutic implications. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 4, p. 561-572, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0149763413000390>> Acesso em 23 jun 2021. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2013.02.004.

LÓPEZ-MUÑOZ, F.; ALAMO, C. Monoaminergic neurotransmission: the history of the discovery of antidepressants from 1950s until today. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, p. 1563–1586, 2009. Disponível em: <<https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpd/2009/00000015/00000014/art00002>> DOI: 10.2174/138161209788168001

MACQUEEN, G. M. et al. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 3, p. 1387-1392, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12552118>>. Acesso em: 26 jul 2020. DOI: 10.1073/pnas.0337481100.

MAES, M. et al. Increased autoimmune responses against auto-epitopes modified by oxidative and nitrosative damage in depression: implications for the pathways to chronic depression and neuroprogression. **Journal of Affective Disorders**, v. 149, n. 1-3, p. 23-29, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22898471>>. Acesso em 20 ago 2020. DOI: 10.1016/j.jad.2012.06.039.

MARKOPOULOU, Kalypso et al. Comparison of hypothalamo-pituitary-adrenal function in treatment resistant unipolar and bipolar depression. **Translational psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2021. Disponível em:< <https://www.nature.com/articles/s41398-021-01343-5>> Acesso em: 27 jun 2021. DOI: 10.1038/s41398-021-01343-5

MICHEL, T. M.; PÜLSCHEN, D.; THOME, J. The role of oxidative stress in depressive disorders. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 36, p. 5890-5899, 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22681168>>. Acesso em: 20 jul. 2020. DOI: 10.2174/138161212803523554

MALHI, G. S.; MANN, J. J. Depression. **The Lancet**, v. 392, n. 10161, p. 2299-2312, 2018. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(18\)31948-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(18)31948-2/fulltext)>. Acesso em: 20 maio 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31948-2.

MILLER, Andrew H.; RAISON, Charles L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. **Nature reviews immunology**, v. 16, n. 1, p. 22-34, 2016. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/nri.2015.5>> Acesso em: 22 ago 2021. DOI: 10.1038/mp.2015.87

NEMEROFF, C. B. et al. Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. **Science**, v. 226, n. 4680, p. 1342-1344, 1984. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6334362>>. Acesso em: 26 jul 2020. DOI: 10.1126/science.6334362.

NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CLINICAL EXCELLENCE. Depression: the treatment and management of depression in adults (update). National Clinical Practice Guideline 90. Disponível em:< [www.nice.org.uk/CG9](http://www.nice.org.uk/CG9)>. Acesso em 6 abr 2021.

O'BRIEN, Sinead M. et al. Plasma cytokine profiles in depressed patients who fail to respond to selective serotonin reuptake inhibitor therapy. **Journal of psychiatric research**, v. 41, n. 3-4, p. 326-331, 2007. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022395606001117>>. Acesso em: 29 jun 2021. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2006.05.013.

O'LEARY, O. F. et al. Lithium augmentation of the effects of desipramine in a mouse model of treatment-resistant depression: a role for hippocampal cell proliferation. **Neuroscience**, v. 228, p. 36-46, 2013. Disponível em:< <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452212010032> > Acesso em: 15 jul 2021. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.09.072

PATEL, M. Targeting Oxidative Stress in Central Nervous System Disorders **Trends in Pharmacological Sciences**, 2016. Disponível em: < [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165614716300748?casa\\_token=Ope037](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165614716300748?casa_token=Ope037)

Tt3GkAAAAA:aTYpc07QHB8wHeNBp3SbUlesZocodqaWZFKyM64cbj2mkR7n4zPLhcAnhIyprMbCddF5YgF3Uw> Acesso em: 12 ago 2021. DOI: 10.1016/j.tips.2016.06.007

PEREIRA, Alberto M.; TIEMENSMA, Jitske; ROMIJN, Johannes A. Neuropsychiatric disorders in Cushing's syndrome. **Neuroendocrinology**, v. 92, n. Suppl. 1, p. 65-70, 2010. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2015.00129/full>> Acesso em: 15 jun 2021. DOI: 10.1159/000314317

PEREIRA, Gabriele Cheiran et al. Apocynin as an antidepressant agent: in vivo behavior and oxidative parameters modulation. **Behavioural brain research**, v. 388, p. 112643, 2020. Disponível em:< <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432820303429>> Acesso em: 15 jun 2021. DOI: 10.1016/j.bbr.2020.112643

PHAM-HUY, L.A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **Int J Biomed Sci**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PILON, Dominic et al. Burden of treatment-resistant depression in Medicare: a retrospective claims database analysis. **PloS one**, v. 14, n. 10, p. e0223255, 2019. Disponível em:< <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0223255>> Acesso em: 24 ago 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0223255

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523415300039>> Acesso em: 19 ago 2021. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040

PITTENGER, Christopher; DUMAN, Ronald S. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 1, p. 88-109, 2008. Disponível em:< <https://www.nature.com/articles/1301574>> Acesso em: 18 ago 2021. DOI: 10.1038/sj.npp.1301574

PLANCHEZ, Barbara; SURGET, Alexandre; BELZUNG, Catherine. Animal models of major depression: drawbacks and challenges. **Journal of Neural Transmission**, v. 126, n. 11, p. 1383-1408, 2019. Disponível em:< <https://link.springer.com/article/10.1007/s00702-019-02084-y>> Acesso em: 25 ago 2021. DOI: 10.1016/j.biopsych.2009.08.038

POGGIAL, A. [On the treatment of depressive states with an iminodibenzyl derivative (G 22355, trofanil). (Review with personal contribution)]. **Sistema Nervoso**, v. 12, p. 154-72, 1960. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14433640/>> DOI: 10.1007/BF00407438

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/266730a0>>. Acesso em: 7 ago 2020. DOI: 10.1038/266730a0

RAINER, Q. et al. Beneficial behavioural and neurogenic effects of agomelatine in a model of depression/anxiety. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 15, n. 3, p. 321-335, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21473810>>. Acesso em: 25 ago. 2020. DOI: 10.1017/S1461145711000356.

RAISON, Charles L.; CAPURON, Lucile; MILLER, Andrew H. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. **Trends in immunology**, v. 27, n. 1, p. 24-31, 2006. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471490605002887?casa\\_token=MgTknOVA2DwAAAAA:hub\\_C5o8fu78i6m8X8SulLSazZ-aGrcFIO1BG6UTpw\\_6qnZPX1CCartCfvQopzs3XwvQVliX\\_A](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471490605002887?casa_token=MgTknOVA2DwAAAAA:hub_C5o8fu78i6m8X8SulLSazZ-aGrcFIO1BG6UTpw_6qnZPX1CCartCfvQopzs3XwvQVliX_A)> Acesso em: 22 ago 2021. DOI: 10.1016/j.it.2005.11.006

RICE, Frances; HAROLD, Gordon; THAPAR, Anita. The genetic aetiology of childhood depression: a review. **Journal of child Psychology and Psychiatry**, v. 43, n. 1, p. 65-79, 2002. Disponível em: <<https://acamh.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1469-7610.00004>> />. Acesso em 19 jul 2021 DOI: 10.1111/1469-7610.00004

ROSENBLAT, Joshua D. et al. Inflamed moods: a review of the interactions between inflammation and mood disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 53, p. 23-34, 2014. Disponível em: <<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0278584614000141> > Acesso: 19 jul 2020. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.01.

SALIM, Samina. Oxidative stress and the central nervous system. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 360, n. 1, p. 201-205, 2017. Disponível em: <<https://jpet.aspetjournals.org/content/360/1/201.abstract>> Acesso em: 12 jul 2021. DOI: 0.1124/jpet.116.237503

SCHILDKRAUT, Joseph J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **American journal of Psychiatry**, v. 122, n. 5, p. 509-522, 1965. Disponível em: <<https://ajp.psychiatryonline.org/doi/abs/10.1176/ajp.122.5.509>> Acesso em: 22 ago 2021. DOI: 10.1176/ajp.122.5.509

SEEDAT, S. et al. Cross-national associations between gender and mental disorders in the WHO World Mental Health Surveys. **Archives Of General Psychiatry**, v. 66, n. 7, p. 785-795, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2810067/>>. Acesso em: 20 maio 2020. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.36.

SOUERY, Daniel et al. Treatment-resistant depression. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 67, p. 16, 2006. Disponível em:< [https://www.psychiatrist.com/wp-content/uploads/2021/02/18423\\_treatment-resistant-depression.pdf](https://www.psychiatrist.com/wp-content/uploads/2021/02/18423_treatment-resistant-depression.pdf)> Acesso em: 19 jul 2021

STERU, L. et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, p. 367-370, 1985. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3923523>>. Acesso em: 24 abr. 2019. DOI: 10.1007/BF00428203

SKOOG, I. Psychiatric disorders in the elderly. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 56, n. 7, p. 387-397, 2011. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/070674371105600702>>. Acesso em: 13 jul 2020. DOI: 10.1177/070674371105600702.

TOKITA, K. et al. Depressive-like behavior in adrenocorticotrophic hormone-treated rats blocked by memantine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 102, n. 2, p. 329-334, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22609796>>. Acesso em: 26 jul 2020. DOI: 10.1016/j.pbb.2012.05.007.

RUHE, H. G, Mason, N., S, & Schene, A., H.(2007). Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: A meta-analysis of monoamine depletion studies. **Molecular Psychiatry**, v. 12, p. 331-359.

THASE, M. E. Effectiveness of antidepressants: comparative remission rates." **J Clin Psychiatry**, 64 Suppl 2: 3-7, 2003. Disponível em: <[https://www.psychiatrist.com/wp-content/uploads/2021/02/24581\\_effectiveness-antidepressants-comparative-remission.pdf](https://www.psychiatrist.com/wp-content/uploads/2021/02/24581_effectiveness-antidepressants-comparative-remission.pdf)> Acesso em: 12 ago 2021.

THASE, Michael E. Therapeutic alternatives for difficult-to-treat depression: a narrative review of the state of the evidence. **CNS spectrums**, v. 9, n. 11, p. 808-821, 2004. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/cns-spectrums/article/abs/therapeutic-alternatives-for-difficulttotreat-depression-a-narrative-review-of-the-state-of-the-evidence/D8C93BC1BCC9C2F60FAE0C5E455F8E61>> Acesso em: 12 out. 2020. DOI: 10.1017/s1092852900002236

VALKO, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem Biol Interact**, v. 160, n. 1, p. 1-40, 2006.

VENNETI, Sriram; LOPRESTI, Brian J.; WILEY, Clayton A. The peripheral benzodiazepine receptor (translocator protein 18 kDa) in microglia: from pathology to imaging. **Progress in neurobiology**, v. 80, n. 6, p. 308-322, 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301008206001316> >. Acesso: 15 ago 2020. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2006.10.002.

VENNETI, Sriram; LOPRESTI, Brian J.; WILEY, Clayton A. Molecular imaging of microglia/macrophages in the brain. **Glia**, v. 61, n. 1, p. 10-23, 2013. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/glia.22357>> Acesso: 15 ago 2020. DOI: 10.1002/glia.22357

VENTURA-JUNCÁ, Raúl et al. Relationship of cortisol levels and genetic polymorphisms to antidepressant response to placebo and fluoxetine in patients with major depressive disorder: a prospective study. **BMC psychiatry**, v. 14, n. 1, p. 1-13, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4149200/>> Acesso em: 12 ago 2021. DOI: 10.1186/s12888-014-0220-0

VIKTORIN, Alexander et al. Heritability of perinatal depression and genetic overlap with nonperinatal depression. **American Journal of Psychiatry**, v. 173, n. 2, p. 158-165, 2016. Disponível em: <<https://ajp.psychiatryonline.org/doi/full/10.1176/appi.ajp.2015.15010085>> DOI: 10.1176/appi.ajp.2015.15010085

WENG, Lianjin et al. Apigenin reverses depression-like behavior induced by chronic corticosterone treatment in mice. **European journal of pharmacology**, v. 774, p. 50-54, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299916300152>> Acesso em: 17 ago 2021. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.01.015

WIGNER, P. et al. Oxidative and nitrosative stress as well as the tryptophan catabolites pathway in depressive disorders. **Psychiatria Danubina**, v. 29, n. 4, p. 394-400, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29197195>>. Acesso em: 18 ago. 2020. DOI: 10.24869/psyd.2017.394

WIMBISCUS, M.; KOSTENKO, O.; MALONE, D. MAO inhibitors: Risks, benefits, and lore. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v. 77, p. 859-882, 2010. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/med/21147941>>

WONG, D.T.; PERRY, K.W.; BYMASTER, F.P. Case history: the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, p. 764-74, 2005. Acesso dia 04 de mai. 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrd1821>> DOI: 10.1038/nrd1821

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016. Suicide. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/suicide/en/>>. Acesso em 19 jul 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017. Depression and other common mental disorders: global health estimates. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf?sequence=1>. Acesso dia 04 de mai. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018. Depression – Fact sheets. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em: 7 maio 2020.

ZELLER, E.A. Amine oxidases: inhibition of monoamine oxidase by 1- isonicotinyl-2-thiumispropyl hydrazine. **Journal of Biological Chemistry**, v. 214, p. 267–274, 1955. Disponível em: <[https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)70965-4/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)70965-4/pdf)> Acesso em: 19 jul 2021.

## ANEXO



Comissão de Ética no Uso de Animais

de  
Universidade Federal de Santa Maria

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "ENVOLVIMENTO DO CANAL TRPA1 NA FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO EM CAMUNDONGOS", protocolada sob o CEUA nº 7698200617 (in vivo), sob a responsabilidade de **Guilherme Vargas Bochi** e equipe; **Gabriela Trevisan dos Santos; Patrícia Severo do Nascimento; Rafael Neal Moreaco** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM) na reunião de 25/06/2017.

We certify that the proposal "TRPA1 CHANNEL INVOLVEMENT IN PATHOPHYSIOLOGY OF DEPRESSION IN MICE", utilizing 192 heterogenic mice (192 males), protocol number CEUA 7698200617 (in vivo), under the responsibility of **Guilherme Vargas Bochi** and team; **Gabriela Trevisan dos Santos; Patrícia Severo do Nascimento; Rafael Neal Moreaco** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM) in the meeting of 06/06/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2017** a **12/2021**

Área: **Farmacologia**

Origem: **Biotério Central UFSM**

Espécie: **Camundongo heterogênicos**

sexo: **Marfuro**

Idade: **45 a 60 dias**

N: **192**

Linagem: **Swiss**

Peso: **20 a 30 g**

Local do experimento: **Laboratório de Pesquisa Experimental da Fisiopatologia da Dor.**

Santa Maria, 23 de novembro de 2021

Prof. Dra. Patrícia Severo do Nascimento  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho  
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Santa Maria