

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA E BIOFÍSICA

MAÍLLO SOUZA DE OLIVEIRA

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE AGOMELATINA SOBRE
COMPORTAMENTOS RELACIONADOS A DEPRESSÃO DE RATAS
SUBMETIDAS AO TESTE DO NADO FORÇADO**

NATAL/RN
2019

MAÍLLO SOUZA DE OLIVEIRA

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE AGOMELATINA SOBRE
COMPORTAMENTOS RELACIONADOS A DEPRESSÃO DE RATAS
SUBMETIDAS AO TESTE DO NADO FORÇADO**

Monografia Apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Rio Grande do Norte, como
Requisito Parcial à Obtenção do Título de
Bacharel em Ciências Biológicas.
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Vanessa de Paula
Soares Rachetti.

NATAL/RN
2019

MAÍLLO SOUZA DE OLIVEIRA

**EFEITOS DA AGOMELATINA SOBRE O
COMPORTAMENTO DE RATAS SUBMETIDAS AO
TESTE DO NADO FORÇADO**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado
por todos os membros da Banca examinadora,
aceito pelo Curso de Ciências Biológicas e
homologado pelos membros da banca, como
requisito parcial à obtenção do título de:

BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Natal, 04 de dezembro de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Vanessa de Paula Soares Rachetti
(Departamento de Biofísica e Farmacologia – Centro de Biociências - UFRN)

Prof^o. Dr. Edilson Dantas da Silva Junior
(Departamento de Biofísica e Farmacologia - Centro de Biociências – UFRN)

Msc. Marana Ali Silveira
(Departamento de Fisioterapia – Centro de Ciências da Saúde – UFRN)

NATAL/RN
2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me cercar de pessoas que nunca se cansaram de lutar por mim e me fortalecer para que esse dia chegasse.

Agradeço à professora Vanessa de Paula Soares Rachetti por me receber em seu grupo de pesquisa e ter me dado a oportunidade de realizar esse trabalho mesmo depois de tantas pedras no caminho.

Aos componentes da banca examinadora por disponibilizarem o seu tempo e o seu conhecimento participando dessa etapa da minha formação.

A todos que conheci e fizeram parte da minha jornada dentro do Laboratório de Farmacologia Comportamental, em especial, sem tirar o mérito de nenhum dos aqui não citados, a Alana Ceres e Ana Clara Gomes por me receberem e dividirem comigo o seu conhecimento, seu tempo e os seus grupos experimentais.

Agradeço a Marana Ali por me acompanhar desde a entrada no laboratório ensinando e me acompanhando em todas as etapas da parte prática até a escrita deste trabalho, sua participação foi incalculável e apesar de não oficial você foi uma ótima co-orientadora.

Aos amigos que fizeram o caminho da graduação comigo e estão tão felizes quanto eu com a finalização dessa etapa.

Agradeço também aos meus pais e demais familiares que me apoiaram, cada um do seu jeito, e torceram para que esse momento chegasse.

RESUMO

A agomelatina, um antidepressivo não convencional utilizado na prática clínica é um composto que atua como agonista em receptores de melatonina e como antagonista serotoninérgico, e vem sendo apontado em estudos clínicos e pré-clínicos como uma nova alternativa para o tratamento dessa patologia. Porém ainda são poucos os trabalhos realizados com o gênero feminino, que segundo estimativas mundiais é afetado duas vezes mais que o gênero masculino quando se trata do distúrbio depressivo. O objetivo do presente estudo foi avaliar se a administração de agomelatina altera respostas comportamentais relacionadas à depressão em ratas submetidas ao teste do nado forçado. Para isso utilizamos ratas Wistar com aproximadamente 90 dias de idade, que foram submetidas a administração por gavagem de agomelatina (50 mg/Kg) dissolvida em solução salina (NaCl 0,9%) por 24 dias. Foi acompanhado o ciclo estral das ratas através do esfregaço vaginal, para a avaliação da atividade locomotora foi utilizado o teste do campo aberto e a avaliação dos comportamentos do tipo depressivo foi realizada através do teste do nado forçado. Os resultados demonstram que não houve alteração significativa da locomoção das ratas e que a dose de 50 mg/kg alterou significativamente os parâmetros do teste do nado forçado aumentando a imobilidade e diminuindo o climbing resultado que sugere um efeito do tipo depressivo. Os dados obtidos neste estudo pré-clínico aparecem em discordância com os dados da literatura sobre a agomelatina, principalmente na dose de 50 mg/Kg, ampliando a necessidade de investigação deste fármaco na pesquisa pré-clínica, principalmente envolvendo representantes do sexo feminino.

Palavras-chave: Agomelatina. Depressão. Nado forçado. Campo aberto. Fêmeas.

ABSTRACT

Agomelatine, an unconventional antidepressant used in clinical practice, is a compound that acts as a melatonin receptor agonist and a serotonergic antagonist, it has been pointed out in clinical and preclinical studies as a new alternative for treating this condition. However, there are still few studies with females, that according to some studies, are affected twice as much as males when it comes to depressive disorder. The aim of the present study was to evaluate whether the administration of agomelatine alters depression-related behavioral responses in rats undergoing forced swimming test. For this purpose we used female *Wistar* rats, approximately 90 days old, which were submitted to agomelatine administration (50 mg / kg/ gavage) dissolved in saline solution (0.9% NaCl) for 24 days. The estrous cycle of the rats was followed through the vaginal swab, for the evaluation of the locomotor activity the open field test was used and the evaluation of the depressive behaviors was performed through the forced swimming test. The results show that there was no significant change in female locomotion and that the 50 mg / kg dose significantly altered the forced swim test parameters increasing the immobility and decreasing the climbing results that suggests a depressive type effect. The data obtained in this preclinical study are in disagreement with the literature data on agomelatine, especially at the dose of 50 mg / kg, increasing the need for investigation of this drug in preclinical research, especially involving female representatives.

Keywords: Agomelatine. Depression. Forced swimming. Open field. Females.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeito (Média ± EPM) da administração crônica de agomelatina e do tratamento controle sobre a atividade locomotora de ratas submetidas ao teste do campo aberto, durante os 15 minutos (distância percorrida e velocidade média) (n= 7, por grupo).....	20
Tabela 2 – Fases do ciclo estral das fêmeas experimentais a partir do 15° dia de administração da agomelatina ou salina e durante a realização dos testes comportamentais.....	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Prevalência global dos transtornos depressivos, pela idade e sexo (%)......	8
Figura 2 – Esquematização da coleta do lavado vaginal para mapeamento do ciclo estral em ratas.....	15
Figura 3 – Imagens características de cada fase do ciclo estral de ratas.....	16
Figura 4 – Teste do nado forçado.....	17
Figura 5 – Desenho experimental do tratamento crônico, testes comportamentais e investigação histopatológica.	19
Figura 6 – Média±EPM do tempo (em segundos) de imobilidade e de climbing no teste do nado forçado de animais (n=7-7) submetidos ao tratamento crônico com agomelatina 50 mg/Kg ou de animais que receberam salina. O * indica que houve diferença significativa em relação ao grupo controle.....	21

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
1.1. DEPRESSÃO: CONCEITO, EPIDEMIOLOGIA E O SEXO FEMININO.....	6
1.2. DEPRESSÃO: NEUROBIOLOGIA, FARMACOTERAPIA E DIFICULDADES DE TRATAMENTO.....	9
1.3. AGOMELATINA: COMPOSIÇÃO, ATUAÇÃO E EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS.....	12
2.OBJETIVOS.....	13
2.1. OBJETIVO GERAL.....	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3. METODOLOGIA.....	15
3.1. ANIMAIS.....	15
3.2. HABITUAÇÃO.....	15
3.3. TRATAMENTOS.....	15
3.4. MAPEAMENTO DO CICLO ESTRAL.....	16
3.5. TESTES COMPORTAMENTAIS.....	18
3.5.1. Teste do Nado Forçado.....	18
3.5.2. Teste do Campo Aberto.....	19
3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
3.7. EXPERIMENTO.....	20
4. RESULTADOS.....	21
4.1. Teste do Campo aberto.....	21
4.1.2. Teste do Nado forçado.....	22
4.1.3. Mapeamento do Ciclo Estral.....	23
5. DISCUSSÃO.....	24
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
7. REFERÊNCIAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

1.1. DEPRESSÃO: CONCEITO, EPIDEMIOLOGIA E O SEXO FEMININO.

A identificação das psicopatologias como problema de saúde pública é recente, suas ocorrências vêm aumentando e a tendência mundial é uma piora do quadro atual (Andrade et al., 2006; Razzouk et al., 2009); dentre esses transtornos os do tipo afetivo vêm se destacando. De acordo com a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados a Saúde (CID-10, sua atual versão), transtornos do tipo afetivo são aqueles cuja desordem inclui fundamentalmente uma alteração de humor ou do afeto, podendo ter algum tipo de ansiedade associada.

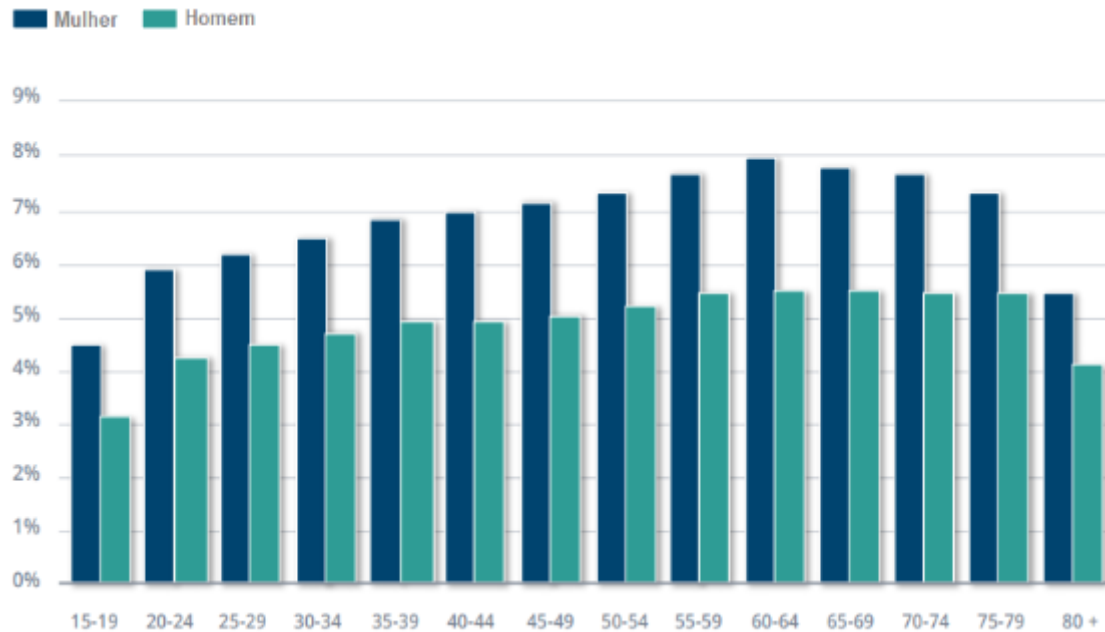
Dentre os transtornos que se incluem nessa classificação, estão o afetivo bipolar, os episódios maníacos e os depressivos e todos interferem substancialmente na vida do indivíduo e suas atividades cotidianas. Sabe-se que as alterações afetivas ou de humor não são doenças modernas; inicialmente conhecidas por melancolia, eram relatadas desde tempos antigos nas mais diversas populações do mundo. Tornaram-se uma doença mental no século XIX, ganhando grande destaque, e, em 1860 iniciou-se o uso do termo depressão nos dicionários e relatos médicos (Sonenreich et al., 1995; Klein, 1999; Rouseeau, 2000, Del Porto, 2004, WHO, 2015).

O indivíduo com transtorno depressivo apresenta, em seus episódios típicos, uma gama de sintomas que interferem diretamente nas suas atividades normais. Humor deprimido incluindo sentimento de tristeza, fracasso, perda de interesse e disposição, diminuem a sua capacidade de se divertir ou concentrar. Além disso, sono e apetite desregulado, cansaço acentuado e diminuição da autoestima e da autoconfiança também estão presentes, além de outros. Todos esses sintomas são permeados por influências sociais, psicológicas e culturais, somando-se isso ao prejuízo significativo na rotina diária é certo que essas pessoas apresentam um maior risco de mortalidade direta e indireta (Kleinman et al., 1985; Nash; Nutt, 2007; Razzouk et al., 2009; Rang et al., 2011; Perito; Fortunato, 2012; Willner et al., 2013, WHO, 2015). Nesse contexto, estima-se que em 2020 a doença será a segunda maior causa de prejuízo global (incapacidade e morte) envolvendo todas as faixas etárias e sexos (Razzouk et al., 2009; Neto et al., 2013) e 10 anos depois se tornará a primeira causa mundial de debilidade (WHO, 2004).

Estudos epidemiológicos e estatísticos mostram as psicopatologias na décima posição entre as principais causas de mortalidade no mundo e a depressão era a terceira doença mais debilitante em 2004, principalmente em países subdesenvolvidos; atualmente está na primeira colocação (WHO, 2004, WHO, 2017). Falando em números este transtorno atualmente afeta cerca de 322 milhões de pessoas no planeta, a maioria mulheres, jovens e idosos, 11,5 milhões somente no Brasil, que atualmente apresenta a maior prevalência do transtorno na América Latina. Além disso, o transtorno é o maior responsável pelas mortes por suicídio no planeta, aproximadamente 800 mil por ano (Razzouk et al., 2009; WHO, 2012; IBGE, 2014; WHO, 2015; WHO, 2017).

Assim como em outros pontos, no que se refere a saúde mental, homens e mulheres são bastante diferentes. Durante o crescimento, os meninos tendem para transtornos de conduta com episódios de agressividade e comportamentos de risco, enquanto as meninas, levadas por questões de autoimagem, desenvolvem maior número de episódios depressivos, ideação suicida e transtornos alimentares (WHO, 2002; Andrade et al., 2006). Estudos realizados nos Estados Unidos demonstraram que a proporção de ocorrência e de prevalência da depressão é duas vezes maior no sexo feminino do que no masculino; essa diferença também vem sendo observada em outros locais do globo. Tal conclusão é reforçada pela informação de que a maioria dos pacientes psiquiátricos ambulatoriais são mulheres e pelos dados estatísticos da Organização Mundial da Saúde (Weissman, 1996; Kornstein; Wojcik, 2006; Barciela-Veras; Nardi, 2008, WHO, 2017).

FIGURA 1 - Prevalência global dos transtornos depressivos, pela idade e sexo (%).



Fonte: Modificado de “Depression and Other Common Mental Disorders, Global Health Estimates. Geneva, 2017”. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254610/1/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf?ua=1>

Não se sabe ao certo qual é a causa dessa diferença existente entre os sexos, mas algumas pesquisas apontam as flutuações hormonais femininas como umas das possíveis razões já que sabe-se que a sintomatologia depressiva, em mulheres, são observadas em maior quantidade durante a puberdade e o final do período reprodutivo, sendo o estrógeno e a progesterona considerados os principais responsáveis pela modulação do humor (WHO, 2002; Freeman *et al.*, 2004; Andrade *et al.*, 2006; Klatzkin *et al.*, 2006; Zanardi *et al.*, 2007). Epperson e colaboradores (2006) sugeriram que os níveis plasmáticos absolutos dos hormônios gonadais não estão associados as mudanças de humor já que eles não se alteram significativamente entre mulheres saudáveis e aquelas com diagnóstico de depressão, no entanto as oscilações abruptas parecem atuar de alguma forma.

Apesar disso, o fator biológico não parece ser o único a influenciar no maior desenvolvimento de transtornos depressivos entre o sexo feminino, associado a ele estão os fatores afetivos, cognitivos e sociais e até o atual momento não existe um modelo para o entendimento dessa ocorrência na sua totalidade (Andrade *et al.*, 2006; Barcielas-Veras; Nardi, 2008; Hyde *et al.*, 2008).

Nesse contexto sabemos que, por figurar entre as principais desordens psiquiátricas, a depressão tem sido tema de diversas pesquisas científicas, a dura realidade daqueles que convivem com a depressão e o alto custo socioeconômico tornam o aumento da sua prevalência cada vez mais preocupante principalmente no sexo feminino, por isso se torna cada vez mais necessário estudar o efeito das drogas antidepressivas neste sexo específico.

1.2. DEPRESSÃO: NEUROBIOLOGIA, FARMACOTERAPIA E DIFICULDADES DE TRATAMENTO.

Devido ao panorama atual, diversos esforços estão sendo realizados para a compreensão do transtorno depressivo e muito vem se discutindo sobre a sua natureza (endógena e exógena) e classificação (unipolar e bipolar). A partir da década de 50, com um melhor conhecimento dos mecanismos de ação dos antidepressivos, começaram a surgir as teorias biológicas sobre sua etiologia que podem envolver múltiplos fatores, dentre eles: variação no desenvolvimento psicológico e cognitivo, predisposição genética, exposição a agentes neurotóxicos, alterações na neurotransmissão encefálica e fatores endócrinos (Sonenreich et al., 1995; Louzã; Elkis, 2007; Nash; Nutt, 2007; Tung, 2007; Blier, 2010; Rang et al., 2011; Artigas, 2013; Lee et al., 2013; Ripke et al., 2013; Willner et al., 2013). Uma consonância geral mostra o estresse como importante fator de predisposição ao desenvolvimento do transtorno, aproximadamente 60% dos casos são precedidos da ocorrência de estressores, além disso, a sua cronicidade é muito similar ao estado depressivo, gerando alterações fisiológicas e comportamentais tratadas com medicações semelhantes (Post, 1992; Duman et al., 2000; Kendler et al., 2001; Nestler et al., 2002; Duman 2004; Duman, 2005 Duman; Monteggia, 2006).

Aprofundando um pouco mais no assunto, a principal teoria envolvendo a neurobiologia da depressão é a Teoria monoaminérgica clássica, ela surgiu em meados do ano de 1960 e relaciona o aparecimento do transtorno a uma disfunção da neurotransmissão mediada por monoaminas (dopamina, noradrenalina, e serotonina) em áreas encefálicas funcionalmente importantes (Castren, 2005; Tung, 2007; Rang et al., 2011; Willner, et al., 2013). Baseando-se nessa teoria as principais

drogas antidepressivas tem a sua atuação direta nesse sistema de neurotransmissão, aumentando a concentração de monoaminas na fenda sináptica e gerando plasticidade neuronal a longo prazo (Nemeroff, Owens, 2002).

Apesar desses dados, diversos estudos questionam a correlação tão simples da teoria ao comportamento desses fármacos que levam várias semanas até a obtenção de resultados clínicos, apesar do efeito na neurotransmissão monoaminérgica ser agudo, e amparam fortemente essas dúvidas (Nestler, 1998), além disso existem problemas de eficácia do tratamento farmacológico clássico, cerca de 60% dos indivíduos tratados respondem de forma não satisfatória e 30% a 45% dos pacientes não obtém respostas (Keks et al., 2007; Crisafulli et al., 2011).

O estudo da farmacoterapia da depressão iniciou-se com a investigação de drogas para outras doenças (Nestler et al., 2002). Atualmente os principais antidepressivos são os tricíclicos (ADT); os inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS); os inibidores da monoaminoxidase (IMAO); e os antidepressivos atípicos, que podem atuar como inibidores seletivos da recaptção de noradrenalina (ISRN), inibidores da recaptção de serotonina e noradrenalina (IRSN) ou inibidores da recaptção de dopamina (Nestler et al., 2002).

Os primeiros a surgir, ainda na década de 50, foram os ADTs e os IMAOs; os primeiros atuam em nível pré-sináptico bloqueando a recaptção dos neurotransmissores, noradrenalina e serotonina, principalmente, mantendo-os por mais tempo na fenda sináptica. A segunda classe de fármacos inibe a ação de degradação da monoaminoxidase (MAO), resultando em um aumento das monoaminas na fenda sináptica. Por serem fármacos inespecíficos, exibem efeitos colaterais indesejados e uma capacidade de levar a morte em casos de superdosagem, embora sejam muito eficazes no que se propõem (Moreno et al., 1999; De Lucia, 2007; Álamo et al., 2008). Os antidepressivos atípicos, desenvolvidos na década de 70, foram os próximos, seguidos dos ISRS, dentre eles o mais conhecido é a fluoxetina. Os ISRS são potentes inibidores da recaptção de 5-HT, atuando de forma seletiva, gerando conseqüentemente uma neurotransmissão serotoninérgica mais potente e resultando em fármacos com menos efeitos adversos e com uma boa eficácia. Alguns representantes importantes dessa classe são a fluoxetina, a sertralina, a paroxetina e o citalopram (Álamo; López-Muñoz; 2010).

Como citado anteriormente, um grande número dos fármacos empregados no tratamento da depressão atua sinapticamente com mecanismo de ação monoaminérgico, tendo um demorado efeito terapêutico e uma ineficácia farmacológica em muitos casos. Uma das teorias mais aceitas para explicar esse quadro é a da subsensibilização dos receptores pós-sinápticos, sua explicação é que a inibição da MAO ou o bloqueio da recaptção de monoaminas gera uma alta concentração de neurotransmissores na fenda sináptica que subsensibilizará os receptores envolvidos, gerando essas consequências (Moreno et al., 1999; Álamo; Lopez-Muñoz, 2010). Também entre as queixas do uso dos antidepressivos atuais que levam os pacientes a descontinuidade do tratamento estão os efeitos colaterais, resultantes do bloqueio de outros receptores além dos envolvidos nas patologias depressivas, tais como os receptores adrenérgicos, histamínicos e colinérgicos. Como exemplo temos o caso dos ADTs que geram sedação, boca seca, tremores nas mãos, frequência cardíaca alterada e outros sintomas desconfortáveis. Além disso a utilização dos antidepressivos deve ser sempre levada a sério e com acompanhamento médico, os IMAOs, por exemplo, apresentam potencial letal se não tomados em conjunto com uma rigorosa dieta alimentar. Por último, a classe dos ISRS apresenta uma maior tolerância, devido a sua ação seletiva, mas nem por isso estão isentos de efeitos adversos desagradáveis, tais como, ansiedade, agitação, alteração do sono, vômitos e náuseas. Apesar de serem drogas utilizadas constantemente na clínica e bastante diversas entre si, apresentando componentes estruturalmente diferentes na sua composição e farmacocinéticas distintas, todos resultaram em efeitos desagradáveis aos pacientes (Moreno *et al.*, 1999; Brunton, 2010; Rang *et al.*, 2012)

O progresso científico vem ampliando as abordagens para um melhor entendimento da neurobiologia da depressão. Compreende-se que a falta de informações a esse respeito é em parte responsável pela dificuldade no desenvolvimento de fármacos mais eficazes para o tratamento desse transtorno, a despeito disso novas drogas vêm surgindo com atuação em diferentes sistemas de neurotransmissão e com diferentes mecanismos de ação. Neste cenário de se buscar fármacos com maior eficácia e menos efeitos adversos aparece a Agomelatina (Valdoxan®), um antidepressivo com atuação conjunta no sistema de

neurotransmissão melatonérgico e serotoninérgico (Kasper, 2010), uma abordagem que foge dos mecanismos comuns de atuação dos medicamentos clássicos.

1.3. AGOMELATINA: COMPOSIÇÃO, ATUAÇÃO E EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS.

Sintetizada pela primeira vez em 1991, a agomelatina ou N-[2-(7-metoxi-1-naftil)-etil]acetamida, é um composto naftalênico sintético análogo a melatonina e atua como agonista de receptores melatoninérgicos, MT1 e MT2, e apresenta antagonismo sobre receptores 5-HT_{2C} do sistema serotoninérgico (Gardiola-Lemaitre, 2005; Mocaër *et al.*, 2005; Álamo; Lopez-Muñoz, 2010; Howland, 2011). Apesar disso, seu uso para tratamento de depressão em adultos no Brasil só foi autorizado pela ANVISA 18 anos depois (Levitan *et al.*, 2015).

Sua farmacologia é caracterizada por uma baixa biodisponibilidade absoluta, de 5 a 10%, e uma rápida absorção, sendo metabolizado pelo citocromo P450, principalmente, formando 4 metabólitos que são eliminados pela urina. Além disso seu tempo de meia-vida no plasma sanguíneo é de cerca de 2 horas, por esse motivo doses repetidas do medicamento não influenciam essa absorção (Álamo; López-Munoz; Armada, 2008; AusPAR, 2010).

A ação antidepressiva desse fármaco parece resultar da ativação associada dos receptores de melatonina e o antagonismo serotoninérgico, já que a comparação com a melatonina ou o antagonista de receptor 5-HT_{2C} demonstraram que os resultados obtidos não eram reproduzidos pelos compostos singularmente. Outro achado importante que reforça essa hipótese é o fato que as duas famílias de receptores são encontradas em regiões do cérebro relacionadas com a fisiopatologia da depressão (Bodinat, 2010; San; Arranz, 2010; Stahl, 2013), além disso, processos como sobrevivência celular e neurogênese parecem ser afetados por esse fármaco através do aumento dos fatores neurotróficos derivados do cérebro (Tardito *et al.*, 2012; De Berardis *et al.*, 2013).

Os fatores que tornam a agomelatina uma opção bastante atraente para o tratamento da depressão são desde uma ação precoce, em comparação com os medicamentos em uso atualmente, o seu baixo potencial para gerar dependência no seu público alvo e também de reduzir o risco de recaída ao longo de 6 meses (Martinotti *et al.*, 2011; Stein *et al.*, 2012; Hale *et al.*, 2010; Montejo *et al.*, 2010), mas

ela também apresenta efeitos adversos sendo o principal a hepatotoxicidade (Freiesleben *et al.*, 2015).

Em se tratando de estudos pré-clínicos, o seu potencial efeito antidepressivo foi avaliado em vários modelos animais com diferentes protocolos experimentais e dosagens (Bertaina-Anglade *et al.*, 2002; Papp *et al.*, 2003 ;Barden *et al.*, 2002; Bourni *et al.*, 2004), mas apesar de ter um perfil promissor, uma escassez de estudos sobre sua eficácia terapêutica no sexo feminino é evidente. Levando em consideração os dados já expostos neste trabalho faz-se necessário a realização de estudos que investiguem o seu efeito em fêmeas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar se a administração de agomelatina altera respostas comportamentais relacionadas à depressão em ratas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar o efeito da administração crônica de agomelatina na dose de 50 mg/kg sobre o comportamento de ratas submetidas ao teste campo aberto.

Investigar o efeito da administração crônica de agomelatina na dose de 50 mg/kg sobre o comportamento de ratas submetidas ao teste do nado forçado.

Verificar se o tratamento alterou o ciclo estral das fêmeas.

3. METODOLOGIA

3.1. ANIMAIS

Foram utilizados como modelo experimental para a execução deste estudo ratas Wistar (n=14) com idade aproximada de 90 dias e com peso entre 300 e 350 gramas.

Todos os animais provenientes do biotério do Departamento de Biofísica e Farmacologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) estavam alojados em grupos de quatro a cinco por gaiola, sob condições ambientais controladas, com ciclo claro-escuro de 12h-12h (luzes se acendendo às 06:00) e temperatura ambiente ($23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Por toda duração do experimento as ratas receberam água e ração *ad libitum*.

Todos os procedimentos da pesquisa foram realizados sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRN (CEUA-UFRN), sob o protocolo nº 007/2012.

3.2. HABITUAÇÃO

Como fase preparatório para a realização dos experimentos, cada animal foi deslocado para a sala experimental e manuseado individualmente por um dos experimentadores durante 5 minutos em dois dias consecutivos. O objetivo do processo era garantir uma melhor adaptação entre o animal e o ambiente experimental assim como entre o pesquisador e o animal, diminuindo o viés “estresse” gerado pela manipulação e modificação do ambiente na realização dos testes.

3.3. TRATAMENTOS

Para o tratamento dos animais foi utilizada a técnica de gavagem, com a agomelatina (Valdoxan®, Servier) dissolvida em solução salina (NaCl 0,9%) na dose de 50 mg/Kg (Bourin *et al.*, 2004) para o grupo tratamento e somente salina para o grupo controle. Para o

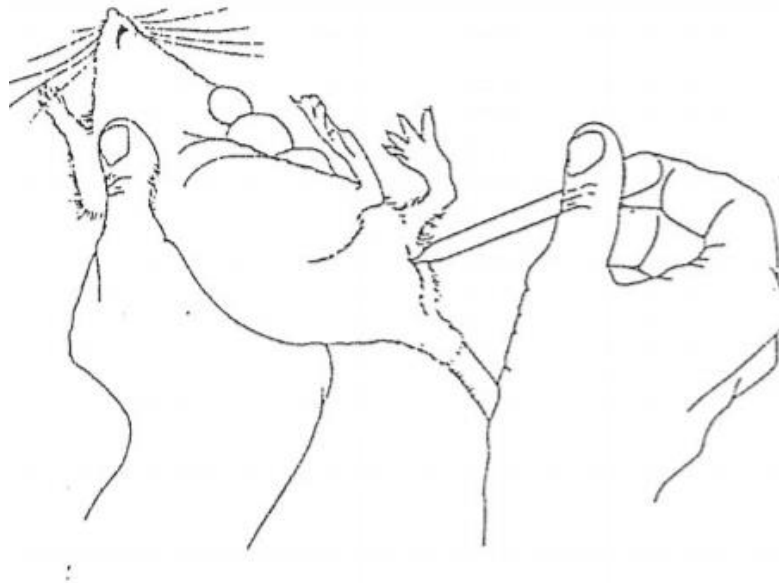
tratamento crônico a administração de agomelatina foi realizada durante 24 dias e 60 minutos antes dos testes comportamentais.

3.4. MAPEAMENTO DO CICLO ESTRAL

O mapeamento do ciclo estral foi realizado para o acompanhamento pelos experimentadores da regularidade de suas fases antes e durante a realização do experimento, para isso foram realizados esfregaços vaginais diários durante 7 dias antes e no dia do experimento antes da administração do fármaco.

A coleta da secreção vaginal era realizada com pipeta Pasteur e solução salina (NaCl à 0,9%), cerca de 0,3 mL, aplicada diretamente no canal vaginal com o intuito de realizar uma lavagem e recolhida para análise.

FIGURA 2: Esquemática da coleta do lavado vaginal para mapeamento do ciclo estral em ratas.



Fonte: Retirado de Hoar (1975).

A análise do material coletado era realizada em microscópio ótico com objetiva de 10x e 40x em lâmina de vidro corada com azul de metileno e a identificação das fases do ciclo estral foram embasadas na metodologia de Hartman (2002), onde podem ser identificadas quatro fases definidas pela proporção entre células

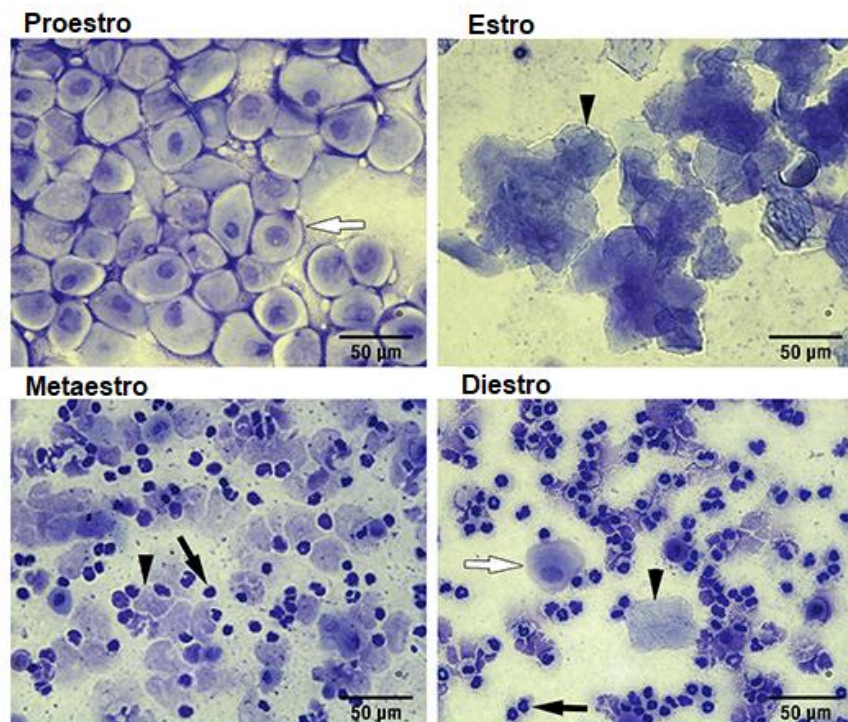
leucocitárias e epiteliais presentes na amostra, como apresentadas na figura 3. São essas:

- **METAESTRO:** Leucócitos e células epiteliais na mesma proporção, em grandes quantidades, sem células queratinizadas.
- **DIESTRO:** Precoce - muitos leucócitos e células epiteliais nucleadas dispersas.

Tardio - esfregaço “limpo”, com pequenos leucócitos (nuvens) e ocasionais células epiteliais vacuolizadas.

- **PROESTRO:** Predominância de células parabasais, com células epiteliais nucleadas e globosas.
- **ESTRO:** Concentração elevada de células escamosas queratinizadas, sem núcleo visível, irregulares e com citoplasma granular.

Figura 3: Imagens características de cada fase do ciclo estral de ratas.



Fonte: Modificado de McLean e colaboradores (2012)

Para a avaliação comportamental, as ratas foram utilizadas em um pool de ciclo estral.

3.5. TESTES COMPORTAMENTAIS

Todos os testes realizados neste estudo foram iniciados as 14h, respeitando o período de 60 minutos após coleta do lavado vaginal e da administração da droga ou salina. Os testes tiveram um intervalo de 24 horas entre eles.

É importante ressaltar que o experimentador que realizava e analisava os testes não sabia em qual grupo o animal se inseria garantindo a segurança dos dados obtidos.

3.5.1. Teste do nado forçado

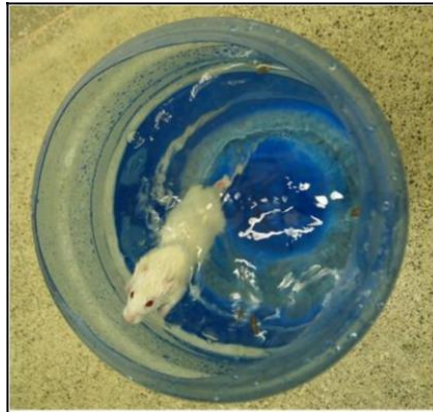
Os comportamentos relacionados à depressão nas ratas foram aferidos com a utilização do teste do nado forçado, adaptado de Porsolt e colaboradores (1977). Para isso foi empregado um recipiente cilíndrico com quarenta centímetros de altura e trinta centímetros de diâmetro, contendo entre vinte e cinco e trinta centímetros de água à temperatura de $22^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, como exemplificado na figura 4.

Seguindo o protocolo do autor cada animal passou por 2 etapas em dias consecutivos após a administração de agomelatina ou salina 60 minutos antes. O pré-teste com duração de 15 minutos objetivando apresentar o animal ao fator estressante do ambiente experimental e vinte e quatro horas após foi realizado o teste, com duração de cinco minutos.

Durante o teste o experimentador avalia como parâmetros de análise comportamental os tempos de imobilidade (a realização pelo animal de movimentos apenas para manter a cabeça fora da água) e de climbing (a realização pelo animal de tentativas de escalar as paredes do recipiente para sair).

Todos os testes foram individuais, realizados em sala com temperatura controlada, luz constante e silêncio. Após a exposição o animal era enxuto e realocado em uma nova gaiola, a água do recipiente de teste era trocada e aclimatada dentro dos parâmetros necessários para a realização do próximo teste. Para maior segurança todo o experimento foi registrado por câmeras a fim de confirmar os dados coletados.

Figura 4: Teste do nado forçado.



Fonte: Laboratório de farmacologia comportamental da UFRN.

3.5.2. Teste do campo aberto

A avaliação da atividade locomotora dos animais foi realizada através do teste do campo aberto proposto por Calvin Hall (1934) e utilizado até os dias atuais para análise comportamental baseado na observação da locomoção espontânea de roedores ao serem introduzidos a um novo ambiente. O aparato consiste em uma caixa de fórmica branca, com fundo quadrado e negro, nas dimensões de 60x60x60 cm.

A realização dos testes inicia quando o animal é colocado individualmente no centro do espaço para se movimentar livremente, o teste tem duração de 15 minutos e é registrado em vídeos por uma câmera elevada para posterior análise. O ambiente experimental era controlado para ruídos, temperatura ($20\pm 1^{\circ}\text{C}$), iluminação e limpeza.

A análise dos vídeos foi realizada com o software ANY-Maze (Stoelting, USA), para obtenção dos seguintes parâmetros: distância percorrida pelos animais em metros e velocidade média como índices de locomoção.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram apresentados em valores de média e erro-padrão da média (EPM), sendo analisados através do teste *t* de Student não pareado e bicaudal, para isso a ferramenta escolhida foi o programa SPSS (Statistical Package for the

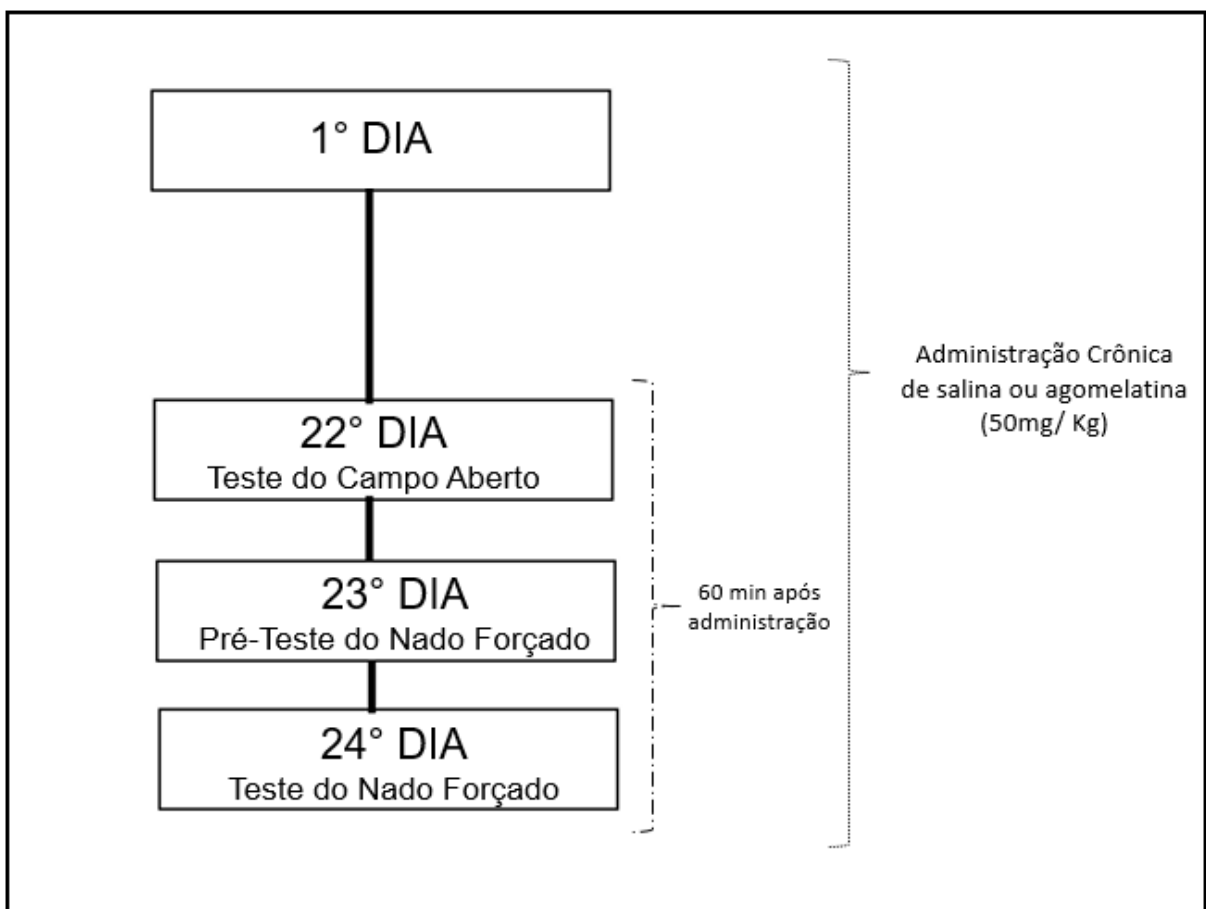
Social Sciences) e o nível crítico para admissão de diferença estatisticamente significativa foi de 5% ($p \leq 0,05$).

3.8. EXPERIMENTO

O estudo foi realizado dentro de uma investigação maior do nosso grupo de pesquisa em duas etapas:

1. Inicialmente foi feito o teste do campo aberto para avaliar a atuação da droga na locomoção dos animais;
2. No dia seguinte iniciou-se o protocolo do teste do nado forçado, com duração de dois dias para avaliação dos comportamentos relacionados à depressão em ratas.

Figura 5: Desenho experimental do tratamento crônico e testes comportamentais.



4. RESULTADOS

4.1. TESTE DO CAMPO ABERTO

A tabela 1 mostra a distância (em metros) percorrida pelos animais do grupo controle (que receberam somente salina) e do grupo tratado (que receberam agomelatina 50 mg/Kg) testados no campo aberto como parâmetros para análise da atividade locomotora espontânea. De acordo com o teste *t* de Student não houve diferenças significativas entre os grupos em relação à distância percorrida (m) [$t(12) = 0,78$, $p = 0,452$] e velocidade média percorrida (m/s) [$t(12) = 0,76$, $p = 0,464$], mostrando que não houve alteração da locomoção das ratas participantes da pesquisa excluindo desta forma um possível viés de interferência nos resultados obtidos no teste comportamental relacionado a depressão.

Tabela 1 – Efeito (Média \pm EPM) da administração crônica de agomelatina e do tratamento controle sobre a atividade locomotora de ratas submetidas ao teste do campo aberto, durante os 15 minutos (distância percorrida e velocidade média) ($n = 7$ por grupo).

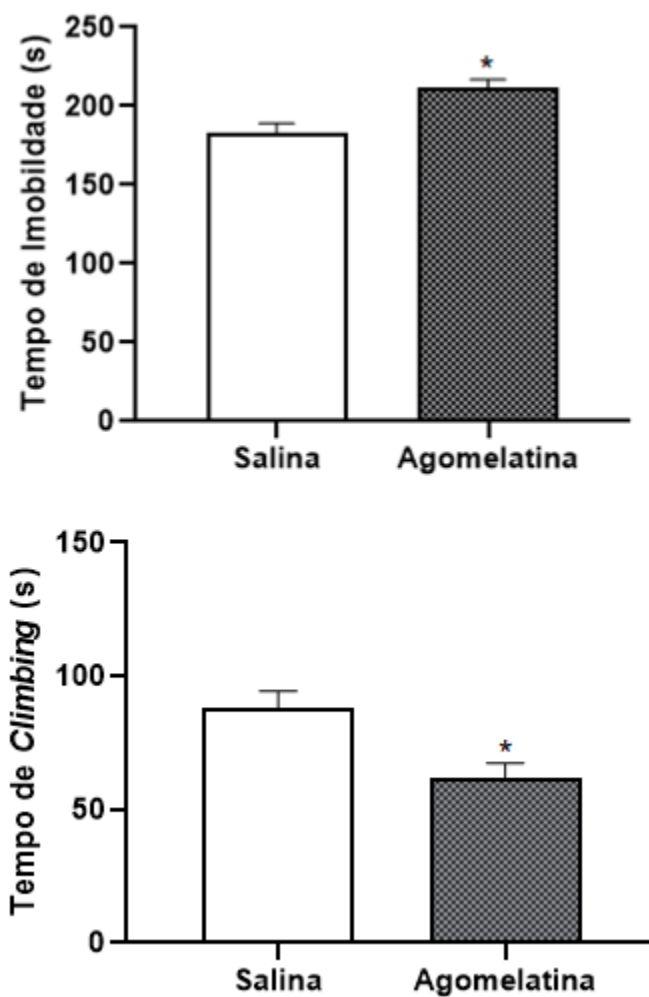
Tratamento	Distância percorrida (m)	Velocidade média (m/s)
Controle	28,24 \pm 3,97	0,031 \pm 0,004
50 mg/Kg/ml	24,52 \pm 2,64	0,027 \pm 0,002

Fonte: Elaboração própria.

4.2. TESTE DO NADO FORÇADO

O gráfico a seguir (figura 6) ilustra o comportamento das ratas submetidas à administração crônica de agomelatina no TNF. O teste *t* de Student mostrou que entre os grupos controle e agomelatina 50 mg/Kg houve diferença significativa no que se refere aos tempos de imobilidade [$t(12) = 3,63$; $p = 0,003$], e *climbing* [$t(12) = -3,13$; $p = 0,008$], demonstrando um efeito do tipo depressivo por parte do medicamento.

Figura 6: Média±EPM do tempo (em segundos) de imobilidade e de climbing no teste do nado forçado de animais (n=7, por grupo) submetidos ao tratamento crônico com agomelatina 50 mg/Kg ou de animais que receberam salina. O * indica que houve diferença significativa em relação ao grupo controle.



4.3. MAPEAMENTO DO CICLO ESTRAL

Para controle do ciclo estral foi realizado por 7 dias prévios e durante os testes a coleta e análise do lavado vaginal das fêmeas utilizadas no experimento. Os resultados obtidos demonstraram que as ratas estavam ciclando naturalmente durante esse período, pelo pouco número de animais disponíveis para a realização do estudo não foi possível fazer uma correlação entre os resultados obtidos nos testes comportamentais e as fases do ciclo estral dos animais.

Tabela 2 – Fases do ciclo estral das fêmeas experimentais a partir do 15º dia de administração da agomelatina ou salina e durante a realização dos testes comportamentais.

DIAS	15°	16°	17°	18°	19°	20°	21°	22°	23°	24°
Salina										
1	M	DP/DT	P	E	M	DT	P	E	M	DT
2	DT	P	E	M	DP	P	E	M	DP	P/E
3	M	DP	P	E	M	DP/DT	P	E	M/DP	DT
4	E	M	DP/DT	P	E	M	DP	P	E	M/DP
5	P	E	M/DP	DT	P	E	M	DP/DT	P	E
6	P	E	M	DP/DT	P	E	M	DT	P	E
7	DP/DT	P	E	M	DT	P	E	M	DP	P
Agomelatina										
1	DP	P	E	M	DP	P	E	M	DP	P
2	P	E	M	DP	P	E	M	DP	P	E
3	P	E	M	DP	P	E	M	DP	P	E
4	DT	P	E	M/DP	DT	P/E	M/DP	DT	P	E
5	E	M	DP	P	E	M	DP	P	E	M
6	DP	P	E	M/DP	DT	P/E	M/DP	DT	P	E
7	P	E	M	DP	P	E	M	DP	P	E

Legenda: M-Metaestro; DP-Diestro Precoce; DT-Diestro Tardio; P-Proestro; E-Estro.

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da administração de agomelatina em longo prazo sobre as respostas comportamentais de ratas submetidas ao teste do nado forçado (TNF). Inicialmente foi realizado o teste do campo aberto (CA) para avaliação da locomoção espontânea dos grupos controle e tratado com 50 mg/Kg de agomelatina. Os resultados sugerem que a administração do fármaco de forma crônica, considerando todas as fases do ciclo estral de ratas *Wistar* não gera nenhuma alteração significativa na locomoção espontânea em comparação com o grupo controle. Esse dado se torna importante para o nosso estudo como avaliação prévia de atividades motoras dos animais pois esses dados são capazes de apontar possível viés, antes da realização do TNF, expondo casos de resultados falsos-positivos (Yang *et al.*, 2016; Fasipe, 2019).

Como citado anteriormente o modelo experimental escolhido para essa pesquisa foi o TNF que é amplamente utilizado para *screening* de drogas antidepressivas, sua premissa é expor o animal a um ambiente fechado e sem possibilidade de fuga gerando um comportamento de natação forçada e tentativas de escalada, após algum tempo também é possível visualizar o comportamento de imobilidade, principal indicador da ação do fármaco, onde o animal permanece flutuando passivamente, também conhecido como desespero comportamental (Porsolt, *et al.*, 1977; Porsolt *et al.*, 1978; Bourin; Mocaër; Porsolt, 2004).

Este estudo mostrou, quanto a ação antidepressiva da agomelatina administrada por 24 dias na dose de 50 mg/Kg, que fêmeas naturalmente ciclando tiveram o seu comportamento alterado durante o TNF, os animais tratados com o medicamento apresentaram um aumento do tempo de imobilidade e uma diminuição do tempo de *climbing* em valores significativamente diferentes do grupo controle. Este resultado vai em desacordo com dados da literatura que mostram o efeito antidepressivo do fármaco nesse e em outros modelos experimentais.

É importante salientar que existe uma gama de estudos pré-clínicos analisando essa temática e os trabalhos encontrados apresentaram grande variação

de parâmetros entre eles, como as doses utilizadas, a forma e o tempo de administração, os testes escolhidos para o *screening* da droga e até mesmo a espécie

e linhagens de animais empregadas serem diferentes (Papp *et al.*, 2003 ; Bourin *et al.*, 2004; Barden *et al.*, 2005; Bertaina-Aglade *et al.*, 2006; Morley-Fletcher *et al.*, 2011; Canpolat *et al.*, 2016, Lapmanee *et al.*, 2017), a maioria aponta um perfil antidepressivo da agomelatina.

Papp e colaboradores (2003) demonstraram a ação do tipo antidepressiva da agomelatina no modelo de estresse moderado crônico com ratos *Wistar*, eles demonstraram que doses de 10 mg/kg e 50 mg/kg, administrados intraperitonealmente (i.p.) pela manhã ou à noite, por 35 dias reverteu a anedonia dos animais, caracterizada pela redução da busca por sacarose com magnitude e tempo de ação comparáveis aos de antidepressivos clássicos. As mesmas doses foram selecionadas também no estudo de Bourin e colegas (2004), que observaram após 13 dias de tratamento oral a redução do tempo de imobilidade de ratos *Wistar* no TNF e a ausência de efeito na locomoção espontânea. Os dois trabalhos demonstraram que a atuação da agomelatina independe do horário de administração, já que em ambos incluíam grupos que recebiam a medicação em períodos diferentes do dia e os resultados eram os mesmos.

Dois estudos mais recentes surgiram dando mais robustez aos dados que já existiam na literatura, Morley-Fletcher e colaboradores (2011) avaliaram a eficácia da agomelatina no modelo de estresse de restrição pré-natal, um dos modelos que replicam fatores implicados na etiologia da depressão maior a partir do 11º dia da gravidez até o parto. Ratas Sprague-Dawley prenhes foram submetidas a três sessões de estresse por dia com restrição física e exposição à luz brilhante por 45 minutos, após o parto descendentes machos foram usados nos experimentos ao atingirem de 2 a 3 meses de idade. Os animais foram tratados com doses de 10 mg/Kg e 50 mg/kg (i.p.) por 3 semanas e testados no TNF, os ratos que passaram pelo protocolo de estresse mostraram um tempo de imobilidade aumentado e o tratamento com a dose 50 mg/Kg foi capaz de restaurar esse parâmetro para os mesmos níveis observados no grupo controle. Em 2016, Canpolat e colegas, investigando os efeitos da administração crônica por mais de 2 meses da agomelatina no sistema reprodutivo em ratos Sprague-Dawley também demonstraram a ação antidepressiva do medicamento que foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade e aumentar o tempo de natação desses animais, sendo o estudo com duração de tratamento mais longo encontrado até agora.

Esses resultados são importantes, mesmo que não corroborem nossos achados. Um ponto chave que devemos citar, é que durante nossas buscas nas plataformas de pesquisas de artigos científicos e nas bases de dados de monografias, dissertações e teses de pesquisas pré-clínicas não fomos capazes de encontrar estudos investigando a agomelatina que tivessem como sujeito principal as fêmeas.

É de conhecimento geral dos pesquisadores que a grande maioria dos estudos disponíveis são realizados com animais mamíferos machos, sendo a área das neurociências umas das que apresentam maior disparidade de publicações com uma taxa de 5.5:1 (Berry; Zucker, 2011). Enquanto esse quadro vem diminuindo nas pesquisas clínicas a pesquisa pré-clínica está aumentando tal disparidade geralmente sob a alegação de que fatores fisiológicos femininos como, por exemplo, o ciclo estral poderiam interferir na interpretação dos dados, sendo esse gênero altamente ignorado pelos pesquisadores e as consequências desse viés é um menor entendimento da biologia feminina e da ação dos fármacos nessa população (Berry; Zucker, 2011; Lapmanee *et al*; 2017).

O conhecimento acerca da diferença entre homens e mulheres vai além do fato de suas fisiologias distintas, sabe-se que a estruturas cerebrais em tamanho e processamento são distintas o que influencia alterações nos comportamentos (Andreano; Cahill, 2009), e o efeito do estresse e das psicopatologias podem ser acentuados por essas diferenças (Graham; Milad, 2013). Não descartando que aspectos sociais e culturais permeiam a ocorrência de transtornos afetivos, a susceptibilidade do sexo feminino a essas patologias parecem estar conectadas à flutuação hormonal, uma das evidências mais citadas na literatura é a elevação das taxas de depressão em períodos com antes da menstruação, após a gravidez e na peri e durante a menopausa (Bigos *et al.*, 2009).

Quando falamos de estudos pré-clínicos, Andrade e colaboradores (2010) demonstraram que ratos machos e fêmeas testado no TNF após tratamento crônico com progesterona tiveram resultados comportamentais significativamente diferentes, além disso fêmeas do grupo controle testadas na fase do diestro tardio, fase onde há uma queda abrupta da progesterona, apresentaram maior imobilidade que os machos, demonstrando uma possível predisposição ao comportamento do tipo depressivo. Infelizmente, em nosso estudo, não foi possível analisar a correlação da fase do ciclo

estral e os resultados comportamentais obtidos no TNF, mas pudemos perceber a ausência de efeitos do fármaco na ciclagem natural dos animais.

Uma ação importante da agomelatina que ainda não tinha sido demonstrada na literatura é a sua capacidade de prevenir comportamentos do tipo depressivo em modelos experimentais. Lapmanee e colaboradores (2017) demonstraram que ratos *Wistar* previamente tratados com agomelatina na dose de 10 mg/Kg por 4 semanas seguido de 4 semanas em um protocolo de estresse por restrição apresentaram tempo de natação maior e tempo de imobilidade menor que o grupo controle com animais que receberam veículo e passaram pelo protocolo de estresse, o mesmo resultado foi encontrado com o antidepressivo venlafaxina. Esse achado trás um novo olhar para as potencialidades desta droga e reforça o seu caráter antidepressivo.

Em 2018 Cipriani e colegas realizaram uma revisão sistemática e meta-análise de rede, comparando a eficácia e a aceitação de 21 antidepressivos no tratamento de adultos de ambos os sexos, com idades a partir de 18 anos, diagnosticados com depressão maior, a intenção do trabalho era de nortear a prescrição dessas drogas pelas melhores evidências disponíveis. Eles encontraram que todos os antidepressivos foram mais eficazes que o placebo, inclusive a agomelatina e com relação a aceitação, apenas a agomelatina e a fluoxetina foram associadas a menos descontinuidades no tratamento.

Apesar de se ter dados atuais e robustos da ação antidepressiva da agomelatina na pesquisa pré-clínica e clínica é importante citar que a agomelatina ainda não é totalmente aceita em todo o mundo. Descoberta e desenvolvida por uma empresa farmacêutica europeia em 1991, o medicamento levou 28 anos para ter sua venda autorizada pela Agência Europeia de Medicamentos por preocupações com a sua eficácia que não estava suficientemente demonstrada. Nos Estados Unidos o seu desenvolvimento, no ano de 2011, para o mercado foi cancelado por resultados insatisfatórios nos ensaios clínicos da fase III (Fasipe, 2019).

Considerando todas as pesquisas encontradas é digno de nota a falta de informações sobre a ação da agomelatina em mamíferos do sexo feminino e como, mesmo no mercado a 10 anos, a agomelatina ainda não tem o seu papel totalmente esclarecido no tratamento da depressão. Dessa forma fica claro para nós que estudos pré-clínicos e clínicos mais aprofundados, considerando o público feminino e fazendo comparações entre os dados obtidos em ambos os sexos são necessários para se

esclarecer as lacunas encontradas. Sendo assim, permanece por ser melhor investigado o potencial antidepressivo da agomelatina em diferentes doses em mamíferos fêmeas, levando em consideração seus fatores fisiológicos intrínsecos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação dos efeitos da administração crônica de agomelatina sobre o comportamento relacionado à depressão em ratas submetidas ao teste do nado forçado nos permitiu concluir que:

1. A dose de 50 mg/kg administrada em um protocolo de 24 dias não alterou o padrão de locomoção espontânea das ratas utilizadas nesse estudo;
2. A dose de 50 mg/Kg administrada em um protocolo de 24 dias aumentou o tempo de imobilidade no teste do nado forçado em ratas naturalmente ciclando, sugerindo um efeito do tipo depressivo da agomelatina;
3. A dose de 50 mg/Kg administrada em um protocolo de 24 dias diminuiu o tempo de *climbing* no teste do nado forçado em ratas naturalmente ciclando, evidenciando um efeito do tipo depressivo da agomelatina;
4. A administração crônica de agomelatina não prejudicou a ciclagem natural das fêmeas participantes do estudo durante a sua administração crônica.

7. REFERÊNCIAS

- ÁLAMO, C.; LÓPEZ-MUÑOZ, F.; ARMADA, M. J. Agomelatina: um nuevo enfoque farmacológico en el tratamiento de la depresión com traducción clínica. *Psiqu Biol*, v. 15, n. 4, p. 125–139, 2008.
- ÁLAMO, C.; LÓPEZ-MUÑOZ, F. Depresión y ritmos circadianos: relación farmacológica. El papel de la agomelatina. *Revista de psiquiatría y salud mental*, p. 2–11, 2010.
- ANDRADE, L.H.S.G.; VIANA, M.C.; SILVEIRA, C. Epidemiologia dos transtornos psiquiátricos na mulher. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 33(2): 43-54, 2006.
- ANDRADE, S. *et al.* Sex-dependent antidepressant effects of lower doses of progesterone in rats. *Physiology and Behavior*, 99; 587-590, 2010.
- ANDREANO, J.; CAHILL, L. Sex influences on the neurobiology of learning and memory. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)* 16, 4:248-266, 2009.
- ANGOLD, A.; COSTELLO, E. J.; WORTHMAN, C. M. Puberty and depression: the roles of age, pubertal status and pubertal timing. *Psychol Med*, v. 28, p. 51–61, 1998.
- ARTIGAS, F. Developments in the field of antidepressants, where do we go now? *Eur Neuropsychopharmacol* 25:657-670, 2013.
- AusPAR. Australian Public Assessment Report for Agomelatine. Austrália: Servier Laboratories (Australia) Pty Ltd, October 2010.
- BARDEN, N. *et al.* Antidepressant action of S 20098 (agomelatine) in a transgenic mouse model. *Int J Neuropsychopharmacol*, v. 5, n. 1, p. 64, 2004.
- BARCIELA-VERAS, A.; NARDI, A.E. Depressão na mulher/Depression in women. *Rev. Bras. Med.*; 65(5): 154-163, 2008.
- BERTAINA-ANGLADE, V.; LA ROCHELLE, C.D.; BOYER, P.A.; MOCAËR, E. Antidepressant-like effects of agomelatine (S 20098) in the learned helplessness model. *Behav Pharmacol*. 2006 Dec;17(8):703-13.
- BEERY, A.; ZUCKER, I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev*, v. 35, p. 565–572, 2011.
- BIGOS, K.L.; POLLOCK, B.G.; STANKEVICH, B.A.; BIES, R.R. Sex differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of antidepressants: an updated review. *Gend. Med*. 6(4):522-43. Review. *Nature*, 2009.
- BLIER, P. The well of novel antidepressants: running dry. *J Psychiatry Neurosci* 35:219-220, 2010.
- BODINAT, C. Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Macmillan publishers limited*, v. 9, p. 628–642, 2010.

- BOURIN, M.; MOCAËR, E.; PORSOLT, R. Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *J Psychiatry Neurosci*, v. 29, n. 2, p. 126–133, 2004.
- BRUNTON, L. L. Goodman e Gilman: manual de farmacologia e terapêutica. 11. ed. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2010.
- CANPOLAT, Sinan et al. Studies on the reproductive effects of chronic treatment with agomelatine in the rat. *European Journal Of Pharmacology*, [s.l.], v. 770, p.33-39, jan. 2016.
- CASTREN, E. Is mood chemistry? *Nat Rev Neurosci* 6:241-246, 2005.
- CID-10. Classificação Internacional de Doenças (CID-10). 10. ed. rev. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2007.
- CIPRIANI, A.; *et al.* Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet*;391(10128):1357-1366, 2018.
- CRISAFULLI, C.; FABBRI, C.; PORCELLI, S.; DRAGO, A.; SPINA, E.; DE RONCHI, D.; SERRETTI, A. Pharmacogenetics of antidepressants. *Front Pharmacol* 2:6, 2011.
- DE BERARDIS, D.; *et al.* The Melatonergic System in Mood and Anxiety Disorders and the Role of Agomelatine: Implications for Clinical Practice. *Int. J. Mol. Sci.*; 14, 12458-12483, 2013.
- DEL PORTO, J.A. História da caracterização nosológica do transtorno bipolar. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 26, p. 3-6, 2004. Suplemento.
- DE LUCIA, R. *Farmacologia integrada*. 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2007.
- DUMAN, R.S.; MALBERG, J.E.; NAKAGAWA, S.; D'SA, C. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biological Psychiatry* 48(8):732-9, 2000.
- DUMAN, R.S.; Depression: A case of neuronal life and death? *Biological Psychiatry* 56(3):140-5, 2004.
- DUMAN, C.H.; DUMAN, R.S. Neurobiology and Treatment of Anxiety: Signal Transduction and Neural Plasticity. *Handbook of experimental pharmacology* 169(169):305-34, 2005.
- DUMAN, R.S.; MONTEGGIA, L.M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*, v. 59, p. 1116-1127, 2006.
- FASIPE, O.J. The emergence of new antidepressants for clinical use: Agomelatine paradox versus other novel agents. *IBRO Reports* 6, 95–110, 2019.
- FREIESLEBEN, S.D.; FURCZYK, K. A systematic review of agomelatine induced liver injury. *Journal Of Molecular Psychiatry*, [s.l.], v. 3, n. 1, p.2-12, 21 abr. 2015.
- FREEMAN, E.W. *et al.* Hormones and menopausal status as predictors of depression in women in transition to menopause. *Arch Gen Psychiatry*. 61, 62-70, 2004.

- GRAHAM, B.M.; MILAD, M.R. Blockade of estrogen by hormonal contraceptives impairs fear extinction in female rats and women. *Biol Psychiatry*; 73:371-378, 2013.
- GUARDIOLA-LEMAITRE, B. Agonistes et antagonistes des récepteurs mélatoninergiques: effets pharmacologiques et perspectives thérapeutiques. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, [s.l.], v. 63, n. 6, p.385-400, nov. 2005.
- HALE, Anthony et al. Superior antidepressant efficacy results of agomelatine versus fluoxetine in severe MDD patients: a randomized, double-blind study. *International Clinical Psychopharmacology*, [s.l.], v. 25, n. 6, p.305- 314, nov. 2010.
- HALL, C.S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal Of Comparative Psychology*, [s.l.], v. 18, n. 3, p.385-403, dez. 1934.
- HOAR, W. S. *General and Comparative Physiology*. 2. ed. New Jersey: Prentice-Hall International, 1975.
- HOWLAND, R. H. A Benefit-Risk assessment of agomelatine in the treatment of major depression. *Adis data information B V*, v. 34, n. 9, p. 710–731, 2011.
- HYDE, J.S.; MEZULIS, A.H.; ABRAMSON, L.Y. The ABCs of Depression: Integrating Affective, Biological, and Cognitive Models to Explain the Emergence of the Gender Difference in Depression. *Psychological Review* 115(2):291-313, 2008.
- IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Anuário estatístico do Brasil 2014. Rio de Janeiro, v.74, p.1-1-8-54, 2014.
- KASPER, S. Ponencia del Prof. Siegfried Kasper sobre agomelatina: eficacia clínica del primer antidepresivo melatoninérgico. *Revista de psiquiatría y salud mental*, v. 3, p. 12–14, 2010.
- KEKS, N.A.; BURROWS, G.D.; COPOLOV, D.L.; NEWTON, R.; PAOLETTI, N.; SCHWEITZER, I.; TILLER, J. Beyond the evidence: is there a place for antidepressant combinations in the pharmacotherapy of depression? *Med J Aust* 186:142-144, 2007.
- KENDLER, K.S.; THORNTON, L.M.; GARDNER, C.O. Genetic risk, number of previous depressive episodes, and stressful life events in predicting onset of major depression. *Am J Psychiatry* 158:582-586, 2001.
- KESSLER, R. C.; WALTERS, E. E. Epidemiology of DSM-III-R major depression and minor depression among adolescents and young adults in the National Comorbidity Survey. *Depress Anxiety*, v. 7, p. 3–14, 1998.
- KLATZKIN, R.R. *et al.* Histories of depression, allopregnanolone responses to stress, and pré-menstrual symptoms in women. *Biol Psychol.* 71, 2-11, 2006.
- KLEIN, D. F. Anxiety reconceptualized. Em: D. F. Klein & J. Rabkin (Org.). *Anxiety: new research and changing concepts*, 7th ed.; 1999, pp. 218-234. New York: Raven Press.

- KLEINMAN, A.; GOOD, B. Culture and depression: studies in the anthropology and crosscultural psychiatry of affect and disorder. Bekerley: University of California press, 1985.
- KORNSTEIN, S.G.; WOJCIK, B.A. Depression. IN: Kornstein, S.G. & Clayton, A.H. Women's Mental Health. New York, The Guilford Press, 2006.
- LAPMANEE, Sarawut et al. Agomelatine, venlafaxine, and running exercise effectively prevent anxiety- and depression-like behaviors and memory impairment in restraint stressed rats. Plos One, [s.l.], v. 12, n. 11, p.1-23, nov. 2017.
- LEE, S.H.; *et al.* Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. Nat Genet 45:984-994, 2013.
- LEVITAN, M.; PAPELBAUM, M.; NARDI, A. Profile of agomelatine and its potential in the treatment of generalized anxiety disorder. Ndt, [s.l.], p.1149-1155, maio 2015.
- LOUZÃ, N. M.; ELKIS, H. Psiquiatria Básica. São Paulo: Artmed, 2007.
- MARTINOTTI, G. et al. Major depressive disorder, anhedonia, and agomelatine: An open-label study. European Psychiatry, [s.l.], v. 26, n. 1, p.650-650, jan. 2011.
- McLean, A. C., Valenzuela, N., Fai, S., Bennett, S. A. Performing Vaginal Lavage, Crystal Violet Staining, and Vaginal Cytological Evaluation for Mouse Estrous Cycle Staging Identification. J. Vis. Exp. (67), 2012.
- MOCAËR, Elisabeth *et al.* Comment développer un antidépresseur au mécanisme d'action innovant: l'exemple de l'agomélatine. Médecine/sciences, [s.l.], v. 21, n. 10, p.888-894, out. 2005.
- MONTEJO, A.I.; et al. Better sexual acceptability of agomelatine (25 and 50 mg) compared with paroxetine (20 mg) in healthy male volunteers. An 8-week, placebo-controlled study using the PRSEXDQ-SALSEX scale. Journal Of Psychopharmacology, [s.l.], v. 24, n. 1, p.111-120, 2010.
- MORENO, D.; DIAS, R.S.; MORENO, R.A. Transtornos do humor. In: Psiquiatria Básica 2ª. Ed. Louzã Neto MR e Elkis H (Eds.). São Paulo, Artmed, 2007
- MORLEY-FLETCHER, S. et al. Chronic agomelatine treatment corrects behavioral, cellular, and biochemical abnormalities induced by prenatal stress in rats. Psychopharmacology, v. 217, n. 3, p. 301–313, 2011.
- NASH, J.R.; NUTT, D.J. "Psychopharmacotherapy of anxiety." Handb Exp Pharmacol, 169, pp.469-401, 2007.
- NEMEROFF, C.B.; OWENS, M.J. Treatment of mood disorders. Nat Neurosci.; 5 Suppl:1068-70, 2002.
- NETO, A. C.; GAUER, G.; FURTADO, N. R. Psiquiatria para estudantes de medicina. 2. ed. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2013.
- NESTLER, E.J. Antidepressant treatments in the 21st century. Biol Psychiatry 44:526-533, 1998.

- NESTLER, E.J.; BARROT, M.; DILEONE, R.J.; EISCH, A.J.; GOLD, S.J.; MONTEGGIA, L.M. Neurobiology of depression. *Neuron* 34:13-25, 2002.
- PAPP, M. et al. Effect of agomelatine in the chronic mild stress model of depression in the rat. *Neuropsychopharmacology*, v. 28, n. 4, p. 694–703, 2003.
- PERITO, M. E. S.; FORTUNATO, J. J. Marcadores biológicos da depressão: Uma revisão sobre a expressão de fatores neurotróficos. *Revista Neurociencias*, v. 20, n. 4, p. 597–603, 2012.
- PORSOLT, R. D.; LEPICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, v. 266, n. 5604, p. 730–732, 1977.
- PORSOLT, R. D. et al. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment. *Eur. J. Pharmacol*, v. 47, n. 4, p. 379–391, 1978.
- PORSOLT, R. D.; BETIN, A.; JALFRE, M. “Behavioral despair” in rats and mice: strain differences and the effect of imipramine. *Eur. J. Pharmacol*, v. 51, n. 3, p. 291–294, 1978.
- POST, R.M. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. *Am J Psychiatry* 149:999-1010, 1992.
- RANG, H. P. et al. *Rang e Dale: farmacologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.
- RIPKE, S. A mega-analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 18:497-511, 2013.
- RAZZOUK, D.; Alvarez, C.E.; Mari, J.J. O impacto econômico e o custo social da depressão em Depressão: do neurônio ao funcionamento social. Porto Alegre: Artmed, 27-37, 2009.
- ROUSEAU, G. Depression’s forgotten genealogy: Notes towards a history of depression. *History of Psychiatry* xi:071-106, 2000.
- SAN, L.; ARRANZ, B. Agomelatina: um nuevo enfoque antidepressivo para uma remisión de calidad. *Revista de psiquiatria y salud mental*, v. 3, p. 15–20, 2010.
- STAHL, S. M. *Stahl’s Essential Psychopharmacology*. 4. ed. New York: Cambridge University Press, 2013.
- SONENREICH, C.I.; Estevão, G.; Friedrich, S.; Filho, L.M.S.A.S. A evolução histórica do conceito de depressão. *Revista ABP-APAL* 1995;17(1):29-40.
- STEIN, D.J.; PICAREL-BLANCHOT, F.; KENNEDY, S. H. Efficacy of the novel antidepressant agomelatine for anxiety symptoms in major depression. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, [s.l.], v. 28, n. 2, p.151-159, mar. 2013.
- TARDITO, D.; MILANESE, M.; BONIFACINO, T.; MUSAZZI, L.; GRILLI, M.; MALLEI, A.; MOCAER, E.; GABRIEL-GRACIA, C.; RACAGNI, G.; POPOLI, M.; BONANNO, G. Blockade of stress-induced increase of glutamate release in the rat prefrontal/frontal cortex by agomelatine involves synergy between melatonergic and 5-HT_{2C} receptor-dependent pathways. *Bmc Neuroscience*, [s.l.], v. 11, n. 1, p.68-71, jun. 2010.

TUNG, T. C. Depressão. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 64, n. 12, 2007

WEISSMAN, M. M. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *JAMA*, v. 276, n. 4, p. 293–299, 1996.

Willner, P.; Scheel-Krüger, J.; Belzung, C. The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neurosci Biobehav Rev.*; 37(10 Pt 1):2331-71, 2013.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. The world health report 2001: mental health, new understanding, new hope. Geneva 2001.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Gender and Mental Health. Geneva, 2002.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. The world health report, 2004. Geneva, 2004.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Statistics. Geneva, 2015.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. Geneva, Suíça, 2017.

YANG, Y. et al. Scaffold Hopping Toward Agomelatine: Novel 3, 4-Dihydroisoquinoline Compounds as Potential Antidepressant Agents. *Scientific Reports*, v. 6, n. October, p. 34711, 2016.

ZANARDI, R. *et al.* Response to SSRIs and role of the hormonal therapy in post-menopausal depression. *Eur Neuropsychopharmacol.* 17, 400-4005, 2007.