



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

ALINE HAAS DE MELLO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ÔMEGA-3 SOBRE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS EM RATOS SUBMETIDOS A UM
MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO**

Tubarão

2013

ALINE HAAS DE MELLO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ÔMEGA-3 SOBRE PARÂMETROS
COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS EM RATOS SUBMETIDOS A UM
MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências da Saúde, da Universidade do Sul de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestra em Ciências da Saúde.

Prof.^a Orientadora: Gislaine Tezza Rezin, Dra.

Tubarão

2013

Dedico esta dissertação a minha mãe, por permitir que a vontade de fazer mestrado se tornasse uma realidade.

Dedico também aos professores do mestrado, pois “Se vi mais longe, foi porque me apoiei nos ombros de gigantes.” (Isaac Newton)

AGRADECIMENTOS

Tenho muitas pessoas a agradecer em razão da ajuda, da acolhida, do incentivo, das críticas e das sugestões. Algumas em especial.

A minha orientadora Gislaine, por acreditar que eu seria capaz, pela confiança no meu trabalho, pela amizade e por me ensinar tanto.

A todos os professores do mestrado, que com seus conhecimentos e experiências, contribuíram para minha formação.

Aos professores que atuaram como membros das bancas em que o projeto foi apresentado, pelas críticas e sugestões valiosas.

Às meninas da Secretaria do Mestrado, Silvane e Franciéli, pela presteza no atendimento.

Aos colegas do mestrado, pelas conversas, cafés e discussões produtivas, e em especial à Eloise, pela amizade e apoio.

Às meninas do Laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental, principalmente à Luana e à Lucinéia.

A minha mãe, por tornar este mestrado possível.

Ao meu pai, pelas valiosas correções.

A minha tia Neiva, pela acolhida.

Ao meu namorado Ulissis, pelo apoio.

E por fim, aos animais que serviram como sujeitos deste estudo.

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.” (Leonardo da Vinci)

RESUMO

A Organização Mundial de Saúde estima que a depressão maior afete cerca de 350 milhões de pessoas em todo o mundo e relata este transtorno como o principal contribuinte para a carga global de doenças. Apesar da sintomatologia bem definida, a depressão maior é um transtorno psiquiátrico heterogêneo cuja fisiopatologia não está claramente estabelecida. Mesmo com inúmeros tratamentos disponíveis, a maioria dos pacientes deprimidos não atinge a remissão completa dos sintomas. Por este motivo, muitos pesquisadores ainda estudam novos alvos para terapias antidepressivas e, entre eles, diversos estudos mostraram efeitos benéficos do ômega-3 no tratamento da depressão maior. Contudo, os mecanismos pelos quais o ômega-3 poderia demonstrar efeitos antidepressivos ainda não estão completamente elucidados. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ômega-3 sobre parâmetros comportamentais e bioquímicos em ratos submetidos ao estresse crônico moderado (ECM), um modelo animal de depressão. As análises bioquímicas foram baseadas na hipótese do envolvimento de prejuízo do metabolismo energético e de estresse oxidativo na fisiopatologia da depressão maior. Nossos resultados mostraram que os animais submetidos ao ECM apresentaram anedonia, não tiveram ganho de peso significativo, assim como apresentaram inibição da atividade dos complexos I e IV da cadeia respiratória mitocondrial e aumento na peroxidação lipídica e na carbonilação de proteínas. A administração de ômega-3 não reverteu a anedonia, restabeleceu o peso corporal, reverteu a inibição da atividade do complexo I no córtex posterior, do complexo IV no cerebelo e no córtex posterior, assim como reverteu o dano oxidativo a lipídios e a proteínas causados pelo ECM. Assim, nós sugerimos que o ômega-3 pode apresentar efeito antioxidante. Portanto, nossos resultados corroboram os estudos que mostram que a depressão maior está associada a disfunção mitocondrial e a estresse oxidativo, e revelam que a suplementação de ômega-3 pode reverter algumas destas alterações, apoiando estudos que indicam que esta substância apresenta grande potencial para auxiliar no tratamento da depressão maior.

Palavras-chave: Depressão maior. Estresse crônico Moderado. Tratamento. Ácidos Graxos Poli-insaturados. Ômega-3.

ABSTRACT

The World Health Organization estimates that major depression affects about 350 million people worldwide and reports this disorder as the main contributor to the global burden of disease. Despite the well-defined symptoms, major depression is a heterogeneous psychiatric disorder whose pathophysiology is not clearly established. Even though there are numerous treatments available, most depressed patients do not reach complete remission of symptoms. For this reason, many researchers are still studying novel targets for antidepressant therapies, and among them, several studies have shown beneficial effects of omega-3 in the treatment of major depression. However, the mechanisms which omega-3 could demonstrate antidepressant effects are not yet fully elucidated. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of omega-3 on behavioral and biochemical parameters in rats submitted to chronic moderate stress (CMS), an animal model of depression. Biochemical analyzes were based on the hypothesis of the involvement of loss of energy metabolism and oxidative stress in the pathophysiology of major depression. Our results showed that animals submitted to CMS presented anhedonia, did not have significant weight gain, and showed inhibition of the activity of complexes I and IV of the mitochondrial respiratory chain, increased lipid peroxidation and protein carbonylation. Administration of omega-3 did not reverse the anhedonia, restored body weight, reversed the inhibition of complex I activity in the posterior cortex, complex IV in the cerebellum and posterior cortex, as well as reversed the oxidative damage to lipids and proteins caused by CMS. Thus, we suggest that omega-3 can have antioxidant effect. Therefore, our results corroborate with studies that show major depression is associated with mitochondrial dysfunction and oxidative stress, and show that omega-3 supplementation can reverse some of these changes, supporting studies that indicate omega-3 has great potential to assist in treatment of major depression.

Key words: Major depression. Chronic mild stress. Treatment. Polyunsaturated fatty acids. Omega-3.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cadeia respiratória mitocondrial.....	17
Figura 2 – Estrutura química dos principais ácidos graxos ômega-3.....	22
Figura 3 – Metabolismo dos ácidos graxos da família ômega-3.....	23
Figura 4 – Linha do tempo do experimento.....	36
Figura 5 – Teste de anedonia por consumo de alimento doce após o ECM.....	39
Figura 6 – Peso corporal antes e depois do ECM.....	40
Figura 7 – Atividade do complexo I em cérebro de ratos submetidos ao ECM e tratados com ômega-3.....	41
Figura 8 – Atividade do complexo IV em cérebro de ratos submetidos ao ECM e tratados com ômega-3.....	41
Figura 9 – Peroxidação lipídica (TBARS) em cérebro de ratos submetidos ao ECM e tratados com ômega-3.....	42
Figura 10 – Carbonilação de proteínas em cérebro de ratos submetidos ao ECM e tratados com ômega-3.....	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Estressores utilizados no experimento.....	34
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACTH – corticotrofina ou hormônio adrenocorticotrófico (do inglês *Corticotropin* ou *Adrenocorticotropic hormone*)

ADTs – antidepressivos tricíclicos

ALA – ácido alfa-linolênico

ADP – adenosina difosfato

ATP – adenosina trifosfato

BDNF – fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês *Brain derived neurotrophic factor*)

CAT – catalase

CO₂ – dióxido de carbono

CRH – hormônio liberador de corticotrofina (do inglês *Corticotropin releasing hormone*)

DHA – ácido docosaheptaenóico

DNA – ácido desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic acid*)

ECM – estresse crônico moderado

EPA – ácido eicosapentaenóico

ERN – espécies reativas de nitrogênio

ERO – espécies reativas de oxigênio

FADH₂ – flavina adenina dinucleotídeo

GTP – guanosina trifosfato

HHA – hipotálamo-hipófise-adrenal

IMAO – inibidores da monoamina oxidase

ISRS – inibidores seletivos da recaptação de serotonina

MDA – malondialdeído

NADH – nicotinamida adenina dinucleotídeo

NMDA – N-Metil-D-Aspartato

SOD – superóxido dismutase

TBA – ácido tiobarbitúrico (do inglês *Thiobarbituric acid*)

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (do inglês *Thiobarbituric acid reactive substances*)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 HISTÓRICO.....	12
1.2 DEPRESSÃO MAIOR.....	13
1.3 FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO MAIOR.....	14
1.4 METABOLISMO ENERGÉTICO E DEPRESSÃO MAIOR.....	16
1.5 ESTRESSE OXIDATIVO E DEPRESSÃO MAIOR.....	18
1.6 TRATAMENTO DA DEPRESSÃO MAIOR.....	20
1.7 ÔMEGA-3 E DEPRESSÃO MAIOR.....	21
1.8 MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO.....	29
2 JUSTIFICATIVA.....	31
3 OBJETIVOS.....	32
3.1 OBJETIVO GERAL.....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
4 ETAPAS METODOLÓGICAS.....	33
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	33
4.2 AMOSTRA.....	33
4.3 ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	33
4.4 ASPECTOS ÉTICOS.....	33
4.5 LOCAL DE REALIZAÇÃO.....	34
4.6 MODELO EXPERIMENTAL.....	34
4.7 TRATAMENTO COM ÔMEGA-3.....	35
4.8 TESTE DE ANEDONIA.....	36
4.9 MEDIDAS DO PESO CORPORAL.....	36
4.10 PREPARAÇÃO DO TECIDO E HOMOGENEIZADO.....	37
4.11 ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	37
4.11.1 Atividade das enzimas da cadeia respiratória mitocondrial.....	37
4.11.1.1 Atividade do complexo I.....	37
4.11.1.2 Atividade do complexo IV.....	37
4.11.2 Parâmetros de estresse oxidativo.....	37
4.11.2.1 Dano oxidativo em lipídios (TBARS)	37
4.11.2.2 Dano oxidativo em proteínas.....	38

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
5 RESULTADOS.....	39
5.1 TESTE DE ANEDONIA.....	39
5.2 PESO CORPORAL.....	39
5.3 ATIVIDADE DAS ENZIMAS DA CADEIA RESPIRATÓRIA MITOCONDRIAL.....	40
5.4 PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO.....	42
6 DISCUSSÃO.....	44
7 CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO

Na Antiguidade (500 a.C. – 100 d.C.), os gregos já compartilhavam a ideia moderna de que os transtornos mentais estavam associados de algum modo à disfunção corporal. A prática médica grega era baseada na teoria dos quatro humores, que considerava o temperamento como consequência dos quatro fluidos corporais: fleuma, bile amarela, sangue e bile negra (GONÇALES; MACHADO, 2007). Neste sentido, a depressão foi por muito tempo chamada de melancolia. O termo melancolia (*melan*, negro, e *cholis*, bilis) baseiava-se na teoria dos quatro humores, propondo uma ‘intoxicação’ do cérebro pela bile negra (ANGST; MARNEROS, 2001). A teoria dos humores foi um marco na evolução da prática da medicina, pois consistiu na substituição da mitologia pela biologia e na adoção de um modelo de observação clínica (GONÇALES; MACHADO, 2007).

A primeira descrição do quadro clínico da melancolia foi formulada por Hipócrates (460 a.C. – 370 a.C.), simbolicamente designado como o pai da Medicina, e consistia em aversão à comida, falta de ânimo, insônia, irritabilidade e inquietação. Segundo Hipócrates, se o medo ou a tristeza duravam muito tempo, tal estado era próprio da melancolia (CORDÁS, 2002).

Na Idade Média (séculos V – XV), a depressão, ainda denominada melancolia, era considerada um afastamento de tudo o que era sagrado. Na época da Inquisição, a melancolia foi considerada um pecado e algumas pessoas eram multadas ou aprisionadas por carregarem esse mal da alma, que não tinha cura (GONÇALES; MACHADO, 2007). Já na Idade Moderna (séculos XV – XIX), até o começo do século XVII, o debate sobre a melancolia permaneceu preso à tradição dos quatro humores (FOUCAULT, 2004), mas no final do século XVII e início do século XVIII, com o desenvolvimento científico, esse quadro mudou (GONÇALES; MACHADO, 2007).

Com o acelerado desenvolvimento científico no século XVIII, que foi marcado pelo Iluminismo, surgiram as primeiras teorias que levaram aos pensamentos atuais (SOLOMON, 2002). O médico escocês William Cullen (1710-1790) afirmou que na melancolia ocorria uma alteração da função nervosa e não dos humores como se pensava (CORDÁS, 2002). Ainda nesta época, o psiquiatra francês Esquirol (1772-1840) proclamou que a psiquiatria deveria ser entendida como uma ‘medicina mental’ e deveria buscar seu

entendimento na anatomia cerebral e não nos metafísicos (filósofos) ou nos moralistas (a Igreja) (CORDÁS, 2002).

Por conseguinte, o século XIX trouxe descobertas na biologia, na física, na química, na anatomia, na neurologia e na bioquímica, o que permitiu relacionar os transtornos mentais com a patologia orgânica do cérebro. Grandes teóricos debateram a natureza da depressão maior e seus parâmetros, redefinindo, o que antes fora simplesmente identificado como melancolia, em categorias e subcategorias (GONÇALES; MACHADO, 2007). Wilhelm Griesinger (1817-1868), psiquiatra alemão, voltou a sua atenção para Hipócrates e declarou que as doenças mentais eram doenças do cérebro (SOLOMON, 2002). O termo depressão começou a aparecer mais intensamente nos dicionários médicos a partir de 1860, sendo amplamente aceito e restringindo cada vez mais o termo melancolia (CORDÁS, 2002).

A partir do século XX os avanços e descobertas em psicopatologia, farmacologia, anatomia patológica, neurologia e genética possibilitaram que a psiquiatria adquirisse fundamentação científica para os conhecimentos oriundos da prática clínica, da observação e da experiência (RIBEIRO, 1999). O psiquiatra alemão Emil Kraepelin (1856-1926), em seu *Compêndio de Psiquiatria*, publicado em 1883, representou a grande força que impulsionou o aperfeiçoamento da psiquiatria no início do século XX. Ele acreditava que toda doença mental tinha uma base bioquímica interna. Assim, separou a depressão em três categorias, da mais suave a mais grave, permitindo uma relação entre elas (SOLOMON, 2002).

Mais tarde, na década de 1950, a descoberta dos antidepressivos promoveu um avanço no tratamento da depressão (GONÇALES; MACHADO, 2007). O advento dos psicofármacos e a criação da Organização Mundial de Saúde, em 1948, impulsionaram a tentativa de construir uma classificação internacional de doenças (SOLOMON, 2002). No século XXI, a depressão é considerada um transtorno mental, catalogado na Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde (CID) e no Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) (GONÇALES; MACHADO, 2007).

1.2 DEPRESSÃO MAIOR

Os transtornos de humor estão entre as formas mais prevalentes de transtornos mentais e podem resultar em incapacidade, morte prematura e intenso sofrimento dos pacientes acometidos e seus familiares (NESTLER et al., 2002). Conforme o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - DSM-IV-TR (AMERICAN

PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2000), a depressão maior se caracteriza por episódios isolados ou recorrentes de humor deprimido e perda de interesse ou prazer por quase todas as atividades habituais por pelo menos duas semanas consecutivas. Os indivíduos também apresentam sintomas adicionais que incluem alteração do apetite ou peso, distúrbios do sono, alteração da atividade psicomotora, fadiga, diminuição da energia, sentimentos de inutilidade e culpa, pensamento recorrente sobre morte ou ideação suicida, bem como planos ou tentativas de suicídio (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2000). Além disso, o episódio depressivo maior causa sofrimento, prejuízo profissional, social ou até mesmo prejuízo em outras áreas importantes da vida do indivíduo (ZHANG et al., 2004).

A depressão maior é uma das principais causas de morbidade e mortalidade da população adulta, cuja frequência tem aumentado nas últimas décadas (ROUILLON, 2008). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que a depressão maior afete cerca de 350 milhões de pessoas em todo o mundo e relata este transtorno como o principal contribuinte para a carga global de doenças (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012). No Brasil, de acordo com dados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD) de 2008, a prevalência global da depressão era de 4,1% (IBGE, 2010).

Acredita-se que mais de 5% da população mundial sofrerá com a depressão grave em algum momento da sua vida, ao passo que outros 3% experimentarão os casos mais brandos desse transtorno (TENG; HUMES; DEMÉTRIO, 2005). A crescente prevalência de depressão maior no mundo é de preocupação, especialmente tendo em conta os custos associados (RICHARDS, 2011). Este transtorno representa um custo enorme para o indivíduo e também acarreta em uma grande perda para a sociedade. A depressão maior pode afetar negativamente o autocuidado e este por sua vez pode piorar o curso de condições médicas e, conseqüentemente, levar à maior utilização de cuidados de saúde. Além disso, a perda na qualidade de vida, o absenteísmo, a diminuição da produtividade, o comprometimento funcional e em muitas outras áreas pessoais e interpessoais da vida, além do suicídio relacionado à depressão, responsável por aumento da mortalidade, representam um grande ônus econômico (DONOHUE; PINCUS, 2007).

1.3 FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO MAIOR

Apesar da sintomatologia bem definida, a depressão maior é um transtorno psiquiátrico heterogêneo cuja fisiopatologia não está claramente estabelecida (CANNON; KELLER, 2006). A primeira teoria baseava-se na deficiência de neurotransmissores

monoaminérgicos, principalmente da noradrenalina, dopamina e serotonina (STAHL, 2002). O sistema noradrenérgico e serotoninérgico são capazes de modular áreas cerebrais envolvidas com sentimento e comportamento (ARTIGAS, 2008). Estudos com pacientes deprimidos mostram nestes uma menor produção de noradrenalina e de serotonina (BELMAKER; AGAM, 2008; ZHANG et al., 2004), bem como evidências clínicas, farmacológicas e de modelos animais mostram a existência de deficiência de dopamina na depressão maior (GERSHON; VISHNE; GRUNHAUS, 2007).

Outra hipótese é a deficiência pseudomonoaminérgica devido à deficiência da transdução do sinal a partir do neurotransmissor monoaminérgico até o neurônio pós-sináptico, na presença de quantidades normais de neurotransmissores e receptores. Esta disfunção pode estar situada dentro dos eventos moleculares distais ao receptor, e assim, os sistemas de segundo mensageiro, levando à formação de fatores de transcrição intracelulares que controlam a regulação gênica, poderiam ser o local de funcionamento deficiente dos sistemas monoaminérgicos. Um possível mecanismo proposto como local de falha na transdução do sinal dos receptores monoaminérgicos é o gene-alvo do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF – do inglês *Brain derived neurotrophic factor*) (STAHL, 2002).

O BDNF é uma proteína pró-apoptótica que estimula o crescimento dos neurônios serotoninérgicos e noradrenérgicos, bem como protege de um dano neurotóxico (KAREGE et al., 2002). Estudo de Lewin e Barde (1996) mostrou que em ratos, o estresse causa importante redução na expressão do BDNF no hipocampo. Em estudo realizado com humanos foi demonstrado que a capacidade do hipocampo em inibir o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) está reduzida em pelo menos um subgrupo de pacientes deprimidos, os quais apresentam um déficit na função e diminuição do volume hipocampal, sustentando a hipótese de que a depressão maior é caracterizada por baixos níveis séricos de BDNF e que a *down regulation* do BDNF está envolvida com a atrofia de neurônios do hipocampo em resposta ao estresse (KAREGE et al., 2002).

Um outro estudo, realizado por Wong e Licinio (2004), mostrou a relação entre o hormônio liberador de corticotrofina (CRH – do inglês *Corticotropin releasing hormone*), o eixo HHA e o humor. O sistema límbico regula o hipotálamo, que libera o CRH. O CRH estimula a liberação da corticotrofina (ACTH – do inglês *Adrenocorticotrophic hormone* ou *Corticotropin*) pela hipófise, que por sua vez estimula a liberação do cortisol pela glândula adrenal (JURUENA; CLEARE; PARIANTE, 2004; TODOROVIC et al., 2005). Sabe-se hoje que pelo menos a metade dos pacientes deprimidos possui hiperatividade do eixo HHA e consequentemente hipersecreção de cortisol (GILLESPIE; NEMEROFF, 2005; MARCOS;

AISA; RAMÍREZ, 2008). Neste sentido, MacQueen e colaboradores (2003) mostraram que pacientes deprimidos apresentavam níveis elevados de CRH e Belmaker e Agam (2008) demonstraram um aumento no volume da suprarrenal em pacientes deprimidos em comparação a controles não-deprimidos.

A relação entre a depressão maior e a neurobiologia é extremamente complexa e não pode ser totalmente explicada pela hipótese monoaminérgica, visto que muitos pacientes não respondem adequadamente às terapias baseadas nesta hipótese (LOGAN, 2003). Diante disso, estudos também sugerem que a depressão maior está envolvida com prejuízo no metabolismo cerebral (FATTAL et al., 2006; MADRIGAL et al., 2001; STANYER et al., 2008) e com estresse oxidativo (LUCCA et al., 2009; MADRIGAL et al., 2001; MAES et al., 2011).

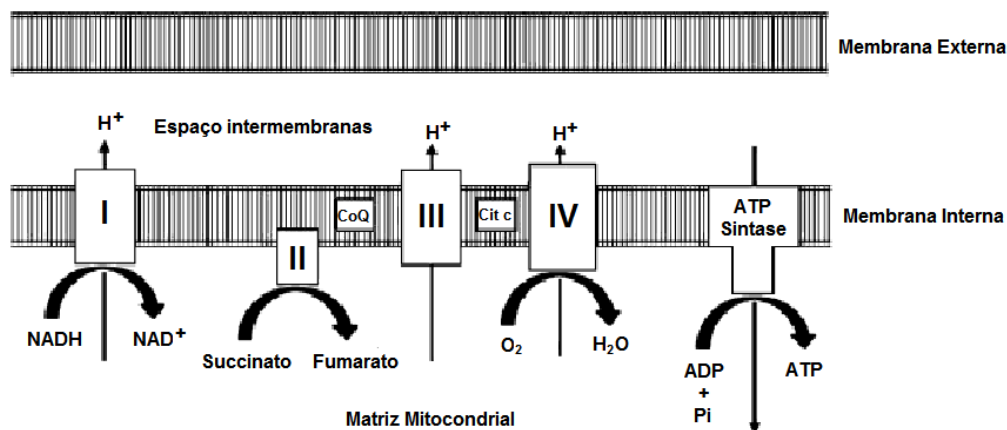
1.4 METABOLISMO ENERGÉTICO E DEPRESSÃO MAIOR

O cérebro desenvolve uma intensa atividade metabólica, porém possui uma pequena reserva energética em relação ao grande consumo de glicose, existindo assim uma necessidade contínua de substratos energéticos (DICKINSON, 1996). As mitocôndrias são organelas intracelulares que desempenham um papel crucial na produção de adenosina trifosfato (ATP) (CALABRESE et al., 2001). Os elétrons provenientes dos nutrientes, no processo de inúmeras reações enzimáticas que envolvem a degradação da glicose, aminoácidos e ácidos graxos, são transformados em acetil CoA, que é parte integrante do ciclo de Krebs, processo este que ocorre na mitocôndria, mais precisamente na matriz mitocondrial (HORN; BARRIENTOS, 2008). O ciclo de Krebs começa e termina com oxaloacetato, onde uma volta completa no ciclo produz duas moléculas de dióxido de carbono (CO_2), três de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH), uma de flavina adenina dinucleotídeo (FADH_2) e um composto de alta energia – ATP ou guanosina trifosfato (GTP). Contudo, durante todo o ciclo não ocorre perda de água, tendo este que estar acoplado à cadeia respiratória mitocondrial, por ela ser capaz de produzir água usando NADH e FADH_2 gerados no ciclo de Krebs (VOET; VOET; PRATT, 2000).

A maioria da energia da célula é obtida através da fosforilação oxidativa, um processo que requer a ação de vários complexos enzimáticos localizados em uma estrutura especial da membrana mitocondrial interna denominada cadeia respiratória mitocondrial (HORN; BARRIENTOS, 2008). A ação combinada do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa é responsável pela maior parte da produção de ATP gerada pelos seres humanos,

sendo que a cadeia de transporte de elétrons é composta por quatro complexos enzimáticos e dois componentes que não fazem parte dos complexos, a ubiquinona, também chamada de coenzima Q, que transporta elétrons do NADH desidrogenase (complexo I) e succinato desidrogenase (complexo II) ao ubiquinona-citocromo *c* oxidoreductase (complexo III), e o citocromo *c*, que transporta elétrons do complexo III ao citocromo oxidase (complexo IV) (HEALES et al., 1999; WALLACE, 1999). A síntese de ATP na mitocôndria é resultado da fosforilação oxidativa, na qual o adenosina difosfato (ADP) é fosforilado, originando o ATP. A operação da cadeia de transporte de elétrons leva a um bombeamento de prótons através da membrana interna da mitocôndria, criando assim um gradiente de prótons. O gradiente de prótons gerado é usado pelo ATP sintase para catalisar a formação de ATP pela fosforilação de ADP (BOEKEMA; BRAUN, 2007; FATTAL et al., 2006; MADRIGAL et al., 2001) (Figura 1).

Figura 1 – Cadeia respiratória mitocondrial.



Fonte: Adaptado de Rezin et al. (2009, p. 1023).

Estudos mostram que a disfunção mitocondrial resulta de um mau funcionamento da cascata bioquímica sugerindo ser um importante fator na patogênese de muitos transtornos psiquiátricos, tais como transtorno bipolar, depressão maior e esquizofrenia (FATTAL et al., 2006; HORN; BARRIENTOS, 2008; REZIN et al., 2008; REZIN et al., 2009; SHAO et al., 2008). Pesquisas com modelos animais mostraram inibição em complexos da cadeia respiratória mitocondrial em cérebro de ratos após estresse crônico (MADRIGAL et al., 2001; REZIN et al., 2008). Em pacientes deprimidos, estudo de Kimbrell e colaboradores (2002) mostrou que estes apresentam redução no metabolismo da glicose em algumas regiões do cérebro em comparação a indivíduos saudáveis. Gardner e colaboradores (2003) mostraram uma diminuição na produção de ATP mitocondrial e na atividade das enzimas mitocondriais

em músculo de pacientes com depressão maior.

1.5 ESTRESSE OXIDATIVO E DEPRESSÃO MAIOR

Sabe-se que o sistema de fosforilação oxidativa gera radicais livres e a cadeia de transporte de elétrons está vulnerável a dano por estes (NAVARRO; BOVERIS, 2007). Tendo em vista a produção contínua de espécies reativas de oxigênio (ERO), espécies reativas de nitrogênio (ERN), entre outras espécies reativas, durante os processos metabólicos, o organismo dispõe de um sistema antioxidante que tem o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e controlar a ocorrência de danos decorrentes. Esse sistema é dividido em não-enzimático e enzimático. O sistema de defesa não-enzimático inclui, especialmente, os compostos antioxidantes de origem dietética, entre os quais se destacam: vitaminas, minerais e compostos fenólicos (BIANCHI; ANTUNES, 1999). O sistema de defesa enzimático inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx). Essas enzimas agem por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não-reativas, envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativos (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

A enzima SOD, por meio da reação de dismutação, catalisa a geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a partir do radical superóxido ($O_2\bullet$). As enzimas CAT e GPx agem com o mesmo propósito, ou seja, o de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio, que, apesar de não ser um radical livre, é igualmente reativo e capaz de promover danos potenciais. Tal ação é de grande importância, pois o acúmulo dessa espécie reativa (H_2O_2) possibilita, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, a geração do radical hidroxila ($OH\bullet$), contra o qual não há sistema enzimático de defesa (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

A instalação do processo de estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de espécies reativas ou em detrimento da velocidade de remoção destas (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004; MAZZA et al., 2007). Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com conseqüente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

Quando a produção de espécies reativas supera a capacidade de ação dos antioxidantes e ocorre a oxidação de biomoléculas, há a geração de metabólitos específicos, denominados marcadores do estresse oxidativo, que podem ser identificados e quantificados. Tais marcadores são derivados, sobretudo, da oxidação de lipídios, proteínas e DNA, sendo os primeiros os de maior expressão (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). O malondialdeído (MDA), que pode ser medido utilizando-se o ácido tiobarbitúrico (TBA), é considerado o candidato potencial como marcador de oxidação de lipídios, assim como o conteúdo carbonílico de proteínas é amplamente utilizado como marcador de dano oxidativo em proteínas, sob condições de estresse oxidativo (VASCONCELOS et al., 2007).

O cérebro é particularmente vulnerável à produção das ERO, porque ele metaboliza 20% do oxigênio corporal total e tem uma capacidade antioxidante limitada (HALLIWELL, 2006; MAZZA et al., 2007). Baseado na hipótese do envolvimento do estresse oxidativo na fisiopatologia da depressão maior, estudo de Madrigal e colaboradores (2001) mostrou depleção da glutathione e aumento da peroxidação lipídica em cérebro de ratos após estresse crônico por 21 dias. Lucca e colaboradores (2009a,b) também mostraram aumento da peroxidação lipídica, carbonilação de proteína, produção de superóxido e inibição da atividade da superóxido dismutase em cérebro de ratos submetidos ao estresse crônico moderado (ECM).

Nesse contexto, Jou, Chiu e Liu (2009) relataram a possibilidade de novos estudos conduzirem a um foco no distúrbio psiquiátrico como uma doença metabólica, onde o metabolismo energético torna-se diminuído, especialmente ao nível da disfunção mitocondrial, levando a danos neuronais e morte celular. Deste modo, o tratamento com psicofármacos poderia aumentar o metabolismo energético e reduzir os danos causados pelo estresse oxidativo.

Este foco é fortalecido pelo fato de que tecidos com altas exigências de energia, tais como o cérebro, contêm um grande número de mitocôndrias, sendo, portanto, mais suscetíveis à redução do metabolismo anaeróbico (BOEKEMA; BRAUN, 2007). Neste sentido, já foi demonstrado que anormalidades no metabolismo energético levam à degeneração celular (CALABRESE et al., 2001). Além disso, o dano oxidativo pode ser causa ou consequência de uma disfunção mitocondrial (BOEKEMA; BRAUN, 2007; MADRIGAL et al., 2001).

1.6 TRATAMENTO DA DEPRESSÃO MAIOR

Na década de 1950 a depressão maior foi diagnosticada como um transtorno passível de tratamento (BALDESSARINI, 2007). Em 1951, a isoniazida e a iproniazida, foram desenvolvidas para o tratamento da tuberculose. A iproniazida demonstrou-se eficiente na melhora do humor em pacientes portadores de tuberculose, mas sua utilização clínica foi abandonada devido a sua hepatotoxicidade. Em 1952, Zeller e colaboradores observaram que a iproniazida, diferente da isoniazida, inibia a monoamina oxidase (MAO) (BALDESSARINI, 2007), enzima responsável pela degradação de neurotransmissores monoaminérgicos nos neurônios (AGUIAR et al., 2011). Portanto, a primeira classe de antidepressivos descoberta em 1956 foi a dos inibidores da monoamina oxidase (IMAO), que a partir desta inibição promoviam aumento dos níveis de neurotransmissores na fenda sináptica. Como exemplos também podem ser citadas a fenelzina, a tranilcipromida e a moclobemida. Esta classe de antidepressivos geralmente causa muitos efeitos colaterais (AGUIAR et al., 2011; BATEMAN, 2012).

Além disso, o surgimento dos antidepressivos tricíclicos (ADT) inicialmente foi relacionado à ação antipsicótica devido à clorpromazina (primeiro antipsicótico descoberto, em 1952) ter também a estrutura química tricíclica. Contudo, a imipramina (primeira substância sintetizada desta classe, em 1958) não demonstrou ação antipsicótica, mas antidepressiva. A partir destes dados, novas substâncias foram sendo descobertas, tais como a amitriptilina e a nortriptilina. Estes antidepressivos bloqueiam os transportadores de serotonina, dopamina e noradrenalina, aumentando a biodisponibilidade destes na fenda sináptica (AGUIAR et al., 2011).

Desenvolvidos a partir dos ADTs, o primeiro antidepressivo da classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) foi descoberto em 1988: a fluoxetina. Estes são mais seletivos que os antidepressivos clássicos, ou seja, com menos efeitos colaterais, e promovem a inibição seletiva e potente da recaptação de serotonina. Dentro desta classe foram desenvolvidos a sertralina, a paroxetina, a fluvoxamina e o citalopram (AGUIAR et al., 2011).

Além dessas classes, e ainda vinculados ao proposto na teoria monoaminérgica, a partir da década de 1980 foram desenvolvidos os antidepressivos atípicos, que não possuem ação farmacológica específica, porém atuam principalmente como antagonistas não seletivos dos receptores pré-sinápticos, possivelmente potencializando a liberação das aminas. Como

exemplo podem ser citados a venlafaxina, mirtazapina, trazodona e nefazodona (MORENO; MORENO; SOARES, 1999).

Além dos neurotransmissores citados, outros neurotransmissores também desempenham papel importante na depressão maior. Um deles é o glutamato, o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central. Estudos mostram que a exposição a eventos estressores promove aumento na liberação de glutamato no hipocampo (JOCA; PADOVAN; GUIMARÃES, 2003). Desta forma, a modulação e disfunção do sistema glutamatérgico parece estar envolvido na depressão maior (JAVITT, 2004; SZASZ et al., 2007). Neste contexto, estudos têm apontado para os receptores de glutamato ionotrópicos do tipo N-Metil-D-Aspartato (NMDA), como um fator importante na etiologia dos transtornos psiquiátricos, tais como ansiedade e depressão maior (KORTEKAAS et al., 2008; KRYSTAL et al., 1999). Em adição, foi constatado que a cetamina (antagonista dos receptores NMDA) leva a uma rápida melhora nos sintomas depressivos, o que abre perspectivas para a síntese de uma nova geração de antidepressivos com ação no glutamato (MURCK et al., 2009).

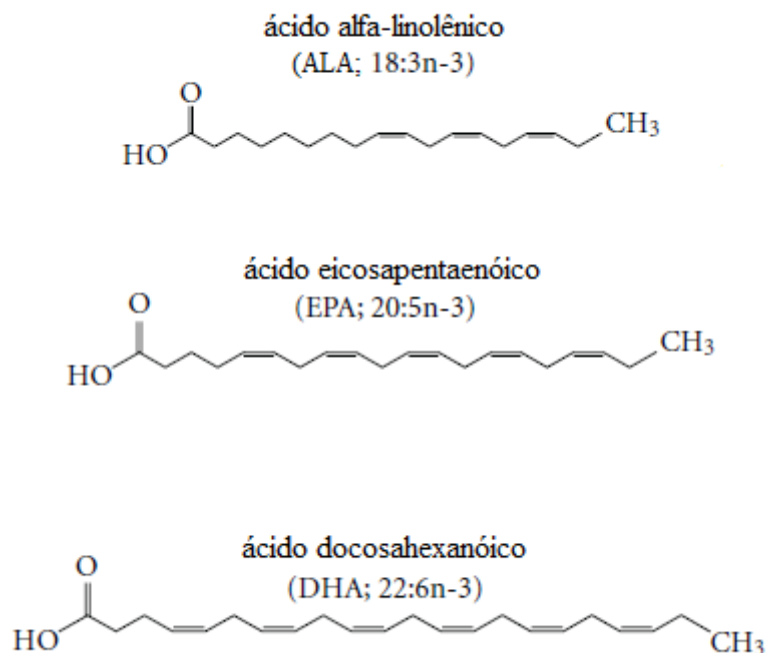
Mais recentemente, alguns estudos se voltaram para a via melatoninérgica. A agomelatina, já disponível para comercialização, é o primeiro agente antidepressivo com mecanismo de ação não monoaminérgico, que atua nos receptores de melatonina (ÁLAMO; LÓPEZ-MUÑOZ; ARMADA, 2008). A sua atividade antidepressiva está em uma interação sinérgica entre os receptores melatoninérgicos (agonista) e de serotonina 2C (antagonista) (BODINAT et al., 2010). Exibe ainda alguns benefícios adicionais aos pacientes que experimentam disfunção sexual ou que tenham distúrbios do sono devido à depressão maior (ÁLAMO; LÓPEZ-MUÑOZ; ARMADA, 2008).

No entanto, apesar dos tratamentos disponíveis, o curso deste transtorno ainda demonstra muita complexidade. A maioria dos indivíduos que sofrem de depressão maior se recupera dentro de um ano, porém, uma parte não mostra sinais de remissão, mesmo depois de cinco anos ou mais (RICHARDS, 2011).

1.7 ÔMEGA-3 E DEPRESSÃO MAIOR

Os ácidos graxos ômega-3 compreendem uma família de ácidos graxos poli-insaturados fundamentais para o funcionamento do organismo e que não podem ser sintetizados pelo mesmo, denominados ácidos graxos essenciais (POMPÉIA, 2002). Os principais ácidos graxos ômega-3 são o ácido alfa-linolênico (ALA), ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexanóico (DHA) (NAHAS; SHEIKH, 2011) (Figura 2).

Figura 2 – Estrutura química dos principais ácidos graxos ômega-3.

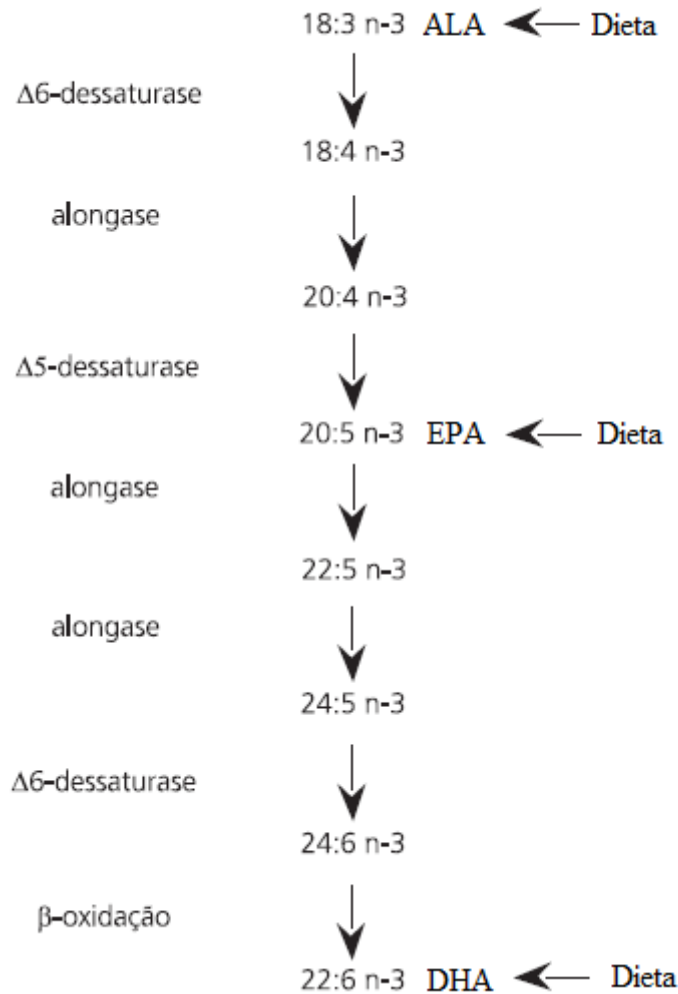


Fonte: Adaptado de Levant (2011, p.3).

Como esses ácidos graxos não podem ser sintetizados pelo organismo, eles precisam ser obtidos através de fontes dietéticas (BODNAR; WISNER, 2005; LOGAN, 2003). Estas fontes podem ser de origem vegetal, na forma de ALA, ou a partir de algumas espécies de peixes, na forma de EPA e DHA (NAHAS; SHEIKH, 2011).

O ALA, encontrado em linhaça, soja, canola e nozes, pode ser metabolizado em EPA e DHA, pela ação de enzimas alongase e dessaturase (LOGAN, 2003; MARTIN et al., 2006) (Figura 3). No entanto, os seres humanos são relativamente ineficientes em realizar esta síntese ($\leq 6\%$ de conversão) a partir do ALA (BRENNAN, 2002), dado que estas enzimas são influenciadas por inúmeros aspectos como tabagismo, consumo de álcool, diabetes, estresse e envelhecimento (MARTIN et al., 2006) e, portanto, o ALA pode não ser bem convertido em algumas pessoas (FREEMAN, 2009).

Figura 3 – Metabolismo dos ácidos graxos da família ômega-3.



Fonte: Adaptado de Martin et al. (2006, p.765)

O ômega-3 na forma de EPA e DHA, produzidos por algumas espécies de peixes, são os mais relevantes para a saúde mental e mais predominantes no cérebro (BODNAR; WISNER, 2005; MISCHOULON, 2009). Os peixes fornecem quantidades variáveis de ômega-3 na forma de DHA e EPA (LOGAN, 2003). Os peixes de origem marinha, como a sardinha e o salmão, geralmente apresentam quantidades maiores de DHA e EPA que os peixes oriundos de águas continentais. Isso ocorre, devido à expressiva quantidade desses ácidos graxos no fitoplâncton, que provê a sua distribuição ao longo da cadeia alimentar marinha (MARTIN et al., 2006).

O sistema nervoso central, depois do tecido adiposo, constitui-se no sistema que possui a maior concentração de lipídios do organismo (AGRANOFF; HAJRA, 1994; BOURRE, 2005). Dos lípidos no cérebro, formados de ácidos graxos, 50% são poli-insaturados e 1/3 destes são da família ômega-3 e, portanto, de origem alimentar (BOURRE,

2005). A composição adequada de ácidos graxos essenciais da dieta exerce efeitos benéficos para as funções cerebrais, tais como memória, aprendizado, cognição e humor, podendo melhorar substancialmente o desempenho do cérebro e se mostrando muito importante para a manutenção de um estado geral de saúde mental (HAAG, 2003; MAZZA et al., 2007).

Os lipídios do cérebro, ricos em ácidos graxos poli-insaturados, desempenham um papel fundamental nas propriedades físicas das membranas neurais (FAROOQUI; HORROCKS; FAROOQUI, 2000), influenciando muitos aspectos das funções da membrana, tais como permeabilidade, interações entre lipídios e entre lipídios-proteínas (FREITAS; KIETZER, 2002). Inclusive, interações específicas de determinados lipídios com proteínas de membrana podem afetar as funções de receptores, atividades enzimáticas, transdução de sinal e excitabilidade das membranas neurais (UAUY et al., 1996). Desta forma, deficiências crônicas de ácidos graxos essenciais provocam modificações na composição lipídica das membranas neurais, distúrbios visuais e de comportamento (ZIMMER et al., 1999).

A composição das membranas biológicas pode ser alterada por fatores nutricionais, ambientais e xenobióticos (FREITAS; KIETZER, 2002). As maiores modificações nas concentrações de DHA no cérebro são obtidas com dietas deficientes em ômega-3 durante a gestação (SANDERS; MISTRY; NAISMITH, 1984), nos primeiros estágios do desenvolvimento pré-natal (NOUVELOT et al., 1983) e em várias gerações submetidas à dieta deficiente em ômega-3 (SALEM, 1989). A amamentação ocasiona diminuição significativa nas concentrações plasmáticas de DHA maternas (HOLMAN; JOHNSON; OGBURN, 1991) e essa depleção de DHA pode estar relacionada com a depressão que acomete algumas mulheres após o parto (GITLIN; PASNAU, 1989).

Embora algumas evidências sugerem que as deficiências de ácidos graxos podem estar relacionadas com a ingestão dietética reduzida de ômega-3 (EDWARDS et al., 1998; HIBBELN, 1998), estas associações não são completamente compreendidas. Por exemplo, um certo número de processos de dessaturação enzimáticos e alongamento são necessários para os ácidos graxos de cadeia mais longa serem metabolizados e há a possibilidade que em indivíduos vulneráveis a transtornos afetivos algum defeito na dessaturação enzimática e no alongamento prejudiquem o nível ideal de ácidos graxos no soro ou no cérebro. Além disso, o aumento da produção de radicais livres, relacionado a fatores comportamentais associados a transtornos de humor, como tabagismo, consumo de álcool, má qualidade do sono e falta de exercício físico, poderia reduzir a disponibilidade de ácidos graxos poli-insaturados, apesar de adequados padrões dietéticos (CONKLIN et al., 2010). Dessa forma, embora não seja possível excluir a possibilidade de que a depressão maior em si provoca alterações na ingestão

ou nas concentrações de ômega-3, é mais provável que baixas concentrações de ômega-3, causadas por metabolismo anormal ou ingestão reduzida, contribuem para a suscetibilidade à depressão maior (SONTROP; CAMPBELL, 2006).

Diante dos fatos, foi proposto que o aumento da prevalência de depressão maior nos últimos cinquenta anos poderia estar relacionado a mudanças no comportamento alimentar, particularmente envolvendo uma redução do consumo de alimentos ricos em ômega-3 (BOURRE, 2005) e, em consequência, alguns estudos sugerem que uma maior ingestão de ômega-3 pode levar à diminuição do risco de transtornos depressivos (LI et al., 2011; TANSKANEN et al., 2001). Desta forma, se o ômega-3 desempenha um papel importante nos transtornos depressivos, então seria esperado que nos países em que as pessoas consomem maiores quantidades desses ácidos graxos (principalmente através da ingestão de peixes) haveria uma menor prevalência de depressão maior. Tal hipótese é confirmada por alguns estudos populacionais que vinculam alto consumo de peixe com uma baixa incidência de transtornos mentais, e que essa menor taxa de incidência tem se mostrado associada à ingestão de ômega-3 (LI et al., 2011; TANSKANEN et al., 2001).

No mesmo sentido, há diversas linhas de evidência que indicam uma associação entre o ômega-3 e a depressão maior: em seis estudos de caso-controle, as análises de lípidios no sangue revelaram baixas concentrações de ômega-3 em casos de depressão maior, quando comparados com controles não-deprimidos (EDWARDS et al., 1998; FRASURE-SMITH; LESPÉRANCE; JULIEN, 2004; MAES et al., 1996; MAES et al., 1999; PEET et al., 1998; TIEMEIER et al., 2003) e, em dois estudos de coorte, as mulheres com depressão pós-parto tiveram menores concentrações de ômega-3 em relação às mulheres não-deprimidas (DE VRIESE; CHRISTOPHE; MAES, 2003; OTTO; DE GROOT; HORNSTRA, 2003).

Os resultados de ensaios clínicos randomizados e cegos sobre depressão maior e suplementação com ômega-3 mostraram resultados contraditórios: alguns estudos encontraram um efeito antidepressivo aparente, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos que receberam ômega-3 e os que receberam placebo, demonstrando o benefício do ômega-3 como tratamento adjuvante para a depressão maior (GERTSIK et al., 2012; JAZAYERI et al., 2008; MISCHOULON et al., 2008; NEMETS et al., 2006; NEMETS; STAHL; BELMAKER, 2002; PEET; HORROBIN, 2002; SU et al., 2003), enquanto outros estudos apresentaram resultados negativos, não observando diferenças significantes entre os grupos (MARANGELL et al., 2003; ROGERS et al., 2008; SILVERS et al., 2005).

Estudos avaliaram o efeito antidepressivo do ômega-3 (em doses variando de 1g/dia a 4 g/dia durante 4 a 12 semanas) em pacientes com tratamento em curso utilizando antidepressivos e observaram benefícios significativos nesta adição em comparação com o placebo (MISCHOULON et al., 2008; NEMETS; STAHL; BELMAKER, 2002; PEET; HORROBIN, 2002; SU et al., 2003). Nemets, Stahl e Belmaker (2002) relataram que benefícios altamente significativos já foram verificados na terceira semana de tratamento. Além disso, estes estudos mostraram que o ômega-3 pode ser eficaz para a depressão inclusive em doses mais baixas como de 1 g/dia (MISCHOULON et al., 2008; PEET; HORROBIN, 2002).

Nemets e colaboradores (2006) conduziram um estudo randomizado e duplo-cego com crianças entre 6 e 12 anos que avaliou os efeitos do ômega-3 sobre a depressão infantil. Os resultados mostraram efeitos significativos do ômega-3 sobre os sintomas depressivos, sugerindo que os ácidos graxos ômega-3 também podem ter benefícios terapêuticos na depressão infantil.

Jazayeri e colaboradores (2008) compararam os efeitos terapêuticos do EPA, fluoxetina e uma combinação dos dois em pacientes com diagnóstico de depressão maior e observaram que o EPA e a fluoxetina tiveram efeitos terapêuticos iguais no tratamento da depressão maior e que a combinação foi superior a qualquer um deles sozinho. Um estudo mais recente, conduzido por Gertsik e colaboradores (2012) explorou a eficácia da terapia de combinação do citalopram com ômega-3 comparado com citalopram associado a placebo no tratamento inicial de indivíduos com depressão maior e verificou que a terapia combinada foi mais eficaz do que a monoterapia na diminuição dos sinais e sintomas de depressão. Estes estudos mostram que pode ser uma vantagem combinar ômega-3 com um ISRS no tratamento de indivíduos com depressão maior, além de reforçar o conceito de que esta combinação é uma estratégia benéfica e segura.

Entretanto, nem todos os dados são consistentes em termos de benefícios significativos do ômega-3 na depressão maior. Marangell et al. (2003) e Rogers et al. (2008) realizaram ensaios clínicos duplo-cegos randomizados e controlados avaliando os efeitos da suplementação com ômega-3 como monoterapia no tratamento de pacientes deprimidos e não encontraram efeitos benéficos ou prejudiciais do ômega-3. Além deste, um ensaio clínico randomizado conduzido por Silvers e colaboradores (2005) utilizando o ômega-3 como um tratamento adjuvante também não mostrou diferença significativa quando comparado ao placebo. No entanto, neste último estudo foi relatado que o humor melhorou

significativamente em ambos os grupos nas primeiras 2 semanas do estudo e esta melhoria foi mantida.

Além disso, o ômega-3 pode ser um tratamento adjuvante importante para mulheres no período da gestação e pós-parto, conhecida como depressão perinatal, devido ao esgotamento materno de ômega-3 durante a gravidez e o risco de exposição à medicação antidepressiva nesta população (DELIGIANNIDIS; FREEMAN, 2010; FREEMAN, 2006). Neste sentido, em um estudo de coorte, Golding e colaboradores (2009) relataram que níveis mais elevados de consumo de ômega-3 durante a gravidez foram associados com menor incidência de sintomas depressivos no período da gestação e durante todo o ano pós-parto. Freeman e colaboradores publicaram em 2006 dois ensaios clínicos que demonstraram o potencial antidepressivo do ômega-3 no tratamento da depressão perinatal. No primeiro estudo (FREEMAN et al., 2006a) foi avaliada a eficácia do ômega-3 para a depressão pós-parto e o segundo estudo (FREEMAN et al., 2006b) avaliou o ômega-3 no tratamento da depressão durante a gravidez. A suplementação com ômega-3 foi bem tolerada em ambos os estudos, assim como apresentou benefícios estatisticamente significativos.

No entanto, resultados contraditórios também foram observados em trabalhos que consideraram o ômega-3 para o tratamento da depressão perinatal. Llorente et al. (2003) avaliaram mulheres saudáveis que receberam DHA ou placebo durante quatro meses, com início após o parto e não encontraram nenhuma diferença nos escores de depressão entre os grupos. Além deste, Marangell e colaboradores (2004) relataram que a suplementação com óleo de peixe com início entre 34 e 36 semanas de gravidez, não impediu, como monoterapia, a ocorrência de depressão pós-parto em mulheres com história prévia de depressão no período pós-parto em gestações anteriores.

Estudos mais recentes também mostraram que o ômega-3 pode ser uma boa alternativa para o tratamento de sintomas depressivos em idosos (RONDANELLI et al., 2010; TAJALIZADEKHOOB et al., 2011). Em um ensaio clínico controlado com placebo conduzido por Rondanelli et al. (2010), onde 46 idosas receberam 2,5 g/dia de ômega-3 ou placebo por 8 semanas, a suplementação com ômega-3 se mostrou eficaz na melhoria dos sintomas depressivos e qualidade de vida. Outro ensaio clínico controlado com placebo realizado por Tajalizadekhoob et al. (2011) avaliou a suplementação de 1 g/dia de óleo de peixe contendo EPA e DHA ou placebo em 66 idosos durante 6 meses, sendo que 4 participantes do grupo óleo de peixe e 7 do grupo placebo estavam usando fármacos antidepressivos (tricíclicos ou ISRS). Neste estudo, o tratamento com ômega-3 também foi

cl clinicamente mais eficaz no tratamento da depressão leve a moderada, em comparação com o placebo.

Ainda, um recente corpo de evidências tem mostrado uma relativa deficiência de ácidos graxos da membrana periférica em pessoas com transtornos afetivos, como depressão unipolar e bipolar. Estudo de Conklin et al. (2010) investigou a variação dos ácidos graxos no tecido cerebral humano pós-morte (córtex cingulado anterior) de acordo com a presença de depressão maior no momento da morte e observou que, comparado com o grupo controle, o grupo deprimido revelou concentrações significativamente mais baixas de numerosos ácidos graxos saturados e poli-insaturados, incluindo o ômega-3 e o ômega-6. Esta descoberta é compatível com a proposta de que as concentrações de ácidos graxos do tecido cerebral podem ser um fator importante que influencia a sintomatologia psiquiátrica. McNamara et al. (2007) também realizaram análises pós-morte de ácidos graxos no tecido cerebral e demonstraram da mesma forma uma diminuição dos níveis de ômega-3 no córtex órbito-frontal de pacientes com depressão maior.

Considerando o exposto, é biologicamente plausível que o ômega-3 tenha efeitos antidepressivos. Vários mecanismos de ação podem explicar como os dois ácidos graxos ômega-3 encontrados no óleo de peixe (EPA e DHA) podem ter efeitos antidepressivos em seres humanos (LAKHAN; VIEIRA, 2008; SONTROP; CAMPBELL, 2006). Os mecanismos propostos envolvem: membranas celulares (KIDD, 2007; SUOMINEN-TAIPALE et al., 2010), resposta anti-inflamatória e neurotransmissores (LAKHAN; VIEIRA, 2008).

As evidências apresentadas em revisão realizada por Kidd (2007) sugerem que a base fundamental para a aplicação de DHA e EPA na saúde é a sua presença nas membranas celulares. Modificações na composição dos ácidos graxos das membranas neurais podem ser obtidas através da suplementação com dietas que incluem óleos de peixes marinhos (ricos em ômega-3) (FREITAS; KIETZER, 2002). Suominen-Taipale e colaboradores (2010) também mostraram estudos que sugerem que um papel importante do ômega-3 na depressão maior seria mudanças na estrutura e função da membrana neuronal. Aumentar a insaturação permite uma maior fluidez e uma cooperação mais versátil entre os lipídios da membrana e as proteínas imersas neste meio. Este princípio sugere que ter níveis adequados de DHA e EPA em sistemas de membrana é crucial para a sobrevivência, crescimento, renovação e inúmeras funções de células humanas (KIDD, 2007).

Um segundo mecanismo é suportado pelo fato da depressão maior ser acompanhada por uma resposta inflamatória do sistema imune, com o aumento da secreção de citocinas inflamatórias e eicosanóides (MAES; SMITH; SCHARPE, 1995; SONG et al.,

1998). Os ácidos graxos poli-insaturados exercem efeitos importantes nas vias inflamatórias: o ácido araquidônico (ácido graxo essencial da família dos ômega-6) é o principal precursor da série pró-inflamatória dos eicosanóides (MAES et al., 1996), enquanto que o ômega-3 derivado do óleo de peixe reduz a produção desses eicosanóides, atuando como anti-inflamatório (CALDER, 2001; SIMOPOULOS, 2002).

O ômega-3 também pode modular o metabolismo de neurotransmissores e as funções sinápticas (FREITAS; KIETZER, 2002). O ômega-3 tem um papel importante na síntese, degradação, liberação e recaptação de neurotransmissores (BODNAR; WISNER, 2005; HAAG, 2003). Altas concentrações de DHA aumentam a fluidez da membrana e melhoram a sensibilidade do receptor de serotonina (MAZZA et al., 2007). Delion e colaboradores (1996) observaram concentrações reduzidas de dopamina e menor densidade de receptores serotoninérgicos 5-HT₂, bem como redução em receptores dopaminérgicos D₂ em ratos deficientes de DHA. Além disso, em ratos submetidos à lesão cerebral traumática, a suplementação dietética de DHA aumentou a recuperação e a produção de BDNF (WU; YING; GOMEZ-PINILLA, 2004).

1.8 MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO

Numerosos modelos animais de depressão foram desenvolvidos e frequentemente envolvem a análise de efeitos estressores (ANISMAN; MATHESON, 2005). Muitos deles têm recebido atenção considerável e cada um contribui para a compreensão de aspectos específicos do transtorno (ANISMAN; MATHESON, 2005).

Entre os modelos de depressão existentes encontra-se o modelo de ECM. Este modelo animal, proposto previamente por Willner et al. (1987), consiste em expor ratos, sequencialmente, a uma variedade de estressores distintos e imprevisíveis, por um período de semanas, com o intuito de induzir a um estado depressivo caracterizado por anormalidades comportamentais, como um menor consumo de sacarose (alimento doce), postulado por refletir anedonia (perda de interesse ou prazer) em animais, que se assemelha a uma das características mais proeminentes na depressão maior (AURIACOMBE; RENERIC; MOAL, 1997; WILLNER et al., 1987).

Este modelo animal apresenta validade: (i) aparente (ou de face), visto que reflete alguns sintomas observados em episódios depressivos que podem ser examinados em animais (com foco principal na anedonia) (D'AQUILA; NEWTON; WILLNER, 1997); (ii) preditiva, pois o modelo é sensível farmacologicamente a uma variedade de tratamentos com

antidepressivos, que são eficazes na reversão da anedonia após o ECM (PAPP; MORYL; WILLNER, 1996), e; (iii) de construto, ao reproduzir alguns aspectos fisiopatológicos da doença (VALVASSORI; ARENT; QUEVEDO, 2011). Além disso, este modelo animal tem como vantagem o fato de mimetizar situações estressoras de modo naturalístico, visto que em humanos estas situações exercem um papel relevante no desencadeamento da depressão (NESTLER et al., 2002).

Os estressores da vida contribuem de alguma forma para a depressão, de modo que eventos adversos conferem estados negativos de humor em pessoas normais (SHELTON, 2007). Neste contexto, os modelos animais de depressão baseados no estresse, representam uma aproximação do que ocorre em humanos, uma vez que dados clínicos apontam para um importante papel de experiências estressantes no desenvolvimento, expressão e exacerbação deste transtorno (GAMARO et al., 2003; WILLNER, 1997; WILLNER et al., 1987). Além disso, em modelos de estresse, a anedonia foi sugerida por Willner (1997) como um marcador chave, visto que reflete a falta de prazer essencial para o diagnóstico de depressão.

2 JUSTIFICATIVA

Apesar da eficácia dos antidepressivos disponíveis, a maioria dos pacientes deprimidos não atinge a remissão completa dos sintomas (RAKOFISKY; HOLTZHEIMER; NEMEROFF, 2009), o que indica que há muito espaço para melhorias no tratamento e prevenção da depressão maior. Logo, entender a neurobiologia deste transtorno tem ajudado os pesquisadores a descobrir uma série de novos alvos para terapias antidepressivas (RAKOFISKY; HOLTZHEIMER; NEMEROFF, 2009).

Continua-se a investigar os fatores envolvidos na persistência da depressão maior, particularmente aqueles relacionados ao estilo de vida e, foi sugerido que aspectos nutricionais podem influenciar no seu desenvolvimento. Entre eles, uma dieta rica em ômega-3 foi associada com um risco reduzido de depressão maior (KAMPHUIS et al., 2006), enquanto que a sua deficiência está associada com distúrbios depressivos (HIBBELN, 2007). Desta forma, a má qualidade da dieta pode ser um fator de risco modificável para a depressão maior, o que justifica uma maior atenção aos fatores nutricionais em saúde mental, haja vista que as intervenções nutricionais geralmente são de baixo custo, seguras, fáceis de administrar, e na maioria das vezes, bem aceitas pelos pacientes (BODNAR; WISNER, 2005).

Diante dos fatos, com o aumento da necessidade de novos tratamentos, vários estudos pré-clínicos e clínicos têm demonstrado efeitos benéficos do ômega-3 no tratamento da depressão maior e outros transtornos psiquiátricos (GERTSIK et al., 2012; NEMETS; STAHL; BELMAKER, 2002; PEET; HORROBIN, 2002; QUINTANA et al., 2010; SILVA et al., 2008). Assim, o ômega-3 parece ser uma boa opção como agente adicional na lista de tratamentos para os transtornos de humor (YOUNG; MARTIN, 2003), expandindo as opções de tratamento disponíveis para depressão maior (DELIGIANNIDIS; FREEMAN, 2010).

Considerando então a elevada prevalência da depressão maior, que sua exata fisiopatologia não está claramente entendida, e que por este motivo não se tem uma terapia totalmente eficaz, e que o uso de ômega-3 pode ser uma boa proposta para o tratamento deste transtorno, mais estudos se mostram necessários. Desta forma, este trabalho mostra-se relevante, visto que trará uma maior compreensão dos fatores bioquímicos envolvidos na depressão maior, bem como irá avaliar os efeitos do ômega-3 nestes mecanismos, possibilitando maiores esclarecimentos sobre os efeitos antidepressivos desta substância, o que poderá proporcionar uma nova estratégia terapêutica para os pacientes que não respondem aos tratamentos existentes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar o efeito do ômega-3 sobre parâmetros comportamentais e bioquímicos em ratos submetidos ao modelo de estresse crônico moderado (ECM).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do ômega-3 sobre o peso corporal de ratos submetidos ao modelo de ECM.
- Avaliar o efeito do ômega-3 sobre o comportamento anedônico de ratos submetidos ao modelo de ECM.
- Avaliar o efeito do ômega-3 sobre a atividade do complexo I e do complexo IV da cadeia respiratória mitocondrial em estruturas cerebrais (cerebelo e córtex posterior) de ratos submetidos ao modelo de ECM.
- Avaliar o efeito do ômega-3 sobre peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas em estruturas cerebrais (córtex pré-frontal, cerebelo, hipocampo, estriado e córtex posterior) de ratos submetidos ao modelo ECM.

4 ETAPAS METODOLÓGICAS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo experimental utilizando modelo animal de depressão.

4.2 AMOSTRA

Estudos prévios (LUCCA et al., 2009a; REZIN et al., 2008) permitem a confiança em um tamanho amostral de 10 animais por grupo, visto que para testes comportamentais o número de animais permite diminuir o viés de amostragem, totalizando 40 animais para o procedimento experimental. Este número por grupo foi estimado para uma diferença de até 20% nos parâmetros a serem analisados entre os grupos, com uma variância de no máximo 10% entre as médias, para um erro alfa de 0,05 e um poder de 80%.

4.3 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 40 ratos machos, pertencentes à linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com idade entre 2 e 3 meses, pesando entre 200 e 300g, procedentes do Biotério da Universidade do Sul de Santa Catarina, campus Tubarão. Os animais foram alojados em grupos de cinco por caixa, sendo identificados através de marcações na cauda. O ambiente dispunha de ar condicionado, que manteve a temperatura a $22\pm1^{\circ}\text{C}$ e sistema de iluminação que garantia 12 horas de ambiente claro e 12 horas de ambiente escuro.

4.4 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi submetido à avaliação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Sul de Santa Catarina e aprovado sob número de protocolo 11.038.5.05.IV. A utilização dos animais seguiu os Princípios de Cuidados de Animais de Laboratório (*Principles of Laboratory Animal Care*, Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América, NIH, publicação número 80-23, revisada em 1996).

4.5 LOCAL DE REALIZAÇÃO

O procedimento experimental foi realizado no Laboratório de Fisiopatologia Clínica e Experimental da Unisul, Tubarão (SC), Bloco da Saúde.

4.6 MODELO EXPERIMENTAL

O modelo de ECM foi desenvolvido segundo adaptações feitas por Gamaro e colaboradores (2003). Os animais foram divididos em grupo controle (n=20) e grupo estressado (n=20). O grupo controle permaneceu em suas caixas durante os 40 dias de experimento, sem a aplicação do modelo e com mínima manipulação. Foi aplicado o modelo de ECM por um período de 40 dias para o grupo estressado. Os estressores utilizados e o tempo de aplicação em cada dia estão listados no Quadro 1. Os estressores foram aplicados em horários distintos todos os dias para minimizar a previsibilidade.

Quadro 1 – Estressores utilizados no experimento.

Dia	Estressor utilizado	Duração
1	Privação de água	24h
2	Privação de comida	24h
3	Isolamento	24h
4	Isolamento	24h
5	Isolamento	24 h
6	Luz estroboscópica	3 h
7	Nado forçado	10 min
8	Contenção	1 h
9	Privação de comida	24 h
10	Nenhum estressor	-
11	Nenhum estressor	-
12	Privação de água	24 h
13	Contenção + frio	2 h
14	Luz estroboscópica	2,5 h
15	Privação de comida	24 h
16	Isolamento	24 h

17	Isolamento	24 h
18	Isolamento	24 h
19	Nado forçado	15 min
20	Privação de água	24 h
21	Privação de comida	24 h
22	Contenção	3 h
23	Isolamento	24 h
24	Isolamento	24 h
25	Luz estroboscópica	2 h
26	Contenção + frio	1,5 h
27	Nado forçado	10 min
28	Luz estroboscópica	3,5 h
29	Nenhum estressor	-
30	Privação de comida	24 h
31	Contenção	3 h
32	Luz estroboscópica	2 h
33	Privação de água	24 h
34	Contenção + frio	2 h
35	Nado forçado	15 min
36	Isolamento	24 h
37	Isolamento	24 h
38	Nenhum estressor	-
39	Luz estroboscópica	3h
40	Nado forçado	10 min

Fonte: Adaptado de Gamaro et al. (2003, p.108).

4.7 TRATAMENTO COM ÔMEGA-3

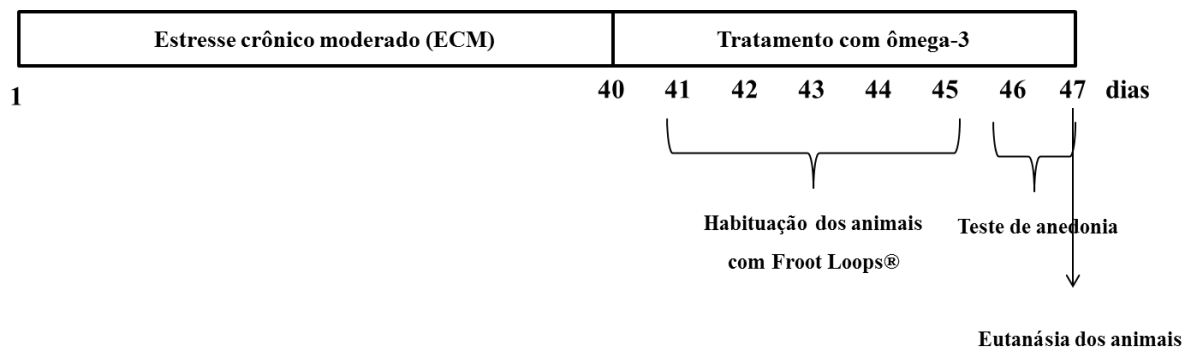
Após 40 dias de aplicação do modelo de ECM, os animais foram divididos em quatro grupos de 10 animais cada: (1) Controle + Salina; (2) Controle + Ômega-3; (3) Estressado + Salina; (4) Estressado + Ômega-3. O tratamento com ômega-3 foi administrado (500mg/kg) via oral (com agulha de gavagem para ratos), uma vez ao dia, durante 7 dias. A dose de ômega-3 baseou-se em estudo prévio realizado por Lakhwani e colaboradores (2007).

Após 60 minutos da administração do ômega-3, foi realizado o teste comportamental (teste de anedonia).

4.8 TESTE DE ANEDONIA

Após 40 dias de aplicação do modelo de ECM, o consumo de alimento doce foi aferido para verificar anedonia nos 40 animais. Os animais foram colocados dentro de uma caixa iluminada retangular (40 cm × 15 cm × 20 cm) com uma lateral de vidro e demais paredes laterais feitas de madeira. Dez Froot Loops® (Kellogg's® - cereal de trigo, milho e açúcar) foram colocados na caixa. Os animais foram submetidos a cinco ensaios de 3 minutos cada, um por dia, para familiarizarem-se com este alimento (ELY, 1997). Depois de serem habituados, os animais foram expostos a duas sessões de teste (Figura 4), de 5 minutos cada, quando o número de cereais ingeridos foi mensurado. O protocolo foi estabelecido para que quando o animal comer parte do Froot Loops® (1/3 ou 1/4), esta fração foi considerada. Estas duas sessões de teste foram feitas com os animais submetidos a jejum (durante um período de 22h antes do teste comportamental). Estas análises foram feitas a partir de privação de alimento, que é utilizado em tarefas de comportamento como um estímulo motivador (KATZ, 1982).

Figura 4 – Linha do tempo do experimento



Fonte: Elaboração da autora, 2013.

4.9 MEDIDAS DO PESO CORPORAL

Durante o experimento os animais tiveram livre acesso à água e comida padrão, exceto o grupo estressado durante o período que o estressor aplicado foi privação de água ou comida. O peso corporal foi medido em gramas no 1º dia e no 47º dia de experimento.

4.10 PREPARAÇÃO DO TECIDO E HOMOGENEIZADO

Os animais foram mortos por decapitação, o cérebro foi rapidamente removido e o córtex pré-frontal, estriado, hipocampo, córtex posterior e cerebelo, separados. As estruturas cerebrais foram homogeneizadas. O homogeneizado foi centrifugado a 800 X g por 10 min e o sobrenadante foi armazenado a -70°C para posterior determinação da quantidade de proteínas e análise da atividade dos complexos I e IV. As proteínas foram determinadas pelo método de Lowry et al.(1951), e a albumina sérica bovina foi utilizada como padrão.

4.11 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

4.11.1 Atividade das enzimas da cadeia respiratória mitocondrial

4.11.1.1 Atividade do complexo I

A atividade da NADH desidrogenase foi avaliada pelo método descrito por Cassina e Radi (1996) pela taxa de NADH-dependente da redução do ferricianeto a 420 nm e os resultados expressos em [nmol/min x mg proteína].

4.11.1.2 Atividade do complexo IV

A atividade do complexo IV foi determinada de acordo com Rustin e colaboradores (1994), e calculada pela diminuição da absorbância causada pela oxidação do citocromo c reduzido, medido em 550 nm e expresso em [nmol/min x mg proteína].

4.11.2 Parâmetros de estresse oxidativo

4.11.2.1 Dano oxidativo em lipídios (TBARS)

Foi baseado na reação do malondialdeído por incubação com o ácido tiobarbitúrico (ESTERBAUER; CHEESEMAN, 1990) e os resultados expressos em malondialdeído equivalente (nmol/mg proteína).

4.11.2.2 Dano oxidativo em proteínas

Foi avaliado através da reação dos grupos carbonila em proteínas oxidadas com dinitrofenil-hidrazina (REZNICK; PACKER, 1994) e os resultados expressos em proteína carbonilada (nmol/mg proteína).

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

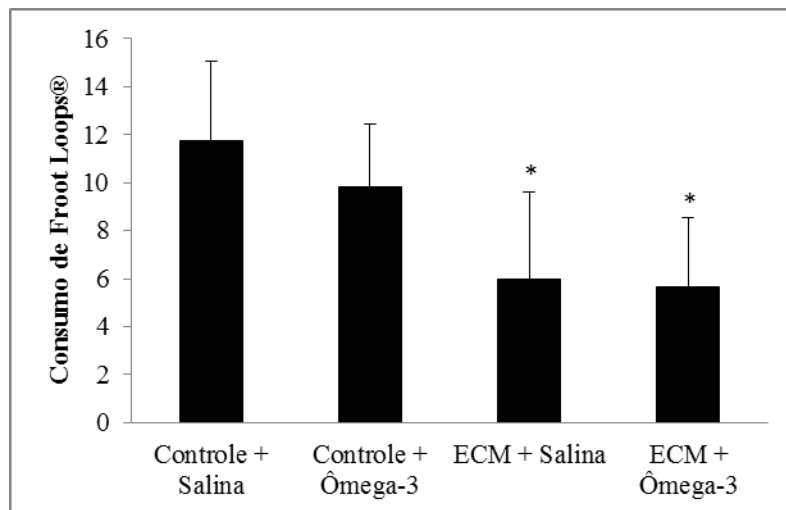
A análise estatística foi realizada através do programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Os dados do teste comportamental e bioquímicos foram avaliados pela análise de variância de uma via (ANOVA), seguidos pelo *post hoc* de Tukey. A significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 TESTE DE ANEDONIA

Nossos resultados mostraram que os animais submetidos ao ECM comeram menos Froot Loops® quando comparados com o grupo controle, o que caracteriza anedonia. Ainda, observamos que a administração de ômega-3 não alterou a ingestão de alimento doce no grupo controle, bem como não foi capaz de reverter a anedonia apresentada em ratos submetidos ao ECM (Figura 5).

Figura 5 – Teste de anedonia por consumo de alimento doce após o ECM.



Legenda: Os valores são expressos como a média ± Desvio padrão (n = 10).

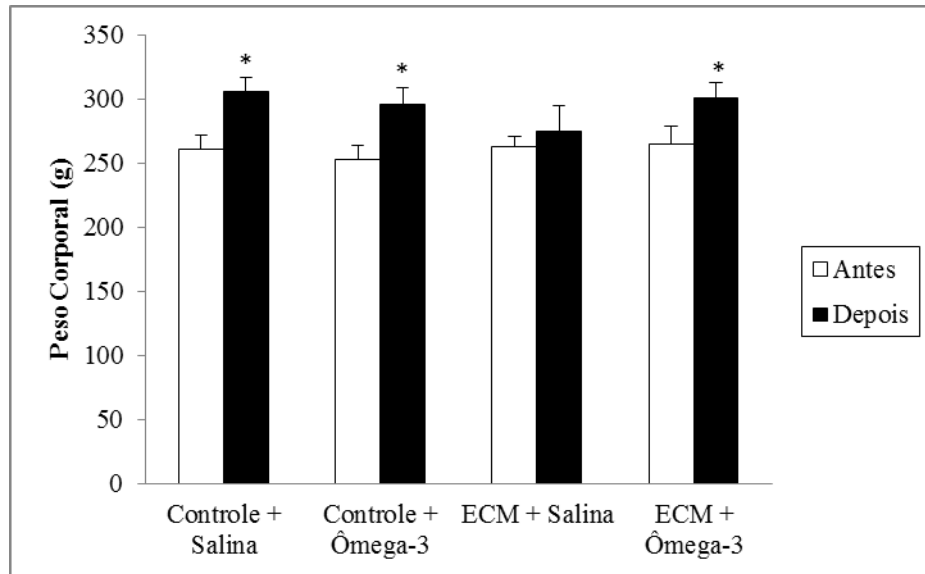
*Diferente do grupo controle + salina. $p < 0,05$ (ANOVA seguido pelo teste de Tukey).

Fonte: Elaboração da autora, 2013.

5.2 PESO CORPORAL

Observamos em nossos resultados que os animais do grupo controle ganharam peso significativo durante o experimento, bem como os animais do grupo controle que receberam ômega-3. No entanto, os animais submetidos ao ECM não tiveram ganho de peso significativo durante o experimento, porém o tratamento com ômega-3 reverteu este parâmetro (Figura 6).

Figura 6 – Peso corporal antes e depois do ECM.



Legenda: Os valores são expressos como a média $\pm$ Desvio padrão (n = 10).

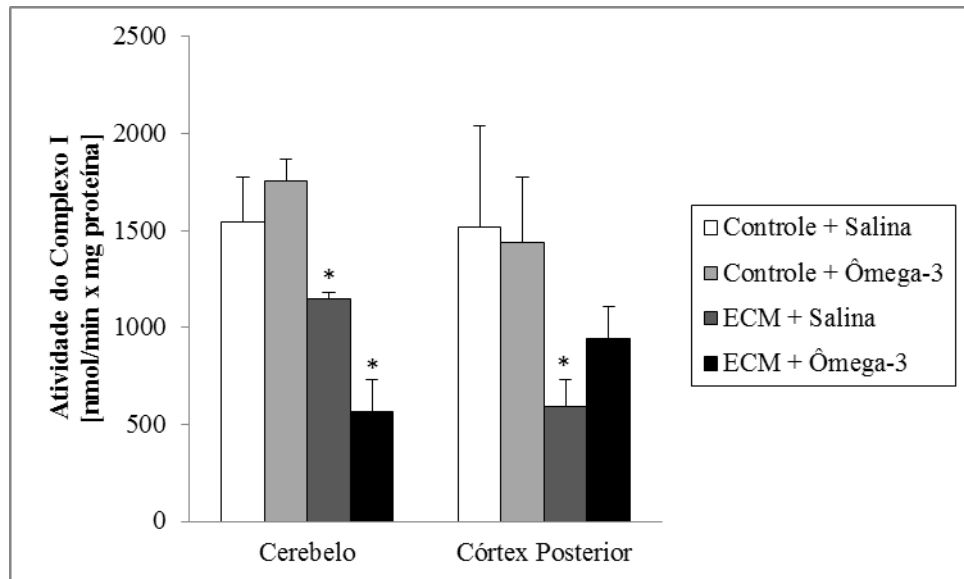
*Diferente do grupo controle + salina. $p < 0,05$ (ANOVA seguido pelo teste de Tukey).

Fonte: Elaboração da autora, 2013.

5.3 ATIVIDADE DAS ENZIMAS DA CADEIA RESPIRATÓRIA MITOCONDRIAL

Nossos resultados mostraram que a atividade do complexo I (Figura 7) e IV (Figura 8) da cadeia respiratória mitocondrial foi inibida no cerebelo e córtex posterior dos animais submetidos ao modelo de ECM. Porém o tratamento com ômega-3 reverteu a inibição da atividade do complexo I e IV no córtex posterior, bem como do complexo IV no cerebelo. No entanto, a inibição da atividade do complexo I apresentada no cerebelo não foi revertida pelo ômega-3.

Figura 7 – Atividade do complexo I em cérebro de ratos submetidos ao ECM e tratados com ômega-3.

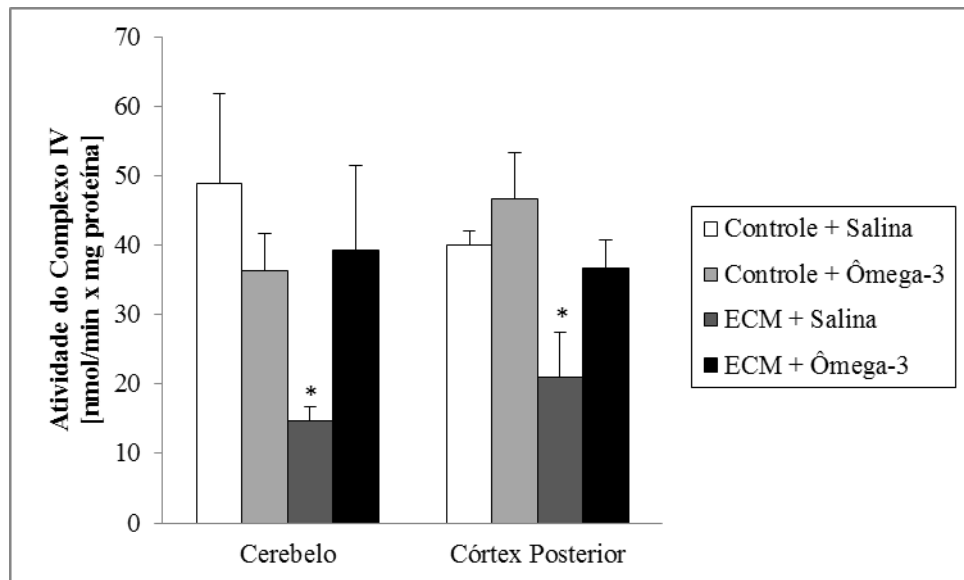


Legenda: Os valores são expressos como a média $\pm$ Desvio padrão (n = 10).

*Diferente do grupo controle + salina. $p < 0,05$ (ANOVA seguido pelo teste de Tukey).

Fonte: Elaboração da autora, 2013.

Figura 8 – Atividade do complexo IV em cérebro de ratos submetidos ao ECM e tratados com ômega-3.



Legenda: Os valores são expressos como a média $\pm$ Desvio padrão (n = 10).

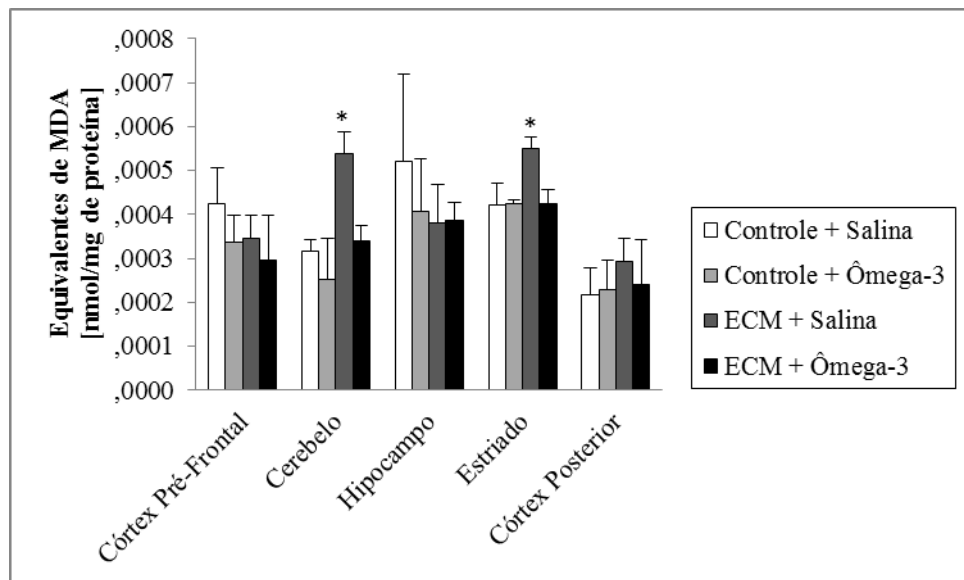
*Diferente do grupo controle + salina. $p < 0,05$ (ANOVA seguido pelo teste de Tukey).

Fonte: Elaboração da autora, 2013.

5.4 PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO

Na análise de TBARS e carbonil nós observamos que nos animais submetidos ao ECM houve aumento significativo nos níveis de peroxidação lipídica (Figura 9) no cerebelo e estriado, bem como houve aumento significativo nos níveis de carbonilação de proteínas (Figura 10) no córtex pré-frontal, hipocampo, estriado e córtex posterior. O tratamento dos animais com ômega-3 foi capaz de reverter tanto o dano oxidativo a lipídios quanto o dano oxidativo a proteínas.

Figura 9 – Peroxidação lipídica (TBARS) em cérebro de ratos submetidos ao ECM e tratados com ômega-3.

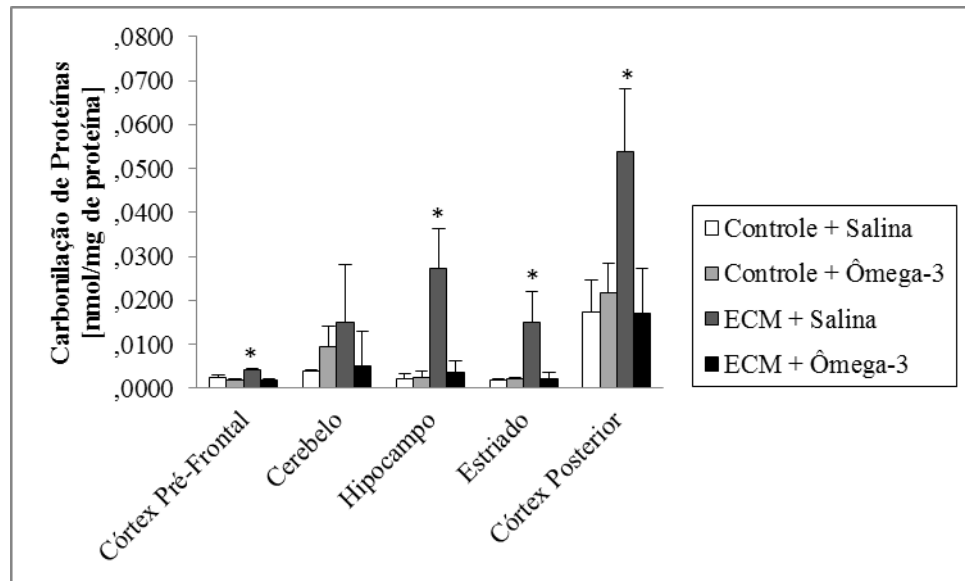


Legenda: Os valores são expressos como a média $\pm$ Desvio padrão (n = 10).

*Diferente do grupo controle + salina. $p < 0,05$ (ANOVA seguido pelo teste de Tukey).

Fonte: Elaboração da autora, 2013.

Figura 10 – Carbonilação de proteínas em cérebro de ratos submetidos ao ECM e tratados com ômega-3.



Legenda: Os valores são expressos como a média $\pm$ Desvio padrão (n = 10).

*Diferente do grupo controle + salina. $p < 0,05$ (ANOVA seguido pelo teste de Tukey).

Fonte: Elaboração da autora, 2013.

6 DISCUSSÃO

No presente trabalho nós observamos que os animais submetidos ao modelo de ECM apresentaram comportamento tipo anedônico, não ganharam peso corporal significativo durante o experimento, bem como tiveram inibição da atividade dos complexos I e IV da cadeia respiratória mitocondrial, aumento nos níveis de peroxidação lipídica e de carbonilação de proteínas em estruturas cerebrais. Além disso, observamos que o tratamento com ômega-3 reverteu o parâmetro de peso corporal, levando a um ganho de peso corporal significativo nos animais estressados, reverteu a inibição da atividade do complexo I no córtex posterior e a inibição da atividade do complexo IV no córtex posterior e no cerebelo, bem como reverteu o aumento da peroxidação lipídica e da carbonilação de proteínas. Entretanto, a anedonia não foi revertida pelo ômega-3, nem a atividade do complexo I no cerebelo.

Nos modelos animais de estresse crônico, desenvolvidos inicialmente por Katz (1981) e posteriormente refinados por Willner et al. (1987), um estado anedônico é induzido pela aplicação repetida de estressores durante um determinado período de tempo. O modelo de ECM consegue replicar uma parte dos sintomas da depressão (WILLNER, 1997) e o principal sintoma observado é a redução do consumo de sacarose, um sintoma postulado por refletir anedonia (WILLNER et al., 1987), um dos principais sintomas de depressão, tal como definido no DSM-IV (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2000).

Diversos estudos relataram redução no consumo de alimento doce em ratos após estresse crônico, além da ocorrência de inibição da sensibilidade de recompensa, caracterizando assim a anedonia nos animais (WILLNER et al., 1987; GAMARO et al., 2003; GRONLI et al., 2004; BEKRIS et al., 2005; REZIN et al., 2008; LUCCA et al., 2009a,b). A anedonia é sugerida por Willner (1997) como um marcador chave em modelos de estresse crônico, visto que este sintoma reflete a falta de prazer essencial para o diagnóstico de depressão. Os dados comportamentais observados em nosso estudo confirmam e expandem os estudos prévios, pois os ratos submetidos ao ECM consumiram menos Froot Loops® que os animais do grupo controle durante o Teste de Anedonia e, portanto, demonstraram comportamento anedônico. O tratamento com ômega-3 não alterou a ingestão de alimento doce no grupo controle, bem como não foi capaz de reverter a anedonia apresentada em ratos submetidos ao ECM. Uma explicação possível é que talvez o ômega-3 não atue nesta via, ou seja, não influencie neste sintoma. Outra possibilidade pode ser explicada pelo fato de que pacientes que receberam suplementação com cápsulas de óleo de peixe relataram alguns efeitos como perturbações gastrointestinais e sabor de peixe, o que ocorreu com doses

elevadas (acima de 5 g/dia). Nas doses mais típicas de 1 g/dia estes efeitos adversos são menos comuns (MISCHOULON, 2009). Desta forma, é possível que os animais que receberam o ômega-3 tenha sentido algum efeito semelhante, o que pode ter influenciado no consumo de alimento doce.

Observando que a exposição a situações de estresse pode influenciar no comportamento alimentar, estudos demonstraram que a exposição crônica a estressores pode alterar o peso corporal dos ratos, fazendo com que os mesmos ganhem menos peso quando comparados ao grupo não exposto a estresse (GAMARO et al., 2003; BEKRIS et al., 2005; REZIN et al., 2008; LUCCA et al., 2009a,b). Além disso, outros estudos relataram que ratos expostos ao modelo de ECM apresentam perda ou ausência de ganho ponderal mesmo quando a privação de comida é retirada do protocolo de estresse (HAGAN; HATCHER, 1997; MATTHEWS; MATTHEWS; FORBES; REID, 1995), mostrando que a alteração do peso é resultado do estresse em geral e não unicamente pela privação temporária de comida (VOLLMAYR; HENN, 2003; WILLNER et al., 1996). Desta forma, nossos resultados estão de acordo com estudos anteriores, uma vez que os animais do grupo estressado não ganharam peso corporal significativo, enquanto que os animais do grupo controle ganharam peso corporal significativo durante o experimento. Entretanto, o tratamento com ômega-3 reverteu este parâmetro, pois os animais submetidos ao ECM e tratados com ômega-3 também apresentaram ganho de peso significativo ao término do experimento.

Considerando que ainda há muito espaço para melhorias no tratamento da depressão maior, haja vista que grande parte dos pacientes deprimidos não atinge a remissão completa dos sintomas (RAKOFISKY; HOLTZHEIMER; NEMEROFF, 2009), muitos pesquisadores ainda estudam novos alvos para terapias antidepressivas e, entre estes, diversos estudos mostraram efeitos antidepressivos do ômega-3 (GERTSIK et al., 2012; JAZAYERI et al., 2008; MISCHOULON et al., 2008; NEMETS et al., 2006; NEMETS; STAHL; BELMAKER, 2002; PEET; HORROBIN, 2002; SU et al., 2003). No entanto, os mecanismos pelos quais o ômega-3 poderia demonstrar efeitos antidepressivos ainda não estão completamente elucidados. Por este motivo, neste trabalho os animais foram expostos ao ECM e tratados com ômega-3.

Nossos resultados mostraram que os ratos submetidos ao ECM apresentaram inibição na atividade dos complexos I e IV da cadeia respiratória mitocondrial. Diversos estudos mostram que a diminuição no funcionamento da cadeia de transporte de elétrons está envolvida com a patogênese de muitos transtornos psiquiátricos (FATTAL et al., 2006; HORN; BARRIENTOS, 2008; REZIN et al., 2008; REZIN et al., 2009; SHAO et al., 2008).

Madrigal et al. (2001) mostraram uma inibição nos complexos I-III e II-III da cadeia respiratória mitocondrial em cérebro de ratos após estresse crônico (imobilização por 6 horas durante 21 dias). Rezin et al. (2008) também mostraram inibição dos complexos I, II-III e IV da cadeia respiratória mitocondrial após estresse crônico moderado (ECM). Avaliamos somente os complexos I e IV pelo motivo de o complexo I representar a principal entrada de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial e do complexo IV ser o catalisador final da cadeia respiratória mitocondrial. Além disso, neste trabalho foram avaliadas as atividades das enzimas da cadeia respiratória mitocondrial apenas no córtex posterior e no cerebelo pelo motivo de estudo prévio realizado por Rezin e colaboradores (2008) já ter demonstrado que não há alteração estatisticamente significativa nas demais estruturas cerebrais após ECM. Nossos achados também demonstraram que o ômega-3 reverte a inibição da atividade do complexo I no córtex posterior e a inibição da atividade do complexo IV no córtex posterior e no cerebelo. Contudo, o ômega-3 não reverteu a inibição da atividade do complexo I no cerebelo no presente estudo.

Neste contexto, estudos mostram que a inibição de complexos da cadeia respiratória mitocondrial, que gera uma diminuição na atividade desta cadeia, causa um aumento na produção de ERO (ADAM-VIZI, 2005; NAVARRO; BOVERIS, 2007). Além disso, foi demonstrado que a exposição a situações de estresse pode aumentar a produção de ERO (FONTELLA et al., 2005; VASCONCELLOS et al., 2006). Em situações nas quais há excesso de produção de radicais livres, que excede a capacidade das defesas antioxidantes, o estresse oxidativo pode levar a degradação da membrana, disfunção celular, dano ao DNA e apoptose (HALLIWELL, 2006). Além da membrana que envolve a célula, as membranas das organelas intracelulares, tais como mitocôndria, retículo endoplasmático, núcleo, entre outros, apresentam uma estrutura bilipídica e uma variedade de proteínas e açúcares, e, portanto, também podem ser alvo do ataque de ERO e ERN (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; VASCONCELLOS et al., 2007).

As mitocôndrias não são somente fonte de energia, mas também fonte e destino de oxidantes (MAZZA et al., 2007). O excesso de ERO pode causar um déficit no genoma mitocondrial levando a um prejuízo na fosforilação oxidativa, comprometendo a capacidade da mitocôndria de atender às demandas de energia celular e podendo levar à produção de mais ERO (GRUNO et al., 2008; MAZZA et al., 2007). No entanto, ainda não está claro se o dano oxidativo induzido pelo estresse é causa ou consequência da disfunção mitocondrial (BOEKEMA; BRAUN, 2007; MADRIGAL et al., 2001).

Embora a exata etiologia da depressão não esteja ainda esclarecida, é possível que o estresse oxidativo desempenhe um papel importante neste transtorno. As ERO em excesso podem danificar quase todas as moléculas presentes em células, as quais incluem os neurônios (TAPIA-SAAVEDRA, 2005). As membranas neuronais, ricas em ácidos graxos poli-insaturados, são muito propensas à peroxidação lipídica (MAZZA et al., 2007). A peroxidação lipídica é causada pelo ataque de uma espécie reativa, que abstrai um átomo de hidrogênio de um grupo metileno alílico, normalmente, de um ácido graxo poli-insaturado, deixando um elétron desemparelhado no carbono. Todas estas modificações oxidativas causam mudanças nas propriedades físicas e químicas das membranas, alterando sua fluidez e permeabilidade, com expansão do líquido intracelular e risco de ruptura das membranas da célula e das organelas, com consequente morte celular (VASCONCELLOS et al., 2007).

Um grande número de doenças neurológicas e transtornos psiquiátricos tais como a doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, demência, esquizofrenia e perturbações afetivas apresentam um aumento na produção de ERO (SAYRE et al., 2005; SCHMIDT; KRIEG; VEDDER, 2005;). Estudo de Liu et al. (1996) mostrou aumento da peroxidação lipídica no córtex cerebral, cerebelo, hipocampo e mesencéfalo, bem como aumento da oxidação de proteínas no córtex, hipotálamo, estriado e bulbo em ratos submetidos a um protocolo de estresse por imobilização. Madrigal et al. (2001) mostraram depleção da glutathione e aumento da peroxidação lipídica em cérebro de ratos após estresse crônico por 21 dias. No mesmo ano, Bilici e colaboradores (2001) conduziram um estudo com pacientes deprimidos e mostraram que estes apresentaram níveis mais elevados de peroxidação lipídica no plasma quando comparados a indivíduos saudáveis. Um estudo transversal conduzido por Tsuboi e colaboradores (2004) avaliou 66 mulheres com sintomas depressivos e também demonstrou aumento dos níveis de peroxidação lipídica. Fontella et al. (2005) utilizaram um modelo animal de depressão baseado no estresse causado pela restrição repetida (1 hora/dia durante 40 dias) e observaram um aumento nos níveis de TBARS no hipocampo dos ratos estressados. Lucca et al. (2009a,b) também mostraram aumento da peroxidação lipídica, carbonilação de proteína, produção de superóxido e inibição da atividade da superóxido dismutase em cérebro de ratos submetidos ao ECM. Nossos resultados estão de acordo com outros estudos, pois identificamos aumento da peroxidação lipídica no cerebelo e no estriado e aumento da carbonilação de proteínas no córtex pré-frontal, no hipocampo, no estriado e no córtex posterior de ratos submetidos ao modelo de ECM.

Nossos dados reforçam os estudos que colocam que o estresse oxidativo em estruturas cerebrais de ratos está envolvido na fisiopatologia da depressão. Estudos de

neuroimagem que avaliaram as estruturas cerebrais identificaram anormalidades regionais em indivíduos com transtornos de humor (KONARSKI et al., 2008; LEE et al., 2008). No entanto, ainda não podemos explicar porque determinadas estruturas cerebrais são mais afetadas pelo ECM.

Nossa pesquisa também demonstrou que a administração de ômega-3 reverteu o aumento da peroxidação lipídica e da carbonilação de proteínas em cérebro de ratos submetidos ao modelo de ECM. Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 estão entre os principais determinantes das propriedades biofísicas das membranas neuronais e são fundamentais, tanto para a constituição quanto para o bom funcionamento do sistema nervoso central. Portanto, o dano oxidativo a estas moléculas pode desregular vias de neurotransmissão envolvidas na fisiopatologia da depressão maior (TAPIA-SAAVEDRA, 2005). A produção de ERO em excesso pode levar a deficiências de DHA no cérebro devido à maior peroxidação lipídica (MAZZA et al., 2007). Neste sentido, vários estudos mostraram que há um esgotamento de ômega-3 em pacientes com depressão maior, e que a suplementação com estes ácidos graxos pode reverter alguns sintomas nos pacientes deprimidos (FRASURE-SMITH; LESPÉRANCE; JULIEN, 2004; NEMETS; STAHL; BELMAKER, 2002; PURI et al., 2001; TIEMEIER et al., 2003). Esta deficiência de ômega-3 nestes pacientes pode ser em decorrência do estresse oxidativo, que pode causar a peroxidação lipídica e, como consequência, reduzir as concentrações de ácidos graxos ômega-3 (TAPIA-SAAVEDRA, 2005).

Em uma revisão realizada por Yavin, Brand e Green (2002) o DHA é apresentado como um alvo molecular para a formação de peróxidos lipídicos, visto que por estar presente em grande quantidade no tecido nervoso é particularmente vulnerável ao estresse oxidativo. No entanto, esta revisão relata que apesar de o DHA ser um alvo para a peroxidação lipídica, devido ao seu alto grau de insaturação, alguns resultados experimentais indicam nenhuma mudança ou diminuição da peroxidação lipídica mesmo quando o tecido cerebral é fornecido ou enriquecido com DHA. Desta forma, estes autores propuseram um papel neuroprotetor do DHA. Algumas outras pesquisas que estudaram doenças neurodegenerativas também sugeriram que o DHA possui ação neuroprotetora e que o mecanismo está relacionado a uma redução do estresse oxidativo e, portanto, inferem que o DHA possui atividade antioxidante (BAZAN, 2005; CALON; COLE, 2007; CALON et al., 2004; HASHIMOTO et al., 2002; WU; YING; GOMEZ-PINILLA, 2004; YAVIN; BRAND; GREEN, 2002).

Dois estudos que utilizaram modelo animal de doença de Alzheimer mostraram que o DHA suprimiu o aumento de peróxidos de lipídios e os níveis de ERO no córtex

cerebral e hipocampo de ratos, sugerindo um aumento da defesa antioxidante (HASHIMOTO et al., 2002, HASHIMOTO et al., 2005). No mesmo sentido, outros estudos que avaliaram o DHA em modelo animal de doença de Alzheimer e lesão cerebral traumática em ratos mostraram que o DHA promoveu uma diminuição na acumulação de proteínas oxidadas (CALON et al., 2004; WU; YING; GOMEZ-PINILLA, 2004).

Neste contexto, Mori e colaboradores (2000) estudaram o efeito dos ácidos graxos ômega-3 sobre o estresse oxidativo em humanos avaliando a peroxidação lipídica pela análise da excreção urinária de F2-isoprostanos e demonstraram que os ácidos graxos ômega-3 reduziram o estresse oxidativo *in vivo* em seres humanos. Além deste, um estudo que avaliou peroxidação lipídica e marcadores inflamatórios em indivíduos diabéticos tipo 2 demonstrou que o EPA e DHA reduziu o estresse oxidativo *in vivo* sem alterar os marcadores de inflamação nestes pacientes (MORI et al., 2003).

Portanto, diante dos resultados obtidos neste trabalho e evidências da literatura, pode-se sugerir que o ECM induz inibição da cadeia respiratória mitocondrial (complexos I e IV) provavelmente por estresse oxidativo, uma vez que marcadores de dano oxidativo, como peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas são observados, e que o ômega-3 reverte tal efeito. É provável que o ômega-3 reverta tais alterações devido a sua capacidade antioxidante, já sugerida em outras pesquisas, visto que o ômega-3 reduz a peroxidação lipídica e a carbonilação de proteínas. Um mecanismo possível é o fato de que o ômega-3 suplementado pode tornar-se alvo das ERO, servindo para estabilizá-las e poupando desta forma lipídios e proteínas endógenas, bem como possíveis danos à cadeia respiratória mitocondrial causados por estas espécies reativas. Dessa forma, nossos resultados corroboram os estudos que mostram que a depressão maior está associada a disfunção mitocondrial e a estresse oxidativo, e revelam que a suplementação de ômega-3 pode reverter algumas destas alterações, apoiando estudos que indicam que esta substância apresenta grande potencial para auxiliar no tratamento da depressão maior.

7 CONCLUSÃO

A partir dos nossos resultados pode-se concluir que o ECM promove anedonia nos animais, o que é observado por uma redução do consumo de alimento doce quando comparados ao grupo controle e não altera o peso corporal (enquanto que observa-se ganho de peso no grupo controle após o término do experimento). Além disso, o ECM diminui a atividade dos complexos I e IV da cadeia respiratória mitocondrial, bem como promove aumento na peroxidação lipídica e na carbonilação de proteínas em estruturas cerebrais. O tratamento com ômega-3 não reverte a anedonia, reverte as alterações do peso corporal, parcialmente do complexo I, do complexo IV, reduz o aumento da peroxidação lipídica e também reduz o aumento da carbonilação de proteínas em algumas regiões do cérebro de ratos submetidos a ECM, provavelmente por uma ação antioxidante.

REFERÊNCIAS

- Adam-Vizi V. Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7(9-10):1140-9.
- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*. 1984;105:121-6.
- Agranoff BW, Hajra AK. Lipids. In: Siegel GJ, Albers RW, Agranoff BW, Katzman R, eds. *Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects*. New York: Raven Press; 1994. p. 97-115.
- Aguiar CC, Castro TR, Carvalho AF, Vale OC, Sousa FC, Vasconcelos SM. Drogas antidepressivas. *Acta Med Port*. 2011;24(1):91-8.
- Álamo C, López-Muñoz F, Armada MJ. Agomelatina: un nuevo enfoque farmacológico en el tratamiento de la depresión con traducción clínica. *Psiquiatr Biol*. 2008;15(4):125-39.
- American Psychiatric Association (APA). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-IV-TR)*. 4th ed. Washington D.C.: American Psychiatric Association; 2000.
- Angst J, Marneros A. Bipolarity from ancient to modern times: conception, birth and rebirth. *J Affect Disord*. 2001;67(1-3):3-19.
- Anisman H, Matheson K. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29(4-5):525-46.
- Artigas F. Serotonin receptors: role in depression. *Actas Esp Psiquiatr*. 2008;36:28–30.
- Auriacombe M, Renner JP, Moal LM. Animal models of anhedonia. *Psychopharmacology (Berl)*. 1997;134(4):337-8.
- Baldessarini RJ. Tratamento farmacológico da depressão e dos transtornos de ansiedade. In: Goodman LS, Gilman A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 11th ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2007. p. 383-410.
- Bannister JV, Calabrese L. Assays for SOD. *Meth. Biochem. Anal. Methods Biochem Anal*. 1987;32:279-312.
- Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quím Nova*. 2006;29(1):113-23.
- Bateman N. Antidepressants. *Medicine*. 2012;40(2):100-2.
- Bazan NG. Neuroprotectin D1 (NPD1): a DHA-derived mediator that protects brain and retina against cell injury-induced oxidative stress. *Brain Pathol*. 2005;15(2):159-66.

- Bekris S, Antoniou K, Daskas S, Papadopoulou-Daifoti Z. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains. *Behav Brain Res.* 2005;161(1):45-59.
- Belmaker RH, Agam G. Major depressive disorder. *N Engl J Med.* 2008;358(1):55-68.
- Bianchi MLP, Antunes LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev Nutr.* 1999;12(12):123-30.
- Bilici M, Efe H, Koroğlu MA, Uydu HA, Bekaroğlu M, Değer O. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. *J Affect Disord.* 2001;64(1):43-51.
- Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaër E, Renard P, Muñoz C, Millan MJ. Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(8):628-42.
- Bodnar LM, Wisner KL. Nutrition and depression: implications for improving mental health among childbearing-aged women. *Biol Psychiatry.* 2005;58(9):679-85.
- Boekema EJ, Braun HP. Supramolecular structure of the mitochondrial oxidative phosphorylation system. *J Biol Chem.* 2007;282(1):1-4.
- Bourre JM. Acides gras ω -3 et troubles psychiatriques. *Med Sci (Paris).* 2005;21(2):216-21.
- Bromet E, Andrade LH, Hwang I, Sampson NA, Alonso J, de Girolamo G, et al. Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC Med.* 2011;9:90.
- Bruinsma KA, Taren DL. Dieting, essential fatty acid intake, and depression. *Nutr Rev.* 2000 Apr;58(4):98-108.
- Calabrese V, Scapagnini G, Giuffrida Stella AM, Bates TE, Clark JB. Mitochondrial involvement in brain function and dysfunction: relevance to aging, neurodegenerative disorders and longevity. *Neurochem Res.* 2001;26(6):739-64.
- Calder PC. Omega-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *World Rev Nutr Diet.* 2001;88:109-16.
- Calon F, Cole G. Neuroprotective action of omega-3 polyunsaturated fatty acids against neurodegenerative diseases: Evidence from animal studies. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2007;77(5-6):287-93.
- Calon F, Lim GP, Yang F, Morihara T, Teter B, Ubeda O, et al. Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuron.* 2004;43(5):633-45.
- Cannon TD, Keller MC. Endophenotypes in the genetic analyses of mental disorders. *Annu. Rev. Clin. Psychol.* 2006;2:267-90.

- Cassina A, Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Arch Biochem Biophys*. 1996;328(2):309-16.
- Conklin SM, Runyan CA, Leonard S, Reddy RD, Muldoon MF, Yao JK. Age-related changes of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in the anterior cingulate cortex of individuals with major depressive disorder. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2010;82(2-3):111-9.
- Cordás TA. Depressão: da bile negra aos neurotransmissores : uma introdução histórica. São Paulo: Lemos; 2002. 103 p.
- D'Aquila PS, Newton J, Willner P. Diurnal variation in the effect of chronic mild stress on sucrose intake and preference. *Physiol Behav*. 1997;62(2):421-6.
- De Vriese SR, Christophe AB, Maes M. Lowered serum n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) levels predict the occurrence of postpartum depression: further evidence that lowered n-PUFAs are related to major depression. *Life Sci*. 2003;73(25):3181-7.
- Deligiannidis KM, Freeman MP. Complementary and alternative medicine for the treatment of depressive disorders in women. *Psychiatr Clin North Am*. 2010;33(2):441-63.
- Delion S, Chalon S, Guilloteau D, Besnard JC, Durand G. Alpha-linolenic acid dietary deficiency alters age-related changes of dopaminergic and serotonergic neurotransmission in the rat frontal cortex. *J Neurochem*. 1996;66(4):1582-91.
- Dickinson CJ. Cerebral oxidative metabolism in hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 1996;91(5):539-50.
- Donohue JM, Pincus HA. Reducing the societal burden of depression: a review of economic costs, quality of care and effects of treatment. *Pharmacoeconomics*. 2007;25(1):7-24.
- Edwards R, Peet M, Shay J, Horrobin D. Omega-3 polyunsaturated fatty acid levels in the diet and in red blood cell membranes of depressed patients. *J Affect Disord*. 1998;48(2-3):149-55.
- Ely DR, Dapper V, Marasca J, Corrêa JB, Gamaro GD, Xavier MH, et al. Effect of restraint stress on feeding behavior of rats. *Physiol Behav*. 1997;61(3):395-8.
- Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol*. 1990;186:407-21.
- Farooqui AA, Horrocks LA, Farooqui T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders. *Chem Phys Lipids*. 2000;106(1):1-29.
- Fattal O, Budur K, Vaughan AJ, Franco K. Review of the literature on major mental disorders in adult patients with mitochondrial diseases. *Psychosomatics*. 2006;47(1):1-7.
- Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *RAMB*. 1997;43(1):61-8.

Fontella FU, Siqueira IR, Vasconcellos AP, Tabajara AS, Netto CA, Dalmaz C. Repeated restraint stress induces oxidative damage in rat hippocampus. *Neurochem Res.* 2005;30(1):105-11.

Foucault M. História da loucura: na idade clássica. 7. ed. São Paulo: Perspectiva; 2004. 551 p.

Frasure-Smith N, Lespérance F, Julien P. Major depression is associated with lower omega-3 fatty acid levels in patients with recent acute coronary syndromes. *Biol Psychiatry.* 2004;55(9):891-6.

Freeman MP, Hibbeln JR, Wisner KL, Brumbach BH, Watchman M, Gelenberg AJ. Randomized dose-ranging pilot trial of omega-3 fatty acids for postpartum depression. *Acta Psychiatr Scand.* 2006a;113(1):31-5.

Freeman MP, Hibbeln JR, Wisner KL, Watchman M, Gelenberg AJ. An open trial of Omega-3 fatty acids for depression in pregnancy. *Acta Neuropsychiatr.* 2006b;18(1):21-4.

Freeman MP. Omega-3 fatty acids and perinatal depression: a review of the literature and recommendations for future research. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2006;75(4-5):291-7.

Freeman MP. Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. *J Clin Psychiatry.* 2009;70 Suppl 5:7-11.

Freitas JJS, Kietzer KS. Ácidos graxos e sistema nervoso. In: Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procopio J. Entendendo a gordura: os ácidos graxos. São Paulo: Manole; 2002. p. 469-88.

Gamaro GD, Manoli LP, Torres IL, Silveira R, Dalmaz C. Effects stress on feeding behavior and on monoamine levels in structures. *Neurochem Int.* 2003;42(2):107-14.

Gardner A, Johansson A, Wibom R, Nennesmo I, von Döbeln U, Hagenfeldt L, et al. Alterations of mitochondrial function and correlations with personality traits in selected major depressive disorder patients. *J Affect Disord.* 2003;76(1-3):55-68.

Gershon AA, Vishne T, Grunhaus L. Dopamine D2-like receptors and the antidepressant response. *Biol Psychiatry.* 2007;61(2):145-53.

Gertsik L, Poland RE, Bresee C, Rapaport MH. Omega-3 fatty acid augmentation of citalopram treatment for patients with major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol.* 2012;32(1):61-4.

Gillespie CF, Nemeroff CB. Hypercortisolemia and depression. *Psychosom Med.* 2005;67 Suppl 1:S26-8.

Gitlin MJ, Pasnau RO. Psychiatric syndromes linked to reproductive function in women: a review of current knowledge. *Am J Psychiatry.* 1989;146(11):1413-22.

Golding J, Steer C, Emmett P, Davis JM, Hibbeln JR. High levels of depressive symptoms in pregnancy with low omega-3 fatty acid intake from fish. *Epidemiology.* 2009;20(4):598-603.

Gonçalves CAV, Machado AL. Depressão, o mal do século: de que século? R Enferm UERJ. 2007;15(2):298-304.

Grønli J, Murison R, Bjorvatn B, Sørensen E, Portas CM, Ursin R. Chronic mild stress affects sucrose intake and sleep in rats. Behav Brain Res. 2004;150(1-2):139-47.

Gruno M, Peet N, Tein A, Salupere R, Sirotkina M, Valle J, et al. Atrophic gastritis: deficient complex I of the respiratory chain in the mitochondria of corpus mucosal cells. J Gastroenterol. 2008;43(10):780-8.

Haag M. Essential fatty acids and the brain. Can J Psychiatry. 2003;48(3):195-203.

Hagan JJ, Hatcher JP. Revised CMS model. Psychopharmacology (Berl). 1997;134(4):354-6.

Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? Br J Pharmacol. 2004;142(2):231-55.

Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? J Neurochem. 2006;97(6):1634-58.

Hashimoto M, Hossain S, Shimada T, Sugioka K, Yamasaki H, Fujii Y, et al. Docosahexaenoic acid provides protection from impairment of learning ability in Alzheimer's disease model rats. J Neurochem. 2002;81(5):1084-91.

Hashimoto M, Tanabe Y, Fujii Y, Kikuta T, Shibata H, Shido O. Chronic administration of docosahexaenoic acid ameliorates the impairment of spatial cognition learning ability in amyloid beta-infused rats. J Nutr. 2005;135(3):549-55.

Heales SJ, Bolaños JP, Stewart VC, Brookes PS, Land JM, Clark JB. Nitric oxide, mitochondria and neurological disease. Biochim Biophys Acta. 1999;1410(2):215-28.

Hibbeln JR. Fish consumption and major depression. Lancet. 1998;351(9110):1213.

Hibbeln JR. From homicide to happiness —a commentary on omega-3 fatty acids in human society. Cleave Award Lecture. Nutr Health. 2007;19:9-19.

Holman RT, Johnson SB, Ogburn PL. Deficiency of essential fatty acids and membrane fluidity during pregnancy and lactation. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991;88(11):4835-9.

Horn D, Barrientos A. Mitochondrial copper metabolism and delivery to cytochrome c oxidase. IUBMB Life. 2008;60(7):421-9.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios. Um panorama da saúde no Brasil: acesso e utilização dos serviços, condições de saúde e fatores de risco e proteção à saúde: 2008. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

Javitt DC. Glutamate as a therapeutic target in psychiatric disorders. Mol Psychiatry. 2004;9(11):984-97.

- Jazayeri S, Tehrani-Doost M, Keshavarz SA, Hosseini M, Djazayeri A, Amini H, et al. Comparison of therapeutic effects of omega-3 fatty acid eicosapentaenoic acid and fluoxetine, separately and in combination, in major depressive disorder. *Aust N Z J Psychiatry*. 2008;42(3):192-8.
- Joca SRL, Padovan CM, Guimarães FS. Estresse, depressão e hipocampo. *Rev Bras Psiquiatr*. 2003;25 Suppl 2:46-51.
- Jou SH, Chiu NY, Liu CS. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Chang Gung Med J*. 2009;32(4):370-9.
- Juruena MF, Cleare AJ, Pariante CM. The hypothalamic pituitary adrenal axis, glucocorticoid receptor function and relevance to depression. *Rev Bras Psiquiatr*. 2004;26(3):189-201.
- Kamphuis MH, Geerlings MI, Tijhuis MA, Kalmijn S, Grobbee DE, Kromhout D. Depression and cardiovascular mortality: a role for n-3 fatty acids? *Am J Clin Nutr*. 2006;84:1513-7.
- Karege F, Perret G, Bondolfi G, Schwald M, Bertschy G, Aubry JM. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res*. 2002;109(2):143-8.
- Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 1981;5(2):247-51.
- Katz RJ. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit. *Pharmacol Biochem Behav*. 1982;16(6):965-8.
- Kidd PM. Omega-3 DHA and EPA for cognition, behavior, and mood: clinical findings and structural-functional synergies with cell membrane phospholipids. *Altern Med Rev*. 2007;12(3):207-27.
- Kimbrell TA, Ketter TA, George MS, Little JT, Benson BE, Willis MW, et al. Regional cerebral glucose utilization in patients with a range of severities of unipolar depression. *Biol Psychiatry*. 2002;51(3):237-52.
- Konarski JZ, McIntyre RS, Kennedy SH, Rafi-Tari S, Soczynska JK, Ketter TA. Volumetric neuroimaging investigations in mood disorders: bipolar disorder versus major depressive disorder. *Bipolar Disord*. 2008;10(1):1-37.
- Kortekaas R, Maguire RP, van Waarde A, Leenders KL, Elsinga PH. Despite irreversible binding, PET tracer [11C]-SA5845 is suitable for imaging of drug competition at sigma receptors-the cases of ketamine and haloperidol. *Neurochem Int*. 2008;53(1-2):45-50.
- Krystal JH, D'Souza DC, Petrakis IL, Belger A, Berman RM, Charney DS, et al. NMDA agonists and antagonists as probes of glutamatergic dysfunction and pharmacotherapies in neuropsychiatric disorders. *Harv Rev Psychiatry*. 1999;7(3):125-43.
- Lakhan SE, Vieira KF. Nutritional therapies for mental disorders. *Nutr J*. 2008;7(2):1-8.

Lakhwani L, Tongia SK, Pal VS, Agrawal RP, Nyati P, Phadnis P. Omega-3 fatty acids have antidepressant activity in forced swimming test in Wistar rats. *Acta Pol Pharm.* 2007;64(3):271-6.

Lee BT, Seok JH, Lee BC, Cho SW, Yoon BJ, Lee KU, et al. Neural correlates of affective processing in response to sad and angry facial stimuli in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008;32(3):778-85.

Levant B. N-3 (omega-3) Fatty acids in postpartum depression: implications for prevention and treatment. *Depress Res Treat.* 2011;2011:1-16.

Lewin GR; Barde YA. Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci.* 1996;19:289-317.

Li Y, Dai Q, Ekperi LI, Dehal A, Zhang J. Fish consumption and severely depressed mood, findings from the first national nutrition follow-up study. *Psychiatry Res.* 2011;190(1):103-9.

Liu J, Wang X, Shigenaga MK, Yeo HC, Mori A, Ames BN. Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein, and DNA in the brain of rats. *FASEB J.* 1996;10(13):1532-8.

Llorente AM, Jensen CL, Voigt RG, Fraley JK, Berretta MC, Heird WC. Effect of maternal docosahexaenoic acid supplementation on postpartum depression and information processing. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188(5):1348-53.

Logan AC. Neurobehavioral aspects of omega-3 fatty acids: possible mechanisms and therapeutic value in major depression. *Altern Med Rev.* 2003;8(4):410-25.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.

Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Vuolo F, Petronilho F, et al. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. *Neurochem Int.* 2009a;54(5-6):358-62.

Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Vuolo F, Petronilho F, et al. Increased oxidative stress in submitochondrial particles into the brain of rats submitted to the chronic mild stress paradigm. *J Psychiatr Res.* 2009b;43(9):864-9.

MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT, et al. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(3):1387-92.

Madrigal JL, Olivenza R, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Rodrigo J, et al. Glutathione depletion, lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction are induced by chronic stress in rat brain. *Neuropsychopharmacology.* 2001;24(4):420-9.

Maes M, Christophe A, Delanghe J, Altamura C, Neels H, Meltzer HY. Lowered omega3 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients. *Psychiatry Res.* 1999;85(3):275-91.

Maes M, Galecki P, Chang YS, Berk M. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(3):676-92.

Maes M, Smith R, Christophe A, Cosyns P, Desnyder R, Meltzer H. Fatty acid composition in major depression: decreased 3 fractions in cholesteryl esters and increased C20:46/C20:53 ratio in cholesteryl esters and phospholipids. *J Affect Disord*. 1996;38(1):35-46.

Maes M, Smith R, Scharpe S. The monocyte-T-lymphocyte hypothesis of major depression. *Psychoneuroendocrinology*. 1995;20(2):111-6.

Marangell LB, Martinez JM, Zboyan HA, Chong H, Puryear LJ. Omega-3 fatty acids for the prevention of postpartum depression: negative data from a preliminary, open-label pilot study. *Depress Anxiety*. 2004;19(1):20-3.

Marangell LB, Martinez JM, Zboyan HA, Kertz B, Kim HF, Puryear LJ. A double-blind, placebo-controlled study of the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid in the treatment of major depression. *Am J Psychiatry*. 2003;160(5):996-8.

Marcos B, Aisa B, Ramírez MJ. Functional interaction between 5-HT₆ receptors and hypothalamicepituitaryadrenal axis: Cognitive implications. *Neuropharmacology*. 2008;54(4):708-14.

Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE, et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev Nutr*. 2006;19(6):761-70.

Matthews K, Forbes N, Reid IC. Sucrose consumption as an hedonic measure following chronic unpredictable mild stress. *Physiol Behav*. 1995;57(2):241-8.

Mazza M, Pomponi M, Janiri L, Bria P, Mazza S. Omega-3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric diseases: an overview. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007;31(1):12-26.

McNamara RK, Hahn CG, Jandacek R, Rider T, Tso P, Stanford KE, et al. Selective deficits in the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid in the postmortem orbitofrontal cortex of patients with major depressive disorder. *Biol Psychiatry*. 2007;62(1):17-24.

Mischoulon D, Best-Popescu C, Laposata M, Merens W, Murakami JL, Wu SL, et al. A double-blind dose-finding pilot study of docosahexaenoic acid (DHA) for major depressive disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008;18(9):639-45.

Mischoulon D. Update and critique of natural remedies as antidepressant treatments. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2009;36(4):789-807.

Moreno RA, Moreno DH, Soares MBM. Psicofarmacologia de antidepressivos. *Rev Bras Psiquiatr*. 1999;21:24-40.

Mori TA, Puddey IB, Burke V, Croft KD, Dunstan DW, Rivera JH, et al. Effect of omega 3 fatty acids on oxidative stress in humans: GC-MS measurement of urinary F2-isoprostane excretion. *Redox Rep.* 2000;5(1):45-6.

Mori TA, Woodman RJ, Burke V, Puddey IB, Croft KD, Beilin LJ. Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treated-hypertensive type 2 diabetic subjects. *Free Radic Biol Med.* 2003;35(7):772-81.

Murck H, Schubert MI, Schmid D, Schüssler P, Steiger A, Auer DP. The glutamatergic system and its relation to the clinical effect of therapeutic-sleep deprivation in depression - an MR spectroscopy study. *J Psychiatr Res.* 2009;43(3):175-80.

Nahas R, Sheikh O. Complementary and alternative medicine for the treatment of major depressive disorder. *Can Fam Physician.* 2011;57(6):659-63.

Navarro A, Boveris A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;292(2):C670-86.

Nemets B, Stahl Z, Belmaker RH. Addition of omega-3 fatty acid to maintenance medication treatment for recurrent unipolar depressive disorder. *Am J Psychiatry.* 2002;159(3):477-9.

Nemets H, Nemets B, Apter A, Bracha Z, Belmaker RH. Omega-3 treatment of childhood depression: a controlled, double-blind pilot study. *Am J Psychiatry.* 2006;163(6):1098-100.

Nestler EJ, Gould E, Manji H, Buncan M, Duman RS, Greshenfeld HK, et al. Preclinical model: status of basic research in depression. *Biol Psychiatry.* 2002;52(6):503-28.

Nouvelot A, Bourre JM, Sezille G, Dewailly P, Jaillard J. Changes in the fatty acid patterns of brain phospholipids during development of rats fed peanut or rapeseed oil, taking into account differences between milk and maternal food. *Ann Nutr Metab.* 1983;27(3):173-81.

Otto SJ, de Groot RH, Hornstra G. Increased risk of postpartum depressive symptoms is associated with slower normalization after pregnancy of the functional docosahexaenoic acid status. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2003;69(4):237-43.

Papp M, Moryl E, Willner P. Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *Eur J Pharmacol.* 1996;296(2):129-36.

Peet M, Horrobin DF. A dose-ranging study of the effects of ethyl-eicosapentaenoate in patients with ongoing depression despite apparently adequate treatment with standard drugs. *Arch Gen Psychiatry.* 2002;59(10):913-9.

Peet M, Murphy B, Shay J, Horrobin D. Depletion of omega-3 fatty acid levels in red blood cell membranes of depressive patients. *Biol Psychiatry.* 1998;43(5):315-9.

Pompéia C. Essencialidade dos ácidos graxos. In: Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procopio J. Entendendo a gordura: os ácidos graxos. São Paulo: Manole; 2002. p. 27-32.

Puri BK, Counsell SJ, Hamilton G, Richardson AJ, Horrobin DF. Eicosapentaenoic acid in treatment-resistant depression associated with symptom remission, structural brain changes and reduced neuronal phospholipid turnover. *Int J Clin Pract.* 2001;55(8):560-3.

Quintana DC, Calzado YR, Cuevas VM, Ferreiro RM, Valmaña MLA. Efecto del D-004, un extracto del fruto de *Roystonea regia* y omega-3 en el modelo de nado forzado em ratones. *Rev Cubana Farm.* 2010;45(1):79-86.

Rakofsky JJ, Holtzheimer PE, Nemeroff CB. Emerging targets for antidepressant therapies. *Curr Opin Chem Biol.* 2009;13(3):291-302.

Rezin GT, Amboni G, Zugno AI, Quevedo J, Streck EL. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Neurochem Res.* 2009;34(6):1021-9.

Rezin GT, Cardoso MR, Gonçalves CL, Scaini G, Fraga DB, Riegel RE, et al. Inhibition of mitochondrial respiratory chain in brain of rats subjected to an experimental model of depression. *Neurochem Int.* 2008;53(6-8):395-400.

Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.* 1994;233:357-63.

Ribeiro PRM. Da psiquiatria à saúde mental: esboço histórico. *J Bras Psiqu.* 1999;48(2):53-60.
Richards D. Prevalence and clinical course of depression: a review. *Clin Psychol Rev.* 2011;31(7):1117-25.

Rogers PJ, Appleton KM, Kessler D, Peters TJ, Gunnell D, Hayward RC, et al. No effect of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid (EPA and DHA) supplementation on depressed mood and cognitive function: a randomised controlled trial. *Br J Nutr.* 2008;99(2):421-31.

Rondanelli M, Giacosa A, Opizzi A, Pelucchi C, La Vecchia C, Montorfano G, et al. Effect of omega-3 fatty acids supplementation on depressive symptoms and on health-related quality of life in the treatment of elderly women with depression: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Am Coll Nutr.* 2010;29(1):55-64.

Ross BM, Seguin J, Sieswerda LE. Omega-3 fatty acids as treatments for mental illness: which disorder and which fatty acid? *Lipids Health Dis.* 2007;18;6:21.

Rouillon F. Epidemiology of mood disorders. *Rev Prat.* 2008;58(4):361-5.

Rustin P, Chretien D, Bourgeron T, Gérard B, Rötig A, Saudubray JM, et al. Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clin Chim Acta.* 1994;228(1):35-51.

Salem N Jr. Omega-3 fatty acids: molecular and biochemical aspects. In: Spiller GA, Scala J. *New Protective Roles for Selected Nutrients.* New York: Liss; 1989. p.109-228.

Sanders TA, Mistry M, Naismith DJ. The influence of a maternal diet rich in linoleic acid on brain and retinal docosahexaenoic acid in the rat. *Br J Nutr.* 1984;51(1):57-66.

Sayre LM, Moreira PI, Smith MA, Perry G. Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanita*. 2005;41(2):143-64.

Schmidt AJ, Krieg JC, Vedder H. Antioxidative and steroid systems in neurological and psychiatric disorders. *World J Biol Psychiatry*. 2005;6(1):26-35.

Shao L, Martin MV, Watson SJ, Schatzberg A, Akil H, Myers RM, et al. Mitochondrial involvement in psychiatric disorders. *Ann Med*. 2008;40(4):281-95.

Shelton RC. The molecular neurobiology of depression. *Psychiatr Clin North Am*. 2007;30(1):1-11.

Silva TM, Munhoz RP, Alvarez C, Naliwaiko K, Kiss A, Andreatini R, et al. Depression in Parkinson's disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study of omega-3 fatty-acid supplementation. *J Affect Disord*. 2008;111(2-3):351-9.

Silvers KM, Woolley CC, Hamilton FC, Watts PM, Watson RA. Randomised double-blind placebo-controlled trial of fish oil in the treatment of depression. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005;72(3):211-8.

Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr*. 2002;21(6):495-505.

Solomon A. O demônio do meio-dia. Rio de Janeiro: Objetiva; 2002. 483 p.

Song C, Lin A, Bonaccorso S, Heide C, Verkerk R, Kenis G, et al. The inflammatory response system and the availability of plasma tryptophan in patients with primary sleep disorders and major depression. *J Affect Disord*. 1998;49(3):211-9.

Sontrop J, Campbell MK. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and depression: a review of the evidence and a methodological critique. *Prev Med*. 2006;42(1):4-13.

Stahl SM. *Psicofarmacologia: base neurocientífica e aplicações práticas*. 2nd ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2002. 617 p.

Stanyer L, Jorgensen W, Hori O, Clark JB, Heales SJ. Inactivation of brain mitochondrial Lon protease by peroxynitrite precedes electron transport chain dysfunction. *Neurochem Int*. 2008;53(3-4):95-101.

Su KP, Huang SY, Chiu CC, Shen WW. Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2003;13(4):267-71.

Suominen-Taipale AL, Partonen T, Turunen AW, Männistö S, Jula A, Verkasalo PK. Fish consumption and omega-3 polyunsaturated fatty acids in relation to depressive episodes: a cross-sectional analysis. *PLoS One*. 2010;5(5):1-11.

Szasz BK, Mike A, Karoly R, Gerevich Z, Illes P, Vizi ES, et al. Direct inhibitory effect of fluoxetine on N-methyl-D-aspartate receptors in the central nervous system. *Biol Psychiatry*. 2007;62(11):1303-9.

Tajalizadekhoob Y, Sharifi F, Fakhrzadeh H, Mirarefin M, Ghaderpanahi M, Badamchizade Z, et al. The effect of low-dose omega 3 fatty acids on the treatment of mild to moderate depression in the elderly: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2011;261(8):539-49.

Tanskanen A, Hibbeln JR, Hintikka J, Haatainen K, Honkalampi K, Viinamäki H. Fish consumption, depression, and suicidality in a general population. *Arch Gen Psychiatry*. 2001;58(5):512-3.

Tapia-Saavedra A. Estrés oxidativo y depresión. ¿Un posible rol etiológico? *Rev Chil Neuro-Psiquiat* 2005;43(4):329-36.

Teng CT, Humes EC, Demetrio FN. Depressão e comorbidades clínicas. *Rev Psiqu Clin*. 2005;32(3):149-59.

Tiemeier H, van Tuijl HR, Hofman A, Kiliaan AJ, Breteler MM. Plasma fatty acid composition and depression are associated in the elderly: the Rotterdam study. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(1):40-6.

Todorovic C, Jahn O, Tezval H, Hippel C, Spiess J. The role of CRF receptors in anxiety and depression: implications of the novel CRF1 agonist cortagine. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29(8):1323-33.

Tsuboi H, Shimoi K, Kinae N, Oguni I, Hori R, Kobayashi F. Depressive symptoms are independently correlated with lipid peroxidation in a female population: comparison with vitamins and carotenoids. *J Psychosom Res*. 2004;56(1):53-8.

Uauy R, Peirano P, Hoffman D, Mena P, Birch D, Birch E. Role of essential fatty acids in the function of the developing nervous system. *Lipids*. 1996;31 Suppl:S167-76.

Valvassori SS, Arent CO, Quevedo J. Modelos animais de transtornos psiquiátricos. In: Kapczinski F, Quevedo J, Izquierdo I, e cols. *Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos: uma abordagem translacional*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2011. p. 99-110.

Vasconcellos AP, Nieto FB, Crema LM, Diehl LA, de Almeida LM, Prediger ME, et al. Chronic lithium treatment has antioxidant properties but does not prevent oxidative damage induced by chronic variate stress. *Neurochem Res*. 2006;31(9):1141-51.

Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova*. 2007;30(5):1323-38.

Voet D, Voet JG, Pratt CW. Ciclo do ácido cítrico. In: Voet D, Voet JG, Pratt CW. *Fundamentos de bioquímica*. Porto Alegre: Artmed; 2000. p. 466-491

Vollmayr B, Henn FA. Stress models of depression. *Clin Neurosci Res*. 2003;3(4):245-51.

Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science*. 1999;283(5407):1482-8.

Willner P, Moreau JL, Nielsen CK, Papp M, Sluzewska A. Decreased hedonic responsiveness following chronic mild stress is not secondary to loss of body weight. *Physiol Behav.* 1996;60(1):129-34.

Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl).* 1987;93(3):358-64.

Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-years review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl).* 1997;134(4):319-29.

Wong ML, Licinio J. From monoamines to genomic targets: a paradigm shift for drug discovery in depression. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(2):136-51.

World Health Organization. Depression. Fact sheet N°369 / October 2012 [Internet]. WHO; 2012 [acesso em 2013 fev 13]. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/index.html>.

Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma.* 2004;21(10):1457-67.

Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma.* 2004;21(10):1457-67.

Yavin E, Brand A, Green P. Docosahexaenoic acid abundance in the brain: a biodevice to combat oxidative stress. *Nutr Neurosci.* 2002;5(3):149-57.

Young C, Martin A. Omega-3 fatty acids in mood disorders: an overview. *Rev Bras Psiquiatr.* 2003;25(3):184-7.

Zhang X, Beaulieu JM, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Caron MG. Tryptophan hydroxylase-2 controls brain serotonin synthesis. *Science.* 2004;305(5681):217.

Zimmer L, Durand G, Guilloteau D, Chalon S. n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and dopamine metabolism in the rat frontal cortex. *Lipids.* 1999;34 Suppl:S251.