



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

LUIZ FERNANDO VERÍSSIMO

**EFEITOS CARDIOVASCULARES DO TRATAMENTO COM  
ESCITALOPRAM EM RATOS SUBMETIDOS À SEPARAÇÃO  
MATERNA PRECOCE**

---

Londrina  
2019



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

LUIZ FERNANDO VERÍSSIMO

**EFEITOS CARDIOVASCULARES DO TRATAMENTO COM  
ESCITALOPRAM EM RATOS SUBMETIDOS À SEPARAÇÃO  
MATERNA PRECOCE**

LUIZ FERNANDO VERÍSSIMO

**EFEITOS CARDIOVASCULARES DO TRATAMENTO COM  
ESCITALOPRAM EM RATOS SUBMETIDOS À SEPARAÇÃO MATERNA  
PRECOCE**

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, da associada Universidade Estadual de Londrina-PR, como requisito para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gislaine Garcia Pelosi  
Gomes.

Londrina  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Veríssimo, Luiz Fernando.

EFEITOS CARDIOVASCULARES DO TRATAMENTO COM ESCITALOPRAM EM RATOS SUBMETIDOS À SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE / Luiz Fernando

Veríssimo. - Londrina, 2019.

68 f. : il.

Orientador: Gislaine Garcia Pelosi Gomes.

Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2019.

Inclui bibliografia.

1. Antidepressivo Escitalopram - Tese. 2. Segurança Cardiovascular - Tese. 3. Farmacologia - Tese. 4. Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina - Tese. I. Garcia Pelosi Gomes, Gislaine . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Título.

LUIZ FERNANDO VERÍSSIMO

**EFEITOS CARDIOVASCULARES DO TRATAMENTO COM ESCITALOPRAM EM  
RATOS SUBMETIDOS À SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE**

Tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, da associada Universidade Estadual de Londrina–PR, como requisito para a obtenção do título de Doutor.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profª Drª Gislaine Garcia Pelosi Gomes  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profª Drª Marli Cardoso Martins-Pinge  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profª Drª Cristiane Mota Leite  
Universidade Norte do Paraná – UNOPAR

---

Profª Drª Karen Barros Parron Fernandes  
Universidade Norte do Paraná – UNOPAR

---

Prof. Dr. Fernando Morgan Aguiar Corrêa  
Universidade de São Paulo – USP

---

Prof. Dr. Ernane Torres Uchoa  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profª Drª Giselle Aparecida Nobre Costa  
Universidade Norte do Paraná – UNOPAR

Londrina, 17 de abril 2019.

Aos meus pais e minha noiva por terem me apoiado até aqui.

Aqueles que passaram por minha vida desde à graduação até o dia de hoje, todos contribuíram de alguma maneira por quem me tornei hoje.

## AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma doaram um pouco de si para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível:

A esta universidade e ao Programa Multicêntrico de Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela acendrada confiança no mérito e ética aqui presentes.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gislaíne Garcia Pelosi Gomes, pelo suporte, correções, ensinamentos, incentivos e amizade durante todo esse período. Muito obrigado por tudo.

Aos meus pais, Luiz Carlos Veríssimo e Roseli da Silva Veríssimo, e ao meu irmão, Lucas Daniel Veríssimo, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

A minha noiva Rayssa pelo companheirismo e incentivo durante todo esse percurso, e agradeço a sua família, Vânia, Vera e outros, pelo o apoio e suporte.

Aos amigos do laboratório, do departamento e amigos fora do laboratório, pelo o apoio e por tornarem o convívio diário mais alegre.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação Araucária, por conceder a minha bolsa de estudos e financiar o nosso projeto.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

*“A ciência não é só compatível com a espiritualidade; é uma profunda fonte de espiritualidade. Quando reconhecemos nosso lugar na imensidão de anos-luz e no transcorrer das eras, quando compreendemos a complexidade, a beleza e a sutileza da vida, então o sentimento sublime, misto de júbilo e humildade, é certamente espiritual.”*

Carl Sagan

*“Vivemos em uma sociedade extremamente dependente da ciência e tecnologia, na qual pouquíssimos sabem alguma coisa sobre ciência e tecnologia.”*

Carl Sagan

VERÍSSIMO, Luiz Fernando. **Efeitos cardiovasculares do tratamento com escitalopram em ratos submetidos à separação materna precoce**. 2019. 67 f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

## RESUMO

A depressão é uma doença que acomete grande parte da população mundial e interfere drasticamente na qualidade de vida do indivíduo. Estudos mostram uma conexão entre depressão e doenças cardiovasculares (DCV) em que a depressão pode aumentar a incidência ou ser causa de piora das mesmas. Dessa maneira o uso de fármacos antidepressivos, sendo os inibidores seletivos da recaptção de serotonina os mais utilizados, pode ser benéfico em pacientes depressivos que apresentem algum risco cardiovascular. Dentre eles, o escitalopram (ESC) destaca-se por sua melhor eficácia e segurança. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos cardiovasculares do tratamento com ESC durante 21 dias em ratos que foram submetidos à separação materna precoce e apresentaram comportamento depressivo-símile. Foram utilizados ratos Wistar (75 dias) de ambos os sexos para o acasalamento e no período do dia pós-natal 2 ao 15 foi realizado o protocolo de separação materna precoce. Aos 60 dias de idade, os filhotes machos passaram pelo teste do nado forçado para verificação do estado depressivo-símile. Os animais que apresentaram o comportamento depressivo-símile receberam salina ou ESC 5 mg/kg, via intraperitoneal, durante 21 dias e foram submetidos ao registro invasivo da pressão arterial para análise dos seguintes parâmetros: valores basais de pressão arterial e frequência cardíaca, variabilidade da frequência cardíaca, variabilidade da pressão sistólica, bloqueio autonômico da frequência cardíaca, avaliação da frequência cardíaca intrínseca, atividade barorreflexo, resposta hemodinâmica a drogas vasoativas e resposta cardiovascular frente ao estresse agudo por restrição. O tratamento com ESC reduziu o parâmetro de muito baixa frequência da VPS ( $p= 0,0101$ ), indicando que o tratamento com ESC pode exercer efeitos sobre a modulação miogênica vascular, assim como a frequência cardíaca intrínseca relação ao grupo controle ( $p= 0,0002$ ). Além disso, o tratamento com ESC aumentou o platô inferior (P1) da curva sigmóide da atividade do barorreflexo em relação ao grupo controle ( $p= 0,0236$ ), associado ao aumento da atividade parassimpática cardíaca durante a atividade do barorreflexo. No entanto, o tratamento com ESC não modificou os demais parâmetros cardiovasculares analisados no presente trabalho. Levando-se em consideração os resultados obtidos pode-se sugerir que o tratamento com ESC em ratos com comportamento depressivo-símile favorece a resposta bradicárdica do barorreflexo e apresenta uma boa segurança para ser utilizado em pacientes depressivos com DCV, mas a redução da frequência cardíaca intrínseca poderia ser prejudicial em caso de pacientes idosos ou com arritmia cardíaca.

**Palavras-chave:** Antidepressivos. Inibidores seletivos da recaptção de serotonina. Comportamento depressivo-símile. Segurança cardiovascular.

VERÍSSIMO, Luiz Fernando. **Cardiovascular effects of escitalopram treatment in rats submitted to early maternal separation**. 2019. 67 p. Thesis (Doctorate's degree in Physiological Sciences) – Univerisdade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

### ABSTRACT

Depression is a disease that affects a large part of the world's population and drastically interferes with the individual's quality of life. Studies show a connection between depression and cardiovascular disease (CVD) in which depression can increase its incidence. Therefore, the use of antidepressant drugs could be beneficial in depressive patients who present cardiovascular risk, and selective serotonin reuptake inhibitors are the most used in this case. Among them, escitalopram (ESC) stands out for its better effectiveness and safety. Thus, the present study aimed to evaluate the cardiovascular effects of ESC treatment for 21 days in rats that were underwent to early maternal separation and developed depressive-like behavior in adult age. Male and female Wistar rats (75 days) were used for mating and the early maternal separation was performed between the postnatal day 2 to 15. At 60 days of age, the male offspring performed the forced swimming test to verify the depressive-like state. The animals that presented depressive-like behavior received saline or ESC 5 mg/kg, intraperitoneally, for 21 days and were submitted to invasive blood pressure recording to analyze the following parameters: baseline blood pressure and heart rate, heart rate variability, blood pressure variability, autonomic blockade of heart rate, intrinsic heart rate evaluation, baroreflex activity, hemodynamic response to vasoactive drugs and cardiovascular response to acute restraint stress. Treatment with ESC reduced the very low frequency parameter of blood pressure variability ( $p = 0.0101$ ), indicating that ESC treatment may exert effects on vascular myogenic modulation, as well as the intrinsic heart rate compared to the control group ( $p = 0.0002$ ). In addition, the ESC treatment increased the lower plateau (P1) of the sigmoid curve of baroreflex activity compared to the control group ( $p = 0.0236$ ) associated with increased on cardiac parasympathetic activity. However, the ESC treatment did not modify the other cardiovascular parameters analyzed in the present study. Considering that, the results suggest that the ESC treatment in rats with depressive-like behavior favors the bradycardic response of the baroreflex and presents a good safety to be used in depressive patients with CVD, but the reduction of the intrinsic heart rate observed could be harm in elderly or patients that present cardiac arrhythmia.

**Keywords:** Antidepressant. Selective serotonin reuptake inhibitor. Depressive-like behavior. Cardiovascular safety.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> -	Efeito antidepressivo dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina.....	20
<b>Figura 2</b> -	Desenho Experimental de todos os protocolos realizados nas mães e filhotes organizados pelo tempo.....	35
<b>Figura 3</b> -	Curvas sigmóides e regressões lineares do barorreflexo dos grupos SMP e NM. ....	38
<b>Figura 4</b> -	Mudanças na pressão arterial ( $\Delta$ PAM) causadas pelo aumento na concentração de fenilefrina (PHE; painel A) ou nitroprussiato de sódio (NPS, painel B) nos grupos não manuseados (NM) (quadrados e linhas pretas) e separação materna precoce (SMP) (quadrados e linhas cinzas). ....	39
<b>Figura 5</b> -	Análise temporal das variações da PAM ( $\Delta$ PAM, painel A) e FC ( $\Delta$ FC, painel B) durante 1 hora de estresse de restrição no grupo não manuseado (NM) (linha preta) e separação materna precoce (SMP) (linhas cinza) de animais depressivo-símile. Círculos representam média e barras do EPM. ....	40
<b>Figura 6</b> -	Efeitos do pré-tratamento endovenoso com atenolol ou atropina sobre a frequência cardíaca (FC) nos grupos controle (CTL) e escitalopram (ESC).....	44
<b>Figura 7</b> -	Efeitos do tratamento com ESC durante 21 dias sobre a frequência cardíaca intrínseca (FCI).....	44
<b>Figura 8</b> -	Curvas sigmóides e regressões lineares do barorreflexo dos grupos CTL e ESC em ratos depressivo-símile.....	46
<b>Figura 9</b> -	Valos do parâmetro P1 da curva sigmoide do grupo ESC em ratos depressivo-símile, antes e após o bloqueio autonômico cardíaco simpático ou parassimpático .....	47
<b>Figura 10</b> -	Mudanças na pressão arterial ( $\Delta$ PAM) causadas pelo aumento na concentração de fenilefrina (PHE; painel A) ou nitroprussiato de sódio (NPS, painel B) nos grupos controle (CTL) (quadrados e linhas pretas) e escitalopram (ESC) (quadrados e linhas cinzas). ....	48
<b>Figura 11</b> -	Análise temporal das variações da PAM ( $\Delta$ PAM, painel A) e FC ( $\Delta$ FC, painel B) durante 1 hora de estresse de restrição no grupo controle (CTL) (linha preta) e escitalopram (ESC) (linhas cinza) de animais depressivo-símile. ....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Parâmetros cardiovasculares basais do grupo CTL (n = 38) e ESC (n = 45) em ratos depressivo-símile. ....	41
<b>Tabela 2</b> - Componentes obtidos através da análise no domínio do tempo e da frequência na variabilidade da frequência cardíaca em ratos depressivo-símile do grupo controle (CTL) e escitalopram (ESC). ....	42
<b>Tabela 3</b> - Componentes obtidos através da análise no domínio do tempo e da frequência na variabilidade da pressão sistólica em ratos depressivo-símile do grupo controle (CTL) e escitalopram (ESC). ....	42
<b>Tabela 4</b> - Parâmetros derivados da curva sigmoide do barorreflexo dos grupos controle (CTL) (n = 8) e escitalopram (ESC) (n = 10) em ratos depressivo-símile. ....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina
BEI	Índice de efetividade do barorreflexo
BP <sub>50</sub>	Pressão arterial média em 50% da gama de frequência cardíaca
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CTL	Grupo controle
DCV	Doenças cardiovasculares
DG	Dia gestacional
DPN	Dia pós-natal
ED <sub>50</sub>	Dose necessária para gerar 50% do efeito máximo
E <sub>max</sub>	Efeito máximo
ESC	Escitalopram
FC	Frequência cardíaca
G	Ganho
HF	Componente de alta frequência – High frequency
HPA	Hipotálamo-pituitária-adrenal
IP	Intervalo de pulso
IP	Intraperitoneal
ISRS	Inibidores seletivos da recaptura da serotonina
IV	Intravenosa
LF	Componente de baixa frequência – Low frequency
LF/HF	Razão do componente LF pelo componente HF
NF	Teste do nado forçado
NM	Grupo não manuseado
P1	Menor platô da frequência cardíaca
P2	Maior platô da frequência cardíaca
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
RMSSD	Raiz quadrada das medias de sucessivas diferenças
SC	Subcutânea
SD	Desvio padrão da media
SERT	Transportador de serotonina
SMP	Separação materna precoce
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VLF	Componente de muito baixa frequência – Very low frequency
VPS	Variabilidade da pressão sistólica
ΔFC	Varição da frequência cardíaca
ΔPAM	Varição da pressão arterial média

## SUMÁRIO

<b>1.0</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1	DEPRESSÃO .....	16
1.3	ANTIDEPRESSIVOS E INIBIDORES SELETIVOS DA RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA.....	18
1.4	EFEITOS CARDIOVASCULARES DOS INIBIDORES SELETIVOS DA RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA.....	21
1.5	ESCITALOPRAM .....	22
	EFEITOS CARDIOVASCULARES DO ESCITALOPRAM .....	23
	MODELOS ANIMAIS DE DEPRESSÃO – SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE.....	23
	EFEITOS CARDIOVASCULARES CAUSADAS PELO MODELO DE SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE.....	25
<b>2.0</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	26
2.1	OBJETIVO GERAL .....	26
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
<b>3.0</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	27
3.1	ANIMAIS.....	27
3.2	SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE.....	27
3.3	TESTE DO NADO FORÇADO .....	28
3.4	TRATAMENTO COM ESC.....	28
3.5	CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES DO MODELO DE DEPRESSÃO SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE .....	29
3.6	CIRURGIA PARA CANULAÇÃO DE ARTÉRIA E VEIA FEMORAL .....	29
3.7	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES .....	29
3.8	ANÁLISE ESPECTRAL DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA (VFC) E PRESSÃO SISTÓLICA (VPS) .....	30
3.9	ANÁLISE DA SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO – MÉTODO DA SEQUÊNCIA.....	31
3.10	BLOQUEIO AUTÔNOMICO SELETIVO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA .....	31
3.11	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO.....	31
3.12	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO BARORREFLEXO.....	32
3.13	AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA AUTÔNOMICA NA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO .....	32
3.14	CURVA DOSE-RESPOSTA PARA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA.....	33

3.15	ESTRESSE AGUDO DE RESTRIÇÃO.....	33
3.16	DROGAS .....	33
3.17	EUTANÁSIA .....	34
3.18	DESENHO EXPERIMENTAL.....	35
3.19	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	35
<b>4.0</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
4.1	EFEITOS DA SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE NO TESTE DO NADO FORÇADO.....	36
4.2	EFEITOS DA SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE SOBRE OS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES EM RATOS ADULTOS .....	36
4.3	EFEITO DO TRATAMENTO COM ESC SOBRE OS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES BASAIS DE RATOS DEPRESSIVO-SÍMILE .....	41
4.4	EFEITO DO TRATAMENTO COM ESC NA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E DA PRESSÃO SISTÓLICA DE RATOS DEPRESSIVO-SÍMILE .....	41
4.5	EFEITO DO TRATAMENTO COM ESC SOBRE A SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO AVALIADO PELO MÉTODO DA SEQUÊNCIA.....	43
4.6	EFEITO DO BLOQUEIO AUTONÔMICO CARDÍACO EM ANIMAIS DEPRESSIVO- SÍMILE .....	43
4.7	EFEITOS DO TRATAMENTO COM ESC SOBRE O CONTROLE BARORREFLEXO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE RATOS DEPRESSIVO-SÍMILE.....	45
4.8	EFEITOS DO BLOQUEIO AUTONÔMICO SOBRE O PARÂMETRO P1 DA CURVA SIGMÓIDE DO BARORREFLEXO DE RATOS DEPRESSIVO-SÍMILE .....	47
4.9	EFEITOS DO TRATAMENTO COM ESC NA RESPOSTA HEMODINÂMICA DE RATOS DEPRESSIVO-SÍMILE .....	47
4.10	EFEITOS DO TRATAMENTO COM ESC NA RESPOSTA CARDIOVASCULARE DURANTE O ESTRESSE DE RESTRIÇÃO AGUDO EM RATOS DEPRESSIVO-SÍMILE .....	49
<b>5.0</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>6.0</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>7.0</b>	<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>58</b>

## 1.0 INTRODUÇÃO

### 1.1 DEPRESSÃO

A depressão é uma doença que se apresenta de forma crônica, recorrente e possui a habilidade de gerar uma incapacidade funcional, além do comprometimento da saúde de modo geral. Pacientes depressivos apresentam uma perda da qualidade de vida, reduzindo as suas atividades e o bem-estar social (FLECK et al., 2003).

Estudos mostram que a depressão apresenta uma prevalência de 2% a 15% no tempo de vida dos pacientes (MOUSSAVI et al., 2007). Apesar da sua relevância na saúde, a depressão ainda é uma doença subdiagnosticada e subtratada; entre 30% a 60% dos casos de depressão não são detectados pelo cuidado médico primário (RONALDS et al., 1997; ROST et al., 1998).

A depressão apresenta uma prevalência mediana de 20% na população da América do Sul (LIM et al., 2018), mas pode chegar a porcentagens maiores em grupos populacionais específicos, como é o caso de pacientes com câncer em que a prevalência chega a 47%, e de pacientes com quadro clínico de infarto recente (FLECK et al., 2009) ou ocorrido há mais de um ano que atinge 33% ou 15% a 20%, respectivamente (STRIKE; STEPTOE, 2004).

A literatura descreve algumas teorias da fisiopatologia da depressão. A primeira delas conhecida como a “teoria monoaminérgica clássica da depressão” sugere a redução da neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica como causa da depressão (CASTRÉN, 2005; COPPEN; BAILEY, 2000; SCHILDKRAUT, 1965); fármacos que agem em ambas neurotransmissões, como os antidepressivos tricíclicos e ISRS, são utilizados na clínica. No entanto, a teoria não explica o período de latência observado para o surgimento dos efeitos terapêuticos dos antidepressivos já que o aumento nas concentrações de monoaminas ocorre desde o início do tratamento (CASTRÉN, 2005; FERRARI; VILLA, 2017).

Para preencher essa lacuna, sugeriu-se que o tratamento ocasionaria alterações neuroplásticas para o desenvolvimento de efeito esperado, assim, foi preconizada a hipótese molecular ou neurotrófica da depressão (AGID et al., 2007; DUMAN; HENINGER; NESTLER, 1997), na qual se pressupõe que o estresse reduziria a expressão de genes relacionados a arborização dentrítica e neurogênese, como o fator neurotrófico derivado do cérebro,

levando a alterações de estruturas límbicas causando a depressão (PHILLIPS, 2017; SHIRAYAMA et al., 2002)

Adicionalmente, Deakin e Graeff (1991) propuseram que o sistema serotoninérgico atua modulando o organismo frente a respostas aversivas com objetivo de criar uma dissociação dos efeitos emocionais e eventos aversivos, levando ao desenvolvimento da tolerância ao estresse. Logo, surgiu a hipótese do desequilíbrio de receptores de serotonina como causa da depressão a qual descreve que há uma deficiência da neurotransmissão mediada pelos receptores 5-HT<sub>1A</sub> e/ou excesso da mediada por 5-HT<sub>2</sub>, levando a uma falha da tolerância ao estresse, assim, o indivíduo torna-se mais vulnerável a eventos estressores e, conseqüentemente, ao aparecimento de quadros depressivos (DEAKIN, 1996; GRAEFF et al., 1996).

É importante notar que as teorias recentes sobre a neurobiologia da depressão apresentam o estresse como fator relevante na gênese da depressão já que pode causar alterações da homeostase de áreas límbicas; o estresse também possui destaque na gênese de doenças cardiovasculares (DCV), dessa maneira, é esperado que haja uma correlação entre as duas doenças.

## 1.2 CORRELAÇÃO ENTRE DEPRESSÃO E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Atualmente há uma correlação bem estabelecida entre a depressão e DCV. Estudos mostram que a presença de sintomas de depressão pós-infarto do miocárdio tem sido associada a um risco aumentado para eventos cardíacos adversos e morte (FRASURE-SMITH; LESPERANCE; TALAJIC, 1995). Além disso, a depressão é três vezes mais comum em pacientes cardíacos em relação à população normal e se mostra como fator de predição para o aparecimento das DCV (WULSIN, 2004).

Ainda pouco se sabe à respeito de como a depressão pode gerar ou piorar DCV, porém, o artigo de revisão de Joynt e col.(2003) descreve possíveis mecanismos envolvidos nessa relação, dentre eles: aumento da atividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), e, conseqüentemente, de cortisol/corticosterona no organismo (ARBORELIUS et al., 1999; EHLERT; GAAB; HEINRICH, 2001; PLOTSKY; OWENS; NEMEROFF, 1998); aumento da atividade simpatoadrenal, gerando um aumento da concentração de catecolaminas

circulantes (GOLD et al., 2002). Ambos os mecanismos são danosos para o sistema cardiovascular sendo que o aumento cortisol plasmático contribui para o desenvolvimento de arteriosclerose, hipertensão e dano no endotélio vascular (WHITWORTH et al., 2005), e o aumento de catecolaminas plasmáticas contribuem para maior vasoconstrição, agregação plaquetária e aumento da frequência cardíaca (REMME, 1998). Além disso, o aumento de marcadores inflamatórios como IL-1 e IL-6 (APPELS et al., 1995; KOP et al., 2002; MAES et al., 1993) e da ativação plaquetária (VON KÄNEL et al., 2001) também contribuem para a influência da depressão na evolução das DCV.

Considerando o impacto que a depressão pode causar na saúde cardiovascular do paciente, entre outros fatores, é relevante que o fármaco escolhido para o tratamento do paciente depressivo apresente também benefícios sobre o sistema cardiovascular associado à sua eficácia terapêutica, principalmente se esse paciente apresentar concomitantemente DCV.

### *1.3 ANTIDEPRESSIVOS E INIBIDORES SELETIVOS DA RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA*

O principal objetivo do tratamento da depressão é reduzir os sintomas agudos da depressão, facilitar o retorno do paciente a suas atividades diárias normais e evitar novos episódios de depressão. O tratamento é dividido em 3 fases: (I) fase aguda onde o objetivo é levar a remissão do episódio depressivo, com duração de cerca de 2 a 4 meses; (II) fase de manutenção onde se pretende manter a melhoria obtida e evitar recaídas, podendo durar de 4 a 9 meses; (III) fase de manutenção que tem a finalidade de evitar recaídas, podendo durar de 1 a 3 anos (DIPIRO, 2008; FLECK et al., 2003; STAHL; DE OLIVEIRA, 2014). A escolha do medicamento e a resposta terapêutica adequada de cada paciente são necessárias para o sucesso das três fases do tratamento.

A terapia farmacológica da depressão consiste basicamente no uso de fármacos que, direta ou indiretamente, potencializam a ação de neurotransmissores no cérebro, principalmente a noradrenalina e serotonina (5-HT) (CLARK et al., 2012). Os fármacos antidepressivos podem ser classificados de acordo com a estrutura química ou o mecanismo de ação e são: bloqueadores dos transportadores de monoaminas, agonistas parciais e inibidores da recaptção de serotonina, inibidores da recaptção de serotonina e

noradrenalina, inibidores da recaptção de noradrenalina e dopamina, inibidores seletivos da recaptção de noradrenalina, inibidores da MAO, antidepressivos tricíclicos e inibidores da recaptção de serotonina (ISRS). Todas as classes de antidepressivos apresentam a mesma efetividade para o tratamento da depressão, logo, a escolha do fármaco é empírica, mas deve-se considerar a farmacogenética (o histórico familiar de resposta a esse fármaco), o histórico médico do paciente, sintomas presentes, potenciais interações medicamentosas, entre outros fatores (DIPIRO, 2008; STAHL; DE OLIVEIRA, 2014). Dessa maneira, estudos que elucidem os efeitos desses fármacos sobre os diferentes sistemas fisiológicos para auxiliar o profissional da saúde no momento da escolha para prescrição dos mesmos são essenciais.

Dentre as classes de fármacos antidepressivos, os inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS) são os fármacos mais utilizados e, normalmente, os de primeira escolha para o tratamento da depressão, principalmente por sua eficácia, segurança e tolerabilidade aumentada (DIPIRO, 2008). Os ISRS geram seu efeito terapêutico através da inibição do transportador de serotonina (SERT) que realiza a recaptção da 5-HT da fenda sináptica para o terminal nervoso. Assim, a administração do ISRS leva a um aumento na concentração de 5-HT primeiramente na região somatodentrítica do neurônio, onde há a presença de receptores do tipo 5-HT<sub>1A</sub>, o que reduz a ativação neuronal da via serotoninérgica originária da rafe mesencefália até o córtex frontal levando a piora dos sintomas depressivos. Em seguida, ocorre a infrarregulação desses receptores e, conseqüentemente, dos receptores de 5-HT no neurônio pós-sináptico normalizando a neurotransmissão (Figura 1; NUTT et al., 1999; STAHL, 1998; STAHL; DE OLIVEIRA, 2014).

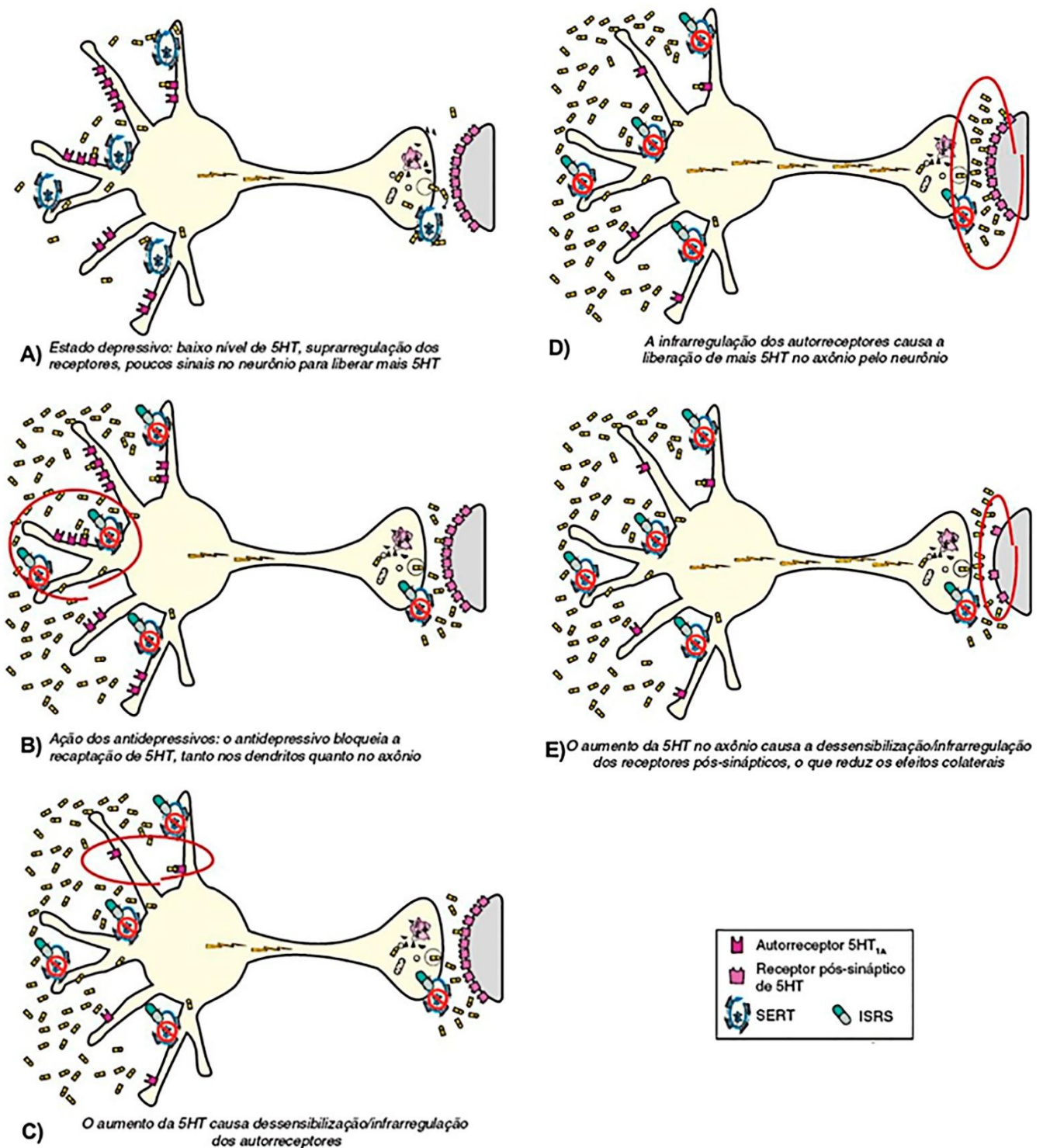


Figura 1 – Efeito antidepressivo dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina.

(A) O estado depressivo leva à redução da concentração de 5-HT na região axonal e na região somatodendrítica pré-sinápticas; (B) No início do tratamento com ISRS ocorre o bloqueio da SERT na região axonal e somatodendrítica gerando acúmulo de 5-HT principalmente na região somatodendrítica; (C) O acúmulo de 5-HT na região somatodendrítica leva a infrarregulação dos receptores tipo 5-HT<sub>1A</sub>, responsáveis pela

inibição da liberação de 5-HT na região axonal. (D) A infrarregulação dos receptores tipo 5-HT<sub>1A</sub> leva à redução da inibição da liberação de 5-HT na região axonal, normalizando a sinalização para liberação de 5-HT. Como a SERT está inibida pela ação dos ISRS na região axonal há um acúmulo de 5-HT na fenda sináptica; (E) O acúmulo de 5-HT leva a infrarregulação dos receptores 5-HT no neurônio pós-sináptico. Adaptado de STAHL; DE OLIVEIRA, 2014.

Apesar de sua boa segurança, é descrito que os ISRS causam efeitos adversos sobre diferentes sistemas, tais como: agitação mental aguda, ansiedade, indução de ataque do pânico através da ação da 5-HT em receptores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> presentes na via da rafe até o córtex límbico; alterações nos movimentos motores, acatisia e lentificação psicomotora com a ação da 5-HT em receptores 5-HT<sub>2A</sub> presentes nos gânglios da base; perturbação do sono mediada pelos receptores 5-HT<sub>2A</sub> nos centros do sono; inibição dos reflexos medulares sexuais e disfunção sexual via ativação de receptores do tipo 5-HT<sub>2A</sub> na medula espinhal; apatia mediada pelos receptores 5-HT<sub>2A</sub> localizados nos centros mesocorticais do prazer; náuseas e vômitos via ação da 5-HT em receptores 5-HT<sub>3</sub> no hipotálamo e tronco cerebral .(FERGUSON, 2001; STAHL, 1998; STAHL; DE OLIVEIRA, 2014)

Apesar, dos ISRS apresentarem melhor perfil cardiovascular em relação ao observado com os antidepressivos da classe dos tricíclicos (CHANG; LIU, 2017; GRIMSLEY; JANN, 1992) tornando-os os fármacos de escolha para o tratamento de pacientes que apresentam depressão e DCV (CHANG; LIU, 2017; LARS; GRAM, 1994), eles também apresentam efeitos adversos sobre o sistema cardiovascular.

#### *1.4 EFEITOS CARDIOVASCULARES DOS INIBIDORES SELETIVOS DA RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA*

Apesar de seu bom perfil cardiovascular, os ISRS podem interferir sobre o sistema cardiovascular. Estudos demonstram que essa classe é capaz de alterar o potencial de membrana de células cardíacas e vasculares (PACHER et al., 1999; PACHER; KECSKEMETI, 2004). Além disso, a síndrome da serotonina, causada pela administração conjunta de ISRS e outras drogas que atuam sobre o sistema serotoninérgico, leva à instabilidade autonômica e

à hipertensão do paciente (BOYER; SHANNON, 2005). Ainda, estudos mostram que o tratamento crônico com fluoxetina causa leve hipertensão e alterações na atividade cardíaca do barorreflexo em ratos normotensos (CRESTANI et al., 2011), assim como, diminuição da pressão arterial em ratos hipertensos (FULLER et al., 1979). É importante ressaltar que, apesar de menor intensidade em relação aos antidepressivos tricíclicos, a fluoxetina ainda pode atuar nos receptores de recaptção de noradrenalina aumentando a sua disponibilidade e conseqüentemente a ação em centros de controle da pressão arterial, vasos e coração, levando a prejuízos sobre o sistema cardiovascular (SCHROEDER; JORDAN, 2012). A fluoxetina também inibi os receptores 5-HT<sub>2C</sub> (PÄLVIMÄKI et al., 1999) que suprimem a liberação de neurotransmissores nos sistemas noradrenérgicos e dopaminérgicos no cérebro (MILLAN; DEKEYNE; GOBERT, 1998). Porém, há outros ISRS que não apresentam essas características farmacológicas, como é o caso do escitalopram (SÁNCHEZ et al., 2003).

### 1.5 ESCITALOPRAM

O escitalopram (ESC) é um ISRS indicado para tratamento de pacientes que apresentam depressão e DCV. Foi desenvolvido entre os anos de 1998 e 2000, aprovado para o tratamento da depressão pela agência regulatória dos Estados Unidos (*Food Drug Administration, FDA*) em 2002 e inicialmente comercializado como Lexapro®.

O ESC é o isômero terapêutico (S-citalopram) do citalopram e apresenta uma maior seletividade e menores efeitos adversos em relação ao citalopram, seu fármaco de origem (GELENBERG, 2001). O citalopram é composto por uma mistura racêmica, logo, em sua composição há a presença de duas conformações estruturais: a R-citalopram e a S-citalopram. A conformação S-citalopram é a que apresenta uma maior inibição da recaptura de serotonina em relação a conformação R-citalopram (SÁNCHEZ; HOGG, 2000); a conformação R-citalopram apresenta baixo efeito terapêutico e pode até agir de forma contrária à conformação S-citalopram, devido a competição pelo sítio de ligação (JACQUOT et al., 2008; MØRK; KREILGAARD; SÁNCHEZ, 2003).

Apesar da sua maior seletividade e menor presença de efeitos colaterais em relação ao seu fármaco de origem, o ESC também apresenta efeitos sobre o sistema cardiovascular.

### *EFEITOS CARDIOVASCULARES DO ESCITALOPRAM*

Há poucos estudos que avaliam os efeitos do tratamento com ESC sobre a função cardiovascular. Foi evidenciado que o tratamento com ESC em pacientes com síndrome coronária aguda não alterou a pressão arterial basal (HANASH et al., 2012; KIM et al., 2015). No entanto, Thase e col.(2013) mostraram que o tratamento com ESC causou uma leve bradicardia sem alterações no eletrocardiograma em humanos. Estudo recente do nosso laboratório (Veríssimo e col., 2018) evidenciou que o tratamento com ESC durante 21 dias em ratos não depressivos resultou em hipertensão leve, concomitantemente com redução da FC e desbalanço autonômico com predominância parassimpática. Há uma quantidade escassa de estudos evidenciando os efeitos cardiovasculares do tratamento com ESC, principalmente em organismos que apresentam um estado depressivo.

### *MODELOS ANIMAIS DE DEPRESSÃO – SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE*

Devido a relação dos eventos estressores com a gênese da depressão, os modelos de depressão em roedores baseiam-se na exposição dos animais à eventos estressantes de maneira crônica em diferentes fases da vida levando a desregulação do eixo HPA e a indução do comportamento depressivo-símile (HILL et al., 2012; LUPIEN, 2009). Modelos como derrota social, isolamento social e estresse crônico moderado apresentam como agentes estressores situações naturalmente aversivas aos animais simulando o estresse do cotidiano da vida humana (CARNEVALI et al., 2017; GRIPPO, 2009, 2011; SGOIFO; CARNEVALI; GRIPPO, 2014). Outros modelos de depressão em roedores apresentam os eventos estressores nas fases iniciais do neurodesenvolvimento dos animais para aumentar a vulnerabilidade ao aparecimento do comportamento depressivo-símile na vida adulta, tais como: o estresse pré-natal, estresse social crônico, estresse de restrição repetido (no período da adolescência do roedor) e a separação materna (CARNEVALI et al., 2017; WULSIN et al., 2016). Devido a indução dos eventos estressores serem realizados nos períodos iniciais do desenvolvimento dos roedores esses modelos apresentam menores efeitos sobre o sistema cardiovascular (CRUZ et al., 2016; MASTORCI et al., 2009; TROMBINI et al., 2012) em relação aos modelos de depressão induzidos na vida adulta.

A teoria desenvolvimentista da saúde e da doença nos apresenta o conceito no qual a influência de fatores ambientais em períodos iniciais do neurodesenvolvimento pode ter efeitos persistentes sobre a estrutura ou função do indivíduo ao longo da vida (SILVEIRA et al., 2007). Assim, filhotes de mães estressadas na gestação ou filhotes separados da mãe no período de amamentação apresentam sintomas depressivo-símile na idade adulta (STEPANICHEV et al., 2014; VETULANI, 2013).

A separação materna precoce (SMP) consiste em um modelo no qual a ninhada é separada da mãe durante as primeiras semanas de vida e essa apresentará sintomas depressivo-símile na idade adulta (VETULANI, 2013). Este período tem um papel importante no desenvolvimento emocional e cognitivo da prole, o qual irá refletir nas emoções e respostas fisiológicas na idade adulta (KAFFMAN; MEANEY, 2007). Os efeitos, agudos e de longa duração, gerados por essa separação se desenvolvem devido ativação repetida de mediadores do estresse como glicocorticóides e catecolaminas (MCEWEN, 2003), afetando o comportamento e a neuroquímica sobre a vida do mamífero; as consequências de uma excessiva exposição a esses mediadores sobre o comportamento animal pode ser considerado modelos para algumas doenças psiquiátricas (VETULANI, 2013).

Os ratos submetidos à SMP durante 3 horas por dia nas duas primeiras semanas de vida, apresentam filhotes que exibem uma hiperatividade do eixo HPA que persiste por toda a vida e mantêm permanentemente um comportamento similar de ansiedade, síndrome de depressão, anedonia e uma tendência ao consumo elevado de etanol (VETULANI, 2013). Além disso, outras alterações são descritas nesses filhotes, tais como: aumento da resposta a um estressor agudo, redução dos níveis de BDNF no hipocampo e estriado e aumento na área tegumental ventral (LIPPMANN et al., 2007). Assim, essas alterações persistentes observadas na prole adulta assemelham-se às observadas na depressão e antidepressivos são capazes de revertê-las, como: aminotriptilina, desipramina, paroxetina e escitalopram, indicando a validade do modelo para indução do comportamento de depressão-símile em animais (VETULANI, 2013).

O modelo de SMP precoce apresenta vários estudos indicando a sua efetividade em gerar um estado depressivo-símile em ratos, e o tratamento com ESC é capaz de reverter o estado depressivo-símile induzido pela SMP (EL KHOURY et al., 2006; MARAIS et al., 2009) ou

induzido por outros modelos de depressão como o *chronic escape deficit* e estresse crônico moderado (BENATTI et al., 2014; JAYATISSA et al., 2006; WANG et al., 2014).

#### *EFEITOS CARDIOVASCULARES CAUSADAS PELO MODELO DE SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE*

Há poucos estudos que evidenciam os efeitos cardiovasculares causados pela SMP. Rana e col.(2015) mostraram que a SMP em ratos Wistar-Kyoto causa uma redução da frequência cardíaca basal e aumento da sensibilidade do barorreflexo. Trombini e col. (2012) evidenciaram alterações nas células cardíacas como hipertrofia dos cardiomiócitos, aumento da densidade de estruturas vasculares, fibrose miocárdica, além da redução da resposta parassimpática rebote após o estresse intermitente, sem alterações na atividade marcapasso de ratos Wistar submetidos à SMP. Em animais hipertensivos limítrofe, a SMP causou aumento da resposta taquicárdica frente ao estresse de restrição (SANDERS; ANTICEVIC, 2007).

Dados não publicados do nosso laboratório mostraram que a separação materna precoce não alterou os parâmetros basais cardiovasculares e a resposta barorreflexo frente a administração de drogas vasoativas; contudo, causou aumento da resposta pressora à administração endovenosa de fenilefrina sugerindo um possível aumento da reatividade vascular nesses animais (ANEXO I). Entretanto, ainda não há um consenso a respeito dos efeitos cardiovasculares da SMP.

Considerando que pacientes depressivos podem ter mais chances de desenvolver DCV ou apresentar piora no prognóstico e que os ISRS são a escolha para o tratamento , é importante avaliar os efeitos cardiovasculares do uso desses fármacos; assim, a hipótese do presente trabalho foi verificar se o tratamento com ESC, um ISRS, causaria alterações cardiovasculares em animais depressivo-símile.

## **2.0 OBJETIVOS**

### *2.1 OBJETIVO GERAL*

Avaliar os efeitos cardiovasculares causados pelo tratamento com escitalopram em animais que apresentam comportamento depressivo-símile.

### *2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS*

2.2.1. Caracterizar os efeitos cardiovasculares causados pelo protocolo de separação materna precoce, realizando as seguintes análises:

1. Parâmetros cardiovasculares basais (pressão arterial média, frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica);
2. Atividade intrínseca cardíaca;
3. Atividade barorreflexa gerada pela administração de drogas vasoativas;
4. Resposta hemodinâmica a drogas vasoativas;
5. Resposta cardiovascular durante o estresse de restrição agudo.

2.2.2. Avaliar os efeitos do tratamento durante 21 dias com escitalopram em animais depressivo-símile sobre:

1. Parâmetros cardiovasculares basais (pressão arterial média, frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica);
2. Análise espectral da variabilidade da pressão sistólica e da frequência cardíaca;
3. Análise da sensibilidade do barorreflexo – método da sequência;
4. Atividade intrínseca cardíaca;
5. Atividade barorreflexa gerada pela administração de drogas vasoativas;
6. Resposta hemodinâmica a drogas vasoativas;
7. Resposta cardiovascular durante o estresse de restrição agudo.

### 3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Os experimentos foram realizados de acordo com os protocolos aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (UEL) (nº 14358.2015.95). Ratos Wistar machos e fêmeas (75 dias de idade) foram mantidos no biotério setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas (UEL) em gaiolas plásticas, no ciclo claro-escuro de 12 horas, temperatura controlada ( $25 \pm 1$  °C) e água e comida oferecidas *ad libitum*.

Os animais foram acasalados para obtenção de filhotes. Assim, ratos machos foram individualmente colocados em gaiolas com 2 fêmeas “overnight”, e retirados das gaiolas das fêmeas no período da manhã, foi realizado esfregaço vaginal nas ratas para confirmação da gravidez, a prenhez foi confirmada após a observação da fase estro do ciclo estral associada a presença de espermatozoides visualizada na microscopia óptica (GOLDMAN; MURR; COOPER, 2007). Não foi realizada a redução de ninhada e após o período lactacional e somente os filhotes machos foram divididos em dois grupos experimentais (animais submetidos ou não à separação materna precoce) e utilizados para as análises subsequentes. Os filhotes fêmeas foram eutanasiadas e as mães foram utilizadas em outros projetos.

#### 3.2 SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE

Mães e ninhadas foram separadas por 3 horas (09:00 – 12:00) do dia pós-natal (DPN) 2 ao DPN 15. A ninhada inteira foi separada de sua mãe (grupo separação materna precoce, SMP) e transferidas para outra gaiola em outra sala para prevenir comunicação vocal (EL KHOURY et al., 2006; HULSHOF et al., 2011; PLOTSKY; MEANEY, 1993; TROMBINI et al., 2012). A ninhada foi incubada sob uma luz quente à temperatura de 32-33 °C, similar à encontrada no ninho (SCHMIDT; BARONE; CARLISLE, 1986), para evitar a queda da temperatura corporal da mesma. Após as 3 horas de separação, as ninhadas retornaram para suas gaiolas. As ninhadas que não foram submetidas à separação materna foram mantidas com suas mães durante todo o período lactacional (grupo não manuseado, NM).

### *3.3 TESTE DO NADO FORÇADO*

O teste do nado forçado foi realizado para verificar se os animais submetidos à SMP apresentaram comportamento depressivo-símile. Assim, os animais foram acondicionados em cilindros plásticos (30 cm de diâmetro, 40 cm de altura, contendo 25 cm de água à  $24 \pm 1$  °C) durante duas sessões consecutivas. A primeira sessão, o pré-teste, teve 15 minutos de duração e após 24 horas da primeira sessão foi realizada a segunda sessão, o teste, com a duração de 5 minutos (JOCA; GUIMARÃES, 2006). Após a secagem dos animais, eles retornaram para suas caixas.

Durante a segunda sessão foi gravado o tempo de imobilidade (o período no qual o animal permanece parado, realizando somente pequenos movimentos necessários para manter a sua flutuação). A água foi trocada durante as sessões de nado para evitar a influência de substâncias de alarme (ABEL; BILITZKE, 1990). As sessões foram realizadas no período das 8 às 12 horas. O teste foi realizado em todos os filhotes machos que passaram ou não pelo protocolo da separação materna precoce.

### *3.4 TRATAMENTO COM ESC*

A partir do DPN62, os animais que apresentam comportamento depressivo-símile no teste do nado forçado foram randomicamente separados em dois grupos experimentais: (I) Grupo CONTROLE (CTL): Administração de salina (0,9% NaCl, intraperitoneal, ip) diariamente por 21 dias consecutivos; (II) Grupo ESC: Administração de ESC (5 mg/kg/dia, ip; (MARAIS et al., 2009; SAĞLAM et al., 2006; UYS et al., 2006) diariamente por 21 dias consecutivos (WANG et al., 2014). As administrações foram realizadas no período das 10 às 12 horas e os experimentos realizados 30 minutos após a última administração.

### *3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES DO MODELO DE DEPRESSÃO SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE*

Os animais do grupo SMP, que não receberam o tratamento e apresentavam o comportamento depressivo-símile, juntamente com os animais do grupo NM, foram submetidos aos mesmos protocolos de avaliações cardiovasculares descritas abaixo.

### *3.6 CIRURGIA PARA CANULAÇÃO DE ARTÉRIA E VEIA FEMORAL*

A cirurgia foi realizada 24 horas antes dos experimentos. Os ratos foram anestesiados com tribromoetanol (250 mg/kg ip; Sigma-Aldrich) e uma incisão de 1,0 cm foi realizada na fossa ilíaca direita do animal e a artéria femoral direita dessecada e exposta. Uma linha de costura foi utilizada para se isolar a região distal da artéria femoral e uma pinça hemostática foi nela colocada, obstruindo temporariamente o fluxo arterial. Em seguida, um pequeno corte foi feito na artéria femoral e a cânula introduzida e cuidadosamente amarrada na artéria. A cânula de polietileno (Clay Adams, Parsippany, NJ, EUA) foi constituída de um segmento de polietileno PE-10 (3 cm) soldado a um outro segmento de polietileno PE-50 (13,5 cm), previamente preenchida com anticoagulante (heparina a 0,25% em salina) e obstruída com um pino de metal. Após esse procedimento, a cânula foi exteriorizada na região dorsal do animal com auxílio de um trocater, sendo fixada à pele por sutura cirúrgica. Quando a administração endovenosa de drogas se fez necessário, uma cânula similar foi introduzida na veia femoral. Após a cirurgia os animais receberam uma administração do anti-inflamatório flunixinina meglumina (2,5 mg/kg, subcutâneo (sc)) (Banamine®, Schering Plough, Santo Amaro, Brasil) para analgesia pós-operatória. A cânula inserida na artéria femoral foi utilizada para registro da pressão arterial pulsátil, outra cânula similar foi inserida na veia femoral para administração de drogas intravenosa (iv).

### *3.7 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES*

Os animais foram transferidos para sala experimental uma hora antes do início dos experimentos para habituação às condições ambientais. Um ruído de fundo foi gerado com objetivo de minimizar a interferência do som na sala experimental. A cânula arterial foi conectada ao transdutor de pressão arterial (Deltran®, UTAH Medical Products Inc®, Atholne, Irlanda) que estava acoplado ao amplificador de sinal (AECAD04F/ AVS Project, São

Carlos, Brasil) e o mesmo ligado ao sistema de aquisição (AQCAD/ AVS Project) computadorizado. Os valores de pressão arterial média (PAM), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólicas (PAD) e frequência cardíaca (FC) foram derivados da pressão arterial pulsátil. Em todos os protocolos de análise cardiovascular foi realizado um registro de 20 minutos da linha de base da pressão arterial.

### *3.8 ANÁLISE ESPECTRAL DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA (VFC) E PRESSÃO SISTÓLICA (VPS)*

Um período mínimo de 10 minutos de registro da PAS e da FC foram utilizados, a análise da variabilidade da pressão sistólica e do intervalo de pulso (IP) no domínio do tempo e da frequência foram realizadas pelo programa CardioSeries v2.4 (Daniel Penteado Martins Dias, Ribeirão Preto, Brasil), series temporais batimento-a-batimento foram geradas através do programa LabChart 7.0 (ADInstruments, Bella Vista, Australia).

As séries temporais, batimento-a-batimento, com valores de IP e PAS foram reamostradas em 10 Hz (1 valor a cada 100 ms) por interpolação cúbica do tipo spline, para regularização do intervalo de tempo entre os batimentos. As séries com valores interpolados de IP e PAS foram divididas em segmentos com 512 valores cada, com sobreposição de 50% (Protocolo de Welch).

Os valores interpolados de IP, os segmentos considerados adequados foram integrados em bandas de baixa frequência (LF: 0,20 – 0,75 Hz) e alta frequência (HF: 0,75 – 3,00 Hz), para os valores de PAS, os segmentos considerados adequados foram integrados em bandas de muito baixa frequência (VLF: 0,02 – 0,2 Hz) e baixa frequência (LF: 0,2 – 0,6 Hz), e os resultados foram expressos em unidades absolutas ( $\text{ms}^2$  ou  $\text{mmHg}^2$ ) e normalizadas (nu). Os valores normalizados foram obtidos por meio do cálculo da potência relativa das bandas LF e HF levando em consideração a potência total do espectro menos a potência da banda de muito baixa frequência (VLF: < 0,20 Hz). Para avaliar o balanço simpátovagal cardíaco, calculou-se a razão entre a potência das bandas LF e HF (LF/HF) do espectro do IP.

### 3.9 ANÁLISE DA SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO – MÉTODO DA SEQUÊNCIA

Séries temporais batimento-a-batimento de valores de IP e PAS foram analisadas através do programa Cardioseries v2.4 e a sensibilidade do barorreflexo foi avaliada através do método da sequência. A série temporal foi escaneada na procura de sequências de pelo menos três aumentos progressivos na PAS acompanhado de reduções progressivas no IP ou três reduções progressivas da PAS acompanhada de aumentos progressivos no IP. Para detectar as alterações na PAS e IP, os limiares de 0 mmHg e 0 ms foram utilizados, respectivamente. As sequências que apresentaram o coeficiente de correlação ( $r$ ) entre PAS e IP maior ou igual a 0,8 foram consideradas sequências barorreflexas. A sensibilidade do barorreflexo foi determinada pelo *slope* da regressão linear das linhas entre PAS e IP de cada sequência barorreflexa. O índice de efetividade do barorreflexo (*baroreflex effectiveness index*, BEI) foi calculado dividindo o número de sequências barorreflexas pelo número de rampas da PAS (sequências de no mínimo três aumentos ou reduções progressivas).

### 3.10 BLOQUEIO AUTONÔMICO SELETIVO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

Para avaliar o tônus simpático, parassimpático e a frequência cardíaca intrínseca no tratamento com ESC, os animais receberam administração intravenosa do antagonista de receptor muscarínico, atropina (1 mg/kg, iv) (Sigma-Aldrich) (DOS REIS et al., 2014), e 15min após, do antagonista seletivo para receptores adrenérgicos  $\beta_1$ , atenolol (1 mg/kg, iv) (Sigma-Aldrich) (RESSTEL; CORRÊA, 2008), ou vice-versa, com a finalidade de realizar o bloqueio autonômico e avaliar a frequência cardíaca intrínseca. A ordem da escolha da droga para o início do bloqueio foi randomizada.

### 3.11 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO

O barorreflexo foi testado por infusão intravenosa do agonista seletivo para receptor adrenérgico  $\alpha_1$ , fenilefrina (50  $\mu\text{g/ml/kg}$ , iv; 0,34ml/min) (Sigma-Aldrich) ou do doador de óxido nítrico, nitroprussiato de sódio (50  $\mu\text{g/ml/kg}$ , iv; 0,8ml/min) (Sigma-Aldrich) usando uma bomba de infusão (Insight, Brasil)(HEAD; MCCARTY, 1987; RESSTEL; CORRÊA, 2006). As

infusões de fenilefrina e nitroprussiato de sódio foram randomizadas e finalizadas após 50-60s com a obtenção de consideráveis respostas pressoras ou depressoras, respectivamente.

### *3.12 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO BARORREFLEXO*

As curvas de barorreflexo foram construídas combinando as variações de pressão arterial média com as respostas de frequência cardíaca. Foram emparelhados os valores das variações da pressão arterial média ( $\Delta$ PAM) e da frequência cardíaca ( $\Delta$ FC) e foram plotados para criar curvas sigmóides para cada rato, que foram utilizados para determinar a atividade do barorreflexo (HEAD; MCCARTY, 1987). A análise do barorreflexo usando curvas sigmóides foi caracterizada por quatro parâmetros: (i) P1 (bpm) menor platô da frequência cardíaca e P2 (bpm) maior platô da frequência cardíaca, (ii) faixa de frequência cardíaca (bpm), ou seja, diferença entre os valores do platô superior com o inferior, (iii) a pressão arterial média em 50% da gama de frequência cardíaca (BP<sub>50</sub>, mmHg), e (iv) o ganho (G, bpm/mmHg), que é o declive médio de entre as curvas +1 e -1 das derivações padrão de BP<sub>50</sub>. Para analisar as respostas de bradicardia e taquicardia separadamente, foi combinado os valores de frequência cardíaca dos períodos de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 mmHg da pressão arterial média e as variações foram calculadas. Os valores foram traçados para criar curvas de regressão linear para cada rato, e as suas inclinações foram comparadas para verificar modificações no ganho do barorreflexo (CRESTANI et al., 2011).

### *3.13 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA AUTÔNOMICA NA ATIVIDADE DO BARORREFLEXO*

Para avaliar a participação do sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático sobre o parâmetro P1 da curva sigmoide do barorreflexo dos animais ESC depressivo-símile, foram realizadas administrações do antagonista de receptor muscarínico, atropina (1 mg/kg, iv) (Sigma-Aldrich) (DOS REIS et al., 2014) ou do antagonista seletivo para receptores adrenérgicos  $\beta$ 1, atenolol (1 mg/kg, iv) (Sigma-Aldrich) (RESSTEL; CORRÊA, 2008), 15 minutos antes do início do teste do barorreflexo.

### *3.14 CURVA DOSE-RESPOSTA PARA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA*

Para avaliação hemodinâmica, aumentos e reduções na pressão arterial média causados pela infusão de fenilefrina (50 µg/ml/kg, iv; 0,34ml/min) (Sigma-Aldrich) e nitroprussiato de sódio (50 µg/ml/kg, iv; 0,8ml/min) (Sigma-Aldrich), respectivamente, foram plotados gerando uma curva dose-resposta. Valores de pressão arterial média foram amostrados a cada 5 segundos cumulativamente desde o início da infusão. O efeito máximo (Emáx) e a dose necessária para gerar 50% da Emáx (ED<sub>50</sub>) de cada agente vasoativo foram comparadas em todos os grupos experimentais (CRESTANI et al., 2011).

### *3.15 ESTRESSE AGUDO DE RESTRIÇÃO*

Após o período mínimo de 20 min de registro da pressão arterial e frequência cardíaca basais, o animal foi colocado em um tubo de restrição de plástico cilíndrico (diâmetro 6.5 cm e comprimento de 15 cm), ventilado por furos. A restrição durou 60 minutos e a pressão arterial do animal foi registrada durante todo o período. Ao fim da restrição, os animais voltaram para suas gaiolas. Cada animal foi submetido a apenas uma sessão de restrição (BUSNARDO et al., 2010; CRESTANI et al., 2010).

### *3.16 DROGAS*

Oxalato de escitalopram (ISRS; Pharma Nostra, Rio de Janeiro Brasil), tribromoetanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), metil brometo de atropina (antagonista não seletivo de receptor muscarínico; Sigma-Aldrich), tiopental sódio (Tiopentax®, Cristália, Itapíra, SP, Brasil), atenolol (antagonista seletivo para receptor β<sub>1</sub>-adrenérgico; Sigma-Aldrich), hidrocloreto de fenilefrina (antagonista seletivo para receptor α<sub>1</sub>-adrenérgico Sigma-Aldrich), nitroprussiato de sódio desidratado (doador de óxido nítrico; Sigma-Aldrich) foram dissolvidos em salina (0,9%). Flunixinina meglumina (Banamine®, Schering Plough, Santo Amaro, Brasil) foi utilizada como analgésico.

### *3.17 EUTANÁSIA*

No final de todos os protocolos experimentais os animais foram transferidos para outra sala e sofreram eutanásia através de decapitação pela guilhotina após anestesia com tiopental (50 mg/kg, ip, Cristália).

### 3.18 DESENHO EXPERIMENTAL

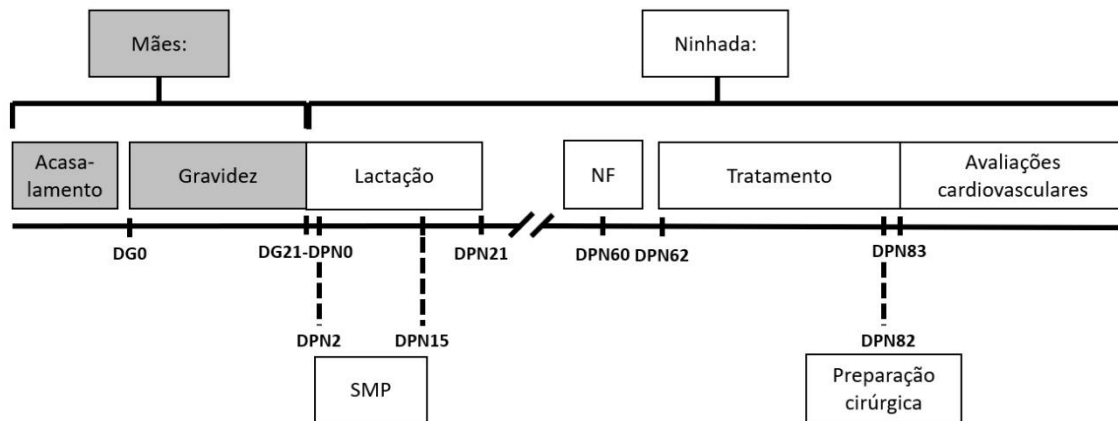


Figura 2 – Desenho Experimental de todos os protocolos realizados nas mães e filhotes organizados pelo tempo. DG= dia gestacional; DPN= dia pós-natal; SMP= separação materna precoce; NF= nado forçado.

### 3.19 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

A análise estatística foi realizada através do software Prism 6.0 (GraphPad Software, USA). A distribuição normal (teste Shapiro-Wilk) e homogeneidade (teste Levene's) das amostras foram cheçadas. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) e os testes que apresentaram o valor de P menor do que 0,05 foram considerados significantes. Para a análise dos parâmetros basais, análise espectral da variabilidade da FC e PAS, BEI e ganho no método da sequência, parâmetros das curvas lineares e não lineares do barorreflexo e os parâmetros  $Emáx$  e  $ED_{50}$  da resposta hemodinâmica foi utilizado o teste *t* de Student's não pareado. O bloqueio autonômico do barorreflexo, frequência cardíaca intrínseca, a curva hemodinâmica e a resposta cardiovascular do estresse agudo por restrição foram analisadas pelo teste ANOVA de duas vias, via seguido pelo pós-teste de Tukey.

## 4.0 RESULTADOS

### 4.1 EFEITOS DA SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE NO TESTE DO NADO FORÇADO

O protocolo de separação materna usado no presente trabalho (3 horas durante o período do DPN 2 ao DPN 15) aumentou o tempo de imobilidade nos animais quando comparado com o grupo não manuseado (NM=  $77,47 \pm 5,235$  s, n= 62; SM=  $109,1 \pm 3,664$  s, n= 157;  $p < 0,0001$ ;  $t = 4,728$ ). O comportamento depressivo-símile foi observado em 80,2% (n=126) dos animais que passaram pela separação materna.

### 4.2 EFEITOS DA SEPARAÇÃO MATERNA PRECOCE SOBRE OS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES EM RATOS ADULTOS

A separação materna precoce não levou a alterações nos parâmetros basais em relação aos animais não manuseados (PAM: SMP=  $101,7 \pm 2,83$  mmHg, n = 9; NM=  $106,0 \pm 3,29$  mmHg, n = 9;  $p = 0,3319$ ;  $t = 1,001$ ) (FC: SMP=  $357,0 \pm 10,54$  bpm, n= 9; NM=  $358,2 \pm 11,52$  bpm, n=9;  $p = 0,9419$ ;  $t = 0,074$ ) (PAD: SMP=  $85,33 \pm 2,64$  mmHg, n= 9; NM=  $92,28 \pm 4,76$  mmHg, n=9;  $p = 0,2201$ ;  $t = 1,276$ ) (PAS: SMP=  $121,5 \pm 4,68$  mmHg, n= 9; NM=  $125,9 \pm 4,27$  mmHg, n= 9;  $p = 0,4915$ ;  $t = 0,704$ ).

A administração endovenosa de atenolol e atropina em ratos causou redução e aumento da FC quando comparada com a basal no o grupo NM; no entanto o grupo SMP não apresentou alterações diferentes do grupo NM após a administração das drogas vasoativas (bloqueio autonômico:  $p < 0,0001$ ,  $F_{(2, 44)} = 15,55$ ; tratamento:  $p = 0,0928$ ,  $F_{(1, 44)} = 2,952$ ; interação:  $p = 0,4529$ ,  $F_{(2, 44)} = 0,8066$ ; Basal:CTL vs. Aten:CTL; Atrop:CTL vs. Aten:CTL). Após o bloqueio farmacológico autonômico cardíaco, a frequência cardíaca intrínseca (FCI) foi avaliada. A SMP não alterou a FCI em ratos na vida adulta (bloqueio autonômico:  $p = 0,3806$ ,  $F_{(1, 32)} = 0,7906$ ; tratamento:  $p = 0,3933$ ,  $F_{(1, 32)} = 0,7486$ ; interação:  $p = 0,6553$ ,  $F_{(1, 32)} = 0,2030$ ).

Em relação à atividade do barorreflexo, a separação materna não alterou o slope taquicárdico (slope NM=  $-3,686 \pm 0,4229$ , n=7; slope SMP:  $-2,694 \pm 0,4143$ , n=7;  $p = 0,1197$ ;  $t = 1,676$ , Figura 3), o bradicárdico (slope NM:  $-3,810 \pm 0,3788$ , n=7; slope SMP:  $-4,208 \pm 0,4435$ ;  $p = 0,5080$ ;  $t = 0,6824$ ; Figura 3 - B) e os parâmetros da curva sigmóide (Ganho: NM: -

1,48 ± 0,25 bpm/mmHg, n= 7; SMP: -1,38 ± 0,27 bpm/mmHg, n= 7; p= 0,7799; t= 0,286; P1: NM: -103,3 ± 11,44 bpm, n= 7; SMP: -97,36 ± 6,54 bpm, n=7; p= 0,6593; t= 0,452; P2: NM: 131,2 ± 7,09 bpm, n= 7; SMP: 122,9 ± 8,15 bpm, n= 7; p= 0,4571; t= 0,768; Range FC: NM: 234,5 ± 14 bpm, n= 7; SMP: 220,2 ± 8,68 bpm, n= 7; p= 0,2341; t= 0,865; BP<sub>50</sub>: NM: 9,354 ± 6,05 mmHg, n= 7; SMP: 16,19 ± 2,71 mmHg, n= 7; p= 0,3222; t= 1,032) quando comparados com os animais NM.

Os ratos depressivo-símile apresentaram uma maior resposta ao efeito contrátil da fenilefrina no músculo vascular (curva PHE: Interação: p= 0,4087,  $F_{(10, 165)} = 1,044$ ; Concentração: p= < 0,0001,  $F_{(10, 165)} = 33,35$ ; Tratamento: p= < 0,0001,  $F_{(1, 165)} = 21,89$ ; n= SMP: 9, M: 8), maior Emáx (SMP: 50,36 ± 2,997 mmHg, n= 9; M: 39,51 ± 3,328 mmHg, n= 8; p= 0,0281; t= 2,430) e redução da EC<sub>50</sub> (SMP: 0,6203 ± 0,03005 µg/kg, n=97; NM: 0,7320 ± 0,03519 µg/kg, n= 8; p= 0,0282; t= 2,429) em relação aos animais NM (Fig. 4 - A), sem diferença na resposta hemodinâmica à infusão de NPS (Curva: Interação: p= 0,9574,  $F_{(10, 165)} = 0,3716$ ; Concentração: p= < 0,0001,  $F_{(10, 165)} = 80,70$ ; Tratamento: p= 0,7928,  $F_{(1, 165)} = 0,06920$ )(Emáx: NM: -47,08 ± 2,554 mmHg, n= 8; SMP: -48,03 ± 3,406 mmHg, n= 9; p= 0,8300; t= 0,2185) (EC<sub>50</sub>: : NM: 0,9768 ± 0,0271 mmHg, n= 8; SMP: 0,9728 ± 0,0349 mmHg, n= 9; p= 0,9305; t= 0,08873) (Fig. 4 - B).

No tocante ao estresse de restrição agudo, a resposta pressora foi maior durante o estresse de restrição agudo no grupo SMP quando comparado ao grupo NM (resposta pressora: tempo: PAM: p= < 0,0001,  $F_{(15, 240)} = 4,091$ ; tratamento: PAM: p= 0,0287,  $F_{(1, 16)} = 5,781$ ; interação: PAM: p= 0,1951,  $F_{(15, 240)} = 1,312$ ; n= SMP: 9, M: 8)(Fig. 5 - A). Não foi observada alteração na resposta taquicárdica (resposta taquicárdica: tempo: FC: p= < 0,0001,  $F_{(15, 240)} = 9,684$ ; tratamento: FC: p= 0,8543,  $F_{(1, 16)} = 0,03482$ – interação: FC: p= 0,1927,  $F_{(15, 240)} = 1,316$ ; n= NM: 9, SMP: 9)(Fig. 5 - B).

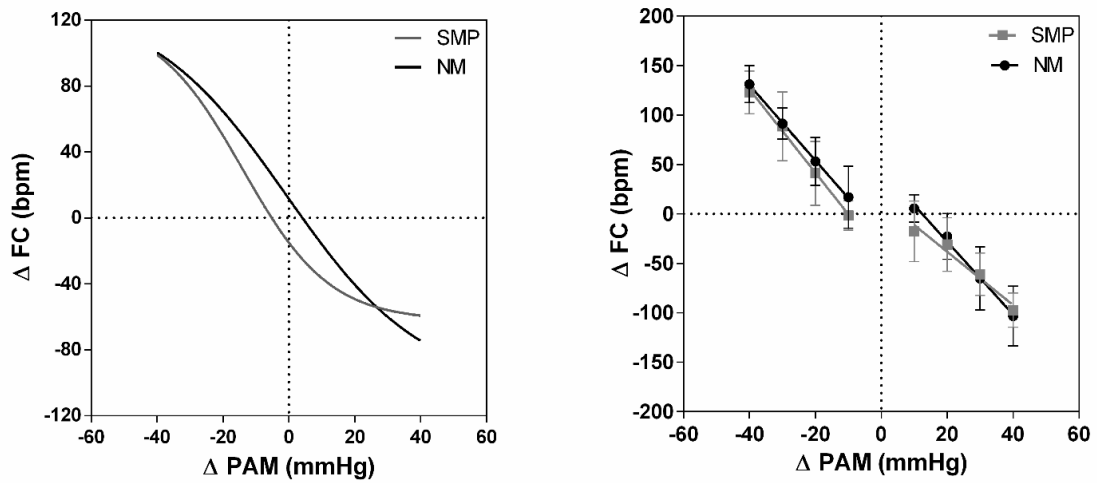


Figura 3 – Curvas sigmóides e regressões lineares do barorreflexo dos grupos SMP e NM. (A) Curva sigmoide barorreflexa correlacionando variações de pressão arterial ( $\Delta PAM$ ) e variações da resposta da FC ( $\Delta FC$ ) do grupo não manuseado (NM) ( $r^2= 0,8105$ ; linha preta) ou separação materna precoce (SMP) ( $r^2= 0,7896$ , linha cinza). Os símbolos nas curvas representam os valores de  $BP_{50}$ . (B) Regressão linear das curvas barorreflexa correlacionando  $\Delta PAM$  e resposta  $\Delta FC$  do grupo NM (círculos pretos) e SMP (círculos cinzas). Correlação entre os valores  $r^2$  das curvas bradicárdicas foram de 0,79 e 0,78 para o grupo NM e SMP, respectivamente, correlação entre os valores  $r^2$  das curvas taquicárdicas foram de 0,74 e 0,62 para o grupo NM e SMP, respectivamente.

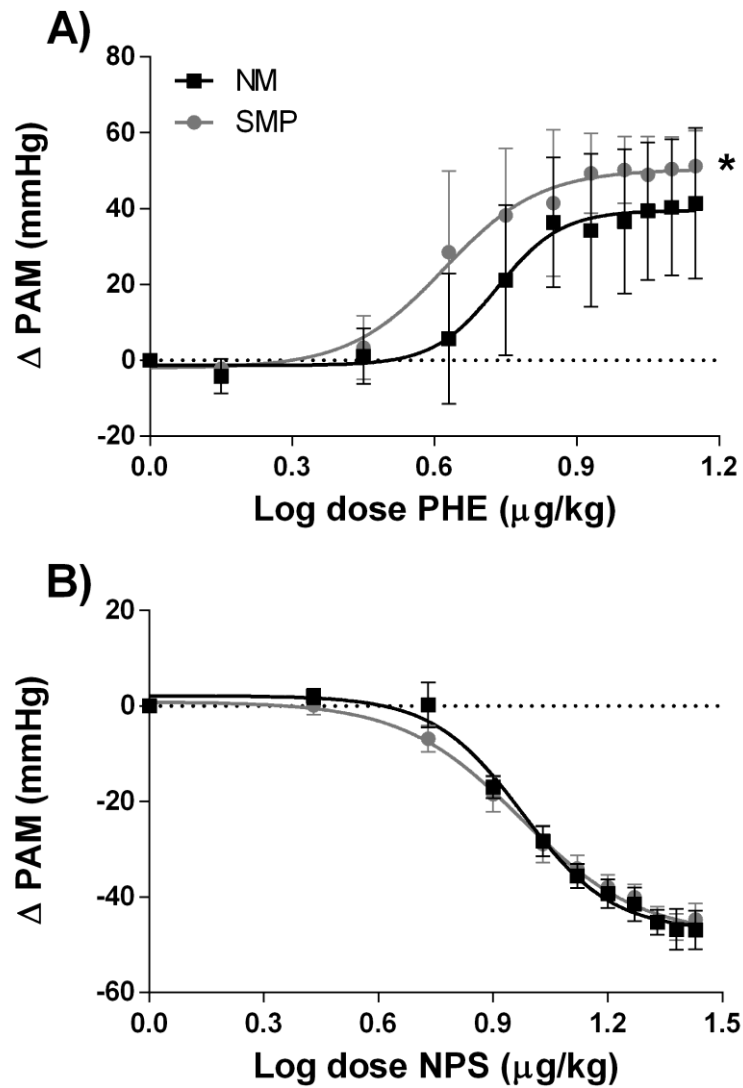


Figura 4 – Mudanças na pressão arterial ( $\Delta$ PAM) causadas pelo aumento na concentração de fenilefrina (PHE; painel A) ou nitroprussiato de sódio (NPS, painel B) nos grupos não manuseados (NM) (quadrados e linhas pretas) e separação materna precoce (SMP) (quadrados e linhas cinzas).

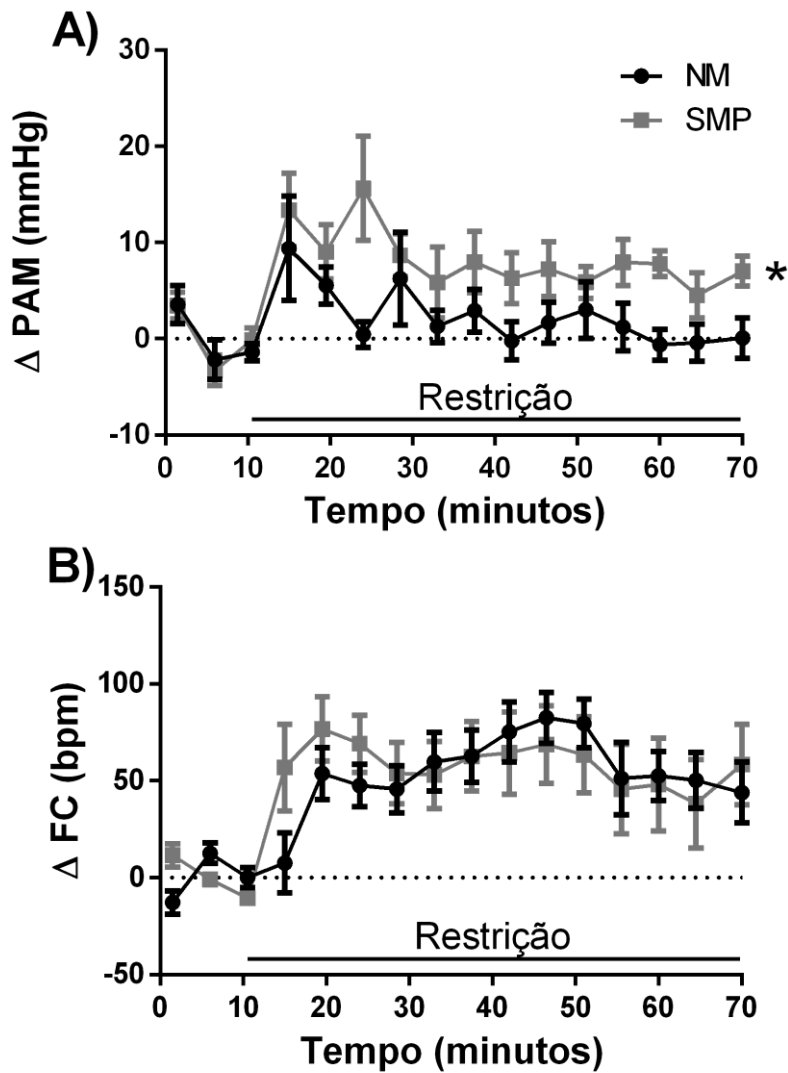


Figura 5 – Análise temporal das variações da PAM ( $\Delta$ PAM, painel A) e FC ( $\Delta$ FC, painel B) durante 1 hora de estresse de restrição no grupo não manuseado (NM) (linha preta) e separação materna precoce (SMP) (linhas cinza) de animais depressivo-símile. Círculos representam média e barras do EPM.

#### 4.3 EFEITO DO TRATAMENTO COM ESC SOBRE OS PARÂMETROS CARDIOVASCULARES BASAIS DE RATOS DEPRESSIVOS-SÍMILE

O tratamento com ESC durante 21 dias não alterou os parâmetros cardiovasculares basais como PAM, FC, PAS e PAD nos ratos depressivo-símile quando comparado com os animais tratados com veículo (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros cardiovasculares basais do grupo CTL (n = 38) e ESC (n = 45) em ratos depressivo-símile.

Parâmetros	CTL	ESC	p=	t=
PAM (mmHg)	104,3 ± 1,24	106,0 ± 1.01	0,2958	1,052
FC (bpm)	350,4 ± 3,77	345,9 ± 4,05	0,4225	0,806
PAD (mmHg)	86,15 ± 1,41	87,40 ± 1,19	0,4973	0,682
PAS (mmHg)	127,7 ± 1,55	129,4 ± 1,34	0,4204	0,810

Valores: média ± EPM. CTL= grupo controle (veículo); ESC: grupo escitalopram; PAM= pressão arterial média; FC= frequência cardíaca; PAD= pressão arterial diastólica; PAS= pressão arterial sistólica. CTL vs ESC, teste t de Student's não pareado, p>0,05.

#### 4.4 EFEITO DO TRATAMENTO COM ESC NA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E DA PRESSÃO SISTÓLICA DE RATOS DEPRESSIVOS-SÍMILE

A análise espectral da VFC não mostrou alterações causadas pelo tratamento com ESC durante 21 dias quando comparado com os animais CTL (Tabela 2). No entanto, a análise espectral da VPS, mostrou uma redução estatisticamente significativa no componente de muito baixa frequência (VLF) dos animais depressivo-símiles que receberam o tratamento com ESC (Tabela 3).

Tabela 2 – Componentes obtidos através da análise no domínio do tempo e da frequência na variabilidade da frequência cardíaca em ratos depressivo-símile do grupo controle (CTL) e escitalopram (ESC).

Componente da VFC	CTL	ESC	p=	t=
SD (ms)	7,679 ± 0,54 (15)	9,053 ± 0,71 (15)	0,1347	1,540
RMSSD (ms)	9,829 ± 0,68 (15)	10,72 ± 0,94 (15)	0,4499	0,766
LF abs (ms <sup>2</sup> )	4,221 ± 0,73 (14)	4,754 ± 0,69 (14)	0,6013	0,529
HF abs (ms <sup>2</sup> )	25,55 ± 3,73 (15)	27,65 ± 4,11 (14)	0,7073	0,379
LF (nu)	14,50 ± 6,11 (14)	13,93 ± 5,25 (14)	0,7926	0,266
HF (nu)	85,50 ± 1,63 (14)	86,07 ± 1,40 (14)	0,7926	0,266
LF/HF	0,18 ± 0,026 (14)	0,21 ± 0,053 (14)	0,6864	0,408

Valores: média ± EPM (n). SD= desvio padrão da media; RMSSD= raiz quadrada das medias de sucessivas diferenças; LF abs= banda do espectro de baixa frequência em unidades absolutas; HF abs= banda do espectro de alta frequência em unidades absolutas; LF (nu)= banda do espectro de baixa frequência em unidades normalizadas; HF (nu)= banda do espectro de alta frequência em unidades normalizadas; LF/HF= relação entre o poder das bandas LF e HF. CTL vs ESC, teste t de Student's não pareado, p>0,05.

Tabela 3 - Componentes obtidos através da análise no domínio do tempo e da frequência na variabilidade da pressão sistólica em ratos depressivo-símile do grupo controle (CTL) e escitalopram (ESC).

Componentes da VPS	CTL	ESC	p=	t=
SD (mmHg)	4,52 ± 0,374 (15)	4,11 ± 0,34 (15)	0,4212	0,816
VLF abs (mmHg <sup>2</sup> )	6,64 ± 0,88 (13)	3,85 ± 0,41(12)	0,0101*	2,803
LF abs (mmHg <sup>2</sup> )	6,66 ± 1,16 (14)	4,81 ± 0,44 (13)	0,1611	1,444

Valores: média ± EPM (n). SD= desvio padrão da média; VLF abs= banda do espectro de muito baixa frequência em unidades absolutas; LF abs= banda do espectro de baixa frequência em unidades absolutas. \*= p < 0,05; CTL vs ESC, teste t de Student's não pareado.

#### *4.5 EFEITO DO TRATAMENTO COM ESC SOBRE A SENSIBILIDADE DO BARORREFLEXO AVALIADO PELO MÉTODO DA SEQUÊNCIA DE RATOS DEPRESSIVOS-SÍMILE*

O tratamento com ESC não levou a alterações no BEI (CTL:  $0,2887 \pm 0,0165$ , n= 15; ESC:  $0,2762 \pm 0,01396$ , n=14; p= 0,5727; t=0,5710) e Ganho (CTL:  $3,467 \pm 0,2849$  ms/mmHg, n= 15; ESC:  $4,045 \pm 0,3494$  ms/mmHg, n=14; p= 0,2080; t=1,290) das sequências barorreflexas em relação ao grupo CTL.

#### *4.6 EFEITO DO BLOQUEIO AUTONÔMICO CARDÍACO EM ANIMAIS DEPRESSIVOS-SÍMILE*

A administração endovenosa de atenolol e atropina em animais depressivo-símile causou redução e aumento da FC quando comparada com a basal, respectivamente, em ambos os grupos CTL e ESC, sem apresentar diferença estatística entre os mesmos. (Basal: CTL:  $350,4 \pm 3,769$ , n= 38; ESC:  $345,9 \pm 4,049$ , n= 45; Atenolol: CTL:  $306,2 \pm 4,853$ , n= 7; ESC:  $306,1 \pm 4,806$ , n= 10; Atropina: CTL:  $411,7 \pm 8,561$ , n= 8; ESC:  $398,8 \pm 16,22$ , n= 7; p= < 0,0001;  $F_{(5, 109)} = 24,81$ ) (Figura 6).

Após o bloqueio farmacológico autonômico cardíaco, a frequência cardíaca intrínseca (FCI) foi avaliada. O tratamento com ESC causou uma redução da FCI em relação ao grupo CTL (Basal: CTL:  $350,4 \pm 3,769$ , n= 38; ESC:  $345,9 \pm 4,049$ , n= 45; FCI: CTL:  $341,7 \pm 6,030$ , n= 13; ESC:  $316,5 \pm 4,926$ , n= 15; p= 0,0002;  $F_{(3, 107)} = 7,338$ ) (Figura 7).

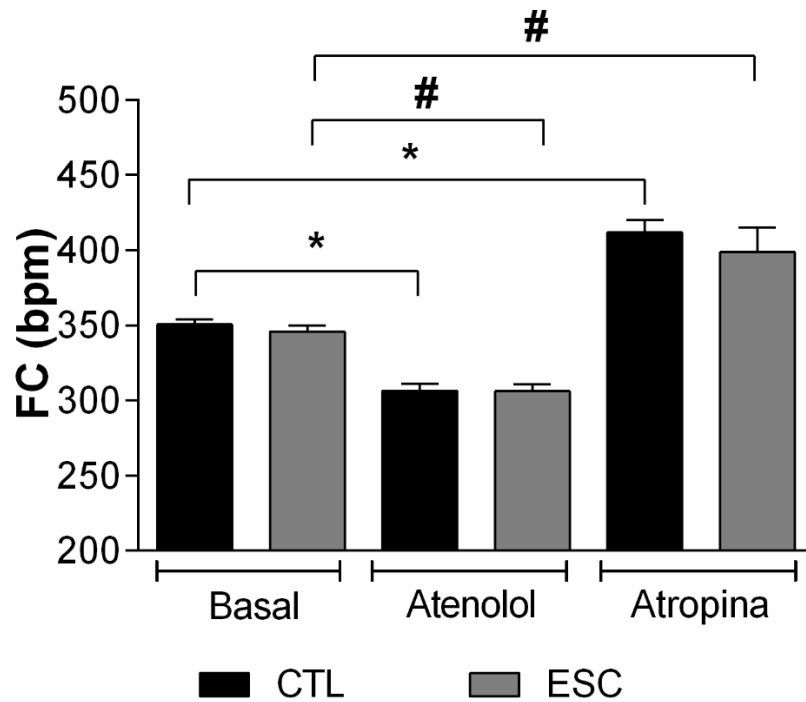


Figura 6 – Efeitos do pré-tratamento endovenoso com atenolol ou atropina sobre a frequência cardíaca (FC) nos grupos controle (CTL) e escitalopram (ESC). \*  $p < 0.05$  vs CTL basal, #  $p < 0.05$  vs ESC basal, ANOVA uma via, teste *post hoc* de Tukey.

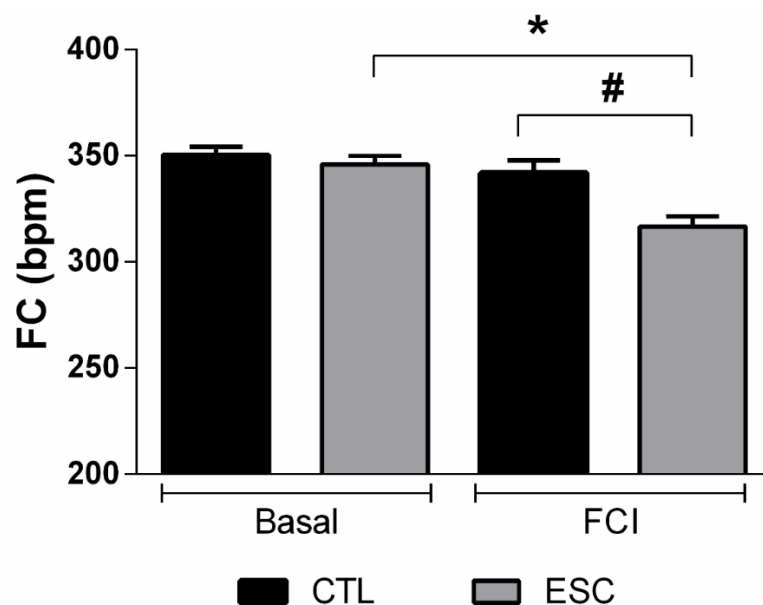


Figura 7 – Efeitos do tratamento com ESC durante 21 dias sobre a frequência cardíaca intrínseca (FCI). CTL= controle, ESC= escitalopram; \*  $p < 0.05$  vs ESC basal, #  $p < 0.05$  vs FCI controle, ANOVA uma via, teste *post hoc* de Tukey.

#### *4.7 EFEITOS DO TRATAMENTO COM ESC SOBRE O CONTROLE BARORREFLEXO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE RATOS DEPRESSIVOS-SÍMILE*

O tratamento com ESC aumentou o valor do platô inferior, parâmetro P1 da curva sigmóide da atividade do barorreflexo. Não foi observada diferença estatística nos demais parâmetros derivados da regressão não linear da curva barorreflexa (Tabela 4 – Figura 8 – A).

Efeito do aumento ou redução da pressão arterial sobre a frequência cardíaca em ambos os grupos foram analisados separadamente pela regressão linear (Figura 8 – B). O tratamento com ESC não alterou o slope taquicárdico (slope CTL:  $-4,134 \pm 0,6317$ ,  $n=8$ ; slope ESC:  $-4,371 \pm 0,4908$ ,  $n=10$ ;  $p= 0,7671$ ;  $t=0,3012$ , Fig. 8 - B) e o bradicárdico (slope CTL:  $-2,860 \pm 0,3852$ ,  $n=8$ ; slope ESC:  $-3,356 \pm 0,4106$ ;  $p= 0,4008$ ;  $t=0,8631$ ; Fig. 8 - B) nos animais depressivo-símile quando comparado com o grupo CTL.

Tabela 4 – Parâmetros derivados da curva sigmoide do barorreflexo dos grupos controle (CTL) (n = 8) e escitalopram (ESC) (n = 10) em ratos depressivo-símile.

Parâmetros da curva sigmoide	CTL	ESC	p=	t=
Ganho (bpm/mmHg)	-2,43 ± 0,26	-2,24 ± 0,24	0,5989	0,537
P1 (bpm)	-97,81 ± 8,3	-137,1 ± 12,31*	0,0236	2,502
P2 (bpm)	152,4 ± 16,96	133,3 ± 11,93	0,3573	0,948
Range FC (bpm)	250,2 ± 11,82	270,4 ± 11,08	0,2341	1,236
BP <sub>50</sub> (mmHg)	6,64 ± 4,28	7,67 ± 4,44	0,8718	0,164

Valores: média ± EPM. P1= platô inferior; P2= platô superior; Range FC= diferença entre os valores do platô superior com o inferior; BP<sub>50</sub>= pressão arterial média capaz de gerar 50% do range FC. \*= p < 0,05; CTL vs ESC, teste t de Student's não pareado.

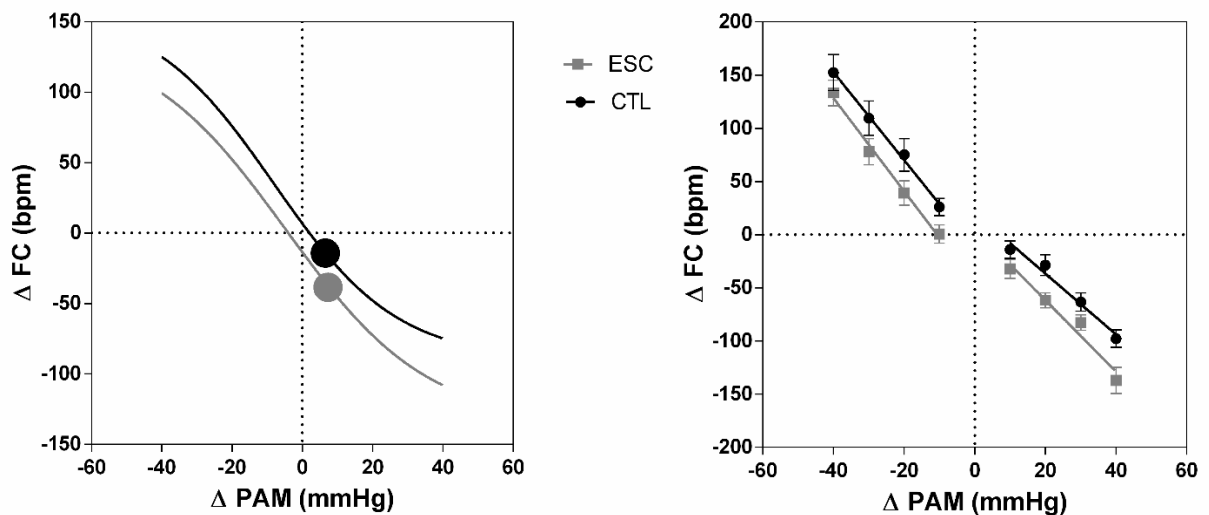


Figura 8 – Curvas sigmoides e regressões lineares do barorreflexo dos grupos CTL e ESC em ratos depressivo-símile. (A) Curva sigmoide barorreflexa correlacionando variações de pressão arterial ( $\Delta$ PAM) e variações da resposta da FC ( $\Delta$ FC) do grupo controle (CTL) ( $r^2= 0,811$ ; linha preta) ou escitalopram (ESC) ( $r^2= 0,813$ , linha cinza). Os símbolos nas curvas representam os valores de BP<sub>50</sub>. (B) Regressão linear das curvas barorreflexa correlacionando  $\Delta$ PAM e resposta  $\Delta$ FC do grupo CTL (círculos pretos) e ESC (círculos cinzas). Correlação entre os valores  $r^2$  das curvas bradicárdicas foram de 0,65 e 0,64 para o grupo

CTL e ESC, respectivamente, correlação entre os valores  $r^2$  das curvas taquicárdicas foram de 0,59 e 0,69 para o grupo CTL e ESC, respectivamente.

#### 4.8 EFEITOS DO BLOQUEIO AUTÔNOMICO SOBRE O PARÂMETRO P1 DA CURVA SIGMÓIDE DO BARORREFLEXO DE RATOS DEPRESSIVOS-SÍMILE

O pré-tratamento sistêmico com atropina reduziu o valor do parâmetro P1, enquanto que o pré-tratamento com atenolol não alterou esse parâmetro (ESC:  $-144,8 \pm 32,05$  bpm,  $n= 10$ ; ESC + ATROP:  $-61,38 \pm 27,59$  bpm,  $n= 4$ ; ESC + ATEN:  $-187,0 \pm 10,94$  bpm,  $n= 4$ ;  $p= 0,0008$ ) (Figura 9).

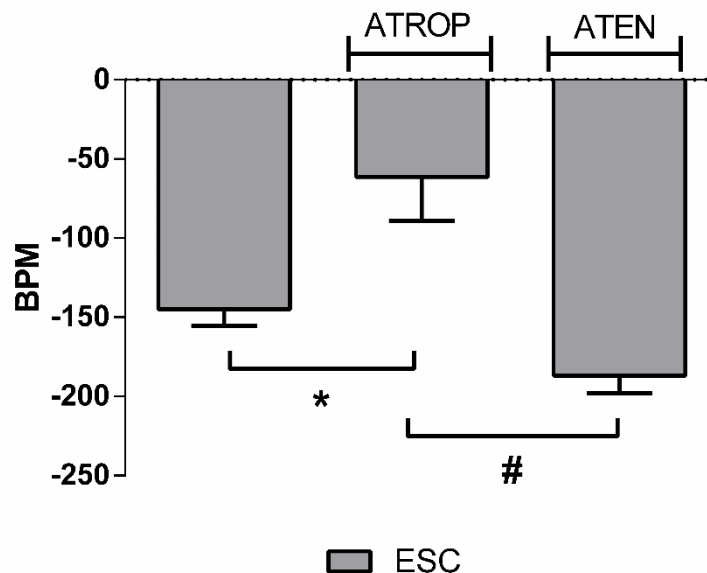


Figura 9 – Valos do parâmetro P1 da curva sigmoide do grupo ESC em ratos depressivo-símile, antes e após o bloqueio autonômico cardíaco simpático ou parassimpático. ESC= escitalopram, ATROP= atropina, ATEN= atenolol; \*= $p < 0,05$  ESC vs ESC + ATROP; #= $p < 0,05$  ESC + ATROP vs ESC + ATEN, ANOVA uma via, teste *post hoc* de Tukey.

#### 4.9 EFEITOS DO TRATAMENTO COM ESC NA RESPOSTA HEMODINÂMICA DE RATOS DEPRESSIVOS-SÍMILE

A administração de fenilefrina causou uma resposta pressora dose-dependente em ambos os grupos experimentais, sem apresentar diferença estatística entre os grupos CTL e ESC (Curva: Interação:  $p= 0,976$ ,  $F_{(10, 143)} = 0,316$ ; Concentração:  $p= < 0,0001$ ,  $F_{(10, 143)} = 124,7$ ;

Tratamento:  $p=0,062$ ,  $F_{(1, 143)} = 3,531$ )(Emáx: CTL:  $51,03 \pm 2,85$  mmHg,  $n= 7$ ; ESC:  $46,83 \pm 5,79$  mmHg,  $n= 8$ ;  $p= 0,5453$ ;  $t= 0,6210$ ) ( $EC_{50}$ : CTL:  $0,835 \pm 0,008706$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $n= 7$ ; ESC:  $0,8433 \pm 0,008675$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $n= 8$ ;  $p= 0,5385$ ;  $t= 0,6318$ ) (Figura 10 - A).

De maneira similar, não foi observada diferença estatística entre os grupos CTL e ESC na resposta depressora dose-dependente causada pela administração de nitroprussiato de sódio (Curva: Interação:  $p= 0,98$ ,  $F_{(10, 143)} = 0,3018$ ; Concentração:  $P= < 0,0001$ ,  $F_{(10, 143)} = 54,80$ ; Tratamento:  $p= 0,442$ ,  $F_{(1, 143)} = 0,5951$ ) (Emas: CTL:  $-37,21 \pm 2,847$  mmHg,  $n= 7$ ; ESC:  $-44,37 \pm 5,793$  mmHg,  $n= 8$ ;  $p= 0,3090$ ;  $t= 1,059$ )( $EC_{50}$ : CTL:  $1,157 \pm 0,02181$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $n= 7$ ; ESC:  $1,191 \pm 0,03812$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $n= 8$ ;  $p= 0,4701$ ;  $t= 0,7440$ ) (Figura 10 - B).

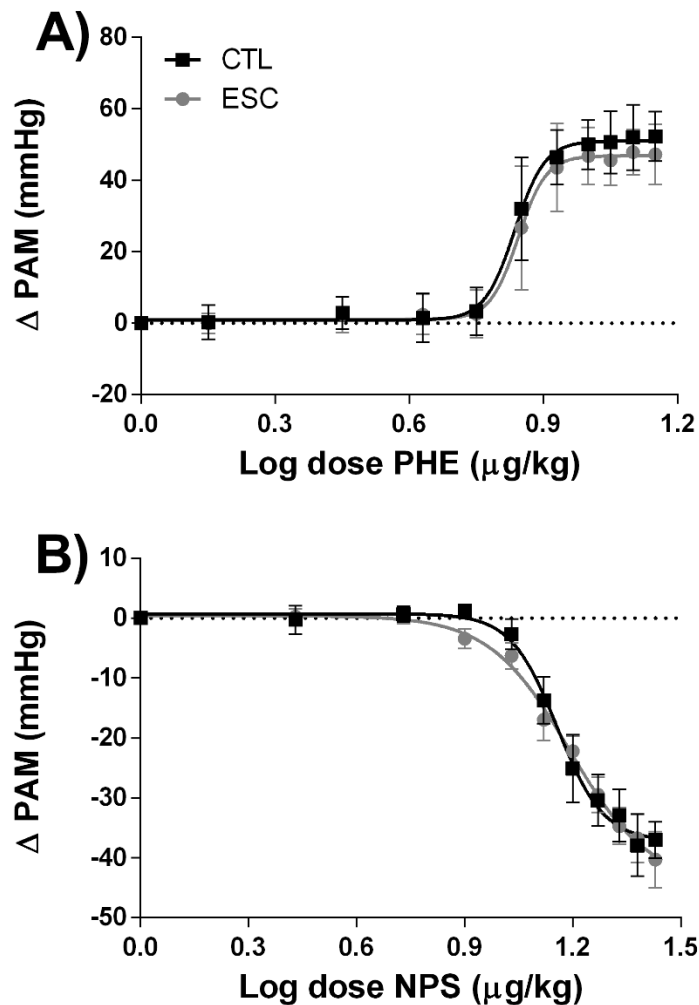


Figura 10 – Mudanças na pressão arterial ( $\Delta\text{PAM}$ ) causadas pelo aumento na concentração de fenilefrina (PHE; painel A) ou nitroprussiato de sódio (NPS, painel B) nos grupos controle (CTL) (quadrados e linhas pretas) e escitalopram (ESC) (quadrados e linhas cinzas).

#### 4.10 EFEITOS DO TRATAMENTO COM ESC NA RESPOSTA CARDIOVASCULAR DURANTE O ESTRESSE DE RESTRIÇÃO AGUDO EM RATOS DEPRESSIVOS-SÍMILE

O tratamento com ESC não alterou a resposta pressora (Tempo: PAM:  $p < 0,0001$ ,  $F_{(1,18)} = 5,684$ ; tratamento: PAM:  $p = 0,0661$ ,  $F_{(1,18)} = 3,829$  – interação: PAM:  $p = 0,7758$ ,  $F_{(1,18)} = 0,7081$ ;  $n = \text{CTL: } 9, \text{ESC: } 11$ ) (Figura 11 - A) e taquicárdica (Tempo: FC:  $p < 0,0001$ ,  $F_{(1,18)} = 8,113$ ; tratamento: FC:  $p = 0,4962$ ,  $F_{(1,18)} = 0,4825$  – interação: FC:  $p = 0,2495$ ,  $F_{(1,18)} = 1,229$ ;  $n = \text{CTL: } 9, \text{ESC: } 11$ ) (Figura 11 - B) observada nos ratos depressivo-símile durante o estresse de restrição agudo.

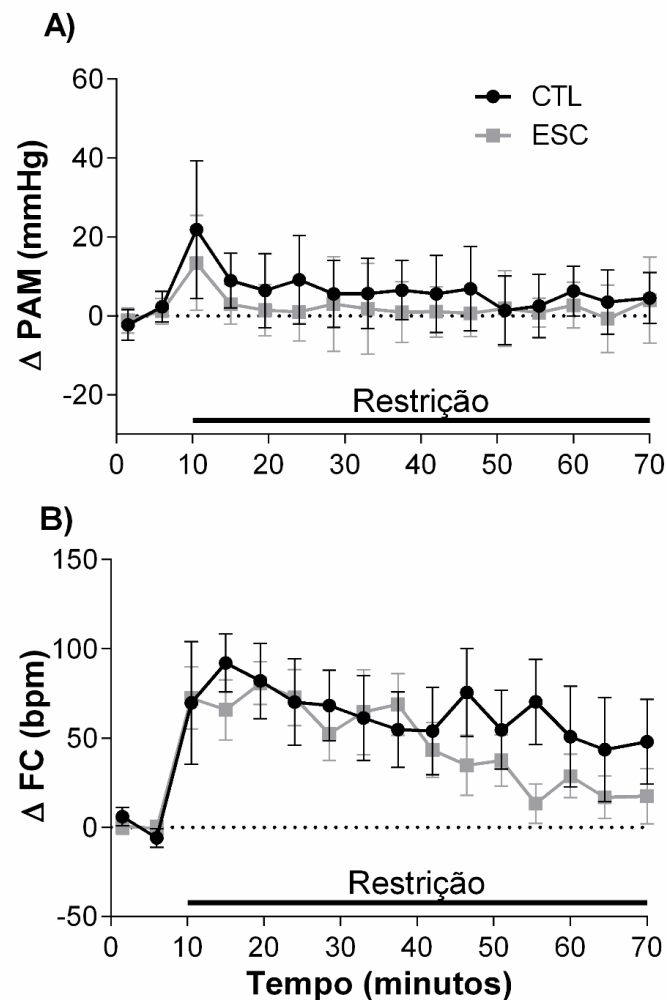


Figura 11 – Análise temporal das variações da PAM ( $\Delta\text{PAM}$ , painel A) e FC ( $\Delta\text{FC}$ , painel B) durante 1 hora de estresse de restrição no grupo controle (CTL) (linha preta) e escitalopram (ESC) (linhas cinza) de animais depressivo-símile. Círculos representam média e barras do EPM.

## 5.0 DISCUSSÃO

O modelo de SMP foi eficaz em induzir o estado depressivo-símile em ratos, observado pelo aumento no tempo de imobilidade no teste do nado forçado em relação ao grupo NM, corroborando com outros estudos que utilizaram o mesmo modelo de depressão em ratos (DANIELS et al., 2004; EL KHOURY et al., 2006; LEE et al., 2007; NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002); ainda, dados da literatura demonstraram que o tratamento com ESC foi eficaz em reverter esse estado depressivo-símile causado pela SMP (EL KHOURY et al., 2006).

A SMP induz alterações nas fases iniciais do desenvolvimento do rato levando à hiperatividade do eixo HPA, que permanece durante toda a vida do animal, (AISA et al., 2007; LADD et al., 2000, 2004; VETULANI, 2013), dessa maneira, aumentando as respostas geradas frente à eventos estressantes (LADD et al., 2005) que levam a alterações de genes de sistemas relacionados com o surgimento do comportamento depressivo-símile (MACRÍ; MASON; WÜRBEL, 2004; PARIANTE; LIGHTMAN, 2008; SÁNCHEZ; LADD; PLOTSKY, 2001), como o sistema serotoninérgico (GARDNER et al., 2005). A hiperatividade do eixo HPA gerada pela SMP também contribui para o surgimento de alterações cardiovasculares na vida adulta dos animais (JOKINEN; NORDSTRÖM, 2009; ROSMOND; BJÖRNTORP, 2000).

O protocolo de SMP utilizado no presente trabalho não interferiu nos parâmetros cardiovasculares basais, na modulação autonômica em situação de repouso e na avaliação da resposta barorreflexa. No entanto, foi capaz de levar a alteração na resposta hemodinâmica a drogas vasoativas, aumentando a resposta vascular frente a infusão de fenilefrina observado pelo aumento do parâmetro  $E_{max}$  e redução da  $EC_{50}$ , indicando uma facilitação da resposta contrátil causada pela estimulação dos receptores adrenérgicos  $\alpha_1$ .

Uma possível explicação para os efeitos observados com o protocolo da SMP é a hiperatividade do eixo HPA a qual leva a um aumento na concentração de corticosterona circulante (MARAIS et al., 2008; VEENEMA; NEUMANN, 2009) favorecendo a resposta contrátil à noradrenalina, através do aumento de número e afinidade de receptores, assim como na interferência da ação do segundo mensageiro (BENNETT; GARDINER, 1978;

GRUNFELD; ELOY, 1987; HAIGH; JONES, 1990; LIU; HAIGH; JONES, 1992; SCHÖMIG et al., 1976; WALKER, 2007; WALKER; WILLIAMS, 1992).

O presente estudo mostrou que o tratamento com ESC durante 21 dias em ratos Wistar adultos, que apresentaram o comportamento depressivo-símile após o protocolo de SMP, causou redução do componente VLF do domínio da frequência na análise espectral da VPS, redução da FCI, assim como aumento na resposta bradicárdica da atividade do barorreflexo devido à um aumento da modulação parassimpática; não foi observada nenhuma alteração nos demais parâmetros cardiovasculares analisados.

O tratamento com ESC não alterou os parâmetros cardiovasculares basais, como PAM, FC, PAS e PAD dos animais depressivo-símile, indicando uma boa segurança para pacientes com depressão associado a presença ou predisposição para DCV. Corroborando com o presente trabalho, em humanos depressivos, o tratamento com ESC não apresentou efeitos sobre PA e FC (AHMED et al., 2011). Nesse sentido, em ratos expostos ao modelo de depressão, estresse crônico moderado, o tratamento com fluoxetina também não alterou a PAM e mostrou efeitos protetores sobre a taquicardia de repouso causada pelo referido modelo de depressão (GRIPPO et al., 2006).

Estudo realizado em animais não depressivos evidenciou que o tratamento com ESC causou aumento da PAM concomitante com bradicardia associada à ativação parassimpática (VERÍSSIMO et al., 2018). Apesar do mecanismo da resposta hipertensiva ainda ser desconhecido, os autores sugerem a participação de fatores humorais nessa resposta (VERÍSSIMO et al 2018). Nesse sentido, a vasopressina seria um possível candidato já que a neurotransmissão serotoninérgica modula sua liberação (RAMAGE, 2001).

Uma possível explicação para as discrepâncias encontradas entre animais depressivo-símile e não depressivo seria a funcionalidade das vias neurais. Estudos descrevem que no estado depressivo existe um desbalanço das neurotransmissões noradrenérgicas e serotoninérgicas (CASTRÉN, 2005; COPPEN; BAILEY, 2000; DEAKIN; GRAEFF, 1991; SCHILDKRAUT, 1965) e que animais submetidos à SMP apresentam redução na concentração de 5-HT no hipocampo, assim como, redução da expressão da SERT no núcleo da rafe (LEE et al., 2007). O tratamento com ESC aumenta a disponibilidade de 5-HT e reestabelece a neurotransmissão deficiente no estado depressivo (CULPEPPER, 2002). Em um estado não

depressivo esse desbalanço não ocorre e a administração de um ISRS causa o aumento da disponibilidade da 5-HT, e conseqüentemente dos efeitos funcionais da mesma, os quais dependem da ativação dos diferentes subtipos de receptores (LEWIS; COOTE, 1990; NALIVAICO; SGOIFO, 2009); por exemplo, aumento da PA e aumento da atividade simpática, via receptor 5-HT<sub>2A</sub>, e aumento da parassimpática via receptor 5-HT<sub>1A</sub>, no sistema nervoso central (NALIVAICO; SGOIFO, 2009; RAMAGE, 2001; RAMAGE; DALY, 1998).

A VFC está associada com a capacidade do organismo em manter a pressão arterial constante em repouso. A análise da VFC avalia os mecanismos cardíacos responsáveis pelo controle da pressão arterial batimento-à-batimento, como a modulação simpática e parassimpática (ELECTROPHYSIOLOGY, 1996; STAUSS, 2007a). Alterações na VFC estão associadas com a perda da capacidade do sistema autônomo em manter o controle momento-à-momento da pressão arterial (PUMPRLA et al., 2002; VANDERLEI et al., 2009), e está relacionado a como predição de mortalidade (KLEIGER et al., 1987; THAYER; YAMAMOTO; BROSSCHOT, 2010) e aumento do risco de morte súbita e parada cardíaca (ALGRA et al., 1993). No presente trabalho, o tratamento com ESC não alterou os parâmetros da VFC, em ambos os domínios do tempo e da frequência, indicando que não há alterações na modulação autonômica basal dos ratos depressivo-símile tratados com ESC, corroborando com os achados dos parâmetros cardiovasculares basais. Dessa forma, os dados sugerem uma segurança para utilização do ESC em pacientes depressivos que apresentam DCV. Além disso, estudos realizados em humanos não depressivos mostram que o tratamento com ESC não alteram a VFC (CHAPPELL et al., 2013; HANSON et al., 2013); contudo, outros trabalhos descrevem um aumento da atividade vagal em humanos (KEMP et al., 2014) e em ratos (VERÍSSIMO et al., 2018) causado pelo tratamento com ESC o que poderia reforçar esse perfil cardioprotetor do ESC, pois, o aparecimento ou piora de doenças cardiovasculares estão relacionadas com a redução da modulação parassimpática e aumento da simpática (PALATINI; JULIUS, 2009).

A análise espectral da VPS descreve a modulação vascular do animal; o componente LF está relacionado com a modulação simpática no músculo vascular, o VLF indica a função miogênica do vaso e mudanças em ambos os componentes (LF e VLF) estão relacionadas com o efeito vascular do óxido nítrico (HÖCHT, 2013; STAUSS, 2007b). No presente trabalho o tratamento com ESC em ratos depressivo-símile reduziu somente o poder do componente

VLF indicando alterações na função miogênica que poderiam levar a perda da capacidade do músculo liso vascular em se adaptar a alterações da PA (HÖCHT, 2013). Apesar da alteração sobre a função miogênica evidenciada na redução do componente VLF, o tratamento com ESC não modificou a resposta hemodinâmica a drogas vasoativas nos animais depressivo-símile. Essa é a primeira evidência na literatura do efeito vascular do tratamento com ESC em ratos depressivo-símile.

Em ratos não depressivos, o tratamento com ESC causou redução na função miogênica, corroborando com o presente estudo, e no tônus vascular simpático (VERÍSSIMO et al., 2018). A literatura descreve que outros fármacos ISRS (fluoxetina e citalopram) têm a capacidade de modular o tônus vascular através da redução do influxo de cálcio (PACHER et al., 2001); a fluoxetina tem a capacidade de inibir canais de cálcio (PACHER et al., 1999) e aumentar a concentração de óxido nítrico (ISINGRINI et al., 2012).

O tratamento com ESC não alterou as respostas pressora e depressora observadas com a administração intravenosa de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, respectivamente, sugerindo uma não interferência do fármaco na modulação vascular neural, o que é reforçado com os dados obtidos da VFC.

O bloqueio autonômico cardíaco com atenolol (antagonista  $\beta$ 1-adrenérgico) e atropina (antagonista muscarínico) não mostrou diferenças em relação à modulação cardíaca autonômica nos grupos de animais depressivo-símile. No entanto, o bloqueio farmacológico de ambos os sistemas simpático e parassimpático cardíaco reduziu a FCI dos animais ESC em relação ao grupo controle sugerindo que o ESC tem influência sobre as células marca-passo do coração. É possível que a redução deva-se à uma disfunção do nó sinoatrial, causado pela redução de proteínas envolvidas na geração (JONES; LANCASTER; BOYETT, 2004), propagação (JONES; LANCASTER; BOYETT, 2004) e condução (HAQQANI; KALMAN, 2007) dos potenciais de membrana geradas pelo nó sinoatrial.

A redução da FCI está relacionada com o processo de envelhecimento em humanos (MACHADO; BRODY, 1989), em pacientes idosos a redução da FCI pode contribuir para o desenvolvimento de arritmia cardíaca. O envelhecimento, *per se*, leva à alterações que contribuem para o aparecimento de mesma, como hipertrofia ventricular, fibrose na sistema de condução, perda natural das células marca-passo (HON-CHI; KRISTIN TL; WIN-KUANG,

2011) e aumento da expressão de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo-L (JOSEPHSON et al., 2002), concomitantemente com a redução a expressão dos transportadores do tipo retículo sarcoplasmático  $\text{Ca}^{2+}$ /ATPase (LOMPRÉ et al., 1991; TAFFET; TATE, 1993). As alterações ligadas com o envelhecimento somados com a redução da FCI podem aumentar a probabilidade do desenvolvimento da arritmia cardíaca. A maioria dos fármacos antiarrítmicos atuam regulando o transporte de íons para manter o funcionamento correto do nó sinoatrial e sua utilização deve ser cuidadosamente analisada em pacientes que apresentam problemas da geração e condução elétrica cardíaca (DAN et al., 2018), como é o caso da redução da FCI .

Em relação aos ISRS, há evidências de que possuem efeitos de bloqueio sobre canais iônicos voltagem-depende, como os canais de cálcio tipo-L (MAGYAR et al., 2003; PACHER et al., 2000), o que poderia estar relacionado com a redução da FCI nos animais depressivo-símile tratados com ESC; estudo apresentou que o citalopram causa inibição de canais de cálcio tipo-L em cultura de cardiomiócitos de ratos (HAMPLOVÁ-PEICHOVÁ et al., 2002). Além disso, Hong e col. (2017) demonstraram que o tratamento com fluoxetina reduziu a FCI, corroborando em parte com os achados do presente estudo.

O barorreflexo é um importante reflexo para a manutenção da homeostase fisiológica cardíaca (MANCIA; GRASSI, 1995), e a sua desregulação está associado com o aparecimento de DCV (DECK et al., 1992; GRONDA et al., 2016), hipertensão (GRASSI et al., 2006) e ataque cardíaco (OSCOLATI et al., 1990). A avaliação da sensibilidade do barorreflexo através no método da sequência mostra como está o controle momento-a-momento da pressão arterial realizado pelo barorreflexo em uma situação de repouso (HUGHSON et al., 1993; LA ROVERE; PINNA; RACZAK, 2008). Observou-se que o tratamento com ESC não alterou o BEI, indicando que o grupo tratado apresentou o mesmo número de rampas barorreflexas que o grupo CTL, e o ganho das rampas barorreflexas. Esses dados corroboram com os achados da VFC e bloqueio autonômico da frequência cardíaca, mostrando que não há alterações na modulação autonômica em uma situação de repouso.

Avaliando a atividade do barorreflexo após a estimulação com a infusão de drogas vasoativas, foi observado que no presente trabalho, o tratamento com ESC levou à uma redução do parâmetro P1 da curva sigmoide da atividade barorreflexa, que se refere ao platô inferior, sem alteração do ganho das respostas barorreflexas taquicárdica e

bradicárdica. Para avaliar a influência do sistema simpático ou parassimpático sobre o parâmetro P1, o bloqueio autonômico cardíaco foi realizado antes da avaliação do barorreflexo. A atropina reduziu o valor do P1 nos animais tratados com ESC enquanto que o pré-tratamento com atenolol não modificou a resposta, indicando aumento do componente parassimpático do barorreflexo em ratos depressivo-símile tratados com ESC. Esse efeito poderia ser importante frente a alterações que a depressão causa sobre o barorreflexo em humanos, como: aumento da atividade simpática com redução da atividade parassimpática (DAVYDOV et al., 2007) e redução da sensibilidade barorreflexo, observada pelo método da sequência, sugerindo aumento da atividade simpática (BROADLEY et al., 2005). Estudos mostram que diminuição do componente parassimpático e aumento do simpático geralmente estão associados ao aparecimento das DCV como hipertensão (GUZZETTI et al., 1991; PALATINI; JULIUS, 2009) e insuficiência cardíaca congestiva (CASOLO et al., 1989; PALATINI; JULIUS, 2009; SAUL et al., 1988) indicando, assim, um efeito benéfico desse fármaco em pacientes com DCV. Nosso trabalho é o primeiro a evidenciar o efeito do ESC sobre a atividade barorreflexa de ratos com comportamento depressivo-símile.

Estudo realizado em animais não depressivos também mostrou aumento no valor de P1 com o tratamento com fluoxetina, outro ISRS, similar ao que observamos no nosso estudo (CRESTANI et al., 2011); além disso, a fluoxetina causou redução no valor de P2 indicando aumento do reflexo bradicárdico e redução do taquicárdico (CRESTANI et al., 2011). No entanto, há divergência na literatura em relação ao efeito dos ISRS na modulação barorreflexa de ratos não depressivos, pois o tratamento com ESC (VERÍSSIMO et al., 2018) ou fluoxetina (MOFFITT; JOHNSON, 2004) não interferiu com a atividade barorreflexa desses animais.

Durante eventos estressantes áreas do sistema nervoso central são responsáveis por integrar repostas comportamentais e cardiovasculares com o objetivo de preparar o organismo para enfrentar esse estímulo aversivo (ULRICH-LAI; HERMAN, 2009) (BUSNARDO et al., 2010). O estresse de restrição agudo avalia a resposta cardiovascular durante uma situação aversiva ao animal (BUSNARDO et al., 2010; CRESTANI et al., 2010). No presente trabalho, o tratamento com ESC em ratos depressivo-símile não interferiu nas respostas pressora e taquicárdica causadas pelo estresse de restrição agudo, indicando um bom prognóstico para pacientes que apresentam depressão e DCV. Alterações nas respostas ao

estresse de restrição agudo indicam que há diferenças na modulação cardiovascular frente à uma situação aversiva; alterações como maior aumento da pressão arterial e/ou da frequência cardíaca durante o estresse de restrição agudo estão relacionados com aumento da atividade autonômica simpática e liberação de catecolaminas (BURKE; MALPAS; HEAD, 1998; DE BOER et al., 1990; LIVEZEY; MILLER; VOGEL, 1985) o que em pacientes com DCV poderia piorar o prognóstico do mesmo (PALATINI; JULIUS, 2009).

Estudos mostram que o tratamento com ESC em ratos não depressivos causa uma redução da resposta pressora sem alterar a resposta taquicárdica (VERÍSSIMO et al., 2018). Conforme descrito anteriormente, o estado depressivo leva à uma redução da neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica em áreas centrais (CASTRÉN, 2005; COPPEN; BAILEY, 2000; DEAKIN; GRAEFF, 1991; SCHILDKRAUT, 1965), como o córtex pré-frontal medial (RESSTEL et al., 2006), córtex pré-límbico (FASSINI et al., 2014; FASSINI; RESSTEL; CORRÊA, 2016), leito núcleo da estria terminal (CRESTANI et al., 2009) e núcleo paraventricular do hipotálamo (BUSNARDO et al., 2016), as quais modulam a resposta cardiovascular frente ao estresse de restrição agudo. Tais regiões cerebrais também possuem receptores de serotonina (CELADA et al., 2001; FELDMAN; CONFORTI; MELAMED, 1987; HAMMACK et al., 2009; MARTÍN-RUIZ et al., 2001; MINER et al., 2003; VACHER et al., 2002), logo, uma possibilidade é que o tratamento com ESC em animais não depressivos poderia aumentar a concentração de 5-HT nessas áreas e interferir na resposta cardiovascular ao estresse de restrição agudo, o que explicaria em parte a divergência dos resultados observados nos animais depressivo-símile.

## 6.0 CONCLUSÃO

Considerando os achados citados e discutidos acima, podemos sugerir que o tratamento com ESC apresenta uma boa segurança cardiovascular no estado depressivo apresentando efeito estatisticamente significativo sobre a modulação parassimpática cardíaca, observada pelo aumento da resposta bradicárdica ao barorreflexo. O aumento da modulação parassimpática é um bom prognóstico para pacientes que apresentam DCV, devido ao fato de que grande parte das DCV que cursam um mal prognóstico apresentam aumento da modulação simpática. Contudo, a redução na FCI pode ser prejudicial em pacientes idosos, podendo favorecer a gênese da arritmia cardíaca, piora do prognóstico e/ou interferir com os medicamentos utilizados como tratamento da doença. Logo, o ESC apresenta uma boa segurança cardiovascular sobre o estado depressivo, mas o seu uso pode não ser benéfico em pacientes idosos e/ou com a presença de arritmia cardíaca.

## 7.0 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABEL, E. L.; BILITZKE, P. J. A possible alarm substance in the forced swimming test. **Physiology & behavior**, v. 48, n. 2, p. 233–239, ago. 1990.
- AGID, Y. et al. How can drug discovery for psychiatric disorders be improved? **Nature reviews. Drug discovery**, v. 6, n. 3, p. 189–201, 2007.
- AHMED, A. H. et al. Effects of two selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants, sertraline and escitalopram, on aldosterone/renin ratio in normotensive depressed male patients. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 96, n. 4, p. 1039–1045, 2011.
- AISA, B. et al. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 32, n. 3, p. 256–266, 2007.
- ALGRA, A. et al. Heart rate variability from 24-hour electrocardiography and the 2-year risk for sudden death. **Circulation**, v. 88, n. 1, p. 180–185, 1 jul. 1993.
- APPELS, A. et al. Inflammation, depressive symptomatology, and coronary artery disease. **Psychosomatic medicine**, v. 62, n. 5, p. 601–5, 1995.
- ARBORELIUS, L. et al. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. **The Journal of endocrinology**, v. 160, n. 1, p. 1–12, jan. 1999.
- BENATTI, C. et al. Behavioural and transcriptional effects of escitalopram in the chronic escape deficit model of depression. **Behavioural Brain Research**, v. 272, p. 121–130, 2014.
- BENNETT, T.; GARDINER, S. M. CORTICOSTEROID INVOLVEMENT IN THE CHANGES IN NORADRENERGIC RESPONSIVENESS OF TISSUES FROM RATS MADE HYPERTENSIVE BY SHORT-TERM ISOLATION. **British Journal of Pharmacology**, v. 64, n. 1, p. 129–136, set. 1978.
- BOYER, E. W.; SHANNON, M. The serotonin syndrome. **The New England journal of medicine**, v. 352, n. 11, p. 1112–20, 17 mar. 2005.
- BROADLEY, A. J. M. et al. Baroreflex sensitivity is reduced in depression. **Psychosomatic medicine**, v. 67, n. 4, p. 648–51, 2005.
- BURKE, S. L.; MALPAS, S. C.; HEAD, G. A. Effect of rilmenidine on the cardiovascular responses to stress in the conscious rabbit. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 72, n. 2–3, p. 177–186, out. 1998.
- BUSNARDO, C. et al. Paraventricular nucleus modulates autonomic and neuroendocrine responses to acute restraint stress in rats. **Autonomic neuroscience : basic & clinical**, v. 158, n. 1–2, p. 51–7, 8 dez. 2010.
- BUSNARDO, C. et al. NMDA and non-NMDA glutamate receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus modulate different stages of hemorrhage-evoked cardiovascular responses in rats. **Neuroscience**, v. 320, p. 149–159, 2016.
- CARNEVALI, L. et al. Rodent models of depression-cardiovascular comorbidity: Bridging the known to the new. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 16 jan. 2017.
- CASOLO, G. et al. Decreased spontaneous heart rate variability in congestive heart failure. **The American Journal of Cardiology**, v. 64, n. 18, p. 1162–1167, 15 nov. 1989.

CASTRÉN, E. Is mood chemistry? **Nature reviews. Neuroscience**, v. 6, n. 3, p. 241–6, mar. 2005.

CELADA, P. et al. Control of dorsal raphe serotonergic neurons by the medial prefrontal cortex: Involvement of serotonin-1A, GABA(A), and glutamate receptors. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 21, n. 24, p. 9917–29, 15 dez. 2001.

CHANG, L.; LIU, N. The Safety, Efficacy, and Tolerability of Pharmacological Treatment of Depression in Patients with Cardiovascular Disease : A Look at Antidepressants and Integrative Approaches. **Heart and Mind**, v. 1, n. 1, p. 8–16, 2017.

CHAPPELL, J. C. et al. Evaluation of the effects of duloxetine and escitalopram on 24-hour heart rate variability: a mechanistic study using heart rate variability as a pharmacodynamic measure. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 33, n. 2, p. 236–9, 2013.

CLARK, M. A. et al. **Lippincott's illustrated reviews. Pharmacology**. [s.l: s.n.].

COPPEN, A.; BAILEY, J. Enhancement of the antidepressant action of fluoxetine by folic acid: a randomised, placebo controlled trial. **Journal of affective disorders**, v. 60, n. 2, p. 121–30, nov. 2000.

CRESTANI, C. C. et al. Role of the bed nucleus of the stria terminalis in the cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. **Stress**, v. 12, n. 3, p. 268–278, 7 jan. 2009.

CRESTANI, C. C. et al. Effect of acute restraint stress on the tachycardiac and bradycardiac responses of the baroreflex in rats. **Stress (Amsterdam, Netherlands)**, v. 13, n. 1, p. 61–72, jan. 2010.

CRESTANI, C. C. et al. Chronic fluoxetine treatment alters cardiovascular functions in unanesthetized rats. **European journal of pharmacology**, v. 670, n. 2–3, p. 527–33, 30 nov. 2011.

CRUZ, F. C. et al. Adolescent vulnerability to cardiovascular consequences of chronic social stress: Immediate and long-term effects of social isolation during adolescence. **Developmental Neurobiology**, v. 76, n. 1, p. 34–46, 2016.

CULPEPPER, L. Escitalopram: A New SSRI for the Treatment of Depression in Primary Care. **Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry**, v. 4, n. 6, p. 209–214, 2002.

DAN, G. et al. Antiarrhythmic drugs—clinical use and clinical decision making: a consensus document from the European Heart Rhythm Association (EHRA) and European Society of Cardiology (ESC) Working Group on Cardiovascular Pharmacology, endorsed by the Heart Rhythm Society. **EP Europace**, v. 20, n. 5, p. 738–738, 1 maio 2018.

DANIELS, W. M. U. et al. Maternal separation in rats leads to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. **Metabolic brain disease**, v. 19, n. 1–2, p. 3–14, jun. 2004.

DAVYDOV, D. M. et al. Baroreflex mechanisms in major depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 31, n. 1, p. 164–177, 30 jan. 2007.

DE BOER, S. F. et al. Plasma catecholamine, corticosterone and glucose responses to repeated stress in rats: Effect of interstressor interval length. **Physiology and Behavior**, v. 47, n. 6, p. 1117–1124, 1990.

DEAKIN, J. F. 5-HT, antidepressant drugs and the psychosocial origins of depression. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 10, n. 1, p. 31–8, jan. 1996.

DEAKIN, J. F.; GRAEFF, F. G. 5-HT and mechanisms of defence. **Journal of psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 5, n. 4, p. 305–15, jan. 1991.

DECK, C. C. et al. Baroreflex control of heart rate in rats with heart failure after myocardial infarction: effects of captopril. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 263, n. 3, p. 1424–31, dez. 1992.

DIPIRO, J. T. **Pharmacotherapy : a pathophysiologic approach**. [s.l.] McGraw-Hill Medical, 2008.

DOS REIS, D. G. et al. Role of the autonomic nervous system and baroreflex in stress-evoked cardiovascular responses in rats. **Stress (Amsterdam, Netherlands)**, v. 17, n. 4, p. 362–72, jul. 2014.

DUMAN, R. S.; HENINGER, G. R.; NESTLER, E. J. A molecular and cellular theory of depression. **Archives of general psychiatry**, v. 54, n. 7, p. 597–606, jul. 1997.

EHLERT, U.; GAAB, J.; HEINRICHS, M. Psychoneuroendocrinological contributions to the etiology of depression, posttraumatic stress disorder, and stress-related bodily disorders: The role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. **Biological Psychology**, v. 57, n. 1–3, p. 141–152, 2001.

EL KHOURY, A. et al. Adult life behavioral consequences of early maternal separation are alleviated by escitalopram treatment in a rat model of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 30, n. 3, p. 535–540, 2006.

ELECTROPHYSIOLOGY, T. F. O. T. E. S. O. C. T. N. A. S. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. **Circulation**, v. 93, n. 5, p. 1043–65, 1 mar. 1996.

FASSINI, A. et al. Opioid receptors in the prelimbic cortex modulate restraint stress-induced cardiovascular responses in the rat. **Neuropharmacology**, v. 85C, p. 367–374, 6 maio 2014.

FASSINI, A.; RESSTEL, L. B. M.; CORRÊA, F. M. A. Prelimbic cortex GABA receptors are involved in the mediation of restraint stress-evoked cardiovascular responses. **Stress**, v. 19, n. 6, p. 576–584, 2016.

FELDMAN, S.; CONFORTI, N.; MELAMED, E. Paraventricular nucleus serotonin mediates neurally stimulated adrenocortical secretion. **Brain research bulletin**, v. 18, n. 2, p. 165–8, fev. 1987.

FERGUSON, J. M. SSRI Antidepressant Medications: Adverse Effects and Tolerability. **Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry**, v. 3, n. 1, p. 22–27, fev. 2001.

- FERRARI, F.; VILLA, R. F. The Neurobiology of Depression: an Integrated Overview from Biological Theories to Clinical Evidence. **Molecular neurobiology**, v. 54, n. 7, p. 4847–4865, 2017.
- FLECK, M. P. et al. [Review of the guidelines of the Brazilian Medical Association for the treatment of depression (Complete version)]. **Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil : 1999)**, v. 31 Suppl 1, n. Supl I, p. S7-17, maio 2009.
- FLECK, M. P. DE A. et al. Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (versão integral). **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 25, n. 2, p. 114–122, jun. 2003.
- FRASURE-SMITH, N.; LESPERANCE, F.; TALAJIC, M. Depression and 18-Month Prognosis After Myocardial Infarction. **Circulation**, v. 91, n. 4, p. 999–1005, 15 fev. 1995.
- FULLER, R. W. et al. Antihypertensive effects of fluoxetine and L-5-hydroxytryptophan in rats. **Life Sciences**, v. 25, n. 14, p. 1237–1242, 1 out. 1979.
- GARDNER, K. L. et al. Early life experience alters behavior during social defeat: Focus on serotonergic systems. **Neuroscience**, v. 136, n. 1, p. 181–191, 2005.
- GELENBERG, A. J. S-citalopram. **Biological Therapies in Psychiatry**, v. 24, p. 8, 2001.
- GOLD, P. W. et al. Divergent endocrine abnormalities in melancholic and atypical depression: clinical and pathophysiologic implications. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 31, n. 1, p. 37–62, vi, mar. 2002.
- GOLDMAN, J. M.; MURR, A. S.; COOPER, R. L. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. **Birth defects research.**, v. 80, n. 2, p. 84–97, abr. 2007.
- GRAEFF, F. G. et al. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 54, n. 1, p. 129–41, maio 1996.
- GRASSI, G. et al. Baroreflex function in hypertension: consequences for antihypertensive therapy. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 48, n. 6, p. 407–15, 2006.
- GRIMSLEY, S. R.; JANN, M. W. Paroxetine, sertraline, and fluvoxamine: new selective serotonin reuptake inhibitors. **Clinical pharmacy**, v. 11, n. 11, p. 930–57, nov. 1992.
- GRIPPO, A. J. et al. The effects of chronic fluoxetine treatment on chronic mild stress-induced cardiovascular changes and anhedonia. **Biological psychiatry**, v. 59, n. 4, p. 309–16, 15 fev. 2006.
- GRIPPO, A. J. Mechanisms underlying altered mood and cardiovascular dysfunction: The value of neurobiological and behavioral research with animal models. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 33, n. 2, p. 171–180, fev. 2009.
- GRIPPO, A. J. The utility of animal models in understanding links between psychosocial processes and cardiovascular health. **Social and Personality Psychology Compass**, v. 5, n. 4, p. 164–179, 2011.

GRONDA, E. et al. Effects of chronic carotid baroreceptor activation on arterial stiffness in severe heart failure. **Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society**, v. 105, n. 10, p. 838–46, out. 2016.

GRUNFELD, J. P.; ELOY, L. Glucocorticoids modulate vascular reactivity in the rat. **Hypertension**, v. 10, n. 6, p. 608–618, 1987.

GUZZETTI, S. et al. Altered pattern of circadian neural control of heart period in mild hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 9, n. 9, p. 831–838, set. 1991.

HAIGH, R. M.; JONES, C. T. Effect of glucocorticoids on 1-adrenergic receptor binding in rat vascular smooth muscle. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 5, n. 1, p. 41–48, 1 ago. 1990.

HAMMACK, S. E. et al. The response of neurons in the bed nucleus of the stria terminalis to serotonin: Implications for anxiety. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 8, p. 1309–1320, nov. 2009.

HAMPLOVÁ-PEICHOVÁ, J. et al. Citalopram inhibits L-type calcium channel current in rat cardiomyocytes in culture. **Physiological research**, v. 51, n. 3, p. 317–21, 2002.

HANASH, J. A. et al. Cardiovascular safety of one-year escitalopram therapy in clinically nondepressed patients with acute coronary syndrome: results from the DEpression in patients with Coronary ARtery Disease (DECARD) trial. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 60, n. 4, p. 397–405, out. 2012.

HANSON, C. S. et al. The impact of escitalopram on vagally mediated cardiovascular function to stress and the moderating effects of vigorous physical activity: a randomized controlled treatment study in healthy participants. **Frontiers in physiology**, v. 4, n. September, p. 259, jan. 2013.

HAQQANI, H. M.; KALMAN, J. M. Aging and Sinoatrial Node Dysfunction. **Circulation**, v. 115, n. 10, p. 1178–1179, 2007.

HEAD, G. A.; MCCARTY, R. Vagal and sympathetic components of the heart rate range and gain of the baroreceptor-heart rate reflex in conscious rats. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 21, n. 2–3, p. 203–213, dez. 1987.

HILL, M. N. et al. Neuroscience and Biobehavioral Reviews Neurobiology of chronic mild stress : Parallels to major depression. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 9, p. 2085–2117, out. 2012.

HÖCHT, C. Blood Pressure Variability: Prognostic Value and Therapeutic Implications. **ISRN Hypertension**, v. 2013, p. 1–16, 2013.

HON-CHI, L.; KRISTIN TL, H.; WIN-KUANG, S. Use of antiarrhythmic drugs in elderly patients. **Journal of Geriatric Cardiology**, v. 8, n. 3, p. 184–194, 2011.

HONG, L.-Z. et al. Chronic fluoxetine treatment enhances sympathetic activities associated with abnormality of baroreflex function in conscious normal rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 811, n. 3, p. 164–170, set. 2017.

HUGHSON, R. L. et al. Spontaneous baroreflex by sequence and power spectral methods in humans. **Clinical Physiology**, v. 13, n. 6, p. 663–676, nov. 1993.

HULSHOF, H. J. et al. Maternal separation decreases adult hippocampal cell proliferation and impairs cognitive performance but has little effect on stress sensitivity and anxiety in adult Wistar rats. **Behavioural brain research**, v. 216, n. 2, p. 552–60, 20 jan. 2011.

ISINGRINI, E. et al. Fluoxetine effect on aortic nitric oxide-dependent vasorelaxation in the unpredictable chronic mild stress model of depression in mice. **Psychosomatic medicine**, v. 74, n. 1, p. 63–72, jan. 2012.

JACQUOT, C. et al. [Escitalopram and citalopram: the unexpected role of the R-enantiomer]. **L'Encephale**, v. 33, n. 2, p. 179–87, 2008.

JAYATISSA, M. N. et al. Hippocampal cytogenesis correlates to escitalopram-mediated recovery in a chronic mild stress rat model of depression. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, p. 2395–2404, 2006.

JOCA, S. R. L.; GUIMARÃES, F. S. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase in the rat hippocampus induces antidepressant-like effects. **Psychopharmacology**, v. 185, n. 3, p. 298–305, abr. 2006.

JOKINEN, J.; NORDSTRÖM, P. HPA axis hyperactivity and cardiovascular mortality in mood disorder inpatients. **Journal of Affective Disorders**, v. 116, n. 1–2, p. 88–92, 2009.

JONES, S. A.; LANCASTER, M. K.; BOYETT, M. R. Ageing-related changes of connexins and conduction within the sinoatrial node. **The Journal of physiology**, v. 560, n. Pt 2, p. 429–37, 15 out. 2004.

JOSEPHSON, I. R. et al. Alterations in properties of L-type Ca channels in aging rat heart. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 34, n. 3, p. 297–308, mar. 2002.

JOYNT, K. E.; WHELLAN, D. J.; O'CONNOR, C. M. Depression and cardiovascular disease: mechanisms of interaction. **Biological psychiatry**, v. 54, n. 3, p. 248–61, 1 ago. 2003.

KAFFMAN, A.; MEANEY, M. J. Neurodevelopmental sequelae of postnatal maternal care in rodents: clinical and research implications of molecular insights. **Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines**, v. 48, n. 3–4, p. 224–44, 2007.

KEMP, A. H. et al. Impact of escitalopram on vagally mediated cardiovascular function in healthy participants: implications for understanding differential age-related, treatment emergent effects. **Psychopharmacology**, v. 231, n. 11, p. 2281–90, jun. 2014.

KIM, J.-M. et al. Escitalopram Treatment for Depressive Disorder Following Acute Coronary Syndrome. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 76, n. 1, p. 62–68, 28 jan. 2015.

KLEIGER, R. E. et al. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. **The American Journal of Cardiology**, v. 59, n. 4, p. 256–262, 1 fev. 1987.

KOP, W. J. et al. Inflammation and coagulation factors in persons > 65 years of age with symptoms of depression but without evidence of myocardial ischemia. **The American journal of cardiology**, v. 89, n. 4, p. 419–24, 15 fev. 2002.

LA ROVERE, M. T.; PINNA, G. D.; RACZAK, G. Baroreflex Sensitivity: Measurement and Clinical Implications. **Annals of Noninvasive Electrocardiology**, v. 13, n. 2, p. 191–207, abr. 2008.

LADD, C. O. et al. Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. In: MAYER, E. A.; SAPER C.B. (Eds.). . **The Biological Basis for Mind Body Interactions**. [s.l.] Elsevier, 2000. v. 122p. 81–103.

LADD, C. O. et al. Long-term adaptations in glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor mrna and negative feedback on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis following neonatal maternal separation. **Biological Psychiatry**, v. 55, n. 4, p. 367–375, fev. 2004.

LADD, C. O. et al. Differential neuroendocrine responses to chronic variable stress in adult Long Evans rats exposed to handling-maternal separation as neonates. **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, n. 6, p. 520–533, jul. 2005.

LARS, F.; GRAM, M. D. Fluoxetine. **The new england journal of medicine**, v. 331, n. 20, p. 1354–1461, 1994.

LEE, J. et al. Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. **Neuroscience research**, v. 58, n. 1, p. 32–9, maio 2007.

LEWIS, D. I.; COOTE, J. H. The influence of 5-hydroxytryptamine agonists and antagonists on identified sympathetic preganglionic neurones in the rat, in vivo. **British Journal of Pharmacology**, v. 99, n. 4, p. 667–672, abr. 1990.

LIM, G. Y. et al. Prevalence of Depression in the Community from 30 Countries between 1994 and 2014 /692/699/476/1414 /692/499 article. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2018.

LIPPMANN, M. et al. Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. **The European journal of neuroscience**, v. 25, n. 10, p. 3091–8, maio 2007.

LIU, J.; HAIGH, R. M.; JONES, C. T. Enhancement of noradrenaline-induced inositol polyphosphate formation by glucocorticoids in rat vascular smooth muscle cells. **Journal of Endocrinology**, v. 133, n. 3, p. 405- NP, jun. 1992.

LIVEZEY, G. T.; MILLER, J. M.; VOGEL, W. H. Plasma norepinephrine, epinephrine and corticosterone stress responses to restraint in individual male and female rats, and their correlations. **Neuroscience letters**, v. 62, n. 1, p. 51–6, 20 nov. 1985.

LOMPRÉ, A. M. et al. Expression of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase and calsequestrin genes in rat heart during ontogenic development and aging. **Circulation Research**, v. 69, n. 5, p. 1380–1388, nov. 1991.

LUPIEN, S. J. Brains under Stress. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 54, n. 1, p. 4–5, jan. 2009.

MACHADO, B. H.; BRODY, M. J. Contribution of neurogenic mechanisms to control of intrinsic heart rate. **The American journal of physiology**, v. 256, n. 1 Pt 2, p. R231-5, jan. 1989.

MACRÍ, S.; MASON, G. J.; WÜRBEL, H. Dissociation in the effects of neonatal maternal separations on maternal care and the offspring's HPA and fear responses in rats. **The European journal of neuroscience**, v. 20, n. 4, p. 1017–24, ago. 2004.

MAES, M. et al. Interleukin-1 beta: a putative mediator of HPA axis hyperactivity in major depression? **The American journal of psychiatry**, v. 150, n. 8, p. 1189–93, ago. 1993.

MAGYAR, J. et al. Differential effects of fluoxetine enantiomers in mammalian neural and cardiac tissues. **International journal of molecular medicine**, v. 11, n. 4, p. 535–42, abr. 2003.

MANCIA, G.; GRASSI, G. Baroreceptor Control of the Circulation in Man. An Update. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 17, n. 1–2, p. 387–397, 3 jan. 1995.

MARAIS, L. et al. Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. **Neuroscience Research**, v. 61, n. 1, p. 106–112, 2008.

MARAIS, L. et al. A proteomic analysis of the ventral hippocampus of rats subjected to maternal separation and escitalopram treatment. **Metabolic brain disease**, v. 24, n. 4, p. 569–86, dez. 2009.

MARTÍN-RUIZ, R. et al. Control of serotonergic function in medial prefrontal cortex by serotonin-2A receptors through a glutamate-dependent mechanism. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 21, n. 24, p. 9856–66, 15 dez. 2001.

MASTORCI, F. et al. Long-term effects of prenatal stress: changes in adult cardiovascular regulation and sensitivity to stress. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 33, n. 2, p. 191–203, fev. 2009.

MCEWEN, B. S. Early life influences on life-long patterns of behavior and health. **Mental retardation and developmental disabilities research reviews**, v. 9, n. 3, p. 149–54, jan. 2003.

MILLAN, M. .; DEKEYNE, A.; GOBERT, A. Serotonin (5-HT)<sub>2C</sub> receptors tonically inhibit dopamine (DA) and noradrenaline (NA), but not 5-HT, release in the frontal cortex in vivo. **Neuropharmacology**, v. 37, n. 7, p. 953–955, jul. 1998.

MINER, L. A. H. et al. Ultrastructural localization of serotonin<sub>2A</sub> receptors in the middle layers of the rat prelimbic prefrontal cortex. **Neuroscience**, v. 116, n. 1, p. 107–117, jan. 2003.

MOFFITT, J. A.; JOHNSON, A. K. Short-term fluoxetine treatment enhances baroreflex control of sympathetic nervous system activity after hindlimb unloading. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 286, n. 3, p. R584-90, mar. 2004.

MØRK, A.; KREILGAARD, M.; SÁNCHEZ, C. The R-enantiomer of citalopram counteracts escitalopram-induced increase in extracellular 5-HT in the frontal cortex of freely moving rats. **Neuropharmacology**, v. 45, n. 2, p. 167–73, ago. 2003.

MOUSSAVI, S. et al. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. **The Lancet**, v. 370, n. 9590, p. 851–858, set. 2007.

NALIVAIKO, E.; SGOIFO, A. Central 5-HT receptors in cardiovascular control during stress. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 33, n. 2, p. 95–106, fev. 2009.

NEWPORT, D. J.; STOWE, Z. N.; NEMEROFF, C. B. Parental depression: animal models of an adverse life event. **The American journal of psychiatry**, v. 159, n. 8, p. 1265–83, ago. 2002.

NUTT, D. J. et al. Mechanisms of action of selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of psychiatric disorders. **European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 9 Suppl 3, p. S81-6, jul. 1999.

OSCULATI, G. et al. Early alterations of the baroreceptor control of heart rate in patients with acute myocardial infarction. **Circulation**, v. 81, n. 3, p. 939–48, 1 mar. 1990.

PACHER, P. et al. Serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine, dilates isolated skeletal muscle arterioles. Possible role of altered Ca<sup>2+</sup> sensitivity. **British Journal of Pharmacology**, v. 127, n. 3, p. 740–746, jun. 1999.

PACHER, P. et al. Electrophysiological effects of fluoxetine in mammalian cardiac tissues. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 361, n. 1, p. 67–73, 1 jan. 2000.

PACHER, P. et al. Serotonin reuptake inhibitors fluoxetine and citalopram relax intestinal smooth muscle. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 79, n. 7, p. 580–4, jul. 2001.

PACHER, P.; KECSKEMETI, V. Cardiovascular side effects of new antidepressants and antipsychotics: new drugs, old concerns? **Current pharmaceutical design**, v. 10, n. 20, p. 2463–75, 1 ago. 2004.

PALATINI, P.; JULIUS, S. The role of cardiac autonomic function in hypertension and cardiovascular disease. **Current hypertension reports**, v. 11, n. 3, p. 199–205, jun. 2009.

PÄLVIMÄKI, E.-P. et al. Differential effects of fluoxetine and citalopram treatments on serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptor occupancy in rat brain. **The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)**, v. 2, n. 02, p. 95–99, 1 jun. 1999.

PARIANTE, C. M.; LIGHTMAN, S. L. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. **Trends in neurosciences**, v. 31, n. 9, p. 464–8, set. 2008.

PHILLIPS, C. Brain-Derived Neurotrophic Factor, Depression, and Physical Activity: Making the Neuroplastic Connection. **Neural plasticity**, v. 2017, p. 7260130, 2017.

PLOTSKY, P. M.; MEANEY, M. J. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. **Brain research. Molecular brain research**, v. 18, n. 3, p. 195–200, maio 1993.

PLOTSKY, P. M.; OWENS, M. J.; NEMEROFF, C. B. Psychoneuroendocrinology of depression. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **The Psychiatric clinics of North America**, v. 21, n. 2, p. 293–307, jun. 1998.

PUMPRLA, J. et al. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. **International journal of cardiology**, v. 84, n. 1, p. 1–14, jul. 2002.

RAMAGE, A. G. Central cardiovascular regulation and 5-hydroxytryptamine receptors. **Brain Research Bulletin**, v. 56, n. 5, p. 425–439, 15 nov. 2001.

- RAMAGE, A. G.; DALY, M. B. The central action of the 5-HT<sub>2</sub> receptor agonist 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) on cardiac inotropy and vascular resistance in the anaesthetized cat. **British journal of pharmacology**, v. 125, n. 6, p. 1172–9, nov. 1998.
- RANA, S. et al. Effects of Maternal Separation on Behavior and Cardiovascular Function in the Wistar-Kyoto Rat. **The FASEB Journal**, v. 29, n. 1, fev. 2015.
- REMME, W. J. The sympathetic nervous system and ischaemic heart disease. **European heart journal**, v. 19 Suppl F, p. F62-71, jun. 1998.
- RESSTEL, L. B. M. et al. Involvement of medial prefrontal cortex neurons in behavioral and cardiovascular responses to contextual fear conditioning. **Neuroscience**, v. 143, n. 2, p. 377–385, dez. 2006.
- RESSTEL, L. B. M.; CORRÊA, F. M. A. Cardiovascular effects of l-glutamate injected in the medial prefrontal cortex of spontaneously hypertensive rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 580, n. 3, p. 372–379, 2008.
- RESSTEL, L. B. M.; CORRÊA, F. M. A. Involvement of the medial prefrontal cortex in central cardiovascular modulation in the rat. **Autonomic neuroscience : basic & clinical**, v. 126–127, p. 130–8, 30 jun. 2006.
- RONALDS, C. et al. Outcome of anxiety and depressive disorders in primary care. **British Journal of Psychiatry**, v. 171, n. NOV., p. 427–433, 1997.
- ROSMOND, R.; BJÖRNTORP, P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity as a predictor of cardiovascular disease, type 2 diabetes and stroke. **Journal of internal medicine**, v. 247, n. 2, p. 188–97, fev. 2000.
- ROST, K. et al. Persistently poor outcomes of undetected major depression in primary care. **General Hospital Psychiatry**, v. 20, n. 1, p. 12–20, 1998.
- SAĞLAM, E. et al. Effects of escitalopram on ethanol withdrawal syndrome in rats. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 30, n. 6, p. 1027–32, 30 ago. 2006.
- SÁNCHEZ, C. et al. Escitalopram, the S-(+)-enantiomer of citalopram, is a selective serotonin reuptake inhibitor with potent effects in animal models predictive of antidepressant and anxiolytic activities. **Psychopharmacology**, v. 167, n. 4, p. 353–62, jun. 2003.
- SÁNCHEZ, C.; HOGG, S. 292. The antidepressant activity of citalopram resides in the S-enantiomer (Lu 26-054). **Biological Psychiatry**, v. 47, n. 8, p. S88–S89, abr. 2000.
- SÁNCHEZ, M. M.; LADD, C. O.; PLOTSKY, P. M. Early adverse experience as a developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models. **Development and psychopathology**, v. 13, n. 3, p. 419–49, 2001.
- SANDERS, B. J.; ANTICEVIC, A. Maternal separation enhances neuronal activation and cardiovascular responses to acute stress in borderline hypertensive rats. **Behavioural brain research**, v. 183, n. 1, p. 25–30, 1 out. 2007.
- SAUL, J. P. et al. Assessment of autonomic regulation in chronic congestive heart failure by heart rate spectral analysis. **The American Journal of Cardiology**, v. 61, n. 15, p. 1292–1299, 1 jun. 1988.

- SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American journal of psychiatry**, v. 122, n. 5, p. 509–22, nov. 1965.
- SCHMIDT, I.; BARONE, A.; CARLISLE, H. J. Diurnal cycle of core temperature in huddling, week-old rat pups. **Physiology & Behavior**, v. 37, n. 1, p. 105–109, jan. 1986.
- SCHÖMIG, A. et al. Changes in Vascular Smooth Muscle Sensitivity to Vasoconstrictor Agents induced by Corticosteroids, Adrenalectomy and Differing Salt Intake in Rats. **Clinical Science**, v. 51, n. s3, p. 61s-63s, 1 jan. 1976.
- SCHROEDER, C.; JORDAN, J. Norepinephrine transporter function and human cardiovascular disease. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 303, n. 11, p. H1273–H1282, 2012.
- SGOIFO, A.; CARNEVALI, L.; GRIPPO, A. J. The socially stressed heart. Insights from studies in rodents. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 39, p. 51–60, 2014.
- SHIRAYAMA, Y. et al. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 22, n. 8, p. 3251–61, 15 abr. 2002.
- SILVEIRA, P. P. et al. Developmental origins of health and disease (DOHaD). **Jornal de Pediatria**, v. 83, n. 6, p. 494–504, 30 nov. 2007.
- STAHL, S. M. Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. **Journal of affective disorders**, v. 51, n. 3, p. 215–35, dez. 1998.
- STAHL, S. M.; DE OLIVEIRA, I. R. **Psicofarmacologia. Bases Neurocientíficas e Aplicações Práticas**. 4ª Edição ed. [s.l.] Guanabara Koogan, 2014.
- STAUSS, H. Physiologic mechanisms of heart rate variability. **Rev Bras Hipertens**, v. 14, n. 1, p. 8–15, 2007a.
- STAUSS, H. M. Identification of Blood Pressure Control Mechanisms By Power Spectral Analysis. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, n. 4, p. 362–368, abr. 2007b.
- STEPANICHEV, M. et al. Rodent models of depression: neurotrophic and neuroinflammatory biomarkers. **BioMed research international**, v. 2014, p. 932757, jan. 2014.
- STRIKE, P. C.; STEPTOE, A. Psychosocial factors in the development of coronary artery disease. **Progress in cardiovascular diseases**, v. 46, n. 4, p. 337–47, 2004.
- TAFFET, G. E.; TATE, C. A. CaATPase content is lower in cardiac sarcoplasmic reticulum isolated from old rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 264, n. 5, p. H1609–H1614, maio 1993.
- THASE, M. E. et al. The cardiovascular safety profile of escitalopram. **European Neuropsychopharmacology**, v. 23, n. 11, p. 1391–1400, nov. 2013.
- THAYER, J. F.; YAMAMOTO, S. S.; BROSSCHOT, J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. **International journal of cardiology**, v. 141, n. 2, p. 122–31, 28 maio 2010.

- TROMBINI, M. et al. Early maternal separation has mild effects on cardiac autonomic balance and heart structure in adult male rats. **Stress (Amsterdam, Netherlands)**, v. 15, n. 4, p. 457–70, jul. 2012.
- ULRICH-LAI, Y. M.; HERMAN, J. P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 397–409, jun. 2009.
- UYS, J. D. K. et al. Early life trauma decreases glucocorticoid receptors in rat dentate gyrus upon adult re-stress: reversal by escitalopram. **Neuroscience**, v. 137, n. 2, p. 619–25, 2006.
- VACHER, C. et al. Activation by Serotonin and Noradrenaline of Vasopressin and Oxytocin Expression in the Mouse Paraventricular and Supraoptic Nuclei. **The Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 5, p. 1513–1522, 1 mar. 2002.
- VANDERLEI, L. C. M. et al. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. **Revista brasileira de cirurgia cardiovascular**, v. 24, n. 2, p. 205–17, 2009.
- VEENEMA, A. H.; NEUMANN, I. D. Maternal separation enhances offensive play-fighting, basal corticosterone and hypothalamic vasopressin mRNA expression in juvenile male rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, n. 3, p. 463–467, 2009.
- VERÍSSIMO, L. F. et al. Treatment with escitalopram modulates cardiovascular function in rats. **European journal of pharmacology**, v. 824, p. 120–127, 8 fev. 2018.
- VETULANI, J. Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 6, p. 1451–1461, nov. 2013.
- VON KÄNEL, R. et al. Effects of psychological stress and psychiatric disorders on blood coagulation and fibrinolysis: a biobehavioral pathway to coronary artery disease? **Psychosomatic medicine**, v. 63, n. 4, p. 531–44, 2001.
- WALKER, B. R. Glucocorticoids and cardiovascular disease. **European Journal of Endocrinology**, v. 157, n. 5, p. 545–559, 2007.
- WALKER, B. R.; WILLIAMS, B. C. Corticosteroids and vascular tone: mapping the messenger maze. **Clinical Science**, v. 82, n. 6, p. 597–605, 1 jun. 1992.
- WANG, Y. et al. The effects of escitalopram on myocardial apoptosis and the expression of Bax and Bcl-2 during myocardial ischemia/reperfusion in a model of rats with depression. **BMC Psychiatry**, v. 14, p. 349, 2014.
- WHITWORTH, J. A. et al. Cardiovascular consequences of cortisol excess. **Vascular health and risk management**, v. 1, n. 4, p. 291–9, 2005.
- WULSIN, A. C. et al. Adolescent chronic stress causes hypothalamo-pituitary-adrenocortical hypo-responsiveness and depression-like behavior in adult female rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 65, p. 109–117, 2016.
- WULSIN, L. R. Is depression a major risk factor for coronary disease? A systematic review of the epidemiologic evidence. **Harvard review of psychiatry**, v. 12, n. 2, p. 79–93, 2004.