

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Karen Natsumi Kosaka

**EPIGENÉTICA DA DEPRESSÃO: O PAPEL DOS miRNAs E DA
METILAÇÃO**

São Paulo
2017

Karen Natsumi Kosaka

**EPIGENÉTICA DA DEPRESSÃO: O PAPEL DOS miRNAs E DA
METILAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Biomedicina do Centro
Universitário São Camilo, orientado pela Profa.
Beatriz De Lorenzo, como requisito parcial
para a obtenção do título em Bacharel em
Biomedicina.

São Paulo

2017

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Kosaka, Karen Natsumi

Epigenética da depressão: o papel dos microRNAs da metilação/
Karen Natsumi Kosaka. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo,
2017.

76 p.

Orientação de Beatriz de Lorenzo

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro
Universitário São Camilo, 2017.

1. Depressão 2. Epigênese genética 3. Metilação de DNA 4.
MicroRNAs I. Lorenzo, Beatriz de II. Centro Universitário São Camilo III.
Título

CDD: 573.21

Karen Natsumi Kosaka

**EPIGENÉTICA DA DEPRESSÃO: O PAPEL DOS MICRO RNAs E DA
METILAÇÃO**

São Paulo, 04 de dezembro de 2017

Professora Orientadora: Prof^a. Dr^a. Beatriz Helena Pizarro De Lorenzo

Professor Examinador: Prof. Dr. Fabio Mitsuo Lima

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente à minha família, meu pai Gerson, meu irmão Nicolás, e em especial à minha mãe e melhor amiga, Vilma, por me ensinar o valor dos estudos e da dedicação, pela força e apoio financeiro, psicológico e emocional em toda minha trajetória acadêmica, não medindo esforços para proporcionar sempre o melhor para mim. Pelas conversas e os conselhos nos momentos que mais precisei de uma palavra amiga e por sempre me mostrar um caminho quando eu mesma penso estar perdida.

As minhas tias, Marina, Eneida e Célia que sempre torceram por mim, e que mesmo estando tão distantes se preocupam e me enchem de pequenos tesouros trazidos de minha amada terra natal.

Às colegas de classe, Gesislania de Sousa, obrigada por dividir tantos anseios e ideais semelhantes aos meus, pelas profundas discussões, conselhos e milhares de ensinamentos trocados nestes 5 anos de amizade. Ana Carolina Silva Cruz, a qual, sem ela não teria ingressado na Instituição que almejava me graduar. Letícia Dias Thomaz e Kátia Regina Arslanian pela cumplicidade, troca de conhecimentos e ótimos momentos de descontração.

À minha professora e orientadora Beatriz De Lorenzo.

Ao Centro Universitário São Camilo, seus docentes e funcionários, com os quais convivi durante a graduação.

Ao Bangtan por me mostrar que mesmo inseridos em contextos, culturas e realidades totalmente diferentes, nossas dúvidas, preocupações, anseios e sentimentos são os mesmos. Obrigada por sempre aliviar meus momentos de desespero e tensão com as mensagens de compreensão e motivação, por estimular minha criatividade e me proporcionar muitas risadas e alegrias.

A todos àqueles que me proporcionaram crescimento profissional e pessoal.

“Sempre sós, se dirigem ao Oeste ou ao Norte, até as Montanhas. Prosseguem. Abandonam Omelas, sempre adiante, e não voltam. O lugar para onde vão é ainda menos imaginável para nós, que a cidade da felicidade. Não posso descrevê-lo, em absoluto. É possível que não exista. Porém parece que sabem muito bem para onde se dirigem, os que se afastam de Omelas”.

Adaptado de: Ursula K. Le Guin

KOSAKA, Karen Natsumi. **Epigenética da depressão: o papel dos microRNAs e da metilação**. 2017. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo. São Paulo, 2017.

O transtorno de depressão maior (TDM) é um distúrbio mental que se apresenta como um conjunto de sintomas tais como tristeza, anedônia, diminuição da energia, sentimento de culpa ou baixa autoestima, distúrbios do sono, apetite e da concentração, que podem levar ao suicídio. De acordo com a OMS, estima-se que ela afeta cerca de 350 milhões de pessoas no mundo, sendo, dentre todos os transtornos mentais, a principal condição incapacitante nos indivíduos. É síndrome de patogenia pouco elucidada e desencadeada por fatores genéticos, ambientais e sociais de origem variada. Tem característica multifatorial com associação a outras doenças, e, portanto, influencia no prognóstico das mesmas e até agrava-as. Frequentemente, seu tratamento é difícil, de onde decorre a necessidade de melhor elucidá-la, desenvolver tratamentos eficazes e biomarcadores. Logo, este estudo teve como objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre as alterações epigenéticas, mais especificamente a metilação de genes relacionados com a depressão e o papel dos micro RNAs encontrados em pacientes deprimidos, suas contribuições para o entendimento da fisiopatologia da doença e aplicação destes como possíveis biomarcadores e alvos terapêuticos. Foram reunidas as principais informações sobre a metilação do DNA e as alterações dos microRNAs super e infra-expressos em pacientes com TDM, as quais foram correlacionadas com as hipóteses e derivantes mais relevantes da depressão: a hipótese serotoninérgica, em que a diminuição da serotonina leva à depressão; glutamatérgica, em que o aumento do glutamato gera aumento da neurotoxicidade; da neuroplasticidade, na qual hipotetiza-se que o estresse seja o principal causador da doença; a neurotrófica, na qual a diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) leva à depressão; e a neuroendócrina, atribuindo a disfunção do eixo HPA à resposta ao estresse como principal causa da TDM. Os resultados mostraram aumento da metilação do exon I e VI do promotor do gene do BDNF, que levou à diminuição da expressão do BDNF nas amostras de sangue dos pacientes, principalmente naqueles com comportamentos suicidas. Porém, estudos mostraram que este gene não é bom candidato a biomarcador no diagnóstico e tratamento, pois foi constatado que pacientes submetidos a curtos períodos de estresse não apresentaram alterações da metilação desse gene. Também foi observado aumento na metilação dos genes GLUT1 e 4, o que provocou, indiretamente, a ativação do eixo HPA, importante achado em pacientes com TDM. Sobre os estudos com miRNAs, nove relataram mais de 40 como potenciais biomarcadores do TDM, os quais foram relacionadas às hipóteses e alguns achados na depressão. Estas alterações epigenéticas auxiliam o entendimento da depressão e confirmam parte das hipóteses sobre o desencadeamento da mesma, sendo bem promissoras para o diagnóstico e tratamento deste transtorno.

Palavras chaves: Depressão; epigênese genética; metilação de DNA; microRNA.

KOSAKA, Karen Natsumi. **Epigenetics of depression: the role of Micro RNAs and the methylation**. 2017. 76 f. Completion of course work (Graduation in Biomedicine) – Centro Universitário São Camilo. São Paulo, 2017.

Major Depressive Disorder (MDD) is a mental illness characterized by symptoms such as sadness, anhedonia, decreased energy, feelings of guilt or low self-esteem, sleep disturbances, appetite, and concentration, which can lead to suicide. According to the WHO, it is estimated to affect about 350 million people worldwide, being the main disabling condition among all mental disorders. It is a syndrome triggered by genetic, environmental and social factors of varied origin. It is a multifactorial disease and is frequently associated with other diseases, interfering with its prognosis and even aggravating it. The treatment can be difficult, stimulating the need to better elucidate it and to develop effective treatments and good biomarkers. The objective of this study was to review the literature on epigenetic changes, specifically the methylation of genes related to depression and the pattern of expression of micro RNAs in depressed patients, as well as their contributions to pathophysiology and possible applications as biomarkers and therapeutic targets. The main information on DNA methylation and the alterations in the microRNAs in patients with MDD were collected and correlated with the most relevant hypotheses of the etiology of depression: the serotonergic hypothesis, in which the decrease of serotonin levels induces depression; the glutamatergic hypothesis, in which high levels of glutamate cause neurotoxicity; the neuroplasticity hypothesis, in which stress is considered the main cause of the disease; the hypothesis of the neurotrophic factor, where the expression of BDNF reduces depression; and the neuroendocrine hypothesis, which attributes to the HPA axis dysfunction, induced by a stress response, the main cause of MDD. The results showed increased methylation of the BDNF promoter exon I and VI, which leads to a reduction in BDNF protein in the patient's blood samples, especially in those with suicidal behavior. However, studies have shown that this gene is not a good biomarker for diagnosis and treatment since patients undergoing short periods of stress did not alter the methylation status of this gene. An increase in the methylation of GLUT1 and 4 genes was also observed, indirectly activating the HPA axis, which is an important finding in patients with MDD. In relation to the miRNA studies, more than 40 were found as potential biomarkers of MDD, which seems to confirm the hypothesis and some findings in depression. These epigenetic changes help understanding depression and confirm part of the hypotheses about its onset, making this a very promising diagnosis and possible treatment tools.

Keywords: Depression; epigenesis, genetic; DNA methylation; microRNA.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Teoria monoaminérgica.....	24
Figura 2 – Vias serotoninérgicas na depressão	26
Figura 3 – Mecanismo de atraso do efeito terapêutico dos antidepressivos	27
Figura 4 – Esquema da hipótese neurotrófica.....	30
Figura 5 – Mecanismo da neurotransmissão glutamatérgica	32
Figura 6 – Biogênese do miRNA	41
Figura 7 – Metilação catalisada pelas DNMTs.....	43
Figura 8 – Metilação catalisada pelos diferentes tipos de DNMTs.	44
Figura 9 – Principais mecanismos de repressão transcricional.....	45
Figura 10 – Diagrama da desregulação do feedback negativo do Eixo HPA na depressão	48
Figura 11 – Fração de citosina metilada em indivíduos com TDM versus indivíduos saudáveis.....	49

Lista de tabela

Tabela 1 – Taxas de prevalência de autorrelato de diagnóstico médico de depressão na população brasileira adulta	21
--	----

Lista de quadros

Quadro 1 – Principais alterações da metilação do DNA em pacientes com TDM	51
Quadro 2 – micro RNAs infra e supra expressos em pacientes com TDM	57

Lista de siglas

AD	Antidepressivos
Ago	Proteína Argonauta
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propriônico
5-HT _{2C}	Receptor de serotonina 5-hidroxitriptamina
5-HT	Serotonina ou 5-hidroxitriptamina
5mC	5-metilcitosina
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CA	Catecolamina
CpG	Citosina-fosfato-Guanina
DA	Dopamina
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
Dnmts	DNA metiltransferases
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
eIFs	Fatores de iniciação eucarióticos
FST	do inglês <i>forced swim test</i> - teste de nado forçado
GLUT	Transportador de glicose
GR	Receptores de glicocorticóides
HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
ICC	Insuficiência coronariana
KA	Cainato
LCR	Líquido cefalorraquidiano
L-glu	Glutamato
LH	do inglês <i>learned helplessness</i> - desamparo aprendido
LTP	Potencialização a longo prazo
MAO	Monoamino-oxidase
MBP	do inglês <i>methyl binding proteins</i>
MeCP	do inglês <i>methyl cytosine binding protein</i>
mRNA	RNA mensageiro
miRNAs	Micro RNAs
MYOD1	Mioblastos 1
NE	Norepinefrina
NMDA	N-metil-D-aspartato
NMDA-R	Receptor de N-metil-D-aspartato
PABP	Proteína de ligação à cauda poli-A
PBMC	Células mononucleares de sangue periférico
P-bodies	Corpos de processamento
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PFC	Córtex pré-frontal
pre-miRNA	miRNA precursor
pri-miRNA (s)	Micro RNAs primário(s)
RT-qPCR	PCR quantitativo em tempo real
RISC	Complexo de Indução do Silenciamento do RNA
RNase III	Ribonucleases III
RNA Pol	RNA Polimerase
rRNA	RNA ribossômico
SAM	S-adenil metionina

SERT	Transportador de serotonina
siRNA	<i>Short interfering RNAs</i>
snoRNA	RNAs nucleolares
snRNA	RNAs nucleares
SSRI	Inibidores da recaptação seletiva da serotonina
tRNA	RNA transcriptase
TDM	Transtorno depressivo maior
TPH	triptofano hidroxilase
TRBP	do inglês <i>TAR RNA binding protein</i>
TrxG	Proteínas trithorax
3'-UTR	Região não codificante 3'
ZEB 1	Homeobox 1 de Ligação a E-box em Dedo de Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS.....	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
4 DESENVOLVIMENTO	17
4.1.1 Definição, diagnóstico e classificação	17
4.1.2 Epidemiologia da depressão	19
4.1.3 Tratamento e diagnóstico	22
4.1.4 Etiopatologia da depressão	23
4.1.5 Hipótese Monoaminérgica.....	23
4.1.6 Hipótese neurotrófica	28
4.1.7 Hipótese glutamatérgica	30
4. 2 Epigenética.....	34
4.2.1 MicroRNAs	36
4.2.2 Biogênese dos MicroRNAs.....	38
4.2.3 Metilação do DNA	42
4.3 Epigenética na depressão	45
4.3.1 Alterações dos padrões de metilação na depressão	46
4. 3.2 miRNA na depressão	51
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

A depressão é uma síndrome multifatorial causada por uma alteração nos neurotransmissores, que pode ser desencadeada por fatores genéticos, ambientais e sociais de origem variada (SILVA; JUBARA, 2014). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima-se que ela afeta cerca de 350 milhões de pessoas no mundo, sendo dentre todos os transtornos mentais, a principal condição incapacitante nos indivíduos e também a que leva a piores condições de saúde geral na população mundial (MUNHOZ, 2012).

Clinicamente, a depressão é uma desordem mental que se apresenta como um conjunto de sintomas tais como tristeza, perda de interesse, diminuição da energia, sentimento de culpa ou baixa autoestima sendo acompanhada por distúrbios do sono ou apetite e diminuição na concentração para realização das atividades, podendo chegar aos extremos como o suicídio (UNITED KINGDOM, 2010). Este último acometendo mais de 800.000 pessoas por ano no mundo (OMS, 2017). No Brasil, o número de óbitos relacionados a episódio depressivo também é alto, tendo aumentado de 52 casos em 1996 para 500 casos em 2015 segundo o Sistema de Informações sobre Mortalidades do DATASUS (BRASIL, 2015).

A depressão pode ser classificado segundo dois sistemas, o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – Quarta Edição (DSM-IV), recentemente atualizado para a Quinta Edição (DSM-V) e a Classificação Internacional dos Transtornos Mentais e de Comportamento – Décima Revisão, da OMS (ICD-10), os critérios são semelhantes, mas não idênticos, diferindo no "limiar" do diagnóstico de um episódio depressivo clinicamente significativo, pois, o ICD-10 utiliza apenas quatro sintomas para o diagnóstico, enquanto que no DSM-V são sete sintomas. Em prática alguns estudos revelam que há grandes discrepâncias no número de diagnóstico enquanto outros observam resultados similares, revelando a necessidade de um diagnóstico melhor definido. Contudo a DSM-V é mais empregada por fornecer aos médicos melhores definições clínicas, além de ser utilizada nas diretrizes de pesquisas de tratamento (UNITED KINGDOM, 2010).

De acordo com a intensidade e quantidade dos sintomas, a depressão pode dispor de distintas classificações. Dentre as diversas classes, a depressão maior é a condição clássica desse grupo de transtornos, sendo definida pelo DSM-V pela presença da perda de interesse e humor deprimido, juntamente com quatro ou mais sintomas depressivos, totalizando cinco sintomas mínimos, os quais devem persistir durante duas semanas ou mais, sem histórico de um episódio maníaco, hipomaniaco ou misto (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). A depressão maior pode também ser subdividida em múltiplos subgrupos dependendo da condição clínica e das características atuais do episódio tais como a psicótica, melancólica, catatônica, pós-parto, sazonais, atípicas, crônicas e persistentes (PARKER; BROTHIE, 2009).

A depressão maior ou transtorno depressivo maior (TDM) pode ainda estar associado a outras doenças crônicas, bem como levar a piora dessas doenças como, as cardiopatias: principalmente em pacientes com insuficiência coronariana (ICC) ou após infarto agudo do miocárdio (pós-IAM); doenças endócrinas como: Diabetes Mellito, obesidade, hipo ou hipertireoidismo; dor crônica; doenças neurológicas como a doença de Parkinson que pode estar presente em até 50% dos pacientes com depressão e epilepsia, na qual a prevalência de depressão é alta atingindo de 20 a 50% dos pacientes com crises recorrentes (TENG; HUMES; DEMETRIO, 2005).

Foi visto que apenas 60% a 70% dos pacientes com TDM respondem à terapia antidepressiva. Dentre os indivíduos restantes, que não respondem ao tratamento, (cerca de 10% a 30% dos pacientes) vêm-se dificuldades na função social e ocupacional, declínio da saúde física e pensamentos suicidas (AL-HARBI, 2012).

Concomitantemente a todo este cenário, foram observadas altas taxas de recaída e baixas taxas de recuperação dos pacientes depressivos, o que leva à necessidade de desenvolver tratamentos eficazes e biomarcadores que podem prever a resposta individualizada ao tratamento e auxiliar no tratamento e manejo de pacientes com depressão maior (DWIVEDI, 2013; ZHANG; MEANEY, 2010). Além do mais, o melhor entendimento da fisiopatologia da depressão permitirá também alcançar maior eficácia e segurança no tratamento (ACIOLY et al., 2009).

Estudos recentes sugerem o papel crítico de mecanismos epigenéticos na plasticidade neuronal, neurogênese e transtornos psiquiátricos (VIALOU et al., 2013; WEI, 2015). Portanto estudar os marcadores epigenéticos pode auxiliar no

entendimento das interações gene-ambiente na depressão e proporcionar novas perspectivas para entender sua fisiopatologia (ZHANG; MEANEY, 2010). Como também fornecer, eventualmente, biomarcadores para prever a susceptibilidade e/ou desencadeamento da depressão, melhorar o diagnóstico e ajudar no desenvolvimento de terapias baseadas em manipulações epigenéticas (DALTON; KOLSHUS; MCLOUGHLIN, 2014).

A epigenética refere-se a mudanças na expressão do gene, sem que haja alterações na sequência de DNA (BAGOT et al., 2014) e envolve principalmente a metilação do DNA e modificações de histonas. A metilação de DNA, transferência de um grupo metilo para o carbono-5 do anel de citosina em um dinucleótido CpG, é um dos principais mecanismos de modificações epigenéticas (NUMATA et al., 2015).

Vários estudos têm mostrado alterações na metilação do DNA em pacientes com depressão (DALTON; KOLSHUS; MCLOUGHLIN, 2014; DRONGITIS et al., 2016; KAHL, 2016; NUMATA et al., 2015; SONG et al., 2014; VIALOU et al., 2013).

Dentre as várias modificações, as alterações na metilação do DNA de regiões promotoras do gene do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de pacientes com TDM têm sido bem relatadas (DALTON; KOLSHUS; MCLOUGHLIN, 2014; KUNDAKOVIC et al., 2015; MITCHELMORE; DEGE, 2014; SONG et al., 2014; UNTERNAEHRER et al., 2012). Este fator levou ao desenvolvimento de uma hipótese neurotrófica da depressão, em que há uma menor expressão de BDNF em pacientes depressivos, já seu aumento influenciaria na ação de antidepressivos (BETTIO, 2012).

O papel do miRNA também é apontado por vários autores. Os microRNAs são pequenos RNAs simples fita não codificadoras de proteínas que atuam na regulação da expressão de genes e da tradução de proteínas em muitos tecidos, incluindo o cérebro, tornando importante o estabelecimento de uma assinatura molecular de miRNAs, bem como de outros pequenos RNAs nas principais regiões do cérebro humano em doenças neuropsiquiátricas (SMALHEISER et al., 2014).

2 OBJETIVOS

Reunir e analisar as informações científicas relativas às alterações epigenéticas na depressão, com enfoque no papel da metilação do DNA e no papel dos micro RNAs como biomarcadores, alvos terapêuticos da depressão, além de suas respectivas contribuições no entendimento da fisiopatologia da doença.

3 METODOLOGIA

Para este trabalho foram realizadas consultas de periódicos científicos relevantes relacionados ao papel dos micro RNAs e da metilação do DNA na depressão. Foram utilizados artigos das bases de dados Pubmed, Google Acadêmico e no portal de revistas científicas Scielo. Além de livros e bibliografias literárias na área de Biologia Molecular e Neuropsiquiatria da biblioteca Pe. Inocente Radrizzani do Centro Universitário São Camilo.

Foram utilizados os seguintes descritores: depressão, transtorno depressivo maior, metilação, miRNA, epigenética, biomarcador, *depression*, *TDM*, *methylation*, *miRNA*, *epigenetic*, *biomarker*, *monoamine hypothesis*, *neurotrophic hypothesis*, *BDNF*, *glutamatergic hypothesis*, *neuroendocrine hypothesis*, *HPA*, *NMDA*.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1.1 Definição, diagnóstico e classificação

O termo depressão vem do latim *deprimere* ou “pressão baixa” e tem sido utilizado para se referir ao estado de melancolia (Rodrigues, 2000). Como sintoma, é definido como uma tristeza passageira podendo ser resultante de inúmeras circunstâncias ao longo da vida, como ao perder um bem material ou um ente querido. Já a síndrome depressiva é caracterizada por um estado emocional de tristeza persistente, raramente se apresentando de forma isolada, estando associada a outras alterações fisiológicas e cognitivas que comprometem a fisiologia e principalmente o desenvolvimento social e emocional (RODRIGUES, 2000; GUSMÃO, 2005). Como transtorno, a depressão não possui um conceito consolidado, devido à característica multifacetada em relação à sua etiologia, tipos e graus de sintomas clínicos, bem como o intervalo entre eles. Assim, a sua designação varia ao longo da história, de acordo com os autores, suas percepções e direcionamentos de estudo, épocas e culturas vigentes, por termos como: transtorno depressivo maior, melancolia, distímia, depressão integrante do transtorno bipolar tipos I e II, etc (DEL PORTO, 1999).

Atualmente, os critérios utilizados para o diagnóstico, classificação e especificação dos inúmeros estados depressivos são estabelecidos no Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais de 5ª edição (DSM-V), publicado em maio de 2013. De acordo com o manual, os transtornos depressivos são classificados em:

Transtorno disruptivo da desregulação do humor, transtorno depressivo maior (incluindo episódio depressivo maior), transtorno depressivo persistente (distímia), transtorno disfórico pré-menstrual, transtorno depressivo induzido por substância/medicamento, transtorno depressivo devido à outra condição médica, outro transtorno depressivo especificado e transtorno depressivo não especificado (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014, p. 199).

Complementarmente à classificação, também são utilizados especificadores de gravidade e curso: leve, moderada e alta, de remissão parcial ou completa, com características psicóticas e a não especificada; e os especificadores de sintomas do

episódio atual como: sintomas ansiosos, características mistas, características melancólicas, características atípicas, características psicóticas congruentes/incongruentes com o humor, catatonia, início no periparto, padrão sazonal que consiste somente em episódio recorrente (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

Dentre as classes, o transtorno depressivo maior (TDM) representa condição clássica neste grupo de transtornos e para seu diagnóstico é obrigatória a presença do humor deprimido (disforia) ou da perda de interesse ou prazer (anedônia). Além desses, é necessária a presença de no mínimo 4 ou mais dos seguintes sintomas: insônia ou hipersônia, fadigas e falta de energia, sentimento de culpa ou inutilidade, diminuição do raciocínio e concentração, agitação ou retardo psicomotor, mudanças no apetite ou peso sem estar em dieta e pensamentos e tentativas suicidas (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). Estes sintomas afetam prejudicialmente a qualidade de vida do indivíduo nos aspectos sociais, físicos e ocupacionais (LIMA; FLECK, 2009). Para o diagnóstico eles devem estar presentes por quase todos os dias durante um mesmo período de tempo, por duas semanas ou mais, para serem considerados, com exceção da alteração do peso e pensamentos e tentativas suicidas. Ademais, é importante ressaltar que não deve haver episódio maníaco ou hipomaníaco, pois teria característica muito semelhante ao transtorno bipolar tipo I, sendo necessário até mesmo um diagnóstico diferencial entre eles e o transtorno distímico, caracterizado por um TDM crônico de permanência maior que dois anos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

O TDM é um distúrbio multifatorial, que pode ser desencadeado por fatores de risco genéticos e ambientais, os quais também auxiliam no prognóstico da doença. Já foi visto, por exemplo, que indivíduos que têm familiares de primeiro grau com transtorno depressivo possuem um risco de duas a quatro vezes maior de desenvolver a doença ao compararmos com a população geral (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). Porém a influência dos fatores genéticos corresponde a apenas cerca de 30-40% da suscetibilidade ao TDM. Os outros 60-70% restantes são efeitos ambientais indivíduo-específicos, principalmente representados pelos eventos adversos na infância como o abuso sexual, o estresse devido as adversidades interpessoais, traumas de vida, baixo apoio social, problemas conjugais, etc.

A TDM também pode estar associada a doenças crônicas como as cardiopatias, principalmente em pacientes com insuficiência coronariana (ICC) ou após infarto agudo do miocárdio (pós-IAM); doenças endócrinas, como Diabetes Melito, obesidade, hipo ou hipertireoidismo; dor crônica; doenças neurológicas, como a doença de Parkinson, que pode estar presente em até 50% dos pacientes com depressão, e epilepsia, nos quais a prevalência de depressão é alta, atingindo de 20 a 50% dos pacientes com crises recorrentes (TENG; HUMES; DEMETRIO, 2005). Estas doenças ou condições crônicas e/ou incapacitantes podem vir a aumentar os riscos de episódios depressivos maiores, bem como serem agravadas possuindo maior probabilidade de tornarem-se crônicos ao se comparar com episódios depressivos em indivíduos saudáveis (HASLER, 2010). Além disso, outros transtornos também podem ocorrer concomitantemente ao TDM, dos quais os mais frequentes são: o transtorno de pânico, transtorno obsessivo-compulsivo, anorexia nervosa, bulimia nervosa, transtorno de personalidade *borderline* e aqueles relacionados a substâncias, tais como drogas e/ou medicamentos, como por exemplo os álcool, barbitúricos, e benzodiazepínicos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

4.1.2 Epidemiologia da depressão

Segundo a OMS o TDM é a quarta causa de incapacidade em todo o mundo e, conforme suas estimativas, até 2020 ela ocupará a segunda posição entre as doenças mais incapacitantes, e que levam a piores condições de saúde geral na população mundial (KESSLER; BROMET, 2013). Estima-se que a depressão afete cerca de 350 milhões de pessoas no mundo (OMS, 2017), e já se avalia que, nos Estados Unidos, mais de 26% da população adulta esteja afetada pela doença (KESSLER; BROMET, 2013). A prevalência da depressão neste país é de aproximadamente 7%, sendo diferente entre as faixas etárias, já que indivíduos de 18 a 29 anos apresentam prevalência três vezes maior do que em indivíduos acima dos 60 anos. A discrepância também afeta os gêneros, pois pessoas do sexo feminino possuem índices de 1,5 a 3 vezes mais altos do que as do sexo masculino a partir da adolescência (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

No Brasil, assim como em muitos países, existem poucos estudos epidemiológicos sobre as taxas de prevalência e incidência de depressão devido à dificuldade da utilização de instrumentos e escalas para seu diagnóstico, bem como sua classificação. Contudo, estudos recentes vêm sendo desenvolvidos a fim de contribuir com o desenvolvimento de melhorias nas políticas públicas de saúde, prognóstico e o esclarecimento de fatores de risco e seus agravantes, permitindo diminuir a incidência e a morbidade causada pelo transtorno (LIMA, 1999).

De acordo com Almeida, Dractu e Laranjeira (1996) citado por Ruschi e colaboradores (2007, p. 275), a depressão é considerada um grave problema de saúde no Brasil, estimando-se afetar aproximadamente 2 a 5% da população em geral.

Em um estudo mais recente de Stopa e colaboradores (2013) encontraram uma prevalência de 16,1% de depressão na população adulta brasileira, com associação muito forte a fatores sociais como pobreza, violência e baixa escolaridade, além de forte relação com o sexo feminino. Neste último caso, essa associação deve-se, principalmente, à maior exposição das mulheres a eventos estressantes e a maior cuidado com sua saúde e, conseqüentemente, maior procura dos serviços de saúde. Em seu trabalho, os autores buscaram a prevalência do autorrelato da depressão utilizando uma escala denominada Escala de Depressão Pós-Natal de Edimburgo (EPDS). Embora esta escala seja originalmente utilizada em mulheres no período pós-parto, a EPDS também pode ser utilizada em outras situações para a população em geral (LIMA, 1999; ANDRADE et al., 2012). A escolha desta escala também se deveu ao fato da população estudada ter características sociais semelhantes às de outras na qual ela foi utilizada, contudo, ela ainda pode favorecer e superestimar o diagnóstico na população do sexo feminino devido ao seu objetivo inicial (STOPA et al., 2013).

Neste estudo, ainda foram identificadas taxas de prevalência de acordo com categorias como: sexo, sendo 3,9% para o masculino e 10,9% para o feminino; faixa etária, com maior prevalência (11,1%) em pessoas com idade entre 60 e 64 anos; raça/cor da pele, em que os indivíduos de cor branca obtiveram a maior taxa (9%); nível de escolaridade, em que indivíduos sem instruções ou com ensino fundamental incompleto e aqueles com superior completo obtiveram as maiores taxas (8,6 e 8,7

respectivamente); local de residência, rural e urbana, esta última apresentando a maior taxa (8%); e região, sendo a sudeste de maior prevalência (12,6%) (Tabela 1) (STOPA et al., 2013).

Tabela 1 – Taxas de prevalência de autorrelato de diagnóstico médico de depressão na população brasileira adulta

Categorias	Sub-categorias	Prevalência de Depressão (%)
Sexo	Homens:	3,9
	Mulheres:	10,9
Faixa etária	18-29 anos:	3,9
	30-59 anos:	8,9
	60-64 anos:	11,1
	65-75 anos:	9,9
	+ 75 anos:	6,9
Cor da pele	Branca:	9
	Preta:	5,4
	Parda:	6,7
Nível de escolaridade	Sem instruções e Ensino fundamental incompleto:	8,6
	Ensino fundamental completo e Médio incompleto:	6,9
	Médio completo e superior incompleto:	6,4
	Superior completo:	8,7
Local de Residência:	Rural:	8,0
	Urbana:	5,6
Regiões:	Norte:	3,1
	Nordeste:	5,0
	Sul:	8,4
	Sudeste:	12,6
	Centro-Oeste:	7,2

Fonte: Adaptado de (STOPA et al., 2015).

O número de óbitos relacionados a episódio depressivo também é alto no Brasil, tendo aumentado de 52 casos em 1996 para 468 casos em 2013 nos hospitais do Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2015). A depressão também causa alta taxa de mortalidade devido ao número de suicídios, que acomete mais de 800.000 pessoas por ano, sendo a segunda principal causa de morte em pessoas de 15 a 29 anos (OMS, 2017).

4.1.3 Tratamento e diagnóstico

Atualmente existem diversos fármacos antidepressivos que são classificados de acordo com o seu mecanismo de ação. No geral, esses medicamentos aumentam a concentração de neurotransmissores na fenda sináptica por meio da inibição da degradação, bloqueio de recaptura neuronal e/ou atuação em auto-receptores pré-sinápticos (MORENO; MORENO; SOARES, 1999). Contudo, apenas 60% a 70% dos pacientes com TDM respondem à terapia antidepressiva. Dentre os indivíduos que não respondem ao tratamento, cerca de 10% a 30% dos pacientes, veem-se dificuldades na função social e ocupacional, declínio da saúde física e pensamentos suicidas (AL-HARBI, 2012). Concomitantemente a todo este cenário, foram vistas altas taxas de recaída e baixas taxas de recuperação dos pacientes depressivos, o que leva à necessidade de desenvolver tratamentos eficazes e biomarcadores que podem prever a resposta individualizada ao tratamento e auxiliar na terapêutica e manejo de pacientes com depressão maior (DWIVEDI, 2013; ZHANG; MEANEY, 2010). Além disso, o melhor entendimento da fisiopatologia da depressão permitiria alcançar maior eficácia e segurança no tratamento (ACIOLY et al., 2009).

Embora saiba-se bastante sobre as correlações neuroanatômicas, neuroendócrinas e neurofisiológicas do transtorno depressivo maior, ainda não há disponível no mercado nenhum teste laboratorial que produza resultados com sensibilidade e especificidade suficientes para o diagnóstico deste transtorno (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014). Dentre os parâmetros de diagnóstico, a hiperatividade do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA), apresentando altos níveis de cortisol e de aldosterona, era a anormalidade mais amplamente investigada na associação a episódios depressivos maiores e parece estar associada a melancolia, características psicóticas e riscos para suicídio (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014; DUAILIBI; SILVA; MODESTO, 2013). Em decorrência a esta hiperatividade, outras alterações também podem ser observadas, tais como o aumento da glicose, da pressão arterial, diminuição do fluxo renal (DUAILIBI; SILVA; MODESTO, 2013). Estudos moleculares também indicaram a participação de variantes de genes que codificam para fatores neurotróficos, as quais se encontram diminuídos em pacientes depressivos, e citocinas pró-

inflamatórias, as quais se encontram aumentadas, como por exemplo a IL-6. Além disso, estudos de ressonância magnética funcional fornecem evidências de anormalidades em sistemas neurais específicos envolvidos no processamento das emoções, na busca por recompensa e na regulação emocional em adultos com depressão maior (DUAIBI; SILVA; MODESTO, 2013).

4.1.4 Etiopatologia da depressão

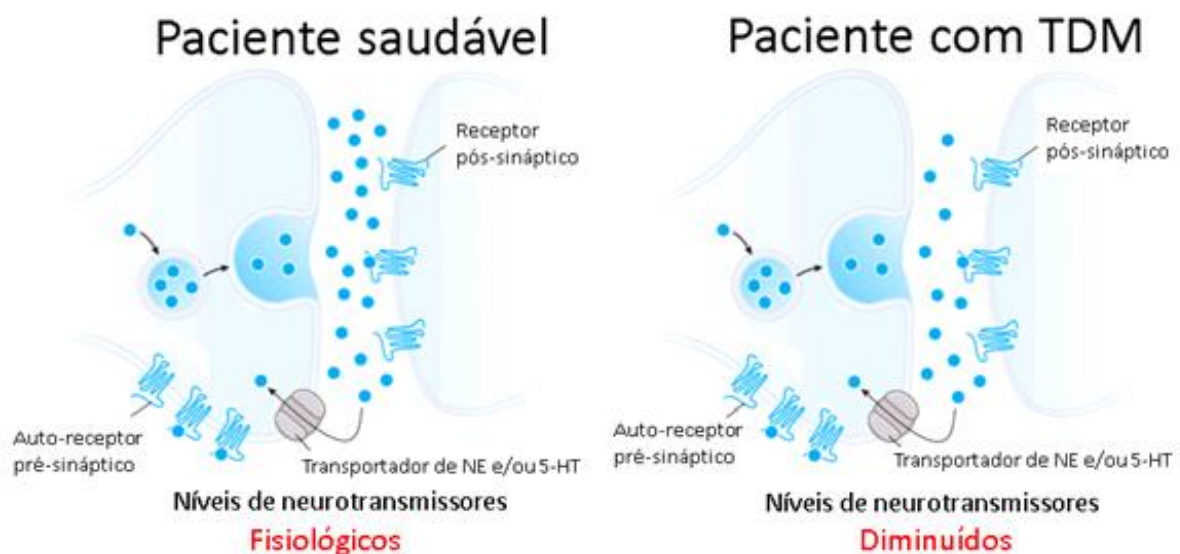
Os primeiros conceitos dos mecanismos patológicos da depressão foram descritos por meio de estudos genéticos moleculares, no intuito de desvendar os genes responsáveis pela hereditariedade da depressão. Entre os vários estudos realizados, as análises de genes candidatos do sistema serotoninérgico, como a tirosina hidroxilase, o transportador de serotonina 5-hidroxitriptamina (5-HT) e o seu receptor 5-HT_{2C} exibiram resultados pertinentes. Além disso, a neurociência, a qual abrange desde estudos moleculares, celulares e genéticos até técnicas de imagem cerebral, foi essencial para o desenvolvimento dos estudos acerca da biogênese dos transtornos depressivos, ampliando assim o conhecimento das maquinarias celular e molecular que regulam o comportamento (BONDY, 2002).

4.1.5 Hipótese Monoaminérgica

A primeira hipótese da etiopatologia da depressão foi formulada em 1965, propondo que a depressão advém de uma deficiência funcional dos transmissores monoaminérgicos cerebrais, mais especificamente a serotonina (5-HT) e das catecolaminas norepinefrina (NE) e dopamina (DA) (Figura 1). Estes neurotransmissores monoaminérgicos originam-se no tronco cerebral e mesencéfalo, projetando-se difusamente pelo córtex e sistema límbico, onde atuam na modulação das atividades corticais e subcorticais e na regulação da atividade psicomotora, apetite, sono e humor (LAFER; VALLADA FILHO, 1999). Evidências dessa hipótese foram atestadas por meio de observações clínicas e experimentos em que o anti-

hipertensivo reserpina provocou depleção das reservas pré-sinápticas de NE, 5-HT e DA, induzindo uma condição semelhante à depressão. Em contraste aos efeitos da reserpina, observou-se que alguns pacientes tratados com iproniazida apresentavam aumento das concentrações cerebrais de NE e 5-HT inibindo a sua recaptação e/ou inibindo a enzima monoamino-oxidase (MAO). Assim, foram observados sintomas de euforia e comportamento hiperativo (BARCHAS; ALTEMUS, 1999). Sugerindo, desta forma, que a depressão é causada por uma diminuição dos neurotransmissores no Sistema Nervoso Central (SNC) (HASLER, 2010) (Figura 1).

Figura 1 – Teoria monoaminérgica.



Fonte: Adaptado de (GOLAN, 2009).

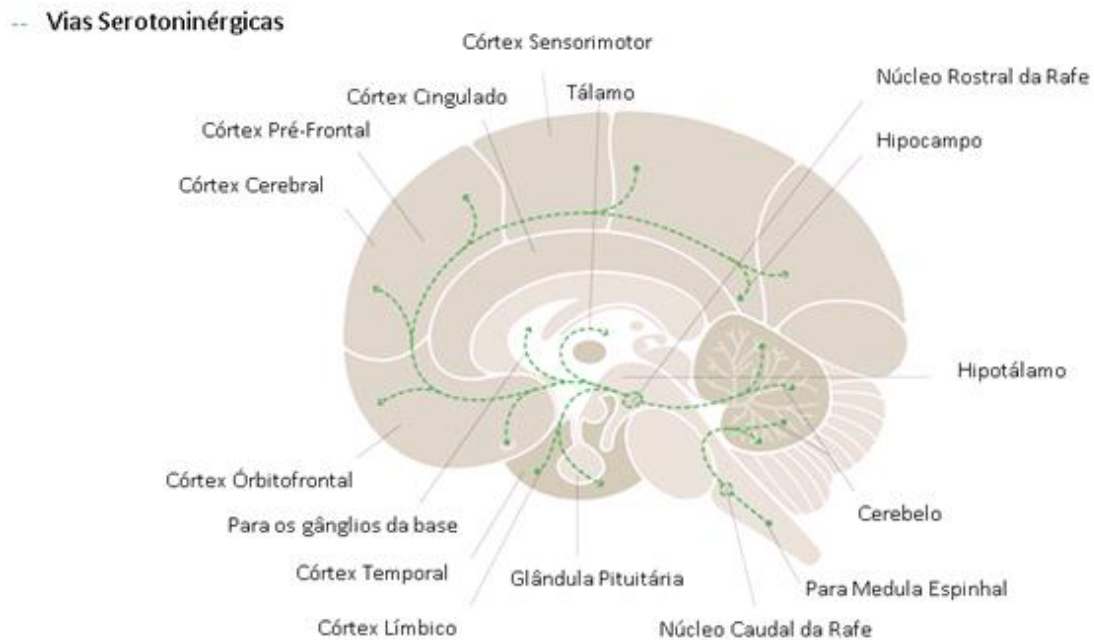
Dentre os neurotransmissores, a serotonina desempenha papel mais importante na depressão, e é sintetizada nos neurônios serotoninérgicos, prevalentemente localizados no tronco encefálico. Os neurônios serotoninérgicos possuem seus corpos celulares no núcleo da rafe e seus axônios são projetados para o córtex frontal, onde podem exercer funções reguladoras de humor, e para áreas límbicas, onde podem modular emoções, principalmente a ansiedade (KHARADE; GUMATE; NAIKWADE, 2010) (Figura 2). As projeções serotoninérgicas também chegam ao hipotálamo, onde podem regular a alimentação, o apetite e o peso, o desejo sexual e o ciclo sono-vigília (KHARADE; GUMATE; NAIKWADE, 2010) (Figura 2). Segundo Hasler (2010), na hipótese serotoninérgica da depressão, a 5-HT encontra-se diminuída, por alguns motivos, como a depleção de triptofano, substrato para a produção da serotonina ou, de acordo com Zhang, Gainetdinov e Beaulieu (2005), a perda de função no gene que

codifica para a enzima triptofano hidroxilase-2, levando à depleção do neurotransmissor e, por consequência, o desenvolvimento de sintomas depressivos em indivíduos com propensão, como os de remissão completa, e os indivíduos saudáveis com histórico familiar de depressão. Há também, evidências de alterações no receptor 1-A de serotonina, o qual regula a função da serotonina (HASLER et al., 2007; NEUMEISTER et al., 2004). Essa diminuição da disponibilidade do receptor foi encontrada em múltiplas áreas cerebrais de pacientes com TDM, embora não seja específica, pois também é encontrada em pacientes com transtorno de pânico e epilepsia (NEUMEISTER et al., 2004; HASLER et al., 2007). Outra hipótese inicialmente analisada por muitos autores sugere que uma maior disponibilidade da monoamina oxidase cerebral (MAO), enzima responsável pela metabolização da serotonina e norepinefrina, causaria deficiência de ambos neurotransmissores (CHIUCCARIELLO et al., 2014; MEYER; GINOVART; BOOVARIWALA, 2006).

Outros dois neurotransmissores cuja redução está relacionada à depressão são a norepinefrina e a dopamina (MENDELS; FRAZER, 1974 apud HASLER et al. 2004, p. 1772). Os neurônios noradrenérgicos projetam-se para a amígdala e o hipocampo, estando relacionados à memória emocional e ao estresse. Seus corpos celulares estão localizados no locus ceruleus do tronco cerebral e são projetados para o hipotálamo, núcleos basais, sistema límbico e córtex cerebral (ALMADA; BORGES; MACHADO, 2014). A disfunção do sistema noradrenérgico central na fisiopatologia do TDM tem sido observada com base em estudos da diminuição do metabolismo da norepinefrina, aumento da atividade da tirosina hidroxilase e diminuição da densidade do transportador de norepinefrina no locus ceruleus em pacientes deprimidos (CHARNEY; MANJI, 2004). Já a dopamina está distribuída em regiões cerebrais específicas conhecidas como vias dopaminérgicas mesocortical, mesolímbica e nigroestriatal. A via mesocortical dopaminérgica fornece projeções para o córtex pré-frontal e córtex cingulado mediano, enquanto que o sistema mesolímbico de dopamina inerva o núcleo accumbens (Nac), região que desempenha papéis cruciais na locomoção, aprendizagem, comportamentos de risco, comportamento alimentar, motivação sexual, e principalmente como motivação e recompensa (MALETIC et al, 2007). Esta última região também tem sido associada à depressão, pois a diminuição de dopamina no Nac causa sintomas anedônicos e diminuição do desempenho em

tarefa de processamento de recompensa, tanto em ratos quanto em seres humanos, sintomas condizentes com a de pacientes deprimidos (SHIRAYAMA; CHIKA, 2006).

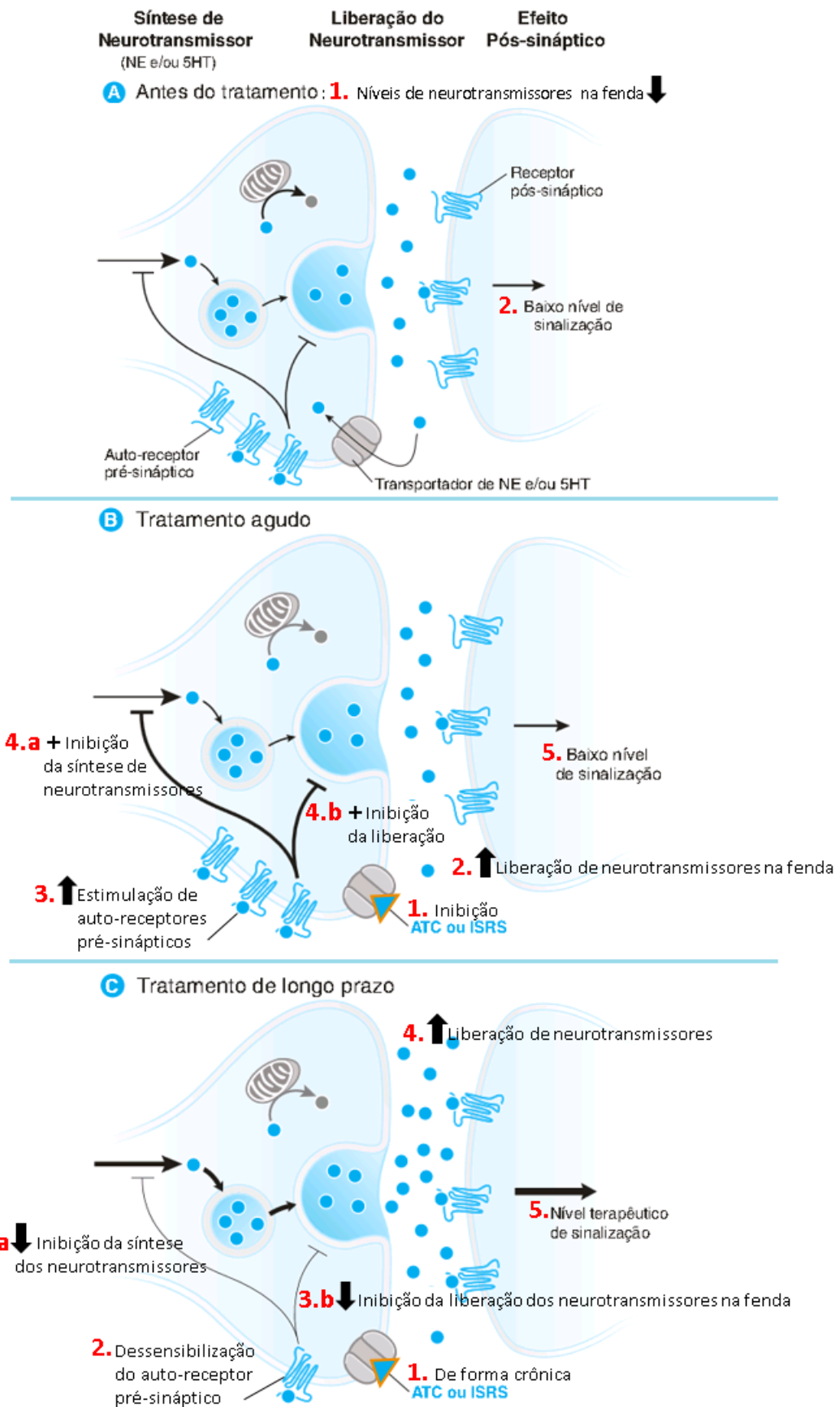
Figura 2 – Vias serotoninérgicas na depressão.



Fonte: Adaptado de (LUNDBECK INSTITUTE CAMPUS, 2017).

Contudo algumas inconsistências foram logo identificadas na teoria monoaminérgica. Foi visto que os antidepressivos aumentam os níveis de NE e 5-HT horas após sua administração, porém seu efeito terapêutico ocorre somente após algumas semanas, o que levou à necessidade do estabelecimento de novas hipóteses para essa latência na resposta (LAFER; VALLADA FILHO, 1999). Logo foi proposta a hipótese das alterações da quantidade e sensibilidade dos receptores monoaminérgicos (Figura 3). Considerando que sua expressão não é estática, a quantidade e afinidade podem ser reguladas por muitos fatores, como, por exemplo, pela concentração do neurotransmissor. Altas concentrações de neurotransmissor pode causar redução compensatória na expressão do receptor e vice-versa. Uma alteração frequentemente relatada é a supersensibilidade dos adrenoreceptores α_2 pré-sinápticos, que modulam a liberação de NE (BRIGITTA, 2002; CHARNEY; MENEKES; HENINGER, 1981). Mas, devido à possibilidade destas alterações serem mediadas pelas adaptações dos neurônios monoaminérgicos em resposta à administração crônica de fármacos, ao invés de representarem o efeito terapêutico, a teoria também ficou a desejar (LAFER; VALLADA FILHO, 1999; MORENO; MORENO; SOARES, 1999).

Figura 3 – Mecanismo de atraso do efeito terapêutico dos antidepressivos.



Fonte: Adaptado de (GOLAN, 2009).

Outra evidência da inconsistência da teoria monoaminérgica foi demonstrada por um estudo onde aplicou-se de uma mistura livre de triptofano, precursor da DA e NE, levando à depleção de NE, o qual não induziu ou piorou os sintomas de depressão em controles saudáveis ou em pacientes não medicados, o que sugere que a deficiência de monoamina por si só não é suficiente para explicar as evidências clínicas e a participação no mecanismo da depressão (BRIGITTA, 2002). Por conseguinte, mecanismos adicionais foram propostos incluindo alterações neurodegenerativas e inflamatórias, as quais estão potencialmente associadas à patogênese dos transtornos do humor; disfunções do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), redução da expressão (*downregulation*) de receptores de hormônios glicocorticóides (GR), que causa prejuízo no controle do *feedback* negativo do eixo HPA na depressão, a qual gerou posteriormente a teoria neuroendócrina, na qual a disfunção do eixo HPA seria a principal causadora das alterações neurológicas em situações de estresse crônico. Além de alterações na neurotransmissão e neuroplasticidade de monoaminas, encontraram-se modificações na expressão de muitas proteínas envolvidas na regulação epigenética, bem como os genes do relógio biológico no hipocampo e no córtex frontal, que podem ser centrais na gênese de comportamentos depressivos. Ademais, dados recentes indicaram que mecanismos epigenéticos, como modificações de histonas e metilação do DNA, podem afetar diversos caminhos que levam a comportamentos depressivos em modelos animais (MASSART; MONGEAU; LANFUMEY, 2012).

4.1.6 Hipótese neurotrófica

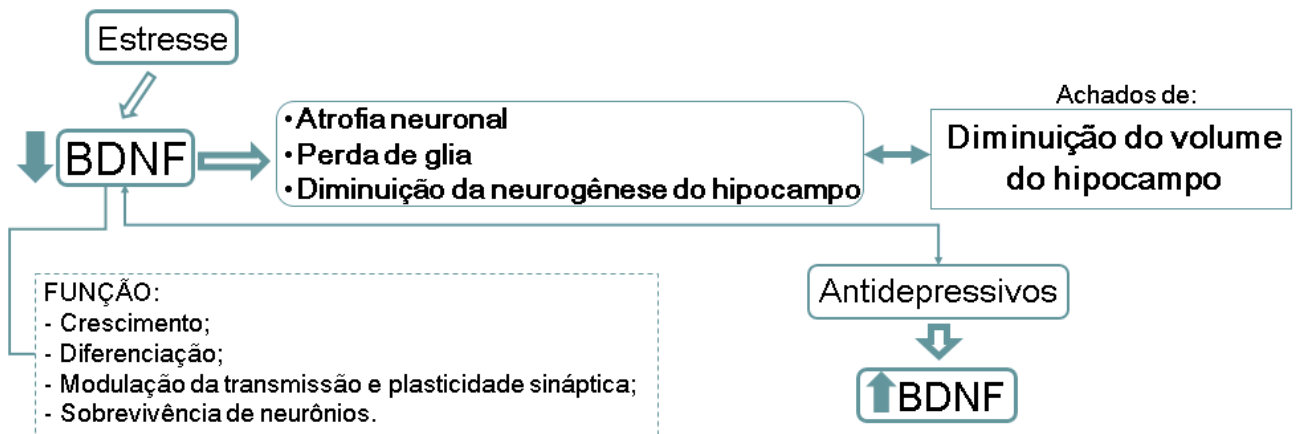
Com o avanço da tecnologia e a criação de métodos de neuroimagem, foram possíveis novas descobertas e hipóteses sobre a neurobiologia da depressão, por possibilitar a visualização das regiões envolvidas na fisiopatologia desses transtornos (DUMAN; HENINGER; NESTLER, 1997). Uma das primeiras evidências foi analisada por Sheline e colaboradores (1996), em um estudo de imagem do cérebro, mostrando que os pacientes com TDM possuíam redução do volume das regiões límbicas implicadas na depressão, principalmente no hipocampo e no córtex pré-frontal (PFC). Essa informação foi confirmada por estudos posteriores (DUMAN; LI, 2012; MALLER;

DASKALAKIS; FITZGERALD, 2007; NEUMEISTER et al., 2005; SHIRAYAMA et al., 2002). Outras evidências também contribuíram para a relação entre o hipocampo, o PFC e a depressão, algumas pesquisas *post-mortem* mostraram redução no tamanho dos neurônios do hipocampo de pacientes depressivos (MIGUEL-HIDALGO; RAJKOWSKA, 2002; KAREGE et al., 2005). Além disso, estudos pré-clínicos mostraram que a exposição repetida ao estresse provocou atrofia de neurônios no hipocampo e PFC (DUMAN; MONTEGGIA, 2006). Tais dados indicam que esta atrofia contribui para a fisiopatologia da depressão (DUMAN; LI, 2012). Posteriormente, foi descrito que o hipocampo é uma região rica em neurotrofinas, das quais a mais predominante, é o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (AUTRY; MONTEGGIA, 2012). Este fator pertence a uma classe de neurotrofinas que medeiam o crescimento, diferenciação, modulação da transmissão e plasticidade sináptica, bem como a sobrevivência de neurônios (BINDER, SCHARFMAN, 2004; HUANG; REICHARDT, 2001). Também foi mostrado que a exposição ao estresse físico ou social diminuem os níveis de BDNF no hipocampo e PFC, em estudos com roedores (DUMAN; MONTEGGIA, 2006). Ademais, ao considerarmos que os eventos estressores são fatores ambientais com forte correlação com o TDM, pode se inferir uma correlação entre eles, o que levou ao desenvolvimento de estudos na tentativa elucidar a relação entre a TDM, o estresse, a diminuição do volume do hipocampo e o BDNF (SHIRAYAMA et al., 2002).

Foi verificado que o tratamento crônico com antidepressivos bloqueou totalmente a regulação negativa da expressão do BDNF no hipocampo induzido pelo estresse, demonstrando assim, que o tratamento antidepressivo reverte as ações distróficas do estresse protegendo o neurônio dos seus efeitos (NIBUYA; MORINOBU; DUMAN, 1995). Além disso, foi visto que a administração de BDNF no hipocampo produz efeito antidepressivo em dois modelos comportamentais de depressão: o desamparo aprendido (LH- do inglês, *learned helplessness*) e o teste de nado forçado (FST – do inglês, *forced swim test*) (SHIRAYAMA et al., 2002). De modo similar, em humanos, foi verificado que o nível de BDNF estava diminuído no soro de pacientes depressivos sem tratamento enquanto que, em pacientes tratados com antidepressivos, o nível BDNF estava significativamente maior (SHIMIZU et al., 2003; BOCCHIO-CHIAVETTO et al., 2010).

Estas pesquisas contribuíram para a formulação da hipótese neurotrófica, a qual propõe que a depressão resulta da diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) em resposta ao estresse, levando à atrofia neuronal, diminuição da neurogênese do hipocampo e perda de glia, e que o tratamento com antidepressivos bloqueia e/ou reverte esta atrofia e perda celular (Figura 4) (DUMAN; HENINGER; NESTLER, 1997). Dado que a expressão do BDNF é diminuída pelo estresse na TDM, bem como aumentada pelos antidepressivos, e normalizada em pacientes com TDM em tratamento com antidepressivos, muitos pesquisadores consideram a possibilidade do BDNF atuar como um biomarcador e também ser um alvo promissor para o tratamento do TDM (AUTRY; MONTEGGIA, 2012).

Figura 4 – Esquema da hipótese neurotrófica.



Fonte: Própria (2017).

Nota: Esquema elaborado para resumir a teoria neurotrófica.

4.1.7 Hipótese glutamatérgica

O glutamato (L-glu) é o principal neurotransmissor responsável por mediar a grande maioria das transmissões excitatórias rápidas no cérebro, sendo encontrado em altas concentrações no tecido nervoso. Este neurotransmissor, até pouco tempo atrás, era mais conhecido por sua participação no metabolismo celular, por estar localizado dentro de compartimentos intracelulares como o citosol e a mitocôndria de diversos tipos de células do SNC, além de ser precursor metabólico do GABA. Como

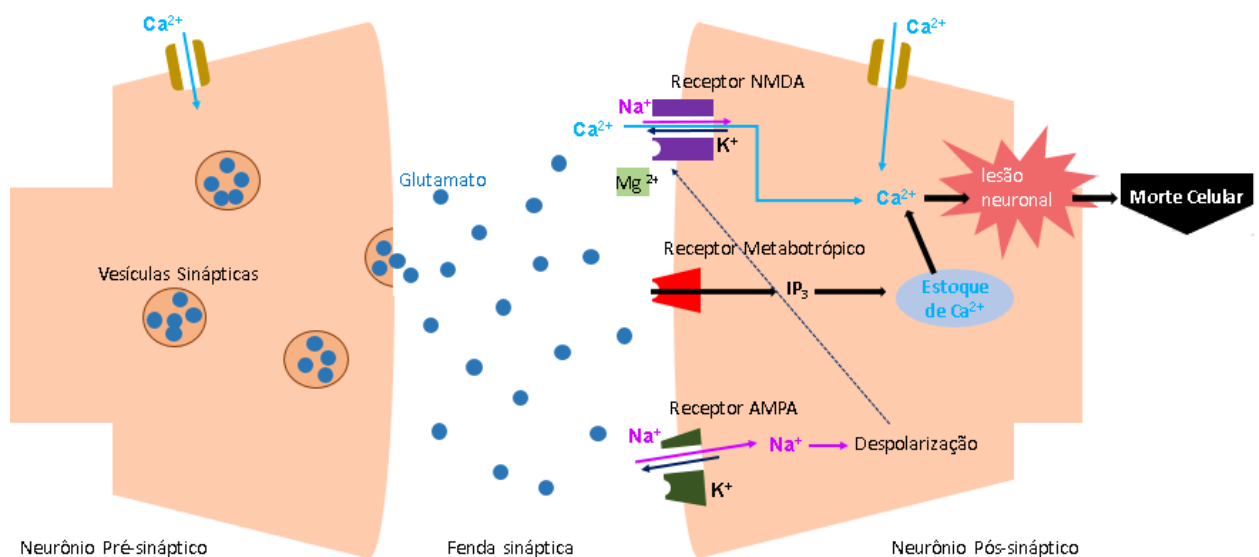
neurotransmissor, o glutamato é responsável pela plasticidade neuronal (NICIU; KELMENDI; SANACORA, 2012).

A sinapse glutamatérgica ocorre entre os terminais nervosos pré-sinápticos e as espinhas dendríticas pós-sinápticas (sinapses axo-dendríticas) ou terminações nervosas adjacentes (sinapses axo-axonais), atuando nos receptores disponíveis na membrana pós-sináptica, os quais são classificados em duas grandes categorias: receptores ionotrópicos e metabotrópicos. Os receptores ionotrópicos estão acoplados a canais iônicos, que permitem a passagem de cátions em resposta à ligação deste com seu agonista, desencadeando fenômenos elétricos de instauração e resposta rápida (Ca^{2+} , Na^{+} e K^{+}) (Figura 1) (NICIU; KELMENDI; SANACORA, 2012). Já os metabotrópicos estão acoplados a proteínas G (Figura 1) e, uma vez ativadas pela ligação do agonista, promovem ou inibem uma cascata de sinalização, gerando respostas prolongadas que podem se traduzir em adaptações moleculares e mudanças na expressão gênica, processos importantes para os mecanismos moleculares subjacentes à plasticidade da memória (MEDINA MARIN; ESCOBAR, 2002).

Existem três tipos de receptores ionotrópicos: o N-metil-D-aspartato (NMDA), o ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propriônico (AMPA) (Figura 1) e o cainato (KA). Dentre esses, o mais estudado é o NMDA devido à sua maior permeabilidade ao Ca^{2+} do que os receptores AMPA e KA, conferindo um papel mais ativo em mecanismos neurotóxicos. Estes receptores são ainda classificados de acordo com os diferentes tipos de subunidades protéicas que os formam, o que lhes confere maior ou menor permeabilidade ao influxo de íons e, conseqüentemente, funcionalidades distintas. Foram identificadas três famílias de subunidades formadoras de receptor de NMDA, a NR1, a NR2AD e a NR3A-B (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012), sendo que cada uma delas possui uma função específica. A NR1 é essencial para o neurodesenvolvimento, já que um estudo em camundongos *knockout* para NR1 mostrou os animais morriam devido à insuficiência respiratória. Entretanto, em camundongos NR1-*knockout* específicos para a área hipocampal CA1 houve um desenvolvimento grosseiramente normal, com prejuízo da potencialização a longo prazo (LTP) da memória, correlação molecular e eletrofisiológica da aprendizagem e memória em neurônios piramidais CA1 do hipocampo (NICIU; KELMENDI; SANACORA, 2012).

Sabe-se que o glutamato pode levar a neurotoxicidade, mecanismo que possibilita a justificativa de alguns achados, tais como a degeneração de neurônios e células gliais, distúrbios da neuroplasticidade e as alterações estruturais no hipocampo observadas na depressão (SMAGA et al., 2014). A toxicidade glutamatérgica ocorre pelo seguinte mecanismo: quando a membrana pós-sináptica está em seu potencial de repouso, os canais NMDA encontram-se bloqueados por um íon magnésio (Mg^{2+}) que impede o influxo de Ca^{2+} para o terminal pós-sináptico. Ao sofrer despolarização pós-sináptica, os íons Mg^{2+} são expulsos dos canais NMDA, permitindo o influxo de Ca^{2+} a favor de seu gradiente de concentração, este influxo de Ca^{2+} regula a excitabilidade da membrana, bem como a intensidade da transmissão sináptica pela ativação de cascatas de sinalização intracelular. Quando a concentração de L-Glu na fenda sináptica é muito alta há uma superestimulação de seus receptores e um excessivo influxo de Ca^{2+} no terminal pós-sináptico, que junto da liberação do Ca^{2+} das reservas intracelulares, elevam a concentração de Ca^{2+} ativando mecanismos intracelulares de excitotoxicidade levando a lesão e morte neuronal (Figura 5) (RUGGIERO et al., 2011).

Figura 5 – Mecanismo da neurotransmissão glutamatérgica.



Fonte: Própria (2017).

Nota: Esquema elaborado no intuito de esclarecer o mecanismo de excitotoxicidade.

Os primeiros indícios da relação do sistema glutamatérgico com a depressão foram mostrados pela ação antidepressiva dos antagonistas do receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA-R) em camundongos submetidos ao teste de nado forçado,

principal modelo de estudo para avaliação dos antidepressivos (TRULLAS; SKOLNICK, 1990). Foi visto que grande parte dos neurônios e das sinapses cerebrais do nosso sistema nervoso são glutamatérgicos e que essa transmissão está associada a distúrbios da cognição, como a emoção (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012). Além disso, também foi visto que a cronicidade do tratamento com antidepressivos convencionais diminui a expressão de receptores NMDA no hipocampo e córtex-frontal (SKOLNICK, 1996). Outros ensaios clínicos demonstram que mudanças na força da sinapse glutamatérgica dependentes de atividades correlacionam-se com os processos de aprendizagem e memória (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012). Outras pesquisas ainda sugerem que a transmissão do glutamato é regulada de maneira diferente em várias áreas límbicas/corticais no cérebro de indivíduos deprimidos. Soma-se a informação advinda de modelos animais de estresse, que demonstram que diferentes tipos de estressores ambientais aumentam a liberação do neurotransmissor em questão, reduzem o ciclo do glutamato mediado pela glia e alteram a transmissão sináptica em áreas límbicas/corticais. O estresse também induz, em roedores, o remodelamento dendrítico, reduções da coluna sináptica, perda glial e possivelmente reduções volumétricas semelhantes às observadas em pacientes deprimidos (PITTENGER; DUMAN, 2008; MCEWEN, 2005; MUSAZZI; RACAGNI; POPOLI, 2011).

Portanto a hipótese glutamatérgica relata que um aumento excessivo das concentrações de glutamato em condições patológicas geram aumento da ativação dos receptores NMDA e consequentemente maior ativação dos mecanismos apoptóticos, podendo ser reconhecido como um mediador da patologia psiquiátrica e, possivelmente, uma via para a ação terapêutica dos agentes antidepressivos, ao considerarmos novamente que apenas 50-60% dos pacientes deprimidos respondem ao primeiro tratamento antidepressivo e também que os efeitos terapêuticos demoram várias semanas para serem alcançado (SANACORA et al., 2008).

Segundo Racagni e Popoli (2008) e Sanacora e seus colaboradores (2008), todos os agentes antidepressivos disponíveis no mercado possuem mecanismos de ação baseado na modulação das monoaminas, ou pelo menos um componente à base de monoamina em seu mecanismo e ainda não há antidepressivos aprovados que modulem o sistema glutamatérgico. Considerando-se que a transmissão excitatória desempenha um importante papel nas mudanças emocionais e cognitivas associadas

à depressão, pode-se inferir que o desenvolvimento de novas terapias que interfiram no sistema glutamérgico sejam valiosas para o melhor tratamento da depressão (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012).

Mais recentemente, a hipótese evoluiu novamente, e integrou resultados de pesquisas de diferentes campos de estudo, que incluem a sinalização intracelular/mecanismos de expressão gênica, mecanismos neurotróficos, neurogênese, plasticidade sináptica e remodelação de células neuronais, sendo referido como "Hipótese da neuroplasticidade" (PITTENGER; DUMAN, 2008; RACAGNI; POPOLI, 2008; SANACORA et al., 2008). Segundo essa teoria, tanto o estresse quanto a depressão maior, geram anormalidades na resposta de neuroplasticidade, caracterizada por aumento da atividade na amígdala e debilidade no funcionamento do córtex pré-frontal e hipocampo (SERAFINI, 2012). A neuroplasticidade pode ser bifásica, sendo classificada em adaptativa e benéfica, como a induzida pelo exercício físico e antidepressivos, e não adaptativa, como a observada em estudos de neuroimagem cerebral de pacientes deprimidos, a qual pode ser revertida pelo menos em parte por tratamentos terapêuticos, incluindo antidepressivos (BESSA et al., 2009; NORRHOLM; OUMET, 2001).

4.2 Epigenética

O termo epigenética foi introduzido por Conrad Waddington, no início de 1940, sendo descrito como "o ramo da biologia que estuda as interações entre genes e seus produtos, que leva ao fenótipo", ou seja, ele se refere ao estudo das vias moleculares que modulam a expressão de um genótipo levando à expressão de determinado fenótipo (RUSSO et al. 1996 apud BIRD, 2002; DUPONT; ARMANT; BRENNERALL, 2009). Atualmente, é descrito como o estudo das mudanças herdáveis na função do gene, sem alterar as sequências de nucleotídeos na molécula de DNA (BIRD, 2002; BAGOT et al., 2014; DUPONT; ARMANT; BRENNERALL, 2009; EGGER, 2004). Seus processos são quimicamente estáveis, afetam a transcrição de genes e modificam o fenótipo, sem que haja modificações no genótipo (CHO; ELIZONDO; BOERKOEL, 2004). Sendo essenciais para o desenvolvimento e diferenciação celular, contudo

podem ser modificados sob a influência do ambiente e transmitidas aos descendentes (JAENISCH; BIRD, 2003).

Existem dois mecanismos epigenéticos principais de controle da expressão gênica: a metilação do DNA e o complexo de proteínas do grupo *Polycomb* com o grupo de proteínas trithorax (TrxG). A metilação do DNA consiste na adição de um grupo metil no carbono 5 do anel da citosina, que modifica a estrutura das ligações covalentes do DNA e silencia sua expressão (COSTELLO; PLASS, 2001; NUMATA et al., 2015). Esta modificação epigenética está envolvida na regulação de muitos processos celulares como por exemplo o desenvolvimento embrionário, transcrição, estrutura da cromatina, inativação do cromossomo X, *imprinting* genômico e estabilidade cromossômica (BIRD, 2002; ROBERTSON, 2005; TANG; HO, 2007). Já o complexo de proteínas do grupo *Polycomb*, juntamente com grupo de proteínas trithorax (TrxG), copiam e propagam os padrões de expressão e atuam na determinação e manutenção dos estados de transcrição, sejam eles reprimidos ou ativos, do desenvolvimento de importantes genes, que sustentam o estado de transcrição por vários ciclos da divisão celular (BIRD, 2002; RINGROSE; PARO, 2004; SCHUETTENGROBER et al., 2007).

Outro mecanismo bem relatado na literatura é a acetilação das histonas, que também interfere na estrutura das ligações covalentes por meio da adição de um grupo acetil nos resíduos de lisina das histonas. Esse processo é realizado pela enzima acetiltransferase que enfraquece as ligações das histonas com a cromatina descompactando esta conformação (chamada de eucromatina) o que a torna mais suscetível à ação dos fatores de transcrição. Muitos autores descrevem a acetilação de histonas como um dos mecanismos epigenéticos (HANDY; CASTRO; LOSCALZO, 2011; SANTOS, MAZZOLA; CARVALHO, 2005; WEINHOLD, 2006). Contudo, Bird (2002) relata que a hereditariedade da acetilação ainda não está totalmente elucidada.

Esses três mecanismos interferem na estrutura e acessibilidade do DNA e da cromatina, as quais estão diretamente ligadas à expressão gênica (WEINHOLD, 2006).

Além da metilação do DNA, do complexo de proteínas do grupo *Polycomb* juntamente com grupo de proteínas Trithorax e da acetilação de histonas, pequenos

RNAs não codificadores, como os micro RNAs (miRNAs) e os *short-interfering* RNAs (siRNAs) também interferem na transcrição de genes de miRNA (WEINHOLD, 2006).

4.2.1 MicroRNAs

MicroRNAs são pequenos RNAs de fita simples, endógenos, não codificadores de proteínas, que apresentam de 18 a 30 nucleotídeos de comprimento. São originados a partir de RNAs precursores, com estrutura similar à de um grampo de cabelo, que pareia com a sequência alvo do RNA mensageiro (mRNA) e regulam a expressão gênica pós-transcricionalmente, de forma sequência-específica, por meio da inibição da tradução ou da clivagem do RNA mensageiro (HA; KIM, 2014; KIM; HAN; SIOMI, 2009; TIAN; WANG; ZHOU, 2014). Além do micro RNA, outros pequenos RNAs não-codificantes que pertencem à mesma classe foram identificados, tais como os RNAs nucleolares (snoRNA) responsáveis pela orientação do RNA ribossômico (rRNA), os RNAs nucleares (snRNA) envolvidos no processo de *splicing* do RNA e os RNAs de interferência (siRNA), que atuam na regulação negativa da expressão gênica assim como os miRNAs (LYNAM-LENNON; MAHER; REYNOLDS, 2009; SCOTTA; ONOB, 2011).

Até então já foram identificados mais de 3.500 genes de miRNAs, dos quais 695 foram encontrados em humanos, e espera-se que este número aumente futuramente pois, pesquisas ainda estão sendo realizadas. Devido à grande variedade de tipos de miRNAs, foi adotado um padrão de nomenclatura composto por três letras, de acordo com a espécie (HSA para humanos; mmu para camundongos; mo para ratos e cel para *C. elegans*; dentre outros). O código de miRNA (miR) e um número que designa a sequência. Um exemplo seria a hsa-miR-1, idêntica a cel-miR-1 e muito parecida com a mmu-miR-1. Ademais letras e alguns números também podem ser acrescidos em miRNAs idênticos ou muito parecidos de mesmas espécies (ROBINSON, 2009).

Funcionalmente os miRNAs estão envolvidos na regulação pós-transcricional de genes codificados e são fundamentais para a célula, tais como a diferenciação tecidual, ciclo celular, proliferação, apoptose, desenvolvimento e metabolismo dos

organismos e a tumorigênese (CAI et al., 2009; JONAS; IZAURRALDE, 2015). Seus níveis de expressão também são variáveis nos diferentes tecidos e organismos, onde são precisamente regulados (KIM; HAN; SIOMI, 2009). Desta forma, defeitos em seu sistema de regulação estão relacionados à uma gama de doenças como câncer, problemas cardíacos, alterações neurodegenerativas e neuropsiquiátricas, como a depressão (CAI et al., 2009; JONAS; IZAURRALDE, 2015).

Os miRNAs maduros são resultantes de um processamento sequencial de transcritos primários (pri-miRNAs), mediado por duas enzimas ribonucleases III (RNase III): Drosha e Dicer. As formas maduras apresentam de 18 a 24 nucleotídeos e regulam negativamente a expressão proteica pelo pareamento com seu RNAm alvo, que levam à inibição da tradução ou degradação do RNAm (APPASANI, 2008).

Até alguns anos atrás, os miRNAs não eram conhecidos. Somente em 1993, Victor Ambros e colaboradores, ao cultivar *Caenorhabditis elegans*, observaram que uma linhagem mutante perdia a capacidade de formar sua vulva, e também apresentava falhas durante o desenvolvimento da fase larval para o animal adulto. Para avaliar melhor a causa desta mutação na linhagem, Ambros e os coautores identificaram e nomearam um gene responsável pelas alterações de lin-4 e verificaram que este possuía dois RNAs transcritos: um mais abundante, com 22 nucleotídeos, e outro com 61 nucleotídeos, os quais não codificavam nenhuma proteína. Além disso, constataram que o gene lin-4 estava numa região intrônica do genoma do animal. Posteriormente, neste mesmo ano, o grupo observou que o transcrito de 22 nucleotídeos pareava, por complementaridade, com a região 3' não traduzida (3'UTR) do gene lin-14, que é responsável por codificar uma proteína nuclear reguladora da transição do primeiro (L1) para o segundo (L2) estágio larval do *C. elegans*. Com isso, os autores concluíram que o RNA transcrito de 22 nucleotídeos regulava de forma negativa a expressão do gene lin-14 sendo responsável pela mutação da linhagem do *C. elegans* (BARTEL, 2004; DOGINI et al., 2014; LEE; FEINBAUM; AMBROS, 2006).

Acreditava-se na época que esta era uma característica exclusiva do *C. elegans*. Contudo, em 2000, Reinhart e colaboradores clonaram outro micro RNA, denominado de let-7, em *C. elegans*, o qual também pareava com a região 3'UTR, porém de um outro gene (lin-41) e inibia sua tradução. Posteriormente, foi mostrado que o micro RNA let-7 é altamente conservado na maioria dos organismos,

contradizendo a exclusividade dos miRNAs, originalmente dada ao *C. elegans* (PASQUINELLI et al., 2000). Atualmente, sabe-se que os miRNAs são encontrados em outros organismos como plantas, insetos, nematóides, frutas, camundongos e humanos que desempenham um papel similar a função de regulação pós-transcricional do *C. elegans* (JACOB, 2006).

4.2.2 Biogênese dos MicroRNAs

O processo de síntese dos miRNAs inicia-se no núcleo, a partir dos genes que contém sua informação. Em humanos, suas sequências codificadoras estão localizadas geralmente em introns (síntese pela via canônica); porém, alguns miRNAs também são encontrados em regiões exônicas (síntese pela via não canônica). Seus genes podem estar dispersos no genoma bem como podem estar em conjuntos, co-expressados como uma unidade policistônica e que, eventualmente, podem manter relação funcional. O controle epigenético, como a metilação do DNA e modificações histônicas, também contribuem para a regulação de genes miRNA (HA; KIM, 2014).

A transcrição de miRNA é realizada pela RNA Pol II e é controlada por fatores de transcrição associados a RNA Pol II e reguladores epigenéticos (figura 6). Alguns RNAs endógenos do tipo miRNA são derivados de RNA transportador (tRNA) que são transcritos pela RNAPol III. Os fatores de transcrição, tais como p53, MYC, ZEB1 e ZEB2 e a proteína de determinação de mioblastos 1 (MYOD1) regulam positivamente ou negativamente a expressão de miRNA (HA; KIM, 2014).

A transcrição de genes de micro RNAs gera primeiramente o miRNA primário (pri-miRNA) com algumas centenas de nucleotídeos (Figura 6). Assim como os RNAm, os pri-miRNAs são acrescidos de uma cauda de poliadenosinas na sua extremidade 3', enquanto que, na extremidade 5', adiciona-se um "cap" de 7-metilguanosina. Essa primeira estrutura gerada contém regiões em que os nucleotídeos se pareiam em regiões específicas, e também há regiões não pareadas, formando uma espécie de alça com estrutura semelhante a um grampo de cabelo (LYNAM-LENNON; MAHER; REYNOLDS, 2009).

Após sua transcrição, o pri-miRNA sofre mais dois processos para sua maturação completa. O primeiro ocorre ainda no núcleo, na qual a Rnase tipo III Droscha, com o auxílio da proteína DGCR8, do domínio de ligação de RNA fita dupla, cliva os locais de pareamento no pri-miRNA e libera uma estrutura similar a um grampo de cabelo, denominado miRNA precursor (pre-miRNA), que possui aproximadamente 70 nucleotídeos (Figura 6). Em seguida, a exportina-5 (receptor de transporte) e a Ran-GTP (GTPase envolvida no transporte do núcleo para o citoplasma) transportam o pré-miRNA para o citoplasma (Figura 6). Lá, a alça (região não pareada) é removida pela enzima Rnase tipo III Dicer, formando um duplex de RNA (Figura 6) com 22 pares de nucleotídeos (LIM et al., 2003; LYNAM-LENNON; MAHER; REYNOLDS, 2009).

Por fim, o duplex sofre ação do complexo proteico RISC (Complexo de Indução do Silenciamento do RNA) composto por uma proteína argonauta (Ago), a enzima Dicer e a proteína com 3 domínios de ligação ao RNA de fita dupla (do inglês, *Three RNA binding protein* - TRBP) (Figura 6). Os mamíferos apresentam 4 tipos de Ago (1-4), contudo, somente a Ago-2 possui ação de endonuclease, e sua principal função é atuar na ligação direta com o miRNA, bem como associar o miRNA ao seu mRNA alvo (CHOUDHURI, 2010). Este complexo separa o miRNA maduro do miRNA que será descartado, baseado na estabilidade termodinâmica da região 5' (KHVOROVA; REYNOLDS; JAYASENA, 2003). A cadeia mais estável permanecerá associada ao complexo enquanto a outra metade será degradada. O complexo resultante, formado pelo miRNA maduro e a proteína Ago-2, interage com o mRNA alvo culminando na regulação gênica (LYNAM-LENNON; MAHER; REYNOLDS, 2009) (Figura 6).

Após sua produção, os miRNAs inibem da expressão de seus alvos pela inibição da tradução e da degradação de mRNA por duas vias baseadas na complementariedade das bases. A primeira ocorre comumente em plantas, quando há uma complementariedade perfeita, ou quase perfeita, das bases do miRNA com a do mRNA. A enzima RISC, associada à proteína Argonauta, quebra a fita de mRNA, e após a clivagem o miRNA permanece intacto e continua exercendo seu papel modulador (FILIPOWICZ; BHATTACHARYYA; SONENBERG, 2008). Já a segunda é mais comum nos animais, e ocorre quando o pareamento é imperfeito entre o miRNA e o mRNA. O mecanismo exato não está bem elucidado. Sabe-se que a proteína Ago auxilia na ligação do miRNA ao mRNA alvo, e que esta ligação ocorre pelo

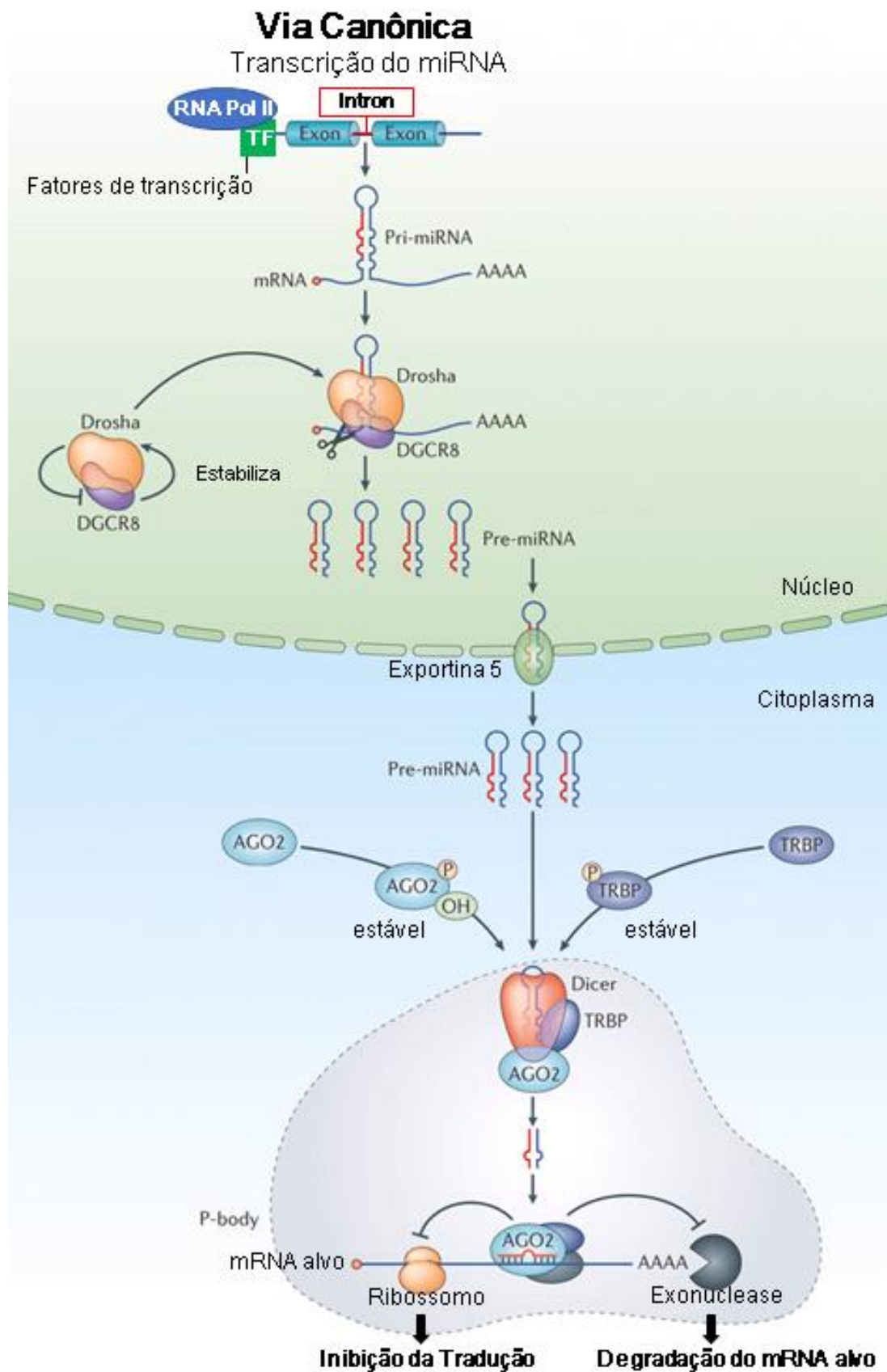
pareamento da região 3'-UTR do mRNA alvo com a região *seed*, sequência de 5 a 7 nucleotídeos da extremidade 5' do miRNA, inibindo a tradução do mRNA alvo (LIU; FORTIN; MOURELATOS, 2008).

Outro mecanismo de inibição envolve a cap 7-metil-guanosina, que protege o mRNA contra os mecanismos de processamento e a proteína de ligação à cauda poli-A (PABP) que interage com os fatores de iniciação da tradução eucariótica (eIFs), como as eIF4E, eIF4B e eIF4G (CHOUDHURI, 2010). Quando há ligação do miRNA ao terminal 3' do mRNA, a proteína Ago desestabiliza o complexo eIF4E-eIF4G-PABP, necessário para a tradução dependente de cap. Essa ruptura libera a cap 7-metil-guanosina da proteína eIF4E de ligação ao cap (do inglês, *cap-binding protein eIF4E*) possibilitando que a cap 7-metil-guanosina, agora livre, interaja com a proteína Ago (CHOUDHURI, 2010). Uma vez que a cap 7-metil-guanosina não interage com a eIF4E, esta última não pode interagir com o ribossomo, inibindo a tradução (PRÉVÔT; DARLIX; OHLMANN, 2003).

A inibição da tradução também pode ser mediada pelos corpos de processamento (*P-bodies*), um complexo enzimático responsável pela inibição da tradução, silenciamento de genes ou degradação do mRNA (CHOUDHURI, 2010). Alguns mRNAs ligados ao complexo miRNA-Ago podem ser transportados para os *P-bodies*, onde proteínas com afinidade pela Ago-2 armazenam e degradam o mRNA (Figura 6) (BUSHATI; COHEN, 2007; LI; RANA, 2014).

Devido seu pareamento incompleto é importante ressaltar que o miRNA pode apresentar vários mRNA alvos, e alguns mRNA necessitam de vários miRNA para inibição. Supõe-se que 30% dos genes de animais sejam alvo de miRNAs, portanto alterações na expressão de um miRNA (sub ou superexpressão) podem causar grandes disfunções celulares, e, conseqüentemente teciduais e sistêmicas (VARGAS; STOLF-MOREIRA, 2013).

Figura 6 – Biogênese do miRNA.



Fonte: Adaptada de (LI; RANA, 2014).

4.2.3 Metilação do DNA

A primeira metilação da citosina foi descoberta em 1948 por Rollin Hotchkiss, mas, somente na década de 80 foi comprovada a relação desta com a regulação genética e diferenciação celular (MOORE; LE, FAN, 2012).

Segundo Bird (2002) e Ushijima e Asada (2010), a metilação do DNA é essencial para os processos de regulação gênica, estabilidade cromossômica e *imprinting* parental. Ushijima e Asada (2010) também citam a recombinação durante a meiose, controle da replicação, controle de DNAs virais que se inserem no genoma humano, estabilização e manutenção da expressão gênica, regulação da diferenciação celular e inativação do cromossomo X.

A metilação mais conhecida é a da citosina envolvendo os dinucleotídeos citosina e guanina, as CpG (no sentido 5' CG 3'), em que o "p" entre as bases C e G denota o grupo fosfato (BIRD, 2002; MENKE; BINDER, 2014). A grande maioria dos CpGs foram eliminados do genoma de eucariotos superiores durante a evolução, devido à desaminação que converte 5-metil-citosina em timina (CHUANG; JONES, 2007; SINGAL; GINDER, 1999; JONES, 2012). Os CpGs remanescentes encontram-se metilados e frequentemente localizados em regiões ricas de CpG ao longo de regiões intragênicas na fita de DNA, denominadas ilhas de CpG com aproximadamente 1kb de extensão, que ocorrem a cada 100kb (BIRD, 2002). Além da metilação em CpGs, foi encontrada em outras sequências livres de CpG, contudo, sua função permanece desconhecida (JONES, 2012).

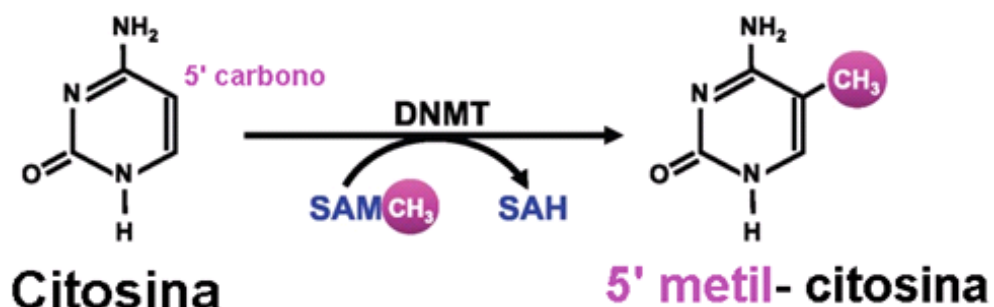
A metilação da citosina possui algumas funções que são comprovadas e outras que ainda estão sendo estudadas. Dentro de elementos reguladores de genes, tais como intensificadores, isoladores, repressores e principalmente promotores, a metilação geralmente inibe sua função (COSTELLO; PLASS, 2001), ou seja, quanto menos metilado o DNA estiver, mais a cromatina estará ativa, permitindo a transcrição dos genes (BIRD, 2002). Alguns estudos demonstram que a metilação fora dos sítios promotores podem levar ao aumento da expressão (RAUCH et al. 2008).

A metilação do DNA é catalisada por uma família de DNA metiltransferases (DNMTs), responsáveis por transferir um grupo metila de S-adenil metionina (SAM)

para o quinto carbono de um resíduo de citosina, formando a 5-metilcitosina (5mC) (Figura 7). Existem três tipos de DNMTs descritas em células dos mamíferos que participam da metilação: DNMT1, DNMT3A e a DNMT3B (KARETA et al., 2006; MENKE; BINDER, 2014). A DNMT1 atua durante a replicação, sobre as fitas hemimetiladas do DNA, sendo responsável por copiar o padrão de metilação do DNA da cadeia parental para a cadeia filha recém-sintetizada, e assim, manter o padrão de metilação durante a replicação (Figura 8 b) (COSTELLO; PLASS, 2001; MOORE; LE; FAN, 2012). Já as DNMT3a e DNMT3b são responsáveis por manter e, principalmente, estabelecer um novo padrão de metilação no DNA, ou seja, operar em sítios sem nenhuma marcação de metilação prévia, e assim conhecidas como DNMTs *de novo* (Figura 8 a) (FENG et. al., 2010). Apesar da metilação *de novo* ser principalmente realizada pelas DNMT3s, Singal e Ginder (1999) relatam que as DNMT1 também possuem a capacidade de estabelecer novas metilações, inclusive cooperam em suas funções. Fatemi e colaboradores (2002), ainda observaram que após a iniciação da metilação *de novo* pela DNMT3a, a DNMT1 torna-se ativa e ambas executam a metilação.

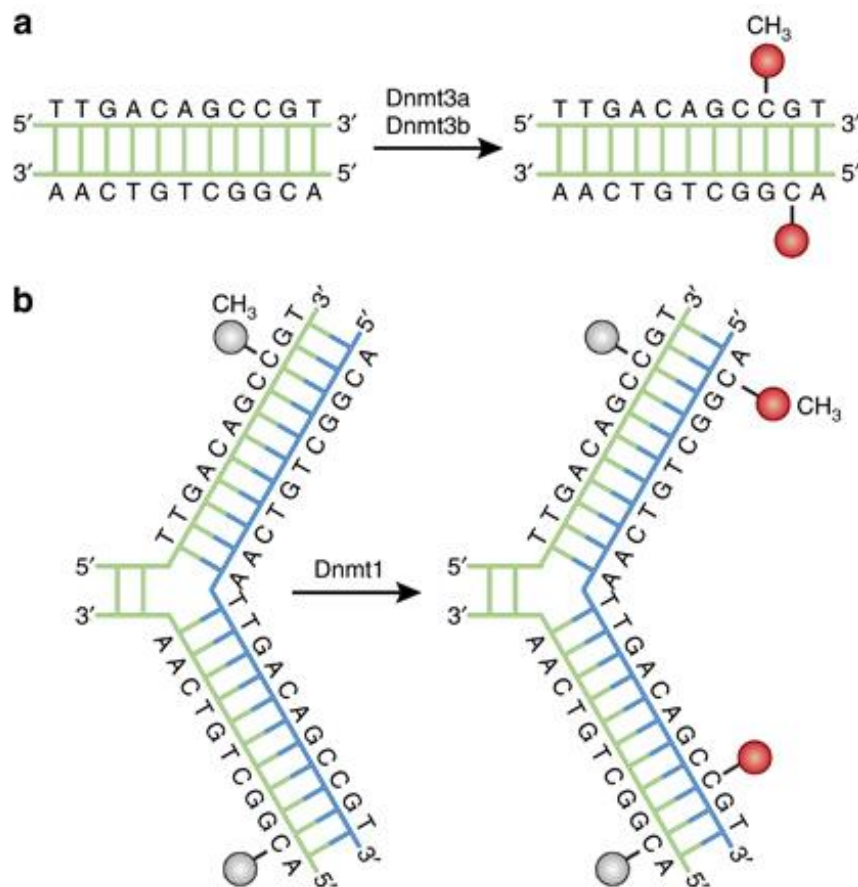
Todas as três DNMTs são extensivamente envolvidas no desenvolvimento embrionário. Quando as células atingem a diferenciação final, a expressão da DNMT é muito reduzida, o que sugere que o padrão de metilação do DNA nas células pós-mitóticas é estável. No entanto, foi visto que em neurônios pós-mitóticos maduros de mamíferos há níveis significativos de DNMTs, mais especificamente as DNMT1 e DNMT3, sendo possível inferir que as DNMTs e a metilação do DNA são necessários para a plasticidade sináptica, aprendizagem e memória, pelas funções de manutenção da metilação do DNA e da expressão de genes de neurônios adultos (FENG et. al., 2010).

Figura 7 – Metilação catalisada pelas DNMTs.



Fonte: Adaptado de (ZAKHARI, 2013).

Figura 8 – Metilação catalisada pelos diferentes tipos de DNMTs.

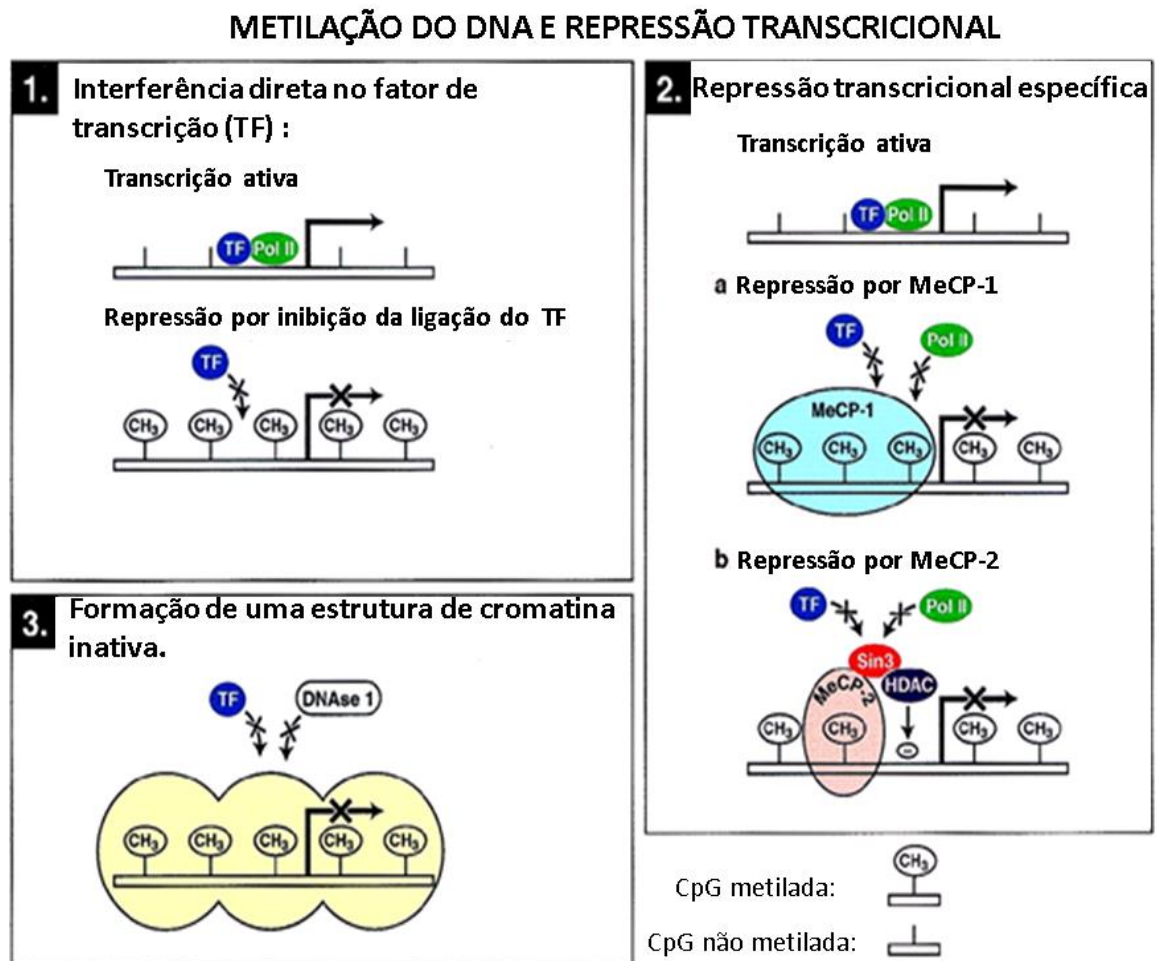


Fonte: (MOORE; LE; FAN, 2012).

A metilação pode inibir a expressão gênica por meio de três mecanismos. A primeira corresponde ao impedimento direto ao acesso dos fatores de transcrição aos seus respectivos sítios promotores (SINGAL; GINDER, 1999). A segunda utiliza as proteínas ligadoras ao metil (*methyl binding proteins* - MBP), as quais ao se ligarem aos dinucleotídeos CpG metiladas nas regiões promotoras, impede também o acesso dos fatores de transcrição. As MBPs mais estudadas são MeCP1 e MeCP2. A MeCP1 recruta as proteínas relacionadas às histonas desacetilases (HDAC1 e HDAC2) (Figura 9.2.a), enquanto que a MeCP2 se liga ao complexo correpessor histona desacetilase e Sin3 (Sin3-HDAC). Destas retiram o grupo acetil dos resíduos de lisina nas caudas N-terminais das histonas de regiões promotoras reguladas pelo Sin-3, o que aumenta a força da ligação eletrostática e facilita as interações entre histonas adjacentes tornando o DNA mais compactado (Figura 9.2.b). Isso, por sua vez, impossibilita a transcrição (COSTELLO; PLASS, 2001; GREGORY; WAGNER; HÖRZ, 2001). O terceiro mecanismo consiste na alteração indireta da estrutura da cromatina

pelos outros dois mecanismos citados anteriormente (Figura 9.3) (SINGAL; GINDER, 1999). Também foram encontradas DNMTs como componentes de um complexo de modificação e remodelamento da cromatina envolvidos na repressão transcrricional, o que sugere que a modificação/remodelagem e a metilação do DNA atuam cooperativamente para silenciar a transcrição (WU et al., 2010).

Figura 9 – Principais mecanismos de repressão transcrricional.



Fonte: Adaptado de (SINGAL; GINDER, 1999).

4.3 Epigenética na depressão

Estudos recentes sugerem o papel crítico de mecanismos epigenéticos na plasticidade neuronal, neurogênese e transtornos psiquiátricos (BORRELLI et al., 2008 apud VIALOU et al., 2013; COSTA-MATTIOLI et al., 2009; DULAC, 2010; JIANG

et al., 2008; NEVES; COOKE; BLISS; 2008; ROTH; SWEATT, 2009; WEI, 2015;). Sabe-se que a epigenética é fundamental para: a modulação de genes, bem como sua atividade; modulação dos grupos de genes funcionais em cada célula específica; e na plasticidade metabólica celular, característica que permite a célula adaptar-se a mudanças exógenas (GAMBOA; QUEZADA; BRAVO, 2014). Sendo assim, o conjunto das modificações epigenéticas, denominado epigenoma, é característico para cada tipo celular e fornecem mecanismos à diversidade e diferenciação, por meio da regulação da acessibilidade da informação genética para a maquinaria celular. Falhas no estabelecimento ou manutenção das marcas epigenéticas podem resultar na ativação ou inibição imprópria de vários genes e alterar a fisiologia celular e induzir o desenvolvimento de doenças, como a depressão (OLIVEIRA, 2012). Logo a epigenética auxilia no entendimento das interações gene-ambiente na depressão e proporciona novas perspectivas para entender sua fisiopatologia (ZHANG; MEANEY, 2010). Além disso, pode fornecer, eventualmente, biomarcadores para prever a susceptibilidade e/ou aparecimento da depressão, melhorar o diagnóstico e ajudar no desenvolvimento de terapias (DALTON; KOLSHUS; MCLOUGHLIN, 2014).

4.3.1 Alterações dos padrões de metilação na depressão

Vários estudos têm mostrado alterações nos padrões de metilação do DNA em pacientes com depressão (DALTON; KOLSHUS; MCLOUGHLIN, 2014; DRONGITIS et al., 2016; KAHL, 2016; NUMATA et al., 2015; SONG et al., 2014; VIALOU et al., 2013). Muitos pesquisadores têm examinado modificações epigenéticas em genes relacionados à depressão, tais como, as subunidades dos receptores ácido γ -aminobutírico, sinapses e transportador de serotonina e a expressão de miRNA de enzimas envolvidas nas modificações epigenéticas em pacientes com TDM (DALTON; KOLSHUS; MCLOUGHLIN, 2014).

Sabe-se que a hipótese mais aceita da patogênese da depressão é a da transmissão das monoaminas, caracterizada por deficiências de neurotransmissores monoaminérgicos, principalmente a serotonina e a noradrenalina (KAHL et al., 2016). Contudo, devido à característica multifatorial, a patogênese da depressão inclui não

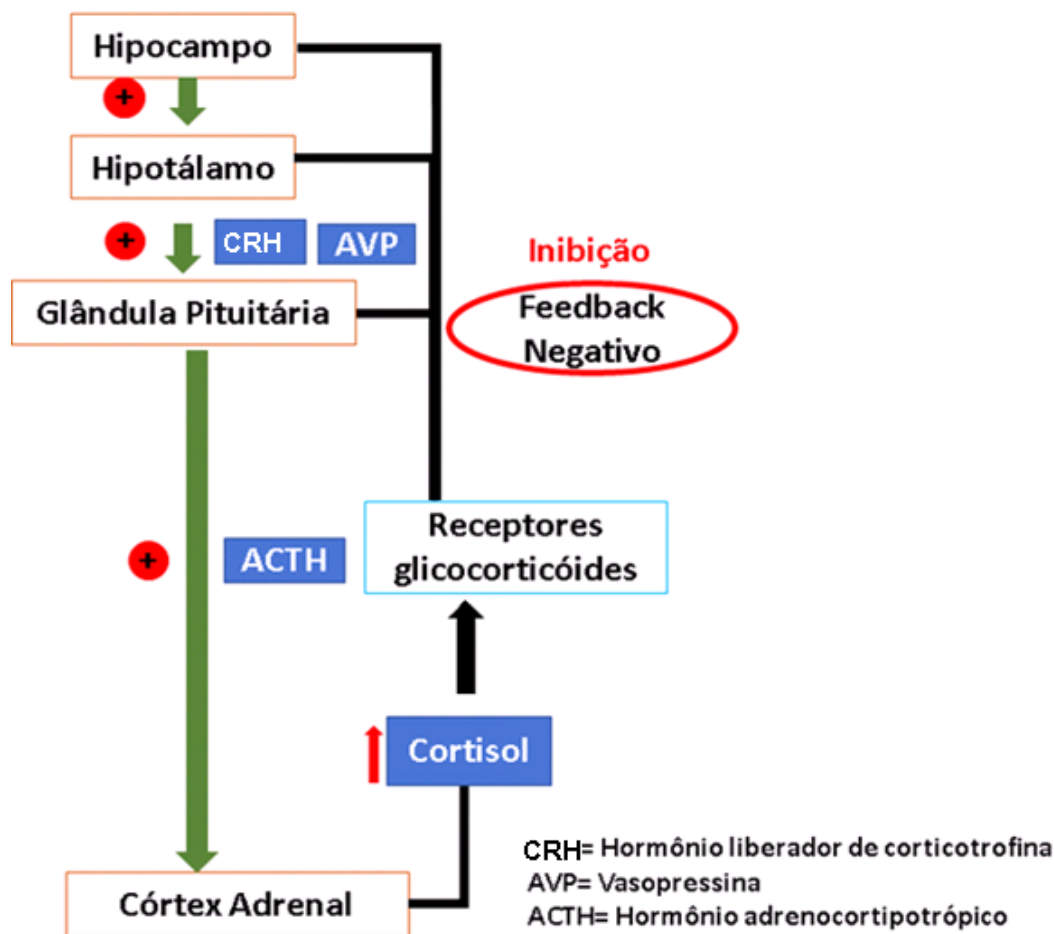
somente a deficiência das transmissões monoaminérgicas, como também compreende distúrbios nos sistemas endócrino e imunológico, incluindo, em situações de estresse, a hiperativação do eixo HPA (KAHL et al., 2016). Esta hiperativação pode ser consequência do aumento das citocinas pró-inflamatórias, achado condizente nos pacientes depressivos (VISARI; ALVES; PALERMO-NETO, 2008). Outra possível explicação é a hipersecreção de hormônio liberador de corticotrofina (CRH), hormônio associado as alterações na atividade, apetite e sono, que implica na hiperativação e desregulação do eixo HPA, que resulta em hipercortisolismo através da inibição do controle do feedback negativo no hipocampo, hipotálamo e na glândula pituitária pelos glicocorticoides (Figura 10) (KAHL et al., 2016). O cortisol, por sua vez, atua em múltiplos tecidos-alvos, pois seus receptores estão espalhados em diferentes células e órgãos, no sistema imune, por exemplo, o excesso de cortisol exerce efeito imunossupressor, diminuindo a atividade de células NK e a proliferação de linfócitos, sinais condizentes com os achados em pacientes depressivos (KAPCZINSKI; IZQUIERDO; QUEVEDO, 2011).

Já no fígado, o cortisol ativa a produção de enzimas da gliconeogênese; no tecido adiposo, promove a lipólise; no músculo, causa inibição da síntese e aumento do catabolismo proteica; e nos tecidos periféricos, é responsável pela resistência à insulina e diminuição da captação de glicose. Todos esses efeitos direcionam a glicose para o cérebro, pois em situações de estresse o cérebro demanda mais energia (KAHL et al., 2016). Estas ações podem levar ao desenvolvimento de doenças fortemente associadas à depressão como a Síndrome Metabólica, Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) e distúrbios cardiovasculares em pacientes com TDM (KAHL et al., 2016).

Vistas as alterações no metabolismo da glicose no cérebro e em tecidos periféricos em pacientes com TDM, os autores examinaram a metilação do DNA dos transportadores de glicose GLUT1 (presentes nos astrócitos, e importantes para a maturação e funcionamento cerebral) e GLUT4 (transportador de glicose insulino-dependente em tecidos periféricos, como músculo e tecido adiposo, estando diretamente ligada ao *clearance* de glicose sanguínea e a resistência à insulina). Entraram no estudo 52 pacientes com TDM e 18 pacientes saudáveis. Foram avaliadas as metilações das regiões promotoras dos genes GLUT1 e GLUT4, pela concentração de citosinas metiladas (Figura 11) (KAHL et al., 2016). Os autores observaram o aumento da metilação nas regiões promotoras do GLUT1 em pacientes

na fase aguda do TDM e aumento da resistência à insulina como possível consequência deste aumento da metilação. Além disso a metilação do GLUT1 estava significativamente menor em pacientes tratados e remitentes em comparação com não remitentes. Esses resultados confirmam os achados clínicos pregressos pois o aumento da metilação dos GLUT1, inibe a tradução de mais transportadores. Com isso, o metabolismo da glicose e da insulina ficam prejudicados resultando na hiperativação do eixo HPA em casos de glucopenia central (KAHL et al., 2016).

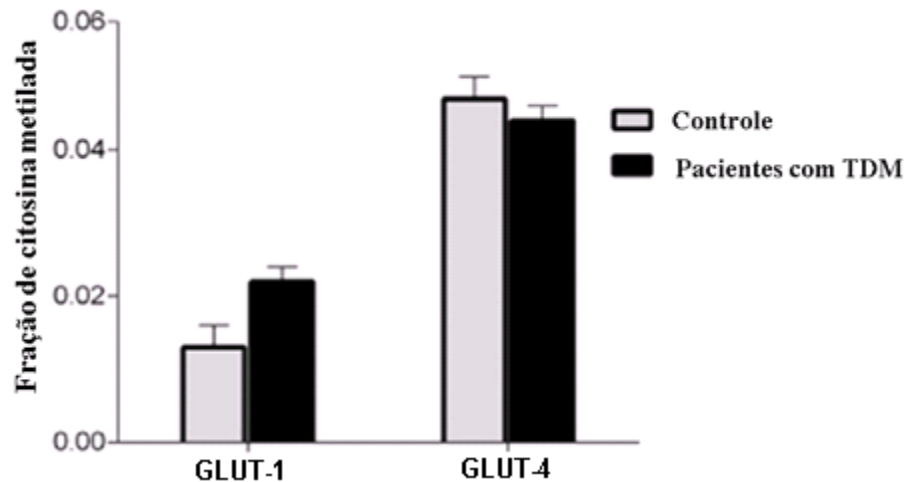
Figura 10 – Diagrama da desregulação do feedback negativo do Eixo HPA na depressão



Fonte: Adaptado de (JURUENA; CLEARE; PARIANTE, 2004).

Nota: Na depressão, há um aumento da liberação de CRH que induz a liberação de ACTH da hipófise. A ACTH interage com seus receptores em células adrenocorticais e faz com que as glândulas supra-renais liberem o cortisol. O cortisol por sua vez, atua nos seus receptores presentes no hipocampo, hipotálamo e na glândula pituitária, onde são responsáveis pela inibição do feedback negativo, aumentando a ativação do hipocampo, este aumenta a estimulação da liberação do CRH pelo hipotálamo e o CRH, por sua vez estimula a secreção do ACTH pela pituitária fazendo com que o córtex adrenal produza e libere mais glicocorticóides.

Figura 11 – Fração de citosina metilada em indivíduos com TDM versus indivíduos saudáveis



Fonte: (KAHL et al., 2016).

Nota: A análise do gráfico mostra que a metilação do Glut1 estava significativamente reduzida em pacientes com TDM em comparação com os indivíduos saudáveis. Não houve diferença significativa na metilação do Glut4.

Dentre estas e outras várias modificações, as alterações na metilação do DNA de regiões promotoras do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no sangue de pacientes com TDM têm sido bem relatadas em vários estudos (DALTON; KOLSHUS; MCLOUGHLIN, 2014; KUNDAKOVIC et al., 2015; MITCHELMORE; DEGE, 2014; SONG et al., 2014; UNTERNAEHRER et al., 2012). E inclusive auxiliou no desenvolvimento de uma hipótese neurotrófica da depressão (BETTIO, 2012). Segundo Bettio (2012), esta teoria associa a menor expressão de BDNF na depressão e que seu aumento desempenha um papel na ação de antidepressivos. A existência de vários relatos pode ser devido ao importante papel exercido pelo BDNF na sobrevivência e manutenção de neurônios corticais e dendritos, bem como na plasticidade sináptica. Além disso, na periferia, o BDNF tem mostrado ação neuroprotetora (NA et al., 2016; UNTERNAEHRER et al., 2012). Uma vez que a plasticidade e neurogênese prejudicadas são importantes mecanismos na fisiopatologia da TDM, vários estudos mostram que níveis de BDNF e polimorfismos genéticos relatados do gene BDNF estão associados ao desenvolvimento e evolução clínica de TDM (NA et al., 2016). No estudo de Keller e colaboradores (2010), observou-se um aumento da metilação do DNA no promotor do BDNF, associado à diminuição dos níveis de mRNA de BDNF nas áreas de Wernicke em cérebros de indivíduos suicidas, dos quais alguns foram diagnosticados com TDM. Já Fuchikami

e colaboradores (2011) examinaram o perfil de metilação de duas ilhas CpG localizadas dentro de duas regiões promotoras (I e IV) do gene BDNF no sangue periférico de pacientes deprimidos e de controles saudáveis. Os autores relataram diferença estatisticamente significativa no nível de metilação dos promotores do exon I do gene BDNF, sugerindo que este possa ser utilizado como um potencial biomarcador para o diagnóstico da depressão maior. Este dado foi confirmado por D'addario e coautores (2013), que mostraram ainda que a metilação deste promotor estava diminuída em pacientes que fazem uso de estabilizadores de humor em combinação com antidepressivos, em oposição aos pacientes tratados apenas com antidepressivos. Kang e colaboradores (2013) mostraram que o estado de metilação do exon VI do gene BDNF está associado ao comportamento suicida em pacientes deprimidos.

O estudo de Unternaehrer e colaboradores (2012), por sua vez mostrou que no sangue periférico de 73 pacientes adultos saudáveis, sem sintomas depressivos relevantes, os quais foram posteriormente submetidos a testes de estresse social. Foi visto que a metilação do DNA no BDNF permaneceu estável após um período estressor psicossocial curto e não recorrente, implicando que a metilação do BDNF exerce um importante papel na adaptação ao estresse a longo prazo, e seu uso como biomarcador seria possível somente em pacientes submetidos a esta condição de estresse. Porém os autores também avaliaram outra metilação no receptor de ocitocina (OXTR), cujo o sistema interage com o eixo HPA, atuando regulação da pressão arterial, do volume, frequência e homeostasia cardiovascular, bem como na resposta cardiovascular ao estresse. E ao contrário da metilação do BDNF, foram encontrados aumento da metilação no gene da OXTR e diminuição da expressão de OXTR nos pacientes após um curto de estresse psicossocial. Inferindo e relatando mais uma vez a relação dos eventos estressores com os sinais e sintomas observados na depressão.

O quadro a seguir reúne as alterações dos padrões de metilação.

Quadro 1- Principais alterações da metilação no DNA em pacientes com TDM.

Autores	Metilação encontrada	Amostra	Técnica
KELLER et al., 2010.	Aumento da metilação do DNA no promotor do gene do BDNF diminui os níveis de mRNA de BDNF em suicidas diagnosticados com TDM.	Tecido cerebral da Área de Wernick de pacientes pós-morte.	Tratamento do DNA com bissulfito e Sequenciamento.
D'ADDARIO et al., 2012.	Metilação do promotor do exon I do gene BDNF diminuída em pacientes usando estabilizadores de humor e antidepressivos.	Células mononucleares de sangue periférico.	Tratamento do DNA com bissulfito e PCR em tempo real.
FUCHIKAMI et al., 2011. KANG et al., 2013.	Metilação do exon VI do gene BDNF associado ao comportamento suicida de pacientes deprimidos.	Sangue venoso.	Massarray.
KAHL et al., 2016.	Aumento da metilação nas regiões promotoras do GLUT1 em pacientes na fase aguda do TDM. Diminuição da metilação do GLUT1 em pacientes remitentes.	Sangue.	Tratamento do DNA com bissulfito e <i>Nested</i> PCR.
UNTERNAEHRER et al., 2012.	Nenhuma alteração significativa na metilação do DNA no BDNF, em pacientes induzidos ao estresse de curto-prazo.	Células mononucleares de sangue periférico.	PCR com tratamento de bissulfito.

4. 3.2 miRNA na depressão

O papel do miRNA também é apontado por vários autores. Os microRNAs regulam a expressão gênica em muitos tecidos, incluindo o cérebro. Isso torna imprescindível a catalogação da expressão dos microRNAs, bem como de outros pequenos RNAs, nas principais regiões do cérebro humano em doenças neuropsiquiátricas, permitindo levar a novos biomarcadores para diagnóstico de subtipos da doença de e resposta ao tratamento, bem como novos alvos terapêuticos e pistas sobre a etiologia (SMALHEISER et al., 2014).

Os miRNAs podem ainda serem detectados em fluidos biológicos tais como soro, plasma, urina, saliva em que, sob condições saudáveis, determinados miRNAs

são expressos de forma estável e sob condições de doença, o perfil de miRNAs muda significativamente, o que sugere que miRNAs periféricos podem ser utilizados como biomarcador sob as condições de doença (DWIVEDI, 2013).

Eles também controlam o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Alguns estudos têm mostrado que o BDNF tem sua expressão diminuída pelo miRNA-30a, miRNA-134 e miRNA-195 (DWIVEDI, 2013). Em outro estudo Li e colaboradores (2013) verificaram que os níveis de miRNA-132 e miRNA-182 estavam elevados em pacientes depressivos, via PCR em tempo real. Além disso, este estudo forneceu evidências de que o miRNA-182 é um regulador putativo do BDNF, já que níveis aumentados de miRNA-182 e do miRNA-132 levavam à redução os níveis de proteína BDNF em cultura celular de neurônios humanos. Isto sugere que o BDNF e os miRNA reguladores negativos desse gene podem ser utilizados como biomarcadores importantes no diagnóstico ou como alvo terapêutico na depressão. Além da associação com o BDNF, segundo os autores, os polimorfismos de nucleotídeo único no miRNA-182 foram associados a insônia tardia em pacientes com TDM, inferindo-se que a infrarregulação destes está associada com o ritmo circadiano e a alterações do sono observados nos pacientes depressivos (LI et al., 2013).

Smalheiser e colaboradores (2012) identificaram padrões de expressão global de miRNAs no córtex pré-frontal dorsolateral de indivíduos deprimidos. Essa região tem volume reduzido nesses pacientes devido à diminuição na expressão de BDNF na região límbica. Os autores encontraram vinte e um miRNA com expressão significativamente reduzida no córtex pré-frontal de pacientes deprimidos em comparação com controles saudáveis, muitos deles implicados no crescimento e diferenciação celular. Eles demonstraram também que os miRNA-494 e miRNA-335 são menos expressos no córtex pré-frontal de pacientes deprimidos suicidas.

Em outro estudo foi visto que cinco miRNAs estavam superexpressos (*up-regulated*) em células mononucleares do sangue periférico de pacientes TDM, sendo eles: miRNA-26b, miRNA-1972, miRNA-4485, miRNA-4498, e miRNA-4743. Ao melhor analisá-los os autores identificaram genes alvos com uma grande variedade de efeitos biológicos, incluindo alterações na orientação e extensão do axônio, na transmissão sináptica, aprendizagem e memória, que exercem significativo papel no desenvolvimento e funções cerebrais, as quais podem estar associadas à

fisiopatologia do TDM (FAN et al., 2014). Foi visto que o miRNA-26b diminui a expressão de BDNF, o que pode levar a atrofia neuronal, perda de glia, diminuição da formação dendrítica, redução da neurogênese e a diminuição do volume do hipocampo, produzindo alterações na memória e concentração como visto em alguns pacientes com TDM (FAN et al., 2014).

Na depressão, são relatadas alterações em alguns sistemas como no eixo HPA, que controla a produção e liberação de glicocorticóides (GCs) pelas supra-renais, em resposta ao estresse e ao ritmo circadiano diário (UCHIDA et al., 2008). Acredita-se que a disfunção deste sistema é resultado, em sua maioria, da ativação de mecanismos relacionados ao estresse, um dos fatores ambientais que pré-dispõe o indivíduo à depressão, já que cerca de 60% dos casos, os episódios depressivos são precedidos pela ocorrência de estímulos estressores, principalmente de origem psicossocial. A TDM é comumente precedida por experiências estressantes de caráter agudo ou crônico. Muitos pesquisadores propõem um modelo explicativo centrado no receptor de glicocorticóide (GR), pois é um dos mais importantes receptores de fatores de transcrição que regulam a resposta ao estresse, que pode induzir a resistência à ação de GCs. Essa resistência pode acarretar redução da função de GR, que, por sua vez, conduz à hiperatividade do eixo HPA e ambos podem levar ao aumento da inflamação contribuindo para a depressão (HEPGUL et al., 2013).

Para verificar a relação entre os miRNAs e o GR, Vreudgenhil e colaboradores (2009) testaram cinco miRNAs (124aa, 328, 524, 22 e 18), e descobriram que o aumento dos miRNAs 18 e 124a infra-regulam os GR, inibindo sua tradução e reduzindo os eventos mediados por ele.

Uchida e coautores (2008) relataram a inibição da tradução do receptor de glicocorticóide na cultura de neurônios pelo miRNA-18a, e que a expressão deste miRNA no núcleo paraventricular hipotalâmico é aumentada em ratos F344, os quais tem elevada excreção de corticoides induzido por estresse de restrição de movimentos, em comparação com os ratos controle. Segundo os autores, isto poderia explicar a diminuição da expressão de receptores de glicocorticóides em indivíduos deprimidos, e os níveis elevados de cortisol no plasma e no líquido cefalorraquidiano da maioria dos pacientes deprimidos.

É possível também que o aumento de expressão de miRNA-18a e consequente a regulação negativa de GR sejam responsáveis pela susceptibilidade genética ao estresse, pois de acordo com alguns estudos, o gene responsivo ao estresse do receptor glicocorticóide (GR), que é regulada negativamente em indivíduos deprimidos está sob regulação constante dos miRNAs: 124a e o 18a se ligam a 3'UTR do gene GR e regulam negativamente (downregulation) sua expressão. Foi constatado ainda que estresse agudo e crônico causam diferentes mudanças na expressão dos miRNAs em regiões específicas do cérebro (DWIVEDI, 2013).

Os miRNAs também exercem papel importante na modulação da neurofisiologia da depressão pela regulação da sinalização serotoninérgica. Foi mostrado que o miRNA-16 tem como alvo o transportador de serotonina (SERT), mediador predominante de antidepressivos inibidores da recaptação seletiva da serotonina (SSRI). Além de transportadores de serotonina, vários receptores de serotonina são alvos de miRNA. Um polimorfismo da região transcrita e não traduzida (UTR) 3' do receptor 5-HT_{1B} serotoninérgico diminui o seu pareamento com o miRNA-96, aumentando a expressão deste e integração com a membrana, aumentando as chances do neurotransmissor se ligar ao receptor (HANSEN; OBRIETAN, 2013; JENSEN et al., 2009). As sequências de miRNA também podem ser encontradas na região 3'-UTR dos genes da triptofano hidroxilase, TPH1 e TPH2, sugerindo um papel na modulação da produção de 5-HT (MILLAN, 2011). Além disso, o miRNA-195 regula a expressão dos receptores de serotonina 5-HT_{2A} e 5-HT₄. Tomados em conjunto, estes estudos sugerem que há vários mecanismos pelos quais a interrupção da função de miRNA pode conduzir a um desequilíbrio de sinalização serotoninérgica, o que poderia contribuir para a fisiopatologia da depressão clínica (DWIVEDI, 2013; HANSEN; OBRIETAN, 2013).

O tratamento com antidepressivos (AD) também afeta a expressão de miRNAs, permitindo a identificação de novos miRNAs envolvidos na fisiopatologia do TDM (BELZEAUX et al., 2012; BOCCHIO-CHIAVETTO et al., 2013). Bocchio-Chiavetto e coautores (2013) avaliaram as alterações de expressão de miRNAs no sangue de 10 indivíduos deprimidos após 12 semanas de tratamento com o oxalato de escitalopram (da classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina). Foram identificados 30 miRNAs diferencialmente expressos após o tratamento: vinte e oito miRNAs estavam superexpressos e dois miRNAs foram fortemente reduzidos. Entre estes o

miRNA-132 foi implicado na neurogênese e plasticidade sináptica, enquanto que miRNA-26a, miRNA-26b e miRNA-183 contribuem para a função do BDNF no cérebro.

Assim o uso de miRNAs circulantes como potenciais biomarcadores clínicos ganhou um interesse significativo nos últimos anos, tanto que muitos estudos indicam que os miRNAs podem ser detectados em diferentes amostras biológicas, como sangue e líquido cefalorraquidiano (LCR), apresentando grande estabilidade (CHEN et al., 2008; JIN et al., 2013; MITCHELL et al., 2008). E também variações de sua expressão sob condições fisiológicas e patológicas dentro do sistema nervoso central (JIN et al., 2013). E uma vez visto que essas alterações nos miRNAs circulantes correlacionam-se com as alterações de expressão de miRNAs avaliadas nos tecidos neuronais, diversos estudos foram realizados para a identificação deles (LIU et al., 2010; REDELL et al., 2010). Belzeaux e colaboradores (2012) avaliaram a expressão de miRNAs em células mononucleares de sangue periférico (PBMC) de pacientes com e sem TDM, e duas e oito semanas após os tratamentos antidepressivos. Os autores identificaram alterações em vários miRNAs (miRNA-107, miRNA-133a, miRNA-148a, miRNA-200c, miRNA-381, miRNA-425-3p, miRNA-494, miRNA-517b, miRNA-579, miRNA-589, miRNA-636, miRNA-652, miRNA-941 e miRNA-1243) verificando dentre eles que os miRNA-589 e miRNA-941 foram mais expressos em pacientes com TDM após um seguimento de oito semanas.

Fan et al. (2014) examinaram a expressão de miRNAs em PBMC como biomarcadores, identificando 26 miRNAs com alterações de expressão significativas em pacientes com TDM. Em estudo subsequente, com um amostral maior do que 81 pacientes com TDM e 46 indivíduos saudáveis, 5 miRNAs (miRNA-26b, miRNA-1972, miRNA-4485, miRNA-4498 e miRNA-4743) estavam mais expressos nos deprimidos, inferindo-se que eles possam controlar vias associadas com o sistema nervoso e funções cerebrais.

WAN e coautores (2015) analisaram o soro de 6 pacientes com TDM e 6 pacientes sem o distúrbio, identificando o aumento da expressão dos miRNAs 221-3p, 34a-5p e let-7d-3p juntamente com baixos níveis de expressão de miRNA-451a no soro. Uma vez observado que houve relação entre os miRNAs e a TDM, os autores analisaram estatisticamente a especificidade e a sensibilidade da habilidade diagnóstica dos 4 miRNAs: let-7d-3p, miRNA-34a-5p, miRNA-221-3p e miRNA-451a,

respectivamente eram de 90,48%, 95,24% 90,48% e 90,48% de especificidade e 93,75%, 96,88%, 90,63% e 84,85% de sensibilidade, sugerindo que esses miRNAs possuem alto potencial como biomarcadores do TDM.

Em 2012, foi constatado que outro miRNA, o 144-5p está envolvido na resposta ao tratamento estabilizador do humor, em respostas ao estresse (KATSUURA et al., 2012; ZHOU et al., 2009). Neste contexto, Wang e colaboradores (2015) identificaram que os níveis do miRNA 144-5p estão significativamente baixos em pacientes com TDM ao comparar com indivíduos controles, assim como em pacientes depressivos após 8 semanas de tratamento com AD sugerindo que ele pode ser utilizado para avaliação do tratamento com AD.

Devido a uma grande quantidade de provas apontando o papel de miRNAs na patogênese da depressão, é fundamental examinar se estes miRNAs podem ser detectados em tecidos periféricos e podem ser utilizados como um biomarcador, como alvos terapêuticos em transtornos neurais como a depressão e suas implicações na etiopatologia da depressão. Além disso é importante ressaltar as diferenças e inconsistências no diagnóstico médico da depressão da triagem dos materiais biológicos e as técnicas de obtenção dos miRNAs. Como biomarcadores, foi visto que o miRNA pode ser detectado na circulação de fluidos biológicos tais como soro, plasma, urina, saliva. Surpreendentemente em condições saudáveis, estes miRNAs são expressos de forma estável em células sanguíneas e, sob condições de doença, o perfil de miRNAs muda significativamente, o que sugere novamente, que os miRNAs periféricos podem ser utilizados como biomarcadores (DWIVEDI, 2013).

Já quando utilizado como alvos terapêuticos, os miRNAs podem servir como adjuvantes de reguladores homeostáticos, que têm como alvo vários focos da disfunção depressiva. Além disso, dado que alguns antidepressivos atuais já modulam a expressão de miRNA, um melhor entendimento deles poderia prover maior eficácia no tratamento (HANSEN; OBRIETAN, 2013).

O quadro 2 resume os principais achados nos estudos analisados, mostrando os miRNAs infra e supra-regulados correlacionando com as suas respectivas funções e as relações com as hipóteses levantadas neste trabalho, quando apontadas pelos autores, a técnica utilizada para a obtenção dos miRNAs e a amostra utilizada.

Quadro 2 – micro RNAs infra e supra expressos em pacientes com TDM.

<i>Autores</i>	<i>Principais MiRNAs com expressão reduzida</i>	<i>Principais MiRNAs com expressão aumentada</i>	<i>Técnica/ Método</i>	<i>Tipo de Amostra</i>	<i>Função/Relação com as hipóteses da depressão</i>
<i>UCHIDA et al., 2008</i>	-----	miRNA-18a	RT-qPCR (Reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real) SYBR green	Regiões do cérebro de ratos adultos (hipocampo, CPF, amígdala cerebral e o corpo estriado)	Inibe tradução do GR e aumento dos níveis de cortisol em pacientes depressivos.
<i>VREUGDENHIL et al., 2009</i>	-----	miRNA-124a e miRNA-18a	RT-qPCR TaqMan	Regiões do cérebro de ratos adultos (hipocampo, hipotálamo, CPF, cerebelo e glândula pituitária)	miRNA-124a é importante para neogênese e o miRNA-18a inibe a tradução do mRNA do GR.
<i>BELZEAUX et al., 2012</i>	4 miRNA: miRNA-579, miRNA-589, miRNA-636, miRNA-652, miRNA-941 e miRNA-1243	9 miRNA: has-miR-107, miR-133a, miR-148a, miR-200c, miR-381, miR-425-3p, miR-494, miR-517b	MicroArray e RTq-PCR TaqMan	células mononucleares de sangue periférico de pacientes após 8 semanas de tratamento com AD.	Auxílio no monitoramento do tratamento da TDM.
<i>SMALHEISER et al., 2012</i>	21 miRNA: miRNA-142-5p, miRNA-137, miRNA-489, miRNA-148b, miRNA-101, miRNA-324-5p, miRNA-301a, miRNA-146a, miRNA-335, miRNA-494, miRNA-20b, miRNA-376a, miRNA-190, miRNA-155, miRNA-660, miRNA-130a, miRNA-27a, miRNA-497, miRNA-10a, miRNA-20a, miRNA-142-3p	-----	RT-PCR TaqMan	Córtex pré-frontal de pacientes pós-mortem congelado a -80°C.	A maioria está relacionada com o crescimento e diferenciação celular

<i>Autores</i>	<i>Principais MiRNAs com expressão reduzida</i>	<i>Principais MiRNAs com expressão aumentada</i>	<i>Técnica/ Método</i>	<i>Tipo de Amostra</i>	<i>Função/Relação com as hipóteses da depressão</i>
<i>KATSUURA et al., 2012</i>	miRNA-144-5p	-----	MicroArray e RTq-PCR TaqMan	Sangue venoso	Envolvido na resposta ao tratamento da estabilização do humor e às respostas ao estresse.
<i>BOCCHIO-CHIAVETTO et al., 2013</i>	miR-34c-5p e miR-770-5p	miRNA-132, miRNA-26a, miRNA- 26b e miRNA-183	RTq-PCR TaqMan	Sangue venoso de pacientes após 12 semanas de tratamento com citalopram	miRNA-132 está envolvido na neurogênese e plasticidade sináptica, estimulando o crescimento axonal e dendrítico em diferentes áreas do cérebro. miRNA-26a/b inibem a expressão de BDNF
<i>LI et al. 2013</i>	-----	miRNA-132 e miRNA-182	RTq-PCR YBRGreen	Modelo celular de neurônios	miRNA-182 regula a expressão de BDNF. Está associada a sintomas de insônia em pacientes com TDM
<i>FAN et al., 2014</i>	-----	miRNA-26b, miRNA-1972, miRNA-4485, miRNA-4498 e miRNA-4743	RTq-PCR TaqMan	Células mononucleares de sangue periférico	Envolvidos no desenvolvimento e função do cérebro: orientação e extensão axônica, transmissão sináptica, aprendizado e memória.
<i>WANG et al., 2015</i>	miR-144-5p	-----	RTq-PCR	Soro/Plasma	Envolvido na resposta ao tratamento da estabilização do humor e às respostas ao estresse.
<i>WAN et al., 2015</i>	miRNA-451a	miRNA-221-3p, 34a-5p e let-7d-3p	RTq-PCR	Soro	-----

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A depressão é doença multifatorial, o que dificulta o seu entendimento, diagnóstico e tratamento. Os estudos avaliados nesta revisão mostram que as modificações epigenéticas estão associadas aos sinais e sintomas do transtorno depressivo, bem como às principais teorias da etiopatogenia desta doença.

Uma das principais modificações encontradas em pacientes deprimidos foi o aumento da metilação do promotor do gene BDNF, a qual relaciona-se à teoria neurotrófica da depressão.

Diversas alterações no perfil de expressão de miRNAs foram identificadas e muitos autores especulam sobre seu papel promissor como biomarcadores no diagnóstico do TDM, já que pacientes depressivos mostram alterações significativas na expressão desses genes. Na terapêutica, foi visto que os miRNAs podem atuar como adjuvantes de reguladores homeostáticos. Além disso, os miRNAs podem prever a eficácia do tratamento, já que os antidepressivos modulam sua expressão. Dentre todos os miRNAs, quatro foram mais observados: miRNA-132 e o miRNA-26b, que estão envolvidos com a teoria neurotrófica, miRNA-144-5p, relacionado a estabilização do humor e a resposta a eventos estressores, e o miRNA-18a associado à hipótese neuroendócrina.

Portanto o estudo dos mecanismos epigenéticos envolvidos na depressão é muito promissor, e pode, futuramente com mais estudos, elucidar a etiologia e os mecanismos fisiopatológicos na depressão, contribuir para o diagnóstico preciso e o aprimoramento do tratamento.

REFERÊNCIAS

- ACIOLY, Luiz Tavares de Lacerda, et al. **Depressão: Do neurônio ao funcionamento social**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 360p. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=tti7VBR4JGkC&pg=PA236&lpg=PA236&q=melhor+entendimento+da+fisiopatologia+da+depress%C3%A3o&source=bl&ots=u3eap1pskt&sig=C0smnFFRkc90E8bU0dx8Htwo_E&hl=pt-BR&sa=X&ved=0ahUKEwib0u26zL_NAhXLFpAKHXfBBkQ6AEIOzAE#v=onepage&q=melhor%20entendimento%20da%20fisiopatologia%20da%20depress%C3%A3o&f=false>. Acesso em: 02 Jun. 2016.
- AL-HARBI, K. S. Treatment-resistant depression: therapeutic trends, challenges, and future directions. **Patient preference and adherence**. v. 6, p. 369-388, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3363299/>>. Acesso em: 02 Jun. 2016.
- ALMADA, L.F., BORGES, M.F., MACHADO, S.E.C. Considerações neurobiológicas sobre a depressão maior: Um histórico neurocientífico. **Encontro: Revista de Psicologia**, v. 17, n. 26, 2014. Disponível em: <<http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/renc/article/view/2420/2320>>. Acesso em: 15 Set. 2016
- AMBROS, V. microRNAs: Tiny Regulators with Great Potential. **Cell**, v. 107, n. 7, p. 823-826, 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009286740100616X>>. Acesso em: 22 Out. 2016.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais, 5ª edição (DSM-IV)**. Tradução de Maria Inês Corrêa Nascimento et al. Porto Alegre: Artmed, 2014. Disponível em: <<http://aempreendedora.com.br/wp-content/uploads/2017/04/Manual-Diagn%C3%B3stico-e-Estat%C3%ADstico-de-Transtornos-Mentais-DSM-5.pdf>>. Acesso em: 28 Out. 2017.
- ANDRADE, L.H. et al. Mental Disorders in megacities: findings from the São Paulo Megacity mental health survey, Brazil. **PLoS One**, n. 7, v. 2, e31879, 2012. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0031879>> Acesso em: 14 Ago. 2016.
- APPASANI, K. (Ed.). **MicroRNAs: From Basic Science to Disease Biology**. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. Disponível em: <<http://www.gene-quantification.de/appasani-ebook-micrnas-science-to-disease-biology-2009.pdf>>. Acesso em: 08 Jan. 2016.
- AUTRY, A. E.; MONTEGGIA, L. M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. **Pharmacol. Rev.** v. 64, n. 2, p. 238–258, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3310485/pdf/zpg238.pdf>>. Acesso em: 14 Jun. 2016.
- BAGOT, R. C. et al. Epigenetic signaling in psychiatric disorders: stress and depression. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 16, n. 3, p. 281-295, 2014.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4214172/pdf/DialoguesClinNeurosci-16-281.pdf>>. Acesso em: 14 Jun. 2016.

BARCHAS, J. D.; ALTEMUS, M. Monoamine Hypotheses of Mood Disorders. In: SIEGEL, G. J.; AGRANOFF, B. W.; ALBERS, R. W.; FISHER, S. K.; UHLER, M. D, (Ed.). **Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects**. 6 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999. cap. 52. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28257/>>. Acesso em: 23 Out. 2016.

BARTEL, D. P. MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. **Cell**, v. 116, n. 2, p. 281–297, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867404000455>>. Acesso em: 22 Out. 2016.

BELZEAUX, R. et al. Responder and nonresponder patients exhibit different peripheral transcriptional signatures during major depressive episode. **Transl. Psychiatry**, v. 2, n. 185, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3565773/pdf/tp2012112a.pdf>>. Acesso em: 02 Abr. 2017.

BESSA, J. M. et al. The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. **Molecular Psychiatry**, v. 14, p. 764–773, 2009. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/mp2008119>>. Acesso em: 11 Jan. 2017.

BETTIO, L. E. B. **Envolvimento dos Receptores Nmda e da Via Larginina-Óxido Nítrico-Gmpc no Efeito Tipo Antidepressivo da Guanosina**. 2012, 100 f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/96253/302703.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 02 Jun. 2016.

BINDER, D. K.; SCHARFMAN, H. E. Brain-derived Neurotrophic Factor. **Growth Factors**, v. 22, n. 3, p. 123-131, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2504526/pdf/nihms58796.pdf>>. Acesso em: 02 Jun. 2016.

BIRD, A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. **Genes Dev.**, v.16, n.1, p. 6-21, 2002. Disponível em: <<http://genesdev.cshlp.org/content/16/1/6.long>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

BOCCHIO-CHIAVETTO, L. et al. Blood microRNA changes in depressed patients during antidepressant treatment. **European Neuropsychopharmacology**, v.23, n.7, p. 602-611, 2013. Disponível em: <[http://www.europeanneuropsychopharmacology.com/article/S0924-977X\(12\)00165-4/fulltext](http://www.europeanneuropsychopharmacology.com/article/S0924-977X(12)00165-4/fulltext)>. Acesso em: 14 Jul. 2016.

BOCCHIO-CHIAVETTO, L. et al. Serum and plasma BDNF levels in major depression: a replication study and meta-analyses. **World J Biol Psychiatry**, v.11, n.6, p. 763-73, 2010. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/15622971003611319?journalCode=iwbp20>>. Acesso em: 14 Out. 2016.

BONDY, B. Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 4, n. 1, p. 7-20, 2002. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3181668/>>. Acesso em: 14 Dez. 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Datasus mortalidade geral**. 2015. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defhttm.exe?sim/cnv/obt10uf.def>>. Acesso em: 17 Abr. 2016.

BUSHATI, N.; COHEN, S. M. MicroRNA Functions. **Annu Rev Cell Dev Biol.** v. 23, n. 1, p. 175-205, 2007. Disponível em: <http://arjournals.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123406?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed>. Acesso em: 08 Jan. 2017.

CAI, Y. et al. A Brief Review on the Mechanisms of miRNA Regulation. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 7, n. 4, p. 147–154, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1672022908600443>>. Acesso em: 23 Out. 2016.

CHARNEY, D.S.; MANJI, H.K. Life stress, genes, and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention. **Sci. STKE**, v. 2004, n. 225, p. 1-11, 2004. Disponível em: <<http://stke.sciencemag.org/content/2004/225/re5.long>>. Acesso em: 08 Jan. 2016.

CHARNEY, D.S.; MENEKES, D.B.; HENINGER, G.R. Receptor sensitivity and the mechanism of action of antidepressant treatment. **Arch Gen Psychiatry.**, v.38, n. 10, p.1160-80, 1981. Disponível em: <<http://jamanetwork.com/journals/jamapsychiatry/article-abstract/492650>>. Acesso em: 14 Dez. 2016.

CHEN, X. et al. Characterization of micrnas in serum: A novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. **Cell Res.**, v.18, p. 997–1006, 2008 Disponível em: <<https://www.nature.com/cr/journal/v18/n10/full/cr2008282a.html>>. Acesso em: 12 Abr. 2017.

CHIUCCARIELLO, L. et al. Elevated Monoamine Oxidase a Binding During Major Depressive Episodes Is Associated with Greater Severity and Reversed Neurovegetative Symptoms. **Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 4, p. 973–980, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3924531/>>. Acesso em: 3 Jan. 2016.

CHO, K. S.; ELIZONDO, L. I.; BOERKOEL, C. F. Advances in chromatin remodeling and human disease. **Current Opinion in Genetics and Development**, v.14, p. 308-315, 2004. Disponível em: <<http://europepmc.org/abstract/med/15172675>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

CHOUDHURI, S. Small Noncoding RNAs: Biogenesis, Function, and Emerging Significance in Toxicology. **J Biochem Molecular Toxicology**, v. 24, n. 3, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20143452>>. Acesso em: 08 Jan. 2017.

CHUANG, J. C.; JONES, P. A. Epigenetics and MicroRNAs. **Pediatr. Res.**, v. 61, n. 5, p. 24R–29R, 2007. Disponível em: <<http://www.nature.com/pr/journal/v61/n5-2/pdf/pr2007127a.pdf>>. Acesso em: 20 Jun. 2016.

COSTA-MATTIOLI, M. et al. Translational Control of Long-Lasting Synaptic Plasticity and Memory. **Neuron**, v. 61, n. 1, p. 10–26, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5154738/>>. Acesso em: 20 Jun. 2016.

COSTELLO, J. F.; PLASS, C. Methylation matters. **J Med Genet**, v.38, p. 285-303, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1734882/pdf/v038p00285.pdf>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

D'ADDARIO, C. et al. Selective DNA Methylation of BDNF Promoter in Bipolar Disorder: Differences Among Patients with BDI and BDII. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 7, p. 1647-1655, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3358733/>>. Acesso em: 19 jun. 2016.

DALTON, V. S.; KOLSHUS, E.; MCLOUGHLIN, D. M. Epigenetics and depression: return of the repressed. **Journal of Affective Disorders**, v. 155, p. 1-12, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24238955>>. Acesso em: 19 jun. 2016.

DEL PORTO, J. A. Conceito e diagnóstico. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo, v. 21, supl. 1, p. 06-11, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44461999000500003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 14 Ago. 2016.

DOGINI, D. B. et al. The new world of RNAs. **Genet. Mol. Biol.**, Ribeirão Preto, v. 37, n. 1, supl. 1, p. 285-293, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47572014000200014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 23 Out. 2016.

DRONGITIS, D., et al. Epigenetics and cortical spreading depression: changes of DNA methylation level at retrotransposon sequences. **Ann Psychiatry Ment Health**, v. 43, n. 8, p. 755-760, 2016. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11033-016-4000-4>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

DUALIBI, K.; DA SILVA, A. S. M.; MODESTO, B. Depressão. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 70, n. 12, p. 6-13, 2013. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=5578>. Acesso em: 20 jun. 2016.

DULAC, C. Brain Function and Chromatin Plasticity. **Nature**, v. 465, n. 7299, 728–735, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3075582/>>. Acesso em: 5 Jan. 2017.

DUMAN, R. S.; HENINGER, G. R.; NESTLER, E. J. A Molecular and Cellular Theory of Depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 54, n. 7, p. 597–606, 1997. Disponível em: <<https://jamanetwork.com/journals/jamapsychiatry/article-abstract/497854>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

DUMAN, R. S.; LI, N. A neurotrophic hypothesis of depression: role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1601, p. 2475-2484, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3405673/>>. Acesso em: 11 Jan. 2017.

DUMAN, R.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biol. Psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1116–1127, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322306002319>>. Acesso em: 11 Jan. 2017.

DUPONT, C.; ARMANT, D. R.; BRENNER, C. A. Epigenetics: Definition, Mechanisms and Clinical Perspective. **Semin Reprod Med.**, v. 27, n. 5, p. 351-357, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2791696/>>. Acesso em: 26 Ago. 2016.

DWIVEDI, Y. microRNAs as Biomarker in Depression Pathogenesis. **Ann Psychiatry Ment Health**, v.1, n. 1, p.1-9, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4755329/pdf/nihms728070.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

EGGER, G. et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. **Nature**, v. 429, p. 457-463, 2004. Disponível em: <<http://www.nature.com/nature/journal/v429/n6990/full/nature02625.html>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

FAN, H- M. et al. Differential expression of microRNA in peripheral blood mononuclear cells as specific biomarker for major depressive disorder patients. **Journal of Psychiatric Research**. v. 59, p. 45 – 52, 2014. Disponível em: <[http://www.journalofpsychiatricresearch.com/article/S0022-3956\(14\)00243-X/abstract](http://www.journalofpsychiatricresearch.com/article/S0022-3956(14)00243-X/abstract)>. Acesso em: 21 Jun. 2016.

FATEMI, M. et al. Dnmt3a and Dnmt1 functionally cooperate during *de novo* methylation of DNA. **Eur. J. Biochem.**, v. 269, p. 4981–4984, 2002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/8424698_DNMT3a_and_DNMT1_functionally_cooperate_during_de_novo_methylation_of_DNA>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

FENG, J. et al. Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons. **Nat Neurosci**, v.13, n.4, p. 423–430, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3060772/>>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

FILIPOWICZ, W.; BHATTACHARYA, S. N.; SONENBERG, N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? **Nat Rev Genet**. v. 9, p.102-14, 2008. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrg2290>>. Acesso em: 18 Jan. 2016.

FUCHIKAMI, M. et al. DNA Methylation Profiles of the Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Gene as a Potent Diagnostic Biomarker in Major Depression. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, 2011. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371%2Fjournal.pone.0023881.PDF>>. Acesso em: 19 Jun. 2016.

GAMBOA, K. A. B.; QUEZADA, M. A.; BRAVO, F. P. MicroRNAs, mecanismo epigenético para estudar la enfermedad celíaca. **Revista Española de Enfermedades Digestivas**, v.106, n. 5, p. 325-33, 2014. Disponível em: <http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v106n5/es_revision1.pdf>. Acesso em: 14 Jun. 2016.

GOLAN, D. E. et al. **Princípios de farmacologia**: a base fisiopatológica da farmacoterapia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

GREGORY, P. D.; WAGNER, K.; HÖRZ, W. Histone acetylation and chromatin remodeling. **Exp Cell Res.**, v. 265, n. 2, p.195-202, 2001. Disponível em: <<http://sci-hub.cc/10.1006/excr.2001.5187>>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

GUSMÃO, R. D. M. de. **Depressão: detecção, diagnóstico e tratamento**. 2005. 582 f. Dissertação (Doutorado em Psiquiatria e Saúde Mental) - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2005. Disponível em: <<https://run.unl.pt/bitstream/10362/5507/3/Gusm%C3%A3o%20Ricardo%20TD%202005.pdf>>. Acesso em: 02 jun. 2016.

HA, M.; KIM, V. N. Regulation of microRNA biogenesis. **Nat Rev Mol Cell Biol.**, v. 5, n. 8, p. 509-24, 2014. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrm3838>>. Acesso em: 03 Out. 2016

HANDY, D. E.; CASTRO, R.; LOSCALZO, J. Epigenetic Modifications: Basic Mechanisms and Role in Cardiovascular Disease, **Circulation**. v. 123, n.19, p. 2145-215, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3107542/>>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

HANSEN, K. F.; OBRIETAN, K. MicroRNA as therapeutic targets for treatment of depression. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v.9, p. 1011–1021, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3735337/pdf/ndt-9-1011.pdf>>. Acesso em: 22 jun. 2016.

HASLER, G. et al. 5-HT1A receptor binding in temporal lobe epilepsy patients with and without major depression. **Biol Psychiatry**. v. 62, n. 11, p. 1258–1264, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2170875/>>. Acesso em: 5 jan. 2017.

HASLER, G. et al. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 4, p. 1765–1781, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15213704>>. Acesso em: 5 Jan. 2017.

HASLER, G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? **World Psychiatry**. v.9, n. 3, p. 155–161, 2010. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2950973/>>. Acesso em: 31 Ago. 2016

HEPGUL, N. et al. Depression pathogenesis and treatment: what can we learn from blood mRNA expression? **BMC Med**. v. 11, n. 28, p. 1 -13, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3606439/>>. Acesso em: 22 jun. 2016.

HUANG, E.; REICHARDT, L. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. **Annual Review of Neuroscience** v. 24, n. 1, p. 667-736, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11520916>>. Acesso em: 5 jan. 2017.

JACOB, T. C. RNAi and Applications in Neurobiology. In: Kittler, J. T.; Moss, S. J. (Ed.). **The Dynamic Synapse: Molecular Methods in Ionotropic Receptor**

Biology. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis; 2006. cap. 10. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2557/>>. Acesso em: 23 Out. 2016.

JAENISCH, R.; BIRD, A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. **Nature Genetics**, v. 33, n. 1, p. 245-254, 2003. Disponível em: <<http://www.nature.com/ng/journal/v33/n3s/pdf/ng1089.pdf>>. Acesso em: 22 Ago. 2016.

JENSEN, K. P. et al. A common polymorphism in serotonin receptor 1B mRNA moderates regulation by miR-96 and associates with aggressive human behaviors. **Mol Psychiatry**, v. 14, n. 4, p. 381–389, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3162374/>>. Acesso em: 14 Abr. 2017.

JIANG, Y. et al. Epigenetics in the nervous system. **J Neurosci**, v. 28, n. 46, p. 11753-11759, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3844836/>>. Acesso em: 20 Jun. 2016.

JIN, X. F. et al. Circulating micrnas: A novel class of potential biomarkers for diagnosing and prognosing central nervous system diseases. **Cell. Mol. Neurobiol**, v. 33, n.5, p. 601–613, 2013. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10571-013-9940-9>>. Acesso em: 13 Abr. 2016.

JONAS, S.; IZAURRALDE, E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. **Nat Rev Genet**, v.16, n. 7, p. 421-33, 2015. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrg3965>>. Acesso em: 17 Set. 2016.

JONES, P. A. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond **Nature Reviews Genetics** v. 13, p. 484-492, 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrg/journal/v13/n7/full/nrg3230.html>>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

JURUENA, M. F.; CLEARE, A. J.; PARIANTE, C. M. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 189-201, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462004000300009&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 21 Oct. 2017.

KAHL, K. G. et al. Altered DNA methylation of glucose transporter 1 and glucose transporter 4 in patients with major depressive disorder. **Journal of Psychiatric Research**, v. 76, p. 66-76, 2016. Disponível em: <[http://www.journalofpsychiatricresearch.com/article/S0022-3956\(16\)30017-6/pdf](http://www.journalofpsychiatricresearch.com/article/S0022-3956(16)30017-6/pdf)>. Acesso em: 20 Jun. 2016.

KANG, H. J. et al. BDNF promoter methylation and suicidal behavior in depressive patients. **J Affect Disord**, v. 151, n. 2, p. 679-85, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23992681>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

KAPCZINSKI, F.; IZQUIERDO, J.; QUEVEDO, I. **Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos**: Uma Abordagem Translacional, 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=DrX_nZGAlg4C&pg=PA82&dq=diminui%C3%A7%C3%A3o+atividade+de+c%C3%A9lulas+N>

K+e+a+prolifera%C3%A7%C3%A3o+de+linf%C3%B3citos+depressao&hl=pt-BR &sa=X&ved=0ahUKEwiAzfLAhofXAhUBmpAKHXpOCjwQ6AEIJjAA#v=onepage&q=diminui%C3%A7%C3%A3o%20atividade%20de%20c%C3%A9lulas%20NK%20e%20a%20prolifera%C3%A7%C3%A3o%20de%20linf%C3%B3citos%20depresao&f=false>. Acesso em: 02 Jun. 2016.

KAREGE, F. et al. Low Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 9, p. 1068 – 1072, 2005. Disponível em: <[http://www.biologicalpsychiatryjournal.com/article/S0006-3223\(05\)00051-X/fulltext](http://www.biologicalpsychiatryjournal.com/article/S0006-3223(05)00051-X/fulltext)>. Acesso em: 05 Dez. 2016.

KARETA, M. S. et al. Reconstitution and mechanism of the stimulation of de novo methylation by human DNMT3L. **J Biol Chem**. v.281, n. 36, p. 25893–25902, 2006. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/281/36/25893.long>>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

KATSUURA, S. et al. MicroRNAs miR-144/144* and miR-16 in peripheral blood are potential biomarkers for naturalistic stress in healthy Japanese medical students. **Neurosci Lett**. v.516, n., p. 79–84, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22484483>>. Acesso em: 2 Jan. 2016.

KELLER, S. et al. Increased BDNF promoter methylation in the Wernicke area of suicide subjects. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 67, n. 3, p. 258–267, 2010. Disponível em: <<http://archpsyc.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=210623>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

KESSLER, R. C.; BROMET, E. J. The epidemiology of depression across cultures. **Annu rev public health**. v. 34, p. 119-138, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4100461/>>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

KHARADE, S. M.; GUMATE, D. S.; NAIKWADEA, N.S. Review: Hypothesis Of Depression And Role Of Antidepressant Drugs. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, s. 4, p. 3-6, 2010. Disponível em: <<https://www.ijppsjournal.com/Vol2Suppl4/755.pdf>>. Acesso em: 2 Jan. 2016.

KHVOROVA, A.; REYNOLDS, A.; JAYASENA, S. D. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. **Cell**, v. 115, n. 2, p. 209-216, 2003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867403008018>>. Acesso em: 03 Out. 2016.

KIM, V. N.; HAN, J.; SIOMI, M. C. Biogenesis of small RNAs in animals. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 10, n. 2, p. 126–139, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19165215>>. Acesso em: 06 Set. 2016.

KUNDAKOVIC, M. et al. DNA methylation of BDNF as a biomarker of early-life adversity. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 112, n. 22, p. 6807–6813, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4460453/pdf/pnas.201408355.pdf>>. Acesso em: 19 Jun. 2016.

LAFER, B.; VALLADA FILHO, H. P. Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo, v. 21, supl. 1, p. 12-17, 1999.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44461999000500004&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 02 Dez. 2016.

LEE, R. C.; FEINBAUM, R. L.; AMBROS V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. **Cell**. v. 75, n. 5, p. 843-854, 1993. Disponível em: <<http://qpcrupdate.info/lee-et-al-micrna-1993.pdf>>. Acesso em: 23 Out. 2016.

LI, Y. J. et al. Alterations of serum levels of BDNF-related miRNAs in patients with depression. **PLoS One**. v. 8, n.5, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3660391/>>. Acesso em: 22 jun. 2016.

LI, Z.; RANA, T. M. Therapeutic targeting of microRNAs: current status and future challenges. **Nat Rev Drug Discov**. v.13, p. 622-638, 2014. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrd4359>>. Acesso em: 16 Jan. 2016.

LIM, L. P. et al. The microRNAs of Caenorhabditis elegans. **Genes Dev**. v.17, n. 8, p. 991-1008, 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC196042/>>. Acesso em: 24 Out. 2016.

LIMA, A. F. B. S.; FLECK, M. P. A. Quality of life and depression: a review the literature. **Rev Psiquiatr Rio Gd Sul**. v. 31, n.3, p.1-12, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbp/2011nahead/aop0411>>. Acesso em: 15 Ago. 2016.

LIMA, M. S. Epidemiologia e impacto social. **Rev Bras Psiquiatr**., v. 21, suppl. 1, p. 1-5, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44461999000500002>. Acesso em: 14 Ago. 2016.

LIU, D. Z. et al. Brain and blood microRNA expression profiling of ischemic stroke, intracerebral hemorrhage, and kainate seizures. **J. Cereb. Blood flow metab**. v. 30, n.1, p. 92-101, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2949089/>>. Acesso em: 17 Abr. 2017.

LIU, X.; FORTIN, K.; MOURELATOS, Z. MicroRNAs: biogenesis and molecular functions. **Brain Pathol.**, n. 18, v.1, p. 113-121, 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3639.2007.00121.x/abstract>>. Acesso em: 08 Jan. 2017.

LUNDBECK INSTITUTE CAMPUS, **The serotonin pathways in depression**, 2017. Disponível em: <<https://institute.progress.im/en/content/serotonin-pathways-depression>>. Acesso em: 15 Out. 2017. il. color.

LYNAM-LENNON, N.; MAHER, S. G.; REYNOLDS, J. V. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. **Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.**, v.84, n. 1, p.55–71, 2009. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-185X.2008.00061x/abstract;jsessionid=B5C2205C87C30CF0150E4D21E368D0F0.f02t03>>. 28 Ago. 2016.

MALETIC, V. et al. Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. **International Journal of Clinical Practice**, v. 61, n.12, p. 2030–2040, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2228409/>>. Acesso em: 27 Out. 2017.

- MALLER, J. J.; DASKALAKIS, Z. J.; FITZGERALD, P. B. Hippocampal volumetrics in depression: The importance of the posterior tail. **Hippocampus**, v. 17, n. 11, p. 1023–1027, 2007. Disponível em: <[MASSART, R.; MONGEAU, R.; LANFUMEY, L. Beyond the monoaminergic hypothesis: neuroplasticity and epigenetic changes in a transgenic mouse model of depression. **Phil. Trans. R. Soc. B.**, v. 367, p. 2485-2494, 2012. Disponível: <<http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/367/1601/2485.short>>. Acesso em: 31 Ago. 2016

MCEWEN, B. S. Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain. **Metabolism**. v. 54, suppl. 1, p. 20–23, 2005. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15877308>>. Acesso em: 31 Ago. 2016

MEDINA MARIN, A.; ESCOBAR, M. Sistema glutamatérgico, primera parte: Sinaplogía, homeostasis y muerte celular. **Rev.colomb.psiquiatr.**, Bogotá, v. 31, n. 3, p. 193-218, 2002. Disponível em: <\[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74502002000300002&lng=en&nrm=iso\]\(http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74502002000300002&lng=en&nrm=iso\)>. Acesso em: 11 Mar 2017.

MENKE, A.; BINDER, E. B. Epigenetic alterations in depression and antidepressant treatment. **Dialogues Clin. Neurosci.**, v.16, n. 3, p. 395 404, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4214180/>>. Acesso em: 14 Jun. 2016.

MEYER, J. H.; GINOVART, N.; BOOVARWALA, A. Elevated monoamine oxidase A levels in the brain: an explanation for the monoamine imbalance of major depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 63, n. 11, p. 1209–1216, 2006. Disponível em: <<http://jamanetwork.com/journals/jamapsychiatry/fullarticle/668227>>. Acesso em: 5 Jan. 2017.

MIGUEL-HIDALGO, J.; RAJKOWSKA, G. Morphological brain changes in depression: can antidepressants reverse them. **CNS Drugs**, v. 16, n. 6, p. 361-372, 2002. Disponível em: <<http://sci-hub.cc/10.2165/00023210-200216060-00001>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

MILLAN, M. J. MicroRNA in the regulation and expression of serotonergic transmission in the brain and other tissues **Current Opinion in Pharmacology**, v. 11, n. 1, p. 11-22, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21345728>>. Acesso em: 12 Abr. 2017.

MITCHELL, P. S. et al. Circulating micrornas as stable blood-based markers for cancer detection. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.105, n. 30, p. 10513–10518, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2492472/pdf/zpq10513.pdf>>. Acesso em: 12 Abr. 2017.](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hipo.20339/abstract;jsessionid=452E11435E63741EED5927131D184400.f02t04?systemMessage=Pay+per+view+article+purchase%28PPV%29+on+Wiley+Online+Library+will+be+unavailable+on+Saturday+11th+March+from+05%3A00-14%3A00+GMT+%2F+12%3A00-09%3A00+EST+%2F+13%3A00-22%3A00+SGT+for+essential+maintenance++Apologies+for+the+inconvenience.>)

MITCHELMORE, C.; DEGE, L. Brain derived neurotrophic factor: Epigenetic regulation in psychiatric disorders. **Brain Research**, v. 1586, p. 162–172, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000689931400907X>>. Acesso em: 19 Jun. 2016.

MOORE, L. D.; LE, T.; FAN, G. DNA Methylation and Its Basic Function. **Neuropsychopharmacology Reviews**, v. 38, p.23–38, 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/npp/journal/v38/n1/full/npp2012112a.html>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. de M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo, v. 21, supl. 1, p. 24-40, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44461999000500006&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 14 Dez. 2017.

MUNHOZ, T. N. **Prevalência e fatores associados à depressão em adultos**: estudo de base populacional, 2012, 137 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012. Disponível em: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:M5k_9qYFbKkJ:guaiac.a.ufpel.edu.br/handle/123456789/1944+&cd=2&hl=p-BR&ct=clnk&gl=br&client=fir-efox-b-ab>. Acesso em: 09 Mai. 2016.

MUSAZZI, L.; RACAGNI, G.; POPOLI, M. Environmental stress, glucocorticoids and glutamate release: effects of antidepressant drugs. **Neurochem Int.**, v. 59, n. 2, p. 138-149, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197018611001690?via%3Dihub>>. Acesso em: 30 Ago. 2017.

NA, K. -S. et al. Brain-derived neurotrophic factor promoter methylation and cortical thickness in recurrent major depressive disorder. **Scientific Reports**, v. 6, n. 21089, p. 1-10, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4753411/pdf/srep21089.pdf>>. Acesso em: 28 Out. 2016.

NEUMEISTER, A. et al. Reduced hippocampal volume in unmedicated, remitted patients with major depression versus control subjects. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 8, p. 935-937, 2005. Disponível em: <[http://www.biologicalpsychiatryjournal.com/article/S0006-3223\(05\)00059-4/abstract](http://www.biologicalpsychiatryjournal.com/article/S0006-3223(05)00059-4/abstract)>. Acesso em: 5 Jan. 2017.

NEUMEISTER, A. et al. Reduced serotonin type 1A receptor binding in panic disorder. **J Neurosci**, v. 24, n.3, p. 589–591, 2004. Disponível em: <<http://www.jneurosci.org/content/24/3/589.long>>. Acesso em: 5 Jan. 2017.

NEVES, G.; COOKE, S. F.; BLISS, T. V. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. **Nat Rev Neurosci.**, v. 9, n. 1, p. 65–75, 2008. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrn2303>>. Acesso em: 16 Jan. 2017.

NIBUYA, M.; MORINOBU, S.; DUMAN, R. S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. **J Neurosci.**, v. 15, n. 11, p. 7539-47, 1995. Disponível em: <<http://www.jneurosci.org/content/jneuro/15/11/7539.full.pdf>>. Acesso em: 12 Jan. 2017.

NICIU, M. J.; KELMENDI, B.; SANACORA, G. Overview of Glutamatergic Neurotransmission in the Nervous System. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 100, n. 4, p. 656–664, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3253893/>>. Acesso em: 5 Jan. 2017.

NORRHOLM, S. D.; OUMET, C. C. Altered dendritic spine density in animal models of depression and in response to antidepressant treatment. **Synapse**, v. 42, n. 1, p. 151-163, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11746712>>. Acesso em: 11 Jan. 2017.

NUMATA, S. et al. Blood diagnostic biomarkers for major depressive disorder using multiplex DNA methylation profiles: discovery and validation. **Epigenetics**, v.10, n.2, p. 135-141, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25587773>>. Acesso m: 20 Jun. 2016.

OLIVEIRA, J. C. de. Epigenética e doenças humanas. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 21-34, 2012. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/viewFile/6957/11067>>. Acesso m: 2 Jun. 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Depression: Fact sheet**. 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>>. Acesso em: 17 Abr. 2017.

PARKER, G.; BROTHIE, H. Depressão maior suscita questionamento maior. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo, v. 31, supl. 1, p. S3-S6, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462009000500002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 27 Jun. 2016.

PASQUINELLI, A. E. et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. **Nature**. v. 408, n. 6808, p. 86-89, 2000. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/35040556>>. Acesso em: 23 Out. 2016.

PITTENGER, C.; DUMAN, R. S. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. **Neuropsychopharmacol**, v. 33, n., p. 88–109, 2008. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/1301574>>. Acesso em: 23 Out. 2016.

PRÉVÔT, D.; DARLIX, J. L.; OHLMANN T. Conducting the initiation of protein synthesis: the role of eIF4G. **Biol. Cell**, 2003, v. 95, n. 3-4, p. 141-156, 2003. Disponível em: <[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0248-4900\(03\)00031-5/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/S0248-4900(03)00031-5/abstract)>. Acesso em: 16 Abr. 2016.

RACAGNI, G.; POPOLI, M. Cellular and molecular mechanisms in the long-term action of antidepressants. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 10, n. 4, p. 385-400, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3181899/>>. Acesso em: 15 Jan. 2016.

RAUCH, T. A. et al. A human B cell methylome at 100–base pair resolution. **PNAS**, v. 106, n. 3, p. 671-678, 2009. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content>>

/106/3/671?ijkey=70d2d79b18fa4739489c58cc1db6652f4a1b9483&keytype2=tf_ip secsha>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

REDELL, J. B. et al. Human traumatic brain injury alters plasma microrna levels. **J. Neurotrauma**, v. 27, n. 12, p. 2147–2156, 2010. Disponível em: <<http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/neu.2010.1481>>. Acesso em: 16 Abr. 2017.

RINGROSE, L.; PARO, R. Epigenetic regulation of cellular memory by the Polycomb and Trithorax group proteins. **Annu Rev Genet.**, v.38, p. 413-43, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15568982>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

ROBERTSON, K. D. DNA methylation and human disease. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, p. 597-610, 2005. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrg/journal/v6/n8/full/nrg1655.html>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

ROBINSON, V. L. Rethinking the central dogma: Noncoding RNAs are biologically relevant. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 27, n. 3, p. 304–306, 2009. Disponível em: <[http://www.urologiconcology.org/article/S1078-1439\(08\)00326-8/pdf](http://www.urologiconcology.org/article/S1078-1439(08)00326-8/pdf)>. Acesso em: 24 Out. 2016.

RODRIGUES, M. J. S. F. O diagnóstico de depressão. **Psicol. USP**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 155-187, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-65642000000100010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 14 Ago. 2016.

ROTH, T. L.; SWEATT, J. D. Regulation of chromatin structure in memory formation. **Curr Opin Neurobiol**, v. 19, n. 3, p. 336-342, 2009 Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2744442/>>. Acesso em: 16 Fev. 2016

RUGGIERO, R. N. et al. Neurotransmissão glutamatérgica e plasticidade sináptica: aspectos moleculares, clínicos e filogenéticos. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 44, n. 2, p. 143-56, 2011. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/47348/51085>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

RUSCHI, G. E. C. et al. Aspectos epidemiológicos da depressão pós-parto em amostra brasileira. **Rev. psiquiatr. Rio Gd. Sul**, Porto Alegre, v. 29, n. 3, p. 274-280, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-81082007000300006>. Acesso em: 16 Jun. 2016

SANACORA, G. et al. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. **Nat Rev Drug Discov.**, v. 7, n. 5, p. 426-437, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2715836/>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

SANACORA, G.; TRECCANI, G.; POPOLI, M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 63–77, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3205453/>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

SANTOS, K. F.; MAZZOLA, T. N.; CARVALHO, H. F. The prima donna of epigenetics: the regulation of gene expression by DNA methylation. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 10, p. 1531-1541, Oct. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2005001000010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 24 Out. 2016.

SCHUETTENGROBER, B. et al. Genome regulation by polycomb and trithorax proteins. **Cell**, v. 128, n. 4, p. 735–745, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867407001900> >. Acesso em: 27 Ago. 2016.

SCOTTA, M. S.; ONOB, S. From snoRNA to miRNA: Dual function regulatory non-coding RNAs. **Biochimie**, v. 93, n. 11, p. 1987–1992, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3476530/>>. Acesso em: 24 Out. 2016.

SERAFINI, G. Neuroplasticity and major depression, the role of modern antidepressant drugs. **World Journal of Psychiatry**, v.2, n. 3, p. 49-57, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3782176/>>. Acesso em: 16 Jan. 2016.

SHELIN, Y. I. et al. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 9, p. 3908-3913, 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC39458/>>. Acesso em: 24 Set. 2016.

SHIMIZU, E. et al. Alterations of Serum Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Depressed Patients with or without Antidepressants, **Biological Psychiatry**, v. 54, n. 1, p. 70-75, 2003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322303001811>>. Acesso em: 14 Jan. 2017.

SHIRAYAMA, Y. et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor Produces Antidepressant Effects in Behavioral Models of Depression. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 8, p. 3251-326, 2002. Disponível em: <<http://www.jneurosci.org/content/22/8/3251>>. Acesso em: 11 Jan. 2017.

SHIRAYAMA, Y.; CHIKA, S. Neurochemistry of the Nucleus Accumbens and its Relevance to Depression and Antidepressant Action in Rodents. **Current Neuropharmacology**, v. 4, n. 4, 277–291, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2475798/>>. Acesso em: 07 Dez. 2016.

SILVA, A. S. M. de; JUBARA, C. F. B. Como diagnosticar e tratar: Depressão. **RBM**, v. 71, n. 12, p. 23-31, 2014. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=5955>. Acesso em: 02 Jun. 2016.

SINGAL, R.; GINDER, G. D. DNA methylation. **Blood**, v. 93, n. 12, p. 4059-4070, 1999. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/93/12/4059>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

SKOLNICK, P. et al. Adaptation of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors following antidepressant treatment: implications for the pharmacotherapy of

depression. **Pharmacopsychiatry**, v. 29, n. 1, p. 23-26, 1996. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.com/DOI/DOI?10.1055/s-2007-979537>>. Acesso em: 07 Dez. 2016.

SMAGA, I. et al. The role of neurotoxicity in depression. In: Kostrzewa R. M. (Ed.) **Handbook of neurotoxicity**. 1. ed. New York: Springer-Verlag. Parte III, p. 1567-1593, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4614-5836-4_176>. Acesso em: 20 Set. 2017.

SMALHEISER, N. R. et al. Expression of microRNAs and Other Small RNAs in Prefrontal Cortex in Schizophrenia, Bipolar Disorder and Depressed Subjects. **PLoS One.**, v. 9, n. 1, 2014. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0086469>>. Acesso em: 14 Jun. 2016.

SMALHEISER, N. R. et al. MicroRNA Expression Is Down-Regulated and Reorganized in Prefrontal Cortex of Depressed Suicide Subjects. **PLoS ONE.**, v.7, n.3, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3302855/>>. Acesso em: 12 Abr. 2017.

SONG, Y. et al. Altered DNA methylation status of human brain derived neurotrophin factor gene could be useful as biomarker of depression. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.**, v. 165B, n. 4, p.357-64, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4321058/>>. Acesso em: 21 Jun. 2016.

STOPA, S. R. et al. Prevalência do autorrelato de depressão no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Rev. bras. epidemiol.**, São Paulo, v. 18, supl. 2, p. 170-180, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-790X2015000600170&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 14 Ago. 2016.

TANG, W. Y.; HO, S. M. Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease. **Rev Endocr Metab Disord**, v. 8, n. 2, p. 173-82, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4056338/>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

TENG, C. T.; HUMES, E. de C.; DEMETRIO, F. N. Depressão e comorbidades clínicas. **Rev. psiquiatr. clín.**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 149-159, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-60832005000300007&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 09 Mai. 2016.

TIAN, T.; WANG, J.; ZHOU, X. microRNA detection methods. **Org. Biomol. Chem.**, v. 13, n. 8, p. 2226-2238, 2015. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2015/OB/C4OB02104E#!divAbstract>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

TRULLAS, R.; SKOLNICK, P. Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions. **Eur J Pharmacol.**, v.185, n. 1, p. 1–10, 1990. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/001429999090204J?via%3DIihub>>. Acesso em: 02 Set. 2016.

UCHIDA, S. et al. Characterization of the vulnerability to repeated stress in Fischer 344 rats: possible involvement of microRNA-mediated down-regulation of the glucocorticoid receptor. **Eur J Neurosci.**, v. 27, n.9, p. 2250-2261, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18445216>>. Acesso em: 25 Jan. 2017.

UNITED KINGDOM. National Collaborating Centre for Mental Health. **Depression: The Treatment and Management of Depression in Adults** (Updated Edition). Leicester (UK): **British Psychological Society**, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK63740/>>. Acesso em: 25 Jan. 2017.

UNTERNAEHRER, E. et al. Dynamic changes in DNA methylation of stress-associated genes (OXTR, BDNF) after acute psychosocial stress. **Translational Psychiatry**, v. 2, n. 8, e150, p. 1-7, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3432191/pdf/tp201277a.pdf>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

USHIJIMA, T.; ASADA, K. Aberrant DNA methylation in contrast with mutations. **Cancer Sci.** v. 101, n. 2, p. 300–305, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1349-7006.2009.01434.x/abstract>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

VARGAS, M. M.; STOLF-MOREIRA, R. Aplicação de microRNAs na prática clínica. **Rev Bras Clin Med.** São Paulo, v.11, n. 1, p. 62-66, 2013. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/1679-1010/2013/v11n1/a3391.pdf>>. Acesso em: 27 Ago. 2016.

VIALOU, V. et al. Epigenetic mechanisms of depression and antidepressant action. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.**, v. 53, p. 58-87, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3711377/>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

VISARI, L.; ALVES, G. J.; PALERMO-NETO, L. Depressão, antidepressivos e sistema imune: um novo olhar sobre um velho problema. **Rev Psiquiatr. Clín.**, v. 35, n. 5, p. 196-204, 2008. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/acp/article/viewFile/17163/19170>>. Acesso em: 25 Jun. 2017.

VREUGDENHIL, E. et al. MicroRNA 18 and 124a down-regulate the glucocorticoid receptor: implications for glucocorticoid responsiveness in the brain. **Endocrinology**, v. 150, n. 5, p. 2220-2228, 2009. Disponível em: <<https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2008-1335>>. Acesso em: 25 Jan. 2017.

WAN, Y. et al. Identification of Differential MicroRNAs in Cerebrospinal Fluid and Serum of Patients with Major Depressive Disorder. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. 1-12, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4357380/>>. Acesso em: 21 Jun. 2016.

WANG, X. et al. Circulating microRNA-144-5p is associated with depressive disorders. **Clin. Epigenetics**, v. 7, n.1, p. 69-77, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4509564/>>. Acesso em: 13 Abr. 2016.

WEI, Y. **Novel Mechanisms in Depression: Focus on Telomere Biology and Epigenetic Regulation**, 2015, 53 f. Tese (Doutorado) - Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm, 2015. Disponível em: <https://openarchive.ki.se/xmlui/bitstream/handle/10616/44682/Thesis_Yabin_Wei.pdf?sequence=3>. Acesso em: 2 Jun. 2016.

WEINHOLD, B. Epigenetics: The Science of Change. **Environ Health Perspect**, v.114, n. 3, p. A160– A167, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1392256/>>. Acesso em: 28 Ago. 2016.

WU, H. et al. Dnmt3a-Dependent Nonpromoter DNA Methylation Facilitates Transcription of Neurogenic Genes. **Science**, v. 329, n. 5990, p. 444-448, 2010. Disponível: <<http://science.sciencemag.org/content/329/5990/444/tab-pdf>>. Acesso em: 28 Ago. 2016

ZAKHARI, S. Alcohol Metabolism and Epigenetics Changes. **Alcohol research: current reviews**, v. 35, n. 1, p. 6-16, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/259209496_Alcohol_Metabolism_and_Epigenetics_Changes>. Acesso em: 17 Abr. 2016.

ZHANG, T- Y.; MEANEY, M. J. Epigenetics and the Environmental Regulation of the Genome and Its Function. **Annual Review of Psychology**, v. 61, p. 439-466, 2010. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.psych.60.110707.163625?url_ver=Z39.88-2003&rft_dat=cr_pub%3Dpubmed&rft_id=ori%3Arid%3Aacrossref.org&journalCode=psych>. Acesso em: 2 Jun. 2016.

ZHANG, X.; GAINETDINOV, R. R.; BEAULIEU, J. M. Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. **Neuron**. v. 45, p. 11-16, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2950973/#B47>>. Acesso em: 5 Jan. 2017.

ZHOU, R. et al. Evidence for selective microRNAs and their effectors as common long-term targets for the actions of mood stabilizers. **Neuropsychopharmacology**, v.34, n.6, p.1395-405, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2669666/>>. Acesso em: 25 Jan. 2017.