



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

GLAUBER RUDÁ FEITOZA BRAZ

**AVALIAÇÃO DO BALANÇO OXIDATIVO NO TRONCO ENCEFÁLICO
DE RATOS TRATADOS COM FLUOXETINA DURANTE A LACTAÇÃO**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
BACHARELADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA
NÚCLEO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E CIÊNCIAS DO ESPORTE

GLAUBER RUDÁ FEITOZA BRAZ

**AVALIAÇÃO DO BALANÇO OXIDATIVO NO TRONCO ENCEFÁLICO
DE RATOS TRATADOS COM FLUOXETINA DURANTE A LACTAÇÃO**

TCC apresentado ao Curso de Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Educação Física.

Orientadora: Cláudia Jacques Lagranha
Co-orientadora: Aline Isabel da Silva

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2015

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Roseane Souza de Mendonça, CRB4-1148

B827a Braz, Glauber Rudá Feitoza.

Avaliação do balanço oxidativo no tronco encefálico de ratos tratados com fluoxetina durante a lactação / Glauber Rudá Feitoza Braz. Vitória de Santo Antão: O Autor, 2015.
33f.

Orientadora: Cláudia Jacques Lagranha.

Coorientador: Aline Isabel da Silva.

TCC (Graduação) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV. Bacharelado em Educação Física, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Educação física. 2. Balanço oxidativo – Tronco encefálico - Ratos. 3. Serotonina. 4. Fluoxetina. I. Lagranha, Cláudia Jacques (Orientador). II. Silva, Aline Isabel da (Coorientador). III. Título.

GLAUBER RUDÁ FEITOZA BRAZ

AVALIAÇÃO DO BALANÇO OXIDATIVO NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS
TRATADOS COM FLUOXETINA DURANTE A LACTAÇÃO

TCC apresentado ao Curso de Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Educação Física.

Aprovado em: 24/07/2015.

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr^a. Cláudia Jacques Lagranha (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^a. Aline Isabel da Silva
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^a. Mariana Pinheiro Fernandes
Universidade Federal de Pernambuco

Dedicatória

À minha avó, Maria das Dores (*In memoriam*), aos meus pais, Osvaldo e Dilma, e irmãos, Raquel e Ravi; por tornarem a palavra família mais do que uma palavra.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me guiou e continua sempre à frente dos meus passos, verdadeiro Pai que acolhe o seu filho e que realiza em minha vida todos os desejos que são de sua vontade.

À minha família, pelo amor, confiança e incentivo constante em todos os momentos; esteio da minha vida e responsável pela minha feliz trajetória.

Aos meus amigos, de antes, de agora, de sempre; pela história construída e a partilha de momentos que tornam a conclusão desse ciclo ainda mais significativa.

Ao Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco, em especial aos mestres comprometidos com a ciência, que compartilharam seus conhecimentos e contribuíram para minha formação profissional.

Aos companheiros do Laboratório de Bioquímica e Bioquímica do Exercício, cenário principal do desenvolvimento do presente trabalho e de tantos outros, construídos com dedicação e muita alegria.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro durante a execução deste trabalho.

RESUMO

Níveis elevados de serotonina (5-HT) no sistema nervoso central têm sido associados a patologias como hipertensão. Outro possível mecanismo indutor dessa disfunção cardíaca é o desequilíbrio oxidativo. Entretanto a relação entre esses dois eventos, em órgãos de controle central da pressão arterial, como o tronco encefálico, ainda não está bem esclarecida. O presente estudo analisou os efeitos da inibição da recaptação de 5-HT sobre o balanço oxidativo no tronco encefálico. Para tal, ratos machos *wistar* receberam Fluoxetina (10 mg/kg peso corporal) ou Salina (10 ml/kg peso corporal) no período da lactação. Aos 60 dias de vida, foram realizadas as seguintes análises bioquímicas: Quantificação dos níveis de peroxidação lipídica, atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione-S-transferase e quantificação dos níveis de glutathione reduzida. Nossos resultados demonstraram que a 5-HT induziu diminuição da peroxidação lipídica e aumento na defesa antioxidante de maneira geral, sugerindo uma menor susceptibilidade à hipertensão associada ao estresse oxidativo.

Palavras-chave: Serotonina. Fluoxetina. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

High levels of serotonin (5-HT) in the central nervous system have been associated to diseases like hypertension. Another possible mechanism that is also associated with this cardiac dysfunction is the oxidative imbalance. However, the correlation between both events in central control organs of blood pressure, such as brainstem, remains unclear. The present study purposed to investigate the effects of the inhibition of serotonin reuptake on oxidative balance in the brainstem. For this, *Wistar* male rats received Fluoxetine (10 mg/b.w.) or Saline (10 ml/b.w.) during lactation period. At 60 days of age was analyzed: Lipid peroxidation levels, antioxidant enzymes activities superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase and the glutathione reductase levels. Our results showed a decreased in lipid peroxidation and increase in antioxidant defense in the fluoxetine group, suggesting less susceptibility to hypertension associated to oxidative stress.

Keywords: Serotonin. Fluoxetine. Oxidative stress.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	09
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
3 OBJETIVOS	13
4 METODOLOGIA	14
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÃO	23
7 REFERÊNCIAS	24
ANEXO A	33

1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que durante os períodos precoces de desenvolvimento, que compreendem a gestação e a lactação, o organismo encontra-se mais susceptível a insultos ambientais podendo apresentar modificações bioquímicas e estruturais em diversos tecidos como resposta adaptativa ao estímulo recebido e predispondo-se ao aparecimento de doenças na vida adulta. Uma das prioridades atuais da Organização Mundial de Saúde refere-se justamente ao combate dessas patologias, dada a crescente estatística de mortalidade por doenças crônico-degenerativas. Este combate inclui como estratégias uma alimentação adequada e mudanças do estilo de vida, as quais devem ser priorizadas desde o início da vida.

Um dos possíveis mecanismos envolvido na disfunção cardíaca é o aumento dos níveis de serotonina cerebral, também conhecida como 5-hidroxitriptamina ou 5-HT; um neurotransmissor sintetizado a partir do aminoácido essencial triptofano e que age mediado por receptores serotoninérgicos (5-HT₁ a 5-HT₇, divididos em 13 subtipos), sendo responsável por uma diversidade de funções como regulação do comportamento alimentar, da termorregulação, do humor, do sono, e também do controle vasomotor simpático (KUHN *et al*, 1980; MARWOOD, 1984; NIGMATULLINA *et al*, 2009; MONASSIER *et al*, 2010). Essa elevação de 5-HT cerebral é característica de alguns fármacos antidepressivos pertencentes à classe dos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS) como a fluoxetina (também conhecida como Prozac), que opera impedindo a recaptação da 5-HT pelo neurônio pré-sináptico e induzindo sua elevação na fenda sináptica. Esse fármaco em especial, é utilizado para tratamento da depressão, ansiedade, síndrome do pânico e transtorno obsessivo-compulsivo, podendo ultrapassar a barreira hematoencefálica e a placenta. Entre outros da mesma classe, a fluoxetina possui uma maior seletividade com o receptor, um tempo de meia-vida mais prolongado e menores efeitos colaterais (HIEMKE; HÄRTTER, 2000).

Outro possível mecanismo indutor da hipertensão é o aumento na produção de agentes oxidantes (como as espécies reativas de oxigênio) em regiões do sistema nervoso central (SNC), induzindo uma situação de estresse oxidativo. Define-se como estresse oxidativo um desequilíbrio entre a formação e a remoção dos radicais livres no organismo, em favor do aumento de radicais, gerando um estado pró-oxidante (GUTTERIDGE, 1993). O SNC, portanto, torna-se particularmente

vulnerável a condições de desequilíbrio oxidativo, uma vez que apresenta uma maior demanda de oxigênio, menor concentração de antioxidantes, comparando-se a outros tecidos, e uma grande quantidade de ácidos graxos de poliinsaturados.

Dessa forma, observa-se que o aumento da pressão arterial possui uma etiologia multifatorial e complexa, estando em foco duas possibilidades: níveis elevados de 5-HT e condições de estresse oxidativo cerebrais, que podem desenvolver a hiperativação do sistema nervoso simpático e consequentemente favorecer o surgimento da hipertensão.

Tendo em vista a condição patológica decorrente do aumento nos níveis de 5-HT cerebral defendida por diversos estudos, a manipulação do sistema serotoninérgico de maneira farmacológica em estágios precoces da vida poderia contribuir para um entendimento mais amplo da função dessa bioamina no SNC e sua associação com a hipertensão. Devido a carência de estudos com modelos experimentais que respondam especificamente quais os efeitos da inibição crônica da recaptação de serotonina cerebral no período crítico do desenvolvimento sobre parâmetros bioquímicos que influenciam as funções cardiovasculares, o presente estudo teve como pergunta condutora: Será que a recaptação de serotonina inibida no período da lactação induziria estresse oxidativo no tronco encefálico?

2 REVISÃO DE LITERATURA

Denominada de serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT), essa bioamina foi primeiramente estudada na década de 30, no trato gastrointestinal, e posteriormente relacionada a funções vasoconstritoras. A notória influência nos processos de neurotransmissão no cérebro de mamíferos foi descoberta em meados da década de 50 e apesar de apenas 2% da 5-HT ser produzida no sistema nervoso central (SNC), nos núcleos da rafe localizados no tronco encefálico, ela está associada a uma ampla variedade de funções, incluindo a modulação do tônus vascular anteriormente mencionada (RAPPORT *et al*, 1948; ERSPAMER, 1952; BRODIE, 1957; HALLIDAY *et al*, 1995; HILDRETH *et al*, 2008). Entretanto, atua em cada órgão associado ao controle cardiovascular (central e periférico), através dos seus receptores específicos localizados nos diferentes tipos celulares (WATTS, 2005). A nível central especialmente, esse controle pode exercer efeitos simpatoinibitórios (via 5HT_{1A}) ou simpatoexcitatórios (por meio do subtipo 5-HT_{2A}) (NALIVAICO; SGOIFO, 2009).

Em relação aos mecanismos centrais do controle da pressão arterial, algumas áreas do tronco cerebral, como o núcleo do trato solitário (NTS) e a região rostro-ventro-lateral do bulbo (RVLM) têm sido apontadas como principais áreas no controle da atividade simpática, pois estão diretamente envolvidas na recepção dos sinais aferentes provenientes dos barorreceptores arteriais e quimiorreceptores centrais e periféricos (MIFFLIN, 1992; CIRIELLO *et al*, 1994; KLINE *et al*, 2007; KLINE, 2010).

Esse controle da atividade simpática pode sofrer influência da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), e é mencionado, por exemplo, pelo estudo de Oliveira-Sales *et al* (2010), onde o aumento na produção de EROS no RVLM foi responsável pela hiperativação do sistema nervoso simpático no modelo de hipertensão arterial dos rins. Em adição a esse estudo, Chan *et al* (2009) demonstraram que o aumento de EROS induzido por disfunção mitocondrial em conjunto com a diminuição da ação das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase no RVLM, contribuiu com o estresse oxidativo crônico no RVML, levando a um aumento do tônus vasomotor simpático e à hipertensão.

Recentemente, Chan *et al* (2014), Kaludercic *et al* (2014) e Rubattu *et al* (2015), também apresentaram uma forte relação entre a formação de EROS mitocondrial e a hiperativação do sistema nervoso simpático. Por outro lado, a

inibição crônica da recaptação de serotonina em tecidos cerebrais foi reportada como positiva sobre o balanço oxidativo, dada a elevação de algumas enzimas antioxidantes encontrada por Khanzode *et al* (2003), Zafir *et al* (2009), Ahmad *et al* (2010), Moretti *et al* (2012) e Abdel Salam *et al* (2013). Dessa forma podemos observar que mesmo com a crescente publicação sobre o envolvimento da serotonina no controle da pressão arterial, essa associação ainda é complexa e pouco elucidada, apresentando uma carência de respostas específicas para os efeitos da inibição crônica da recaptação serotoninérgica durante o período crítico do desenvolvimento, sobre indicadores de estresse oxidativo no tronco encefálico.

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral: Avaliar, em ratos, os efeitos da inibição crônica de recaptação de serotonina induzida por fluoxetina durante o período pós-natal (lactação) sobre o estresse oxidativo no tronco encefálico.

Objetivos Específicos: Após a manipulação do sistema serotoninérgico, avaliar *in vitro*:

- Os níveis de peroxidação lipídica no tronco encefálico;
- A atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase, glutational peroxidase e glutational-S-transferase no tronco encefálico;
- Os níveis de glutational reduzida no tronco encefálico.

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizadas ratas da linhagem *Wistar* provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. As fêmeas selecionadas (n=8) entre 150-180g foram abrigadas em biotério sob condições padrão de temperatura, iluminação e umidade com água e comida (dieta Labina – Purina S/A) *ad libitum* (VAN ZUTPHEN, 1993). Foram promovidos períodos alternados e regulares de luz e escuridão (12/12 horas) posteriores ao período de adaptação (15 dias) para sincronizar o ciclo circadiano. Após a adaptação, as ratas, quando em período estral, foram acasaladas na proporção de uma fêmea para um macho. No 1º dia após o nascimento, foram selecionados oito neonatos machos de modo aleatório estando o seu peso entre seis e oito gramas, para composição dos grupos. A manipulação e os cuidados com os animais seguiram as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e aprovação do Comitê de Ética em Estudos com Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco – Número do processo: 23076.015276/2012-56 (Anexo 1).

4.2 Tratamento

- **Controle (C)** – Foi utilizado 10 ml/kg de peso corporal de solução de Cloreto de Sódio (NaCl) à 0,9%.
- **Fluoxetina (F)** – Foi utilizado fluoxetina (ISRS) (Sigma), na concentração de 10 mg/kg de peso corporal (DA SILVA *et al*, 2014, 2015). A droga foi obtida na forma de cloridrato de fluoxetina e dissolvida em veículo controle, uma solução salina (NaCl) a 0.9%, utilizando um volume final de 10 ml/kg de peso corporal.

4.3 Grupos experimentais

No período de lactação foram formados dois grupos experimentais segundo o tratamento: Grupo Controle (n=8) e Grupo Fluoxetina (n=8), sendo quatro animais de cada grupo por ninhada, que foram tratados diariamente com solução salina e fluoxetina, respectivamente, do 1º ao 21º dia pós-natal. Após o desmame os animais

foram separados por grupo experimental, e passaram a receber dieta Labina – Purina S/A e água *ad libitum*.

4.4 Vias de manipulação

O tratamento foi administrado por via Subcutânea (sc) e o horário de manipulação dos animais foi no início do ciclo escuro (8:00 h). O horário de manipulação farmacológica foi mantido durante todo o experimento em concordância com o horário do segundo e maior pico de liberação da serotonina no SNC (DA SILVA *et al*, 2014, 2015).

4.5 Coleta do material biológico e processamento para análises bioquímicas

Aos 60 dias de vida, os animais foram decapitados por guilhotina e submetidos à cirurgia para retirada do tronco encefálico. O mesmo foi homogeneizado em tampão de extração (Tris base 100 mM, pH 7,5; EDTA 10 mM; contendo um coquetel de inibidores de protease). Para quantificação protéica e avaliação da atividade enzimática as amostras homogeneizadas foram centrifugadas a 4.000 rpm, a 4 °C, por dez minutos e utilizou-se o sobrenadante.

4.6 Dosagem de proteína

A concentração de proteína da suspensão de cada homogenato foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando um comprimento de onda de 595 nm. A absorbância foi considerada diretamente proporcional à concentração de proteína na solução analisada, onde uma solução de albumina de soro bovino a 1% foi utilizada como padrão.

4.7 Medida da Substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Para a dosagem de TBARS foi utilizada a técnica colorimétrica de Buege e Aust (1978) para avaliar a lipoperoxidação. Uma alíquota do homogenato de tronco encefálico foi combinada com ácido tricloroacético a 10% e ácido tiobarbitúrico a 0,73%, reagindo com os produtos da lipoperoxidação para formar um composto de

coloração rosada. A mistura foi incubada por quinze minutos a 100 °C e em seguida resfriada. Na sequência, foi adicionado n-butanol (Álcool Butílico 99% P.A) e as amostras agitadas por trinta segundos para extrair o pigmento formado. O material foi centrifugado a 3.000 rpm por dez minutos, sendo então a fase com o n-butanol utilizada para a leitura da absorbância a 535 nm, utilizando cubeta de quartzo. Os resultados foram expressos em nmoles de MDA por mg de proteína.

4.8 Atividade enzimática: *Superóxido dismutase (SOD)*

A atividade da SOD foi avaliada através do método de inibição da auto-oxidação da adrenalina, podendo ser medido em espectrofotômetro a 480 nm. Em uma cubeta de quartzo de 1 mL, adicionou-se tampão carbonato de sódio 0,1 M (pH 10,2), o homogenato de tronco encefálio e adrenalina 150 mM. A absorbância foi registrada por um período de aproximadamente três minutos. Os resultados foram expressos em Unidades por mg proteína (MISRA E FRIDOVICH, 1972).

4.9 Atividade enzimática: *Catalase (CAT)*

A atividade da catalase foi medida através da avaliação do consumo de peróxido de hidrogênio pelo decréscimo na absorção a 240 nm ([] máx do H₂O₂) de um meio de reação, contendo tampão fosfato 0,05 M (pH 7,4) e H₂O₂ 0,3 M. Os resultados foram expressos em Unidades por mg de proteína (AEBI, 1989).

4.10 Atividade enzimática: *Glutathione Peroxidase (GPx)*

Foi medida de acordo com Paglia e Valentine (1967), misturando-se tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,0) contendo 5 mM de EDTA; NADPH 8,4 mM; glutathione redutase - GR (100UL/mg proteína/ml); N₃N₃ (azida) 1,125 M; de glutathione reduzida - GSH 0,15 M e o homogenato do tronco encefálico. A reação enzimática iniciou-se pela adição de H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) 2,2 mM. A conversão do NADPH em NADP foi medida pela absorbância do sistema em espectrofotômetro (Hitachi, modelo U – 2001, Hitachinaka City, Japão) a 340 nm por quatro minutos após a reação. A unidade enzimática foi definida como oxidação de 1 µmol de NADPH por minuto por mg de proteína e foi calculado com base na absortividade molar do NADPH. Os resultados foram expressos em Unidades por mg de proteína.

4.11 Atividade enzimática: *Glutathione S-Transferase (GST)*

A atividade da GST foi quantificada pela reação onde a mesma se combina com o produto tóxico 1-cloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) e com a glutathione reduzida (GSH), em tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,5), para que a bomba de glutathione o jogue para fora da célula, quantificando assim sua atividade. Uma unidade é a quantidade de enzima que catalisa a formação de 1 μ mol de DNP-SG por minuto a 30 °C, usando 1 mM de concentração de GSH e CDBN. Os resultados foram expressos em Unidades por mg de proteína (HABIG, 1974).

4.12 Níveis de Glutathione Reduzida (GSH)

Os níveis de glutathione reduzida foram avaliados através da quantificação das concentrações de GSH segundo o método de Hissin e Hilf (1976). Em tampão fosfato de sódio 0,1 M com EDTA 0,005 M (pH 8,0) foi adicionado o homogenato do tronco encefálico e o fluorescente ortoftaldeído (1 μ M), incubando-se posteriormente à temperatura ambiente por 15 minutos e lendo-se em espectrofluorímetro utilizando os comprimentos de onda de 350 nm de excitação e 420 nm de emissão. Os dados foram expressos em μ mol/mg de proteína.

4.13 Análise estatística

Todos os dados foram analisados segundo a normalidade da distribuição usando o teste de KOLMOGOROV-SMIRNOV. Foram expressos em média e erro padrão da média (EPM) e analisados pelo teste t de Student para dados não pareados. Foi adotado o nível de significância de 5% em todos os casos. A construção do banco de dados e as análises estatísticas foram desenvolvidas no programa Excel (versão 2007, Microsoft, USA) e Graphpad Prisma 5 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA), respectivamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar a peroxidação lipídica no tronco encefálico verificamos uma diminuição significativa de 21% na formação de MDA no grupo fluoxetina em comparação ao grupo controle ($C=161,70\pm8,07$; $F=127,00\pm10,71$ nmols/mg prot, $p=0,0335$) (Gráfico 1).

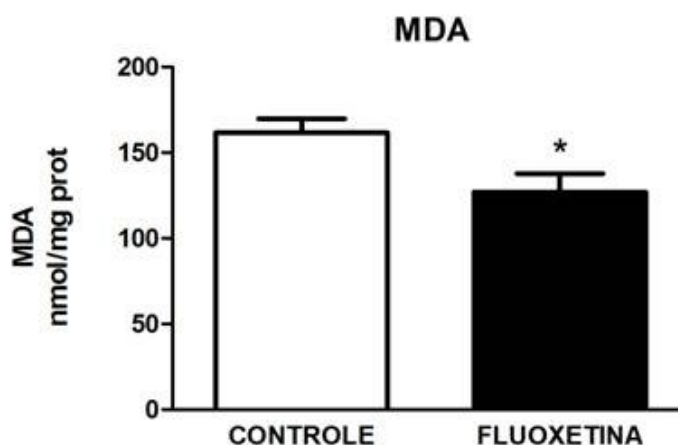


Gráfico 1 – Resultados da peroxidação lipídica no tronco encefálico de ratos dos grupos controle e tratados com fluoxetina. Valores expressos em nmol/mg de proteína. Dados expressos como média $\pm$ erro padrão. N=6 para cada grupo. * $p<0,05$. Elaboração própria.

No tronco encefálico observou-se uma diminuição de 74% na atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) no grupo fluoxetina, comparado ao grupo controle ($C=2,45\pm0,31$; $F=0,63\pm0,10$ U/mg prot, $p=0,0001$) (Gráfico 2A). Já em relação à atividade da enzima Catalase (CAT) observou-se um aumento de 56% na sua atividade no grupo fluoxetina, quando comparado ao grupo controle ($C=0,65\pm0,04$; $F=1,02\pm0,17$ U/mg prot, $p=0,045$) (Gráfico 2B). A enzima Glutational peroxidase (GPx) apresentou uma atividade quase sete vezes maior (659%) no grupo fluoxetina quando comparada com o grupo controle ($C=1,82\pm1,06$; $F=13,84\pm1,28$ U/mg prot, $p=0,0008$) (Gráfico 2C). Não houve diferença significativa na atividade da Glutational-S-transferase na comparação entre os grupos ($C=2,61\pm0,43$; $F=2,27\pm0,41$ U/mg prot, $p=0,5845$) (Gráfico 2D).

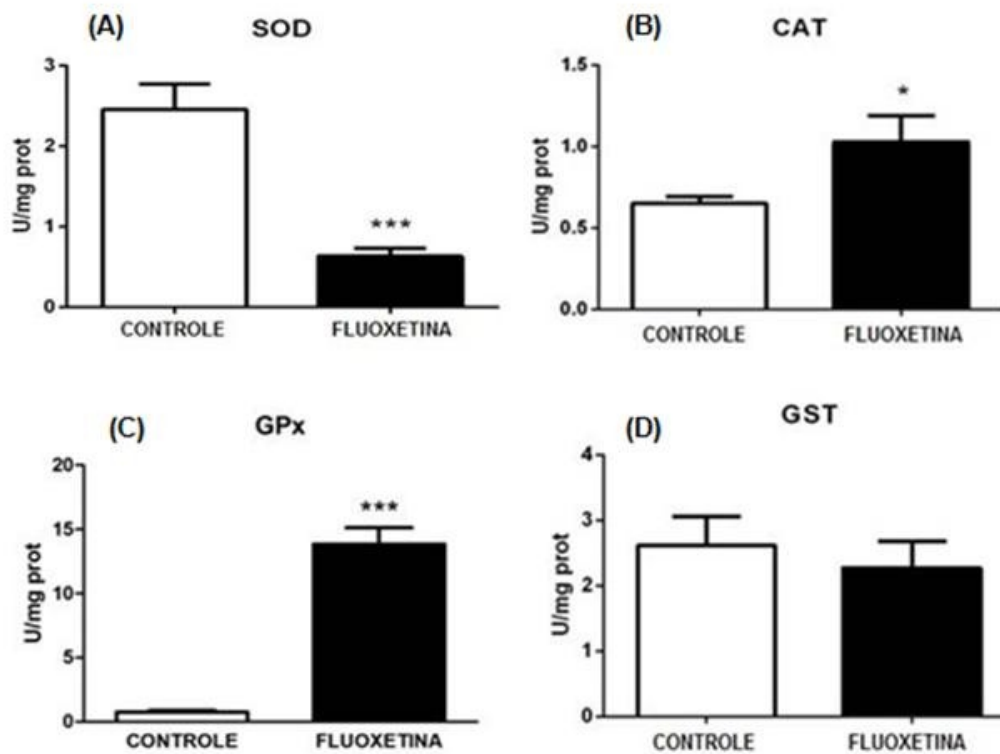


Gráfico 2 – Atividade das enzimas Superóxido dismutase (A), Catalase (B), Glutathiona peroxidase (C) e Glutathiona-S-transferase (D) no homogenato de tronco encefálico de ratos controle e tratados com fluoxetina no período pós-natal. Dados expressos como média $\pm$ erro padrão. N=6 para cada grupo. * $p < 0,05$ e *** $p < 0,0008$. Elaboração própria.

A quantificação dos níveis de GSH demonstrou-se aumentada em 19% no grupo tratado com fluoxetina em relação ao grupo controle ($C = 0,198 \pm 0,015$; $F = 0,236 \pm 0,009$ $\mu\text{mol/mg prot}$, $p = 0,050$) (Gráfico 3).

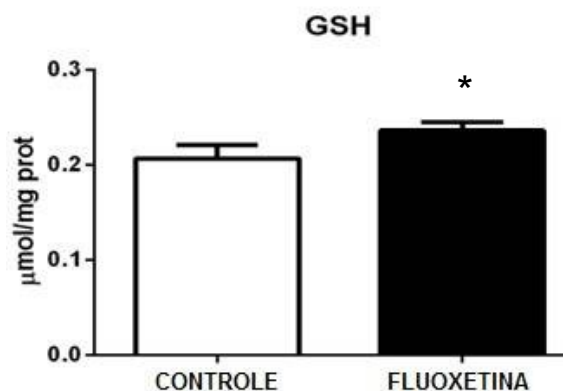


Gráfico 3 – Quantificação dos níveis de Glutathiona reduzida no homogenato de tronco encefálico de ratos controle e tratados com fluoxetina no período pós-natal. Dados expressos como média $\pm$ erro padrão. N=6 para cada grupo. * $p<0,05$. Elaboração própria.

O presente estudo se propôs a investigar os efeitos da inibição da recaptação crônica de serotonina, através da manipulação do sistema serotoninérgico com fluoxetina, durante o período de lactação (21 dias), sobre o balanço oxidativo no tronco encefálico.

Os resultados de lipoperoxidação (Gráfico 1) sugerem que as alterações nas atividades das enzimas antioxidantes, foram capazes de induzir uma redução expressiva na peroxidação lipídica do grupo tratado farmacologicamente. Esses dados tornam-se relevantes uma vez que o tecido cerebral apresenta vulnerabilidade a danos oxidativos pela presença de ácidos graxos em grande quantidade, situação que compromete, por exemplo, a integridade da membrana plasmática e seu poder de seletividade. Resultados semelhantes foram encontrados por Moretti *et al* (2012) e Abdel Salam *et al* (2013), que observaram níveis reduzidos de MDA cerebral em ratos machos diante do tratamento agudo com fluoxetina. Embora o presente estudo tenha encontrado uma formação de MDA reduzida no grupo tratado com fluoxetina, indicando uma proteção a compostos lipídicos, não se pode afirmar que outras moléculas orgânicas tais como proteínas e DNA não foram lesados ou ainda que não houve alteração considerável, uma vez que qualquer desequilíbrio no sistema oxidativo é um potencial indutor de processos pré patogênicos (SENTUERKER *et al*, 1997).

A SOD foi reduzida significativamente (Gráfico 2A), sugerindo que a fluoxetina foi capaz de modular negativamente a atividade da mesma havendo um possível acúmulo de ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$). Sua produção somada à redução da atividade da SOD contribui tanto para a ativação quanto para a sensibilização da região rostro-ventro-lateral do bulbo (RVLM), sugerindo um aumento da atividade simpática e maior propensão à disfunções cardiovasculares (ZUCKER *et al*, 2006). Esse dado é corroborado com os dados hemodinâmicos vistos por Lagranha *et al* (2010), onde observa-se uma diminuição na atividade da SOD e um aumento na frequência

cardíaca de ratas fêmeas tratadas com fluoxetina. Todavia, na relação entre desequilíbrio oxidativo e a potencial indução de hipertensão, a atividade da SOD não deve ser considerada de forma exclusiva, tornando-se fundamental a avaliação de outras defesas antioxidantes.

Dados semelhantes da atividade da CAT, que teve sua atividade aumentada no grupo fluoxetina (Gráfico 2B), foram encontrados por Da Silva *et al* (2014) quando avaliou o efeito do tratamento com o fármaco no período de aleitamento em ratas fêmeas e observou aumento significativo (65%) da atividade da CAT no hipocampo e apresentou tendência de aumento (17%) no hipotálamo, em comparação ao grupo controle. Dados de Moretti *et al* (2012), que observou os efeitos da administração de fluoxetina durante sete dias, e de Abdel Salam *et al* (2013), com o tratamento farmacológico durante duas semanas, demonstraram um aumento da CAT no tecido cerebral, corroborando com os resultados do presente estudo.

Os resultados da GPx (Gráfico 2C), em conjunto com os da CAT, sugerem uma redução eficaz do H_2O_2 à H_2O e a consequente diminuição de possíveis efeitos deletérios à membrana celular uma vez que o H_2O_2 possui alto potencial reativo, principalmente quando em contato com metais, gerando o radical hidroxila ($\cdot OH$). Esses dados sustentam os resultados pouco expressivos da lipoperoxidação no grupo fluoxetina (Gráfico 1) e indicam uma defesa otimizada decorrente do tratamento crônico com fluoxetina; efeito que a curto prazo não foi evidenciado por Moretti *et al* (2012), onde a atividade da GPx no córtex e no hipocampo permaneceu inalterada com o tratamento farmacológico.

A GST não apresentou resultados significativos comparando o grupo fluoxetina com o controle (Gráfico 2D). O estudo de Da Silva *et al* (2014) demonstrou um aumento na atividade da GST no hipocampo e nenhuma diferença no hipotálamo de ratas fêmeas tratadas com fluoxetina. Essa enzima está intimamente relacionada à detoxificação metabólica contra xenobióticos. A não alteração em sua atividade sugere que o tratamento farmacológico utilizado não foi “interpretado” como nocivo pela enzima, entretanto, sabendo que as análises estão relacionadas ao tronco encefálico, os resultados poderiam apresentar divergência se analisados a nível hepático, uma vez que o fígado é o principal órgão de metabolização e excreção de compostos estranhos ao sistema biológico (HUBER; ALMEIDA, 2008).

A GSH participa da ativação da GPx doando seu grupamento –SH, na reação que gera a glutathiona oxidada (GSSG), e é o tiol celular mais abundante que existe. Seu aumento com o tratamento farmacológico (Gráfico 3) pode representar uma defesa antioxidante relevante no tronco encefálico, sugerindo uma modulação farmacológica positiva do tiol não-proteico analisado, contra um possível dano oxidativo. Estudos com modelos animais também já evidenciaram melhoras na defesa antioxidante, com aumento dos níveis de GSH em especial, em diferentes regiões do tecido cerebral (ZAFIR *et al*, 2009; NOVIO *et al*, 2011; MORETTI *et al*, 2012 e Abdel Salam *et al*, 2013).

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, é possível sugerir que a inibição crônica da recaptação de serotonina durante o período de lactação exerce uma modulação positiva no balanço oxidativo do tronco encefálico de ratos machos, aumentando a atividade de importantes defesas antioxidantes e reduzindo o dano oxidativo a compostos lipídicos, contribuindo assim para um possível mecanismo de proteção. Embora alguns dados da literatura tenham evidenciado um papel antioxidante de elevadas concentrações de serotonina há escassez de resultados associando o tratamento com fluoxetina durante o período crítico do desenvolvimento. Para uma maior compreensão dos efeitos da manipulação do sistema serotoninérgico em períodos precoces de desenvolvimento em relação ao controle cardiovascular mais investigações fazem-se necessárias, inclusive em outros órgãos associados à pressão arterial como os rins e o coração.

7 REFERÊNCIAS

ABDEL SALAM, O. M. E., *et al.* The effect of antidepressant drugs on thioacetamide-induced oxidative stress. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 17, n. 6, p. 735-744, 2013. Disponível em: <<http://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/735-744.pdf>>. Acesso em: 26 jul. 2015;

AHMAD, A., *et al.* Alterations in monoamine levels and oxidative systems in frontal cortex, striatum, and hippocampus of the rat brain during chronic unpredictable stress. **Stress**, v. 13, p. 355-64, 2010. Disponível em:<<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/10253891003667862>>. Acesso em: 09 jul. 2014;

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, v. 105, n. , p. 121-6, 1984. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687984050163>>. Acesso em: 09 jul. 2014;

BARKER, D.J. Early growth and cardiovascular disease. **Archives of disease in childhood**, v. 80, n. 4, p. 305-7, 1999. Disponível em: <<http://adc.bmj.com/content/80/4/305.long>>. Acesso em: 24 de jan. 2014;

BARKER, D.J.; OSMOND, C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. **Lancet**, v.1, n.8489, p. 1077-81, 1986. Disponível em: <[http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(86\)91340-1/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(86)91340-1/abstract)>. Acesso em: 24 ago. 2014;

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, n. 1-2, p. 248-54, 1976. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273>>. Acesso em: 20 fev. 2015;

BRODIE, B. B. A concept for a role of serotonin and norepinephrine as chemical mediators in the brain. **Ann N Y Acad Sci**, v. 66, n. 1, p. 631-42, 1957. Disponível

em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.1957.tb40753.x/abstract>>. Acesso em: 6 jul. 2014;

BUEGE, J.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, v. 10, n. 1, p. 302-10, 1978. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0076687967100992>>. Acesso em: 20 fev. 2015;

CHAN, S. H. Brain stem NOS and ROS in neural mechanisms of hypertension. **Antioxid Redox Signal**, v. 20, n. 01, p. 146-63, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1089/ars.2013.5230>>. Acesso em: 03 maio 2014;

CHAN, S. H., *et al.* Oxidative impairment of mitochondrial electron transport chain complexes in rostral ventrolateral medulla contributes to neurogenic hypertension. **Hypertension**, v. 53, n. 2, p. 217-27, 2009. Disponível em: <<http://hyper.ahajournals.org/content/53/2/217.long>>. Acesso em: 02 fev. 2014;

CIRIELLO, J.; HOCHSTENBACH, S.L.; RODER, S. Central projections of baroreceptor and chemoreceptor afferent fibers in the rat. In: **Nucleus of the Solitary Tract**. Edição 964. London: CRC Press, 1994. Cap. 2, p. 35-50;

COSTA-SILVA, J. H., *et al.* Chronic undernutrition alters renal active Na⁺ transport in young rats: potential hidden basis for pathophysiological alterations in adulthood? **Eur J Nutr**, v. 48, n. 7, p. 437-45, 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00394-009-0032-z>>. Acesso em: 29 nov. 2013;

DA SILVA, A. I., *et al.* Fluoxetine treatment of rat neonates significantly reduces oxidative stress in the hippocampus and in behavioral indicators of anxiety later in postnatal life. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 92, n. 4, p. 330-7, 2014. Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/cjpp-2013-0321?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed#.VOdoatLF-HZ>. Acesso em: 20 fev. 2015;

DA SILVA, A. I. et al. Effect of fluoxetine treatment on mitochondrial bioenergetic in central and peripheral rat tissues. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 40, n. 6, p. 565-74, 2015. Disponível em: < <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/apnm-2014-0462>>. Acesso em: 19 abr. 2015;

ERSPAMER, V. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. **Nature**, v. 169, n. 1, p. 800–801, 1952. Disponível em: <<http://www.nature.com/nature/journal/v169/n4306/abs/169800b0.html>>. Acesso em: 16 fev. 2014;

GUTTERIDGE, J. M. Invited review Free radicals in disease processes: A compilation of cause and consequence. **Free Radic Res Commun**, v. 19, n. 3, p. 141-58, 1993. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/10715769309111598?journalCode=fr>>. Acesso em: 29 fev. 2014;

HABIG, W.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-Transferase. **JBC**, v. 249, n. 22, p. 7130-39, 1974. Disponível em: <<http://www.jbc.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=4436300>>. Acesso em: 20 fev. 2015;

HALLIDAY, G., *et al.* Serotonin and alcohol-related brain damage. **Metab Brain Dis**, v. 10, n. 1, p. 25-30, 1995. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/BF01991780#page-1>>. Acesso em: 15 fev. 2014;

HIEMKE, C.; HÄRTTER, S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Pharmacol Therap**, v. 85, p. 11-28, 2000. Disponível em: < http://ac.els-cdn.com/S0163725899000480/1-s2.0-S0163725899000480-main.pdf?_tid=2fc3272a-339c-11e5-a6a8-00000aabb0f6c&acdnat=1437918341_fa9cb936c5d8008a048c07903ba6d018>. Acesso em: 26 jul. 2015;

HILDRETH, C., *et al.* Impaired serotonergic regulation of heart rate may underlie reduced baroreflex sensitivity in an animal model of depression. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 294, n. 1, p. 474-80, 2008. Disponível em: <<http://ajpheart.physiology.org/content/294/1/H474.long>>. Acesso em: 5 fev. 2014;

HISSIN, P. J., HILF, R. A Fluorimetric Method for Determination of Oxidized and Reduced Glutathione in Tissues. **Anal Biochem**, v. 74, p. 214-226, 1976;

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P. Glutathione e enzimas relacionadas: Papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n5/a46v31n5.pdf> >. Acesso em: 26 jul. 2015;

KALUDERCIC, N., *et al.* Monoamine oxidases as sources of oxidants in the heart. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 73, n. 1, p. 34-42, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022282814000108>>. Acesso em: 05 fev. 2015 ;

KHANZODE, S. D., *et al.* Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. **Redox Rep**, v. 8, p. 365-70, 2003. Disponível em:<<http://www.maneyonline.com/doi/pdfplus/10.1179/135100003225003393>>. Acesso em: 28 jun. 2014;

KLINE, D. D. Chronic intermittent hypoxia affects integration of sensory input by neurons in the nucleus tractus solitarii. **Respir Physiol Neurobiol**, v. 174, n. 1-2, p. 29-36, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2953573/>>. Acesso em: 19 abr. 2014;

KLINE, D. D., *et al.* Adaptive depression in synaptic transmission in the nucleus of the solitary tract after in vivo chronic intermittent hypoxia: evidence for homeostatic plasticity. **J Neurosci**, v. 27, n. 17, p. 4663-73, 2007. Disponível em: <<http://www.jneurosci.org/content/27/17/4663.long>>. Acesso em: 01 nov. 2014;

KUHN, D. M., *et al.* Review of the role of the central serotonergic neuronal system in blood pressure regulation. **Hypertension**, v. 2, n. 1, p. 243–55, 1980. Disponível em: <<http://hyper.ahajournals.org/content/2/3/243.long>>. Acesso em: 24 jan. 2014;

LAGRANHA, C. J., *et al.* Sex differences in the phosphorylation of mitochondrial proteins result in reduced production of reactive oxygen species and cardioprotection in females. **Cir Res**, v. 106, n. 11, p. 1681-91, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3127199/>>. Acesso em: 20 fev. 2015;

LANGLEY-EVANS, S. C. Critical differences between two low protein diet protocols in the programming of hypertension in the rat. **Int J Food Sci Nutr**, v. 51, n. 1, p. 11-7, 2000. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/096374800100859>>. Acesso em: 16 fev. 2014;

MARWOOD, J. F. Serotonin (5HT) and its antagonists: involvement in the cardiovascular system. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 11, n. 5, p. 439–55, 1984. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1440-1681.1984.tb00852.x/abstract>>. Acesso em: 24 jan. 2014;

MORETTI, M., *et al.* Ascorbic Acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress. **J Psych Res**, v. 46, p.331-340, 2012. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0022395611002755/1-s2.0-S0022395611002755-main.pdf?_tid=1e99e4ba-064d-11e5-b492-00000aacb35d&acdnt=1432936580_24161c85ebc2c666b0fd7814d43fd349>. Acesso em: 29 maio 2015;

MIFFLIN, S. W. Arterial chemoreceptor input to nucleus tractus solitarius. **Am J Physiol**, v. 263, n. 2, p. 368-75, 1992. Disponível em: <<http://ajpregu.physiology.org/content/263/2/R368>>. Acesso em: 1 nov. 2013;

MILLER, B. H., *et al.* Genetic regulation of behavioral and neuronal responses to fluoxetine. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 6, p. 1312-22, 2008; Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/sj.npp.1301497>>. Acesso em: 08 fev. 2015;

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J Biol Chem**, v. 247, n. 10, p. 3170-5, 1972. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/247/10/3170.long>>. Acesso em: 20 fev. 2015;

MONASSIER, L., *et al.* Contribution of gene-modified mice and rats to our understanding of the cardiovascular pharmacology of serotonin. **Pharmacol Ther**, v. 128, n. 3, p. 559-67, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725810001634>>. Acesso em: 24 jan. 2014;

NALIVAICO, E; SGOIFO, A. Central 5-HT receptors in cardiovascular control during stress. **Neuro Bio Rev**, v. 33, n. 2, p. 95-106, 2009. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0149763408000948/1-s2.0-S0149763408000948-main.pdf?_tid=32d15508-3393-11e5-8af6-00000aacb35f&ACdnat=1437914481_8f4c3e6b77cf1de215d664700d5a6417>. Acesso em: 26 jul. 2015;

NOVIO, S., *et al.* Effects of fluoxetine on the Oxidative Status of peripheral blood leucocytes of restraint-stressed mice. **BCPT**, v. 109, p. 365-371, 2011. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-7843.2011.00736.x/pdf>>. Acesso em: 29 maio 2015;

NIGMATULLINA, R.R., *et al.* Disrupted serotonergic and sympathoadrenal systems in patients with chronic heart failure may serve as new therapeutic targets and novel

biomarkers to assess severity, progression and response to treatment. **Cardiology**, v. 113, n. 4, p. 277–286, 2009. Disponível em: <<http://www.karger.com/Article/Abstract/205962>>. Acesso em: 24 jan. 2014;

OLIVEIRA, E. L., *et al.* A low protein diet causes an increase in the basal levels and variability of mean arterial pressure and heart rate in Fisher rats. **Nutr Neurosci**, v. 7, n. 4, p. 201-205, 2004. Disponível em: <http://www.maneyonline.com/doi/abs/10.1080/10284150412331279827?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&>. Acesso em: 28 nov 2013;

OLIVEIRA-SALES, E. B., *et al.* Kidney-induced hypertension depends on superoxide signaling in the rostral ventrolateral medulla. **Hypertension**, v. 56, n. 1, p. 290-6, 2010. Disponível em: <<http://hyper.ahajournals.org/content/56/2/290.long>>. Acesso em: 24 nov. 2013;

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J Lab Clin Med**, v. 70, n. 1, p. 58-69, 1997. Disponível em: <[http://www.translationalres.com/article/0022-2143\(67\)90076-5/abstract](http://www.translationalres.com/article/0022-2143(67)90076-5/abstract)>. Acesso em: 20 fev. 2015;

PENITENTE, A. R., *et al.* Malnutrition enhances cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats. **Life Sci**, v. 81, n. 7, p. 609-14, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320507005085>>. Acesso em: 28 nov. 2013;

PLADYS, P., *et al.* Role of brain and peripheral angiotensin II in hypertension and altered arterial baroreflex programmed during fetal life in rat. **Pediatr Res**, v. 55, n. 1, p. 1042-9, 2004. Disponível em: <<http://www.nature.com/pr/journal/v55/n6/full/pr2004160a.html>>. Acesso em: 16 fev. 2014;

RAPPORT, M. M., *et al.* Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization. **J Biol Chem**, v. 176, n. 1, p 1243–51, 1948. Disponível em:

<<http://www.jbc.org/content/176/3/1243.short>>. Acesso em: 6 fev. 2014;

RUBATTU, S., *et al.* Pathogenesis of target organ damage in hypertension: Role of mitochondrial oxidative stress. **Int J Mol Sci**, v. 16, n. 1, p. 823-39, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4307277/>>. Acesso em: 26 jan. 2015;

RYAN, K. J. P., *et al.* The effects of prenatal protein restriction on β -Adrenergic signaling of the adult rat heart during ischaemia reperfusion. **J Nut Metab**, v. 2012, n. 1, p. 1-10, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3321448/pdf/JNUME2012-397389.pdf>>. Acesso em: 19 fev. 2015;

SAWAYA, A.L., *et al.* Obesity and malnutrition in a Shantytown population in the city of Sao Paulo, Brazil. **Obes Res**, v. 3, n. S2, p. 107s-115s, 1995. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.1550-8528.1995.tb00453.x/abstract>>. Acesso em: 24 jan. 2014;

SENTÜRKER, S., *et al.* Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme levels in childhood acute lymphoblastic leukemia. **FEBS Lett**, v. 416, n. 3, p. 286-90, 1997. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001457939701226X>>. Acesso em: 20 fev. 2015;

SICHIERI, R., *et al.* Nutritional status of children and occupational categories of the family in a rural community of Parana, Brazil. **Cad Saude Publica**, v. 9, n. 1, p. 28-35, 1993. Disponível em: <http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X1993000500004&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 24 jan. 2014;

TORRENS, C., *et al.* Folate supplementation during pregnancy improves offspring cardiovascular dysfunction induced by protein restriction. **Hypertension**, v. 47, n. 1, p. 982-7, 2006. Disponível em: <<http://hyper.ahajournals.org/content/47/5/982.long>>. Acesso em: 16 fev. 2014;

VAN ZUTPHEN, L. F. Toxicity testing and genetic quality control. **J Exp Anim Sci**, v. 35, n. 5-6, p. 202-9, 1993. Disponível em: <<http://europepmc.org/abstract/med/8218435>>. Acesso em: 23 dez. 2014;

ZAFIR, A; ARA, A; BANU, N. *In vivo* antioxidant status: A putative target of antidepressant action. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 33, p.220-228, 2009. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0278584608003308/1-s2.0-S0278584608003308-main.pdf?_tid=d753e95c-064c-11e5-b927-00000aacb361&acdnat=1432936461_560ebb2c09f0334633ec0eab61670f56>. Acesso em: 29 maio 2015;

ZUCKER *et al.* Novel Mechanisms of Sympathetic Regulation in Chronic Heart Failure. **Hypertension**, v. 48, n. 6, p. 1005-11, 2006. Disponível em: <<http://hyper.ahajournals.org/content/48/6/1005.long>>. Acesso em: 20 fev. 2015.

ANEXO A – Comitê de Ética.

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Raulo Correia, nº 1
50.070-420 / Recife - PE - Brasil
CECEB: 122 511 2126 4842 e 2126 0331
Fax: 122 511 2126 0290
www.ufpe.br



Recife, 02 de maio de 2012

Ofício nº 434/12

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Raul Manhães de Castro**
Departamento de Nutrição
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.015278/2012-56

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **"INIBIÇÃO DA RECAPTAÇÃO DE SEROTONINA DURANTE O DESENVOLVIMENTO: UM ESTUDO DO BALANÇO ENERGÉTICO E DA FUNÇÃO MITOCONDRIAL"**.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos parecer **favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos Animais: Departamento de Nutrição-UFPE
Animais: Ratos; Linhagem: Wistar; Sexo: Machos e Fêmeas;
número de animais previsto no protocolo: 8 ratas lactantes e 34
filhotes; Peso: Ratas 240-260g e filhotes 6-7g; Idade: Ratas
adultas e seus filhotes

Atenciosamente,


Prof. Maria Teresa Jansen
Presidente COCEA

COB: Integres para desenvolver