

GRAZIELE LODETTI MILIOLI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO COM
IMIPRAMINA EM MODELO ANIMAL DE MENINGITE
PNEUMOCÓCICA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação em Ciências
da Saúde para obtenção do título de Mestre
em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Tatiana Barichello

**CRICIÚMA
2013**

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional.

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Microbiologia Experimental e Laboratório de Neurociências do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde em parceria com o Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia Translacional em Medicina.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

M644aMilioli, Grazielle Lodetti.

Avaliação do efeito do tratamento com imipramina em modelo animal de meningite pneumocócica. / Grazielle Lodetti Milioli ; orientadora : Tatiana Barichello. – Criciúma : Ed. do Autor, 2013.

64 f. : il. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2013.

1. Meningite - Tratamento.
2. Streptococcus pneumoniae.
3. Imipramina. I. Título.

CDD. 22 ed. 616.82

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla – CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



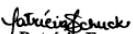
UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005


PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO apresentada pela candidata **Graziele Lodetti Milioli** sob o título “**Avaliação do efeito do tratamento com Imipramina em modelo animal de Meningite Pneumocócica**” para obtenção do grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE** do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação, com conceito **A** .

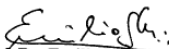
Criciúma, SC, 11 de abril de 2013


Prof. Dra. Patrícia Fernanda Schuck
Membro Relator


Prof. Dra. Alexandra Ioppi Zugno
Membro Interno


Prof. Dr. Adair Roberto Soares dos Santos
Membro Externo


Prof. Dra. Tatiana Barichello
Orientadora


Prof. Dr. Emilio Luiz Streck
Coordenador do PPGCS

Dedico esta dissertação aos meus pais, Maria Adélia Lodetti Milioli e Valmir João Milioli (*in memoriam*) e ao meu irmão Juliano Milioli, pela compreensão, pelo incentivo à continuação de minha formação e pelo apoio para que nunca desistisse de meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante na minha vida, por seu amor incondicional, pelo auxílio em minhas escolhas, por me confortar nas horas difíceis e por proporcionar-me os dias de alegria.

À Prof. Dra. Tatiana Barichello, orientadora desta dissertação, por todo empenho, humildade, paciência e acima de tudo, exigência. Muito obrigada pelos incansáveis ensinamentos acompanhados de sabedoria e comprometimento.

À Geovana Dagostin Savi, pela amizade, pelo incentivo inicial, pela força, pelos ensinamentos com paciência e humildade e principalmente por acreditar que eu seria capaz de alcançar este objetivo de minha vida.

À Maurício Luiz Novelli, pela compreensão, carinho, paciência e amor. Obrigada pelas contribuições, por estar sempre ao meu lado em todo o desenvolvimento deste trabalho, por ser meu conforto fazendo-me sorrir mesmo em dias de cansaço.

À Jaqueline da Rosa Coelho e a Luana Damiani Rosso, pela amizade, companheirismo, compreensão e acima de tudo paciência. Obrigada por estarem presentes e dividirem comigo todos os momentos em que precisei desabafar e conversar, e principalmente por compartilhar os momentos de alegria. Sou muito grata por poder contar com vocês.

À Jaqueline da Silva Generoso, Lutiana Roque Simões, Samuel Galvão Elias e Ana Paula Moreira do Laboratório de Microbiologia Experimental pela amizade e disponibilidade em ajudar sempre que precisei.

À Sântia Michels Steiner, pela atenção, compreensão e incentivo durante o início do desenvolvimento deste trabalho.

À minha família pela confiança e por estarem sempre presentes em todos os momentos que precisei dividir meus momentos de ansiedade, angústia ou alegria.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de certa forma estiveram sempre torcendo por mim, incentivando-me e confiando em meu potencial para que pudesse concluir este trabalho.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)

RESUMO

A meningite pneumocócica é uma doença grave que acomete o sistema nervoso central. Esta patologia está associada a uma inflamação aguda, que pode ocasionar danos ao hospedeiro, tais como surdez, cegueira, convulsões e prejuízos de memória e aprendizagem. Adicionalmente, as doenças infecciosas também podem desempenhar um papel importante em transtornos neuropsiquiátricos. Nesse contexto, foi avaliado o comportamento semelhante à depressão em ratos sobreviventes à meningite pneumocócica tratados com imipramina. Ratos Wistar, pesando entre 250-300g, foram submetidos à inoculação na cisterna magna com 10 μ L de solução salina estéril, ou um volume equivalente da suspensão de *Streptococcus pneumoniae* na concentração de 5x10⁹ UFC/mL. Três dias após a indução da meningite, os animais foram tratados com imipramina 10mg/Kg ou com solução salina, durante 14 dias (3^o ao 17^o dia). Após dez dias da indução da meningite foi avaliado o consumo de alimento doce, durante 7 dias (10^o ao 17^o dia). Dezesete dias após a indução da meningite, os animais foram anestesiados e o sangue foi coletado para a análise dos níveis dos hormônios corticosterona e adrenocorticotrófico (ACTH). A glândula adrenal e o hipocampo foram isolados e pesados. A concentração de TNF- α no hipocampo e no córtex pré-frontal foi determinada utilizando teste ELISA. No grupo meningite, o consumo de alimento doce foi reduzido em aproximadamente 60% quando comparado ao grupo controle. No entanto, o tratamento com imipramina no grupo meningite preveniu a redução do consumo de alimento doce em aproximadamente 290%, quando comparado com o grupo meningite. Em relação ao peso da glândula adrenal e do hipocampo, não houve diferença quando comparado ao grupo controle. Os níveis de corticosterona e ACTH estavam aumentados no grupo meningite quando comparados ao grupo controle. Já os níveis de TNF- α estavam aumentados apenas no córtex pré-frontal dos animais. No hipocampo, os níveis de TNF- α não foram alterados. Entretanto, o tratamento com a imipramina preveniu o aumento dos níveis de corticosterona e ACTH nos animais quando comparado com o grupo meningite. Assim, estes resultados corroboram a hipótese de que os animais sobreviventes à meningite pneumocócica apresentam comportamento semelhante à depressão e alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

Palavras-chaves: *Streptococcus pneumoniae*. Meningite. Anedonia.
ACTH. Corticosterona.

ABSTRACT

Pneumococcal meningitis is a severe infectious disease of the central nervous system. This pathology is associated with acute inflammation and can cause damage to the host, such as deafness, blindness, seizure and learning deficits. Furthermore, infectious diseases can play a significant role in the etiology of neuro psychiatric disturbances. In this context, it was evaluated the depressive-like behavior in pneumococcal meningitis survivor rats. Wistar rats weighing 250-300g were underwent a magna cistern tap receiving either 10 μ L sterile saline or a *Streptococcus pneumoniae* suspension at the concentration 5 \times 10⁹ cfu/mL. After 3 days of the meningitis induction, the animals were treated with imipramine at 10 mg/kg or saline during 14 days (days 3-17). After 10 days of the induction of meningitis, it was measured the sweet food intake for 7 days (days 10-17). After 17 days of the induction, the animals were anesthetized and blood was removed for analysis of corticosterone and adrenocorticotrophic hormone (ACTH). Adrenal gland and the hippocampus were isolated and weighed. The concentration of TNF- α in the hippocampus and pre-frontal cortex was measured by the ELISA test. In the meningitis group, sucrose consumption was reduced in approximately 60% when compared to sham group. The treatment with imipramine reversed the reduction of sweet food intake in approximately 290% when compared to meningitis group. Regarding the weight of the adrenal gland and the hippocampus, it was any difference between meningitis and imipramine group. There was an increase in ACTH and corticosterone levels in the meningitis group compared to sham. In the meningitis group in comparison with the sham group, the levels of TNF- α was increased in the pré-frontal cortex. In the hippocampus there was no changes in the TNF- α levels. The treatment with imipramine decreased levels of ACTH and corticosterone in animals when compared with meningitis group. These results supported the hypothesis that survivor animals of the pneumococcal meningitis showed depressive-like behavior and alterations in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*. Meningitis. Anhedonia. Corticosterone. ACTH.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Passagem do pneumococo através da barreira hematoencefálica	33
Figura 2 - Sistema imune inato na meningite pneumocócica ..	36
Figura 3 - Migração de leucócitos na meningite pneumocócica	37
Figura 4 - Fagocitose na meningite pneumocócica	38
Figura 5 - Representação dos dias de tratamento com fármacos e os dias da realização dos procedimentos experimentais	45
Figura 6 - Teste de habituação ao campo aberto realizado 10 dias após a indução da meningite por <i>S. pneumoniae</i>	49
Figura 7 - Efeitos da meningite pneumocócica no consumo de alimentos doces no teste de anedonia.	50
Figura 8 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre o peso corporal em ratos.	51
Figura 9 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre peso da glândula adrenal em ratos.	51
Figura 10 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre o peso hipocampal em ratos.	52
Figura 11 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre os níveis de corticosterona em ratos.	53
Figura 12 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre os níveis de ACTH em ratos.	53
Figura 13 - Expressão de TNF- α no hipocampo após a indução de meningite por <i>S. pneumoniae</i>	54
Figura 14 - Expressão de TNF- α no córtex pré-frontal após a indução da meningite por <i>S. pneumoniae</i>	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACTH - Hormônio Adrenocorticotrófico (do inglês, *Adrenocorticotropin Hormone*)
- AIF - Fator de Indução de Apoptose (do inglês, *Apoptosis-Inducing Factor*)
- AIM2 - Ausente em Melanoma 2
- Apaf-1 - Fator Ativador da Apoptose-1 (do inglês, *Apoptosis-Activating Factor 1*)
- ASC - Proteína Associada à Apoptose (do inglês, *Apoptosis-Associated Speck-Like Protein*)
- ATM - Ataxia Telangiectasia Mutada
- BHE - Barreira Hematoencefálica
- CARD4 - Caspase de Domínio de Recrutamento de Proteína 4 (do inglês *Caspase Recruitment Domain Protein 4*)
- CARD15 - Caspase de Domínio de Recrutamento de Proteína 15 (do inglês *Caspase Recruitment Domain Protein 15*)
- CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
- CME - Colágeno de Matriz Extracelular
- CRH - Hormônio Corticotrófico (do inglês, *Corticotropinreleasing Hormone*)
- CXC - Família de quimiocinas com dois resíduos de cisteína equivalentes separados por um aminoácido qualquer
- CXCL-8- Quimiocina CXC ligante - 8 (do inglês, *Chemokine CXC ligand-8*)
- CX3- Família de Quimiocinas
- C1q- Proteína Inicial da Cascata do Complemento
- C3b - Proteína Ligante de Membrana e Oponina
- C4b - Proteína Ligante de Membrana e Oponina
- DNA - Ácido Desoxirribonucleico (do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*)
- ERN - Espécies Reativas de Nitrogênio
- ERO - Espécies Reativas de Oxigênio
- EUA - Estados Unidos da América
- Fc - Receptor Mediado por Fagocitose
- FNT - Fibronectina
- HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês, *Human Immunodeficiency Virus*)
- HPA - Hipotálamo - Hipófise- Adrenal (do inglês, *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal*)

ICAM-1 - Molécula 1 de Adesão Intracelular (do inglês, *Intracellular Adhesion Molecule - 1*)

ICAM-2 - Molécula 2 de Adesão Intracelular (do inglês, *Intracellular Adhesion Molecule- 2*)

Ig- Imunoglobulina

IκB - Inibidor da Cinase B (do inglês, *Inhibitor of B kinase*)

IKK - Inibidor da Cinase de IκB (do inglês, *Inhibitor of IκB kinase*)

IL - Interleucina

IL-1Rs - Receptores de Interleucina -1

iNOS - Óxido Nítrico Sintase Induzida (do inglês, *Inducible Nitric Oxide Synthase*)

IRAK4 - Receptor Associado à Cinase-4 (do inglês, *Receptor-Associated Kinase-4*)

JA - Junções Aderentes

LFA-1 - Antígeno-1 Associado à Função de Leucócito (do inglês, *Leukocyte Function Associated Antigen-1*)

LCR - Líquido Cefalorraquidiano

Mac-1 - Receptor do Complemento Tipo 3

MAPK - Proteína Cinase Ativada por Mitógenos (do inglês, *Mitogen Activated Protein Kinase*)

MAPKKK - Proteína Cinase 3 Ativada por Mitógenos (do inglês, *Mitogen Activated Protein Kinase 3*)

MBL - Lectina Ligadora de Manose (do inglês, *Mannose Binding Lectin*)

MIF - Fator Inibidor da Migração de Macrófagos (do inglês, *Macrophage Migration Inhibitory Factor*)

MyD88 - Fator de Diferenciação Mielóide 88 (do inglês, *Myeloid Differentiation Factor 88*)

NADH- Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina, forma reduzida (do inglês, *Nicotinamide Adenine Dinucleotide*)

NF-κB - Fator Nuclear kappa B (do inglês, *Nuclear factor kappa B*)

NLRs - Receptores NOD-like (do inglês, *NOD-like Receptors*)

NLRP - Inflamassomos Formadores de Proteínas (do inglês, *Inflammasome-Forming Proteins*)

NO - Óxido Nítrico

NOD - Domínio de Oligomerização Ligado ao Nucleotídeo (do inglês, *Nucleotide-Binding Oligomerization Domain*)

PAF - Fator de Ativação de Plaquetas (do inglês, *Platelet Activating Factor*)

PAMPs - Padrões Moleculares Associados aos Patógenos (do inglês, *Pathogen-Associated Molecular Patterns*)

PCR - Proteína Reativa C (do Inglês, *C Reactive Protein*)

PRRs - Receptores de Reconhecimento Padrão (do inglês, *Pattern Recognition Receptors*)
PspA- Proteína de Superfície Pneumocócica A (do inglês, *Pneumococcal Surface Protein A*)
PspC - Proteína de Superfície Pneumocócica C (do inglês, *Pneumococcal Surface Protein C*)
pIgR - Receptor de Ig Polimérica (do inglês, *Polymeric Receptor*)
P53 - Proteína tumoral supressora P53
P55 - Proteína tumoral supressora P55
SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SNC - Sistema Nervoso Central
SOD - Superóxido Dismutase
SPSS -Pacote Estatístico para Ciências Sociais (do inglês, *Statistical Package for Social Sciences*)
TAK - Fator de Crescimento Transformador Ativado β Cinase (do inglês, *Factor β Activated Kinase*)
TLRs - Receptores Toll-like (do inglês, *Toll-like Receptors*)
TNF - Fator de Necrose Tumoral (do inglês, *Tumor Necrosis Factor*)
TNF-R1- Receptor de Fator de Necrose Tumoral 1 (do inglês, *Tumor Necrosis Factor Receptor-1*)
TRAF6 - Fator-6 Ativado por Receptor de Fator de Necrose Tumoral (do inglês, *Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated 6-Dependent*)
UFC - Unidade Formadora de Colônias
VNT - Vitronectina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	29
1.1 MENINGITE	29
1.2 EPIDEMIOLOGIA	29
1.3 STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE	30
1.4 MECANISMOS DE COLONIZAÇÃO DO <i>S. PNEUMONIAE</i> NA MENINGITE PNEUMOCÓCICA	31
1.5 PASSAGEM DO PNEUMOCOCO ATRAVÉS DA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA (BHE)	32
1.6 MECANISMOS DO SISTEMA IMUNE INATO NA MENINGITE PNEUMOCÓCICA	34
1.7 A MIGRAÇÃO DE LEUCÓCITOS NA MENINGITE PNEUMOCÓCICA	36
1.8 DANOS NEURONAIS NO CONTEXTO DA INFECÇÃO BACTERIANA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA MENINGITE PNEUMOCÓCICA	39
1.9 INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO BACTERIANA NO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL	39
1.10 DOENÇAS INFECCIOSAS E AS DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS	40
1.11 ANEDONIA	41
1.12 IMIPRAMINA	42
2 OBJETIVOS	43
2.1 OBJETIVO GERAL	43
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
3 MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA	44
3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS, FÁRMACOS E TRATAMENTO ..	44
3.3 PROTOCOLO PARA INDUÇÃO DA MENINGITE	45
3.4 TESTES COMPORTAMENTAIS	46
3.4.1 <i>Habituação ao campo aberto</i>	46
3.4.2 <i>Teste de anedonia</i>	46
3.5 PESO CORPORAL, GLÂNDULA ADRENAL E PESO DO HIPOCAMPO	47
3.6 NÍVEIS DOS HORMÔNIOS CORTICOSTERÓIDE E CORTISONA (ACTH) NO SANGUE	47
3.7 AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE TNF-A	48
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
4 RESULTADOS	49

5 DISCUSSÃO.....	56
5.1 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

1.1 MENINGITE

A meningite bacteriana é a infecção mais comum e grave do sistema nervoso central (SNC), caracterizada por uma infecção aguda que ocorre no espaço subaracnóide, localizado entre as meninges pia mater e aracnóide (VAN DE BEEK et al., 2004). Esta inflamação gera uma resposta imune exarcebada, lesionando o tecido neuronal e causando prejuízos neuropsicológicos e cognitivos, através de processos apoptóticos (LEIB et al., 1996; KOEDEL; PFISTER, 1999; NAU et al., 1999; IRAZUZTA et al., 2005; CHEN et al., 2009). A inflamação no espaço ventricular e subaracnóide causada pela meningite pneumocócica é aparentemente responsável por muitas das consequências patológicas da doença (TUOMANEN, 1994; KOEDEL; PFISTER, 1999). Em modelo experimental de meningite, a inflamação tem sido fortemente relacionada ao desenvolvimento de danos cerebrais que afetam múltiplas áreas com uma distribuição heterogênea, afetando-as em diferentes tempos (KIM et al., 1995). A falta de uniformidade nos danos ocorridos prejudica a avaliação da gravidade e do grau dos danos neuronais (IRAZUZTA et al., 2000). Isto dificulta a extensão dos danos cerebrais, especialmente em períodos imediatamente após a lesão, criando obstáculos para o desenvolvimento de novas terapias (IRAZUZTA et al., 2001). Em um estudo realizado em necropsia de pacientes que morreram de meningite, foi observado danos ao SNC caracterizados por necrose nos tecidos corticais e apoptose das células do giro dentado hipocampal (NAU et al., 1999). Além disso, foi verificado que o pico de morte celular por apoptose no giro dentado hipocampal ocorreu 30 horas após a indução da meningite em ratos (GRANDGIRARD et al., 2007a).

1.2 EPIDEMIOLOGIA

Estima-se que cerca de 1,2 milhões de casos de meningite ocorrem anualmente em todo o mundo, resultando em 135.000 mortes (MALIPIERO et al., 2006; WEISFELD et al., 2006). O *Streptococcus pneumoniae* e a *Neisseria meningitidis* são os principais agentes etiológicos responsáveis pela maioria dos casos de meningite bacteriana na Europa e nos Estados Unidos da América (EUA), representando cerca de 61% do total destes casos (VAN DE BEEK et al., 2004). De acordo com o Sinan (Sistema de Informação de Agravos de

Notificação), no Brasil em 2011, entre todas as faixas etárias, foram confirmados 20.656 casos de meningite. Destes 37% (n = 7.610) foram por meningite bacteriana, 41% (n = 8.425) foram por meningite viral, 18% (n = 3.759) não foram especificados e 3,5% (n= 712) ocorreram por outra etiologia. Entre todos os casos de meningite bacteriana, 16% (n = 1.204) foram por pneumococos. O pneumococo é a causa mais grave de meningite bacteriana, resultando numa taxa de 20% a 30% de mortalidade e com até 40% de complicações intracranianas, tais como edema cerebral, hidrocefalia e hemorragia (VAN DE BEEK et al., 2004; HOOGMAN et al., 2007).

1.3 STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

O *S.pneumoniae* é um diplococo Gram positivo que reside na superfície da mucosa do trato respiratório superior (MARTNER et al., 2008) e pode ocasionar doenças como a otite média, pneumonia, bacteremia, sepsis e meningite (MITCHELL; MITCHELL, 2010).

Para que ocorra a colonização na naso faringe e posterior invasão e disseminação nas vias respiratórias inferiores, são necessárias a expressão e a interação entre os fatores de virulência e as células receptoras do hospedeiro (ZHANG et al., 2000; ELM et al., 2004; HAMMERSCHMIDT et al., 2005; 2006; KADIOGLU et al., 2008). O microrganismo apresenta uma variedade de mecanismos de virulência, tais como a cápsula de polissacarídeo, a exotoxina pneumolisina, moléculas de superfície como as adesinas, a enzima hialuronidase, lipoproteínas e proteínas de superfície (MITCHELL; MITCHELL, 2010). A cápsula de polissacarídeo é o principal fator de virulência do microrganismo devido a sua atividade antifagocitária. A presença da cápsula impede que as imunoglobulinas se liguem à superfície da bactéria e interajam com os receptores presentes nas células fagocíticas (KADIOGLU et al., 2008). A cápsula também é crucial para a colonização, pois impede a remoção mecânica do muco (NELSON et al., 2007) e pode também restringir a autólise e reduzir a exposição do microrganismo aos antimicrobianos (VAN DER POLL; OPAL, 2009).

A pneumolisina possui a capacidade de se ligar ao colesterol da membrana celular e formar poros de grandes dimensões, destruindo a integridade da membrana, ocasionando morte neuronal através do dano à membrana mitocondrial (EL-RACHKIDY et al., 2008).

As adesinas pneumocócicas, como a fosfatidilcolina, têm sido diretamente implicadas na aderência às células epiteliais (CUNDELL et al., 1995; ROSENOW et al., 1997). Outros fatores de virulência como

as exoglicosidasas, incluindo a neuraminidase A, β -galactosidase e β -N-acetilglicosaminidase, são conhecidos por estarem envolvidos na interação das adesinas às glicoproteínas presentes na membrana celular no hospedeiro (KING et al., 2006). Estas enzimas proporcionam a resistência à lisozima, que é uma muramidase que cliva o peptidoglicano (DAVIS et al., 2008). O pneumococo também produz a IgA1 protease, que cliva a IgA, a principal classe de imunoglobulinas em secreções, promovendo a ligação com a mucosa respiratória (WEISER et al., 2003).

A enzima hialuronidase também é outro fator de virulência do pneumococo. Tal enzima atua degradando o ácido hialurônico, que é um componente conectivo dos tecidos dos mamíferos. A degradação deste ácido facilita a propagação e a colonização do microrganismo. Esta enzima também pode potencializar a inflamação pulmonar, devido à ativação das citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (IRWIN et al., 1994; MITCHELL; MITCHELL, 2010).

1.4 MECANISMOS DE COLONIZAÇÃO DO *S. PNEUMONIAE* NA MENINGITE PNEUMOCÓCICA

O habitat do pneumococo é a mucosa da nasofaringe humana, com uma prevalência de cerca de 37% em crianças. A presença do pneumococo em crianças pode aumentar para até 58% em ambientes fechados, como creches (BOGAERT et al., 2001). Em adultos, a aglomeração de pessoas pode facilitar a transmissão, especialmente em hospitais, abrigos e prisões, onde a taxa de transmissão é de até 40% (HOGE et al., 1994; IHEKWEAZU et al., 2010), em comparação com 4% na população adulta em geral. A bactéria é principalmente transferida entre as pessoas através da tosse e por espirros. Além disso, o microrganismo necessita enfrentar a barreira natural, o sistema imune do hospedeiro e até 700 espécies microbianas diferentes que podem colonizar o mesmo nicho (AAS et al., 2005; MOOK-KANAMORI et al., 2011). O *S.pneumoniae* coloniza a nasofaringe por degradação do muco através das exoglicosidasas, tais como a neuraminidase A, β -galactosidase A, β -N-acetilglicosaminidase e a neuraminidase B (BURNAUGH et al., 2008). Além de produzir também a pneumolisina que é responsável pela diminuição do batimento ciliar das células epiteliais, aumentando a aderência bacteriana (FELDMAN et al., 1990). O *S. pneumoniae* pode transmigrar entre as células epiteliais através da ligação da fosforilcolina pneumocócica com o receptor do fator de ativação de plaquetas (PAF) presente nas células epiteliais. Pode

também ligar-se à proteína de superfície pneumocócica C (PspC) com o receptor de Ig polimérica (PIgR) epitelial, que transportará a bactéria para a membrana basal das células epiteliais do hospedeiro (CUNDELL et al., 1995; MOOK-KANAMORI et al., 2011).

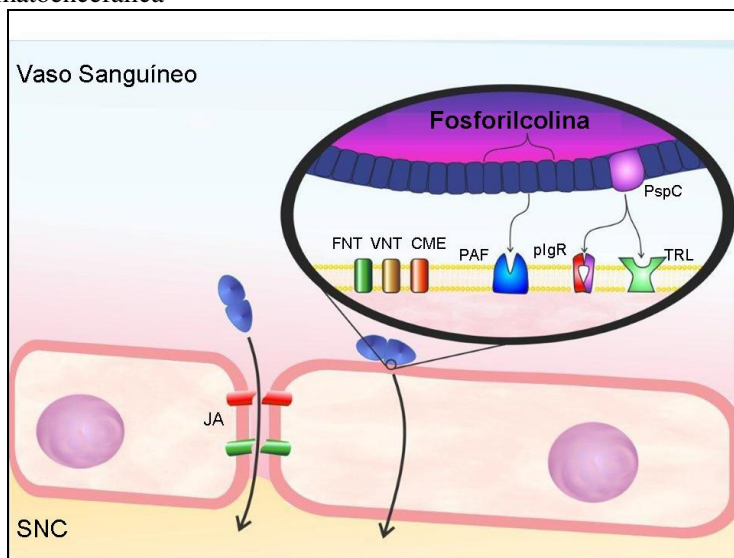
Uma vez na corrente sanguínea, o pneumococo é confrontado com um mecanismo de defesa adicional. Os representantes do complemento são o primeiro passo da imunidade inata contra a bacteremia (JARVA et al., 2003; PATERSON et al., 2006). O pneumococo possui duas formas de minimizar o processo de fixação de fragmentos do sistema complemento na superfície bacteriana (opsonização) e posteriormente a fagocitose. Primeiramente, a cápsula serve como uma barreira não específica, reduzindo de forma significativa a opsonização e a interação subsequente com os fagócitos (ABEYTA et al., 2003; KADIOGLU et al., 2008). Em segundo lugar, a PspA, a PspC e a pneumolisina atingem os componentes específicos do complemento, reduzindo assim a depuração bacteriana. A PspA inibe a proteína do complemento C1q e, subsequentemente, a deposição da proteína C3b (JARVA et al., 2003). O pneumococo também pode fixar-se aos eritrócitos, através de um processo chamado de aderência imune, que é dependente da ligação de C3b, C4b, C1q e delectina ligadora de manose (MBL) (HAMENT et al., 2003; LI et al., 2007). A pneumolisina, lançada durante a autólise pneumocócica, liga-se à porção Fc da IgG ativando a via clássica do complemento, aumentando a virulência bacteriana independentemente de fatores do complemento para longe da bactéria e limitando a opsonofagocitose (ALCANTARA et al., 2001). Por fim, a proteína C reativa (PCR) de fase aguda se liga à fosforilcolina na parede do pneumococo (VOLANAKIS et al., 1971; AGRAWAL et al., 2002) e, subsequentemente, interage com C1q, levando à ativação da via clássica do complemento (SIEGEL et al., 1974; CLAUS et al., 1977).

1.5 PASSAGEM DO PNEUMOCOCO ATRAVÉS DA BARREIRA HEMATO ENCEFÁLICA (BHE)

O SNC é protegido pelo crânio, leptomeninges, BHE e a barreira sangue-líquido cefalorraquidiano (LCR) (KIM, 2008). A BHE é formada por células endoteliais microvasculares, astrócitos e pericitos. Esta estrutura atua no controle da troca de substâncias para dentro e para fora do cérebro (KIM, 2006), protegendo o cérebro de toxinas e agentes patogênicos (KIM, 2008). O *S.pneumoniae* atravessa a BHE através dos mecanismos de passagem transcelular e intercelular pela ruptura das

junções aderentes (JA) intercelulares (MOOK-KANAMORI et al., 2011). No mecanismo de passagem transcelular, o patógeno liga sua parede celular de fosforilcolina com o receptor do PAF das células endoteliais. Além disso, a PspC se liga ao receptor de laminina e ao plgR em células endoteliais microvasculares cerebrais (ZHANG et al., 2000), permitindo assim, que a transmigração através da célula endotelial para o local basolateral ocorra por entre as junções intercelulares (KIM, 2006). O pneumococo pode também se ligar à fibronectina (FNT) (VAN DE FLIER et al., 1995), à vitronectina (VNT) e ao colágeno de matriz extracelular (CME), aumentando a ruptura da BHE (KOSTRZYNSKA; WADSTROM, 1992; BERGMANN et al., 2009), figura 1. A resposta imune do hospedeiro e os fatores de virulência do pneumococo, tais como a pneumolisina, também aumentam a permeabilidade da BHE, facilitando a passagem do microrganismo para dentro do cérebro (MOOK-KANAMORI et al., 2011).

Figura 1 - Passagem do pneumococo através da barreira hematoencefálica



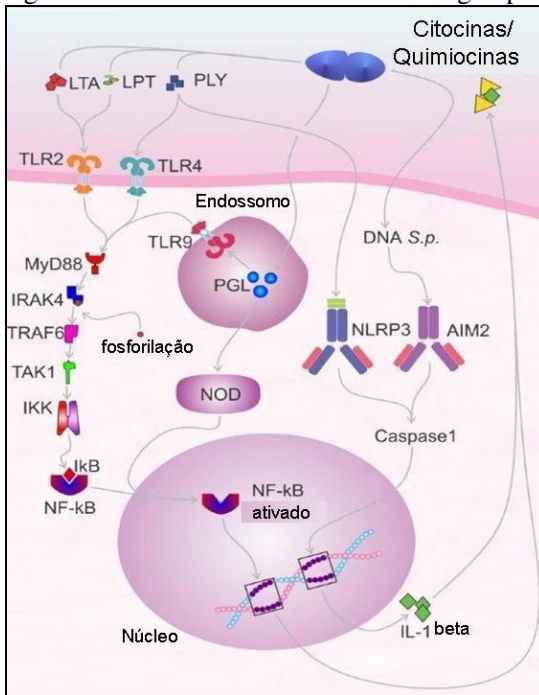
Fonte: Barichello et al.(2013).

1.6 MECANISMOS DO SISTEMA IMUNE INATO NA MENINGITE PNEUMOCÓCICA

O *S.pneumoniae* atinge o espaço subaracnóide e multiplica-se rapidamente, ocorrendo a liberação de seus componentes como fragmentos da parede celular, ácido lipoteicóico, ácido teicóico, pneumolisina e peptidoglicano (MOOK-KANAMORI et al., 2011). Estes componentes são altamente imunogênicos e podem ocasionar uma resposta inflamatória no hospedeiro, sendo conhecidos como padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) (SELLNER et al., 2010; BARICHELLO et al., 2012). Estes PAMPs são reconhecidos por diferentes sensores do sistema imune inato, que é a resposta inicial do hospedeiro aos microrganismos para impedir, controlar ou eliminar a infecção. Estes sensores são chamados de receptores de reconhecimento padrão (PRRs) (KOPPE et al., 2012). Os PRRs compreendem os receptores Toll-like (TLRs), os receptores NOD-like (NLRs) e os sensores de DNA (HANKE et al., 2011; KOPPE et al., 2012). Os membros da família de TLR descritos em humanos são 13, sendo separados em duas grandes categorias: uma é expressa na superfície da célula para o reconhecimento extracelular e a outra está localizada no compartimento endossomal para o reconhecimento de ácidos nucleicos dos patógenos (HANAMSAGAR et al., 2012). As células da microglia expressam todos os TLRs identificados até o momento, enquanto que os astrócitos expressam TLR1, TLR2, TLR3 e TLR9, os neurônios expressam TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9 e os oligodendrócitos expressam TLR2 e TLR3 (HANKE et al., 2011; 2012). Os TLR2 são ativados através de componentes da parede celular dos pneumococos, de ácido lipoteicóico e de lipoproteínas; o TLR4 é ativado por pneumolisina e o TLR9 é ativado por DNA pneumocócico (HANKE et al., 2011; KOPPE et al., 2012). Os TLR2, TLR4 e TLR9 transduzem os seus sinais através de uma proteína adaptadora intracelular comum conhecida como fator de diferenciação mielóide 88 (MyD88) (KRONFOL et al., 2000; KOPPE et al., 2012). Além disso, a deficiência dessa proteína adaptadora intracelular em crianças aumenta a suscetibilidade às infecções pneumocócicas invasivas, incluindo a meningite (VON BERNUTH et al., 2008). O MyD88 interage com um membro da família de proteínas cinase, o receptor de IL-1 associado à cinase-4 (IRAK4) (KAWAI et al., 2007; MOOK-KANAMORI et al., 2011). Após, ocorre a fosforilação de IRAK4 e subsequentemente este se dissocia do MyD88 e interage com o fator-6 ativado por receptor de fator de necrose tumoral (TRAF6) por via de sinalização (ADHIKARI et

al., 2007). O TRAF6 estimula o fator de crescimento transformador ativado β cinase (TAK1), uma MAPKKK. O TAK1 ativa o inibidor da cinase de I κ B (IKK), resultando na destruição da I κ B e, subsequentemente, a ativação de NF- κ B, resultando na translocação nuclear de NF- κ B (MALLEY et al., 2003; KENNETH et al., 2013). O NF- κ B compreende uma família intimamente relacionada com fatores de transcrição, que desempenham um papel essencial na expressão de genes envolvidos no desenvolvimento de células acessórias e populações de leucócitos e expressam muitas proteínas implicadas na inflamação e na resposta imune (TATO et al., 2002). O NF- κ B é também um ativador da transcrição de vários genes implicados na patogênese neuronal e na produção de citocinas e quimiocinas (KOEDEL et al., 2000; KAWAI et al., 2007). Outros receptores envolvidos no reconhecimento de *S.pneumoniae* pelo sistema imune inato são os NLRs. Os membros da família de receptores intracelulares consistem de inflamassomos formadores de proteínas (NLRP), NLRP1, NLRP3 e NLRP6, que medeiam a montagem de complexos de inflamassomos que conduzem à ativação da procaspase-1. O segundo grupo inclui membros de receptores de reconhecimento intracelulares, tais como NOD1/CARD4 e NOD2/CARD15, que medeiam a montagem de complexos que ativam a MAPK e as vias de sinalização de NF- κ B. Tais receptores têm sido envolvidos na detecção da parede celular de peptidoglicano (OPITZ et al., 2004; KERSSE et al., 2011). Os inflamassomos (NLRP3) e ausente em melanoma 2 (AIM2) são ativados pela pneumolisina e por DNA bacteriano. Utilizam uma molécula adaptadora, conhecida como proteína associada à apoptose (ASC), que é um componente essencial de complexos proteicos multiméricos que medeiam a inflamação e a defesa do hospedeiro (PROELL et al., 2012). O NLRP3 e a AIM2 medeiam a ativação da caspase-1 e, posteriormente, a produção de pró-IL-1 β na meningite pneumocócica (SHOMA et al., 2008). Além disso, a pneumolisina ativa o inflamassomo NLRP3 e promove a produção de citocinas pró-inflamatórias de forma independente da ativação do TLR4 (MCNEELA et al., 2010), conforme figura 2.

Figura 2 - Sistema imune inato na meningite pneumocócica



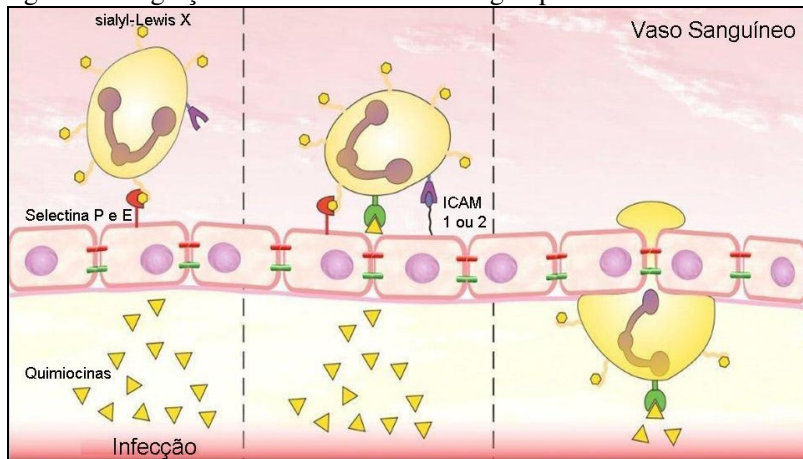
Fonte: Barichello et al. (2013).

1.7 A MIGRAÇÃO DE LEUCÓCITOS NA MENINGITE PNEUMOCÓCICA

Em resposta a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e também a expressão de moléculas coestimulatórias, os neutrófilos sanguíneos migram para os locais de infecção. O sialyl-Lewis^x sulfatado, região de certas glicoproteínas presentes na superfície dos leucócitos, liga-se às proteínas selectina P e E nas células endoteliais. Esta ligação torna-se mais forte quando o CXCL-8 liga-se ao seu receptor específico nos neutrófilos, induzindo a produção da integrina LFA-1 e CX3 (Mac-1). As citocinas inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) também são necessárias para induzir a expressão de moléculas de adesão ICAM-1 e ICAM-2. A ligação entre as células endoteliais e as ICAM-1 permite a passagem de neutrófilos em direção ao gradiente de concentração de substâncias quimioatraentes

(CARLOS; HARLAN, 1994; HANNA; ETZIONI, 2012), como demonstrado na figura 3.

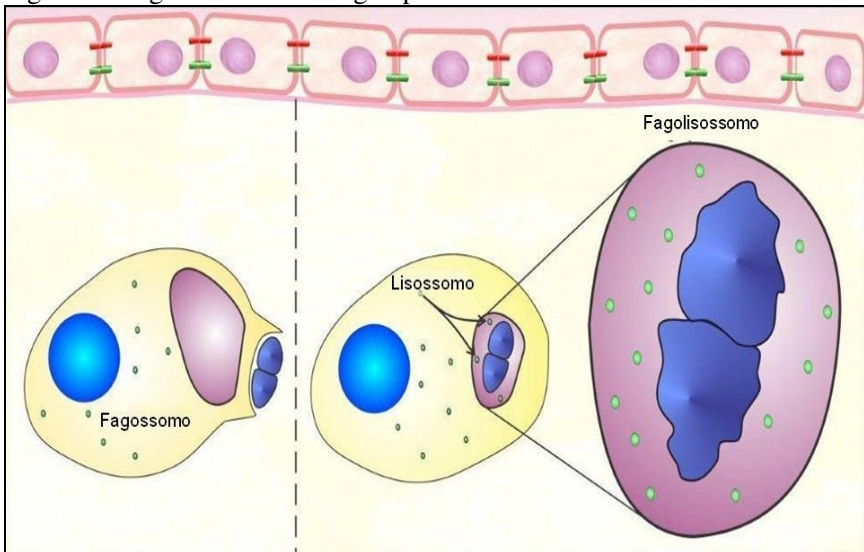
Figura 3 - Migração de leucócitos na meningite pneumocócica



Fonte: Barichello et al. (2013).

Em estudos anteriores utilizando modelo animal de meningite pneumocócica, verificou-se que os níveis de TNF- α encontraram-se aumentados principalmente nas primeiras 6 a 24h após a indução (BARICHELLO et al., 2010a), e os pacientes com meningite bacteriana também aumentaram seus níveis de TNF- α no LCR no início do curso da doença (BRIVET et al., 2005). Além disso, no tratamento da meningite bacteriana, aproximadamente 90% da migração de leucócitos são granulócitos neutrófilos (POLFLIET et al., 2001). Entretanto, o bloqueio da migração de leucócitos para o sítio da inflamação aumenta tanto a bacteremia no LCR quanto à letalidade da meningite pneumocócica experimental (BRANDT et al., 2005). Durante a fagocitose, os patógenos são internalizados no fagossomo, sendo acidificados pela fusão com o lisossomo, tornando-se então fagolisossomo, como observado na figura 4.

Figura 4 - Fagocitose na meningite pneumocócica



Fonte: Barichello et al. (2013).

Espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN) são intensamente formadas durante este processo (KASTENBAUER et al., 2002). Os macrófagos produtores de óxido nítrico (NO), ânion superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O NO é produzido pela óxido nítrico sintase induzida (iNOS) e o O_2^- é produzido pela NADPH oxidase durante a respiração oxidativa. O O_2^- e o NO podem conduzir à formação de peroxinitrito ($ONOO^-$) (KLEIN et al., 2006), que é um forte oxidante que exerce efeitos citotóxicos em células endoteliais e vasculares (SZABO, 2003). As reações químicas e enzimáticas produzem uma variedade de agentes quimiotóxicos. O O_2^- é convertido pela enzima superóxido dismutase (SOD) a H_2O_2 (KASTENBAUER et al., 1999; KASTENBAUER et al., 2002). Assim, o H_2O_2 pode matar os microrganismos e também ser convertido pela enzima mieloperoxidase, presente em granulócitos, na presença de Fe^{2+} em hipoclorito (OCl) e em radicais hidroxila (OH), que são microbicidas (KASTENBAUER et al., 1999; KASTENBAUER et al., 2002; KLEIN et al., 2006).

1.8 DANOS NEURONAIS NO CONTEXTO DA INFECÇÃO BACTERIANA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA MENINGITE PNEUMOCÓCICA

A lesão cerebral e a morte neuronal não são mediadas apenas pela presença de agentes patogênicos viáveis, ocorrendo também como uma consequência da resposta imune do hospedeiro a componentes bacterianos (SCHELD et al., 2002). Estes componentes ativam a proteína tumoral supressora (p53) e a ataxia telangiectasia mutada (ATM) cinase, desencadeando a morte celular por via dependente de caspase (MITCHELL et al., 2004). Os componentes da parede celular de pneumococos liberados ativam a resposta imune do hospedeiro e um grande número de polimorfonucleares são atraídos. A p53 e a ATM dirigem-se para a mitocôndria para iniciar a liberação de citocromo C, que é necessário para formar o apoptossomo (Apaf-1) e ativar a caspase-9, o que resulta na ativação da caspase-3 e, posteriormente, morte celular (MITCHELL et al., 2004).

O ácido teicóico pode induzir a produção de TNF- α e de NO, assim como, a expressão de ICAM-1 (FREYER et al., 1999). O dano mitocondrial causado pela pneumolisina e pelo H₂O₂ conduz à liberação do fator de indução de apoptose (AIF) para o citosol. O AIF induz a apoptose através da via independente de caspase (BRAUN et al., 2002; MITCHELL et al., 2004).

1.9 INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO BACTERIANA NO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) é ativado durante muitas infecções bacterianas e virais, resultando em um aumento dos níveis circulantes de glicocorticóides. Esta ativação do eixo HPA e da resposta dos glicocorticóides são cruciais para a sobrevivência do hospedeiro (WEBSTER; STERNBERG, 2004).

Após a infecção bacteriana, uma cascata de eventos, chamada de "resposta de fase aguda", é iniciada. Esta inclui a inflamação local e sistêmica resultando em febre, leucocitose e liberação de hormônios, com a função de restabelecer a homeostase do hospedeiro prejudicada pela infecção. Estas vias ativam mecanismos de sinalização e liberação de mediadores, principalmente citocinas, que medeiam as respostas presentes na infecção (BIRON, 1994; Koj, 1996; VAN AMERSFOORT et al., 2003).

Os glicocorticóides adrenais regulam a resposta inflamatória do hospedeiro, minimizando o dano tecidual potencial (YOU et al., 2008). Sabe-se que a ativação do eixo HPA, por estresse pode melhorar a suscetibilidade a doenças infecciosas (BROWN et al., 1993, BROWN;ZWILLING, 1994), e tem-se visto que a interrupção do eixo HPA com o bloqueio dos receptores de glicocorticóides pode aumentar a gravidade ou a letalidade da infecção (WEBSTER; STERNBERG, 2004).

A comunicação bidirecional existente entre o cérebro e o sistema imune, ocorre através da liberação de citocinas pelo sistema imune e sua ação no cérebro (MULLA; BUCKINGHAM, 1999). O cérebro responde a essa sinalização pela regulação do sistema imune, em parte através da ação do eixo HPA com resultante liberação de glicocorticóides (WEBSTER et al., 2002). Após o estímulo inflamatório ou físico, as células do núcleo do hipotálamo paraventricular expressam a liberação do hormônio corticotrófico (CRH) no sangue. Este, por sua vez, estimula a glândula pituitária anterior a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na corrente sanguínea. Nas glândulas suprarrenais, o ACTH estimula a síntese e a liberação de glicocorticóides, como o cortisol (WEBSTER et al., 2002).

A meningite também é conhecida por causar aumento no nível do hormônio ACTH (RIORDAN et al., 1999; SAPOLSKY et al., 2000; VANWOENSEL et al., 2001). Além disso, múltiplas anormalidades neuroendócrinas aparecem em indivíduos com transtornos depressivos, incluindo o aumento da secreção do cortisol e da atenuação da supressão do cortisol em resposta à dexametasona. Acredita-se que a hipersecreção de cortisol na depressão resulta de alterações no eixo HPA (CARROLI et al., 1981).

1.10 DOENÇAS INFECCIOSAS E AS DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS

A infecção neuronal provoca uma intensa resposta inflamatória no hospedeiro. Esta resposta é potencialmente fatal e contribui para o desenvolvimento de sintomas neurológicos (SELLNER et al., 2010).

Estudos mostram que pacientes que tiveram meningite e que apresentaram boa recuperação podem apresentar sequelas, e cerca de um terço dos pacientes apresentam alterações cognitivas como dificuldades de aprendizagem, cegueira, surdez, deficiências neuropsiquiátricas, paralisia cerebral, epilepsia e retardo mental (HOOGMAN et al., 2007). Além disso, pesquisas epidemiológicas indicam que indivíduos com

meningite durante a infância têm um risco aumentado em 4,4 vezes para desenvolver a esquizofrenia, e, um risco de 4,6 vezes para desenvolver psicose na idade adulta, quando comparados com indivíduos que não apresentaram meningite na infância (ABRAHÃO et al., 2005).

Existem vários estudos que descrevem o envolvimento de citocinas e do estresse oxidativo em transtornos comportamentais (MARQUES et al., 2007; BRIETZKE et al., 2008). O sistema imune pode sinalizar o SNC através da ação de citocinas. Por exemplo, a IL-1 β é capaz de induzir a diferenciação de células progenitoras do mesencéfalo em neurônios dopaminérgicos (LING et al., 1998; POTTER et al., 1999) e a IL-6 é altamente eficaz na diminuição da sobrevivência de neurônios serotoninérgico fetal (JARSKOG et al., 1997). As citocinas têm um papel importante na fisiopatologia de infecções que ocorrem no cérebro, e estão implicadas numa variedade de doenças comuns, tais como os transtornos psiquiátricos (MARQUES et al., 2007). O aumento das citocinas também pode estar associado com o desenvolvimento de anedonia ou diminuição do interesse ou prazer, que é um sintoma característico de depressão maior, esquizofrenia e outros transtornos neuropsiquiátricos (JANICKI-DEVERTS et al., 2007; DER- AVAKIAN et al., 2012).

1.11 ANEDONIA

A elucidação da imunologia do SNC pode oferecer novas perspectivas sobre as causas de um número de transtornos neuropsiquiátricos, como a esquizofrenia e a depressão (KRONFOL e REMICK, 2000; SCHIEPERS et al., 2005). Uma das causas dos transtornos de humor pode estar associada ao aumento de citocinas pró-inflamatórias, em particular o TNF- α (EVANS et al., 2005).

A anedonia, ou a diminuição da capacidade de experimentar o prazer, representa um dos principais sintomas de depressão (American Psychiatric Association, 1994). Este sintoma pode ser um efeito direto da atividade de citocinas pró-inflamatórias por consequente supressão de comportamentos geradores de prazer. Estes comportamentos permitiriam a energia que seria direcionada para o processo metabólico para lutar contra a infecção (JANICKI-DEVERTS et al., 2007).

A anedonia pode ser pesquisada em modelos experimentais utilizando ratos. O teste de preferência a sacarose, a qual avalia essencialmente o apetite de um rato para uma substância altamente saborosa, tem sido amplamente utilizado para avaliar a anedonia em

modelos de estresse crônicos leves de depressão (WILLNER et al., 1987; PAPP et al., 1991).

1.12 IMIPRAMINA

A imipramina também é denominada por (dimetilamino-3-propil)-5-iminodibenzil (SILVA, 2002). É um composto branco, cristalino e muito solúvel em água.

A imipramina é um antidepressivo tricíclico, que afeta o humor, inibindo a recaptção sináptica de norepinefrina e de serotonina (GOLDMAN; AUSIELLO, 2009). A inibição da recaptção destes neurotransmissores aumenta a concentração dos mesmos em contato com os receptores, incrementando, assim, a atividade dos neurônios pós-sinápticos, diminuindo os sintomas da depressão (RANG et al., 2001; SILVA, 2002).

A maioria dos fármacos antidepressivos produz um rápido aumento dos níveis sinápticos de norepinefrina e/ou serotonina. No entanto, a melhora clínica normalmente leva de 3 a 4 semanas para ocorrer (FRAZER; BENMANSOUR, 2002). Assim, o primeiro aumento dos níveis de aminas biogênicas desencadeiam eventos, tais como a estimulação do hipocampo e a neurogênese que, após algum tempo, conduzem a um efeito terapêutico. A maturação de neurônios recém-desenvolvidos também exige cerca de 3 a 4 semanas, e diferentes classes de antidepressivos estimulam a proliferação de progenitores neuronais (MALBERG et al., 2000; 2004; DUMAN, 2004) e aumentam a sobrevivência de neurônios recém-desenvolvidos (WANG et al., 2008).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da imipramina como tratamento coadjuvante na meningite pneumocócica para atenuar os sintomas semelhantes à depressão em ratos Wistar adultos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a atividade motora e exploratória de ratos Wistar adultos induzidos à meningite pneumocócica, tratados e não tratados com imipramina;
- Avaliar o consumo de alimento doce em ratos Wistar adultos induzidos à meningite pneumocócica, tratados e não tratados com imipramina;
- Avaliar o peso de ratos Wistar adultos induzidos à meningite pneumocócica, tratados e não tratados com imipramina;
- Avaliar o peso hipocampal e da glândula adrenal de ratos Wistar adultos induzidos à meningite pneumocócica, tratados e não tratados com imipramina;
- Quantificar os níveis dos hormônios corticosteróide e ACTH no sangue de ratos Wistar adultos induzidos à meningite pneumocócica, tratados e não tratados com imipramina.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

Com base em estudos prévios em pacientes e estudos em modelos animais, para uma diferença de até 20% nos parâmetros a serem analisados entre os grupos, com uma variância de no máximo 10% entre as médias, calculou-se um tamanho de amostra de 10 animais por grupo para os testes comportamentais e bioquímicos, para um erro alfa de 0,05 e um poder de 80%.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS, FÁRMACOS E TRATAMENTO

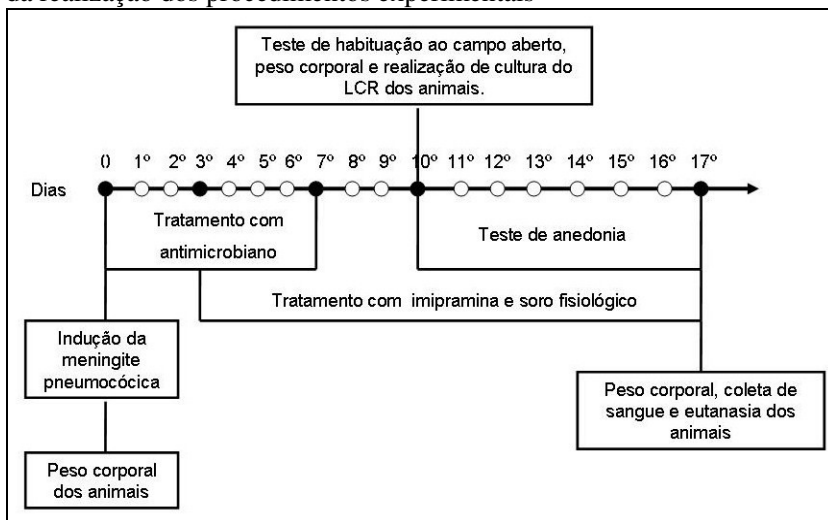
Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais contendo 10 animais em cada grupo, totalizando 40 animais. Os grupos foram identificados por: (1) Grupo controle, (2) Grupo controle/imipramina, (3) Grupo meningite, (4) Grupo meningite/imipramina. A imipramina foi obtida da Novartis® Indústria Farmacêutica (Brasil).

Após o procedimento de indução da meningite pneumocócica, todos os grupos receberam como “suporte básico” 2 mL/kg de solução salina e 18 horas após a indução receberam 100 mg/kg de ceftriaxona a cada 12h durante 7 dias (BARICHELLO et al., 2010b, c).

Os animais pertencentes ao grupo controle receberam por via intraperitoneal, uma vez ao dia, soro fisiológico. Os animais que faziam parte do grupo de tratamento com o antidepressivo receberam por via intraperitoneal, uma vez ao dia, a dose de imipramina equivalente a 10 mg/kg durante 14 dias (COMIM et al., 2010).

A imipramina foi administrada três dias após a indução da meningite e 60 minutos antes do teste comportamental e do teste de anedonia. Foi dissolvida em soro fisiológico imediatamente antes da injeção intraperitoneal (COMIM et al., 2010). Os dias de tratamento com os fármacos estão representados na figura 5.

Figura 5 - Representação dos dias de tratamento com fármacos e os dias da realização dos procedimentos experimentais



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3 PROTOCOLO PARA INDUÇÃO DA MENINGITE

A meningite pneumocócica foi induzida em vinte ratos Wistar adultos, machos, pesando entre 250 a 300g, provenientes do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Unesc. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNESC, com número de protocolo 20/2010.

O *S.pneumoniae* foi cultivado durante a noite em caldo Todd-Hewitt. Na manhã do experimento, as bactérias foram lavadas e ressuspensas em NaCl 0,9% estéril (IRAZUZTA et al., 2001; SELLNER et al., 2009). Os procedimentos cirúrgicos e a inoculação da suspensão bacteriana foram executados sob a anestesia que consistiu em uma administração intraperitoneal única de cloridrato de cetamina (6,6 mg/kg), cloridrato de xilazina (0,3 mg/kg).

A meningite foi induzida por inoculação da suspensão de *S. pneumoniae* (sorotipo III) na cisterna magna dos animais (IRAZUZTA et al., 2002). No primeiro dia, os animais foram submetidos a uma punção na cisterna magna com uma agulha calibre número 23. A posição da agulha foi verificada pelo fluxo livre do LCR cerebral desobstruído. O LCR foi retirado e os animais receberam 10µL de

solução salina estéril como controle ou um volume equivalente de suspensão de *S.pneumoniae* na concentração de bactérias igual a 5×10^9 UFC/mL (IRAZUZTA et al., 2002; IRAZUZTA et al., 2005). Ao mesmo tempo da inoculação, os animais receberam subcutaneamente 2 mL de solução salina e analgésico (0,5 mL de buprenorfina a cada 24 horas) e após retornaram para a sua caixa-moradia com alimento e água *ad libitum* (IRAZUZTA et al., 2001; IRAZUZTA et al., 2002). Dezoito horas após a indução da meningite, foi realizada a confirmação e a quantificação da concentração microbiana no LCR dos animais, através da cultura de 5µL de LCR, semeadas em placas de agar sangue de carneiro 5% e incubadas à temperatura de 37°C durante 24 horas. Após dez dias da indução da meningite, foi realizada novamente a confirmação e a quantificação da concentração microbiana no LCR dos grupos (IRAZUZTA et al., 2001; 2002; GRANDGIRARD et al., 2007a,b; SURY et al., 2008).

3.4 TESTES COMPORTAMENTAIS

3.4.1 Habituação ao campo aberto

Dez dias após inoculação da meningite, o teste de habituação ao campo aberto foi realizado em uma caixa quadrada medindo 40 x 60 cm delimitada por 4 paredes com 50cm de altura, sendo 3 paredes de madeira e uma de vidro transparente. O piso do campo aberto é dividido em 12 quadrados iguais marcados por linhas pretas. Na sessão de treino, os animais foram cuidadosamente colocados no quadrado do canto posterior esquerdo do aparelho, a partir do qual exploraram livremente o ambiente por 5 minutos. Imediatamente após o treino, os animais voltaram para sua caixa-moradia. A sessão de teste foi realizada 24 horas após a sessão de treino, na qual se repetiu o mesmo procedimento. Os números de cruzamentos através das linhas pretas, que avaliou a atividade motora e o número de levantamentos, que avaliou a atividade exploratória dos animais foram avaliados em ambas as sessões (VIANNA et al., 2000).

3.4.2 Teste de anedonia

Dez dias após a indução da meningite pneumocócica, foi avaliado o consumo de alimentos doces durante 7 dias (10º ao 17º dia), representados na figura 5. Para isso, os animais foram colocados em um aparato retangular medindo 40 cm x 15 cm x 20 cm com teto e paredes

laterais de madeira e piso dividido em nove retângulos iguais separados por linhas pretas. Dez Froot Loops[®] Kellogg's[®] (grânulos de trigo, amido de milho e sacarose) foram colocados em uma extremidade da caixa. Os animais foram submetidos a cinco ensaios com duração de 3 minutos cada, uma vez por dia, durante 5 dias para se familiarizarem com o alimento. Após estarem habituados, os animais foram expostos a dois testes com sessões de 3 minutos cada, quando o número de grânulos ingeridos foi avaliado. Este procedimento ocorreu no 16º ao 17º dia após a indução da meningite pneumocócica. O teste comportamental foi realizado para avaliar o número de vezes que os animais atravessaram as linhas pretas da caixa, avaliado no 10º dia, para determinar a atividade locomotora. Estas duas avaliações foram realizadas com os animais submetidos ao jejum (durante um período de 22 horas antes da tarefa comportamental) (KATZ et al., 1981; GAMARO et al., 2003).

3.5 PESO CORPORAL, GLÂNDULA ADRENAL E PESO DO HIPOCAMPO

O peso corporal foi avaliado antes da indução da meningite, após 10 dias da indução da meningite e após 17 dias da indução da meningite. No 17º dia, após o consumo de alimentos doces, os ratos foram anestesiados com uma única administração intraperitoneal de cloridrato de cetamina (6,6 mg/kg), xilazina (0,3 mg/kg) e acepromazina (0,16 mg/kg) e, após a anestesia, foram eutanasiados antes de recobrar a consciência. O hipocampo e a glândula adrenal foram removidos e pesados (KATZ et al., 1981; GAMARO et al., 2003; KRISHNAN; NESTLER, 2008). O hipocampo e o córtex pré - frontal foram armazenados a uma temperatura de - 80°C para a realização dos testes de avaliação dos níveis de TNF- α . A glândula adrenal e as demais estruturas não utilizadas no experimento foram acomodadas em saco branco leitoso, sendo transportadas por empresa contratada pela universidade, para descarte como resíduo infectante.

3.6 NÍVEIS DOS HORMÔNIOS CORTICOSTERÓIDE E CORTISONA (ACTH) NO SANGUE

Após os animais serem anestesiados, o sangue foi coletado e retirado e o soro foi utilizado para avaliar os níveis de corticosterona e o plasma para avaliar os níveis de ACTH (KATZ et al., 1981; GAMARO et al., 2003). Os níveis de corticosterona foram determinados utilizando

kits de imunoenensaio enzimático. As concentrações séricas de ACTH foram determinadas através de radio imuno ensaio, comercialmente disponíveis em kits (ambos adquiridos da Diagnostic Products Corporation®, LA, EUA). Ambas as análises foram realizadas em um laboratório comercial que desconhecia as condições experimentais.

3.7 AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE TNF- α

O hipocampo e o córtex pré-frontal foram homogeneizados em solução de extração contendo aprotinina (100mg de tecido por 1mL de solução). O volume do LCR a partir de cada animal foi ajustado para 100uL com solução de extração. A concentração de TNF- α no hipocampo e no córtex pré-frontal foi determinada utilizando o teste ELISA, de acordo com as instruções do fabricante (DuoSet kits®, R&D Systems, Minneapolis). Os resultados foram calculados como pg/100mg de tecidos.

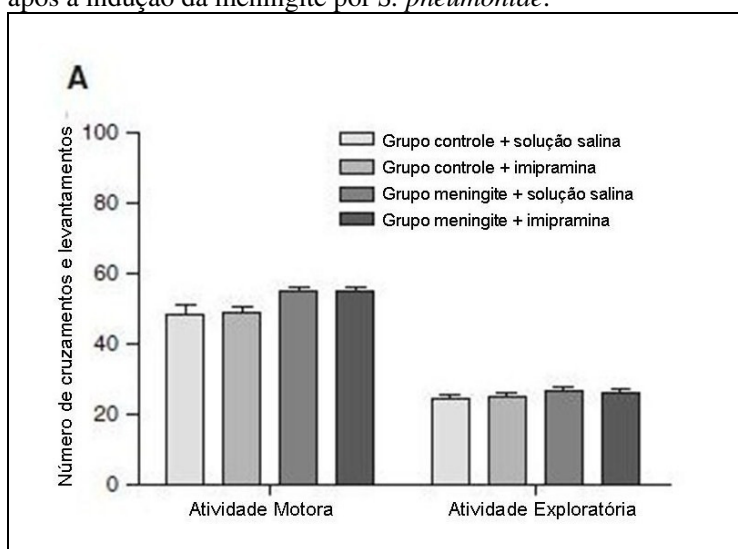
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0 foi utilizado para análises estatísticas. Todos os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). As diferenças entre os grupos experimentais foram determinadas por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste *post hoc* de Tukey para ingestão de alimentos doces, atividade locomotora, glândula adrenal, peso do hipocampo, níveis de corticosterona e ACTH no hipocampo e nível de TNF- α no hipocampo e no córtex pré-frontal. Para o peso corporal foi empregado o teste *t* de Student para dados pareados, quando os dados foram distribuídos normalmente. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

4 RESULTADOS

Após 10 dias da indução de meningite por *S. pneumoniae* foi realizada cultura do LCR, apresentando-se negativa (dados não mostrados). No teste de habituação ao campo aberto (figura 6), não foi observada diferença significativa no número de cruzamentos ou levantamentos entre os grupos meningite e grupo controle ($p>0,05$).

Figura 6 - Teste de habituação ao campo aberto realizado 10 dias após a indução da meningite por *S. pneumoniae*.

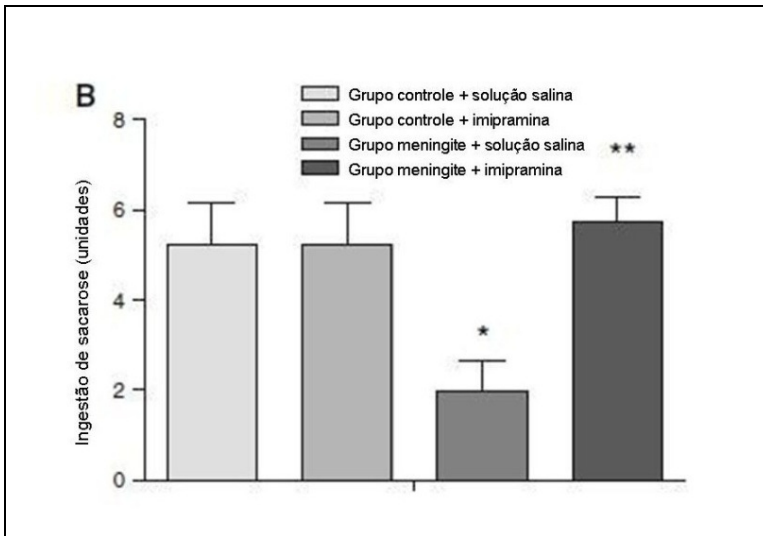


Fonte: Elaborado pelo autor.

Nenhuma diferença significativa foi observada nos números de cruzamentos e levantamentos na sessão de habituação entre os grupos (teste t de Student).

Na figura 7, pode-se observar o efeito da meningite sobre o consumo de alimento doce através do teste de anedonia. No grupo meningite, a ingestão de alimento doce diminuiu aproximadamente 60%, quando comparado ao grupo controle ($p= 0, 029$). O tratamento do grupo meningite com imipramina reverteu a redução do consumo de alimento doce em aproximadamente 290% quando comparados ao grupo meningite ($p = 0,009$).

Figura 7 - Efeitos da meningite pneumocócica no consumo de alimentos doces no teste de anedonia.



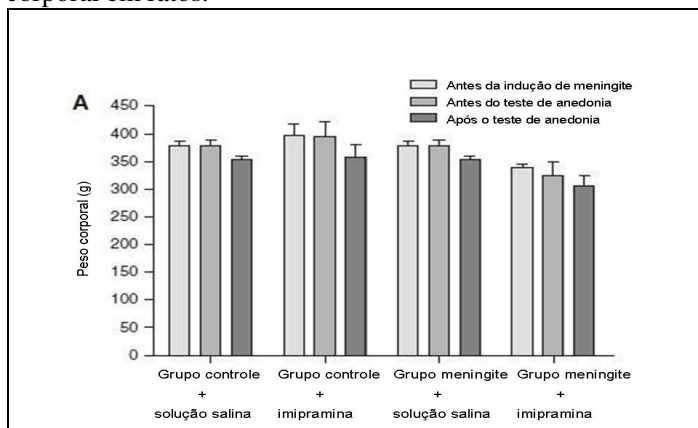
Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados são apresentados como média \pm EPM de 10 ratos em cada grupo. As diferenças entre os grupos experimentais foram determinadas por ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Tukey.

**Estatisticamente significativo quando comparado com o grupo meningite com $p < 0,05$.

A figura 8 ilustra os efeitos da meningite pneumocócica sobre o peso corporal, da glândula suprarrenal e do hipocampo nos animais. Quanto ao peso corporal, não houve diferença significativa entre os grupos (figura 8).

Figura 8 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre o peso corporal em ratos.

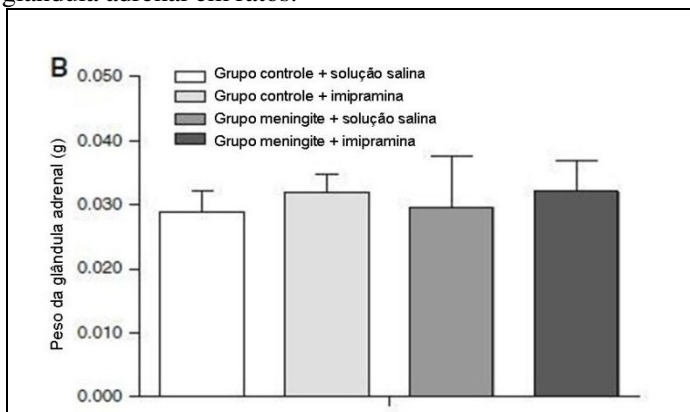


Fonte: Elaborado pelo autor.

As barras representam a média \pm EPM de 10 ratos. Os dados foram analisados por meio do teste *t* de Student para dados pareados, quando os dados foram normalmente distribuídos.

Em relação ao peso da glândula suprarrenal e do hipocampo, também não houve diferença significativa entre os grupos avaliados (figura 9, 10).

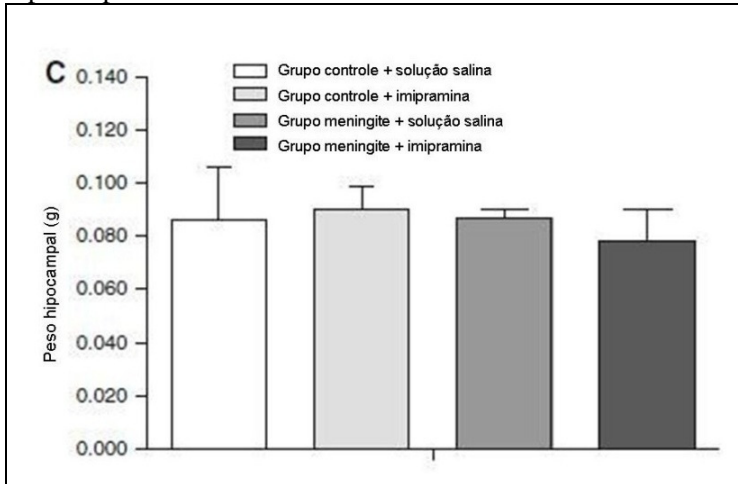
Figura 9 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre peso da glândula adrenal em ratos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As barras representam a média \pm EPM de 10 ratos. A análise estatística foi realizada por ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Tukey.

Figura 10 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre o peso hipocampal em ratos.

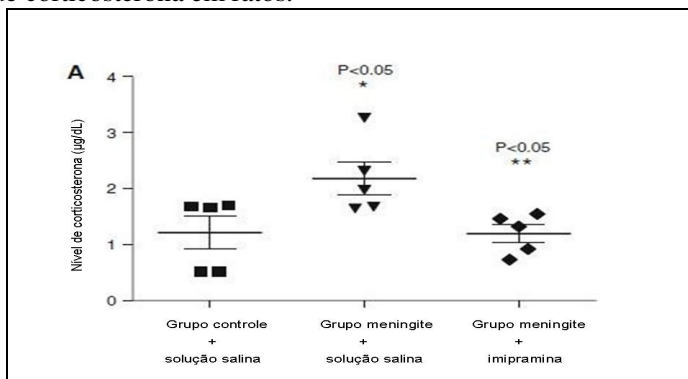


Fonte: Dados da pesquisadora.

As barras representam médias \pm EPM de 10 ratos. A análise estatística foi realizada por ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Tukey.

Os níveis de corticosterona e ACTH foram avaliados no grupo controle, grupo meningite e grupo meningite/imipramina e estão apresentados nas figuras 11 e 12. O grupo meningite teve seus níveis de corticosterona ($p < 0,05$) e de ACTH ($p < 0,05$) aumentados quando comparado ao grupo controle. O tratamento com imipramina preveniu o aumento dos níveis de corticosterona ($p < 0,05$) e ACTH, quando comparados ao grupo meningite ($p < 0,05$).

Figura 11 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre os níveis de corticosterona em ratos.



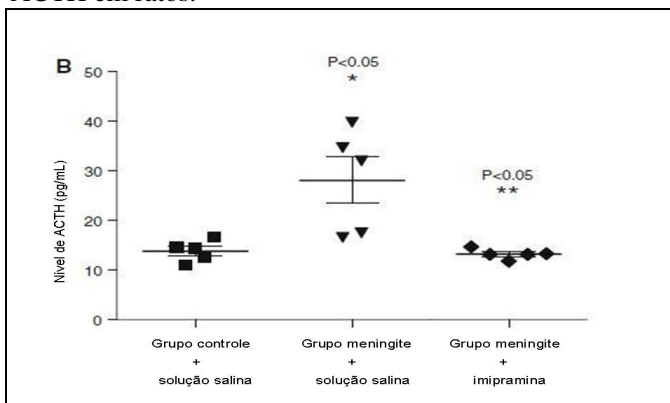
Fonte: Elaborado pelo autor.

As barras representam a média \pm EPM de 10 ratos. As diferenças entre os grupos experimentais foram determinadas por ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Tukey.

*Estatisticamente significativo quando comparado com o grupo controle com $p < 0,05$.

**Estatisticamente significativa quando comparado com o grupo meningite com $p < 0,05$.

Figura 12 - Efeitos da meningite pneumocócica sobre os níveis de ACTH em ratos.



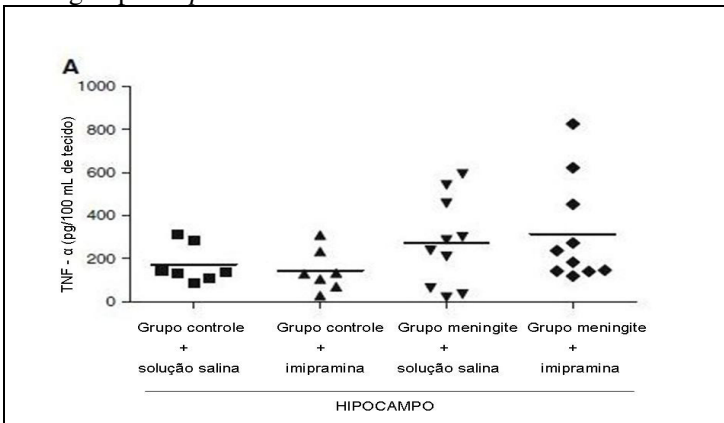
Fonte: Dados da pesquisadora.

As barras representam a média \pm EPM de 10 ratos. As diferenças entre grupos experimentais foram determinadas por ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Tukey.

*Estatisticamente significativo quando comparado com o grupo controle com $p < 0,05$. ** Estatisticamente significativo quando comparado com o grupo meningite com $p < 0,05$.

No hipocampo, os níveis de TNF- α não foram alterados pela indução da meningite pneumocócica conforme mostrados na figura 12. No entanto, estes níveis foram aumentados no córtex pré-frontal do grupo meningite quando comparados com o grupo controle ($p > 0,05$), conforme apresentados na figura 13.

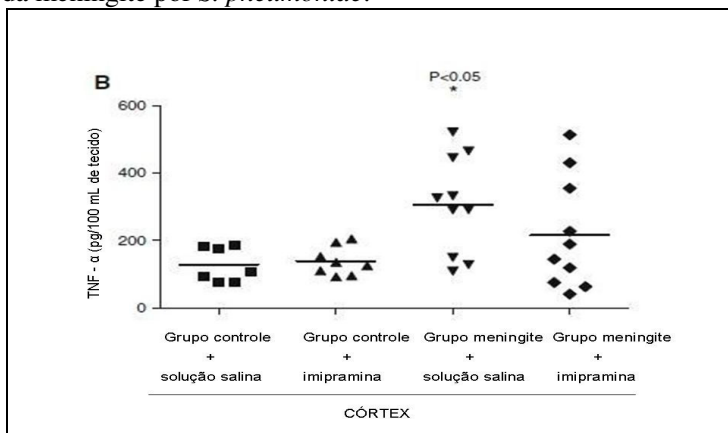
Figura 13 - Expressão de TNF- α no hipocampo após a indução de meningite por *S. pneumoniae*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As concentrações de TNF- α foram obtidas 17 dias após a indução da meningite. O TNF- α foi avaliado por teste ELISA e os resultados são apresentados em pg de citocinas/quimiocinas.

Figura 14 - Expressão de TNF- α no córtex pré-frontal após a indução da meningite por *S. pneumoniae*.



Fonte: Dados da pesquisadora.

As concentrações de TNF- α foram obtidas 17 dias após a indução de meningite. Os níveis de TNF- α foram avaliados por teste ELISA e os resultados são mostrados.

*Estatisticamente significativo quando comparado com o grupo controle e com o grupo controle + imipramina com $p < 0,05$.

5 DISCUSSÃO

As doenças infecciosas podem desempenhar um papel importante na etiologia dos distúrbios neuropsiquiátricos (FERRANDO; FREYBERG, 2008). Quando as bactérias invadem o espaço subaracnóide, replicam-se rapidamente e simultaneamente liberam componentes bacterianos, iniciando uma resposta que depende da ativação do sistema imune do hospedeiro (COIMBRA et al., 2006). O aumento das concentrações de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, metaloproteinases de matriz, NO e EROs (SELLNER et al., 2010) pode causar danos ao hospedeiro, tais como cegueira, surdez, déficits de aprendizagem e distúrbios neuropsiquiátricos. Além disso, vários estudos evidenciam o papel potencial das citocinas na patogenia da depressão (BRIETZKE; KAPCZINSKI, 2008). Pacientes que apresentaram depressão parecem ter ativado vias inflamatórias, com um aumento de citocinas pró-inflamatórias, proteínas de fase aguda, aumento da expressão de quimiocinas e de moléculas de adesão (RAISON et al., 2006; KIM et al., 2007; YANG et al., 2007). A doença infecciosa pode provocar alterações psicológicas e comportamentais geralmente não específicas, incluindo fadiga e mal-estar, incapacidade de concentração e anedonia (JANICKI-DEVERTS et al., 2007).

Foi demonstrado neste estudo que os ratos sobreviventes à meningite pneumocócica apresentam anedonia, como demonstrado no teste de ingestão de alimento doce. Em estudos anteriores, verificou-se que os animais submetidos à meningite pneumocócica apresentaram comportamento semelhante à depressão, como evidenciado pelo teste de nado forçado, e sintomas semelhantes à ansiedade, observados no teste de labirinto em cruz elevada (BARICHELO et al., 2010c). Além disso, os níveis de TNF- α no córtex pré-frontal persistiram por até 10 dias após indução da meningite pneumocócica (BARICHELO et al., 2010b). Neste estudo, verificou-se que o nível de TNF- α manteve-se elevado até o 17º dia no córtex pré-frontal após indução da meningite pneumocócica. Por outro lado, a utilização da imipramina reverteu o nível de TNF- α nesta estrutura cerebral.

Sammur et al. (2001) verificaram que a inoculação intraperitoneal de citocinas exógenas em ratos produz mudanças comportamentais consistentes, tais como a supressão do consumo de alimentos doces (SAMMUT et al., 2001). No entanto, no presente estudo verificou-se

que a utilização de imipramina, um antidepressivo clássico, reverteu os sintomas de anedonia e diminuiu os níveis de corticosterona e ACTH em ratos submetidos à meningite pneumocócica. O uso de imipramina também não alterou o peso da glândula adrenal, do hipocampo e do corpo dos animais. Comim e coautores (2010) mostraram que a utilização da imipramina diminuiu os sintomas semelhantes à depressão e também os níveis de ACTH e cortisol em animais sobreviventes à sepse (COMIM et al., 2010).

Neste trabalho também foi observado um aumento no nível de ACTH em ratos que sobreviveram à meningite pneumocócica. Em outro estudo, utilizando modelo animal de depressão, os níveis de corticosterona aumentaram no plasma e o tratamento com a imipramina diminuiu a proliferação e a sobrevivência de células no giro dentado hipocampal (KITAMURA et al., 2011). Sabe-se que a meningite pneumocócica também ocasiona apoptose na região do giro dentado hipocampal em modelo animal (BIFRARE et al., 2003) e em pacientes que morreram de meningite (NAU et al., 1999). A apoptose neuronal no hipocampo está associada à disfunção da memória e de aprendizagem em sobreviventes de meningite (NAU et al., 1999; BRANDT, 2010).

Embora os glicocorticóides inibam muitas citocinas pró-inflamatórias, que são também responsáveis pelo dano neuronal na meningite, eles aumentam a expressão de, pelo menos, um mediador pró-inflamatório potente, o fator inibidor de macrófagos (MIF) (BERNHAGEN et al., 1994). O MIF é uma citocina pró-inflamatória, que leva à produção de IL-8, IL-1 β , TNF- α e NO (BOZZA et al., 1999), além de ser um mediador neuroendócrino que pode ter um papel no tratamento da meningite pneumocócica (GELDHOFF et al., 2009). As citocinas foram implicadas na patogênese de transtornos de humor; alguns estudos indicam uma clara associação entre os níveis de citocinas pró-inflamatórias e os sintomas psiquiátricos (MIKOVA et al., 2001; KASTER et al., 2012). As maiores concentrações de receptores de TNF- α no cérebro são encontradas em algumas regiões envolvidas na resposta aos antidepressivos e ao funcionamento cognitivo como o hipotálamo, hipocampo e córtex cerebral (BOKA et al., 1994; KHAIROVA et al., 2009). O aumento dos níveis de citocinas pode ser relevante em comportamento depressivo, por diversas razões. Um dos mecanismos investigados para os efeitos prejudiciais de citocinas pró-inflamatórias sobre este comportamento é a sua capacidade para modular a neurogênese. Por exemplo, o TNF- α tem uma atividade antiproliferativa em células progenitoras neuronais através da via de receptores TNF-R1 (p55) (IOSIF et al., 2006). Por outro lado, os antidepressivos promovem

a proliferação e a sobrevivência das células progenitoras neuronais (HAN et al., 2011). Em segundo lugar, as citocinas pró-inflamatórias podem induzir a indoleamina-2,3-dioxigenase, enzima responsável por catalisar o limite de velocidade da reação da síntese de quinurenina a partir do triptofano proveniente da dieta (SCHROCKSNADEL et al., 2006). A ativação desta via enzimática degrada o triptofano, reduzindo a sua disponibilidade para a síntese da serotonina. A via das quinureninas origina metabólitos com propriedades neurotóxicas que podem contribuir para os danos ao hipocampo (WICHERS et al., 2005). Vale ressaltar que a ativação do eixo HPA após a meningite envolve a liberação de citocinas pró-inflamatórias, ACTH e glicocorticóides. Este último também tem potentes propriedades antineurogênicas (WICHERS et al., 2005). Em modelo animal, a administração de TNF- α induziu um espectro de sintomas como anorexia, diminuição do comportamento social e da atividade locomotora e a ativação do eixo HPA (BLUTHÉ et al., 2000), este efeito depressivo foi prevenido com o tratamento com a imipramina (KASTER et al., 2012). Coletivamente, esses sintomas são conhecidos como “doença do comportamento” e são muito semelhantes a alguns dos sintomas encontrados em pacientes depressivos (DANTZER, 2004, 2009).

5.1 CONCLUSÃO

A meningite pneumocócica é uma doença grave. A interface entre a complexa rede de produção de citocinas, quimiocinas, oxidantes e outros mediadores inflamatórios pode agravar a doença. O modelo animal de meningite é uma boa ferramenta para estudar os mecanismos envolvidos no dano cognitivo ocasionado pela doença. Embora seja difícil extrapolar os resultados obtidos para a condição humana, estes resultados corroboram a hipótese de que sobreviventes à meningite pneumocócica podem apresentar sintomas comportamentais semelhantes à anedonia e alterações no eixo HPA. Assim, a utilização da imipramina pode prevenir estes sintomas e inibir o aumento dos níveis hormonais em animais submetidos à meningite pneumocócica.

Esta pesquisa está publicada em:

J Neural Transm (2012) 119:653–660
DOI 10.1007/s00702-011-0749-8

BASIC NEUROSCIENCES, GENETICS AND IMMUNOLOGY · ORIGINAL ARTICLE

Imipramine reverses depressive-like parameters in pneumococcal meningitis survivor rats

**Tatiana Barichello · Grazielle Milioli · Jaqueline S. Generoso · Andreza L. Cipriano ·
Caroline S. Costa · Ana Paula Moreira · Márcia Carvalho Vilela ·
Clarissa M. Comim · Antonio Lucio Teixeira · João Quevedo**

Received: 19 September 2011 / Accepted: 1 December 2011 / Published online: 13 December 2011
© Springer-Verlag 2011

REFERÊNCIAS

Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(11):5721-5732.

Abeyta M, Hardy GG, Yother J. Genetic alteration of capsule type but not PspA type affects accessibility of surface-bound complement and surface antigens of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun.* 2003; 71(1):218-225.

Abrahão AL, Focaccia R, Gattaz WF. Childhood meningitis increases the risk for adult schizophrenia. *World J Biol Psychiatry.* 2005; 6(2):44-48.

Adhikari A, Xu M, Chen ZJ. Ubiquitin-mediated activation of TAK1 and IKK. *Oncogene.* 2007; 26(22):3214-3226.

Agrawal A, Simpson MJ, Black S, Carey MP, Salmols D. A C-reactive protein mutant that does not bind to phosphocholine and pneumococcal C polysaccharide. *J Immunol.* 2002; 169(6):3217-3222.

Alcantara RB, Preheim LC, Gentry-Nielsen MJ. Pneumolysin-induced complement depletion during experimental pneumococcal bacteremia. *Infect Immun.* 2001; 69(6):3569-3575.

Barichello T, dos Santos I, Savi GD, Simões LR, Generoso JS, Comim CM, Sachs D, Teixeira AL, Quevedo J. Depressive-like-behavior and pro-inflammatory interleukine levels in the brain of rats submitted to pneumococcal meningitis. *Brain Res Bull.* 2010b; 82(5-6):243-346.

Barichello T, dos Santos I, Savi GD, Simoes LR, Silvestre T, Comim CM, Sachs D, Teixeira MM, Teixeira AL, Quevedo J. TNF-alpha, IL-1beta, IL-6, and cinc-1 levels in rat brain after meningitis induced by *Streptococcus pneumoniae*. *J Neuroimmunol.* 2010a; 221(1-2):42-45.

Barichello T, Generoso JS, Collodel A, Moreira AP, Almeida SM. Pathophysiology of acute meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* and adjunctive therapy approaches. *Arq Neuropsiquiat.* 2012;70(5):366-372.

Barichello T, Generoso JS, Simões LR, Elias SG, Quevedo J. Role of oxidative stress in the pathophysiology of pneumococcal meningitis. *Oxid Med Cell Longev*. 2013; 7.

Barichello T, Silva GZ, Generoso JS, Savi GD, Michelon CM, Feier G, Comim CM, Quevedo J. Time-dependent behavioural recovery after pneumococcal meningitis in rats. *J Neural Transm*. 2010c; 117(7):819-826.

Bergmann S, Lang A, Rohde M, Agarwal V, Rennemeier C, Grashoff C, Preissner KT, Hammerschmidt S. Integrin-linked kinase is required for vitronectin-mediated internalization of *Streptococcus pneumoniae* by host cells. *J Cell Sci*. 2009; 122(2):256-267.

Bernhagen J, Calandra T, Cerami A, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor is a neuroendocrine mediator of endotoxemia. *Trends Microbiol*. 1994; 2(6):198-201.

Bifrare YD, Gianinazzi C, Imboden H, Leib SL, Tauber MG. Bacterial meningitis causes two distinct forms of cellular damage in the hippocampal dentate gyrus in infant rats. *Hippocampus*. 2003; 13(4):481-488.

Biron CA. Cytokines in the generation of immune responses to, and resolution of, virus infection. *Curr Opin Immunol*. 1994; 6(4):530-538.

Bluthé RM, Layé S, Michaud B, Combe C, Dantzer R, Parnet P. Role of interleukin-1 beta and tumour necrosis factor alpha in lipopolysaccharide-induced sickness behaviour: a study with interleukin-1 type I receptor-deficient mice. *Eur J Neurosci*. 2000; 12(12):4447-4456.

Bogaert D, Engelen MN, Timmers-Reker AJ, Elzenaar KP, Peerbooms PG, Coutinho RA, de Groot R, Hermans PW. Pneumococcal carriage in children in The Netherlands: a molecular epidemiological study. *J Clin Microbiol*. 2001; 39(9):3316-3320.

Boka G, Anglade P, Wallach D, Javoy-Agid F, Agid Y, Hirsch EC. Immunocytochemical analysis of tumor necrosis factor and its receptors in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 1994; 172(1-2):151-154.

Bozza M, Satoskar AR, Lin G, Lu B, Humbles AA, Gerard C, David JR. Targeted of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis. *J Exp Med*. 1999; 189(2):341-346.

Brandt CT, Lundgren JD, Frimodt-Moller N, Christensen T, Benfield T, Espersen F, Hougaard DM, Ostergaard C. Blocking of leukocyte accumulation in the cerebrospinal fluid augments bacteremia and increases lethality in experimental pneumococcal meningitis. *J Neuroimmunol*. 2005; 166(1-2):126-131.

Brandt CT. Experimental studies of pneumococcal meningitis. *Dan Med Bull*. 2010; 57(1):B4119.

Braun JS, Sublett JE, Freyer D, Mitchell TJ, Cleveland JL, Tuomanen EI, Weber JR. Pneumococcal pneumolysin and H₂O₂ mediate brain cell apoptosis during meningitis. *J Clin Invest*. 2002; 109(1):19-27.

Brietzke E, Kapczinski F. TNF- α as a molecular target in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008; 32(6):1355-1361.

Brivet FG, Jacobs FM, Megarbane B. Cerebral output of cytokines in patients with pneumococcal meningitis. *Crit Care Med*. 2005; 33(2):2721-2722.

Brown DH, Sheridan J, Pearl D, Zwilling BS. Regulation of mycobacterial growth by the hypothalamus-pituitary-adrenal axis: differential responses of *Mycobacterium bovis* BCG-resistant and-susceptible mice. *Infect Immun*. 1993; 61(11):4793-4800.

Brown DH, Zwilling BS. Activation of the hypothalamicpituitary-adrenal axis differentially affects the anti-mycobacterial activity of macrophages from BCG-resistant and susceptible mice. *J Neuroimmunol*. 1994; 53(2):181-187.

Burnaugh AM, Frantz LJ, King SJ. Growth of *Streptococcus pneumoniae* on human glycoconjugates is dependent upon the sequential activity of bacterial exoglycosidases. *J Bacteriol*. 2008; 190(1):221-230.

Carlos TM, Harlan JM. Leucocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood*. 1994; 84(7):2068-2101.

Carroll BJ, Feinberg M, Greden JF, Tarika J, Albala AA, Haskett RF, James NM, Kronfol Z, Lohr N, Steiner M, De Vigne JP, Young E. A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia, standardization, validation, and clinical utility. *Arch Gen Psychiatry*. 1981; 38(1):15-22.

Chen CJ, Lin CL, Chen YC, Wang CW, Chiu CH, Lin TY, Huang YC. Host and microbiologic factors associated with mortality in Taiwanese children with invasive pneumococcal diseases, 2001 to 2006. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009; 63(2):194-200.

Claus DR, Siegel J, Petras K, Osmand AP, Gewurz H. Interactions of C-reactive protein with the first component of human complement. *J Immunol*. 1977; 119(1):187-192.

Coimbra RS, Voisin V, De Saizieu AB, Lindberg R, Wittwer M, Leppert D, Leib SL. Gene expression in cortex and hippocampus during acute pneumococcal meningitis. *BMC Biol*. 2006; 4:15.

Comim CM, Cassol Jr OJ, Constantino LC, Petronilho F, Constantino LS, Stertz L, Kapczinski F, Barichello T, Quevedo J, Dal-Pizzol F. Depressive-like parameters in sepsis survivor rats. *Neurotox Res*. 2010; 17(3):279-286.

Cundell DR, Gerard NP, Gerard C, Idanpaan-Heikkila I, Tuomanen EI. *Streptococcus pneumoniae* anchor to activate human cells by the receptor for platelet-activating factor. *Nature*. 1995; 377(6548):435-438.

Dantzer R. Innate immunity at the forefront of psychoneuroimmunology. *Brain Behav Immun*. 2004; 18(1):1-6.

Dantzer R. Cytokine, sickness behavior, and depression. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2009; 29(2):247-264.

Davis KM, Akinbi HT, Standish AJ, Weiser JN. Resistance to mucosal lysozyme compensates for the fitness deficit of peptidoglycan modifications by *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS Pathog*. 2008; 4(12):e1000241.

Der-Avakian A, Markou A. The neurobiology of anhedonia and other reward-related deficits. *Trends Neurosci.* 2012; 35(1):68-77.

Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4 (DSM-IV). Washington, D.C: American Psychiatric Association; 1994. p. 327-386.

Duman RS. Depression: a case of neuronal life and death? *Biol Psychiatry.* 2004; 56(3):140-145.

Elm C, Braathen R, Bergmann S, Frank R, Vaerman JP, Kaetzel CS, Chhatwal GS, Johansen FE, Hammerschmidt S. Ectodomains 3 and 4 of Human Polymeric Immunoglobulin Receptor (hpIgR) Mediate Invasion of *Streptococcus pneumoniae* into the Epithelium. *J Biol Chem.* 2004; 279(8):6296-6304.

El-Rachkidy RG, Davies NW, Andrew PW. Pneumolysin generates multiple conductance pores in the membrane of nucleated cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;368(3):786-792.

Evans D, Charney D, Lewis L, Golden RN, Gorman JM, Krishnan KR, Nemeroff CB, Bremner JD, Carney RM, Coyne JC, Delong MR, Frasur-Smith N, Glassman AH, Gold PW, Grant I, Gwyther L, Ironson G, Johnson RL, Kanner AM, Katon WJ, Kaufmann PG, Keefe FJ, Ketter T, Laughren TP, Leserman J, Lyketsos CG, McDonald WM, McEwen BS, Miller AH, Musselman D, O'Connor C, Petitto JM, Pollock BG, Robinson RG, Roose SP, Rowland J, Sheline Y, Sheps DS, Simon G, Spiegel D, Stunkard A, Sunderland T, Tibbits P, Valvo WJ. Mood disorders in medically ill: scientific review and recommendations. *Biol Psychiatry.* 2005; 58(3):175-89.

Feldman C, Mitchell TJ, Andrew PW, et al. The effect of *Streptococcus pneumoniae* pneumolysin on human respiratory epithelium in vitro. *Microb Pathog.* 1990; 9(4):275-284.

Ferrando SJ, Freyberg Z. Neuropsychiatric aspects of infectious diseases. *Crit Care Clin.* 2008; 24(4):889-919.

Frazer A, Benmansour S. Delayed pharmacological effects of antidepressants. *Mol Psychiatry.* 2002; 1:S23-28.

Freyer D, Manz R, Ziegenhorn A, Weih M, Angstwurm K, Docke WD, Meisel A, Schumann RR, Schönfelder G, Dirnagl U, Weber JR. Cerebral endothelial cells release TNF- α after stimulation with cell walls of *Streptococcus pneumoniae* and regulate inducible nitric oxide synthase and ICAM-1 expression via autocrine loops. *J Immunol.* 1999; 163(8):4308-4314.

Gamaro GD, Manoli LP, Torres IL, Silveira R, Dalmaz C. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochem Int.* 2003; 42(2):107-114.

Geldhoff M, Mook-Kanamori BB, Van de Beek D. Macrophage migration inhibitory factor, infection, the brain and corticosteroids. *Crit Care.* 2009; 13(4):170.

Goldman L, Ausiello D. *Cecil Medicina.* Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

Grandgirard D, Schurch C, Cottagnoud P, Leib SL. Prevention of brain injury by the nonbacteriolytic antibiotic daptomycin in experimental pneumococcal meningitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007b; 51(6):2173-2178.

Grandgirard D, Steiner O, Tauber MG, Leib SL. An infant mouse model of brain damage in pneumococcal meningitis. *Acta Neuropathol.* 2007a; 114(6):609-617.

Hament JM, Van Dijk H, Fleer A, Aerts PC, Schoenmakers M, de Snoo MW, Dekker BH, Kimpen JL, Wolfs TF. Pneumococcal immune adherence to human erythrocytes. *Eur J Clin Invest.* 2003; 33(2):169-175.

Hammerschmidt S, Wolff S, Hocke A, Rosseau S, Müller E, Rohde M. Illustration of pneumococcal polysaccharide capsule during adherence and invasion of epithelial cells. *Infect Immun.* 2005;73(8):4653-4667.

Hammerschmidt S. Adherence molecules of pathogenic pneumococci. *Curr Opin Microbiol.* 2006; 9(1):12-20.

Han X, Tong J, Zhang J, Farahvar A, Wang E, Yang J, Samadani U, Smith DH, Huang JH. Imipramine treatment improves cognitive

outcome associated with enhanced hippocampal neurogenesis after traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma*. 2011; 28(6):995-1007.

Hanamsagar R, Hanke ML, Kielian T. Toll-like receptor (TLR) and inflammasome actions in the central nervous system. *Trends Immunol*. 2012; 33(7):333-342.

Hanke ML, Angle A, Kielian T. MyD88-Dependent Signaling Influences Fibrosis and Alternative Macrophage Activation during *Staphylococcus aureus* Biofilm Infection. *PLoS One*. 2012; 7(8):e42476.

Hanke ML, Kielian T. Toll-likereceptors in health and disease in the brain: mechanisms and therapeutic potential. *Clin Sci (Lond)*. 2011; 121(9):367-387.

Hanna S, Etzioni A. Leukocyte adhesion deficiencies. *Ann N Y Acad Sci*. 2012; 1250:50-55.

Hoge CW, Reichler MR, Dominguez EA, Bremer JC, Mastro TD, Hendricks KA, Musher DM, Elliott JA, Facklam RR, Breiman RF. An epidemic of pneumococcal disease in an overcrowded, inadequately ventilated jail. *N Engl J Med*. 1994; 331(10):643-648.

Hoogman M, van de Beek D, Weisfelt M, Gans J, Schmand B. Cognitive outcome in adults after bacterial meningitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007; 78(19):1092-1096.

Ihekweazu C, Basarab M, Wilson D, Oliver I, Dance D, George R, Pebody. Outbreaks of serious pneumococcal disease in closed settings in the post-antibiotic era: a systematic review. *J Infect*. 2010; 61(1):21-27.

Iosif RE, Ekdahl CT, Ahlenius H, Pronk CJ, Bonde S, Kokaia Z, Jacobsen SE, Lindvall O. Tumor necrosis factor receptor 1 is a negative regulator of progenitor proliferation in adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci*. 2006; 26(38):9703-9712.

Irazuzta J, Pretzlaff RK, DeCourten-Myers G, Zemlan F, Zingarelli, B. Dexamethasone decreases neurological sequelae and caspase activity. *Intensive Care Med*. 2005; 31(1):146-150.

Irazuzta JE, de Courten-Myers G, Zemlan FP, Bekkedal MY, Rossi J, 3rd. Serum cleaved Tau protein and neurobehavioral battery of tests as markers of brain injury in experimental bacterial meningitis. *Brain Res.* 2001; 913(1):95-105.

Irazuzta JE, Mirkin LD, Zingarelli B. Mercaptoethylguanidine attenuates inflammation in bacterial meningitis in rabbits. *Life Sci.* 2000; 67 (4):365-372.

Irazuzta JE, Pretzlaff RK, Zingarelli B, Xue V, Zemlan F. Modulation of nuclear factor-kappaB activation and decreased markers of neurological injury associated with hypothermic therapy in experimental bacterial meningitis. *Crit Care Med.* 2002; 30(11):2553-2559.

Irwin CR, Schor SL, Ferguson MW. Effects of cytokines on gingival fibroblasts in vitro are modulated by the extracellular matrix. *J Periodontal Res.* 1994; 29(5):309-317.

Janicki-Deverts D, Cohen S, Doyle WJ, Turner RB, Treanor JJ. Infection-induced proinflammatory cytokines are associated with decreases in positive affect, but not increases in negative affect. *Brain Behav Immun.* 2007; 21(3):301-307.

Jarskog LF, Xiao H, Wilkie MB, Lauder JM, Gilmore JH. Cytokine regulation of embryonic rat dopamine and serotonin neuronal survival in vitro. *Int J Dev Neurosci.* 1997; 15(6):711-716.

Jarva H, Jokiranta TS, Würzner R, Meri S. Complement resistance mechanisms of streptococci. *Mol Immunol.* 2003; 40(2-4):95-107.

Kadioglu A, Weiser JN, Paton JC, Andrew PW. The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and disease. *Nat Rev Microbiol.* 2008;6(4):288-301.

Kastenbauer S, Koedel U, Becker BF, Pfister HW. Oxidative stress in bacterial meningitis in humans. *Neurology.* 2002; 58(2):186-1991.

Kastenbauer S, Koedel U, Pfister HW. Role of peroxynitrite as a mediator of pathophysiological alterations in experimental pneumococcal meningitis. *J Infect Dis.* 1999; 180(4):1164-1170.

Kaster MP, Gadotti VM, Calixto JB, Santos AR, Rodrigues AL. Depressive-like behavior induced by tumor necrosis factor- α in mice. *Neuropharmacology*. 2012; 62(1):419-426.

Katz RJ. Animal models and human depressive disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. 1981; 5(2):231-246.

Kawai T, Akira S. Signaling to NF-kappaB by Toll-like receptors. *Trends Mol Med*. 2007; 13(11):460-469.

Kenneth NS, Mudie S, Naron S, Rocha S. TFR1 interacts with the IKK complex and is involved in IKK-NF-kappaB signalling. *Biochem J*. 2013; 449(1):275-284.

Kersse K, Bertrand MJ, Lamkanfi M, Vandenabeele P. NOD-like receptors and the innate immune system: coping with danger, damage and death. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2011; 22(5-6):257-276.

Khairova RA, Machado-Vieira R, Du J, Manji HK. A potential role for pro-inflammatory cytokines in regulating synaptic plasticity in major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2009; 12(4):561-578.

Kim KS. Mechanisms of microbial traversal of the blood-brain barrier. *Nat Rev Microbiol*. 2008; 6(8):625-634.

Kim KS. Microbial translocation of the blood-brain barrier. *Int J Parasitol*. 2006; 36(5):607-614.

Kim Y, Jung H, Mynt A, Kim H, Park S. Imbalance between pro-inflammatory cytokines in bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2007; 104(1-3):91-95.

Kim YS, Sheldon RA, Elliott BR, Liu Q, Ferriero DM, Tauber MG. Brain injury in experimental neonatal meningitis due to group B streptococci. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1995; 54(4):531-539.

King SJ, Hippe KR, Weiser JN. Deglycosylation of human glycoconjugates by the sequential activities of exoglycosidases expressed by *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol*. 2006; 59(3):961-974.

Kitamura Y, Doi M, Kuwatsuka K, Onoue Y, Miyazaki I, Shinomiya K, Koyama T, Sendo T, Kawasaki H, Asanuma M, Gomita Y. Chronic treatment with imipramine and lithium increases cell proliferation in the hippocampus in adrenocorticotrophic hormone-treated rats. *Biol Pharm Bull.* 2011; 34(1):77-81.

Klein M, Koedel U, Pfister HW. Oxidative stress in pneumococcal meningitis: a future target for adjunctive therapy? *Prog Neurobiol.* 2006; 80(6):269-280.

Koedel U, Bayerlein I, Paul R, Sporer B, Pfister HW. Pharmacologic interference with NF-kappaB activation attenuates central nervous system complications in experimental pneumococcal meningitis. *J Infect Dis.* 2000; 182(5):1437-1445.

Koedel U, Pfister HW. Oxidative stress in bacterial meningitis. *Brain Pathol.* 1999; 9(1):57-67.

Koj A. Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. *Biochim Biophys Acta.* 1996; 1317(2): 84-94.

Koppe U, Suttorp N, Opitz B. Recognition of *Streptococcus pneumoniae* by the innate immune system. *Cell Microbiol.* 2012; 14(4):460-466.

Kostrzynska M, Wadstrom T. Binding of laminin, type IV collagen, and vitronectin by *Streptococcus pneumoniae*. *Zentralbl Bakteriol.* 1992; 277(1):80-83.

Krishnan V, Nestles EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature.* 2008; 455(7215):894-902.

Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry.* 2000; 157(5):683-694.

Leib SL, Kim YS, Chow LL, Sheldon RA, Tauber MG. Reactive oxygen intermediates contribute to necrotic and apoptotic neuronal injury in an infant rat model of bacterial meningitis due to group B streptococci. *J Clin Invest.* 1996; 98(11):2632-2639.

Li J, Glover DT, Szalai AJ, Hollingshead SK, Briles DE. PspA and PspC minimize immune adherence and transfer of pneumococci from erythrocytes to macrophages through their effects on complement activation. *Infect Immun*. 2007; 75(12):5877-5885.

Ling ZD, Potter ED, Lipton JW, Carvey PM. Differentiation of mesencephalic progenitor cells into dopaminergic neurons by cytokines. *Exp Neurol*. 1998; 149(2):411-423.

Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*. 2000; 20(24):9104-9110.

Malberg JE. Implications of adult hippocampal neurogenesis in antidepressant action. *J Psychiatry Neurosci*. 2004; 29(3):196-205.

Malipiero U, Koedel U, Pfister HW, Levéen P, Bürki K, Reith W, Fontana A. TGF-beta receptor II gene deletion in leucocytes prevents cerebral vasculitis in bacterial meningitis. *Brain*. 2006; 129(9):2404-2415.

Malley R, Henneke P, Morse SC, Cieslewicz MJ, Lipsitch M, Thompson CM, Kurt-Jones E, Paton JC, Wessels MR, Golenbock DT. Recognition of pneumolysin by Toll-like receptor 4 confers resistance to pneumococcal infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100(4):1966-1971.

Marques AH, Cizza G, Sternberg E. Brain-immune interactions and implications in psychiatric disorders. *Rev Bras Psiquiatria*. 2007; 29(1):27-32.

Martner A, Dahlgren C, Paton JC, Wold A. Pneumolysin released during *Streptococcus pneumoniae* autolysis is a potent activator of intracellular oxygen radical production in neutrophils. *Infect Immun*. 2008; 76 (9):4079-4087.

McNeela EA, Burke A, Neill DR, Baxter C, Fernandes VE, Ferreira D, Smeaton S, El-Rachkidy R, McLoughlin RM, Mori A, Moran B, Fitzgerald KA, Tschopp J, Pétrilli V, Andrew PW, Kadioglu A, Lavelle EC. Pneumolysin activates the NLRP3 inflammasome and promotes

proinflammatory cytokines independently of TLR4. PLoS Pathog. 2010; 6(11):e1001191.

Mikova O, Yakimova R, Bosmans E, Kenis G, Maes M. Increased serum tumor necrosis factor alpha concentrations in major depression and multiple sclerosis. Eur Neuropsychopharmacol. 2001; 11(3):203-208.

Ministério da Saúde (Brasil). Portal da saúde. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idxt=37811>. Acesso em Fevereiro de 2013.

Mitchell AM, Mitchell TJ. *Streptococcus Pneumoniae*: Virulence Factors And Variation. Clin Microbiol Infec. 2010; 16(5):411-418.

Mitchell L, Smith SH, Braun JS, Herzog KH, Weber JR, Tuomanen EI. Dual phases of apoptosis in pneumococcal meningitis. J Infect Dis. 2004; 190(11):2039-2046.

Mook-Kanamori BB, Geldhoff M, Van der Poll T, Van de Beek D. Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis. Clin Microbiol Ver. 2011; 24(3):557-591.

Mulla A, Buckingham JC. Regulation of the hypothalamopituitary-adrenal axis by cytokines. Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 1999; 13(4):503-521.

Nau R, Soto A, Bruck W. Apoptosis of neurons in the dentate gyrus in humans suffering from bacterial meningitis. J Neuropathol Exp Neurol. 1999; 58(3):265-274.

Nelson AL, Roche AM, Gould JM, Chim K, Ratner AJ, Weiser JN. Capsule enhances pneumococcal colonization by limiting mucus-mediated clearance. Infect. Immun. 2007; 75(1):83-90.

Optiz B, Puschel A, Schmeck B, Hocke AC, Rosseau S, Hammerchimdt S, Schumann RR, Suttorp N, Hippenstil S. Nucleotide-binding oligomerization domain proteins are innate immune receptors for internalized *Streptococcus pneumoniae*. J Biol Chem. 2004; 279(35):36426-36432.

Papp M, Willner P, Muscat R. An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacology (Berl)*. 1991; 104(2):255-259.

Paterson GK, Mitchell J. Innate immunity and the pneumococcus. *Microbiology*. 2006; 152(2):285-293.

Pfister HW, Koedel U, Paul R. Acute meningitis. *Curr Infect Dis Rep*. 1999; 1:153-159.

Polfliet MM, Zwijnenburg PJ, van Furth AM, van der Poll T, Dopp EA, Renardel de Lavalette C, van Kesteren-Hendrikx EM, van Rooijen N, Dijkstra CD, van den Berg TK. Meningeal and perivascular macrophages of the central nervous system play a protective role during bacterial meningitis. *J Immunol*. 2001; 167(8):4644-4650.

Potter ED, Ling ZD, Carvey PM. Cytokine-induced conversion of mesencephalic-derived progenitor cells into dopamine neurons. *Cell Tissue Res*. 1999; 296(2):235-46.

Proell M, Gerlic M, Mace PD, Reed JC, Riedl SJ. The CARD plays a critical role in ASC foci formation and inflammasome signaling. *Biochem J*. 2012; 449(3):613-621.

Raison CL, Capuron L, Miller A. Cytokines sing the blues: inflammation and pathogenesis of depression. *Trends Immunol*. 2006; 27(1):24-31.

Rang HP, Ritter JM, Dale MM. *Farmacologia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

Riordan FA, Thomson AP, Ratcliffe JM, Sills JA, Diver MJ, Hart CA. Admission cortisol and adrenocorticotrophic hormone levels in children with meningococcal disease: evidence of adrenal insufficiency? *Crit Care Med*. 1999; 27(10):2257-2261.

Rosenow C, Ryan P, Weiser JN, Johnson S, Fontan P, Ortqvist A, Masure HR. Contribution of novel choline-binding proteins to adherence, colonization and immunogenicity of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol*. 1997; 25(5):819-829.

Sammut S, Goodall G, Muscat R. Acute interferon-alpha administration modulates sucrose consumption in the rat. *Psychoneuroendocrinology*. 2001; 26(3):261-272.

Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev*. 2000; 21(1):55-89.

Scheld WM, Koedel U, Nathan B, Pfister HW. Pathophysiology of bacterial meningitis: mechanism(s) of neuronal injury. *J Infect Dis*. 2002; 186(2):S225-S233.

Schiepers O, Whichers M, Maes M. Cytokines and major depression. *Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005; 29(2):201-17.

Schrocksadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin Chim Acta*. 2006; 364(1-2):82-90.

Sellner J, Grandgirard D, Gianinazzi C, Landmann RM, Leib SL. Effects of Toll-like receptor 2 agonist Pam(3)CysSK(4) on inflammation and brain damage in experimental pneumococcal meningitis. *J Neuroimmunol*. 2009; 206(1-2):28-31.

Sellner J, Tauber MG, Leib SL. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial CNS infections. *Handb Clin Neurol*. 2010; 96:1-16.

Shoma S, Tsuchiya K, Kawamura I, Nomura T, Hara H, Uchiyama R, Daim S, Mitsuyama M. Critical involvement of pneumolysin in production of interleukin-1alpha and caspase-1-dependent cytokines in infection with *Streptococcus pneumoniae* in vitro: a novel function of pneumolysin in caspase-1 activation. *Infect Immun*. 2008; 76(4):1547-1557.

Siegel J, Rent R, Gewurz H. Interactions of C-reactive protein with the complement system. I. Protamine-induced consumption of complement in acute phase sera. *J Exp Med*. 1974; 140(3):631-647.

Silva P. *Farmacologia*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

Sury MD, Agarinis C, Widmer HR, Leib SL, Christen S. JNK is activated but does not mediate hippocampal neuronal apoptosis in experimental neonatal pneumococcal meningitis. *Neurobiol Dis.* 2008; 32(1):142-150.

Szabo C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicol Lett.* 2003; 140-141:105-112.

Tato CM, Hunter CA. Host-pathogen interactions: subversion and utilization of the NF-kappa B pathway during infection. *Infect Immun.* 2002; 70(7):3311-3317.

Tuomanen E. Modulation of inflammation in bacterial meningitis. *Isr J Med Sci.* 1994; 30(5-6):339-341.

Van Amersfoort ES, Van Berkel TJ, Kuiper J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16(3): 379-414.

Van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med.* 2004; 351(18):1849-1859.

Van der Flier M, Chhun N, Wizemann TM, Min J, McCarthy JB, Tuomanen EI. Adherence of *Streptococcus pneumoniae* to immobilized fibronectin. *Infect Immun.* 1995; 63(11):4317-4322.

Van der Poll T, Opal SM. Pathogenesis, treatment and prevention of pneumococcal pneumonia. *Lancet.* 2009; 374(9700):1543-1556.

Van Woensel JB, Biezeveld MH, Anders AM, Eerenberg AJ, Endert E, Hack EC, Von Rosenstiel IA, Luijckers TW. Adrenocorticotropic hormone and cortisol levels in relation to inflammatory response and disease severity in children with meningococcal disease. *J Infect Dis.* 2001; 184(12):1532-1537.

Vianna MR, Alonso M, Viola H, Quevedo J, de Paris F, Furman M, de Stein ML, Medina JH, Izquierdo I. Role of hippocampal signaling pathways in long-term memory formation of a nonassociative learning task in the rat. *Learn Mem.* 2000; 7(5):333-40.

Volanakis JE, Kaplan MH. Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proc Soc Exp Biol. Med* 1971; 136(2):612–614.

Von Bernuth H, Picard C, Jin Z, Pankla R, Xiao H, Ku CL, Chrabieh M, Mustapha IB, Ghandil P, Camcioglu Y, Vasconcelos J, Sirvent N, Guedes M, Vitor AB, Herrero-Mata MJ, Arostegui JI, Rodrigo C, Alsina L, Ruiz-Ortiz E, Juan M, Fortuny C, Yague J, Anton J, Pascal M, Chang HH, Janniere L, Rose Y, Garty BZ, Chapel H, Issekutz A, Marodi L, Rodriguez-Gallego C, Banchereau J, Abel L, Li X, Chaussabel D, Puel A, Casanova JL. Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency. *Science*. 2008; 321(5889):691-696.

Wang JW, David DJ, Monckton JE, Battaglia F, Hen R. Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *J Neurosci*. 2008; 28(6):1374-1384.

Webster JI, Tonelli L, Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of immunity. *Annu Rev Immunol*. 2002; 20:125-163.

Webster JI, Sternberg EM. Role of the hypothalamic-pituitary- adrenal axis, glucocorticoids and receptors in toxic sequelae of exposure to bacterial and viral products. *J Endocrinol*. 2004; 181(2):207-221.

Weiser JN, Bae D, Fasching C, Scamurra RW, Ratner AJ, Janoff EN. Antibody-enhanced pneumococcal adherence requires IgA1 protease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100(7):4215-4220.

Weisfeld M, de Gans J, van der Poll T, van de Beek D. Pneumococcal meningitis in adults: new approaches to management and prevention. *Lancet Neurol*. 2006; 5(4):332-342.

Wichers MC, Koek GH, Robaey G, Verkerk R, Scharpe S, Maes M. IDO and interferon-alpha-induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity. *Mol Psychiatry*. 2005; 10(6):538-544.

Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987; 93(3):358-364.

Yang K, Xie G, Zhang Z, Wang C, Li W, Zhou W, Tang Y. Levels of serum interleukin (IL)-6, IL-1 beta, tumor necrosis factor-alpha and leptin and their correlation in depression. *Aust NZ J Psychiatry*. 2007; 41(3):266-273.

You Q, Karrow NA, Cao H, Rodriguez A, Mallard BA, Boermans HJ. Variation in the ovine cortisol response to systemic bacterial endotoxin challenge is predominantly determined by signalling within the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008; 230(1):1-8.

Zhang JR, Mostov KE, Lamm ME, Nanno M, Shimida S, Ohwaki M, Tuomanen E. The polymeric immunoglobulin receptor translocates pneumococci across human nasopharyngeal epithelial cells. *Cell*. 2000; 102(6):827-837.