

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

NAPOLEÃO CHIARAMONTE SILVA

**SEPSE COMO FATOR DE RISCO PARA O
DESENVOLVIMENTO DE TRANSTORNOS PSIQUIÁTRICOS
EM MODELOS ANIMAIS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do grau de doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. João Quevedo
Co orientador: Prof. Dr. Felipe Dal-Pizzol
Co orientador: Profa. Dra. Clarissa M. Comim

CRICIÚMA, JANEIRO DE 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S586s Silva, Napoleão Chiaramonte.

Sepse como fator de risco para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos em modelos animais / Napoleão Chiaramonte ; orientador : João Luciano de Quevedo ; coorientadores: Felipe Dal-Pizzol, Clarissa M. Comim. – Criciúma, SC : Ed. do Autor, 2015.

96 p. : il. ; 21 cm.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2015.

1. Sepse. 2. Esquizofrenia. 3. Transtornos psicóticos. 4. Psicose maníaco-depressiva. 5. Depressão. I. Título.

CDD 22. ed. 616.944



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 Tese de DOUTORADO apresentada pelo candidato **Napoleão Chiaramonte Silva** sob o título “**A sepse como fator de risco para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos em um modelo animal**”, para obtenção do grau de **DOUTOR 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 o candidato, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Tese, com conceito C .

Criciúma, SC, 22 de janeiro de 2015.

Prof. Dr. PAULO CÉSAR LOCK SILVEIRA

Membro Relator - UNESC

Prof.ª Dra. JOSIANE BUDNI

Membro Interno - UNESC

Prof. Dr. ALEXANDRE DAL-BÓ

Membro Externo - UNESC

Prof. Dr. DANIEL FERNANDES MARTINS

Membro Externo - UNISUL

Prof. Dr. Cláudio Teodoro de Souza

Representante do Orientador

João Luciano de Quevedo

Prof. Dr. Cláudio Teodoro de Souza

Coordenador do PPGCS

Folha informativa

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

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Neurociências e de Fisiopatologia do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto do Universo, pelo dom da Vida.

Aos meus pais in memoriam, Emilia e Tácito pelas lições de vida.

À minha família, em especial à minha esposa Maria Inês, meus filhos Bruno, Fábio e Felipe pelo incentivo e estímulo.

Ao meu orientador, Prof. João Quevedo que me fez acreditar que nunca é tarde para começar.

A Dra Clarissa Martineli Comim Cassol, minha coorientadora, pela gentileza, carinho, disposição, presença e paciência.

Ao Prof Felipe dal- Pizzol, meu coorientador, pelos ensinamentos e amizade.

A Doutoranda Bruna Pescador Mendonça, por seu desprendimento, ajuda incansável e preciosa.

A UNESC e ao PPGCS pela oportunidade.

Aos meus professores pelas lições e aprendizado.

Aos meus colegas de doutorado pela convivência fraterna e amizade.

MUITO OBRIGADO A TODOS.

RESUMO

Sepse é definida como a síndrome da resposta inflamatória sistêmica em resposta a uma infecção, podendo estar envolvida como fator de risco para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos. No entanto, ainda não está bem esclarecido seu mecanismo fisiopatológico e comportamental. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar animais sépticos submetidos a modelos de transtornos psiquiátricos, como esquizofrenia, depressão e mania, também foram avaliados os níveis de neurotrofinas, dano oxidativo em lipídeos e carbonilação de proteínas em estruturas cerebrais. Também foram avaliados os parâmetros comportamentais tais como a atividade locomotora a interação social, os movimentos estereotipados, a memória aversiva e a anedonia. Neste estudo foram utilizados ratos Wistar machos adultos. Os animais foram submetidos ao modelo de sepsse, através da ligação e perfuração cecal (CLP), em modelo animal de esquizofrenia, através da administração de cetamina intraperitoneal (i.p) em diferentes doses (5; 15; 25mg/kg). No modelo animal de mania, através do protocolo de estresse crônico variado (ECV), já no modelo animal de mania o mesmo foi realizado através da administração de m-AMPH (i.p.) em diferentes doses (0,25; 0,5; 1mg/kg). Nesse estudo verificou-se que os animais submetidos ao modelo animal de sepsse, com a administração de cetamina na dose 25mg/kg, apresentaram aumento na atividade locomotora e aumento no tempo de latência ao primeiro contato no teste de interação social. Na dose de 15mg/kg de cetamina os animais apresentaram aumento nos movimentos estereotipados. Quanto à memória aversiva, os animais administrados com cetamina aprenderam, porém menos, em relação ao grupo controle. Os animais sépticos submetidos ao ECV não mostraram comportamento anedônico. Os animais do grupo CLP quando submetidos ao protocolo de ECV não apresentaram diminuição dos níveis de BDNF, NGF e GDNF em hipocampo. Somente em hipocampo, o ECV diminuiu o dano a proteínas no grupo CLP. Enquanto que os animais submetidos à sepsse, não responderam na dose efetiva de 1mg/kg que induz hiperlocomoção nos animais controles. Observou-se que a dose de 0,25 mg/kg de m-AMPH elevou os níveis de NFG no hipocampo no grupo sham e no grupo CLP. Além disso, a dose de 0,5 mg/kg de m-AMPH no grupo CLP apresentou aumento dos níveis de NGF em hipocampo. A dose de 0,25 e 0,5 mg/kg de m-AMPH apresentou um aumento dos níveis proteicos de GDNF quando

comparados ao grupo CLP que recebeu salina. A dose de 1mg/kg de m-AMPH não aumentou o dano a lipídeos e proteínas nas estruturas avaliadas. As doses de 0,25 e 1 mg/kg de m-AMPH diminuíram o dano a proteínas em estriado. Concluiu-se então, que nesses modelos animais de transtornos psiquiátricos, a sepse, pré dispõe no modelo animal de esquizofrenia somente a alterações comportamentais, enquanto que no transtorno depressivo e na mania isso não ocorreu. Porém em algumas análises bioquímicas, como nos níveis de neurotrofinas sugere-se que a sepse predispõe a estes transtornos.

Palavras chave: Sepse; esquizofrenia; depressão; mania; comportamento; neurotrofinas.

ABSTRACT

Sepsis is defined as a systemic inflammatory response syndrome in response to an infection and may be involved as a risk factor for the development of psychiatric disorders. However, it is not yet well understood its pathophysiological and behavioral mechanism. Therefore, this study aimed to evaluate septic animals in the models of psychiatric disorders such as schizophrenia, depression and mania, assessing the neurotrophin levels, oxidative damage in lipids and protein carbonylation in brain structures and behavior as locomotor activity, social interaction, stereotyped movements, and anhedonia aversive memory. In this study adult male Wistar rats were used. The animals were submitted to the model of sepsis by cecal ligation and puncture (CLP), the animal model of schizophrenia by administration of ketamine intraperitoneally (ip) at different doses (5, 15, 25mg / kg) to the animal model mania, varied by chronic stress protocol (ECV) and the animal model of mania by administration of m-AMPH (ip) at several dose levels (0.25, 0.5, 1 mg / kg). In this study it was found that animals in the animal model of sepsis and administered ketamine at a dose 25 mg / kg showed an increase in locomotor activity and increased latency to first contact in the social interaction test. With the dose of 15 mg / kg ketamine animals showed an increase in stereotyped movements. As for the aversive memory, the animals administered ketamine learned, but less than in the control group. Septic animals submitted to ECV showed no anedônico behavior. The CLP animals when subjected to ECV protocol does not show decreased levels of BDNF, NGF and GDNF in hippocampus. Only in the hippocampus, the ECV decreased the damage to proteins in the CLP group. While the animals subjected to sepsis are not responding to effective dose of 1 mg / kg which induces hyperlocomotion in control animals. It was observed that the dose of 0.25 mg / kg of AMPH-m elevated NGF levels in the hippocampus in sham and CLP. Furthermore, the dose of 0.5 mg / kg of AMPH-m CLP group showed an increase in NGF levels in hippocampus. The dose of 0.25 and 0.5 mg / kg of AMPH-m showed an increase in GDNF protein levels when compared to the group receiving saline PLC. The dose of 1 mg / kg of AMPH-m did not increase the damage to lipids and proteins in the evaluated structure. Doses of 0.25 and 1 mg / kg of AMPH-m damage decreased in the striatum proteins. It was therefore concluded that these animal models of psychiatric disorders, sepsis predisposes the animal model of schizophrenia behaviorally, while depressive disorders

and mania did not occur, though in some chemistries, such as neurotrophin levels, we suggest that sepsis predisposes to these disorders.

Keywords: Sepsis; schizophrenia; depression, mania; behavior; neurotrophins.

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

- APA - Associação Psiquiátrica Americana
- BCL-2 - Proteína linfoma de células (do inglês, B-cell lymphoma protein 2)
- BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês, brain-derived neurotrophic factor)
- BHE - Barreira hematoencefálica
- CaMKII - Cálcio calmodulina quinase II ,(do inglês Calcium calmodulin kinase II)
- CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais
- CLP - Ligação Cecal e Perfuração (do inglês, Cecal Ligation and Puncture)
- CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
- CREB - Proteína ligante ao elemento responsivo ao AMPc
- D- AMPH – Dextroanfetamina (do inglês, dextroamphetamine)
- DARPP-32 - Fosfoproteína regulada por dopamina e monofosfato cíclico de adenosina (do inglês, dopamine and cyclic AMP-regulated phosphoprotein)
- DNA - Ácido desoxirribonucleico
- DNPH - Dinitrofenilidrazina (do inglês, dinitrophenylhydrazine)
- ECV – Estresse crônico variado
- ELISA - Ensaio de imunoabsorção ligado a enzima (do inglês, Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
- ERK – Quinase regulada extracelularmente (do inglês, extracellular regulated kinase)
- GDNF - Fator neurotrófico derivado de células gliais (do inglês, glial cells derived neurotrophic factor)
- GSK-3 – Quinase glicogênio sintase 3 (do inglês, glycogen synthase kinase 3)
- HPA - Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal
- I.M – Intra muscular
- I.P. – Intra traperitoneal
- LPS - Lipopolissacarídeo
- m-AMPH - Metanfetamina (do inglês, methamphetamine)
- MAPK - Proteína quinase ativada por mitógeno (do inglês, mitogen-activated protein kinase)
- NCS-1 - Sensor neuronal de cálcio 1 (do inglês, neuronal calcium sensor)
- NGF - Fator de crescimento do nervo (do inglês, Nerve growth factor)

NO - Óxido nítrico (do inglês, nitric oxide)
OMS - Organização Mundial de Saúde
PAMPs - Padrões moleculares associados a patógenos
PKA - Proteína quinase A (do inglês, protein kinase A)
PKB - Proteína quinase B (do inglês, protein kinase B)
PKC - Proteína quinase C (do inglês, protein kinase C)
PRRs - Receptores de reconhecimento de padrões celulares
SDS-PAGE - Dodecil-sulfato de sódio de poliacrilamida, (do inglês Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide)
SIRS - Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica (do inglês, Systemic Inflammatory Response Syndrome)
SNC - Sistema Nervoso Central
TB - Transtorno Bipolar
TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (do inglês, thiobarbituric acid reactive substances)
TLR - Receptor de tipo Toll
TLR-2 - Receptores Toll do tipo 2
TLR-4 - Receptores Toll tipo 4
TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa (do inglês, Tumor Necrosis Factor-alpha)
UTI - Unidade de Terapia Intensiva

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	23
1.1 SEPSE: DEFINIÇÃO E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	24
1.1.1 <i>Fisiopatologia da Sepses</i>	26
1.2 transtornos psiquiátricos.....	27
1.2.1 <i>Esquizofrenia</i>	28
1.2.2 <i>Depressão</i>	29
1.2.3 <i>Transtorno Bipolar</i>	31
1.3 sepsis e transtornos psiquiátricos.....	31
2. OBJETIVOS.....	33
2.1 GERAL.....	33
2.2 ESPECÍFICOS.....	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1 ASPECTOS ETICOS.....	35
3.2 ANIMAIS.....	35
3.3 DESENHO EXPERIMENTAL.....	35
3.3.1 <i>Protocolo I</i>	35
3.3.2 <i>Protocolos II, III e IV</i>	38
3.3.3 <i>Indução do modelo animal de depressão</i>	41
3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	45
4 RESULTADO.....	46
4.1 EXPERIMENTO 1.....	46
4.1.1 <i>Níveis de neurotrofinas</i>	46
4.1.2 <i>Atividade de DARPP-32 e NCS-1</i>	47
4.2 PROTOCOLO II, III, IV.....	47
4.2.1 <i>Indução ao modelo animal de Esquizofrenia</i>	48
4.2.2 <i>Indução ao modelo animal de Depressão</i>	55
4.2.3 <i>Indução ao modelo animal de Mania</i>	58
5 DISCUSSÃO.....	62
6 CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS.....	72
ANEXOS.....	90

1 INTRODUÇÃO

1.1 SEPSE: DEFINIÇÃO E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A sepse é definida como a síndrome da resposta inflamatória sistêmica em resposta a uma infecção. Essa definição se deu em 1991 na Conferência de Consenso, a fim de estabelecer uma terminologia, tanto para a sepse, como para a bacteremia, para a Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS), para a sepse grave, para o choque séptico e para a síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (Bone et al., 1997).

Em 2001 foi idealizado um novo conceito para a sepse, porém pela inexistência de evidências para apoiar a mudança para esta nova definição, a proposta não obteve sucesso (Levy et al., 2003).

Uma definição mais atualizada foi publicada no consenso Surviving Sepsis Campaign (2012) descrevendo sepse como a presença (suspeita ou documentada) de infecção juntamente com manifestações clínicas de inflamação (Sagy et al., 2013).

Esses esclarecimentos tornaram-se fundamentais para identificar diferentes etapas da sepse. A bacteremia é a presença de bactéria no sangue; SIRS é a resposta sistêmica, manifestando-se com dois ou mais desses sintomas: taquicardia, taquipnéia, hiperventilação, leucocitose ou leucopenia, hipertemia ou hipotermia, esta podendo ser de origem etiológica infecciosa ou não, tais como a pancreatite, as queimaduras e traumas cirúrgicos. Já a sepse grave esta associada à disfunção orgânica, hipoperfusão, hipotensão e alteração aguda do estado mental. O choque séptico é a associação da sepse com a perda de fluido, já a disfunção de múltiplos órgãos estabelece-se quando o organismo não consegue manter a homeostase sem intervenção (Bone et al., 1997; Vincent, 1997).

A identificação e o tratamento devem ser precoces, já que essa síndrome é clinicamente grave, sendo sua prevalência de um a cada 1000 pessoas (Vincent et al., 2000; Widmann e Heneka, 2014).

A sepse constitui a causa mais comum de mortalidade em Unidades de Terapia Intensivas (UTI) não coronárias chegando a taxas de 50-60%, apesar do uso de terapias de reanimação e de medicamentos modernos (Angus et al., 2001; Hotchkiss et al., 2003; Warren). Aproximadamente 25% dos pacientes críticos que necessitam admissão em UTIs apresentam-se com sepse (Brun-Buisson, 2014; Salvo et al., 1995). Interessantemente essa patologia não ocorre somente em países subdesenvolvidos, mas também em países desenvolvidos, já que a incidência nesse último é de 6 a 30% dos pacientes internados,

correspondendo a 2% de todas as internações (Jawad et al., 2012). No Brasil, os gastos com pacientes em UTIs representam aproximadamente 30 a 35% dos gastos globais com a área da saúde (Silva et al., 2004).

O número de incidência cresce continuamente devido ao aumento da expectativa de vida e também ao aumento de pessoas com doenças crônicas (Holub, 2007).

Um estudo realizado por (Semmler et al., 2013) após seis e até 24 meses da internação, sendo 25 pacientes sépticos e 19 pacientes não sépticos sobreviventes de duas UTIs de um hospital universitário, demonstrou que os pacientes sépticos apresentaram déficits cognitivos e redução significativa do volume do hipocampo esquerdo em comparação com os pacientes controles saudáveis.

Um dos componentes principais que envolvem a fisiopatologia da sepse é a exacerbada ativação da resposta imune inata. O papel central do sistema imune inato é documentado pelo aumento dos fatores pró-inflamatórios após a infecção (Mastronardi et al., 2005; Williams et al., 2000; Wong et al., 1996).

Algumas horas após o início da sepse há consequente aumento de citocinas pró-inflamatórias tais como interleucina (IL) 1 β e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e de citocinas antiinflamatórias como IL-10 para o sistema nervoso central (SNC) (Comim et al., 2011; Takala et al., 2002).

A Encefalopatia Séptica ou encefalopatia associada à sepse pode ocorrer entre 8 a 70% dos pacientes sépticos (Sprung et al., 1990; Young et al., 1990), sendo associada a um largo espectro de danos e disfunções cerebrais. Há um aumento da mortalidade, e os sobreviventes à longo prazo apresentam disfunções cognitivas, como o prejuízo da memória e o da atenção (Lamar et al., 2011; Papadopoulos et al., 2000).

A sepse por alterar a permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), podendo deixar o cérebro mais susceptível às doenças neurodegenerativas e aumentar o risco de desenvolver demência ao longo da vida, autores defendem que as consequências da encefalopatia associada à sepse são reversíveis, porém estudos mais recentes defendem o contrário, pelo qual as disfunções neurocognitivas tornam-se irreversíveis (Widmann e Heneka, 2014).

Neste processo, a disfunção da BHE parece ter efeito central, uma vez que permite a passagem para o SNC de endotoxinas parecendo influenciar diversos aspectos do metabolismo cerebral (Sharshar et al., 2003), como a alteração na função de células endoteliais, dos astrócitos, dos neurônios e ainda provocar uma alteração severa nos fluxos diferenciais de numerosas substâncias entre o plasma e o líquido

cefalorraquidiano (Papadopoulos et al., 2000). Adicionalmente, uma vez que a inflamação persiste (principalmente pelo aumento de IL-1 β), há um aumento na excitotoxicidade por glutamato, dano oxidativo e alterações importantes no metabolismo energético, agravando a encefalopatia séptica e contribuindo para a disfunção e a degeneração neuronal (Comim et al., 2010; Streck et al., 2008). Culminado em alterações cognitivas e no comprometimento da qualidade de vida dos pacientes (Iwashyna et al., 2010; Tuon et al., 2008), e de seus familiares, que acabam adicionando uma carga para seu cotidiano, juntamente com os profissionais de saúde que o acompanham (Hurley, 2012).

A disfunção cerebral se dá principalmente pela resposta sistêmica à infecção, e não por uma infecção específica e direta no cérebro, sendo o envolvimento do cérebro um resultado da progressão da sepse (Widmann e Heneka, 2014).

Os sinais e sintomas da sepse por não serem específicos e a sua natureza altamente variável tornam difícil o diagnóstico e a avaliação de sua gravidade (Lever e Mackenzie, 2007).

As causas das infecções são diversas, entre elas estão a pielonefrite, a embolia pulmonar séptica, as pneumonias graves, as úlceras de decúbito infectadas, as infecções intravenosas e as infecções intra-abdominal e pélvica (Cunha, 1998). Estas infecções podem ser causadas por micro organismos tais como: bactérias gram-negativas e gram-positivas, fungos e vírus, sendo que as bactérias gram-positivas e as gram-negativas são consideradas as responsáveis pela maioria dos casos (Vincent, 2000)

Contudo, as causas das consequências, após a sepse, apesar de serem muitas, ainda não estão esclarecidas (Widmann e Heneka, 2014).

1.1.1 Fisiopatologia da Sepse

A sepse é uma doença grave com implicações clínicas severas, sendo definida como uma reação do hospedeiro à infecção caracterizando uma resposta inflamatória sistêmica (Vandijck et al., 2006). É uma síndrome complexa caracterizada por um desequilíbrio entre a resposta pró-inflamatória e anti-inflamatória ao patógeno (Hotchkiss et al., 2003).

A fisiopatologia da sepse está parcialmente esclarecida; como um processo dinâmico, que envolve os componentes do sistema imune (Vincent et al., 2013). Muitos metabólitos têm sido propostos para o desencadeamento da sepse, incluindo produtos liberados a partir de bactérias, assim como produtos de células lesionadas (Dal-Pizzol et al.,

2014). O receptor tipo Toll (TLR) e a sua sinalização tem sido sugerida como uma via fundamental na fisiopatologia da sepse, levando à produção de mediadores inflamatórios (Tsung et al., 2007). A ativação desta via depende da interação entre TLR e seus ligantes, que incluem os derivados de bactérias e produtos derivados do hospedeiro, tais como, componentes da matriz extracelular, da oxidação de lipídeos e de proteínas (Song et al., 2012).

Em resposta ao patógeno durante sua adesão à superfície epitelial, o hospedeiro inicia mecanismos específicos de defesa a fim de evitar a invasão microbiana (Hirst et al., 2004). Como já dito acima, os microrganismos conseguem se ligar a superfície de uma célula, através dos receptores TLR. Receptores Toll do tipo 2 (TLR-2) reagem com a parede celular de bactérias Gram-positiva, dos peptidoglicanos e do ácido lipoteicóico, enquanto receptores Toll tipo 4 (TLR-4) reagem com a forma lipopolissacarídea (LPS) e endotoxinas de bactérias Gram-negativas. Fragmentos celulares tais como LPS e o ácido desoxirribonucleico (DNA) bacteriano, podem induzir uma resposta imune e são conhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), componentes do micro organismo invasor. Estes padrões são reconhecidos pelos receptores de reconhecimento de padrões celulares (PRRs). Ocorrendo nessa fase de reconhecimento celular, várias cascatas intracelulares permitem a ativação de macrófagos, que quando ativados estimulam a produção de mediadores pro-inflamatórios como o TNF- α , a IL-1, e a IL-6, citocinas que estão envolvidas na fisiopatologia da sepse. A IL-6 pode estar muito envolvida na gravidade da sepse, assim como indicadora da ativação da resposta imune inata (Vincent et al., 2013). Em pacientes sobreviventes à sepse, e/ou internados em UTI por um período verificou-se um aumento de IL-6 e hipotrofia hipocampal (Wiersinga et al., 2014). A liberação de citocinas promove a ativação e a adesão de leucócitos, a liberação de vasodilatadores pelo excesso da produção de óxido nítrico (NO), e a um consequente aumento dos danos celulares observados na sepse (Sagy et al., 2013; Wiersinga et al., 2014).

1.2 TRANSTORNOS PSIQUIATRICOS

A Associação Americana de Psiquiatria (APA) em 1953 publicou a primeira edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-I), e em todas as novas publicações foram realizadas novas modificações, a última ocorreu em 2013. Foram anos de estudos de diversos profissionais com o intuito de melhorar o

diagnóstico na clínica, quanto demarcar sua aplicação na pesquisa (Araújo e Neto, 2014).

Estudar sobre transtornos psiquiátricos se faz de suma importância, uma vez que segundo a OMS (2012), o Brasil possui uma taxa de suicídio de 7,3 para os homens por 100.000 habitantes sendo que no sexo feminino essa taxa é de 1,9 por 100.000 habitantes. Enquanto que os transtornos neuropsiquiátricos são estimados em contribuir com 20,3% da carga global dessas doenças, segundo (Hatou, 2014). Pessoas diagnosticadas com transtornos psiquiátricos graves diminuem suas expectativas de vida em média de 10 à 15 anos, além disso esse número está associado a doenças crônicas, tais como doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes, doenças infecciosas (OMS, 2014).

O Departamento de Saúde Mental e Abuso de Substâncias em 2011 fez uma avaliação e encontrou uma taxa de 88.92 por 100.000 habitantes, sendo 35% de mulheres, sendo que 5% eram acima de 18 anos, admitidos em hospitais psiquiátricos, mostrando a admissão de pacientes nesses hospitais. E também o tempo de internação, menos de um ano, entre um ano e cinco anos e mais de cinco anos, sendo 69%, 21% e 11% respectivamente (Hatou, 2014).

1.2.1 Esquizofrenia

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico crônico e grave causado por profundo prejuízo emocional, comportamental e nas funções mentais (Pickard, 2011; Schultz et al., 2007).

Segundo Organização Mundial de Saúde (OMS, 2014) este transtorno psiquiátrico afeta 21 milhões de pessoas em todo mundo, sendo a maioria homens, 12 milhões e mulheres 9 milhões. Estima-se que pessoas com esse tipo de transtorno possuam o risco aumentado em 2 a 2,5 de ir à óbito mais cedo do que a população geral, uma vez que seus hábitos de vida se tornam mais complicados em comparação a pessoas que não possuem esquizofrenia.

No Brasil, estudos mostram que pacientes com esquizofrenia ocupam cerca de 30% dos leitos hospitalares e, portanto, correspondem ao segundo motivo mais frequente de consultas psiquiátricas ambulatoriais (APA, 1994). Os sintomas da esquizofrenia tipicamente surgem durante o final da adolescência e o início da vida adulta e podem variar de acordo com a susceptibilidade do indivíduo. Desta forma, a doença pode evoluir de forma progressiva para a cronicidade, ou pode

exacerbar-se durante o seu curso (Graeff et al., 1986).

Sabe-se que há uma grande contribuição genética para o desencadeamento da doença, porém quando este fator ocorre junto a outros, tais como: nascimento no inverno, idade materna avançada, infecção pré-natal, complicações obstétricas entre outros, o risco para desenvolver esquizofrenia pode ser ampliado (McGrath et al., 2009; Meyer e Feldon, 2010; Schultz et al., 2007). Muitos fármacos estão disponíveis para o tratamento deste transtorno. Este arsenal terapêutico surgiu no século passado, com os fármacos de primeira geração, com quais os pacientes apresentavam muitos efeitos colaterais e, portanto, baixa adesão ao tratamento (Kane e Correll, 2010; Tajima et al., 2009).

Posteriormente, com a introdução de antipsicóticos de segunda geração, gerou-se enorme expectativa de uma maior adesão ao tratamento por parte dos pacientes. Contudo, estudos epidemiológicos mostraram que a não aderência ao tratamento continuou não muito diferente da adesão ao tratamento com os fármacos da primeira geração (Gilmer et al., 2004; Valenstein et al., 2004).

A fisiopatologia completa do transtorno é desconhecida, porém, não há dúvidas da existência de alterações anatômicas e bioquímicas cerebrais em sua gênese (Keshavan et al., 2011). As hipóteses clássicas postulam que a esquizofrenia seria o resultado de uma alteração na função de um ou mais sistemas de neurotransmissores. Os sistemas implicados predominantemente seriam os sistemas dopaminérgico, serotoninérgico, glutamatérgico e adenosinérgico (Boison et al., 2012; Harrison e Weinberger, 2005; Lara et al., 2006; Pickard, 2011). Porém, estas hipóteses não conseguem explicar todo o complexo mecanismo desta patologia, o que tem levado ao estudo de novos mecanismos celulares que estariam envolvidos neste transtorno, tais como: disfunção mitocondrial (Rezin et al., 2009), anormalidade no metabolismo energético (Martins-de-Souza et al., 2009) e no estresse oxidativo (Bitanhirwe e Woo, 2011).

1.2.2 Depressão

A depressão é um dos mais prevalentes transtornos psiquiátricos e estima-se que 121 milhões de pessoas sejam afetadas mundialmente (Sattler e Rothstein, 2007). Além disso, pacientes que sofrem de depressão severa apresentam altas taxas de morbidade e mortalidade, com consequências econômicas e sociais profundas (Nemeroff e Owens, 2002).

A característica essencial do episódio depressivo é a presença de humor deprimido e/ou perda de interesse ou prazer em quase todas as atividades, durante um período de pelo menos duas semanas. Pode-se experimentar alteração do apetite e peso, distúrbio do sono, sentimento de culpa, dificuldade de pensar, falta de energia e ideias suicidas (Nemeroff e Owens, 2002).

O tratamento da depressão baseia-se, principalmente, na teoria monoaminérgica. Esta teoria postula que a depressão é causada por uma deficiência na transmissão de monoaminas (noradrenalina, dopamina e serotonina) no SNC. Dentre as evidências que apoiam esta teoria encontra-se o fato de que diversos fármacos utilizados no tratamento da depressão agem aumentando a concentração de monoaminas na fenda sináptica (Anderson et al., 2008).

Além do sistema monoaminérgico, outros sistemas parecem estar envolvidos na fisiopatologia da depressão, como o sistema glutamatérgico e a via da L-argininaóxido nítrico (LO) (Petrie et al., 2000), o sistema opióide, o sistema GABAérgico, os canais de potássio (K⁺) (Guo et al., 2014; Tytgat et al., 1997) e os canais de cálcio (Galeotti et al., 2006). Além disso, a depressão pode ser desencadeada por alterações nas vias de sinalização que regulam a neuroplasticidade e a sobrevivência celular (cálcio calmodulina cinase II (CaMKII), proteína cinase C (PKC), proteína cinase A (PKA), proteína cinase ativada por mitógeno (MAPK) / cinase regulada por sinal extracelular (ERK), proteína ligante ao elemento responsivo ao AMPc (CREB), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), caspase 3 e 6, proteína antiapoptótica Bcl2, glicogênio sintase cinase 3 (GSK-3) e proteína cinase B (PKB ou Akt) (Dwivedi et al., 2003; Manji et al., 2001), aumento no estresse oxidativo, liberação de citocinas pró-inflamatórias associadas a ativação do sistema imune, aumento nos níveis plasmáticos de glicocorticóides e desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (Perera et al., 2007; Pittenger e Duman, 2008).

Estes estudos sugerem que o sistema monoaminérgico não representa a via final comum na regulação do humor, mas exerce uma influência modulatória. Outros sistemas que estariam regulando a plasticidade neuronal e sináptica teriam importância central na neurobiologia e no tratamento desses transtornos (Sanacora et al., 2008; Zarate e Manji, 2008). Pesquisas atuais procuram buscar um ponto em comum entre todas essas evidências.

1.2.3 Transtorno Bipolar

O Transtorno Bipolar (TB) é um transtorno mental caracterizado por flutuações cíclicas ou mudanças no humor, o qual varia de flutuações normais – com estados de alegria e tristeza – até mudanças patológicas, como episódios de mania, hipomania, depressão e estados mistos (Ketter). O TB é um dos mais graves transtornos mentais, com alto impacto na vida do paciente, da sua família e da sociedade (Namjoshi e Buesching, 2001; Zendjidjian et al., 2012). Segundo a OMS, o TB é a sexta maior causa de incapacitação e o terceiro entre os transtornos psiquiátricos, perdendo apenas para a depressão unipolar e para a esquizofrenia (Murray e Lopez, 1997). O TB apresenta alta comorbidade com outros transtornos mentais, sintomas residuais e baixa adesão aos medicamentos, o que agrava seu prognóstico e eleva os custos com os serviços de saúde. Além disso, para um grande número de pacientes a farmacoterapia existente não é eficaz (Zarate e Manji, 2008)

Está bem descrito na literatura que pacientes com TB apresentam comprometimento cognitivo (Martinez-Aran et al., 2004; Robinson e Ferrier, 2006). Os processos cognitivos que se mostram alterados no TB incluem a função executiva, a memória, a atenção e a cognição social (Hoertnagl et al., 2011).

Inicialmente, os estudos sobre a causa da bipolaridade estavam voltados para as aminas biogênicas, em razão dos efeitos dos agentes psicofarmacológicos. No entanto, evidências recentes mostram que disfunções nos sistemas de sinalização intracelular e de expressão gênica podem estar associadas ao distúrbio bipolar. Essas alterações podem estar envolvidas com interrupções nos circuitos reguladores do humor, como, por exemplo, no sistema límbico (Kapczinski et al., 2004).

Outros estudos demonstram que o transtorno bipolar também pode estar associada a disfunção das mitocôndrias no hipocampo e anormalidades na atividade de complexos da cadeia respiratória mitocondrial e obtenção de energia, podendo levar a degeneração celular ((Frey et al., 2006)FREY et al., 2006).

1.3 SEPSE E TRANSTORNOS PSIQUIATRICOS

Nos últimos anos, vários autores discutiram a participação das doenças infecciosas tanto em neonatos quanto em adultos, para o risco de desenvolvimento de transtornos psiquiátricos. Kraepelin considerou

que “infecções nos anos de desenvolvimento pode ter uma casual importância no desenvolvimento da esquizofrenia (Wright et al., 1999). Crianças internadas por uma infecção bacteriana no SNC entre as idades de 2 e 5 anos encontram quatro vezes maior risco de hospitalização mais tarde para transtornos psiquiátricos como a depressão e a esquizofrenia (Weiser et al., 2010). Menninger, em 1928, em uma sobre as doenças infecciosas e transtornos psiquiátricos, relatou que os casos de meningite aguda, encefalite, febre tifóide, febre recorrente, tifo, gripe, malária, tuberculose, infecções gastrointestinais e septicemia foram frequentemente seguidos por um episódio psiquiátrico agudo transitório. (Rantakallio et al., 1997) num estudo comparando indivíduos com infecção no SNC durante a infância com um grupo controle acompanhados até 27 anos de idade, encontrou um aumento de esquizofrenia no grupo infecção.

Um estudo descreveu que fatores como transtornos psiquiátricos, transtornos neurológicos e imunológicos podem contribuir para a sepse aguda, porém, à longo prazo ainda permanece desconhecida (Widmann e Heneka, 2014).

E como muitos resultados culminam em mortalidade, é interessante estudar, se após a sepse há um aumento do risco para desenvolver transtornos psiquiátricos.

Considerando a grande incidência da sepse e os danos que provoca no sistema SNC, e que infecções na idade adulta podem predispor a doenças psiquiátricas, o presente estudo utilizou um modelo animal de esquizofrenia, depressão e de mania em ratos que tiveram infecção por sepse na fase adulta.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar se a sepse acometida na vida adulta predispõe a doenças psiquiátricas como esquizofrenia, depressão e mania.

2.2 ESPECÍFICOS

- - Avaliação dos níveis proteicos de BDNF e NGF, expressão das proteínas DARPP-32 e NCS-1 em hipocampo e córtex pré-frontal de animais submetidos à sepse;

- Avaliação da atividade locomotora, estereotipia e interação social em ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e administrados com cetamina aos 90 dias de vida;

- Avaliação da anedonia em ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e submetidos a um protocolo de estresse crônico e variado aos 90 dias de vida;

- Avaliação da atividade locomotora em ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e administrados com meta-anfetamina (m-AMPH) aos 90 dias de vida;

- Avaliação do nível de peroxidação lipídica (TBARS) e o nível de carbonilação de proteínas no córtex pré-frontal, estriado e hipocampo de ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e administrados com cetamina aos 90 dias de vida;

- Avaliação do nível de peroxidação lipídica (TBARS) e o nível de carbonilação de proteínas no córtex pré-frontal, amígdala, núcleo accumbens e no hipocampo de ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e submetidos a um protocolo de estresse crônico variado aos 90 dias de vida;

- Avaliação do nível de peroxidação lipídica (TBARS) e o nível de carbonilação de proteínas no córtex pré-frontal, estriado e hipocampo de ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e administrados com m-anfetamina aos 90 dias de vida;

- Avaliação dos níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF em hipocampo de ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e administrados com cetamina com 90 dias;
- Avaliação dos níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF em hipocampo de ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e submetidos a um protocolo de estresse crônico e variado aos 90 dias de vida;
- Avaliação dos níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF em hipocampo de ratos Wistar expostos à sepse com 60 dias e administrados com m-AMPH aos 90 dias de vida;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ETICOS

O estudo foi executado dentro das diretrizes do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal): Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA e Diretriz Brasileira para o cuidado e utilização de animais para fins científicos e didáticos. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense, com os números de protocolos 051-2014-02, 070-2014-02, 041/2013-2, 91/2011, 47/2009.

3.2 ANIMAIS

Foram utilizados neste experimento ratos Wistar machos com idade entre 60 e 65 dias (250-300g), provenientes do Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram acomodados em um número de cinco animais por caixa com temperatura e umidade controladas, aproximadamente 27°C, com variação de $\pm 1^\circ$, com comida e bebida à vontade.

3.3 DESENHO EXPERIMENTAL

Este estudo foi dividido em partes. No primeiro momento foram avaliados os níveis proteicos de DARPP-32, NCS-1, BDNF e NGF, após 12; 24; 48h da sepse (protocolo I). Em outro momento foi avaliado a sepse após 30 dias, e sua pré-disposição a mimetizar transtornos nos modelos animais de esquizofrenia (protocolo II), depressão (protocolo III) e mania (protocolo IV), conforme descritos abaixo.

3.3.1 Protocolo I

Os animais foram submetidos à sepse intraperitoneal com 60-65 dias de vida conforme técnica descrita acima. Após a indução, diferentes grupos de animais foram mortos após 12, 24 e 48 horas e o cérebro dissecado para avaliação dos níveis proteicos de BDNF e NGF e a expressão das proteínas DARPP-32 e NCS-1 em hipocampo e córtex pré-frontal. A figura 1 representa um esquema sobre os procedimentos realizados.

3.3.1.1 Sepse Experimental

Sepse intra-abdominal foi produzida usando-se a técnica de ligação e perfuração cecal (CLP) conforme previamente descrito (Fink e Heard, 1990). Brevemente, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Cetamina 80mg/Kg e Xilasina Intramuscular na dose de 10mg/kg (I.M), sendo submetidos à laparotomia, com incisão mediana no abdômen. O ceco foi ligado logo abaixo da junção íleo-cecal com fio seda 3-0, mantendo assim a continuidade intestinal. O ceco foi perfurado com uma agulha número 14 na sua face antimesentérica. Após o ceco foi gentilmente comprimido até a extrusão de conteúdo fecal. Os planos cirúrgicos foram fechados e os animais foram observados em caixa de recuperação por 2 horas. O grupo sepse recebeu “suporte básico” (salina em 50 mL/kg imediatamente e 12 horas após CLP mais Ceftriaxona em 30 mg/kg e Clindamicina em 25 mg/kg a cada 6 horas em um total de 3 dias). O grupo controle foi submetido à laparotomia, o ceco foi manipulado, mas não houve ligação ou perfuração. O grupo Sham recebeu somente salina, 50 mL/kg, imediatamente e 12 horas após a cirurgia, o volume de salina correspondeu a administração antibiótica ao grupo CLP. Todo o cuidado com o manuseio dos animais foi necessário para que não ocorressem vieses e alterações comportamentais.



Figura 1. Protocolo I. Indução de sepse ao completar 60-65 dias de vida. 12; 24; 48 h após a sepse foi avaliados níveis proteicos de BDNF, NGF, DARPP-32, NCS-1.

3.3.1.2 Wester Blot

Aliquotas contendo 250 µg de proteína por amostra foram aplicadas sobre gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de 1,5 mm de espessura. A eletroforese foi realizada em cuba de minigel da Bio Rad

(Mini-Protean), com solução tampão para eletroforese, previamente diluída. O SDS-PAGE foi submetido a 25 volts, inicialmente, até a passagem da linha demarcada pela fase de empilhamento e 120 volts até o final do gel de resolução. Na sequência, as proteínas separadas no SDS-PAGE, foram transferidas para a membrana de nitrocelulose, utilizando-se o equipamento de eletrotransferência de minigel da Bio Rad, e a solução tampão para transferência mantido em voltagem constante de 120 volts por 2 horas, sob refrigeração contínua por gelo. As membranas de nitrocelulose contendo as proteínas transferidas foram incubadas em solução bloqueadora por 2 horas, a temperatura ambiente, para diminuir a ligação inespecífica de proteínas. A seguir, as membranas foram lavadas com solução basal por 3 sessões de 10 minutos e incubadas com anticorpos específicos sob agitação constante por uma noite a 4°C; a saber: DARPP-21 e NCS-1. Então, foram lavadas novamente com solução basal por 3 sessões de 10 minutos e incubadas a seguir em solução com anticorpo secundário conjugado com peroxidase, durante 2 horas à temperatura ambiente. O excesso do secundário foi lavado com solução basal e então, as membranas foram incubadas por dois minutos em substrato enzimático e expostas ao filme de RX (Kodak XAR - Rochester, NY), com intensificador (Cronex Lightning Plus - DuPont, Wilmington, DE) em cassete de revelação autoradiográfica. A intensidade das bandas foi determinada através da leitura das autoradiografias reveladas por densitometria ótica, utilizando um scanner (HP 3400) e o programa Scion Image (Scion Corporation).

3.3.1.3 ELISA

Os níveis de BDNF e NGF no hipocampo foram medidos por ELISA-sanduíche, de acordo com as instruções do fabricante (Chemicon, EUA para BDNF e Millipore, EUA e Canadá para NGF). Resumidamente, o córtex pré-frontal e o hipocampo foram homogeneizadas em solução tampão fosfato com inibidor de protease (Sigma). As placas com 96 poços (de fundo plano) foram revestidas durante 24h com as amostras diluídas 1: 2 em amostras diluentes e a curva padrão variaram de 7,8 a 500pg/mL de NGF e BDNF. As placas foram lavadas quatro vezes com diluente da amostra e anticorpos monoclonais anti-BDNF e anti-NGF de coelho foram acrescentados (diluído 1:1000 em diluente de amostra) em cada poço e incubados durante 3h à temperatura ambiente. Depois da lavagem, um conjugado de peroxidase e anticorpo anti-coelho (diluído 1: 1000) foram adicionados a cada poço e incubadas à temperatura ambiente durante 1h.

após a adição da enzima estreptavidina, substrato e stop solution, a quantidade de cada neurotrofina foi determinada pela absorbância em 450 nm. A curva normal demonstrou uma relação direta entre densidade óptica e a concentração. A proteína total foi medida pelo método de Lowry (1951) que utiliza soro bovino como padrão (Lowry et al., 1951).

3.3.2 Protocolos II,III e IV

O protocolo I teve como objetivo verificar se a sepse predispõe ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos como esquizofrenia, depressão e mania em modelos animais, como mostrado na figura 2. Para isso, os animais com 60-65 dias de vida foram submetidos à sepse conforme descrito anteriormente e 30 dias após a indução foram submetidos ao modelo animal de esquizofrenia (atividade locomotora, movimentos estereotipados, interação social, memória aversiva, dano oxidativo e níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF), depressão (anedonia, dano oxidativo, níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF) e mania (atividade locomotora, dano oxidativo níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF) conforme descrito abaixo.

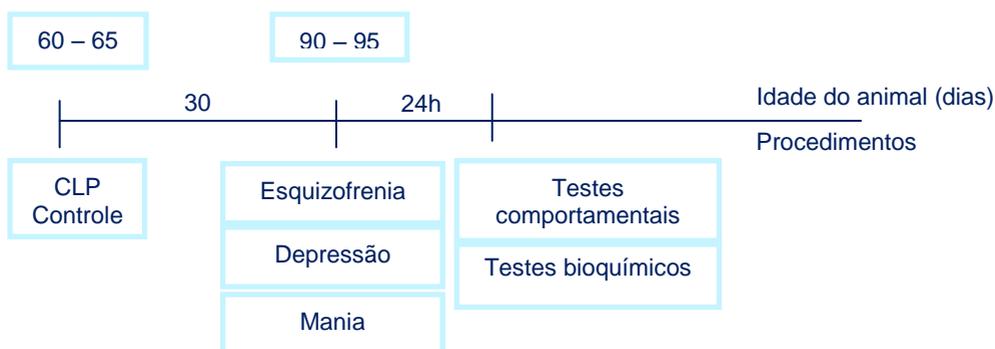


Figura 2. Protocolo II, III e IV. Indução de sepse na vida adulta, após 30 dias foi induzido modelo animal de esquizofrenia, depressão ou mania e logo após avaliados testes comportamentais e bioquímicos.

3.3.2.1 Indução ao modelo animal de esquizofrenia

A cetamina foi administrada na dose de 5, 15 e 25 mg/kg, injeção intraperitoneal (i.p), preparada em solução salina no volume de 1 mL/100g (Canever et al., 2010), para fazer uma curva de dose. A solução salina foi usada no volume de 1 mL/100g. A administração da dose de 25 mg/kg foi utilizada para mimetizar alguns sintomas psicóticos, tais como a hiperlocomoção e embotamento afetivo (Canever et al., 2010; Hunt et al., 2006). Trinta minutos após a aplicação de cetamina ou salina, a atividade locomotora, movimentos estereotipados, interação social e memória aversiva. Para tanto se fez necessária a divisão dos animais em oito grupos experimentais: sham + salina, Sham + cetamina 5 mg/kg, sham + cetamina 15 mg/kg, sham + cetamina 25 mg/kg, CLP + salina, CLP + CLP + cetamina 5 mg/kg, CLP + cetamina 15 mg/kg e CLP + cetamina 25 mg/kg. A figura 3 mostra um esquema dos procedimentos realizados.

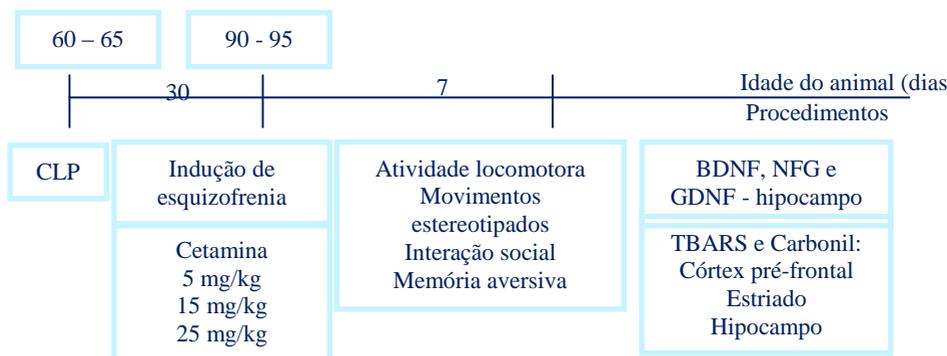


Figura 1. Sepse e esquizofrenia. Indução de sepse na vida adulta, após 30 dias foi induzido modelo animal de esquizofrenia, nas doses de 5; 15; 25 mg/kg, i.p., 30 minutos após a última aplicação, os animais foram submetidos aos testes comportamentais e bioquímicos.

3.3.2.1.1 Atividade locomotora

A análise da atividade locomotora foi realizada em uma caixa com 50 x 25 x 50 cm de dimensão. Os animais foram submetidos individualmente à exploração durante o período de 15 minutos, e a atividade locomotora foi avaliada automaticamente através do uso de

uma caixa de atividade locomotora (Insight equipamentos para laboratório, Ribeirão Preto, SP). Esta monitorada através da distância percorrida (cm) pelo animal, dividindo o tempo total de avaliação blocos de 5 minutos (Canever et al., 2010; de Oliveira et al., 2009).

3.3.2.1.2 Movimentos Estereotipados

A estereotipia é definida como movimentos rápidos, repetitivos e movimentos dianteiros (Battisti et al., 2000; Hitri et al., 1993). Este parâmetro foi avaliado utilizando uma caixa de madeira (50 x 25 x 50 cm) dividida em 12 quadrantes com uma parte anterior feita de vidro. Durante 15 minutos os animais foram avaliados quanto aos movimentos considerados estereotipados.

3.3.2.1.3 Interação social

Os animais primeiramente foram isolados durante 6 horas antes do experimento e depois foram submetidos, em uma caixa de acrílico (60 x 60 x 30 cm) com um piso sólido, a interagir com outro animal, do mesmo grupo experimental, porém de caixa diferente. Foi analisada a latência para iniciar o comportamento social (seguir ou se aproximar do parceiro, montagem sobre o parceiro, cheirar ou grooming de qualquer parte do corpo do parceiro), o tempo total gasto envolvido no comportamento social e o número de contatos sociais. Os ratos foram analisados durante 15 minutos (Niesink e Van Ree, 1989; Schneider et al., 2006).

3.3.2.1.4 Esquiva Inibitória

Consiste em uma caixa de acrílico na qual o piso é formado por barras paralelas de metal. Uma plataforma é colocada junto à parede esquerda do aparelho (Quevedo et al., 1997; Roesler et al., 2003). Na sessão de treino, os animais foram colocados sobre a plataforma e mede-se o tempo em que o animal leva para descer com as quatro patas da plataforma (latência). Imediatamente após descer da plataforma, o animal recebeu um choque de 0,4 mA durante 2 segundos. Na sessão de

teste, o animal foi novamente colocado na plataforma e medido o tempo em que ele leva para descer (latência), porém não foi administrado choque. A latência é um parâmetro clássico de retenção de memória. Os intervalos entre o treino e o teste foram de longa duração.

3.3.2.1.5 ELISA – 3.4.3 item

3.3.2.1.6 Dano oxidativo

3.3.2.1.6.1 Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Como índice de peroxidação lipídica foi medido a concentração de TBARS tecidual cerebral durante uma reação ácida aquecida como previamente descrito (Draper e Hadley, 1990). Brevemente, as amostras obtidas foram misturadas com 1ml de ácido tricloroacético 10% e 1ml de ácido tiobarbitúrico 0,067%, fervidas por 15 minutos, e após a quantidade de TBARS foi determinada pela absorvância em 535 nm através do espectrofotômetro.

3.3.2.1.7.1 Medida do dano oxidativo em proteínas

O dano oxidativo em proteínas teciduais foi determinado pela medida de grupos carbonil conforme previamente descrito (Levine et al., 1999). Brevemente, as amostras obtidas foram precipitadas em adição de ácido tricloroacético 20% e as proteínas dissolvidas com dinitrofenilidrazina (DNPH). O conteúdo dos grupamentos carbonil foi medido pela absorvância em 370 nm através do espectrofotômetro.

3.3.3 Indução do modelo animal de depressão

Para esta parte do estudo foi utilizada uma metodologia previamente descrita por (Gamaro et al., 2003) com algumas adaptações. Foi observado a anedonia induzida por um protocolo de estresse crônico e variado. Foi aplicado o modelo de estresse crônico leve por um período de 20 dias para o grupo estressado, conforme Tabela 1. Os seguintes estressores foram utilizados: 24h de privação de

comida, 24h de privação de água, 1-3h de contenção, 1.5-2h de contenção a 4°C, nado forçado durante 10 ou 15min, exposição à luz estroboscópica durante 120-210min, isolamento (2-3 dias). Os estressores foram aplicados em horários distintos todos os dias para minimizar a previsibilidade. Para este estudo, os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: sham + sem estresse, sham + estresse, CLP + sem estresse e CLP + estresse. Vinte quatro horas após o último dia do protocolo de estresse crônico e variado, a anedonia, e os níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF foram avaliados em hipocampo. A figura 4 mostra um esquema dos procedimentos realizados.

Dia de tratamento	Estressor utilizado	Duração
Dia 1	Privação de água	24 h
Dia 2	Privação de comida	24 h
Dia 3	Isolamento	24 h
Dia 4	Isolamento	24 h
Dia 5	Isolamento	24 h
Dia 6	Exposição à luz estroboscópica	3 h
Dia 7	Privação de comida	24 h
Dia 8	Privação de água	10 min
Dia 9	Contenção	1 h
Dia 10	Contenção + frio	1.5 h
Dia 11	Nenhum estressor	-
Dia 12	Nenhum estressor	-
Dia 13	Privação de água	2 h

Dia 14	Exposição à luz estroboscópica	2.5 h
Dia 15	Privação de comida	24 h
Dia 16	Contenção	15 min
Dia 17	Isolamento	24 h
Dia 18	Isolamento	24 h
Dia 19	Isolamento	24 h
Dia 20	Privação de água	24 h

Tabela 1: Tabela dos estressores para indução do modelo animal de depressão

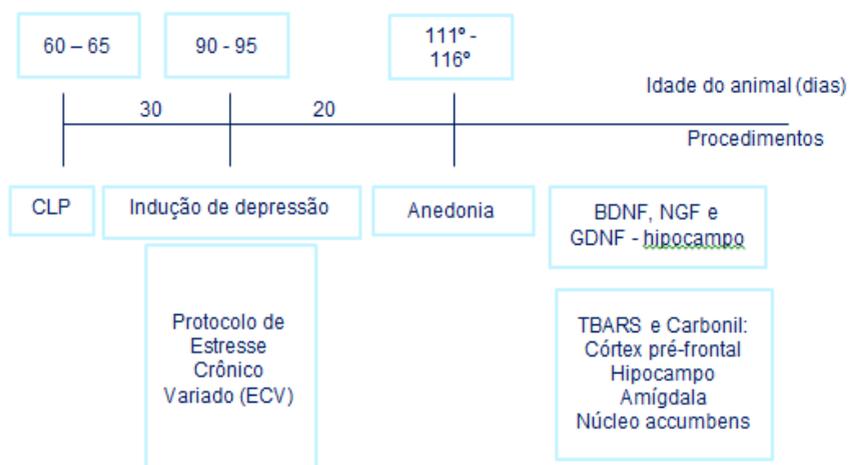


Figura 4: Esquema da sepsis e depressão. Indução de sepsis na vida adulta, após 30 dias foi induzido modelo animal de depressão, através do protocolo de Estresse Crônico Variado durante 20 dias, no último dia foi realizado testes comportamentais e em seguida testes bioquímicos.

3.3.3.1 Teste de anedonia

Vinte quatro horas após o último estressor, o consumo de comida doce foi aferido nos animais. Dez Froot Loops® (Kellogg's® - cereal de trigo, milho e açúcar) foram postos em uma extremidade da caixa. Os animais foram submetidos a cinco ensaios de 3 minutos cada, um por dia, para familiarizarem-se com a comida. Depois de serem habituados, os animais foram expostos a duas sessões de teste, 3 min cada, quando o número de cereais ingeridos foi medido. O protocolo foi estabelecido para que quando o animal comer parte do Froot Loops® (1/3 ou 1/4) esta fração foi considerada, foi considerado anedonia a rejeição pelo doce (Gamaro et al., 2003).

3.3.3.2 ELISA – 3.4.3 item

3.3.3.3 Dano oxidativo – 3.4.1.6

3.3.3.4 Indução ao modelo animal de mania

Para este estudo, os animais receberam injeções intraperitoneais diárias meta-anfetamina (m-AMPH 0,25, 0,5 e 1mg/kg) ou salina (Sal NaCl 0,9%) durante 14 dias. Duas horas após a última injeção os animais foram submetidos ao teste do campo aberto (para verificar se há um aumento da atividade locomotora, tal como ocorre em pacientes durante um episódio maníaco) (Rezende et al., 2013) e dosagens em hipocampo dos níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF foram realizados. A figura 5 mostra um esquema dos procedimentos realizados.



Figura 5: Esquema da sepse e mania. Indução de sepse na vida adulta, após 30 dias foi induzido modelo animal de mania, através da administração de m-AMPH nas doses 0,25; 0,5; 1 mg/kg durante 14 dias, duas horas após a última administração foi realizado o teste comportamental e logo os bioquímicos.

3.3.3.5 Atividade locomotora

A análise da atividade locomotora foi realizada em uma caixa com 50 x 25 x 50 cm de dimensão com o chão dividido em 12 quadrantes. Os animais foram submetidos individualmente à exploração durante o período de 5 minutos e a atividade locomotora foi avaliada. Os números de cruzamentos através das linhas pretas e o número de rearings foram avaliados em ambas as sessões. Crossing: atividade motora. Rearings: atividade exploratória (Frey et al., 2006).

3.3.3.6 ELISA

Avaliado como descrito no item 3.4.3.

3.3.3.7 Dano oxidativo

Avaliado como descrito no item 3.4.1.6

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Após a coleta dos dados foi realizado um teste de normalidade para caracterização dos dados. Para os dados paramétricos, os resultados foram apresentados como a média \pm o erro padrão da média. A análise estatística dos dados entre os grupos foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA) de uma e duas vias. Quando o valor de F for significativo, comparações post hoc foram realizadas pelo teste de Tukey e Bonferroni. Para os dados não paramétricos, os resultados foram apresentados como mediana e intervalo interquartil e a análise estatística dos dados entre os grupos foi realizada pelos testes de Mann-Whitney e Wilcoxon. A significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

RESULTADO

4.1 EXPERIMENTO 1

4.1.1 Níveis de neurotrofinas

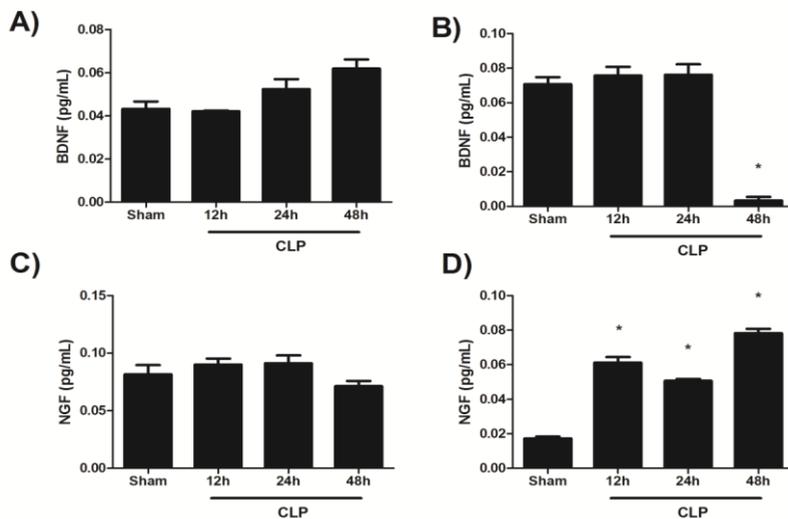


Figura 6: Os níveis de BDNF no córtex pré-frontal (A) e no hipocampo (B); Níveis de NGF no córtex pré-frontal (C) e hipocampo (D) após 12, 24, e 48 h de indução sepse. As barras representam média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. * P < 0,05 vs. Sham.

Na figura 6 foram observados a avaliação dos níveis de BDNF no córtex pré-frontal (6A) e hipocampo (6B) e os níveis de NGF em córtex pré-frontal (6C) e do hipocampo (6D). Foi observado uma diminuição significativa nos níveis de BDNF 48 horas após a indução em hipocampo quando comparado ao grupo sham. Não foi observado alterações significativas em córtex pré-frontal. Nos níveis de NGF, foi observado um aumento dos seus níveis em hipocampo após 12, 24 e 48 horas da indução quando comparado ao grupo controle. Não foram observadas alterações significativas nos níveis de NGF em córtex pré-frontal.

4.1.2 Atividade de DARPP-32 e NCS-1

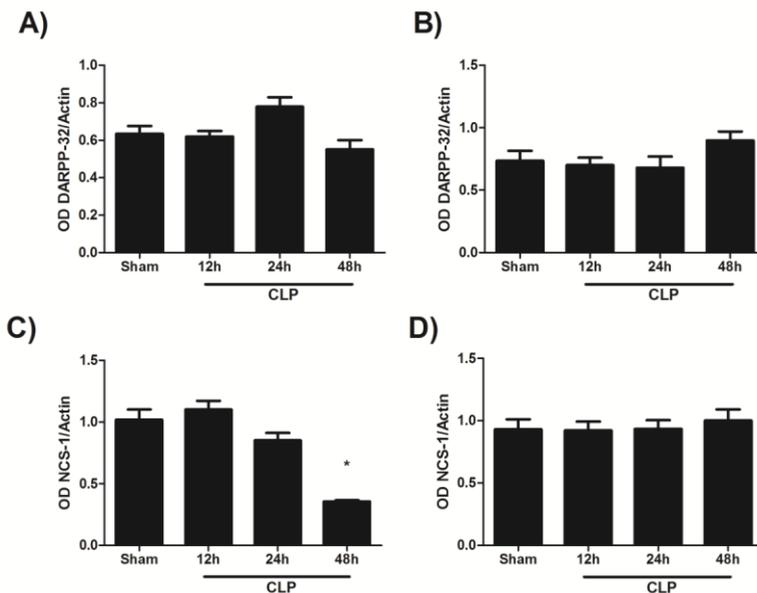


Figura 7: Expressão de DARPP-32 no córtex pré-frontal (A), no hipocampo (B), expressão de NCS-1 no córtex pré-frontal (C), no hipocampo (D) após 12, 24, e 48h a indução sepse. Barras representam a média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N= 14 animais por grupo.

A figura 7 mostra a avaliação da atividade de DARPP-32 em córtex pré-frontal (7A) e hipocampo (7B) e da NCS-1 em córtex pré-frontal (7C) e hipocampo (7D). Foi observado somente uma diminuição da atividade da proteína NCS-1 em córtex pré-frontal quando comparado ao grupo controle. Nas demais estruturas e proteínas, não houve alterações significativas.

4.2 PROTOCOLO II, III, IV

4.2.1 Indução ao modelo animal de Esquizofrenia

4.2.1.1 Atividade Locomotora

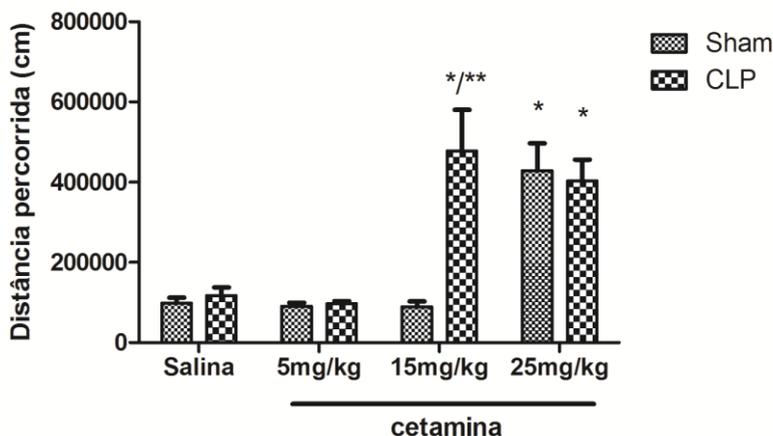


Figura 8: Efeito da sepse em animais submetidos à administração de diferentes doses de cetamina (5, 15 e 25 mg/kg, ip) sobre a atividade locomotora em ratos. Os valores são expressos como média \pm EPM (erro padrão da média), $n = 14$. * $p < 0,05$ quando comparado com o tratamento + grupo salina e ** $p < 0,05$ vs com o mesmo tratamento no animal sham.

A atividade locomotora foi avaliada na figura 8. Ao avaliar os resultados utilizando Anova de duas vias observa-se que há interação significativa entre a dose e a condição experimental. Após 30 dias da indução de sepse, houve um aumento na distância percorrida do grupo controle que recebeu cetamina na dose de 25mg/kg e no grupo CLP que recebeu cetamina na dose de 25mg/kg quando comparado ao grupo controle que recebeu salina, mimetizando o que ocorre em um modelo animal de esquizofrenia. Entretanto, no grupo de animais submetidos ao CLP que recebeu a dose de 15 mg/kg, também foi observado um aumento da distância percorrida quando comparado ao grupo controle que recebeu salina e ao grupo controle que recebeu cetamina 15 mg/kg. Este resultado mostra que houve aumento da distância percorrida em uma dose sub-efetiva no grupo submetido a sepse.

4.2.1.2 Interação social

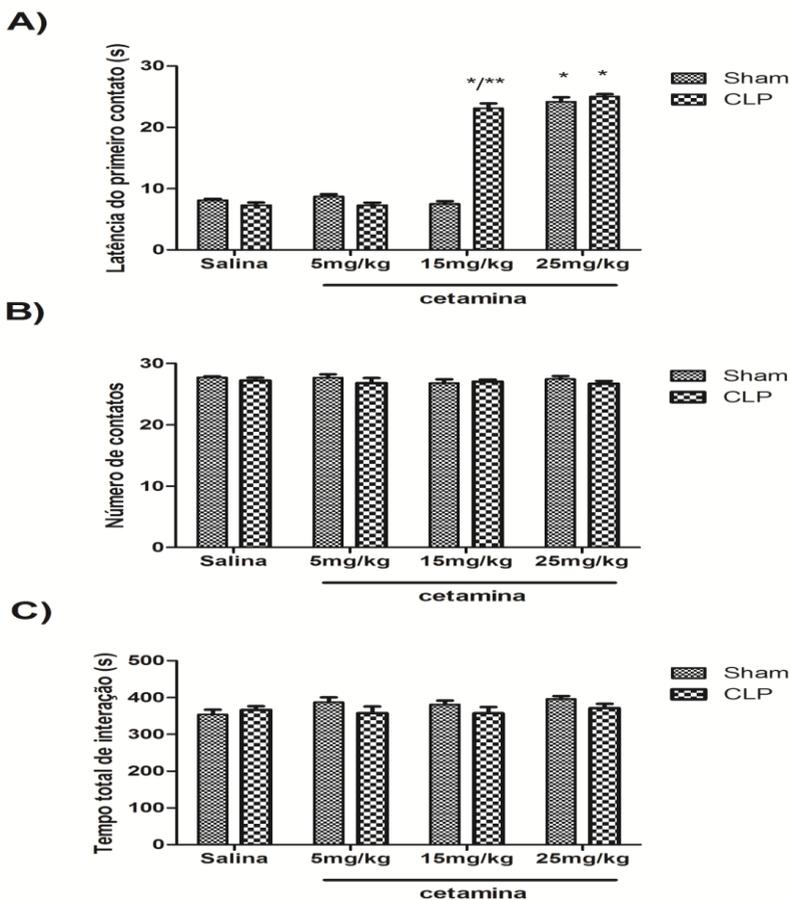


Figura 9: Efeito da sepsis em animais submetidos à administração de diferentes doses de cetamina (5, 15 e 25 mg/kg, ip) sobre a latência do primeiro contato social, (A), o número de contatos (B) e o tempo total da interação social (C) sobre a interação social de ratos em campo aberto. Os valores são expressos como média \pm SEM, $n = 14$. * $p < 0,05$ quando comparado com sham + grupo salina e ** $p < 0,05$ vs com o mesmo tratamento no animal sham.

Na figura 9 observa-se que houve um aumento do tempo de latência ao primeiro contato do grupo controle que recebeu cetamina na dose de 25 mg/kg e no grupo de animais que foi submetido ao CLP que recebeu cetamina na dose de 25mg/kg, demonstrando o que ocorre em um modelo de esquizofrenia. Entretanto, a sub-dose de 15mg/kg quando administrado nos animais que foram submetidos a sepse, houve um aumento no tempo de latência ao primeiro contato quando comparado ao grupo controle que recebeu salina e ao grupo controle que recebeu cetamina na dose de 15 mg/kg. Ao avaliar os resultados utilizando Anova de duas vias observa-se que há interação significativa entre a dose e a condição experimental. Este resultado nos mostra que os animais submetidos a sepse aumentam seu tempo de latência ao primeiro contato na sub-dose utilizada.

4.2.1.3 Movimento estereotipado

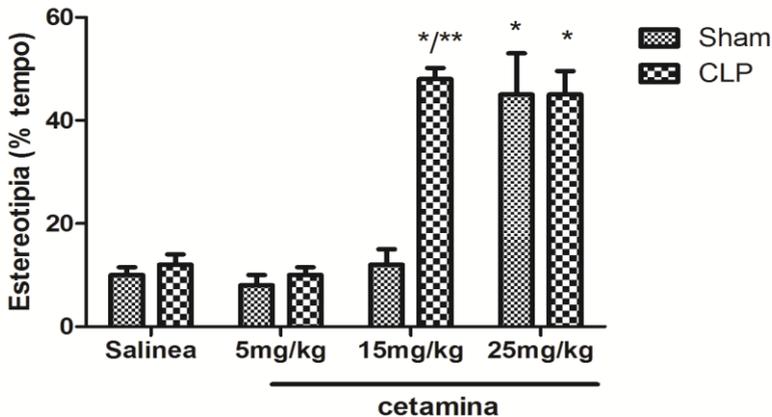


Figura 10: Efeito da sepse em animais submetidos à administração de diferentes doses de cetamina (5, 15 e 25 mg/kg, ip) sobre o comportamento estereotipado de ratos no campo aberto. Os valores são expressos como média \pm SEM, n = 14. * p < 0,05 quando comparado com o tratamento simulado + grupo salina e ** p < 0,05 vs com o mesmo tratamento no animal sham.

A figura 10 demonstra os resultados obtidos no teste de movimentos estereotipados. Ao avaliar os resultados utilizando Anova

de duas vias observa-se que há interação significativa entre a dose e a condição experimental. Houve um aumento da porcentagem dos movimentos estereotipados no grupo de animais controles quando administrado cetamina 25 mg/kg e nos animais submetidos ao CLP quando administrado cetamina 25 mg/kg, demonstrando que os animais foram submetidos ao modelo de esquizofrenia. No grupo de animais submetidos a sepse que receberam cetamina na dose de 15 mg/kg foi observado um aumento da porcentagem de movimentos estereotipados quando comparado com o grupo controle que recebeu salina e aquele que recebeu cetamina na dose de 15 mg/kg, demonstrando que a subdose de 15 mg/kg é capaz de produzir um aumento dos movimentos estereotipados, o que só era para acontecer na dose de 25 mg/kg.

4.2.1.4 Memória aversiva

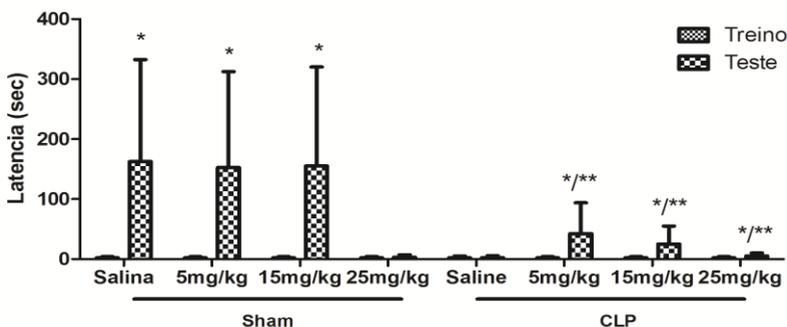


Figura 11: Efeito da sepse em animais submetidos à administração de diferentes doses de cetamina (5, 15 e 25 mg/kg) sobre a latência para descer na tarefa de esquiwa inibitória. Os dados são apresentados como mediana e intervalo interquartil, $n = 14$. * $p < 0,05$ quando comparado com a sessão de treino e ** $p < 0,05$ quando comparado com o tratamento + grupo salina na sessão de treino ou em sessões de teste.

Na figura 11 pode-se observar a avaliação da memória aversiva. Ao avaliar os resultados utilizando Anova de duas vias observa-se que há interação significativa entre a dose e a condição experimental. A sepse por si só e a dose de 25 mg/kg quando administrada no grupo controle causaram dano na memória aversiva. Quando se compara o valor de latência entre treino e teste observa-se que não houve um aumento nos grupos citados. As doses de 5, 15 e 25 mg/kg quando

administradas nos animais submetidos a sepse, observa-se que não há dano na memória aversiva mas o tempo de latência do teste é significativamente menor do que o tempo de latência do grupo controle. Ou seja, os grupos de animais administrados com cetamina aprendem, mas aprendem menos do que os grupos controles.

4.2.1.4 Níveis de BDNF, NGF e GDNF

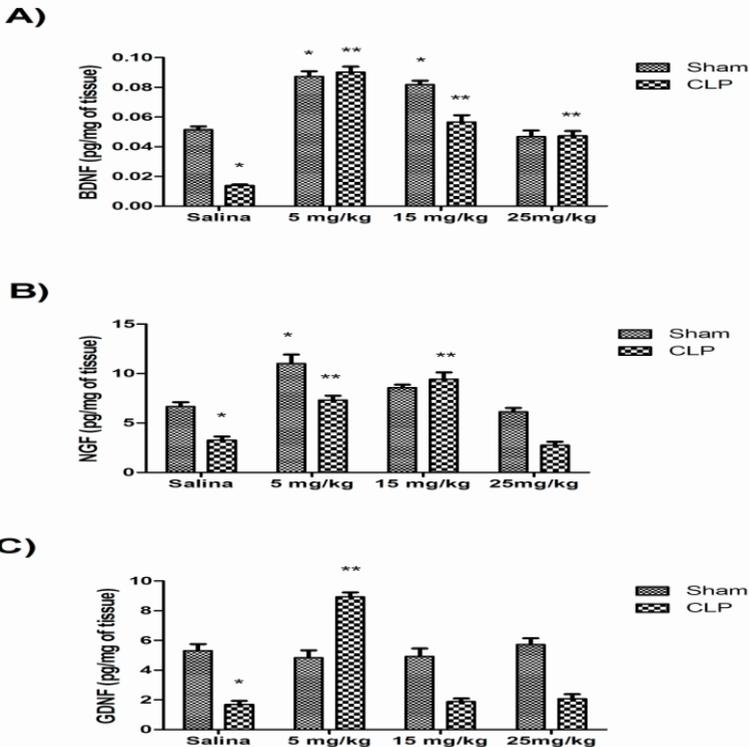


Figura 12: Os níveis de BDNF (A), NGF (B); GDNF(C) em hipocampo de ratos submetidos à sepse e à administração de diferentes doses de cetamina (5, 15 e 25 mg/kg). As barras representam média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N= 14 animais por grupo. *p <0,05 quando comparado com o tratamento simulado + grupo salina e ** p <0,05 vs com o mesmo tratamento no animal sham.

Na figura 12 pode-se observar a avaliação dos níveis de BDNF (12A), NGF (12B) e GDNF (12C) em hipocampo de animais submetidos à sepse e à administração de diferentes doses de cetamina (5, 15 e 25 mg/kg). Após o teste de ANOVA de duas vias pode-se constatar que há interação significativa entre a condição experimental e a intervenção. Os animais do grupo salina submetidos ao CLP apresentaram níveis significativamente baixos de BDNF, NGF e GDNF quando comparados aos que não foram submetidos ao modelo de sepse. Estes dados mostram que a sepse por si só já diminui os níveis de BDNF, NGF e GDNF 30 dias após a indução. Já níveis de BDNF (12A) foram aumentados no grupo sham e cetamina (5;15 mg/kg) em comparação ao grupo salina, e observa-se que esse tipo de neurotrofina teve seus níveis aumentados no grupo submetido ao CLP e administrados com cetamina na dose de 5mg/kg quando comparados as outras doses. Enquanto houve uma redução nos grupos submetidos à sepse e administrados com cetaminas nas doses de 15 e 25 mg/kg em comparação as outras doses. Interessantemente, na figura B constata-se que os níveis de NGF (12B) apresentaram-se aumentados nos grupos sham administrados cetamina na dose de 5mg/kg em comparação ao grupo salina, enquanto que o grupo submetido a sepse e administrado com doses de cetamina de 5 e 15mg/kg comparados com as outras doses esse nível proteico reduziu. E por fim 12C representa os níveis de GDNF aumentados no grupo submetido à sepse e administrado 5mg/kg de cetamina comparado às outras doses.

4.2.1.4 Dano oxidativo

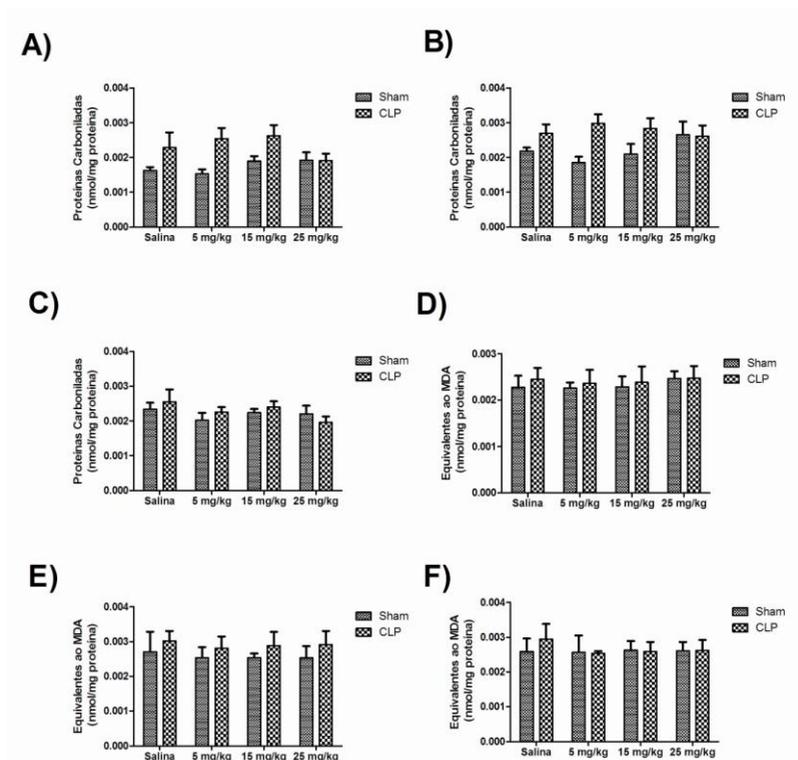


Figura 13: Carbonilação de proteínas em córtex pré-frontal (A), estriado (B) e hipocampo (C). Dano a lipídios em córtex pré-frontal (D), estriado (E), hipocampo (F), de ratos sépticos submetidos à administração de diferentes doses de cetamina (5, 15 e 25 mg/kg). As barras representam média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N= 14 animais por grupo. * P <0,05 vs. Sham.

A figura 13 mostra os resultados da avaliação do dano oxidativo a proteínas em córtex pré-frontal (13A), estriado (13B), hipocampo (13C) e dano oxidativo a lipídios em córtex pré-frontal (13D), estriado (13E), hipocampo (13F). Após avaliação utilizando ANOVA de duas vias observou-se que a condição experimental não tem interação com a intervenção. Pode-se observar também que o CLP não aumentou o dano

oxidativo a lipídios e proteínas em comparação ao grupo sham, mas que houve uma tendência.

4.2.2 Indução ao modelo animal de Depressão

4.2.2.1 Anedonia

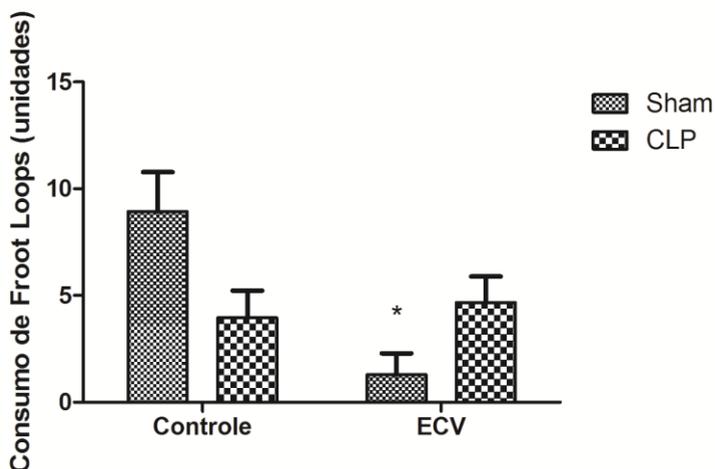


Figura 14: Efeito da sepse em animais submetidos ao protocolo estresse crônico variado sobre a tarefa de consumo de Froot Loops de anedonia. Barras representam as médias e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N= 14 animais por grupo. * $p < 0,05$ vs controle.

A avaliação do consumo de Froot Loops é avaliada na figura 14. Ao avaliar os resultados utilizando Anova de duas vias observa-se que há interação significativa entre a condição experimental. Também se observa que os animais controles submetidos ao ECV diminuíram a ingestão da Froot Loops significativamente quando comparado ao animal controle que não foi submetido ao ECV. Entretanto, não houve diferença significativa no consumo de Froot Loops nos animais submetidos a sepse que passaram pelo protocolo de ECV quando comparado ao animal submetido a sepse que não passaram pelo protocolo de ECV, demonstrando que a sepse não predispõe a anedonia.

4.2.2.1 Níveis de BDNF, NGF e GDNF

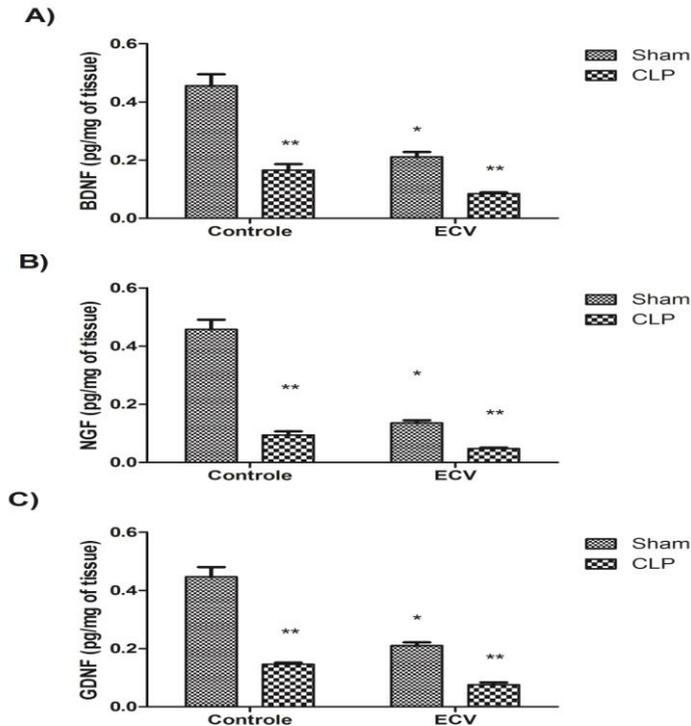


Figura 15: Os níveis de BDNF (A), NGF (B); GDNF(C) em hipocampo de ratos submetidos ao protocolo de estresse crônico. As barras representam média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N= 14 animais por grupo. * P <0,05 vs. Sham.

Na figura 15 pode-se observar a avaliação dos níveis de BDNF (15A), NGF (15B) e GDNF (15C) em hipocampo de animais submetidos a sepse e ao protocolo de ECV. Após o teste de ANOVA de duas vias pode-se constatar que há interação significativa entre a condição experimental e a intervenção. Os animais sham submetidos ao ECV apresentaram níveis significativamente baixos de BDNF, NGF e GDNF quando comparados aos que não foram submetidos ao protocolo. Já os animais com sepse submetidos ao ECV não diminuíram os níveis de BDNF, NGF e GDNF em hipocampo quando comparados aos que não foram submetidos aos ECV. Entretanto, pode-se ressaltar que há uma diminuição significativa dos níveis de BDNF, NGF e GDNF nos

animais com sepse quando comparados aos animais sham, ambos sem serem submetidos ao ECV. Também houve diferença significativa nos níveis de BDNF, NGF e GDNF do grupo CLP submetido ao ECV quando comparado aos animais sham também submetidos ao ECV. Estes dados mostram que a sepse por si só já diminui os níveis de BDNF, NGF e GDNF 30 dias após a indução. Por outra via, os animais do grupo CLP quando submetidos ao protocolo de ECV não apresentam diminuição dos níveis de BDNF, NGF e GDNF em hipocampo.

4.2.2.3 Dano oxidativo

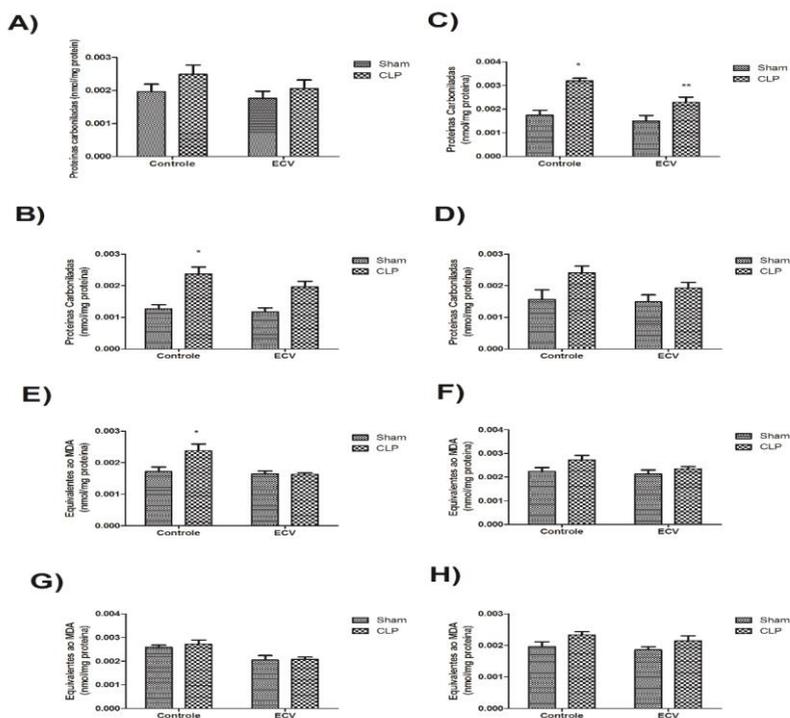


Figura 16: Carbonilação de proteínas em córtex pré-frontal (A), amígdala (B), hipocampo (C), núcleo accumbens (D). Dano a lipídeos em córtex pré-frontal (E), amígdala (F), hipocampo (G), núcleo accumbens (H) de ratos sépticos submetidos ao protocolo de estresse crônico e variado. As barras representam média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N= 14 animais por grupo. * p < 0,05 vs. Sham.

A figura 16 mostra os resultados da avaliação do dano oxidativo a proteínas em córtex pré-frontal (16A), amígdala (16B), hipocampo (16C) e núcleo accumbens (16D) e dano oxidativo a lipídios em córtex pré-frontal (16E), amígdala (16F), hipocampo (16G) e núcleo accumbens (16H). Após avaliação utilizando ANOVA de duas vias observou-se que a condição experimental não tem interação com a intervenção. Pode-se observar também que o ECV não aumentou o dano oxidativo a lipídios e proteínas no grupo sham. A sepse por si só aumentou o dano a proteínas em amígdala e hipocampo e dano a lipídios no córtex pré-frontal. Somente em hipocampo, o ECV diminuiu o dano a proteínas no grupo CLP.

4.2.3 Indução ao modelo animal de Mania

4.2.3.1 Atividade Locomotora

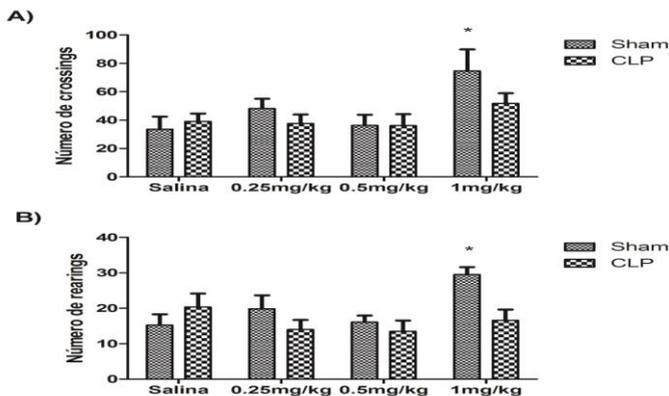


Figura 17: Atividade locomotora. Número de crossings (A) e rearing (B) de ratos sépticos submetidos à administração de diferentes doses de m-AMPH (0,25; 1,5; 1mg/kg) As barras representam média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N = 14 animais por grupo.* p <0,05 vs. Sham.

A figura 17 demonstra a avaliação da atividade locomotora e exploratória através do número de crossings (17A) e rearing (17B). Após a avaliação pelo ANOVA de duas vias observou-se que há interação entre a condição experimental e a intervenção. Pode observar que a sepse por si só não altera a atividade locomotora e exploratória. O

grupo sham quando administrado 1 mg/kg de m-AMPH há um aumento do número de crossings e rearings quando comparado ao grupo sham que recebeu solução salina. Entretanto, os animais do grupo CLP que receberam 1mg/kg de m-AMPH não aumentaram o número de crossings e rearings. Estes resultados nos mostram que de alguma maneira os animais submetidos a sepse não estão respondendo a dose efetiva de 1mg/kg que induz hiperlocomoção nos animais controles.

4.2.3.2 Níveis de BDNF, NGF e GDNF

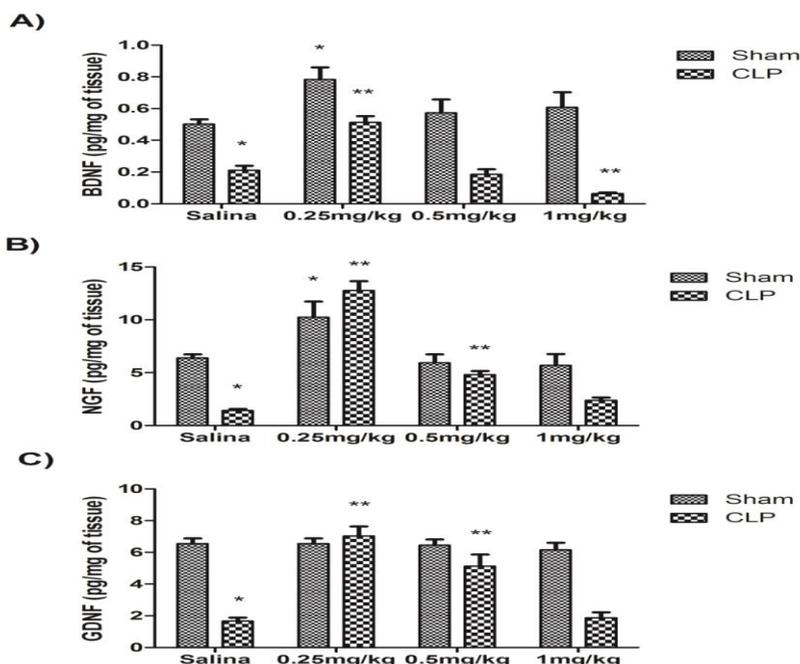


Figura 18: Os níveis de BDNF (A), NGF (B); GDNF(C) em hipocampo de ratos sépticos submetidos à administração de diferentes doses de m-AMPH (0,25; 0,5; 1mg/kg) As barras representam média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N = 14 animais por grupo.* P <0,05 vs. Sham.

Os níveis de neurotrofinas são mostrados na figura 18 através dos níveis de BDNF (18A), NGF (18B) e GDNF (18C). É possível observar que, a sepse por si só diminui significativamente os níveis proteicos de BDNF, NGF e GDNF quando comparado aos animais sham que

receberam salina. A administração de 1 mg/kg, a dose que causa hiperatividade e induz ao modelo de mania, não causou diminuição nos níveis de BDNF, NGF e GDNF em animais sham. Esta dose apenas causou diminuição dos níveis de BDNF nos animais que foram submetidos a seps. Entretanto, as subdoses administradas causaram um aumento dos níveis de BDNF no grupo sham e no grupo CLP na dose de 0.25mg/kg. Nos níveis de NGF, observa-se que a dose de 0.25 de m-AMPH elevou os níveis no hipocampo no grupo sham e no grupo CLP. Além disso, a dose de 0.5 no grupo CLP também causou aumento dos níveis de NGF em hipocampo. Nos níveis de GDNF, a dose de 0.25 e 0.5 de m-AMPH causou um aumento dos níveis quando comparados ao grupo CLP que recebeu salina.

4.2.3.3 Dano oxidativo

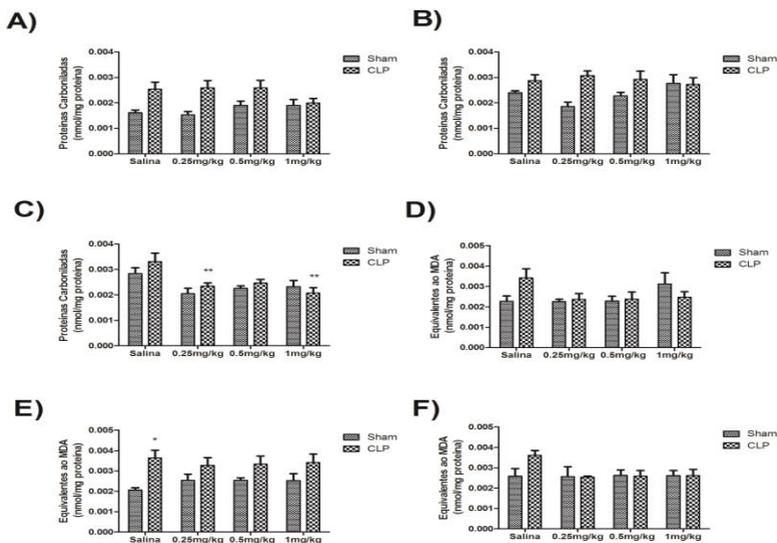


Figura 19: Carbonilação de proteínas em córtex pré-frontal (A), hipocampo (B), estriado (C); Dano à lipídeos em córtex pré-frontal (D), hipocampo (E), estriado (F) de ratos sépticos submetidos administração de diferentes doses de m-AMPH (0,25; 1,5; 1mg/kg) As barras representam média e desvio padrão, ANOVA post hoc Tukey. N = 14 animais por grupo. * P <0,05 vs. Sham.

Na figura 19, o dano oxidativo a lipídios é medido em córtex pré-frontal (19A), hipocampo (19B) e estriado (19C) através das proteínas carboniladas e o dano a lipídios em córtex pré-frontal (19D), hipocampo

(19E) e estriado (19F) através da peroxidação lipídica. Na avaliação utilizando ANOVA de duas vias foi verificado que não há interação entre a condição experimental e a intervenção. A sepse por si só apenas aumentou a peroxidação lipídica no hipocampo. A dose de 1mg/kg de m-AMPH não aumentou o dano a lipídios e proteínas nas estruturas avaliadas. Em estriado as doses de 0.25 e 1.0 de m-AMPH diminuíram o dano a proteínas.

5 DISCUSSÃO

DARPP-32 é a principal integradora da sinalização dopaminérgica e glutaminérgica e tanto a aprendizagem associativa quanto a emocional envolvem circuitos dopaminérgicos e glutamatérgicos assim como sua interação (Svenningsson et al., 2004). Podem ser encontradas em neurônios com receptores D1 e D2 de dopamina com as concentrações mais elevadas no hipocampo e córtex pré-frontal (Ouimet et al., 1992).

A proteína DARPP-32 tem sido implicada em distúrbios neurológicos associados com comprometimento cognitivo, tais como esquizofrenia (Albert et al., 2002) e a depressão (Svenningsson et al., 2004). Neste estudo, não encontrou-se alterações na expressão DARPP-32 no córtex pré-frontal e hipocampo 12, 24 e 48h após a indução da sepse. Corroborando com outro estudo que mostra que em 10 dias após a indução da sepse, houve diminuição da memória, sem alterações na expressão DARPP-21 no hipocampo (Cassol-Jr et al., 2011). Sugerindo como hipótese que alterações na memória podem ser causados pela sepse, porem esta não estar envolvida na expressão de DARPP-32.

A proteína NCS-1 aumenta o número de sinapses funcionais (Chen et al., 2001), e atua na plasticidade de curto prazo em culturas de células do hipocampo de ratos (Sippy et al., 2003), e é expressa em várias redes neurais conhecidas, desempenhando um papel essencial na aprendizagem e memória associativa (Gomez et al., 2001). Encontrou-se uma baixa regulação na expressão de NCS-1 no córtex pré-frontal, após 48h de indução da sepse. A expressão desta proteína foi mostrada aumentando a liberação de neurotransmissores evocando a exocitose (Olafsson et al., 1995; Pongs et al., 1993), bem como para promover a plasticidade sináptica, o comportamento exploratório, e rápida aquisição de memória espacial (Saab et al., 2009). No entanto, a relação causa-efeito de expressão de NCS1 e seu papel funcional na memória não é simples.

Em um estudo importante mostraram que a aplicação direta de um peptídeo no permeado celular (DNIP) projetado para interferir com NCS-1 ao se ligar ao receptor D2 inverteu a melhora na aquisição de memória espacial em ratos geneticamente modificados que super expressam NCS-1 (Saab et al., 2009). NCS-1 também afeta o crescimento neuronal e desempenha papéis importantes na aprendizagem e memória afetando tanto a de curto e a de longo prazo, e plasticidade sináptica.

Não se sabe se NCS-1 afeta a neurotransmissão e a plasticidade sináptica através do seu efeito sobre os níveis de PIP2 (fosfatídeo dilinositol 4,5-bifosfato) e/ou através de uma interação direta com canais de cálcio ou os seus complexos de sinalização. Além disso, a NCS-1 também tem sido implicada na esquizofrenia, danos cognitivos, tais como atraso mental e autismo (Burgoyne, 2007; Handley et al., 2010); (Saab et al., 2009). Acredita-se que a baixa expressão de NCS-1 em córtex pré-frontal, após 48h pode sugerir o envolvimento de sistema dopaminérgico na diminuição da memória depois de 10 dias de indução sepsis (Tuon et al., 2008).

A capacidade de aprender também foi positivamente correlacionada com neurotrofinas (Francia et al., 2006). O BDNF produzido no córtex entorrinal é anterogradamente caminho para o hipocampo, onde a liberação de BDNF dependente de atividade pode ter um papel chave no apoio à função de circuitos de memória (Auld et al., 2001). Na maioria dos estudos, os níveis de BDNF foram utilizados como biomarcadores de lesão neuronal em pacientes com uma variedade de doenças graves (Lewin e Barde, 1996). Insultos isquêmicos levam a aumentos significativos nos níveis de BDNF de neurônios corticais e do hipocampo, sugerindo que estas alterações podem ser uma resposta neuroprotetora (Lewin e Barde, 1996). Neste contexto, os neurônios e células da glia são particularmente vulneráveis à processos inflamatórios e são dependentes da manutenção de atividade neurotrófica (Boulanger, 2009; Opara, 2006). Este estudo demonstrou que os animais sépticos apresentaram baixos níveis de BDNF no hipocampo 48h após a indução de sepsis. Recentemente, um grupo de pesquisa demonstrou que a manutenção da inflamação cerebral em estágios iniciais de desenvolvimento da sepsis foi associada com baixos níveis de BDNF no hipocampo e prejuízo no desempenho da tarefa de esquiva inibitória 30 dias após a sepsis (Biff et al., 2013).

Já está bem demonstrado que o estresse agudo e crônico podem diminuir os níveis de BDNF no cérebro (Kaplan et al., 2010). Assim, parece que a inflamação do cérebro induzida por sepsis podem ser associados com os níveis mais baixos de BDNF e conseqüentemente disfunção do SNC. Além disso, há um decréscimo sustentado dos níveis de BDNF no SNC, uma ativação do eixo hipotalâmico-pituitário-suprarrenal, e uma diminuição no peso do hipocampo (Comim et al., 2010). Em pacientes, os níveis elevados de citocinas inflamatórias têm sido associados a uma diminuição nos níveis de BDNF com alterações da função neuronal no hipocampo (Goldstein et al., 2011; Marsland et al., 2008). Vários estudos mostraram níveis baixos de neurotrofinas em

ambos os pacientes e em modelos animais com transtornos neurodegenerativos, incluindo a doença de Parkinson (Mogi et al., 1999), doença de Huntington (Zuccato et al., 2001), acidente vascular cerebral, depressão e outros distúrbios psiquiátricos (Nagahara e Tuszynski, 2011).

Além disso, o NGF tem um papel crucial na proteção e na manutenção do fenótipo de neurônios colinérgicos no prosencéfalo basal do adulto e do sistema nervoso totalmente diferenciado. Os neurônios colinérgicos dentro do núcleo basal e o complexo na faixa diagonal do septo proporcionam a principal fonte de inervação colinérgica no córtex cerebral e no hipocampo, respectivamente, e desempenham um papel fundamental na função da memória e da atenção. Um baixo nível de NGF induz atrofia colinérgica assim como declínio cognitivo (Cuello et al., 1989). Além disso, demonstrou-se que as espécies reativas de oxigênio pode influenciar negativamente a sinalização de NGF (Pehar et al., 2006). A expressão de NGF é regulada pela atividade neuronal: aumento glutamatérgico e neurotransmissão colinérgica, e diminuição da neurotransmissão GABAérgica (Huh et al., 2008). Neste estudo, mostrou-se que a sepse diminui os níveis de NGF após 12, 24 e 48h da indução por CLP.

O presente trabalho contribui também para o entendimento de que a sepse pode predispor ao comportamento esquizofrênico em um modelo animal bem estabelecido da doença induzida por cetamina. Especificamente, foi demonstrado que a sepse aumentou a susceptibilidade ao comportamento tipo esquizofrenia (hiperlocomoção, déficit social e aumento de comportamento estereotipado) alterações induzidas pela administração de cetamina em ratos, o que sugere que a sepse pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de esquizofrenia.

Recente estudo de coorte, 45% dos indivíduos diagnosticados com esquizofrenia apresentaram um contato hospitalar com infecção antes do diagnóstico de esquizofrenia e que a infecção bacteriana foi o tipo de infecção que foi associado com maior risco de esquizofrenia (Nielsen et al., 2014).

Foi demonstrada uma relação significativa entre IL-6 e volume reduzido do hipocampo em pacientes com esquizofrenia sem tratamento prévio com antipsicótico (Kalmady et al., 2014). As citocinas periféricas podem produzir resposta a uma infecção atuando sobre o cérebro levando a sintomas comportamentais relacionados à doença (Jacob et al., 2011).

A inflamação pode ocorrer em doenças infecciosas que têm sido associados com perturbações do humor. Foi durante o século XIX que a hipótese do papel de agentes infecciosos na ocorrência de esquizofrenia, bem como no transtorno bipolar foi formulada pela primeira vez (Yolken e Torrey, 1995). Para confirmar essa hipótese, no presente estudo foi avaliado o efeito de sepsis em um modelo animal bem estabelecido de esquizofrenia induzido pela cetamina (25mg/kg).

Neste contexto, analisou-se o efeito da sepsis em animais submetidos a administração de baixas doses de cetamina (5 e 15mg/kg), que geralmente não aumentam ou alteram a locomoção ou a interação social assim como o comportamento estereotipado. Neste estudo os resultados indicam que os animais apenas sujeitos à sepsis não mostraram hiperatividade ou interação social e comportamento estereotipado alterados, mas os animais submetidos a sepsis com a administração de cetamina (15mg/kg) apresentaram hiperatividade, interação social e comportamento estereotipado alterados. A literatura fornece evidência de que a cetamina em doses baixas (15 mg/kg) pode agir como um antidepressivo e não causa alteração na atividade locomotora (Garcia et al., 2009).

Neste estudo, demonstrou-se que a sepsis sensibilizou os animais aos sintomas psicóticos da esquizofrenia, considerando que uma dose baixa de cetamina (15 mg/kg) não induz alteração na hiperatividade, na interação social e no comportamento estereotipado em animais não submetidos à sepsis. Contudo a cetamina 15mg/kg em animais sépticos induziu hiperlocomoção, déficit na interação social e comportamento estereotipado. Um estudo recente mostrou que a cetamina (25 mg/kg) induz sintomas de esquizofrenia como hiperlocomoção, isolamento social e comprometimento cognitivo (Gama et al., 2012). Os casos de psicoses reais causadas por patógenos microbianos como vírus herpes, citomegalovírus, *Toxoplasma Gondii* apoiam uma teoria infecciosa na psicose (Yolken e Torrey, 2008). Neste contexto, foi mostrado que os animais tratados com doses de cetamina subanestésicas induzem déficit social (Canever et al., 2010).

Alguns estudos têm demonstrado que os pacientes esquizofrênicos demonstram déficit cognitivo (Keri et al., 2012; Zierhut et al., 2013). No presente estudo testou-se a hipótese de que a sepsis leva a um aumento da vulnerabilidade ao desenvolvimento da esquizofrenia. Observou-se que a cetamina de 25 mg/kg e sepsis por si só induzem déficit cognitivo, e que a cetamina de 5 ou 15 mg / kg sozinho ou sepsis e cetamina (5, 15 e 25 mg/kg) na tarefa de memória aversiva. Estes dados corroboram com a literatura anterior, mostrando que a cetamina

induz déficit cognitivo em humanos (Umbricht et al., 2000) e em roedores (Smith et al., 2011). Portanto, sepse não induziu a vulnerabilidade ao déficit cognitivo na esquizofrenia no presente estudo.

Tomados em conjunto, estes resultados indicam que em animais sépticos uma baixa dose de cetamina (15mg/kg) induz hiperlocomoção, déficit social e comportamento estereotipado no grupo que foi exposto à sepse, demonstrando que algumas alterações causadas por sepse pode estar associada a uma predisposição para o desenvolvimento de esquizofrenia num modelo animal.

Na literatura está bem descrito que a sepse induz ao desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes, e dentre os efeitos desse descontrole pode-se incluir dano a lipídeos, proteínas, e até mesmo em DNA, entre muitos outros danos (Comim et al., 2010; Kaymak et al., 2008; Zhou et al., 2012). E no mesmo modelo animal de esquizofrenia, foi demonstrado dano em lipídeos e em proteínas no córtex pré-frontal (Zugno et al., 2014). Assim, neste estudo não houve diferença no dano oxidativo, não indo ao encontro com o que relata a literatura. O mesmo ocorreu com a esquizofrenia, ou seja, sugerindo que a sepse não pré dispõe bioquimicamente a esse transtorno psiquiátrico.

Na literatura já está bem descrito que a sepse causa desregulação nos níveis de neurotrofinas. Sendo assim já foram observados em estudos recentes, aumento dos níveis de NGF e diminuição de BDNF no hipocampo, em modelo animal de sepse (Comim et al., 2014).

Além disso, outros estudos confirmam que há alteração nos níveis de neurotrofinas em modelo animal de sepse (Calsavara et al., 2014; Cassol-Jr et al., 2011). Em paralelo a isso, a literatura também já descreve que há alterações dos níveis de neurotrofinas, visto que em estudo post mortem, houve um aumento dos níveis de BDNF no córtex parietal e córtex frontal, e diminuição no córtex temporal e occipital (Durany et al., 2001).

Em modelo animal de esquizofrenia, foi demonstrado alterações nos níveis de neurotrofinas em cérebro de ratos, como o aumento de BDNF (George et al., 2010) e diminuição de BDNF (Pillai e Mahadik, 2008). Os resultados desses estudos mostram também alterações nos níveis de neurotrofinas, como diminuição no grupo CLP. Aumento de BDNF e GDNF no grupo CLP nas doses 5mg/kg de cetamina. Nos níveis de NGF houve aumento no grupo CLP na dose de 15mg/kg e diminuição na dose 5 mg/kg de cetamina. Sendo assim, o modelo animal de sepse predispõe em partes a esquizofrenia, em virtude das alterações comportamentais, e níveis de neurotrofinas, sem alteração de dano oxidativo.

Estudos já comprovam que modelo animal de depressão, por indução de estresse crônico, os animais demonstram diminuição no consumo de sacarose em comparação ao grupo controle (Luo et al., 2014; Papp et al., 2014). Resultados de (Bouzinova et al., 2014) houve redução de 55% do consumo de sacarose quando comparados ao grupo controle. A administração de imipramina preveniu o tempo de imobilidade no nado forçado em modelo animal de estresse crônico, mostrando que sintomas depressivos induzidos no grupo CLP são sensíveis aos antidepressivos (Tuon et al., 2007).

Nossos resultados mostraram que a sepse não predispõe o comportamento anedônico nos animais submetidos ao estresse crônico variado. Entretanto, estudo de corte mostram que pacientes sobreviventes a sepse tem sintomas depressivos um ano após a alta hospitalar (Davydow et al., 2013), assim como diminuição do volume do hipocampo déficit de memória e aprendizado, oito anos após a sepse (Semmler et al., 2013). E estudo sobre a qualidade de vida de sobreviventes de sepse mostra aumento da ansiedade e da depressão nos pacientes (Granja et al., 2004).

No SNC, as neurotrofinas são expressas a partir do estágio embrionário precoce para a fase adulta e regulam uma grande variedade de funções. BDNF é altamente conservada em vertebrados, e desempenha um papel importante no desenvolvimento e na vida adulta, influenciando tanto a estrutura e função sináptica (Gatta et al., 2014).

Em modelo animal de depressão é possível observar diminuição da expressão de BDNF no córtex pré-frontal e hipocampo, quando comparado ao controle (Banerjee et al., 2014). Além da diminuição dos níveis de BDNF no hipocampo, houve diminuição no consumo de sacarose, diminuição da exploração no campo aberto, em animais submetidos ao modelo animal de depressão (Gersner et al., 2014). Já outros resultados foram encontradas, como alterações nos níveis de BDNF e NGF, nas estruturas cerebrais de córtex frontal e hipotálamo em modelo animal de depressão (Angelucci et al., 2000). Em modelo de privação materna, os resultados mostram diminuição dos níveis de BDNF no núcleo acumbens, diminuição de NGF no hipocampo, amígdala e núcleo accumbens (Della et al., 2013). Estes resultados mostram alterações nos níveis de neurotrofinas, em modelo animal de depressão, corroborando com outros achados da literatura. Sendo assim, a sepse predispõe alterações nos níveis de neurotrofinas visto em modelo animal. Esses resultados foram um dos primeiros trabalhos, analisando a sepse associada a sintomas depressivos em modelo animal.

Espécies reativas de oxigênio tem mostrado desempenhar um papel na fisiopatologia da depressão. Em modelo animal de depressão, foi verificado um aumento da peroxidação lipídica e diminuição de Catalase (CAT) e Glutathione redutase (Moretti et al., 2012). Em outro estudo também foi visto aumento da peroxidação lipídica, diminuição das defesas antioxidantes, CAT, SOD, GPx (Jindal et al., 2013), e aumento da carbonilação de proteínas (Arent et al., 2012), em modelo animal de depressão. Nossos resultados mostram que a sepse associada ao modelo de depressão não foi suficiente para aumentar o dano oxidativo a lipídeos e proteínas. Esses resultados precisam ser mais investigados, visto que na literatura encontra-se dano oxidativo em modelo animal de sepse.

Assim sugere-se que a sepse em relação ao dano oxidativo não apresenta ser um fator de risco para a depressão. Estudos adicionais serão feitos para saber a conexão das duas doenças, podemos verificar que são poucos os resultados na literatura sobre o tema visto e a dificuldade de discutir o assunto. Podemos observar que são necessários mais estudos para esclarecer a relação da sepse com o transtorno depressivo maior.

Para estudar sistemas envolvidos com o transtorno bipolar, pelo qual atualmente foi estabelecida sua nova nomenclatura, instituída pelo novo DSM V, são essenciais estudos em modelo animal de mania, assim possíveis drogas podem ser testadas até chegar à clínica e surtir efeito eficaz e com menos reações adversas possíveis (Manji e Chen, 2002).

Então para avaliar a pré-disposição de mania em ratos submetidos à sepse, este estudo resultou que o grupo sham quando administrado 1 mg/kg de m-AMPH há um aumento do número de crossing e rearings quando comparado ao grupo sham que recebeu solução salina, corroborando com a literatura (Valvassori et al., 2011), em que o grupo que recebeu salina e m-AMPH houve um aumento significativo na atividade locomotora, tanto no crossing quanto no rearing. Já o grupo CLP e m-AMPH não houve essa alteração na locomoção e exploração, sugerindo que a sepse pode não pré dispor à mania após 30 dias à indução de sepse.

O fármaco utilizado para induzir a mania foi m-AMPH, esta pelo qual é psicoestimulante do SNC, porém mais forte que a destro-anfetamina (D-AMPH).

Neste estudo avaliou-se o estresse oxidativo em diferentes estruturas, já que esse modelo de administração crônica de m-AMPH induz a hiperlocomoção em ratos (Valvassori et al., 2011). Assim, houve um aumento significativo de carbonilação de proteínas no

estriado do grupo CLP e m-AMPH (0,25mg/kg e 1mg/kg). Já o dano em lipídeos, avaliado pelo teste bioquímico TBARS, houve aumento significativo de níveis MDA no hipocampo de ratos sépticos.

Entretanto na literatura já está bem descrito que há aumento de peroxidação lipídica em modelo animal de mania induzido por anfetamina. Em um estudo houve aumento de peroxidação lipídica no plasma e no hipocampo, assim como dano ao DNA em modelo animal de mania induzido por m-anfetamina. A carbonilação de proteínas também é vista nesse modelo (Andreazza et al., 2008).

Resultados de um estudo foi observado aumento de carbonilação de proteínas no córtex pré-frontal, hipocampo e estriado (Valvassori et al., 2011). Em outro modelo animal de mania induzido por d-anfetamina foi possível verificar aumento de peroxidação lipídica no córtex pré-frontal (Frey et al., 2006). Em adição a esse modelo animal induzido por d-anfetamina, também foi visto aumento de peroxidação lipídica no córtex pré-frontal, amígdala, hipocampo e estriado. Entretanto já está descrito na literatura que a sepse causa dano oxidativo a lipídeos e proteínas. Esses resultados do presente estudo mostram que apenas houve dano ao lipídeos no hipocampo apenas no grupo CLP. Não houve diferença estatística quando administrado m-anfetamina. Na carbonilação de proteínas, foi possível verificar que houve aumento a proteínas no grupo CLP nas doses de 0,25mg/kg e 1mg/kg de m-anfetamina. Sugere-se então que a sepse não predispõe dano oxidativo em modelo animal de mania. Interessantemente houve uma indução comportamental no grupo CLP com M-AMPH, mas sem indução de dano oxidativo, ou seja, pode ser que outra via esteja envolvida na expressão comportamental.

De acordo com a literatura, as neurotrofinas fazem parte nos processos de memória e cognição. Em modelo animal de mania por d-AMPH foi verificado aumento dos níveis de BDNF (Frey et al., 2006). Em outro estudo foi observado aumento significativo de BDNF e NGF em modelo animal de mania (Valvassori et al., 2011). Recentemente foi demonstrada diminuição nos níveis de BDNF, NGF e GDNF nas estruturas cerebrais de córtex pré-frontal e hipocampo (Varela et al., 2013). Em contrapartida em modelo animal de sepse também já está descrito que há uma diminuição de BDNF e aumento de NGF no hipocampo (Comim et al., 2010).

Os resultados desse estudo mostram que houve uma diminuição de BDNF, NGF e GDNF no grupo CLP. Entretanto foi possível observar uma diminuição nos níveis de BDNF no grupo CLP com administração das doses de 0,25mg/kg e 1mg/kg de m-AMPH. Os níveis

de NGF houve aumento no grupo CLP com a dose de 0,25mg/kg e diminuição com a dose 0,5mg/kg. Já os níveis de GDNF foi verificado aumento no grupo CLP com as doses de 0,25mg/kg e 0,5mg/kg.

Até o momento, apenas um estudo traz o tratamento de Lítio (fármaco usado para tratamento do transtorno bipolar) em modelo animal de sepse, sendo que esses resultados mostram que após administração de Lítio houve uma diminuição de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α), indicando uma possível ação terapêutica para a sepse (Albayrak et al., 2013). Até a data, não foi possível verificar a exata relação de sepse com risco para transtorno bipolar. Resultados desse trabalho mostram que a sepse predispõe uma alteração comportamental, alteração nos níveis de neurotrofinas, e portanto sem alteração de dano oxidativo em modelo animal de mania.

6 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que não houve expressão das proteínas DARP 32 e NCS1 nas estruturas estudadas, porém no hipocampo observou-se uma diminuição de NCS1 48h após a sepse. Sugerindo um dano inicial não suficiente para atingir outras estruturas.

Quando comparados os animais sépticos submetidos aos modelos animais de transtornos com os animais controles, sugere-se que a sepse susceptibilizou ao comportamento de esquizofrenia, o mesmo não ocorrendo com o estresse oxidativo. Nos outros modelos a sepse não induziu ao transtorno depressivo e nem maníaco tanto bioquimicamente como comportamentalmente.

Isso sugere que outra via esteja envolvida nesse processo e que estudos adicionais ainda precisam ser realizados para maiores esclarecimentos sobre o assunto.

REFERÊNCIAS

American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992; 20(6):864-874.

Albayrak A, Halici Z, Polat B, Karakus E, Cadirci E, Bayir Y, Kunak S, Karcioglu SS, Yigit S, Unal D, Atamanalp SS. Protective effects of lithium: a new look at an old drug with potential antioxidative and anti-inflammatory effects in an animal model of sepsis. *Int Immunopharmacol.* 2013; 16(1):35-40.

Albert KA, Hemmings HC, Jr., Adamo AI, Potkin SG, Akbarian S, Sandman CA, Cotman CW, Bunney WE, Jr., Greengard P. Evidence for decreased DARPP-32 in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2002; 59(8):705-712.

Anderson IM, Ferrier IN, Baldwin RC, Cowen PJ, Howard L, Lewis G, Matthews K, McAllister-Williams RH, Peveler RC, Scott J, Tylee A. Evidence-based guidelines for treating depressive disorders with antidepressants: a revision of the 2000 British Association for Psychopharmacology guidelines. *J Psychopharmacol.* 2008; 22(4):343-396.

Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, Yatham LN. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord.* 2008; 111(2-3):135-144.

Angelucci F, Aloe L, Vasquez PJ, Mathe AA. Mapping the differences in the brain concentration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) in an animal model of depression. *Neuroreport.* 2000; 11(6):1369-1373.

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001; 29(7):1303-1310.

Araujo AC, Neto FL. A nova classificação americana para os transtornos mentais – o DSM 5. *Rev Bras de Ter Comport e Cog.* 2014; 16(1):67-82.

Arent CO, Reus GZ, Abelaira HM, Ribeiro KF, Steckert AV, Mina F, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Synergist effects of n-acetylcysteine and deferoxamine treatment on behavioral and oxidative parameters induced by chronic mild stress in rats. *Neurochem Int.* 2012; 61(7):1072-1080.

Auld DS, Mennicken F, Quirion R. Nerve growth factor rapidly induces prolonged acetylcholine release from cultured basal forebrain neurons: differentiation between neuromodulatory and neurotrophic influences. *J Neurosci.* 2001; 21(10):3375-3382.

Banerjee R, Hazra S, Ghosh AK, Mondal AC. Chronic administration of bacopa monniera increases BDNF protein and mRNA expressions: a study in chronic unpredictable stress induced animal model of depression. *Psychiatry Investig.* 2014; 11(3):297-306.

Battisti JJ, Shreffler CB, Uretsky NJ, Wallace LJ. NMDA antagonists block expression of sensitization of amphetamine- and apomorphine-induced stereotypy. *Pharmacol Biochem Behav.* 2000; 67(2):241-246.

Biff D, Petronilho F, Constantino L, Vuolo F, Zamora-Berridi GJ, Dall'Igna DM, Comim CM, Quevedo J, Kapczinski F, Dal-Pizzol F. Correlation of acute phase inflammatory and oxidative markers with long-term cognitive impairment in sepsis survivors rats. *Shock.* 2013; 40(1):45-48.

Bitanhirwe BK, Woo TU. Oxidative stress in schizophrenia: an integrated approach. *Neurosci Biobehav Rev.* 2011;35(3):878-893.

Boison D, Singer P, Shen HY, Feldon J, Yee BK. Adenosine hypothesis of schizophrenia--opportunities for pharmacotherapy. *Neuropharmacology.* 2012; 62(3):1527-1543.

Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest.* 1997; 112(1):235-243.

Boulanger LM. Immune proteins in brain development and synaptic plasticity. *Neuron.* 2009; 64(1):93-109.

Bouzinova EV, Norregaard R, Boedtkjer DM, Razgovorova IA, Moeller AM, Kudryavtseva O, Wiborg O, Aalkjaer C, Matchkov VV. Association between endothelial dysfunction and depression-like symptoms in chronic mild stress model of depression. *Psychosom Med.* 2014; 76(4):268-276.

Brun-Buisson C. Minimizing antibiotic exposure in the ICU: in search of the optimal strategy. *Crit Care.* 2014; 18(5):014-0613.

Burgoyne RD. Neuronal calcium sensor proteins: generating diversity in neuronal Ca²⁺ signalling. *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8(3):182-193.

Calsavara AC, Soriani FM, Vieira LQ, Costa PA, Rachid MA, Teixeira AL. Erratum to: TNFR1 absence protects against memory deficit induced by sepsis possibly through over-expression of hippocampal BDNF. *Metab Brain Dis.* 2014; 5:5.

Canever L, Oliveira L, D'Altoe de Luca R, Correa PT, de BFD, Matos MP, Scaini G, Quevedo J, Streck EL, Zugno AI. A rodent model of schizophrenia reveals increase in creatine kinase activity with associated behavior changes. *Oxid Med Cell Longev.* 2010; 3(6):421-427.

Cassol-Jr OJ, Comim CM, Constantino LS, Rosa DV, Mango LA, Stertz L, Kapczinski F, Romano-Silva MA, Quevedo J, Dal-Pizzol F. Acute low dose of MK-801 prevents memory deficits without altering hippocampal DARPP-32 expression and BDNF levels in sepsis survivor rats. *J Neuroimmunol.* 2011; 230(1-2):48-51.

Chen XL, Zhong ZG, Yokoyama S, Bark C, Meister B, Berggren PO, Roder J, Higashida H, Jeromin A. Overexpression of rat neuronal calcium sensor-1 in rodent NG108-15 cells enhances synapse formation and transmission. *J Physiol.* 2001; 532(Pt 3):649-659.

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.

Comim CM, Vilela MC, Constantino LS, Petronilho F, Vuolo F, Lacerda-Queiroz N, Rodrigues DH, da Rocha JL, Teixeira AL, Quevedo

J, Dal-Pizzol F. Traffic of leukocytes and cytokine up-regulation in the central nervous system in sepsis. *Intensive Care Med.* 2011; 37(4):711-718.

Comim CM, Silva NC, Mina F, Dominghini D, Scaini G, Morais MO, Rosa DV, Magno LA, Streck EL, Romano-Silva MA, Quevedo J, Dal-Pizzol F. Evaluation of NCS-1, DARPP-32, and neurotrophins in hippocampus and prefrontal cortex in rats submitted to sepsis. *Synapse.* 2014; 68(10):474-479.

Cuello AC, Garofalo L, Kenigsberg RL, Maysinger D. Gangliosides potentiate in vivo and in vitro effects of nerve growth factor on central cholinergic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989; 86(6):2056-2060.

Cunha BA. Fever in the critical care unit. *Crit Care Clin.* 1998; 14(1):1-14.

Dal-Pizzol F, Tomasi CD, Ritter C. Septic encephalopathy: does inflammation drive the brain crazy? *Rev Bras Psiquiatr.* 2014; 36(3):251-258.

Davydow DS, Hough CL, Langa KM, Iwashyna TJ. Symptoms of depression in survivors of severe sepsis: a prospective cohort study of older Americans. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2013; 21(9):887-897.

de Oliveira L, Spiazzi CM, Bortolin T, Canever L, Petronilho F, Mina FG, Dal-Pizzol F, Quevedo J, Zugno AI. Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009; 33(6):1003-1008.

Della FP, Abelaira HM, Reus GZ, Santos MA, Tomaz DB, Antunes AR, Scaini G, Morais MO, Streck EL, Quevedo J. Treatment with tianeptine induces antidepressive-like effects and alters the neurotrophin levels, mitochondrial respiratory chain and cycle Krebs enzymes in the brain of maternally deprived adult rats. *Metab Brain Dis.* 2013; 28(1):93-105.

Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990; 186:421-431.

Durany N, Michel T, Zochling R, Boissl KW, Cruz-Sanchez FF, Riederer P, Thome J. Brain-derived neurotrophic factor and

neurotrophin 3 in schizophrenic psychoses. *Schizophr Res.* 2001; 52(1-2):79-86.

Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry.* 2003; 60(8):804-815.

Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res.* 1990; 49(2):186-196.

Francia N, Cirulli F, Chiarotti F, Antonelli A, Aloe L, Alleva E. Spatial memory deficits in middle-aged mice correlate with lower exploratory activity and a subordinate status: role of hippocampal neurotrophins. *Eur J Neurosci.* 2006; 23(3):711-728.

Frey BN, Andrezza AC, Cereser KM, Martins MR, Valvassori SS, Reus GZ, Quevedo J, Kapczinski F. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. *Life Sci.* 2006; 79(3):281-286.

Galeotti N, Bartolini A, Ghelardini C. Blockade of intracellular calcium release induces an antidepressant-like effect in the mouse forced swimming test. *Neuropharmacology.* 2006; 50(3):309-316.

Gama CS, Canever L, Panizzutti B, Gubert C, Stertz L, Massuda R, Pedrini M, de Lucena DF, Luca RD, Fraga DB, Heylmann AS, Deroza PF, Zugno AI. Effects of omega-3 dietary supplement in prevention of positive, negative and cognitive symptoms: a study in adolescent rats with ketamine-induced model of schizophrenia. *Schizophr Res.* 2012; 141(2-3):162-167.

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.

Garcia LS, Comim CM, Valvassori SS, Reus GZ, Stertz L, Kapczinski F, Gavioli EC, Quevedo J. Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009; 33(3):450-455.

Gatta C, Castaldo L, Cellerino A, de Girolamo P, Lucini C, D'Angelo L. Brain derived neurotrophic factor in the retina of the teleost *N. furzeri*. *Ann Anat.* 2014; 196(4):192-196.

George DN, Duffaud AM, Pothuizen HH, Haddon JE, Killcross S. Lesions to the ventral, but not the dorsal, medial prefrontal cortex enhance latent inhibition. *Eur J Neurosci.* 2010; 31(8):1474-1482.

Gersner R, Gal R, Levit O, Moshe H, Zangen A. Inherited behaviors, BDNF expression and response to treatment in a novel multifactorial rat model for depression. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2014; 17(6):945-955.

Gilmer TP, Dolder CR, Lacro JP, Folsom DP, Lindamer L, Garcia P, Jeste DV. Adherence to treatment with antipsychotic medication and health care costs among Medicaid beneficiaries with schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2004; 161(4):692-699.

Goldstein BI, Collinger KA, Lotrich F, Marsland AL, Gill MK, Axelson DA, Birmaher B. Preliminary findings regarding proinflammatory markers and brain-derived neurotrophic factor among adolescents with bipolar spectrum disorders. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2011; 21(5):479-484.

Gomez M, De Castro E, Guarin E, Sasakura H, Kuhara A, Mori I, Bartfai T, Bargmann CI, Nef P. Ca²⁺ signaling via the neuronal calcium sensor-1 regulates associative learning and memory in *C. elegans*. *Neuron.* 2001; 30(1):241-248.

Graeff FG, Brandao ML, Audi EA, Schutz MT. Modulation of the brain aversive system by GABAergic and serotonergic mechanisms. *Behav Brain Res.* 1986; 22(2):173-180.

Granja C, Dias C, Costa-Pereira A, Sarmiento A. Quality of life of survivors from severe sepsis and septic shock may be similar to that of others who survive critical illness. *Crit Care.* 2004; 8(2):20.

Guo X, Park Y, Freedman ND, Sinha R, Hollenbeck AR, Blair A, Chen H. Sweetened beverages, coffee, and tea and depression risk among older US adults. *PLoS One.* 2014; 9(4).

Handley MT, Lian LY, Haynes LP, Burgoyne RD. Structural and functional deficits in a neuronal calcium sensor-1 mutant identified in a case of autistic spectrum disorder. *PLoS One*. 2010; 5(5):0010534.

Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry*. 2005; 10(1):40-68.

Hatou K. [Mental Health Atlas 2011 (WHO)]. *Seishin Shinkeigaku Zasshi*. 2014; 116(4):267.

Hirst RA, Mohammed BJ, Mitchell TJ, Andrew PW, O'Callaghan C. *Streptococcus pneumoniae*-induced inhibition of rat ependymal cilia is attenuated by antipneumolysin antibody. *Infect Immun*. 2004; 72(11):6694-6698.

Hitri A, O'Connor DA, Cohen JM, Keuler DJ, Deutsch SI. Differentiation between MK-801- and apomorphine-induced stereotyped behaviors in mice. *Clin Neuropharmacol*. 1993; 16(3):220-236.

Hoertnagl CM, Muehlbacher M, Biedermann F, Yalcin N, Baumgartner S, Schwitzer G, Deisenhammer EA, Hausmann A, Kemmler G, Benecke C, Hofer A. Facial emotion recognition and its relationship to subjective and functional outcomes in remitted patients with bipolar I disorder. *Bipolar Disord*. 2011; 13(5-6):537-544.

Holub M. [Sepsis: infection and systemic inflammatory response]. *Cas Lek Cesk*. 2007; 146(2):109-114.

Hotchkiss RS, Tinsley KW, Karl IE. Role of apoptotic cell death in sepsis. *Scand J Infect Dis*. 2003; 35(9):585-592.

Huh CY, Danik M, Manseau F, Trudeau LE, Williams S. Chronic exposure to nerve growth factor increases acetylcholine and glutamate release from cholinergic neurons of the rat medial septum and diagonal band of Broca via mechanisms mediated by p75^{NTR}. *J Neurosci*. 2008; 28(6):1404-1409.

Hunt MJ, Raynaud B, Garcia R. Ketamine dose-dependently induces high-frequency oscillations in the nucleus accumbens in freely moving rats. *Biol Psychiatry*. 2006; 60(11):1206-1214.

Hurley J. The lifeworld characteristics of mental health nurses engaging in talk-based therapies: a qualitative study from Scotland and England. *J Psychiatr Ment Health Nurs.* 2012; 19(4):303-309.

Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *Jama.* 2010; 304(16):1787-1794.

Jacob A, Brorson JR, Alexander JJ. Septic encephalopathy: inflammation in man and mouse. *Neurochem Int.* 2011; 58(4):472-476.

Jawad I, Luksic I, Rafnsson SB. Assessing available information on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality. *J Glob Health.* 2012; 2(1):010404.

Jindal A, Mahesh R, Bhatt S. Etazolate, a phosphodiesterase 4 inhibitor reverses chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior and brain oxidative damage. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013; 105:63-70.

Kalmady SV, Venkatasubramanian G, Shivakumar V, Gautham S, Subramaniam A, Jose DA, Maitra A, Ravi V, Gangadhar BN. Relationship between Interleukin-6 gene polymorphism and hippocampal volume in antipsychotic-naive schizophrenia: evidence for differential susceptibility? *PLoS One.* 2014; 9(5).

Kane JM, Correll CU. Pharmacologic treatment of schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci.* 2010; 12(3):345-357.

Kapczinski F, Frey BN, Zannatto V. [Physiopathology of bipolar disorders: what have changed in the last 10 years?]. *Rev Bras Psiquiatr.* 2004; 3:17-21.

Kaplan GB, Vasterling JJ, Vedak PC. Brain-derived neurotrophic factor in traumatic brain injury, post-traumatic stress disorder, and their comorbid conditions: role in pathogenesis and treatment. *Behav Pharmacol.* 2010; 21(5-6):427-437.

Kaymak C, Kadioglu E, Ozcagli E, Osmanoglu G, Izdes S, Agalar C, Basar H, Sardas S. Oxidative DNA damage and total antioxidant status

in rats during experimental gram-negative sepsis. *Hum Exp Toxicol*. 2008; 27(6):485-491.

Keri S, Szamosi A, Benedek G, Kelemen O. How does the hippocampal formation mediate memory for stimuli processed by the magnocellular and parvocellular visual pathways? Evidence from the comparison of schizophrenia and amnesic mild cognitive impairment (aMCI). *Neuropsychologia*. 2012; 50(14):3193-3199.

Keshavan MS, Morris DW, Sweeney JA, Pearlson G, Thaker G, Seidman LJ, Eack SM, Tamminga C. A dimensional approach to the psychosis spectrum between bipolar disorder and schizophrenia: the Schizo-Bipolar Scale. *Schizophr Res*. 2011; 133(1-3):250-254.

Ketter TA. Nosology, diagnostic challenges, and unmet needs in managing bipolar disorder: *J Clin Psychiatry*. 2010 Oct;71(10):e27. doi: 10.4088/JCP.8125tx12c.

Lamar CD, Hurley RA, Taber KH. Sepsis-associated encephalopathy: review of the neuropsychiatric manifestations and cognitive outcome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2011; 23(3):237-241.

Lara DR, Dall'Igna OP, Ghisolfi ES, Brunstein MG. Involvement of adenosine in the neurobiology of schizophrenia and its therapeutic implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006; 30(4):617-629.

Lever A, Mackenzie I. Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis. *Bmj*. 2007; 335(7625):879-883.

Levine J, Etter J, Apostol I. Nickel-catalyzed N-terminal oxidative deamination in peptides containing histidine at position 2 coupled with sulfite oxidation. *J Biol Chem*. 1999; 274(8):4848-4857.

Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003; 31(4):1250-1256.

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

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193(1):265-275.

Luo XM, Yuan SN, Guan XT, Xie X, Shao F, Wang WW. Juvenile stress affects anxiety-like behavior and limbic monoamines in adult rats. *Physiol Behav.* 2014; 135:7-16.

Manji HK, Drevets WC, Charney DS. The cellular neurobiology of depression. *Nat Med.* 2001; 7(5):541-547.

Manji HK, Chen G. PKC, MAP kinases and the bcl-2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers. *Mol Psychiatry.* 2002; 7(1):S46-56.

Marsland AL, Gianaros PJ, Abramowitch SM, Manuck SB, Hariri AR. Interleukin-6 covaries inversely with hippocampal grey matter volume in middle-aged adults. *Biol Psychiatry.* 2008; 64(6):484-490.

Martinez-Aran A, Vieta E, Reinares M, Colom F, Torrent C, Sanchez-Moreno J, Benabarre A, Goikolea JM, Comes M, Salamero M. Cognitive function across manic or hypomanic, depressed, and euthymic states in bipolar disorder. *Am J Psychiatry.* 2004; 161(2):262-270.

Martins-de-Souza D, Gattaz WF, Schmitt A, Rewerts C, Marangoni S, Novello JC, Maccarrone G, Turck CW, Dias-Neto E. Alterations in oligodendrocyte proteins, calcium homeostasis and new potential markers in schizophrenia anterior temporal lobe are revealed by shotgun proteome analysis. *J Neural Transm.* 2009; 116(3):275-289.

Mastronardi CA, Srivastava V, Yu WH, Dees WL, McCann SM. Lipopolysaccharide-induced leptin synthesis and release are differentially controlled by alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Neuroimmunomodulation.* 2005; 12(3):182-188.

McGrath JA, Avramopoulos D, Lasseter VK, Wolynec PS, Fallin MD, Liang KY, Nestadt G, Thornquist MH, Luke JR, Chen PL, Valle D, Pulver AE. Familiality of novel factorial dimensions of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2009; 66(6):591-600.

Meyer U, Feldon J. Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia. *Prog Neurobiol.* 2010; 90(3):285-326.

Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S, Ichinose H, Nagatsu T. Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 1999; 270(1):45-48.

Moretti M, Colla A, de Oliveira Balen G, dos Santos DB, Budni J, de Freitas AE, Farina M, Severo Rodrigues AL. Ascorbic acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress. *J Psychiatr Res*. 2012; 46(3):331-340.

Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997; 349(9063):1436-1442.

Nagahara AH, Tuszynski MH. Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov*. 2011; 10(3):209-219.

Namjoshi MA, Buesching DP. A review of the health-related quality of life literature in bipolar disorder. *Qual Life Res*. 2001; 10(2):105-115.

Nemeroff CB, Owens MJ. Treatment of mood disorders. *Nat Neurosci*. 2002; 5(70):1068-1070.

Nielsen PR, Benros ME, Mortensen PB. Hospital contacts with infection and risk of schizophrenia: a population-based cohort study with linkage of Danish national registers. *Schizophr Bull*. 2014; 40(6):1526-1532.

Niesink RJ, Van Ree JM. Involvement of opioid and dopaminergic systems in isolation-induced pinning and social grooming of young rats. *Neuropharmacology*. 1989; 28(4):411-418.

Olafsson P, Wang T, Lu B. Molecular cloning and functional characterization of the *Xenopus* Ca(2+)-binding protein frequenin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92(17):8001-8005.

Opara EC. Oxidative stress. *Dis Mon*. 2006; 52(5):183-198.

Organização Mundial de Saúde. Ação de saúde pública para a prevenção do suicídio: um quadro. WHO; 2012.

Organização Mundial de Saúde. Summary report on the Consultative meeting on strategic guidance for control of emerging infectious diseases with zoonotic origin. Cairo. WHO; 2014.

Ouimet CC, LaMantia AS, Goldman-Rakic P, Rakic P, Greengard P. Immunocytochemical localization of DARPP-32, a dopamine and cyclic-AMP-regulated phosphoprotein, in the primate brain. *J Comp Neurol*. 1992; 323(2):209-218.

Papadopoulos MC, Davies DC, Moss RF, Tighe D, Bennett ED. Pathophysiology of septic encephalopathy: a review. *Crit Care Med*. 2000; 28(8):3019-3024.

Papp M, Gruca P, Lason-Tyburkiewicz M, Adham N, Kiss B, Gyertyan I. Attenuation of anhedonia by cariprazine in the chronic mild stress model of depression. *Behav Pharmacol*. 2014; 25(5-6):567-574.

Pehar M, Vargas MR, Robinson KM, Cassina P, England P, Beckman JS, Alzari PM, Barbeito L. Peroxynitrite transforms nerve growth factor into an apoptotic factor for motor neurons. *Free Radic Biol Med*. 2006;41(11):1632-1644.

Perera TD, Coplan JD, Lisanby SH, Lipira CM, Arif M, Carpio C, Spitzer G, Santarelli L, Scharf B, Hen R, Rosoklija G, Sackeim HA, Dwork AJ. Antidepressant-induced neurogenesis in the hippocampus of adult nonhuman primates. *J Neurosci*. 2007; 27(18):4894-4901.

Petrie RX, Reid IC, Stewart CA. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity, and depressive disorder. A critical review. *Pharmacol Ther*. 2000; 87(1):11-25.

Pickard B. Progress in defining the biological causes of schizophrenia. *Expert Rev Mol Med*. 2011; 28(13).

Pillai A, Mahadik SP. Increased truncated TrkB receptor expression and decreased BDNF/TrkB signaling in the frontal cortex of reeler mouse model of schizophrenia. *Schizophr Res*. 2008; 100(1-3):325-333.

Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*. 2008; 33(1):88-109.

Pongs O, Lindemeier J, Zhu XR, Theil T, Engelkamp D, Krah-Jentgens I, Lambrecht HG, Koch KW, Schwemer J, Rivosecchi R, et al. Frequenin--a novel calcium-binding protein that modulates synaptic efficacy in the *Drosophila* nervous system. *Neuron*. 1993; 11(1):15-28.

Quevedo J, Moretto A, Colvero M, Roesler R, Ferreira MB. The N-methyl-D-aspartate receptor blocker MK-801 prevents the facilitatory effects of naloxone and epinephrine on retention of inhibitory avoidance task in rats. *Behav Pharmacol*. 1997; 8(5):471-474.

Rantakallio P, Jones P, Moring J, Von Wendt L. Association between central nervous system infections during childhood and adult onset schizophrenia and other psychoses: a 28-year follow-up. *Int J Epidemiol*. 1997; 26(4):837-843.

Rezin GT, Amboni G, Zugno AI, Quevedo J, Streck EL. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Neurochem Res*. 2009; 34(6):1021-1029.

Robinson LJ, Ferrier IN. Evolution of cognitive impairment in bipolar disorder: a systematic review of cross-sectional evidence. *Bipolar Disord*. 2006; 8(2):103-116.

Roesler R, Schroder N, Vianna MR, Quevedo J, Bromberg E, Kapczinski F, Ferreira MB. Differential involvement of hippocampal and amygdalar NMDA receptors in contextual and aversive aspects of inhibitory avoidance memory in rats. *Brain Res*. 2003; 975(1-2):207-213.

Saab BJ, Georgiou J, Nath A, Lee FJ, Wang M, Michalon A, Liu F, Mansuy IM, Roder JC. NCS-1 in the dentate gyrus promotes exploration, synaptic plasticity, and rapid acquisition of spatial memory. *Neuron*. 2009; 63(5):643-656.

Sagy M, Al-Qaqaa Y, Kim P. Definitions and pathophysiology of sepsis. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2013; 43(10):260-263.

Salvo I, de Cian W, Musicco M, Langer M, Piadena R, Wolfler A, Montani C, Magni E. The Italian SEPSIS study: preliminary results on the incidence and evolution of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med.* 1995; 21(2):S244-249.

Sanacora G, Zarate CA, Krystal JH, Manji HK. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2008; 7(5):426-437.

Sattler R, Rothstein JD. Targeting an old mechanism in a new disease-protection of glutamatergic dysfunction in depression. *Biol Psychiatry.* 2007; 61(2):137-138.

Schneider T, Turczak J, Przewlocki R. Environmental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: issues for a therapeutic approach in autism. *Neuropsychopharmacology.* 2006; 31(1):36-46.

Schultz SH, North SW, Shields CG. Schizophrenia: a review. *Am Fam Physician.* 2007; 75(12):1821-1829.

Semmler A, Widmann CN, Okulla T, Urbach H, Kaiser M, Widman G, Mormann F, Weide J, Fliessbach K, Hoeft A, Jessen F, Putensen C, Heneka MT. Persistent cognitive impairment, hippocampal atrophy and EEG changes in sepsis survivors. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013; 84(1):62-69.

Sharshar T, Gray F, Lorin de la Grandmaison G, Hopkinson NS, Ross E, Dorandeu A, Orlikowski D, Raphael JC, Gajdos P, Annane D. Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock. *Lancet.* 2003; 362(9398):1799-1805.

Silva E, Pedro Mde A, Sogayar AC, Mohovic T, Silva CL, Janiszewski M, Cal RG, de Sousa EF, Abe TP, de Andrade J, de Matos JD, Rezende E, Assuncao M, Avezum A, Rocha PC, de Matos GF, Bento AM, Correa AD, Vieira PC, Knobel E. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care.* 2004; 8(4):15.

Sippy T, Cruz-Martin A, Jeromin A, Schweizer FE. Acute changes in short-term plasticity at synapses with elevated levels of neuronal calcium sensor-1. *Nat Neurosci.* 2003; 6(10):1031-1038.

Smith JW, Gastambide F, Gilmour G, Dix S, Foss J, Lloyd K, Malik N, Tricklebank M. A comparison of the effects of ketamine and phencyclidine with other antagonists of the NMDA receptor in rodent assays of attention and working memory. *Psychopharmacology.* 2011; 217(2):255-269.

Song SO, Hogg J, Peng ZY, Parker R, Kellum JA, Clermont G. Correction: ensemble models of neutrophil trafficking in severe sepsis. *PLoS Comput Biol.* 2012; 8(8):14.

Sprung CL, Peduzzi PN, Shatney CH, Schein RM, Wilson MF, Sheagren JN, Hinshaw LB. Impact of encephalopathy on mortality in the sepsis syndrome. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. *Crit Care Med.* 1990; 18(8):801-806.

Streck EL, Comim CM, Barichello T, Quevedo J. The septic brain. *Neurochem Res.* 2008; 33(11):2171-2177.

Svenningsson P, Nishi A, Fisone G, Girault JA, Nairn AC, Greengard P. DARPP-32: an integrator of neurotransmission. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004; 44:269-296.

Tajima K, Fernandez H, Lopez-Ibor JL, Carrasco JL, Diaz-Marsa M. Schizophrenia treatment. Critical review on the drugs and mechanisms of action of antipsychotics. *Actas Esp Psiquiatr.* 2009; 37(6):330-342.

Takala A, Nupponen I, Kylanpaa-Back ML, Repo H. Markers of inflammation in sepsis. *Ann Med.* 2002; 34(7-8):614-623.

Tsung A, McCoy SL, Klune JR, Geller DA, Billiar TR, Hefeneider SH. A novel inhibitory peptide of Toll-like receptor signaling limits lipopolysaccharide-induced production of inflammatory mediators and enhances survival in mice. *Shock.* 2007; 27(4):364-369.

Tuon L, Comim CM, Antunes MM, Constantino LS, Machado RA, Izquierdo I, Quevedo J, Dal-Pizzol F. Imipramine reverses the

depressive symptoms in sepsis survivor rats. *Intensive Care Med.* 2007; 33(12):2165-2167.

Tuon L, Comim CM, Petronilho F, Barichello T, Izquierdo I, Quevedo J, Dal-Pizzol F. Time-dependent behavioral recovery after sepsis in rats. *Intensive Care Med.* 2008; 34(9):1724-1731.

Tytgat J, Maertens C, Daenens P. Effect of fluoxetine on a neuronal, voltage-dependent potassium channel (Kv1.1). *Br J Pharmacol.* 1997; 122(7):1417-1424.

Umbricht D, Schmid L, Koller R, Vollenweider FX, Hell D, Javitt DC. Ketamine-induced deficits in auditory and visual context-dependent processing in healthy volunteers: implications for models of cognitive deficits in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2000; 57(12):1139-1147.

Valenstein M, Blow FC, Copeland LA, McCarthy JF, Zeber JE, Gillon L, Bingham CR, Stavenger T. Poor antipsychotic adherence among patients with schizophrenia: medication and patient factors. *Schizophr Bull.* 2004; 30(2):255-264.

Valvassori SS, Elias G, de Souza B, Petronilho F, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Trzesniak C, Tumas V, Dursun S, Chagas MH, Hallak JE, Zuardi AW, Quevedo J, Crippa JA. Effects of cannabidiol on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J Psychopharmacol.* 2011; 25(2):274-280.

Vandijck D, Decruyenaere JM, Blot SI. The value of sepsis definitions in daily ICU-practice. *Acta Clin Belg.* 2006; 61(5):220-226.

Varela RB, Valvassori SS, Lopes-Borges J, Fraga DB, Resende WR, Arent CO, Zugno AI, Quevedo J. Evaluation of acetylcholinesterase in an animal model of mania induced by D-amphetamine. *Psychiatry Res.* 2013;209(2):229-234.

Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ. Sepsis definitions - Authors' reply: *Lancet.* 2013 Jun 29;381(9885):2250. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61476-2.

Vincent JL. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Crit Care Med.* 1997; 25(2):372-374.

Vincent JL. Update on sepsis: pathophysiology and treatment. *Acta Clin Belg.* 2000; 55(2):79-87.

Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ. Sepsis definitions: time for change. *Lancet.* 2013; 381(9868):774-775.

Warren HS. Strategies for the treatment of sepsis: *N Engl J Med.* 1997 Mar 27; 336(13):952-3.

Weiser M, Werbeloff N, Levine A, Livni G, Schreiber S, Halperin D, Yoffe R, Davidson M. CNS infection in childhood does not confer risk for later schizophrenia: a case-control study. *Schizophr Res.* 2010; 124(1-3):231-235.

Widmann CN, Heneka MT. Long-term cerebral consequences of sepsis. *Lancet Neurol.* 2014; 13(6):630-636.

Wiersinga WJ, Leopold SJ, Cranendonk DR, van der Poll T. Host innate immune responses to sepsis. *Virulence.* 2014; 5(1):36-44.

Williams DL, Ha T, Li C, Laffan J, Kalbfleisch J, Browder W. Inhibition of LPS-induced NFkappaB activation by a glucan ligand involves down-regulation of IKKbeta kinase activity and altered phosphorylation and degradation of IkappaBalpha. *Shock.* 2000; 13(6):446-452.

Wong ML, Rettori V, al-Shekhlee A, Bongiorno PB, Canteros G, McCann SM, Gold PW, Licinio J. Inducible nitric oxide synthase gene expression in the brain during systemic inflammation. *Nat Med.* 1996; 2(5):581-584.

Wright IC, Ellison ZR, Sharma T, Friston KJ, Murray RM, McGuire PK. Mapping of grey matter changes in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1999; 35(1):1-14.

Yolken RH, Torrey EF. Viruses, schizophrenia, and bipolar disorder. *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8(1):131-145.

Yolken RH, Torrey EF. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. *Mol Psychiatry*. 2008; 13(5):470-479.

Young GB, Bolton CF, Austin TW, Archibald YM, Gonder J, Wells GA. The encephalopathy associated with septic illness. *Clin Invest Med*. 1990; 13(6):297-304.

Zarate CA, Jr., Manji HK. Bipolar disorder: candidate drug targets. *Mt Sinai J Med*. 2008; 75(3):226-247.

Zendjidjian X, Richieri R, Adida M, Limousin S, Gaubert N, Parola N, Lancon C, Boyer L. Quality of life among caregivers of individuals with affective disorders. *J Affect Disord*. 2012; 136(3):660-665.

Zhou Y, Qu ZQ, Zeng YS, Lin YK, Li Y, Chung P, Wong R, Hagg U. Neuroprotective effect of preadministration with *Ganoderma lucidum* spore on rat hippocampus. *Exp Toxicol Pathol*. 2012; 64(7-8):673-680.

Zierhut KC, Schulte-Kemna A, Kaufmann J, Steiner J, Bogerts B, Schiltz K. Distinct structural alterations independently contributing to working memory deficits and symptomatology in paranoid schizophrenia. *Cortex*. 2013; 49(4):1063-1072.

Zuccato C, Ciammola A, Rigamonti D, Leavitt BR, Goffredo D, Conti L, MacDonald ME, Friedlander RM, Silani V, Hayden MR, Timmusk T, Sipione S, Cattaneo E. Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science*. 2001; 293(5529):493-498.

Zugno AI, Chipindo HL, Volpato AM, Budni J, Steckert AV, de Oliveira MB, Heylmann AS, da Rosa Silveira F, Mastella GA, Maravai SG, Wessler PG, Binatti AR, Panizzutti B, Schuck PF, Quevedo J, Gama CS. Omega-3 prevents behavior response and brain oxidative damage in the ketamine model of schizophrenia. *Neuroscience*. 2014; 259:223-231.

kappaB. *Crit Care Med*. 2005;33:414-416.

ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEUA



**Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais**

Resolução

A Comissão de Ética no Uso de Animais, normatizada pela Resolução n. 02/2011/Câmara Propex e pela Lei Federal 11.794/08, analisou o projeto abaixo.

Protocolo: 051-2014-02

Professor responsável: Josiane Budni

Equipe: Felipe Dal-Pizzol, Clarissa M. Comim, Bruna Pescador Mendonça, Monique Michels, Gislaine Zilli Réus.

Título: “A sepsse como fator de risco para o desenvolvimento de transtorno depressivos em ratos Wistar adultos”

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA. Foi autorizada a utilização do total de 56 Ratos Wistar, com 60 dias, pesando aproximadamente 300 g. Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos em que constam como pesquisadores. Para demais dúvidas, contatar a CEUA pelo e-mail ceua@unesc.net.

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794, has analyzed the following Project:

Protocol number: 051-2014-02

Principal Investigator: Josiane Budni

Researchers: Felipe Dal-Pizzol, Clarissa M. Comim, Bruna Pescador Mendonça, Monique Michels, Gislaine Zilli Réus

Project title: “Assessment of behavioral and biochemical sepsis as a risk factor for developing depressive disorder in adult Wistar rats”

The project was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on www.unesc.net/propex/ceua or by e-mail: ceua@unesc.net.

Criciúma, 22 de outubro de 2014.


JAIRO JOSÉ ZOCHE
 Coordenador da CEUA

ANEXO B – APROVAÇÃO DO CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense

Comissão de Ética no Uso de Animais

Resolução

A Comissão de Ética no Uso de Animais, normatizada pela Resolução n. 02/2011/Câmara Propex e pela Lei Federal 11.794/08, analisou o projeto abaixo.

Protocolo: 070-2014-02

Professor responsável: Josiane Budni

Equipe: Felipe Dal-Pizzol, Clarissa M. Comim, Bruna Pescador Mendonça, Samira Valvassori

Título: “Sepse como fator de sensibilização para o desenvolvimento de comportamento do tipo maniaco em ratos Wistar submetidos ao modelo animal de mania induzido por diferentes doses de anfetamina.”

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA. Foi autorizada a utilização do total de 112 Ratos Wistar, com 60 dias, pesando aproximadamente 250 g. Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos em que constam como pesquisadores. Para demais dúvidas, contatar a CEUA pelo e-mail ceua@unesc.net.

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794, has analyzed the following Project:

Protocol number: 070-2014-02

Principal Investigator: Josiane Budni

Researchers: Felipe Dal-Pizzol, Clarissa M. Comim, Bruna Pescador Mendonça, Samira Valvassori

Project title: “Sepsis as awareness factor for the development of the manic type behavior in rats submitted to an animal model of mania induced by different doses of amphetamine.”

The project was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on www.unesc.net/propex/ceua or by e-mail: ceua@unesc.net.

Criciúma, 16 de dezembro de 2014.


 JAIRO JOSÉ ZOCHE
 Coordenador da CEUA

ANEXO C – APROVAÇÃO DO CEUA



Resolução



A Comissão de Ética no Uso de Animais, normatizada pela Resolução n. 02/2011/Câmara Propex de acordo com a Lei Federal 11.794, analisou o projeto abaixo.

Protocolo: 041/2013-2

Professor Responsável: Alexandra I. Zugno.

Equipe: João Luciano Quevedo, Felipe Dal-Pizzol, Clarissa M. Comim, Ana Maria Volpato, Bruna Pescador Mendonça e Monique Michels.

Titulo: "A sepsse como fator de risco para o desenvolvimento de transtorno de esquizofrenia em ratos Wistar adultos".

Este projeto foi **Aprovado** em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada a CEUA. Foi autorizada a utilização de 240 Wistar 11 e 60 dias 50g a 200g . Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos em que constam como pesquisadores. Para demais dúvidas, contatar a CEUA pelo e-mail ceua@unesc.net.

The animal research Ethics Committee, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794, has analyzed the following Project:

Protocol number: 041/2013-2

Principal Investigator: Alexandra I. Zugno.

Researchers: João Luciano Quevedo, Felipe Dal-Pizzol, Clarissa M. Comim, Ana Maria Volpato, Bruna Pescador Mendonça e Monique Michels.

Project title: "Assessment of behavioral and biochemical sepsis as a risk factor for schizophrenia disorders in adult Wistar rats."

The project was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on www.unesc.net/propex/ceua or by e-mail: ceua@unesc.net.

Criciúma, 17 de setembro de 2013.

Patricia Fernanda Schuck

Coordenadora da CEUA

ANEXO D – APROVAÇÃO DO CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense UNESC
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA

**Resolução**

A Comissão de Ética no Uso de Animais, reconhecido pela Resolução n. 02/2011/Câmara Propex de acordo com a Lei Federal 11.794, analisou o projeto abaixo.

Protocolo: 91/2011

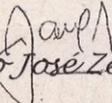
Professor:

João Quevedo

Título: "AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE BDNF E NGF EM CÉREBRO DE RATOS SUBMETIDOS AO MODELO DE SÉPSE POR LIGAÇÃO E PERFURAÇÃO CECAL ? CLP".

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicado a CEUA. Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores. Para demais dúvidas contatar a CEUA. www.unesc.net/propex/ceua.

Criciúma, 29 de novembro de 2011.


Jairo José Zocche

Coordenadora do CEUA

ANEXO E – APROVAÇÃO DO CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense UNESC
Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA

**Resolução**

O Comitê de Ética no Uso de Animais, reconhecido pela Resolução n. 04/2008/Câmara Propex de acordo com a Lei Federal 1153/95 (Lei Arouca), analisou o projeto abaixo.

Projeto: 47/2009

Pesquisador:

João Quevedo

Título: Alterações cognitivas ocasionadas pela sepse: Evidências de estudos em modelos animais".

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com a Lei Federal 1153/95 – Lei Arouca. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicado ao CEUA. Os membros do CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores

Criciúma, 14 de setembro de 2009.

Carina Rodrigues Boeck

Coordenadora do CEUA

ANEXO F – ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO

SYNAPSE 68:474–479 (2014)

Evaluation of NCS-1, DARPP-32, and Neurotrophins in Hippocampus and Prefrontal Cortex in Rats Submitted to Sepsis

CLARISSA M. COMIM,^{1*} NAPOLEÃO C. SILVA,² FRANCIELLE MINA,² DIOGO DOMINGUINI,² GISELLI SCAINI,² MELINE O.S. MORAIS,³ DANIELA Y. ROSA,⁴ LUIZ ALEXANDRE V. MAGNO,⁴ EMILIO L. STRECK,⁵ MARCO A. ROMANO-SILVA,⁴ JOAO QUEVEDO,^{1,2} AND FELIPE DAL-PIZZOL,¹
¹Postgraduate Program in Health Sciences, Laboratory of Experimental Neurosciences, Infectious Diseases Unit, University of South Santa Catarina, Palhoça, Santa Catarina, Brazil
²Graduate Program in Health Sciences, Laboratory of Neurosciences, Health Sciences Unit, University of Southern Santa Catarina, Criciúma, Santa Catarina, Brazil
³Postgraduate Program in Health Sciences, Laboratory of Experimental Physiopathology, Health Sciences Unit, University of Southern Santa Catarina, Criciúma, Santa Catarina, Brazil
⁴Laboratory of Neurosciences, Department of Mental Health, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais, 30130-100, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil
⁵Center for Experimental Models in Psychiatry, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, The University of Texas Medical School at Houston, Houston, Texas

KEY WORDS BDNF; NGF; brain; cognitive impairment

ABSTRACT Sepsis is defined as the host's reaction to infection and it is characterized by a systemic inflammatory response with important clinical implications. Central nervous system dysfunction secondary to sepsis is associated with local generation of pro- and anti-inflammatory cytokines, impaired cerebral microcirculation, disturbance of neurotransmitters, apoptosis, and cognitive impairment. It is known that during the process of learning and memory formation several pathways are involved such as dopaminergic and cholinergic systems. Thus, the objective of this study is to evaluate the neuronal calcium sensor (NCS-1) and dopamine-cAMP regulated phosphoprotein of 32,000 kDa (DARPP-32) expression as well as brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) levels in prefrontal cortex and hippocampus of rats 12, 24, and 48 h after sepsis induction. To this aim, we used sham-operated Wistar rats or submitted to the cecal ligation and perforation procedure. After 12 and 24 h, there was an increase of NGF levels in hippocampus; and up to 48 h, a decrease of NCS-1 expression in prefrontal cortex, a decrease of BDNF levels in hippocampus and an increase of NGF levels in hippocampus. In conclusion, we believe that the low expression of NCS-1 in prefrontal cortex and low levels of BDNF in hippocampus may be associated with the pathophysiology of cognitive impairment during sepsis and a putative role of the dopaminergic system. **Synapse** 68:474–479, 2014. © 2014 Wiley Periodicals, Inc.

INTRODUCTION

Central nervous system (CNS) dysfunction secondary to sepsis can occur in 8–70% of septic patients and is associated with generation of pro- and anti-inflammatory cytokines, impaired cerebral microcirculation, and an imbalance of neurotransmitters. Additionally, once inflammation persists, the increased excitotoxicity and oxidative stress may further aggravate and contribute to neuronal dysfunction and degeneration (Comim et al., 2009a,b; Streck et al., 2008) and, depending on the regions affected, may lead to memory impairment (Iwashyna et al., 2010; Tuon et al., 2008).

During the process of learning and memory formation, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF), both neurotrophins, may play important roles. BDNF is thought to be responsible for regulating neuronal survival, synaptic

Contract grant sponsor: CNPq, UNESC, UNISUL.

*Correspondence to: Clarissa M. Comim, Laboratory of Experimental Neurosciences, Infectious Diseases Unit, Postgraduate Program in Health Sciences, University of South, Santa Catarina, 89137-270, Palhoça, SC, Brazil.
E-mail: clarissam@terra.com.br

Received 31 March 2014; Revised 15 May 2014; Accepted 29 May 2014

DOI: 10.1002/syn.21760

Published online 30 June 2014 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).