

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

O miRNA COMO POSSÍVEL BIOMARCADOR FARMACOEPIGENÉTICO NO
TRATAMENTO DA DEPRESSÃO MAIOR COM FLUOXETINA.

Beatriz Galindo

Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Orientador(a):
Prof. Dr. Mario Hiroyuki Hirata

São Paulo

2020

Agradecimentos

Ao privilégio de ter nascido em um lar no qual a educação sempre foi prioridade, e onde nossos pais nos deram as melhores oportunidades. Marluce e Davino, vocês são, acima de tudo, pessoas que admiro e amo, seres humanos nos quais me espelho para ser alguém melhor, obrigada.

À minha irmã, Patrícia, por ter sido, toda a vida, um exemplo para mim. E também ao José Lucas, que trouxe alegria neste ano cheio de tristezas, obrigada.

Ao meu namorado e melhor amigo, Victor Ribeiro, por ter me aguentado nos momentos de desespero e em que eu não soube o que fazer. Por sempre me apoiar, obrigada.

À Júlia e à Bianca, por me fazerem companhia nas madrugadas que passei acordada e não me deixarem surtar, obrigada e obrigada.

Ao meu professor orientador Prof. Dr. Mario H. Hirata e à Prof^a Rosário D.C. Hirata, por terem despertado o interesse e a curiosidade sobre este assunto fascinante e serem exemplos profissionais a serem seguidos, obrigada.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas	4
RESUMO	5
1. INTRODUÇÃO.....	6
2. OBJETIVOS.....	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
4. RESULTADOS.....	13
5. DISCUSSÃO.....	24
6. CONCLUSÕES.....	26
7. BIBLIOGRAFIA.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

DSM	Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais
miRNA	microRNA
miR	microRNA
pre-miRNA	precursor do microRNA
pri-miRNA	microRNA primário
MDD	Major Depressive Disorder (Transtorno Depressivo Maior)
OMS	Organização Mundial da Saúde

RESUMO

GALINDO, B. O miRNA como possível biomarcador farmacoepigenético no tratamento da depressão maior com fluoxetina. 2020. no. f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Palavras-chave: miRNA; biomarcador; depressão; fluoxetina.

INTRODUÇÃO: A depressão é uma doença altamente prevalente e debilitante, que vem se tornando cada dia mais relevante na sociedade contemporânea, um dos medicamentos utilizados em seu tratamento farmacológico é a fluoxetina, um antidepressivo inibidor seletivo da recuperação de serotonina. O acompanhamento do tratamento é realizado com base em questionários, cujas respostas podem ser subjetivas. Para otimizar o tratamento, é necessário um método mais preciso para que seu acompanhamento seja realizado, como por exemplo o uso de miRNAs como biomarcadores

OBJETIVO: Este trabalho tem como objetivo avaliar na literatura científica a possibilidade de utilizar como biomarcador farmacoepigenético o perfil de expressão de miRNA na terapia com fluoxetina em indivíduos com depressão maior.

MATERIAIS E MÉTODOS: A pergunta principal foi determinada através da metodologia PICO e o trabalho foi conduzido como uma revisão de literatura, onde foram coletados artigos sobre o tema, com base nas palavras-chave determinadas, utilizando-se um filtro para o tempo de publicação; estes foram lidos e selecionados com base no enquadramento determinado

RESULTADOS: A expressão de diferentes tipos de miRNA é alterada tanto pelo transtorno depressivo maior por si só, quanto também pelo tratamento com fluoxetina, estas regulações diferenciadas podem ser observadas em diferentes tipos celulares, assim como em regiões do cérebro e em células sanguíneas. O tratamento com fluoxetina regula a expressão de miRNA em diferentes tipos celulares, e em alguns casos é observada uma regulação tendendo para a normalização dos valores para os observados em grupos controle. **CONCLUSÃO:** Sua utilização como biomarcador para determinar a eficácia do tratamento é promissora, porém demanda mais estudos.

1. INTRODUÇÃO

O DSM-5 é o manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais, contém a classificação dos transtornos mentais e os critérios associados a estes, de modo a facilitar e tornar mais preciso o diagnóstico (American Psychiatric Association, 2014).

Segundo a Sociedade Americana de Psiquiatria (2014, p. 160), a depressão maior está classificada entre os transtornos depressivos, cuja principal característica é o humor triste, vazio ou irritável, juntamente com alterações nas capacidades do indivíduo, devido a implicações cognitivas. Ainda segundo o DSM-5, nos casos de depressão maior, também chamada de transtorno depressivo maior, ocorrem episódios de ao menos duas semanas e remissões interepisódicas, nos quais se observam mudanças no afeto, na cognição e em funções neurovegetativas. A depressão, além dos sintomas associados, é um transtorno crônico e com episódios recorrentes, que podem levar a uma maior utilização dos serviços de saúde, ao comprometimento da saúde do indivíduo, e até mesmo se tornar um fator incapacitante (Fleck et al., 2003).

O diagnóstico da depressão maior é realizado com base em uma série de critérios estabelecidas pelo DSM-5, dos quais se destacam os sintomas de humor depressivo e a perda de interesse ou prazer, além de um entre estes, um total de ao menos cinco sintomas deve estar presente pelo período de duas semanas (American Psychiatric Association, 2014.). Acima de 264 milhões de pessoas sofrem de desordens depressivas, globalmente, sendo que destes, cerca de 163 milhões se referem à desordem depressiva maior. O estudo demonstrou um grande aumento no número de casos para ambas as condições, entre os anos de 1997 e 2017, principalmente na primeira década citada. O número de casos de desordens depressivas equivale ao valor relativo maior que a população total do Brasil e cerca de 3,4% da população mundial (GBD, 2017).

O Brasil é o segundo país com maior prevalência de depressão, tendo mais de onze milhões de casos, ou seja, a desordem afetava em torno de 5,5% da população brasileira, na época (OMS, 2017).

É importante se salientar que, em decorrência da pandemia de Covid-19, estão sendo realizados diversos estudos correlacionando a situação de isolamento causada pela pandemia com o aumento dos números da depressão em diversos países, como na Turquia (Ustun, 2020), no Iraque (Blbas et al., 2020) e na Bósnia Herzegovina (Šljivo et al., 2020). Demonstrando de forma prática como a depressão se torna cada dia um ponto de maior relevância na sociedade contemporânea.

Apesar da magnitude que a depressão possui atualmente, os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento do transtorno depressivo maior não são completamente elucidados. A hipótese mais aceita atualmente é que o transtorno não tem apenas uma causa, mas sim origem heterogênea, uma combinação de fatores genéticos, ambientais, psicológicos, sociais e de processos biológicos. (Brunton et al., 2005).

A maior parte das hipóteses concorda que uma das facetas responsáveis pelo desenvolvimento da depressão maior é a diminuição da atividade monoaminérgica, seja pela redução de sua produção, atividade ou recepção dos neurotransmissores, entre outros fatores (Brunton et al., 2005). É nisto que se baseia o tratamento farmacológico da depressão, majoritariamente.

Segundo o Manual Merck, cuja última atualização foi realizada em 2020, entre as classes de fármacos utilizados para o tratamento da depressão pode-se citar os moduladores da serotonina, os inibidores de recaptação de serotonina, dopamina e noradrenalina, os antidepressivos heterocíclicos, os inibidores da monoaminoxidase (IMAOs), o antidepressivo melatonérgico e por fim, os inibidores seletivos da recaptura de serotonina (ISRS) (Coryell, 2020).

O tratamento farmacológico pode ser selecionado com base em experiências anteriores com antidepressivos, mas em casos nos quais o paciente tem seu primeiro contato com antidepressivos, o tratamento de escolha costuma ser o ISRS, devido a sua maior tolerabilidade comparado a outros medicamentos, exatamente por isso, essa classe se encontra entre as formas de tratamento mais utilizadas no Brasil (Coryell. 2018).

Os inibidores seletivos da recaptura de serotonina atuam inibindo de forma allostérica o sítio de ligação dos receptores pré-sinápticos da serotonina, levando a um aumento da concentração do neurotransmissor na fenda sináptica e um consequente aumento de sua ação serotoninérgica (Brunton et al., 2005). Podem ser citados como exemplos dessa classe de medicamentos a fluvoxamina, o escitalopram, a paroxetina, o citalopram, a sertralina e a fluoxetina (Brunton et al., 2005).

A fluoxetina possui certas particularidades que a tornam uma opção interessante e viável para o tratamento da depressão, a molécula possui uma meia vida extensa, de cerca de 50 horas (Lemke et al., 2008), o que propicia, conforme indicado na bula para profissional da saúde do medicamento referência Prozac®; a posologia de uma dose de 20 mg/dia, alcançada com a ingestão de um único comprimido por dia. Outro ponto relevante para a adesão ao tratamento, além da dose única diária, é o fato de que a fluoxetina apresenta uma maior tolerabilidade, com uma incidência menor de eventos adversos, muitos comuns no tratamento para a depressão maior (Horimoto, 2005).

O tratamento da depressão é atualmente avaliado com base em escalas e questionários, dos quais, segundo Aros e Yoshida (2009), os mais utilizados para o acompanhamento da evolução no tratamento da depressão são o Hamilton Depression Rating Scale (HDRS), elaborado por Max Hamilton em 1960 e que conta com dezessete itens a serem analisados (Hamilton, 1960), a Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) , uma escala de quatorze itens usada para o diagnóstico de depressão e ansiedade, dos quais sete formam a subescala de sintomas depressivos, desenvolvida por Zigmond e Snaith em 1983 (Herrero et al, 2003), e a Beck's Depression Inventory (BDI) idealizada por Salkind em 1969, que é composto por 21 itens e propicia a determinação da intensidade da depressão como leve, moderada ou grave (Salkind, 1969).

Tendo em vista que escalas e questionários possuem um teor subjetivo e possivelmente enviesado, portanto, ainda é necessário que se encontre uma alternativa mais exata e precisa que auxilie no acompanhamento da evolução do tratamento.

A epigenética nas doenças psiquiátricas e a influência dos fármacos

Alguns estudos têm mostrado o papel da epigenética em doenças psiquiátricas, e vem sendo vista como uma nova perspectiva para biomarcadores no diagnóstico e no tratamento de doenças do sistema nervoso central. Estes estudos associam as alterações na metilação do DNA com autismo, desordem bipolar, esquizofrenia, depressão e doença de Alzheimer (Abdolmaleky, Zhou, & Thiagalingam, 2015; Bennett et al., 2015; Mahgoub & Monteggia, 2013).

Em relação aos miRNA, esses foram estudados em doenças como Alzheimer, esclerose lateral amiotrófica, desordem bipolar, distúrbios de ansiedade, depressão, esquizofrenia, entre outras (Jin, Wu, Wang, & Li, 2013).

O miRNA é uma pequena molécula de RNA não codificante (Vasu et al., 2016) que possui cerca de 22 nucleotídeos e está presente em todos os seres vivos estudados até agora, do reino animal (Ambros, 2004) e é expresso em diferentes tecidos no organismo, incluindo o sistema nervoso central (Xu et al, 2010).

Os miRNAs são transcritos a partir dos miRNAs primários (pri-miRNA), esses são transcritos pela RNA polimerase II, sendo então processados até formar os precursores do miRNA (pre-miRNA), que possuem entre 70 e 110 nucleotídeos, aproximadamente. O pre-miRNA é então transportado para fora do núcleo e processado no citoplasma, onde sua estrutura é processada de modo a gerar pequenos RNAs de fita dupla, com cerca de 22 nucleotídeos (Lin & Gregory, 2015, Dwivedi, 2017).

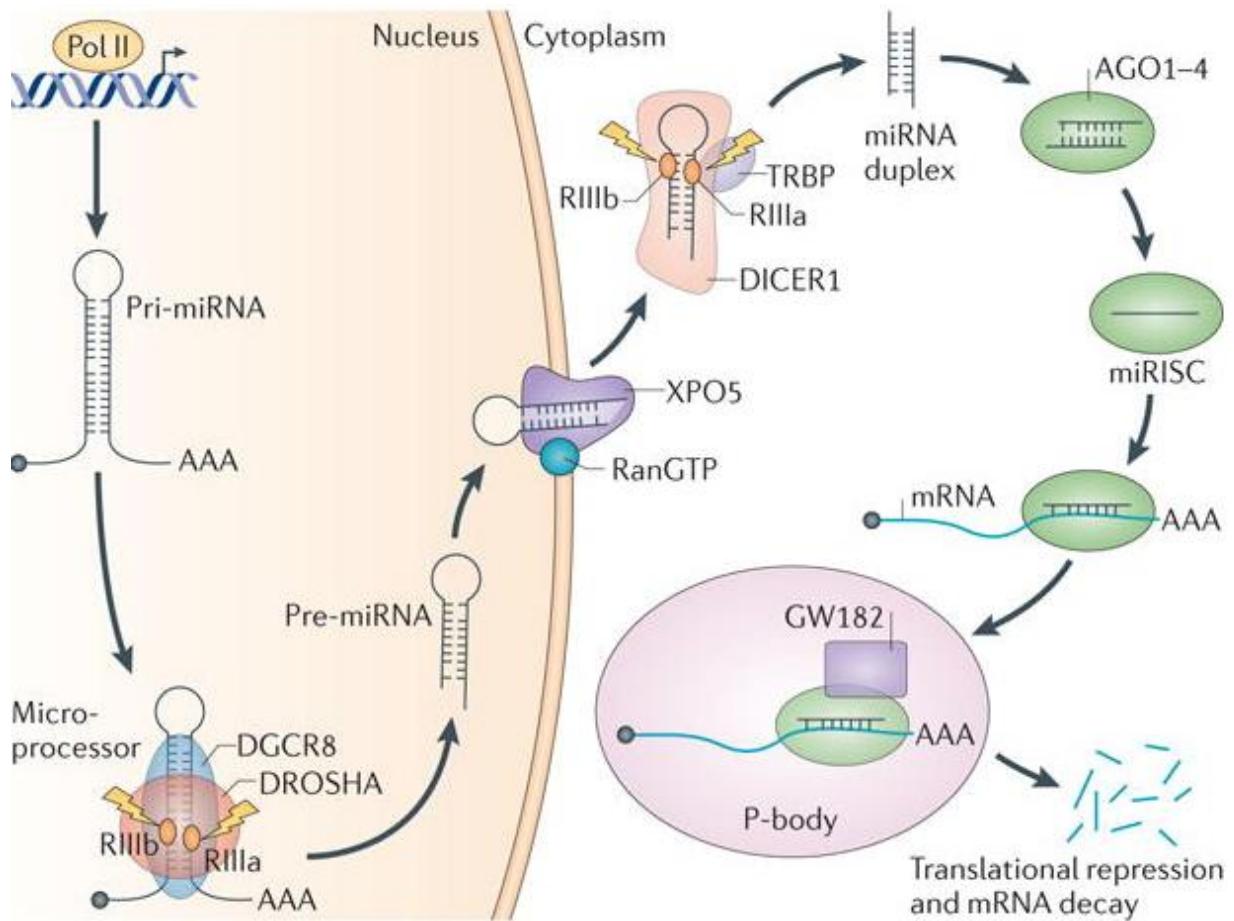


Figura 01: Panorama da via de biogênese do miRNA (Lin & Gregory, 2015) miRNAs são transcritos pela RNA polimerase II, como parte de longas moléculas, chamadas pri-miRNA. Estas, são clivadas pelo microprocessador ainda no núcleo, de modo a originar um pre-miRNA, com aproximadamente 70 nucleotídeos. O pre-miRNA é exportado ao citoplasma pela exportina-5 e processado pela ribonuclease DICER1, formando uma molécula de RNA dupla fita. Uma das fitas do miRNA, a fita guia, forma o complexo miRISC (*miRNA-induced silencing complex, RISC*) que contém a proteína Argonauta e a DICER1 e guia o miRISC à sua molécula de mRNA alvo através da sequência complementar. O miRNA irá mediar a repressão gênica através da degradação do mRNA alvo e repressão da tradução.

As funções conhecidas dos miRNAs indicam que estes possuem relevância no desenvolvimento e na fisiologia dos animais, funcionando de modo que a síntese proteica do alvo é inibida, e a estabilidade do mRNA é preservada (Ambros, 2004). Por exercer influência na expressão e tradução do mRNA, muitos pesquisadores consideram a sua atividade como fator epigenético (Zaha, 2014).

Ademais, os níveis de miRNA na circulação refletem o estado fisiológico ou patológico de um indivíduo, podendo ter seus níveis alterados como consequência de tratamentos farmacológicos (Lopez et al., 2017).

O estudo de Gardiner e cols (2012) analisou o perfil de expressão de miRNA em 112 pacientes com esquizofrenia (sob medicação antipsicótica) e 76 controles não-psiquiátricos. Os resultados revelaram 33 miRNA negativamente regulados, dos quais, 7 foram confirmados através de PCR-RT: miR-31, miR-431, miR-433, miR-107, miR-134, miR-99b e miR- 487b. Os autores sugerem que o padrão diferencial na expressão de miRNA pode ser uma indicação de alterações de base genética ou epigenética associada à esquizofrenia (Gardiner et al., 2012).

Bocchio-Chiavetto e cols (2012), realizaram um estudo do perfil completo de miRNA humanos em 10 indivíduos com depressão sob tratamento com escitalopram por 12 semanas. Os resultados mostraram 30 miRNA diferencialmente expressos após o tratamento com antidepressivos. Análises de predição e anotação funcional dos genes alvo dos miRNA indicaram um aumento significativo em vias associadas com a função cerebral neuronal. A hipótese criada foi de que os miRNA diferencialmente regulados podem estar envolvidos no mecanismo de ação dos antidepressivos (Bocchio-Chiavetto et al., 2013).

Diversas outras pesquisas demonstram que durante o tratamento farmacológico efetivo da depressão maior com inibidores seletivos da recaptação de serotonina, ocorre mudança no perfil de expressão de miRNA (Millan et al., 2011; Launay et al., 2011; Lopizzo et al., 2019)

Estas informações levaram a um crescente interesse na possível aplicabilidade de sua utilização como um biomarcador no auxílio do acompanhamento terapêutico (Lopez et al. 2017) farmacológico da depressão maior à base da fluoxetina.

2. OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo avaliar na literatura científica a possibilidade de utilizar como biomarcador farmacoepigenético o perfil de expressão de miRNA na terapia com fluoxetina em indivíduos com depressão maior.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para determinar a questão de interesse desta revisão, foi utilizada a metodologia PICO (Paciente, Intervenção, Comparação e “Outcomes”) (Santos et al. 2007). A partir desta estratégia, foi possível determinar uma pergunta de forma a definir de modo adequado as elucidações necessárias para o desenvolvimento da monografia.

O Paciente, na estratégia PICO, pode se referir tanto a um indivíduo como a um grupo de pacientes ou até mesmo a um problema de saúde. Neste caso, foi escolhido um problema de saúde, a depressão maior, mas mais especificamente um grupo específico dentre os pacientes com este distúrbio, aqueles tratados com fluoxetina. Sendo assim, obteve-se como População indivíduos com distúrbio depressivo maior sob tratamento medicamentoso a base de fluoxetina.

A Intervenção é literalmente a ação que intervém no problema em questão, podendo ser terapêutica, diagnóstica ou prognóstica. Para a questão escolhida, a intervenção em estudo é prognóstica, sendo esta a utilização do miRNA como biomarcador farmacoepigenético, para acompanhar e avaliar a evolução do tratamento com fluoxetina.

A Comparação é baseada no que é utilizado como intervenção padrão, atualmente, para acompanhar a evolução do tratamento da depressão, de modo geral, são utilizados questionários e escalas.

“Outcomes” se refere ao desfecho esperado, tendo em vista a intervenção proposta. Na monografia em questão, espera-se que a utilização do miRNA como biomarcador permita um melhor acompanhamento e avaliação do tratamento para a depressão maior com fluoxetina, de modo a verificar de maneira prática e imparcial a eficácia e a efetividade do tratamento farmacológico empregado.

Foram também determinadas as palavras-chave de pesquisa principais “depressão” e “fluoxetina” com relação à população, ou nesse caso, transtorno em estudo, “miRNA” sobre a intervenção prognóstica em estudo, e “epigenética” quanto ao contexto em que o objeto de estudo se encontra.

Para responder a questão elaborada foi selecionada a metodologia de revisão da literatura, na qual, para encontrar a resposta para essa pergunta, se utiliza a literatura disponível, que engloba livros, artigos, teses, dissertações, entre outros materiais.

Entre os tipos de revisão de literatura descritos, a revisão sistemática é aquela que, para responder à pergunta claramente e objetivamente formulada, sumariza as evidências disponíveis e através de uma revisão imparcial e de métodos sistemáticos, recolhe, agrupa, avalia e sintetiza os indícios encontrados em estudos relevantes, de forma a alcançar um ponto de vista abrangente e confiável.

Utilizaram-se bases de dados científicas, como PubMed, Elsevier e Scielo, e por meio das palavras principais determinadas com base na estratégia PICO, “depressão maior”, “fluoxetina”, “epigenética” e “miRNA”, foram pesquisados e selecionados os artigos, levando em consideração o enquadramento ao tema proposto, após leitura dinâmica inicial do título e resumo, seguido por uma leitura profunda e detalhada dos artigos selecionados.

A princípio, a pesquisa foi realizada com um filtro para publicações dos últimos cinco anos, entretanto, devido à escassez de resultados relevantes, o filtro de tempo de publicação foi aumentado para vinte anos.

Além dos artigos selecionados com base no enquadramento do tema, foram também utilizados materiais para o entendimento mais aprofundado de conceitos sobre a depressão, como o Manual Merck, o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais DSM-5, as Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão, entre outros. Da mesma forma, foram também utilizados livros textos para a compreensão desta mesma temática, assim como sobre miRNAs.

4. RESULTADOS

O miRNA, assim como outros fatores epigenéticos, como a metilação de histonas, é descrito como um importante fator na mediação do efeito do estresse e tem relação

com uma maior vulnerabilidade para depressão maior e outros transtornos mentais relacionados ao estresse (Loppizzo et al., 2019).

As pesquisas sobre o assunto variam principalmente quanto ao miRNA em estudo, mas no geral são observadas alterações em seus valores em resposta à submissão ao estresse (Lopizzo et al., 2019), ou em resposta ao tratamento com antidepressivos (Launay et al., 2011).

Em diversas desordens neurológicas, incluindo o transtorno depressivo maior, ocorre uma alteração na expressão de diferentes miRNAs (Alural et al., 2017). Em um estudo onde 723 miRNA foram analisados, 26 apresentaram uma alteração significativa na sua expressão nas células mononucleares do sangue periférico em pacientes com transtorno depressivo maior (Fan et al., 2014).

Para identificar miRNAs relacionados com o transtorno depressivo maior e o transtorno bipolar (BD), foi realizado um estudo acompanhando 20 pacientes com cada um dos transtornos, cobrindo uma base de 1733 miRNAs maduros. Como resultado foram encontrados 5 miRNAs alterados para (BD) e outros cinco para MDD (hsa-let-7a-5p, hsa-let-7d-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-miR-24-3p and hsa-miR-425-3p). Ainda, outros 2 miRNA foram encontrados desregulados para ambos os transtornos, o hsa-miR-330-3p e o hsa-miR-345-5p (Maffioletti et al., 2016).

Em um estudo mais abrangente de coorte realizado comparando 81 pacientes com depressão maior e 46 indivíduos saudáveis como grupo controle, confirmou-se que 5 diferentes miRNAs apresentavam sua expressão aumentada, sendo estes os miRNA-26b, miRNA-1972, miRNA-4485, miRNA-4498, e miRNA-4743 (Fan et al., 2014).

Tendo em vista o possível envolvimento do miRNA na patogênese da depressão (Lopizzo et al., 2019), as supracitadas alterações em seus níveis na MDD (Fan et al., 2014), assim como as evidências apresentadas que sugerem alterações em sua expressão durante o tratamento com fluoxetina, os níveis de miRNA poderiam ser utilizados como biomarcadores periféricos da eficácia do tratamento com antidepressivo (Loppizzo et al., 2019).

Up-Regulated miRNAs			
miRNA Name (Fold-Change, Fold-Change = Treatment/Control)			
miR-7081-5p (22.83)	miR-5099 (1.71)	miR-485-3p (1.40)	miR-3095-3p (1.23)
miR-3962 (3.43)	let-7k (1.64)	let-7f-5p (1.39)	let-7c-5p (1.23)
miR-133b-5p (2.27)	miR-92b-3p (1.61)	let-7d-5p (1.39)	miR-466m-5p (1.22)
miR-21a-5p (2.14)	miR-1903 (1.53)	miR-411-3p (1.39)	miR-23b-3p (1.20)
miR-3963 (2.01)	miR-150-5p (1.50)	miR-23a-3p (1.37)	miR-149-3p (1.20)
miR-26b-5p (1.80)	miR-328-3p (1.50)	miR-7a-5p (1.34)	miR-342-3p (1.19)
miR-132-3p (1.79)	miR-6896-3p (1.49)	miR-7235-3p (1.30)	miR-9-5p (1.16)
miR-212-3p (1.75)	miR-132-5p (1.44)	miR-433-3p (1.30)	miR-341-5p (1.15)
miR-329-3p (1.75)	miR-129-2-3p (1.43)	miR-139-5p (1.27)	miR-7661-3p (1.13)
miR-218-5p (1.74)	miR-28c (1.40)	miR-669f-5p (1.27)	
Down-Regulated miRNAs			
miRNA Name (Fold-Change, Fold-Change = Control/Treatment)			
miR-466m-3p (1.09)	miR-22-3p (1.23)	miR-30d-5p (1.39)	miR-103-3p (1.22)
miR-151-5p (1.09)	miR-107-3p (1.23)	miR-195a-5p (1.42)	miR-30b-5p (1.32)
miR-300-3p (1.1)	miR-27b-3p (1.24)	miR-5121 (1.43)	miR-186-5p (1.55)
miR-126a-3p (1.16)	miR-346-5p (1.24)	miR-758-5p (1.44)	miR-551b-3p (1.23)
miR-140-3p (1.18)	miR-16-5p (1.25)	miR-29c-3p (1.50)	
miR-154-5p (1.22)	miR-29a-3p (1.27)	miR-29b-3p (1.50)	
miR-181a-5p (1.22)	miR-30a-5p (1.38)	miR-6360 (2.26)	

Figura 02: Expressão de miRNA no hipocampo de ratos normais, sob tratamento de fluoxetina (Miao et al., 2018).

Em estudo conduzido por Miao et al., observou-se que 64 diferentes miRNAs apresentam alteração em sua expressão no hipocampo, após a administração diária de fluoxetina, por duas semanas, em ratos normais. Entre estes, 39 miRNA apresentaram expressão elevada e 25 tiveram sua expressão reduzida. Esta descoberta sugere que um grande número de miRNA responde ao tratamento com fluoxetina no hipocampo, conforme pode ser observado na **Figura 02** (Miao et al., 2018).

Através de outro estudo que avaliou a ação de diferentes xenobióticos e linhagens celulares distintas provenientes de carcinomas, Rodrigues et al chegou à conclusão de que os miRNAs são expressos diferentemente conforme a linhagem celular e têm essa

expressão alterada dependendo do medicamento utilizado e da linhagem em questão (Rodrigues et al., 2011).

O MiR-124a, por exemplo, é infrarregulado por medicamentos psicoativos, como a fluoxetina, no sistema de células modelo BE(2)-M17 e SH-SY5Y, provenientes de neuroblastomas. Isso significa que, a partir da ação da fluoxetina, há uma diminuição na quantidade do MiR-124a nas células BE(2)-M17 e SH-SY5Y (Rodrigues et al., 2011).

Outro estudo demonstra também uma diminuição significativa da expressão do miRNA-124a-3p, após 24 horas da administração de uma dose de fluoxetina de 10 mg/Kg por 60 dias, em ratos *Sprague-Dawley*, como pode ser observado no gráfico abaixo (**Figura 03**) (Roy et al., 2017).

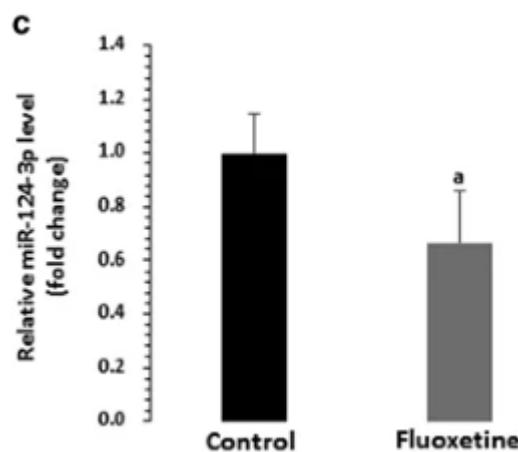


Figura 03: Gráfico representativo da expressão do miRNA-124-3p no córtex pré-frontal em ratos tratados com fluoxetina (Roy et al., 2017).

Como explicitado na **Figura 04**, é possível vislumbrar que diversas substâncias consideradas psicoativas geram uma alteração considerável na expressão dos miRNAs nas células BE(2)-M17 e SH-SY5Y (Rodrigues et al., 2011).

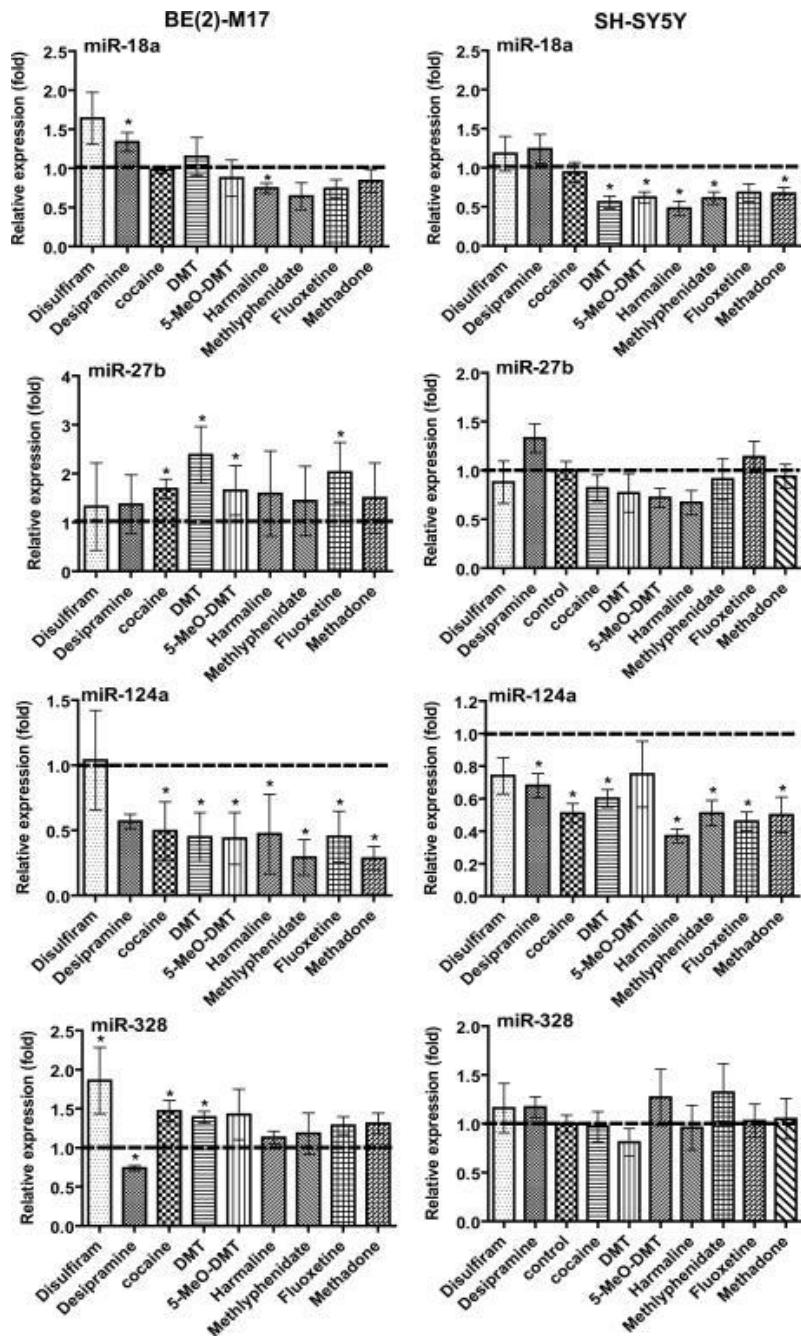


Figura 04: Efeito de medicamentos psicoativos na expressão de miRNA nas células de neuroblastoma humano SH-SY5Y e BE(2)M17 (Rodrigues et al. 2011)

Tendo em vista a relevância da fluoxetina para esta monografia, observa-se na **Figura 04**, que o SRSI não leva a uma alteração significativa na expressão do MiR-328 ou MiR-27b, para a linhagem SH-SY5Y, entretanto, há uma pequena variação na expressão MiR-18a para ambas as linhagens, do MiR-328 para a linhagem BE(2)-M17.

Por outro lado, ainda nas células BE(2)-M17, há um aumento relevante na expressão do MiR-27b, e em ambas as linhagens é possível visualizar a diminuição significativa na expressão do MiR-124a, como já citado anteriormente (Rodrigues et al., 2011).

Outro miRNA com expressão aumentada sob o tratamento antidepressivo é o miR-1202, que é expresso diferencialmente no córtex pré-frontal de indivíduos com depressão maior. Tais alterações podem ser observadas em regiões do cérebro que já foram previamente relacionadas com o tratamento da depressão (Lopez et al., 2017)

Segundo Launay et al. o tratamento à base de fluoxetina, ao agir nos neurônios serotoninérgicos, leva a uma diminuição do miRNA-16 e consequentemente a uma diminuição no número de transportadores da serotonina (Launay et al., 2011). Por outro lado, Millan apresenta uma perspectiva de que este mesmo tratamento leva à biogênese do miRNA-16 no interior dos neurônios serotoninérgicos, o que leva a uma repressão dos transportadores 5-HT; esta observação é apoiada por um artigo realizado por Baudry et al, em 2010, no qual foi observado que ao infundir fluoxetina no núcleo da rafe, houve um aumento no nível do miR-16 (Millan et al., 2011).

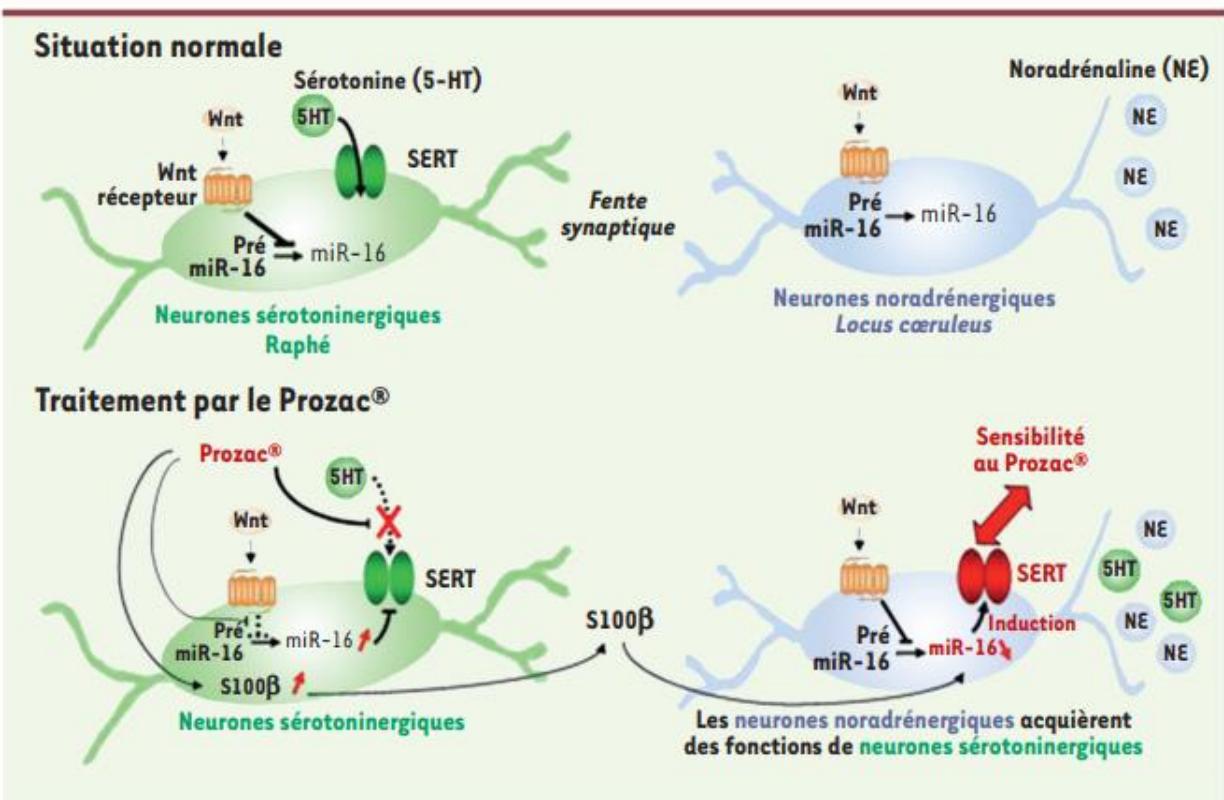


Figura 05: Mecanismo de ação através do qual os neurônios noradrenérgicos se tornam sensíveis a fluoxetina (Prozac®) (Baudry et al., 2010)

O aumento de miR-16, a partir da ação direta da fluoxetina no núcleo da rafe, se dá através de uma elevação na maturação do miRNA em questão, a partir de seus precursores pre/pri-miR-16 (Baudry et al., 2010). Por outro lado, com o tratamento farmacológico crônico com fluoxetina, o núcleo da rafe libera a proteína neurotrófica S100 β que age nos neurônios noradrenérgicos do *locus coeruleus* e diminui a expressão do miR-16, levando à expressão da função serotoninérgica nesta área (Baudry et al 2010).

No giro dentado do hipocampo de ratos utilizados como modelos de depressão, foi observado por Patrício et al. que o miR409 e o miR411 apresentaram-se regulados para cima, tendo essa regulação revertida para baixo sob o tratamento com antidepressivos, incluindo a fluoxetina (Patrício et al, 2015).

O estado depressivo foi induzido pelo método de estresse leve crônico (CMS), de modo a levar à expressão de sintomas depressivos nos ratos. O protocolo foi aplicado

pelo período de seis semanas, sendo que nas duas últimas foi utilizado o tratamento com fluoxetina (**Figura 06**), apenas ao final do tratamento, as análises comportamentais foram realizadas, demonstrando a reversão dos sintomas (Patrício et al., 2020).

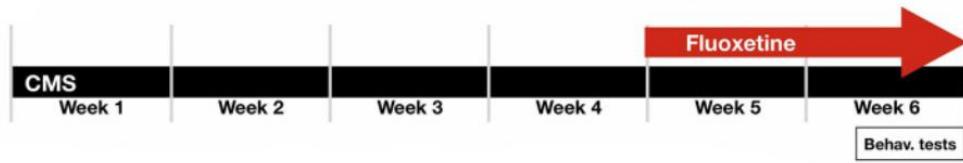


Figura 06: Delineamento do protocolo de CMS e tratamento com fluoxetina (Patrício et al., 2020).

Para determinar os efeitos da depressão e do tratamento com fluoxetina no giro denteado do hipocampo foi realizado estudo comparativo entre ratos expostos a CMS (CMS+VEH), um grupo controle (CT+VEH), onde para ambos foi administrado apenas o veículo, e o grupo exposto a CMS e submetido ao tratamento com fluoxetina (CMS+FLX) (Patrício et al., 2020). As figuras 06 e 07 trazem os resultados obtidos respectivamente para o miR-409 e para o miR-411, nas regiões dorsal (dDG) e ventral (vDG) do giro denteado, na região do *cornu ammonis* do hipocampo (HPC), no córtex pré-frontal (PFC), no núcleo *accumbens* (NAc), regiões normalmente associadas com a fisiopatologia da depressão, e no sangue (Blood) (Patrício et al., 2020).

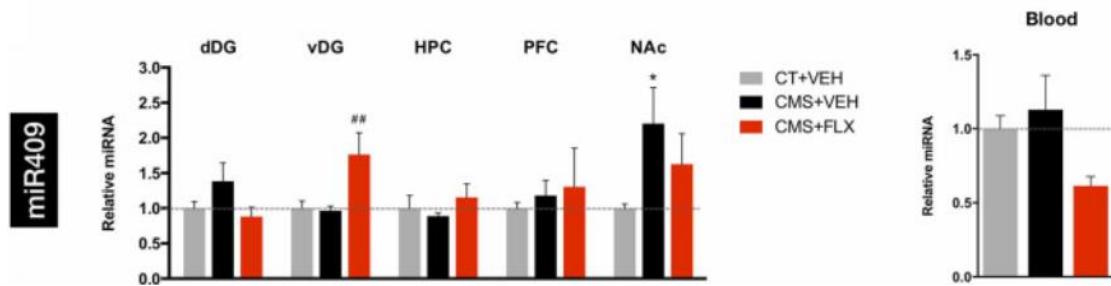


Figura 07: Comparativo da expressão do miR-409 (Patrício et al., 2020).

Como pode ser observado na **Figura 07**, o miRNA-409 tem sua expressão regulada de modo diferenciado tendo em vista a situação a qual é submetido o objeto de estudo, e a região estudada. Por exemplo, no giro denteado ventral, no córtex pré-frontal e no *cornu ammonis*, a expressão é fracamente alterada pelo estado depressivo, porém

no vDG a expressão é altamente regulada para cima após a exposição à fluoxetina (Patrício et al., 2020).

É interessante refletir em como a expressão é afetada no giro denteado dorsal, onde o grupo submetido a CMS tem a expressão do miR-409 elevada em comparação com o grupo controle, e no grupo que recebeu o tratamento com fluoxetina, a expressão é regulada para baixo, alcançando valores semelhantes ao do grupo controle. Algo semelhante ocorre também no núcleo *accumbens*, entretanto, os valores não se tornam próximos aos observados no grupo controle, apesar de serem regulados da mesma maneira (Patrício et al., 2020).

Por fim, a expressão no sangue periférico é mantida a mesma em objetos do grupo controle ou CMS, enquanto no grupo FLX a expressão é significativamente reduzida (Patrício et al., 2020).

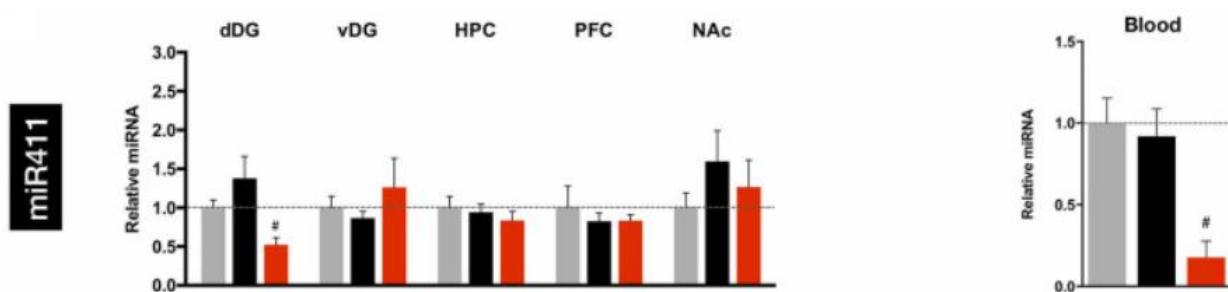


Figura 08: Comparativo da expressão do miR-411 (Patrício et al., 2020).

Referente ao miRNA-411, podemos observar na **Figura 08** o mesmo tipo de regulação nas células periféricas do sangue, enquanto o grupo controle e CMS apresentam valores semelhantes, no grupo tratado com fluoxetina, há uma drástica redução na expressão do miRNA; e também no núcleo *accumbens*, no qual para o grupo CMS houve um aumento na expressão do MiR-411 e para o grupo FLX houve uma redução de sua expressão (Patrício et al., 2020).

Para a região HPC e PFC as alterações observadas são pequenas e pouco significativas. Já na região dorsal do giro denteado o aumento em CMS e a diminuição

após o tratamento com fluoxetina são significativos, na região ventral, entretanto, acontece o oposto, o grupo CMS apresenta uma pequena redução na expressão de miR-411 e então há um aumento relevante na sua expressão para o grupo tratado com fluoxetina (Patrício et al., 2020).

Utilizando ratos *Sprague-Dawley*, foram realizados dois modelos para analisar a expressão de miRNAs após tratamento com antidepressivos. O grupo controle não foi submetido a estresse (NS), enquanto o outro grupo foi submetido ao processo conhecido como separação materna (MS), que induz o estresse no início da vida dos ratos (O'Connor et al., 2013).

Após os ratos atingirem a maturidade, os dois grupos foram submetidos a três tratamentos com antidepressivos, a terapia de eletrochoque, cetamina ou fluoxetina, ou então submetidos a uma simulação de tratamento. A posologia da terapêutica com fluoxetina consistiu na administração de 10 mg/Kg ao dia, por vinte dias (O'Connor et al., 2013).

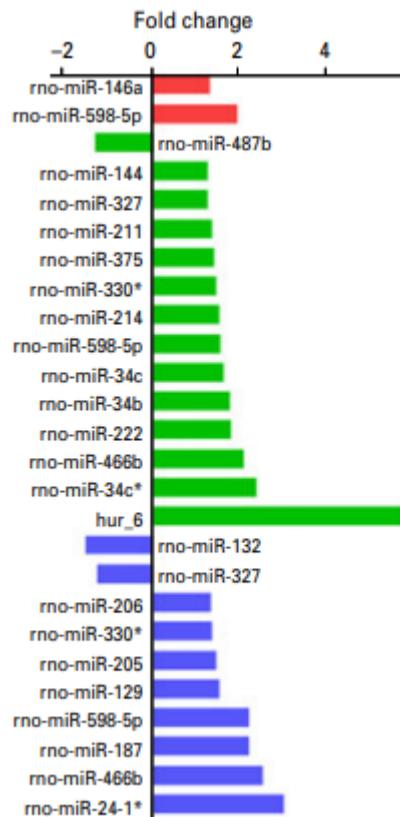


Figura 09: Representação da alteração da expressão de miRNA no hipocampo de animais NS (Onde, vermelho representa o tratamento com fluoxetina, verde o tratamento com cetamina e azul o tratamento e em azul a terapia de eletrochoque) (Connor et al., 2013).

Através de análise por microarranjo, popularmente conhecida como *microarray*, observou-se que tanto a submissão ao estresse no início da vida quanto o tratamento com antidepressivo levaram à alteração da expressão de diversos miRNAs no hipocampo. Nos animais NS, o tratamento crônico com fluoxetina alterou de modo significativo dois miRNAs (Figura 09). Enquanto nos animais MS, 24 miRNAs tiveram sua expressão alterada; no tratamento crônico com fluoxetina houve uma redução relevante no expressão de quatro miRNAs (Figura 10), sendo que três desses são uma normalização parcial da alteração induzida pelo estresse, nos animais MS; entre estes três está o MiR-451 (O'Connor et al., 2013).

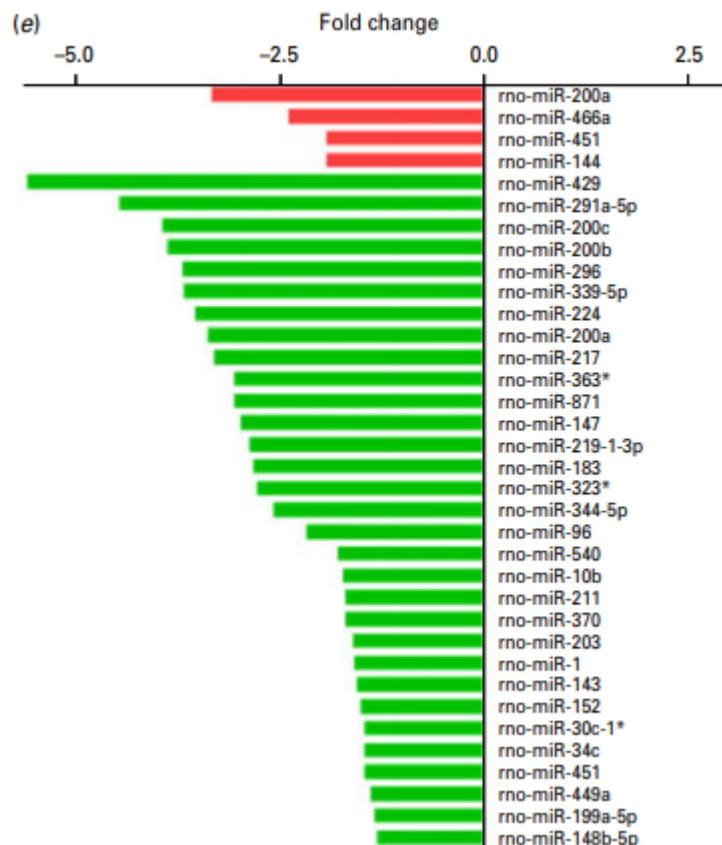


Figura 10: Representação da alteração da expressão de miRNA no hipocampo de animais MS (Onde, vermelho representa o tratamento com fluoxetina e verde o tratamento com cetamina) (Connor et al., 2013)

A partir de uma análise de variância de duas vias verificou-se um efeito significativo dos tratamentos sobre a expressão do miR-451, onde não foi demonstrado efeito do procedimento MS, mas houve uma interação entre os efeitos de MS e dos antidepressivos. Após a análise *post hoc*, entretanto, foi possível verificar que houve uma redução significativa na expressão em MS, se comparado com NS; entretanto, após o tratamento com fluoxetina essa alteração no miR-451 foi revertida (O'Connor et al., 2013).

5. DISCUSSÃO

Tendo em vista os resultados apresentados, pode ser observado que o miRNA está relacionado com a depressão em diversas etapas, desde o diagnóstico, passando pela fisiopatologia, até chegar ao tratamento farmacológico. Os diferentes tipos de miRNAs têm sua expressão regulada durante estas etapas, podendo se apresentar expressão com os valores elevados ou diminuídos.

Pode ser observado que a depressão possivelmente gera um aumento dos miRNAs, isso pode ser observado nos miRNA-26b, miRNA-1972, miRNA-4485, miRNA-4498, miRNA-4743 (Fan et al., 2014), como também na expressão do miRNA-409 no núcleo *accumbens* e no sangue periférico, enquanto para o miR-411 essa regulação para cima como consequência da depressão é vista apenas no núcleo *accumbens* (Patrício et al., 2020).

É interessante visualizar que o tratamento com fluoxetina por si só tem a capacidade de levar a alteração na expressão de miRNAs, como observado na **Figura 08**, onde pode-se ver que há um leve aumento na expressão dos miRNAs rno-miR-146a e rno-miR-598-5p (O'Connor et al., 2013).

Entretanto, salienta-se que a administração de fluoxetina em objetos de estudo com depressão gera alterações mais evidentes na expressão dos miRNAs (Patrício et al., 2020) em diferentes áreas do organismo, seja em regiões do cérebro, nas células periféricas do sangue, ou em células de neuroblastomas (Miao et al., 2018, Rodrigues et al., 2011, Roy et al., 2017, Lopez et al., 2017, Millan et al., 2011, Baudry et al 2010, Patrício et al., 2015, Patrício et al., 2020, O'Connor et al., 2013). A alteração dos miRNAs, entretanto não está relacionada apenas com a fluoxetina por si só, mas também é dependente do tipo celular envolvido e no qual a coleta é realizada (Rodrigues et al. 2011).

Observou-se que o tratamento com a fluoxetina impactou diferencialmente as regiões do cérebro quanto ao miR-409 e miR-411, enquanto o primeiro teve sua expressão aumentada no giro denteado ventral, o segundo teve a expressão reduzida no giro denteado dorsal e no sangue, diferença essa esperada tendo em vista as diferenças entre as porções no giro denteado, mas que também indica uma possível diferença nas funções desses miRNAs (Patrício et al., 2020).

No hipocampo de ratos *Sprague-Dawley* foi possível verificar a influência tanto da indução do estresse quanto do tratamento com a fluoxetina na expressão dos miRNAs, no grupo controle e no grupo com a depressão induzida. A expressão de miRNA foram alteradas em um padrão semelhante, apesar de, em maior intensidade, no grupo que recebeu o tratamento de fluoxetina e possuía depressão, em comparação com o grupo que recebeu a terapêutica sem ter os sintomas (O'Connor et al., 2013). Pode-se inferir, a partir disso, que independente da presença da depressão, o antidepressivo tem o potencial, por si só, de causar alterações na expressão dos miRNAs (O'Connor et al., 2013).

É interessante observar que para alguns miRNAs, como o miR-451 (O'Connor et al., 2013) e o miR-411 (Patrício et al., 2020), as alterações das expressões do miRNA foram atenuadas pelo tratamento com fluoxetina (O'Connor et al., 2013).

Como já citado, o miRNA está em diversos tecidos do corpo humano. Sua presença no sistema nervoso central foi essencial para a condução de estudos *post-*

mortem e em ratos, e para suas relações previamente aqui apresentadas com o transtorno depressivo maior (Dwivedi, 2017).

Por outro lado, a sua presença e estabilidade em células do sangue (Patrício et al., 2020), sua secreção ativa em exossomos, que podem cruzar a barreira hematoencefálica, e a excreção fisiológica desses exossomos como resposta a situações de estresse, apresentando-se então de forma íntegra nas células sanguíneas, é um fator promissor para sua utilização como biomarcador para o diagnóstico e principalmente no acompanhamento do tratamento da depressão (Dwivedi, 2017).

Isso porque o sangue periférico possibilita uma coleta por procedimentos minimamente invasivos, e que pode ser realizada múltiplas vezes, sendo que esta técnica, utilizando-se do sangue periférico já foi utilizada para verificar alterações na expressão de miRNAs antes e após tratamentos antidepressivos (Dalton et al., 2014). Além disso, estudos sobre a correlação da expressão gênica em amostras de sangue e cérebro indicam a possibilidade de semelhança entre os valores apresentados (Patrício et al., 2020).

Ademais, é preciso que se realizem mais estudos sobre o assunto, especialmente no que se diz respeito à eficácia do tratamento, é necessário que se realizem estudos comparativos entre indivíduos responsivos e não responsivos ao tratamento (Xu et al, 2019), para que a utilização do miRNA como biomarcador seja indicada e recomendada para o acompanhamento do tratamento da depressão com fluoxetina.

6. CONCLUSÕES

A partir da análise da literatura científica disponível, foi possível concluir que o miRNA tem grande potencial para a utilização como biomarcador epifarmacogenético, entretanto, são necessários mais dados contundentes com validação em uma população amostral significativa.

7. BIBLIOGRAFIA

American Psychiatric Association. Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais DSM-5®.5ª Ed. Porto Alegre, Artmed, 2014.

GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet**, Vol 392, p. 1817, nov. 2018. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(18\)32279-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(18)32279-7/fulltext)> Acesso em: 05 set. 2020

USTUN G. Determining depression and related factors in a society affected by COVID-19 pandemic. Published online ahead of print, 2020 Jun 30. *Int J Soc Psychiatry*. 2020. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7331110/#_ffn_sectitle. Acesso em: 08 set. 2020.

BLBAS HTA, AZIZ KF, NEJAD SH, BARZINJY AA. Phenomenon of depression and anxiety related to precautions for prevention among population during the outbreak of COVID-19 in Kurdistan Region of Iraq: based on questionnaire survey. Published online ahead of print, 2020 Jun [10], p. 1-5, 2020 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7283427/>. Acesso em: 08 set. 2020

ŠLJIVO, A., KAČAMAKOVIĆ, M., QURAISHI, I., KULENOVIĆ, A. D. Fear and Depression among Residents of Bosnia and Herzegovina during COVID-19 Outbreak - Internet Survey. *Psychiatr Danub.* - Zagreb, Croatia. Vol. 32 p. 266-272, 2020. Disponível em: <http://www.psychiatria-danubina.com/UserDocsImages/pdf/dnb_vol32_no2/dnb_vol32_no2_266.pdf> Acesso em: 10 set. 2020.

WHO, Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. Geneva: World Health Organization; 2017.

Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes metodológicas : elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados**. 1ª Ed, Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2012. 92 p. : il. – (Série A: Normas e Manuais Técnicos), 2012.

VASU, M. M., ANITHA, A., TAKAHASHI, T., THANSEEM, I., IWATA, K., ASAKAWA, T., and SUZUKI, K. Fluoxetine Increases the Expression of miR-572 and miR-663a in Human Neuroblastoma Cell Lines. *PLoS One*. 2016; 11(10). Published online 2016 Oct 7.

Disponível em: 10.1371/journal.pone.0164425. Acesso em: janeiro de 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5055328/>> Acesso em: 05 jul. 2020.

FLECK, M. P. de A.; LAFER, B.; SOUGEY, E. B.; PORTO, J. A.; BRASIL, M. A.; JURUENA, M. F. Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (versão integral). *Rev. Bras. Psiquiatr.* vol.25 no.2 São Paulo June 2003.

BRUNTOL, L.L. Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 10^a ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005.

CORYELL W. Depressive Disorders. Manual Merck Professional Version. Março de 2020. Disponível em: <<https://www.merckmanuals.com/professional/psychiatric-disorders/mood-disorders/depressive-disorders>> Acesso em: 20 jul. 2020

CORYELL W. Drug Treatment of Depression. Manual Merck Professional Version. Março de 2020. Disponível em: <<https://www.msdmanuals.com/professional/psychiatric-disorders/mood-disorders/drug-treatment-of-depression>> Acesso em: 20 jul. 2020

LEMKE, Thomas L.; WILLIAMS, David A.; FOYE, William O. Foye's principles of medicinal chemistry. 6th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, Wolters Kluwer, 2008.

HORIMOTO, F.C.; AYACHE, D.C.; SOUZA, J.A.D. Depressão: diagnóstico e tratamento pelo clínico. 1. ed. São Paulo: Roca. p.132-137, 2005.

AROS, M; S.; YOSHIDA, E. M. P. Estudos da Depressão: Instrumentos de Avaliação e Gênero. *Boletim de Psicologia*, 2009, Vol. LIX, Nº 130: 061-076. Disponível em: <http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-59432009000100006> Acesso em: 20 jul. 2020.

HAMILTON, M. A Rating Scale for Depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960 Feb; 23(1): 56–62. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC495331/>> Acesso em: 20 jul. 2020.

HERRERO, M. J.; BLANCHA, J.; PERI, J. M.; DE PABLO, J.; PINTOR, L.; BULBENA, A. A validation study of the hospital anxiety and depression scale (HADS) in a Spanish population. *General Hospital Psychiatry* Volume 25, Issue 4, July–August 2003, Pages 277-283. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163834303000434?via%3Dihub>> Acesso em: 20 jul. 2020.

SALKIND, M. R. Beck depression inventory in general practice. *J R Coll Gen Pract*. 1969 Nov; 18(88): 267–271. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2237076/>> Acesso em: 20 jul. 2020.

ABDOLMALEKY, H. M., ZHOU, J. & THIAGALINGAM, S. An update on the epigenetics of psychotic diseases and autism. *Epigenomics*, vol. 7 (3), p. 427-49, 2015. Disponível em: <<https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/epi.14.85>> Acesso em 22 out 2020.

BENNET, D. A., YU, L., YANG, J., SRIVASTAVA, G., AUBIN, C., DE JAGER, P. L. Epigenomics of Alzheimer's Disease. *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine*, vol. 165 (1), p. 200-20, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4233194/>> Acesso em 22 out. 2020.

MAHGOUB, M. & MONTEGGIA, L. M. Epigenetics and psychiatry. *Neurotherapeutics*, vol. 10, p. 734-741, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3805856/>> Acesso em 22 out 2020.

JIN, X., WU, N., WANG, L. & LI, J. Circulating MicroRNAs: A Novel Class of Potential Biomarkers for Diagnosing and Prognosing Central Nervous System Diseases. *Cellular and Molecular Neurobiology*, vol. 33, p. 601–613, 2013. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10571-013-9940-9>> Acesso em 22 out 2020.

MUNDALIL VASU, M.; ANITHA, A.; TAKAHASHI, T.; THANSEEM, I.; IWATA, K.; ASAOKA, T.; SUZUKI, K. Fluoxetine Increases the Expression of miR-572 and miR-663a in Human Neuroblastoma Cell Lines. *PLoS One*. 2016 Oct 7;11(10):e0164425. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0164425>> Acesso em: 30 jul. 2020.

AMBROS, V. The Function of Animal microRNA. *Nature*, Vol. 431, p. 350–355, 2004. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nature02871>> Acesso em: 18 jun. 2020.

XU, B., KARAYIORGOU, M., GOGOS, J. A. microRNAs in Psychiatric and Neurodevelopmental Disorders. *Brain Research*, Vol. 1338, P. 78-88, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.03.109>> Acesso em: 02 ago. 2020.

DWIVEDI, Y. Pathogenetic and therapeutic applications of microRNAs in major depressive disorder. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 64, (2016) 341–348. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4537399/>> Acesso em: 10 out. 2020.

LIN S., GREGORY R. I. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2015 Jun;15(6). p. 321-33. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/25998712/>> Acesso em 22 out 2020.

ZAHA, A.; FERREIRA, H. B.; PASSAGLIA, L. M. P. (Org.). *Biologia molecular básica*. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2014.

LOPEZ, J.P.; PEREIRA, F.; RICHARD-DEVANTOY, S.; BERLIM, M.; CHACHAMOVICH, E.; FIORI, L.M.; NICOLA, P. TURECKI, G. JOLLANT, F. Co-Variation of Peripheral Levels of miR-1202 and Brain Activity and Connectivity During Antidepressant Treatment. *Neuropsychopharmacology*. 2017 Sep;42(10):2043-2051. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5561353/>> Acesso em: 03 ago. 2020.

GARDINER, E., BEVERIDGE, N. J., WU, J. Q., CARR, V., SCOTT, R. J., TOONEY, P. A., & CAIRNS, M. J. Imprinted DLK1-DIO3 region of 14q32 defines a schizophrenia-associated miRNA signature in peripheral blood mononuclear cells. *Molecular Psychiatry*, 2012, vol. 17(8), 827–840. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3404364/>> Acesso em 22 out 2020.

Bocchio-Chiavetto, L., Maffioletti, E., Bettinsoli, P., Giovannini, C., Bignotti, S., Tardito, D., Corrada, D., Milanesi, L. Gennarelli, M. Blood microRNA changes in depressed patients during antidepressant treatment. *European Neuropsychopharmacology : The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 2012, vol. 23(7), p. 602–611. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924977X12001654?via%3Dhub>> Acesso em 22 out 2020.

MILLAN, M.J. MicroRNA in the regulation and expression of serotonergic transmission in the brain and other tissues. *Neurosciences*, v. 11, issue 1. February 2011, Pages 11-22. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1471489211000099?via%3Dhub>> Acesso em: 13 fev. 2020.

LAUNAY, J.M.; MOUILLET-RICHARD, S.; BAUDRY, A.; PIETRI, M.; KELLERMANN, O. Raphe-mediated signals control the hippocampal response to SRI antidepressants via miR-16. *Translational Psychiatry*, 2011. 1, e56; Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/tp201154>> Acesso em: 06 fev. 2020.

LOPIZZO, N. ZONCA, V. CATTANE, N. PARIANTE, C. M., CATTANEO, A.. miRNAs in depression vulnerability and resilience: novel targets for preventive strategies. *Journal of Neural Transmission*, published online 26 July 2019, Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00702-019-02048-2>> Acesso em: 15 fev. 2020.

SANTOS, C. M da C.; PIMENTE, C. A. de M.; NOBRE, M. R. C. A Estratégia PICO para a Construção da Pergunta de Pesquisa e Busca de Evidências. *Rev Latino-am Enfermagem* 2007 maio-junho; 15(3). Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rlae/v15n3/pt_v15n3a23.pdf> Acesso em: 06 out. 2019.

ALURAL, B., GENC, S. and HAGGARTY, S. J. Diagnostic and therapeutic potential of microRNAs in neuropsychiatric disorders: Past, present, and future. *Prog.*

Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 73, (2017) 87–103. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5292013/>> Acesso em: 12 fev. 2020.

FAN, H. MIN, SUN, X. Y., GUO, W., ZHONG, A. F., NIU, W., ZHAO, L., DAI, Y. H., GUO, Z. M., ZHANG, L. Y. and LU, J. Differential expression of microRNA in peripheral blood mononuclear cells as specific biomarker for major depressive disorder patients. J. Psychiatr. Res. 59, (2014) 45–52. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002239561400243X?via%3Dihub>> Acesso em: 18 jan. 2020.

MAFFIOLETTI, E., CATTANEO, A., ROSSO, G., MAINA, G., MAJ, C., GENNARELLI, M., TARDITO, D. and BOCCCHIO-CHIAVETTO, L. Peripheral whole blood microRNA alterations in major depression and bipolar disorder. J. Affect. Disord. 200, (2016) 250–258. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165032716301458?via%3Dihub>> Acesso em: 08 fev. 2020.

MIAO, N.; JIN, J.; KIM, S.N.; SUN, T. Hippocampal MicroRNAs Respond to Administration of Antidepressant Fluoxetine in Adult Mice. Int J Mol Sci. 2018 Feb 27;19(3). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5877532/>> Acesso em: 17 fev. 2020.

RODRIGUES, A.C.; LI, X.; RADECKI, L.; PAN, Y.Z.; WINTER, J.C.; HUANG, M.; YU, A.M. MicroRNA expression is differentially altered by xenobiotic drugs in different human cell lines. Biopharm Drug Dispos. 2011 Sep;32(6):355-67. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3158292/>> Acesso em: 22 jan. 2020.

ROY, B., DUNBAR, M., SHELTON, R. C. and DWIVEDI, Y. Identification of MicroRNA-124-3p as a Putative Epigenetic Signature of Major Depressive Disorder. Neuropsychopharmacology 42, 2017, p. 864–875. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/npp2016175>> Acesso em: 14 fev. 2020.

BAUDRY, A.; Mouillet-Richard S, Schneider B, Launay JM, Kellermann O. Le microARN-16 Une clé de l'adaptation des neurones à la fluoxétine. Med Sci (Paris). 2011 Feb;27(2):128-31. Disponível em: <https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2011/02/medsci2011272p128/medsci2011272p128.html> Acesso em: 08 jan. 2020.

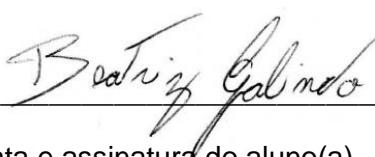
PATRÍCIO, P., MATEUS-PINHEIRO, A., ALVES, N. D., MORAIS, M., RODRIGUES, A. J., BESSA, J. M., SOUSA, N., PINTO, L. miR-409 and miR-411 Modulation in the Adult Brain of a Rat Model of Depression and After Fluoxetine Treatment. Front Behav Neurosci. 2020; 14: 136. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7427047/>> Acesso em: 18 set 2020.

PATRÍCIO, P., MATEUS-PINHEIRO, A., IRMLER, M. ALVES, N. D., MACHADO-SANTOS, A. R. MORAIS, M., CORREIA, J. S., KOROSTYNSKI, M., PIECHOTA, M., STOFFEL, R. BECKERS, J., ALMEIDA, O. F. X., BESSA, J. M., SOUSA, N., PINTO, L. Differential and Converging Molecular Mechanisms of Antidepressants' Action in the Hippocampal Dentate Gyrus. *Neuropsychopharmacology*. 2015 Jan; 40(2): 338–349. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4443946/>> Acesso em: 18 set 2020.

O'CONNOR, R. M., GRENHAM, S., DINAN, T. G., CRYAN, J. F. microRNAs as novel antidepressant targets: converging effects of ketamine and electroconvulsive shock therapy in the rat hippocampus. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, Volume 16, Issue 8, September 2013, Pages 1885–1892. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ijnp/article/16/8/1885/817219>> Acesso em: 08 set 2020.

Xu, Y., Xia, Q., Xia, Q., Zhang, X., Liang, J. MicroRNA-Based Biomarkers in the Diagnosis and Monitoring of Therapeutic Response in Patients with Depression. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2019; 15: 3583–3597. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6939173/#CIT0051>> Acesso em: 19 set 2020.

São Paulo, 23 de outubro de 2020



Data e assinatura do aluno(a)



Data e assinatura do orientador(a)