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

VICTOR HUGO CÔRTES SOARES

EFEITOS DO TRATAMENTO COM MIRTAZAPINA E RAMELTEONA EM PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS DE RATOS SUBMETIDOS A ALTERAÇÕES DOS RITMOS BIOLÓGICOS

CRICIÚMA, JULHO DE 2025

VICTOR HUGO CÔRTES SOARES

EFEITOS DO TRATAMENTO COM MIRTAZAPINA E RAMELTEONA EM PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS DE RATOS SUBMETIDOS A ALTERAÇÕES DOS RITMOS BIOLÓGICOS

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profª. Drª. Gislaine Zilli Réus

CRICIÚMA, JULHO DE 2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S676e Soares, Victor Hugo Côrtes.
Efeitos do tratamento com mirtazapina e ramelteona em parâmetros comportamentais de ratos submetidos a alterações dos ritmos biológicos / Victor Hugo Côrtes Soares. – 2025.
43 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2025.
Orientação: Gislaine Zilli Réus.

1. Ramelteona – Efeito fisiológico. 2. Mirtazapina – Efeito fisiológico. 3. Ritmos biológicos - Tratamento. 4. Transtorno depressivo maior - Tratamento. I. Título.

CDD. 22. ed. 615.1

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

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 477

Com início às 13 (treze) horas e 30 (trinta) minutos do dia 17 (dezessete) de julho de 2025 (dois mil e vinte e cinco), realizou-se, na Sala 209/Bloco S, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **VICTOR HUGO CÔRTES SOARES**, sob a orientação da **Profa. Dra. Gislaine Zilli Réus**, intitulada **"EFEITOS DO TRATAMENTO COM MIRTAZAPINA E RAMELTEONA EM PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS DE RATOS SUBMETIDOS A ALTERAÇÕES DOS RITMOS BIOLÓGICOS".** A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. Alexandra Ioppi Zugno (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, Josiane Budni (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, e Profa. Dra. Zuleide Maria Ignácio (Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: APROVADO, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 16h (dezesseis) horas, dos quais eu, Samiris Albano Pereira, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Josiane Budni, Coordenadora do Programa. Criciúma, 17 (dezessete) de julho de 2025 (dois mil e vinte e cinco).

Profa. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS

Samiris Albano Pereira
Secretária do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas do Laboratório de Psiquiatria Translacional, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da UNESC.

‘’*A vida é regulada por ritmos; ignorá-los é caminhar contra o próprio corpo.*” Franz Halberg, pai da cronobiologia moderna

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de força e sabedoria em todos os momentos desta jornada.

À minha digníssima esposa, Yasmin, por seu amor, paciência e apoio incondicional.

Aos meus queridos pais, Carloman e Simone, e ao meu avô, Osmar, exemplos de dedicação, caráter e inspiração constante.

À minha orientadora, Professora Dra. Gislaine Zilli Réus, pela orientação firme, competente e generosa ao longo de todo o processo.

Ao meu querido quinteto de viagens — Antonio, Daniela, José Carlos e Pedro Antonio — por cada momento de aprendizado, companheirismo e superação compartilhado ao longo dessa caminhada.

À Universidade do Extremo Sul Catarinense e ao seu Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, realizado de forma interinstitucional em conjunto com a Universidade de Rio Verde, pela oportunidade e estrutura oferecidas.

A todos os demais que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, em especial aos professores do PGGCS, pela dedicação e compromisso com a formação de excelência.

RESUMO

Os ritmos biológicos estão associados com mudanças do meio exógeno relacionado ao ambiente e às características fisiológicas endógenas. Existe uma associação entre a desregulação dos ritmos biológicos com a fisiopatologia do transtorno depressivo maior (TDM) que é a mais prevalente forma de doença mental, acometendo cerca de 300 milhões de pessoas de todas as idades no mundo. Os mecanismos exatos pelos quais distúrbios do sono ou alteração nos ritmos biológicos e o TDM estão conectados ainda não são claros. Tratamentos que visem a melhora das alterações nos ritmos biológicos podem ser promissores para a melhora do TDM e suas comorbidades. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do tratamento com mirtazapina (um antidepressivo) e ramelteona (um modulador do sono) em parâmetros comportamentais de ratos submetidos a alterações dos ritmos biológicos. Foram utilizados 120 ratos Wistar machos (60) e fêmeas (60), os quais a partir do 21° dia de vida foram divididos em dois grupos: (1) submetidos ao protocolo de alterações nos padrões de ritmos biológicos (RBA) e (2) controles. O grupo controle foi mantido em condições padrões com comida e água disponíveis *ad libitum* e mantido em ciclo claro-escuro de 12 horas até o dia 62° dias pós-natal (DPN). O grupo RBA foi submetido a alterações dos ritmos biológicos por 40 dias e após o protocolo os animais foram subdivididos em cinco grupos: 1) controle+salina (n=12 machos e 12 fêmeas); 2) RBA+salina (n=12 machos e 12 fêmeas); 3) RBA+mirtazapina (n=12 machos e 12 fêmeas); 4) RBA+ramelteona (n=12 machos e 12 fêmeas); e 5) RBA+mirtazapina+ramelteona (n=12 machos e 12 fêmeas). O tratamento ocorreu por 15 dias (63° ao 78° DPN). O tratamento com salina foi realizado intraperitoneal (i.p.) uma vez ao dia/15 dias. A mirtazapina foi administrada na dose de 40 mg/kg i.p. uma vez ao dia/15 dias. A ramelteona a uma concentração de 200 mg/mL, foi administrada uma vez ao dia/15 dias. Entre os dias 79° a 82° DPN foram realizados os testes comportamentais: a anedonia por meio do *splash* teste, o comportamento do tipo ansioso por meio do labirinto em cruz elevado e a memória de habituação através do teste do campo aberto. O estudo demonstrou que a alteração dos ritmos biológicos, compromete o comportamento de roedores, afetando memória, anedonia e ansiedade, com diferenças entre sexos. Machos apresentaram maior ansiedade, parcialmente revertida pelo tratamento com mirtazapina, enquanto fêmeas mostraram melhor resposta antidepressiva a esse fármaco. A ramelteona restaurou a memória apenas em fêmeas. Os achados deste estudo reforçam a importância dos ritmos biológicos na modulação do comportamento emocional e cognitivo, evidenciando efeitos sexuais específicos na resposta a fármacos como mirtazapina e ramelteona. A abordagem integrada por meio de diferentes testes comportamentais confirmou o potencial translacional dos modelos utilizados e destacou a preservação dos ritmos circadianos como um alvo terapêutico promissor para o tratamento e a prevenção de transtornos mentais.

Palavras-chaves: Ramelteona; mirtazapina; genes relógio; ritmos biológicos; transtorno depressivo maior.

ABSTRACT

Biological rhythms are associated with changes in the exogenous environment and endogenous physiological characteristics. There is a link between the dysregulation of biological rhythms and the pathophysiology of major depressive disorder (MDD), which is the most prevalent form of mental illness, affecting around 300 million people of all ages worldwide. The exact mechanisms by which sleep disturbances or disruptions in biological rhythms are connected to MDD remain unclear. Treatments aimed at improving biological rhythm disturbances may hold promise for the treatment of MDD and its comorbidities. The objective of this study is to evaluate the effects of treatment with mirtazapine (an antidepressant) and ramelteon (a sleep modulator) on behavioral parameters in rats subjected to altered biological rhythms. A total of 120 Wistar rats (60 males and 60 females) will be used. Starting on postnatal day 21 (PND 21), they will be divided into two groups: (1) subjected to a protocol of altered biological rhythm patterns (BRD), and (2) controls. The control group will be maintained under standard conditions, with food and water available ad libitum, and kept on a 12-hour light-dark cycle until postnatal day 62 (PND 62). The BRD group will be exposed to altered biological rhythms for 40 days. After the protocol, the animals will be subdivided into five groups: 1) control + saline (n=12 males and 12 females); 2) BRD + saline (n=12 males and 12 females); 3) BRD + mirtazapine (n=12 males and 12 females); 4) BRD + ramelteon (n=12 males and 12 females); and 5) BRD + mirtazapine + ramelteon (n=12 males and 12 females). Treatment will occur over 15 days (PND 63 to 78). Saline will be administered intraperitoneally (i.p.) once daily for 15 days. Mirtazapine will be administered at a dose of 40 mg/kg i.p. once daily for 15 days. Ramelteon, at a concentration of 200 mg/mL, will be administered once daily for 15 days. From PND 79 to 82, behavioral tests will be conducted: depressive-like behavior will be assessed using the forced swim test; spontaneous motor activity via the open field test; anhedonia through the splash test; anxiety-like behavior using the elevated plus maze; and habituation memory through the open field test. The study demonstrated that disrupting biological rhythms impairs rodent behavior by affecting memory, anhedonia, and anxiety, with sex-related differences. Males exhibited increased anxiety, which was partially reversed by mirtazapine, while females showed a better antidepressant response to this drug. Ramelteon restored memory only in females. The findings of this study reinforce the importance of biological rhythms in the modulation of emotional and cognitive behavior, highlighting sex-specific effects in the response to drugs such as mirtazapine and ramelteon. The integrated approach, utilizing various behavioral tests, confirmed the translational potential of the employed models and highlighted the preservation of circadian rhythms as a promising therapeutic target for treating and preventing mental disorders.

Keywords: Ramelteon; mirtazapine; clock genes; biological rhythms; major depressive disorder.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APA - Associação Pisiquiátrica Americana, do inglês: American Psychiatric Association

BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês: Brain-Derived Neurotrophic Factor

BMAL1 - Fator de Transcrição semelhante ARNT-1 semelhante no cérebro e músculo, do inglês: Brain and Muscle ARNT-Like 1

CLOCK - Ciclos Circadianos de Atividade Locomotara, do inglês: Circadian Locomotor Output Cycles

COX-2 - Ciclooxigenase-2

CRP - protéina C reativa, do inglês: C-Reactive Protein

CSV - Ciclo Sono-Vigília

DSM-5 - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, do inglês: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

EEG - Eletroencefalograma

EECG - Eletroencefalograma

HHA - Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

IFN-γ - Interferona gama, do inglês, Interferon gamma

IL-1β - Interleucina 1 beta, do inglês interleukine-1β

IL-2 - Interleucina 2, do inglês interleukine-2

IL-4 - Interleucina 4, do inglês interleukine-4

IL-5 - Interleucina 5, do inglês interleukine-5

IL-6 - Interleucina 6, do inglês interleukine-6

IL-8 - Interleucina 8, do inglês interleukine-8

IL-10 - Interleucina 10, do inglês interleukine-10

MEL - Melatonina

MT1 - receptor de Melantonina 1, do inglês: Melatonin Receptor 1

MT2 - receptor de Melantonina 2, do inglês: Melatonin Receptor 2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	**04**
1.1 Estudo Histórico do Sono	**04**
1.2 O sono	**07**
1.2.1 Fases do sono	**08**
1.3 Depressão	**08**
2 OBJETIVOS	**14**
2.1 Objetivo Geral	**14**
2.2 Objetivos específicos	**14**
3 MATERIAIS E MÉTODOS	**14**
3.1 Testes comportamentais	**17**
3.1 Teste de Campo Aberto (Memória de habitação)	**17**
3.1.2 Splash teste (Anedonia)	**17**
3.1.3 Labirinto e cruz elevado (Comportamento Ansioso)	**18**
3.2 Análises Estatísticas	**18**
4 RESULTADOS	**19**
5 DISCUSSÃO	**25**
6 CONCLUSÕES	**30**
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	**31**

1 INTRODUÇÃO

1.1 Estudo Histórico do Sono

O sono, manifestação biológica vivida por todos os animais vertebrados, tem chamado atenção de todos os povos do mundo desde a antiguidade. A imobilidade e, a aparente, inexistência de contato consciente com o mundo externo, geraram incontáveis mitos sobre a origem e significado do sono humano (Tufik, 2008). O sono está ligado funcionalmente à vigília, com o qual constitui o ciclo sono/vigília (CSV) (Horne & Ostemberg, 1976; Tufik, 2008;). A irregularidade desse ciclo (Wittmann, Merrow & Roenneberg, 2009; *National Sleep Fundacion*, 2019;), a qualidade (Araújo et al., 2013) e a duração do sono (Carvalho et al., 2013) e a sonolência diurna (Lopes, Meier & Rodrigues, 2018) interferem de maneira significativa na saúde e qualidade de vida dos indivíduos.

O ciclo vigília-sono é um ritmo biológico que segue um padrão circadiano de 24 horas, sincronizado com fatores ambientais, como o ciclo claro-escuro. O conceito de “Relógio Biológico” foi introduzido pelo cientista alemão Gustav Kramer, no final dos anos 1940, em estudos sobre a migração de aves. Kramer (1952) sugeriu que essas aves necessitavam de um mecanismo interno preciso para migrar com base na posição do sol, levando à ideia de um relógio biológico. Já naquela época, observou-se que diversos estímulos externos, como luz, temperatura e alimentação, podiam influenciar os ritmos internos de mamíferos. Esses estímulos foram descritos por diferentes termos, como "zeitgebers" (doadoras de tempo) e "sincronizadores", por Halberg (1960).

Richter, na década de 1960, reforçou a ideia de que os relógios biológicos funcionam independentemente de pistas externas. Ele notou que pacientes apresentavam ritmos fisiológicos variados, mesmo sem estímulos ambientais, sugerindo a existência de múltiplos relógios internos, localizados em diferentes órgãos, que poderiam ser centrais ou periféricos. Richter também foi pioneiro ao propor uma estrutura anatômica específica para o relógio biológico, que ele acreditava estar no sistema nervoso central (SNC). (Martins et al., 2018).

Posteriormente, experimentos de Richter identificaram o hipotálamo como a região central do controle de ritmos circadianos, com base na importância do ciclo claro-escuro. Na década de 1970, Robert Moore e sua equipe descreveram a via retino-hipotalâmica, conectando os olhos aos núcleos supraquiasmáticos (NSQs), localizados na base do cérebro. Estudos mostraram que os NSQs são cruciais para o relógio biológico central, embora outras regiões do corpo também contribuam para a ritmicidade circadiana. Assim,

existe uma hierarquia entre o relógio central, influenciado pela luz, e os periféricos, que podem responder a estímulos como alimentação (Martins et al., 2018).

Outros estudos relacionados à fisiologia do relógio biológico, conforme destacado por Kramer, incluem os de Curt P. Richter na década de 1960. Richter definiu os relógios biológicos como "instrumentos do corpo para manter a contagem do tempo, independentemente das pistas ambientais externas". Essa ideia foi baseada em observações de pacientes hospitalizados, cujos ritmos fisiológicos associados a enfermidades apresentavam ciclos diferentes de 24 horas. Isso sugere que o organismo possui a capacidade de contar o tempo em diferentes escalas. Richter propôs que os diversos relógios internos poderiam estar associados a um ou mais órgãos, localizados tanto de forma periférica quanto central no corpo. Com essa visão, ele foi pioneiro ao propor uma identidade anatômica para o relógio biológico em mamíferos, ampliando suas investigações no campo nos anos subsequentes (Martins et al., 2018).

Os experimentos iniciais de Richter identificaram estruturas centrais no sistema de temporização em mamíferos que foram conduzidos posteriormente, entre 1965 e 1967. Esses estudos incluíam a realização de lesões progressivas no SNC, seguidas pela análise da continuidade dos ritmos biológicos. Nesses estudos ficou claro que existiam lesões progressivas encontradas no SNC e a observação de sua permanência poderiam ocasionar em um distúrbio definitivo nos ritmos diários de ratos, e foi a partir desses experimentos que se observou e se concluiu que o centro responsável pela ritmicidade estava localizado na região encefálica do hipotálamo, e com isso o surgimento do princípio de que a sincronicidade ambiental mais relevante era o ciclo claro/escuro (Araújo et al., 2020).

Após alguns anos, a equipe de Robert Moore iniciou sua busca pelos olhos e foi então, que pela primeira vez, foi descrita a via retino-hipotalâmica (Moore & Eichler, 1972) demonstrando que ela terminava em dois pequenos núcleos na base do cérebro: os NSQs que passaram a ser conhecidos como o relógio biológico central. Após essa descoberta vários outros estudos surgiram a fim de testar a permanência de ritmos biológicos em animais lesionando os NSQs e com esses estudos pode-se observar que lesões nessas regiões não eram capazes de modificar o ritmo de temperatura de ratos (Krieger et al., 1977) e ainda que ao restringir a disponibilidade de alimentos eram capazes de sincronizar diversos ritmos circadianos dos ratos lesionados (Kreiger, 1974; Kreiger et al., 1977). Estas observações indicaram que, além dos NSQs, outras regiões estariam, também, envolvidas na expressão da ritmicidade endógena e que, portanto, deveria haver uma hierarquia no sistema de temporização circadiana de mamíferos.

Sabe-se que o principal sincronizador dos NSQs é a informação do claro-escuro, enquanto os relógios periféricos podem ter seus ritmos envolvidos pelo estímulo alimentar, por exemplo, sem que o período do relógio central seja alterado (Damiola et al., 2000; Stokkan et al., 2001). O sistema circadiano quando em seu funcionamento ótimo resulta da integração das informações de diferentes aspectos pelos diferentes osciladores do sistema.

Segundo Monteiro et al. (2020) foi observado que existem genes relógios que são herdados e que se localizam nos organismos vivos, podendo ser alterados de acordo com os ciclos ambientais. Os genes relógios interagem com diversos fatores ambientais que regulam o comportamento e a fisiologia dos organismos vivos (De Coursey & Krulas, 1998). Esses genes estão envolvidos na regulação do ciclo circadiano de acordo com o período do dia, utilizando mecanismos que geram um ritmo sazonal, ajustando-se às mudanças no fotoperíodo (Coomans, Ramkisoensing & Meijer, 2015). Baseado nesses estudos foi observado que esses genes relógio exercem uma influência direta no “relógio biológico”, onde esse termo se refere ao conjunto de mecanismos intrínsecos do organismo que conferem ritmicidade aos processos fisiológicos. Assim, mediante a essas conclusões obtidas, ficou determinado que os ritmos biológicos sejam chamados de ritmos circadianos e que podem ser eventos importantes para a sobrevivência dos seres vivos (Pedrazzoli, 2009). Diante do citado acima, as análises utilizando fenótipos intermediários hereditários são estratégias promissoras para identificar associações genéticas reais (Monteiro et al., 2020). Pode-se citar alguns genes que estão sendo estudados por vários grupos e que possuem relação direta com o ritmo biológico, incluindo o gene PER3, membro da família dos genes relógio de humanos, sendo responsáveis por codificar componentes dos ritmos circadianos, de atividade locomotora, metabolismo e comportamento; o gene SIRT1 descrito como uma molécula importante nos mecanismos dos ritmos circadianos, por formar um complexo com BMAL1 que desempenha um papel fundamental no mecanismo de *feedback* para a manutenção do ciclo circadiano (Asher et al., 2008; Wijnen, 2009); os genes PROKR2 e CLOCK indicam uma relação dos ritmos circadianos com transtornos psiquiátricos (Asher et al., 2008; Wijnen, 2009). Kishi et al. (2010) observaram ainda que a região SIRT1 desempenha um papel importante no ciclo circadiano, possuindo ainda uma relação com o metabolismo dopaminérgico.

Além dos genes, tem sido estudado por vários pesquisadores, a influência da melatonina (MEL) (Neto & Castro, 2008). A MEL ou N-acetil-5-metoxitriptamina, é o principal hormônio sintetizado pela glândula pineal dos vertebrados (Axelrod, 1974). Entre as várias ações da MEL já comprovadas, se destacam: imunomodulatória (exercem papel sobre os linfócitos, citocinas, entre outros), antiinflamatória (inibindo prostaglandinas e

regulando a COX-2), antitumoral (inibindo mitoses e suprimindo a recaptação do ácido linoléico, regulando assim receptores de estrogênio), antioxidante (regulando pró-oxidantes envolvidos na síntese do óxido nítrico e lipoxigenases), e cronobiológica (regulando os ritmos biológicos) (Neto & Castro, 2008). Dessas funções, a mais bem demonstrada até os dias atuais é a ação cronobiológica (Zhdanova, 2005) e sabe-se hoje que a MEL é o "tradutor neuroendócrino" do ciclo claro-escuro. Os ritmos circadianos e as alterações sazonais dos mamíferos são controlados pela MEL, sob o comando do sistema nervoso. Em condições normais, a produção e secreção de MEL são maiores no inverno (noites longas) do que no verão (noites curtas) e essa alternância no período de duração da secreção serve como sinal temporal para a organização de funções dependentes da duração do dia (reprodução, comportamento e crescimento de pelagem em alguns animais) (Arendt & Skene, 2005). Assim, a MEL é a mais importante substância sincronizadora endógena, controlando padrões secretórios de diversas substâncias sendo fundamental na atuação do ritmo biológico nos seres vivos (Rogers, Kennaway & Dawson, 2003).

1.2 O sono

Pode-se conceituar o sono como um processo ativo, o qual ocorre em uma sequência de diferentes fases, que se caracteriza por padrões cardiorrespiratórios e neurofisiológicos. Sendo assim, um complexo conjunto de processos fisiológicos e comportamentais (Iler et al., 2014).

A existência de um sono de boa qualidade favorecerá o bom humor, assim como desenvolverá um papel importante na promoção do crescimento, maturação e estado geral dos indivíduos, além de contribuir para as funções cognitivas, emocionais e ainda no desempenho escolar (Abreu et al., 2015).

O ciclo sono-vigília é um ritmo circadiano que oscila ao longo de um período de 24 horas. Esse ciclo é regulado pelo ambiente por meio da alternância do período claro e escuro, horário escolar, horário de trabalhar, lazer e atividades familiares. Além disso, o ciclo sono-vigília também pode ser regulado pelos estímulos internos, por meio do NSQ, considerado o relógio biológico circadiano do ser humano. Assim, o sono caracteriza-se como um processo vital, relacionado com diversos sistemas hormonais e cerebrais, tendo uma função necessária para a sobrevivência vital (Ciampo, 2012).

1.2.1 Fases do sono

O sono normal compreende dois estados: NREM (*non-rapid eye movement*) e REM (*rapid eye movement*) que se alternam, ciclicamente, durante um episódio de sono e possuem características bem definidas. O sono NREM é dividido em estágios N1, N2 e N3, sendo possível ser observados no eletroencefalograma (EEG) com sincronia variável, fusos de sono, complexos K e ondas lentas, associados a baixo tônus muscular e mínima atividade psicológica; o sono REM, caracteriza-se por movimentos rápidos dos olhos, EEG dessincronizado, atonia muscular e ocorrência de sonhos (Carskadon & Dement, 2005; Reimão et al., 2010).

A arquitetura do sono normal é dividida da seguinte forma: a fase N1 ocupa entre 2 e 5% do tempo total do sono; a fase N2, entre 45 e 50%; a fase N3, entre 15 e 25% do tempo total do sono. Portanto, as fases N1, N2 e N3, também, denominadas sono NREM, ocupam entre 62 e 80% do tempo total do sono. O sono REM ocorre em aproximadamente 20 a 25% do tempo total do sono. O sono REM e NREM constituem os ciclos de sono, que têm uma duração total de 90-100 minutos cada, com repetições de quatro a cinco vezes por noite (Silber et al., 2007).

1.3 Depressão

O termo depressão, na linguagem corrente, tem sido empregado para designar tanto um estado afetivo normal (a tristeza), quanto um sintoma, uma síndrome e uma (ou várias) doença(s). A depressão tem sido classificada na literatura atual como: transtorno depressivo maior (TDM), melancolia, distimia, depressão integrante do transtorno bipolar tipos I e II e depressão como parte da ciclotimia (Andrade et al., 2021).

Embora vários estudos na literatura sejam realizados, a etiologia relacionada à depressão permanece indeterminada, mas muitos são os fatores associados a esses quadros. Dentre estes, destaca-se a falta de prazer em realizar atividades rotineiras, letargia, apatia, baixa autoestima e a ansiedade. Porém, alguns outros sintomas, muitas vezes não observados podem também estar presentes e influenciar o quadro depressivo (disfunções endócrinas, metabólicas e inflamatórias) (Paz, 2021).

Em relação aos mecanismos fisiológicos envolvidos, a diminuição dos níveis de monoaminas, como os neurotransmissores serotonina, dopamina e noradrenalina está relacionada às alterações de humor em indivíduos depressivos, no entanto, em pessoas saudáveis a redução destas não ocorre (Souza, 2015).

A teoria monoaminérgica, apesar de suas lacunas existentes, foi por muitos anos, a base para o tratamento com antidepressivos, que atuam com a finalidade de elevar os níveis de transmissão das monoaminas nas fendas sinápticas. Também, o papel da serotonina, estabelece forte relação com as reações químicas que ocorrem no SNC (Carneiro, 2017).

O tratamento mais comum do TDM é o uso de antidepressivos, no entanto, uma parcela da população que se submete ao tratamento pode não se adaptar ou utilizá-los de maneira inadequada podendo ocasionar o agravamento do transtorno (Andrade et al., 2022). Quando o tratamento ocorre de maneira correta e a remissão persiste, os quadros de recorrência se tornam menores à medida que o tempo decorre, garantindo uma fase estável (*American Psychiatric Association* DSM-5, 2014).

O estudo detalhado desse transtorno é de extrema importância. Diversos mecanismos celulares e moleculares estão envolvidos nesse processo, incluindo uma resposta exacerbada ao estresse, elevados níveis de neuroinflamação, desequilíbrios na sinalização dos neurotransmissores, especialmente da serotonina, além de alterações na neurogênese e na plasticidade sináptica, com grande influência do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (Andrade et al., 2022). Já há muitos anos que se associa o estresse com a depressão. Inúmeros estudos publicados relatam esta associação, referindo aliás que o estresse representa um fator de risco para desenvolver depressão futura (Yan et al., 2022; Andrade et al., 2022).

Diversos estudos confirmaram a associação entre inflamação crônica e transtornos psiquiátricos, como depressão e ansiedade, especialmente aqueles resistentes aos medicamentos convencionais (Haroon et al., 2018). Pacientes com depressão apresentam níveis elevados de biomarcadores inflamatórios periféricos, e o grau de inflamação correlaciona-se com a gravidade de sintomas específicos (Kofod et al., 2022). Pesquisas que utilizam tomografia por emissão de pósitrons (PET) com a proteína translocadora de 18 kDa (TSPO) como biomarcador da micróglia demonstraram a presença de neuroinflamação em várias regiões cerebrais de indivíduos com depressão (Attwells et al., 2020). Em modelos animais também foi observado a liberação de fatores pró-inflamatórios e a ativação de micróglia em cérebros de animais que apresentam comportamentos do tipo ansiosos e depressivos (Munshi et al., 2020). Por outro lado, intervenções utilizando terapias medicamentosas e neuromodulação para transtornos psiquiátricos mostraram ser eficazes na redução da inflamação, aliviando simultaneamente os sintomas (Wang et al., 2018; Yan et al., 2022).

Vários trabalhos têm demonstrado como hipótese que as alterações nos índices inflamatórios podem servir como indicadores eficazes para terapias de neuromodulação (Wang et al., 2018; Belge et al., 2020; Yan et al., 2022).

Diversos estudos evidenciaram níveis elevados de marcadores inflamatórios em casos de depressão e ansiedade. Foi demonstrado que fatores inflamatórios, como IL-1β, IL-6, TNF-α e PCR, estão aumentados, enquanto fatores anti-inflamatórios, como IL-4, IL-8 e IL-10, estão reduzidos tanto no fluido periférico quanto no líquido cefalorraquidiano, correlacionando-se com os sintomas e a duração da doença em indivíduos com depressão e ansiedade (Guo et al., 2023). A remissão dos sintomas depressivos frequentemente é acompanhada por uma diminuição desses fatores inflamatórios (Kenis et al., 2002).

Dados disponíveis indicam que diferentes tipos de antidepressivos reduzem significativamente uma ampla gama de biomarcadores periféricos, como IL-1β, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, PCR e IFN-γ, além de inibir a inflamação no cérebro (Mosiołek et al., 2021). Sobre a questão de se as citocinas periféricas refletem as condições inflamatórias no SNC, existem canais pelos quais os fatores inflamatórios periféricos podem interagir com a inflamação central: (1) atravessam a barreira hematoencefálica por zonas de vazamento; (2) transporte ativo por moléculas transportadoras supersaturadas; (3) ativação de células endoteliais cerebrovasculares e outros tipos celulares (incluindo macrófagos perivasculares, que produzem citocinas e outros mediadores inflamatórios no cérebro); (4) ligação a receptores de citocinas em fibras nervosas aferentes periféricas, como o nervo vago (Miller et al., 2009); e (5) ativação de vesículas inflamatórias e transporte de células imunes (Slavich & Irwin, 2014).

Estudos também identificaram uma relação positiva entre fatores inflamatórios periféricos e inflamação central na depressão. Por exemplo, em uma amostra que analisou três coortes (sendo duas compostas por indivíduos com TDM), fatores inflamatórios periféricos, como prostaglandina E2/CRP e TNFα/CRP, mostraram correlação consistente com o sinal de TSPO no cérebro, apresentando valor preditivo positivo suficiente para serem considerados em ensaios clínicos (Attwells et al., 2020). Embora nem todos os indivíduos com transtornos de humor apresentem níveis elevados de inflamação, em indivíduos com alto índice inflamatório, os fatores pró-inflamatórios são indicativos da condição e podem ser úteis para orientar futuros estudos que explorem opções de tratamento anti-inflamatório para a depressão. O estresse oxidativo, resultante do desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade antioxidante do organismo, também contribui para danos neuronais e disfunções sinápticas (Black et al., 2015).

Como descrito, o sono e o humor são processos fisiológicos intrinsecamente interligados, influenciando-se mutuamente em uma relação bidirecional complexa. Distúrbios do sono, como insônia, hipersonia e alterações no ritmo circadiano, são frequentemente observados em indivíduos com depressão. Por outro lado, a privação de sono pode precipitar ou exacerbar sintomas depressivos (Riemann et al., 2010). Essa interação não é meramente associativa; evidências crescentes sugerem mecanismos fisiopatológicos compartilhados entre a regulação do sono e a modulação do humor. Neurotransmissores como serotonina, noradrenalina e dopamina, cruciais para a estabilidade do humor, também desempenham papéis fundamentais na arquitetura do sono (Monti & Jantos, 2008). Ademais, a desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), um sistema central de resposta ao estresse, está implicada tanto na depressão quanto nos distúrbios do sono (Tsigos et al., 2016).

A relevância clínica dessa interação é inegável. Pacientes deprimidos com distúrbios do sono apresentam pior resposta ao tratamento antidepressivo, maior risco de recaídas e comprometimento significativo da qualidade de vida (Nutt et al., 2008). Assim, estratégias terapêuticas que abordem simultaneamente a melhora do sono e do humor podem otimizar os resultados no tratamento da depressão.

Diante disso, torna-se relevante investigar substâncias com potencial para modular tanto o sono quanto o humor, como a mirtazapina e a ramelteona. A mirtazapina, um antidepressivo tetracíclico, é um antagonista dos receptores α2-adrenérgicos e dos receptores 5-HT2 e 5-HT3, aumentando a neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica (Stahl, 2009). Suas propriedades antihistamínicas também contribuem para a melhora do sono. A ramelteona, por sua vez, é um agonista seletivo dos receptores de melatonina MT1 e MT2, regulando diretamente o ciclo sono-vigília (Roth et al., 2005). Investigar os efeitos dessas substâncias em modelos animais que simulam alterações dos ritmos biológicos e depressão pode fornecer insights valiosos sobre seus mecanismos de ação e potencial terapêutico combinado.

Os ritmos biológicos, particularmente o ritmo circadiano, desempenham papel crucial na regulação de processos fisiológicos, como o ciclo sono-vigília, secreção hormonal, temperatura corporal e humor. A sincronização desses ritmos com o ambiente externo, especialmente o ciclo claro-escuro, é essencial para a saúde física e mental. A disrupção desses ritmos, causada por fatores externos (como trabalho em turnos e *jet lag*) ou internos (como mutações genéticas), tem sido associada a um maior risco de transtornos de humor, incluindo depressão (McClung, 2013).

A MEL, hormônio produzido pela glândula pineal durante a noite, exerce papel fundamental na regulação do ritmo circadiano, sinalizando a escuridão para o organismo e promovendo o sono (Reiter et al., 2014). Genes “relógio”, como Per, Cry, Clock e Bmal1, também são essenciais para a geração e manutenção dos ritmos circadianos, influenciando a expressão de outros genes e processos fisiológicos (Hastings et al., 2003). Alterações na expressão ou função desses genes estão implicadas na fisiopatologia da depressão (Hastings et al., 2003).

Historicamente, o estudo dos ritmos biológicos e sua relação com transtornos de humor tem se consolidado como uma área de pesquisa interdisciplinar. Os avanços tecnológicos, como a utilização de modelos experimentais em animais e análises genéticas, permitiram identificar mecanismos moleculares específicos que conectam os ritmos circadianos à regulação do humor. Além disso, a descoberta de relógios biológicos em nível celular revelou a influência global desses sistemas sobre processos fisiológicos, abrindo caminho para terapias direcionadas (Dijk & Archer, 2009).

A depressão é um transtorno mental complexo e multifatorial, caracterizado por humor persistentemente deprimido, perda de interesse ou prazer em atividades, alterações no apetite e no sono, fadiga, sentimentos de culpa ou inutilidade, dificuldade de concentração e, em casos graves, ideação suicida (APA, 2013). Seu diagnóstico é clínico, baseado na avaliação de sintomas e nos critérios diagnósticos estabelecidos no DSM-5.

Modelos animais desempenham um papel essencial na investigação das alterações de ritmos biológicos e sua relação com a depressão. Métodos experimentais incluem a indução de desregulação circadiana por meio de alterações no ciclo claro-escuro, estresse crônico e manipulação genética. Esses modelos permitem avaliar alterações comportamentais, como padrões de atividade, consumo alimentar e interação social, bem como parâmetros neuroquímicos relevantes para a depressão (Willner, 1997). Tais abordagens são fundamentais para elucidar os mecanismos pelos quais a disrupção dos ritmos circadianos contribui para a fisiopatologia da depressão e para testar intervenções terapêuticas inovadoras.

A relevância do presente estudo também se fundamenta na lacuna de conhecimento sobre a integração entre mecanismos circadianos e o comportamento e em como a mirtazapina e a ramelteona podem modular esses processos. Estudos prévios já demonstraram a eficácia dessas substâncias isoladamente em transtornos do humor e do sono, mas sua interação ainda não foi amplamente explorada (Müller & Guimarães 2017).

Este estudo buscou investigar os efeitos da mirtazapina e da ramelteona em parâmetros comportamentais relevantes para a depressão, utilizando um modelo animal de alterações dos ritmos biológicos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos do tratamento com o antidepressivo mirtazapina e do modulador do sono ramelteona em parâmetros comportamentais de ratos submetidos a alterações dos ritmos biológicos.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos do tratamento com mirtazapina e ramelteona sob o comportamento anedônico no *splash* teste em ratos machos e fêmeas submetidos a alterações dos ritmos biológicos;

- Avaliar os efeitos do tratamento com mirtazapina e ramelteona sob a memória de habituação no teste do campo aberto em ratos machos e fêmeas submetidos a alterações dos ritmos biológicos;

- Avaliar os efeitos do tratamento com mirtazapina e ramelteona sob o comportamento do tipo ansioso no teste do labirinto em cruz elevado em ratos machos e fêmeas submetidos a alterações dos ritmos biológicos;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliar a existência de associação bidirecional entre a alteração nos ritmos biológicos e TDM, foram utilizados 120 ratos Wistar machos (60) e fêmeas (60), os quais com 21° dias de vida e oriundos do Biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) pesando entre 45 a 300 gramas. Para determinação do número de animais para os experimentos, foi levado em consideração a utilização de um número mínimo possível de animais, a eficiência do modelo experimental e a estatística adequada para este tipo de avaliação. O presente trabalho foi submetido ao comitê de ética no uso de animais (CEUA) da Unesc possuindo o seguinte número de protocolo e aprovação (05/2024).

Os animais foram colocados em caixas com até quatro animais, onde foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais: (1) submetidos ao protocolo de alterações nos padrões de ritmos biológicos (RBA) e (2) controles. Os animais do grupo controle foram mantidos em condições padrões com comida e água *ad libitum,* mantidos em temperatura ambiente de 23°C+/-1 °C e umidade relativa ente 55 e 65%, num ciclo claro-escuro de 12horas (7h às 19h) até 83° dias pós-natal (DPN). Os grupos RBA foram submetidos a condições de alterações dos ritmos biológicos seguindo uma metodologia adaptada de Bilu et al. (2019), onde durante 40 dias (22º ao 62º DPN) foram alojados em uma sala climatizada e mantidos com alterações no ciclo claro-escuro e na alimentação, a fim de mimetizar situações da clínica em que o indivíduo não segue padrões dos ritmos biológicos, por exemplo, um dia dorme tarde, outro cedo, outro almoça outro não, conforme Quadro 1.

Quadro 1. Alterações nas condições padrões dos animais

Dias	Ciclo claro/escuro	Alimentação
1	Ciclo claro/escuro de 12 h	Restrição (8:00 às 10:00h)
2	Ciclo claro 10 h /escuro 14h	Restrição (7:00 às 10:00h)
3	Ciclo claro 14 h /escuro 10h	Restrição (9:00 às 12:00h)
4	Ciclo claro 08 h /escuro 16h	Restrição (12:00 às 16:00h)
5	Ciclo claro 20 h /escuro 04h	Restrição (13:00 às 15:00h)
6	Ciclo claro 15 h /escuro 09h	Restrição (16:00 às 20:00h)
7	Ciclo claro 09 h /escuro 15h	Restrição (19:00 às 22:00h)
8	Ciclo claro 16 h /escuro 08h	Restrição (19:00 às 7:00h)
9	Ciclo claro 20 h /escuro 04h	Restrição (15:00 às 18:00h)
10	Ciclo claro 18 h /escuro 06h	Restrição (10:00 às 12:00h)
11	Ciclo claro 10 h /escuro 14h	Restrição (6:00 às 10:00h)
12	Ciclo claro 08 h /escuro 16h	Restrição (13:00 às 17:00h)

13	Ciclo claro/escuro de 12 h	Restrição (8:00 às 10:00h)
14	Ciclo claro 10 h /escuro 14h	Restrição (14:00 às 18:00h)
15	Ciclo claro 14 h /escuro 10h	Restrição (9:00 às 13:00h)
16	Ciclo claro 08 h /escuro 16h	Restrição (20:00 às 6:00h)
17	Ciclo claro 20 h /escuro 04h	Restrição (13:00 às 21:00h)
18	Ciclo claro 15 h /escuro 09h	Restrição (7:00 às 11:00h)
19	Ciclo claro 15 h /escuro 09h	Restrição (14:00 às 19:00h)
20	Ciclo claro 09 h /escuro 15h	Restrição (10:00 às 14:00h)
21	Ciclo claro 16 h /escuro 08h	Restrição (8:00 às 10:00h)
22	Ciclo claro 20 h /escuro 04h	Restrição (7:00 às 10:00h)
23	Ciclo claro 18 h /escuro 06h	Restrição (9:00 às 12:00h)
24	Ciclo claro 10 h /escuro 14h	Restrição (12:00 às 16:00h)
25	Ciclo claro 08 h /escuro 16h	Restrição (13:00 às 15:00h)
26	Ciclo claro/escuro de 12 h	Restrição (16:00 às 20:00h)
27	Ciclo claro 10 h /escuro 14h	Restrição (19:00 às 22:00h)
28	Ciclo claro 14 h /escuro 10h	Restrição (19:00 às 7:00h)
29	Ciclo claro 08 h /escuro 16h	Restrição (15:00 às 18:00h)
30	Ciclo claro 20 h /escuro 04h	Restrição (10:00 às 12:00h)
31	Ciclo claro 15 h /escuro 09h	Restrição (6:00 às 10:00h)
32	Ciclo claro 09 h /escuro 15h	Restrição (13:00 às 17:00h)
33	Ciclo claro 16 h /escuro 08h	Restrição (8:00 às 10:00h)
34	Ciclo claro 20 h /escuro 04h	Restrição (14:00 às 18:00h)
35	Ciclo claro 18 h /escuro 06h	Restrição (9:00 às 13:00h)
36	Ciclo claro 10 h /escuro 14h	Restrição (20:00 às 6:00h)
37	Ciclo claro 08 h /escuro 16h	Restrição (13:00 às 21:00h)
38	Ciclo claro/escuro de 12 h	Restrição (7:00 às 11:00h)
39	Ciclo claro 10 h /escuro 14h	Restrição (14:00 às 19:00h)
40	Ciclo claro 14 h /escuro 10h	Restrição (10:00 às 14:00h)

Após o protocolo de RBA, os dois grupos, controles e RBA, foram subdivididos em cinco grupos experimentares para realização do tratamento com os medicamentos. Grupos: 1) controle + salina (n=12 machos e 12 fêmeas); 2) RBA + salina (n=12 machos e 12 fêmeas); 3) RBA + mirtazapina (n=12 machos e 12 fêmeas); 4) RBA + ramelteona (n=12 machos e 12 fêmeas); e 5) RBA + mirtazapina + ramelteona (n=12 machos e 12 fêmeas). O tratamento ocorreu por 15 dias (63° ao 78° DPN). O tratamento com salina (NaCl 0,09%) foi realizado intraperitoneal (i.p.) uma vez ao dia por 15 dias. A mirtazapina foi dissolvida em uma solução de NaCl com ácido acético a 0,5% e administrada na dose de 40 mg/kg i.p. uma vez ao dia por 15 dias (Silva & Fernández-Guasti, 2019). A ramelteona foi dissolvida em DMSO a uma concentração de 200 mg/mL. Esta solução foi diluída 100 vezes com solução salina até uma concentração final de 2 mg/mL imediatamente antes da utilização, sendo que foi administrado um volume de 5 mL/kg para cada rato uma vez ao dia por 15 dias (Yoshimoto et al., 2021).

Entre os 79° a 82° DPN foram realizados os testes comportamentais com todos os animais de todos os grupos (n=12 por grupo, sendo 12 machos e 12 fêmeas por grupo):

No 79° DPN foi realizada o treino da memória de habituação. No 80° DPN foi realizado o teste de habituação e o splash teste.

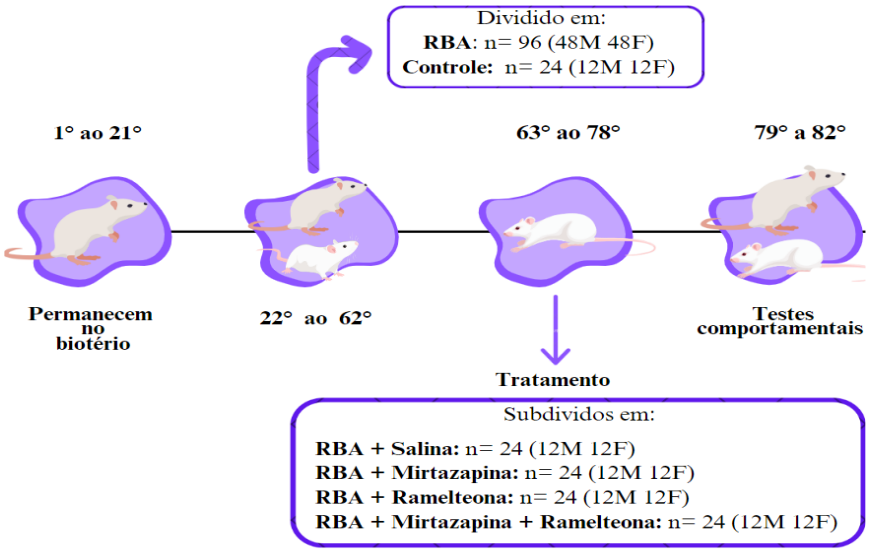


Figura 1: Representação da linha do tempo do experimento. Figura elaborada pelo autor.

3.1 Testes comportamentais

3.1.1 Teste de campo aberto (memória de habituação)

A memória de habituação foi medida usando a tarefa de habituação ao campo aberto, realizada em uma caixa de 40 x 60 cm, cercada por paredes de 50 cm de altura feitas de madeira compensada, com uma parede de vidro frontal e assoalho dividido em nove retângulos iguais por linhas pretas. Os animais foram colocados delicadamente no quadrante posterior esquerdo, para que explorem a arena por 5 minutos, onde foram contados os cruzamentos entre as linhas pretas (*crossings*) e a quantidade de vezes em que o animal ficou apoiado nas patas traseiras a fim de explorar o ambiente (*rearings*), nessa sessão foram observados os dados do treino (primeira exposição do animal ao aparato). Vinte e quatro horas após os animais foram expostos novamente ao aparelho durante cinco minutos e contados os mesmos parâmetros (sessão de teste) (Vianna et al., 2000).

3.1.2 Splash teste (anedonia)

Este teste tem o objetivo de avaliar o comportamento anedônico. O *splash* teste é utilizado para avaliar o comportamento de autolimpeza (*grooming*) dos animais, após a borrifação nos mesmos com solução de sacarose (10%). A latência para o início do

comportamento de autolimpeza e o tempo em que o animal permanece neste comportamento foi cronometrado durante cinco minutos. O *splash* teste é um marcador comportamental válido para modelos de indução ao estresse, uma vez que os animais submetidos a estes modelos apresentam um menor tempo de autolimpeza quando comparados aos animais controle. Os antidepressivos diminuem a latência para o início do comportamento de autolimpeza e ou aumentam o tempo dispendido neste comportamento (Isingrini et al., 2010). O *splash* teste foi realizado 10 minutos após a sessão de teste do campo aberto no 80° DPN.

3.1.3 Labirinto e cruz elevado (comportamento ansioso)

Para avaliação do comportamento ansioso foi utilizado o labirinto em cruz elevado, que é um aparelho que consiste em dois braços abertos (50 x 10 cm) e dois braços fechados (50 x 10 x 40 cm) dispostos de forma perpendicular formando uma plataforma central (5 x 5 cm). Os experimentos foram conduzidos em sala escura com luz vermelha posicionada a 50 cm de altura da plataforma central. Os animais foram colocados na plataforma central e tiveram cinco minutos para explorar o aparelho. Os parâmetros avaliados foram: número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos e fechados e número total de entradas em ambos (Pellow et al., 1985). Em teoria os animais com comportamento ansioso apresentam uma nítida preferência pelos braços fechados. O mecanismo subjacente seria um conflito entre comportamentos inatos com a tendência à exploração de ambientes novos, que seria um estímulo a exploração dos braços abertos, de um lado e a aversão aos espaços abertos e à novidade do aparelho do outro, que consistiria em um estímulo à redução da exploração dos braços abertos (Pellow et al., 1985). Esse teste foi realizado no 81° DPN.

3.2 Análises Estatísticas

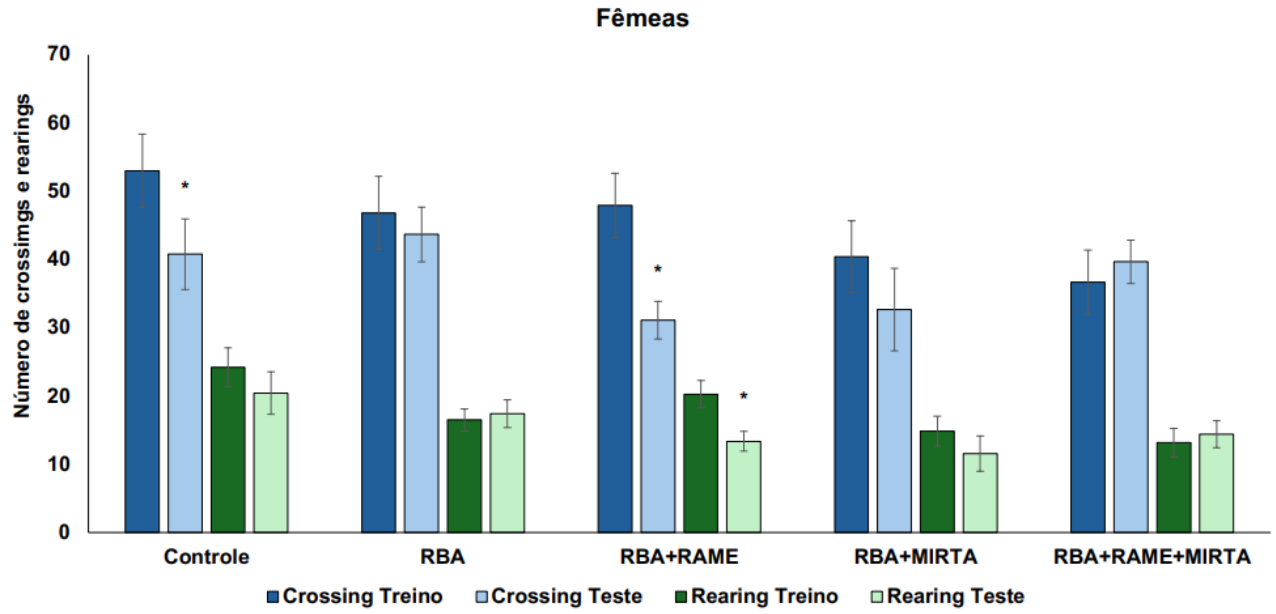
As análises estatísticas foram avaliadas utilizando SPSS Statistics 21.0 Software. Foi realizado teste t-*Student* para amostras dependentes para os dados da habituação ao campo aberto. A ANOVA de uma via foi realizada para os dados do *splash* teste e labirinto em cruz elevado. A significância estatística foi considerada para valores de p menores que 0,05.

4 RESULTADOS

A Figura 2 mostra os efeitos do protocolo de RBA e do tratamento com mirtazapina e ramelteona na memória de habituação. Em fêmeas do grupo controle, houve redução no número de crossings ($p < 0,05$), mas não do número de rearings ($p < 0,05$) a partir da sessão de treino (Fig. 2A), demonstrando uma aquisição parcial de aprendizagem proposta pelo teste de reconhecimento do ambiente. Fêmeas submetidas a alterações nos ritmos biológicos não tiveram diferenças no número de crossings e rearings ($p > 0,05$), comparando as sessões de treino e de teste, indicando prejuízo na aquisição da memória de habituação. Em fêmeas submetidas a RBA e tratadas com ramelteona foi observado uma redução do número de crossings e rearings comparando a diferença de treino e de teste ($p < 0,05$). Em fêmeas submetidas a RBA e tratadas com mirtazapina ou tratamento combinado de mirtazapina e ramelteona não houve diferença entre as sessões de treino e teste ($p > 0,05$), indicando prejuízo na aquisição da memória de habituação (Fig. 2A).

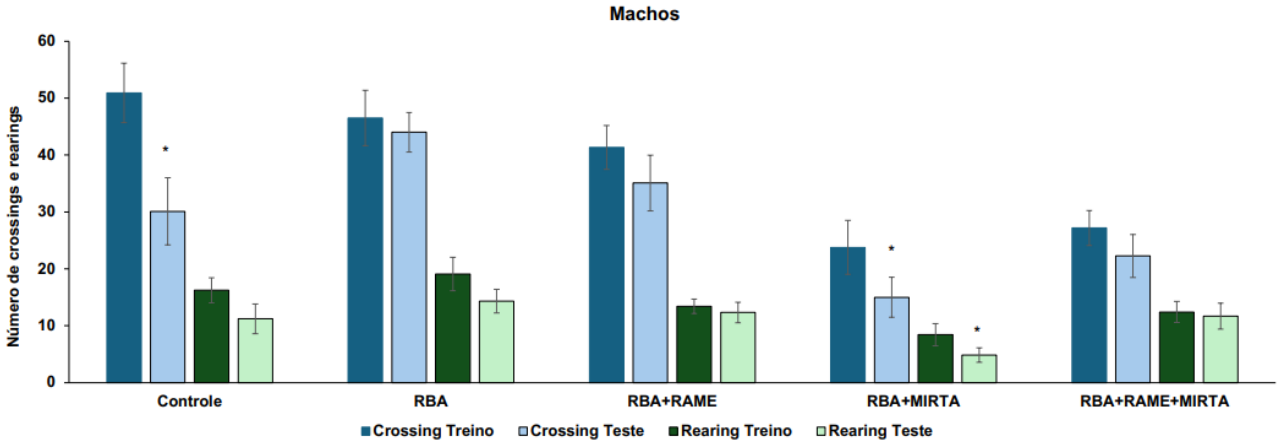
Em machos do grupo controle, houve redução no número de crossings ($p < 0,05$), mas não do número de rearings ($p < 0,05$) a partir da sessão de treino (Fig. 2B), demonstrando uma aquisição parcial de aprendizagem proposta pelo teste de reconhecimento do ambiente. Machos submetidos a alterações nos ritmos biológicos, tratados com ramelteona ou o tratamento combinado de mirtazapina e ramelteona não tiveram diferenças no número de crossings e rearings ($p > 0,05$), comparando as sessões de treino e de teste, indicando prejuízo na aquisição da memória de habituação. Já em machos submetidos a alterações dos ritmos biológicos e tratados com mirtazapina houve diferença entre as sessões de treino e teste ($p < 0,05$), indicando uma aquisição de aprendizagem proposta pelo teste de reconhecimento do ambiente (Fig. 2B).

Figura 2 A: Memória de habituação no teste do campo aberto de fêmeas



Legenda: Tratamento com mirtazapina (MIRTA) e ramelteona (RAME) em fêmeas submetidas a alterações dos ritmos biológicos (RBA) no teste de habituação em campo aberto. O número de crossings e rearings foi registrado nas sessões de treino e teste. Os valores são expressos como média ± erro padrão do erro padrão. *p < 0,05 em comparação com a sessão de treino. Fonte: Do autor, 2025.

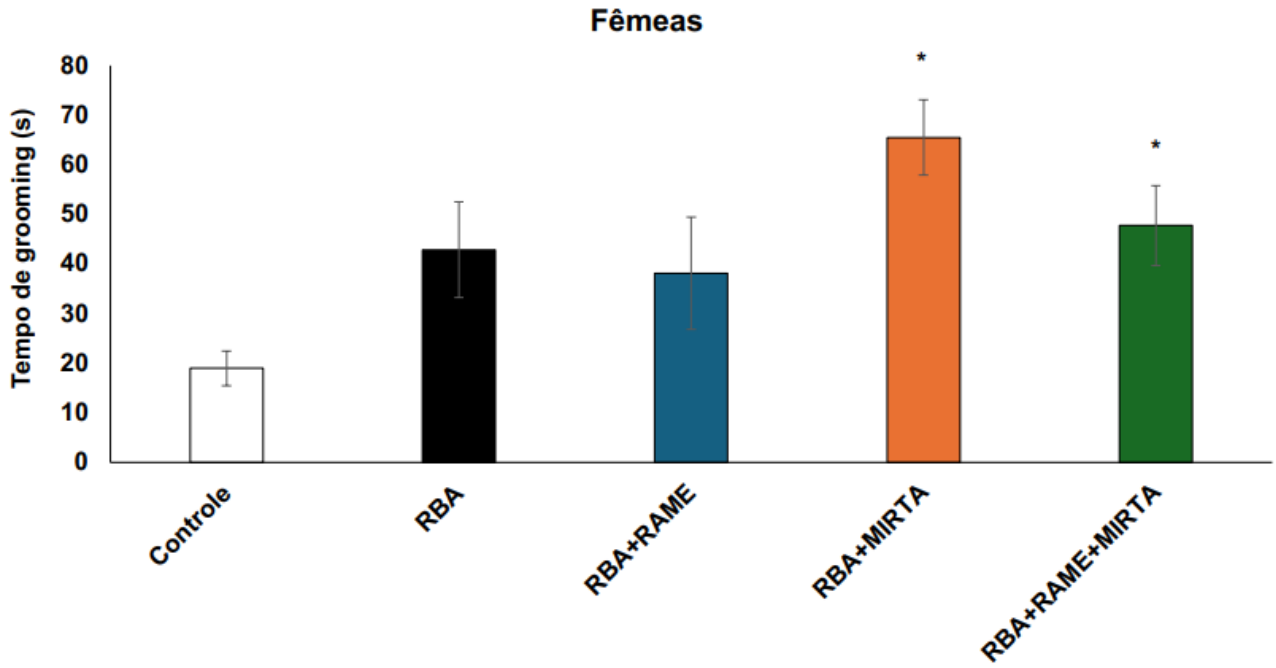
Figura 2 B: Memória de habituação no teste do campo aberto de machos



Legenda: Tratamento com mirtazapina (MIRTA) e ramelteona (RAME) em machos submetidos a alterações dos ritmos biológicos (RBA) no teste de habituação em campo aberto. O número de crossings e rearings foi registrado nas sessões de treino e teste. Os valores são expressos como média ± erro padrão do erro padrão. *p < 0,05 em comparação com a sessão de treino. Fonte: Do autor, 2025.

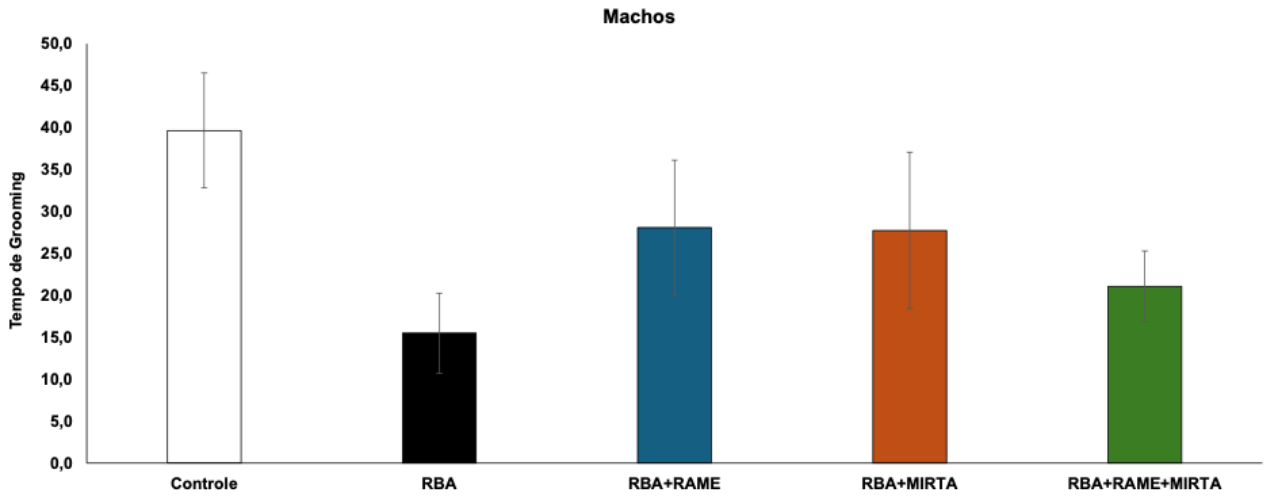
A Figura 3 ilustra o tempo de grooming em ratos fêmeas e machos submetidos ao protocolo de RBA e ao tratamento com mirtazapina e ramelteona. Os resultados mostraram que as fêmeas submetidas ao protocolo de RBA e tratadas com mirtazapina ou o tratamento combinado de mirtazapina e ramelteona tiveram um aumento no tempo de grooming ($p < 0,05$; Fig. 3A), comparado ao grupo controle, indicando uma diminuição de comportamento anedônico nesses grupos. Nos ratos machos, não houve diferença entre os grupos no tempo de grooming ($p > 0,05$; Fig. 3B).

Figura 3 A: Tempo de grooming no Splash teste de fêmeas



Legenda: Tratamento com mirtazapina (MIRTA) e ramelteona (RAME) em fêmeas submetidas a alterações dos ritmos biológicos (RBA) no Splash teste. O tempo de grooming foi avaliado. Os valores são expressos como média ± erro padrão do erro padrão. *p < 0,05 em comparação com grupo controle. Fonte: Do autor, 2025.

Figura 3 B: Tempo de grooming no Splash teste de machos

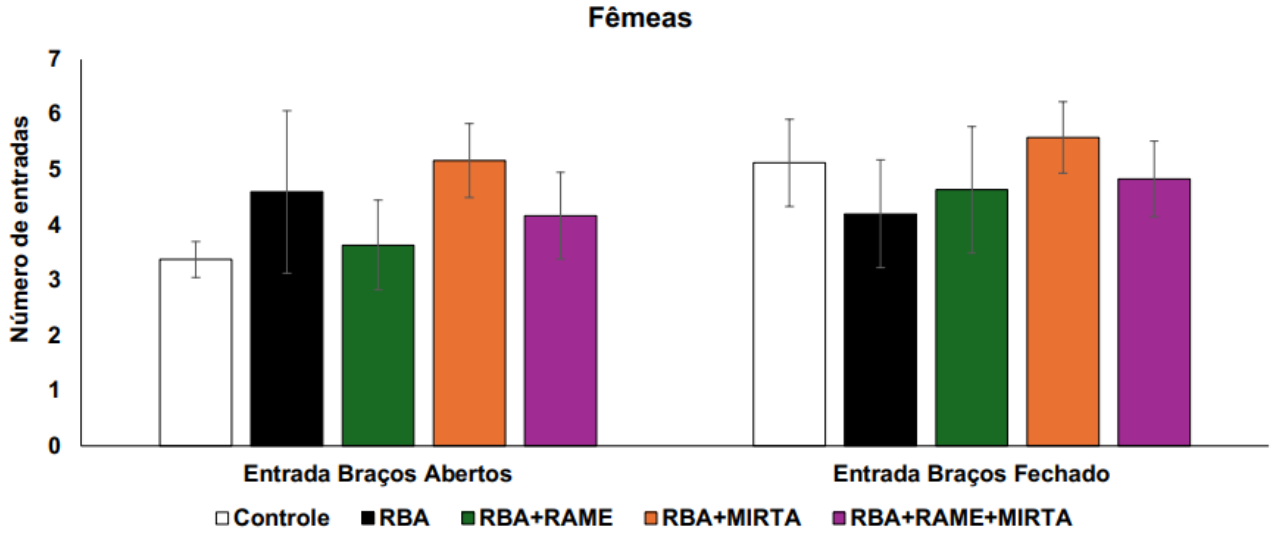


Legenda: Tratamento com mirtazapina (MIRTA) e ramelteona (RAME) em machos submetidos a alterações dos ritmos biológicos (RBA) no Splash teste. O tempo de grooming foi avaliado. Os valores são expressos como média ± erro padrão do erro padrão. Fonte: Do autor, 2025.

A Figura 4 mostra os efeitos do protocolo de RBA e ao tratamento com mirtazapina e ramelteona sobre o comportamento ansioso no teste do labirinto em cruz elevado. Em fêmeas, nenhuma diferença foi relatada no número de entradas ou o tempo gasto nos braços abertos ou fechados entre os grupos ($p > 0,05$; Fig. 4A e 4C).

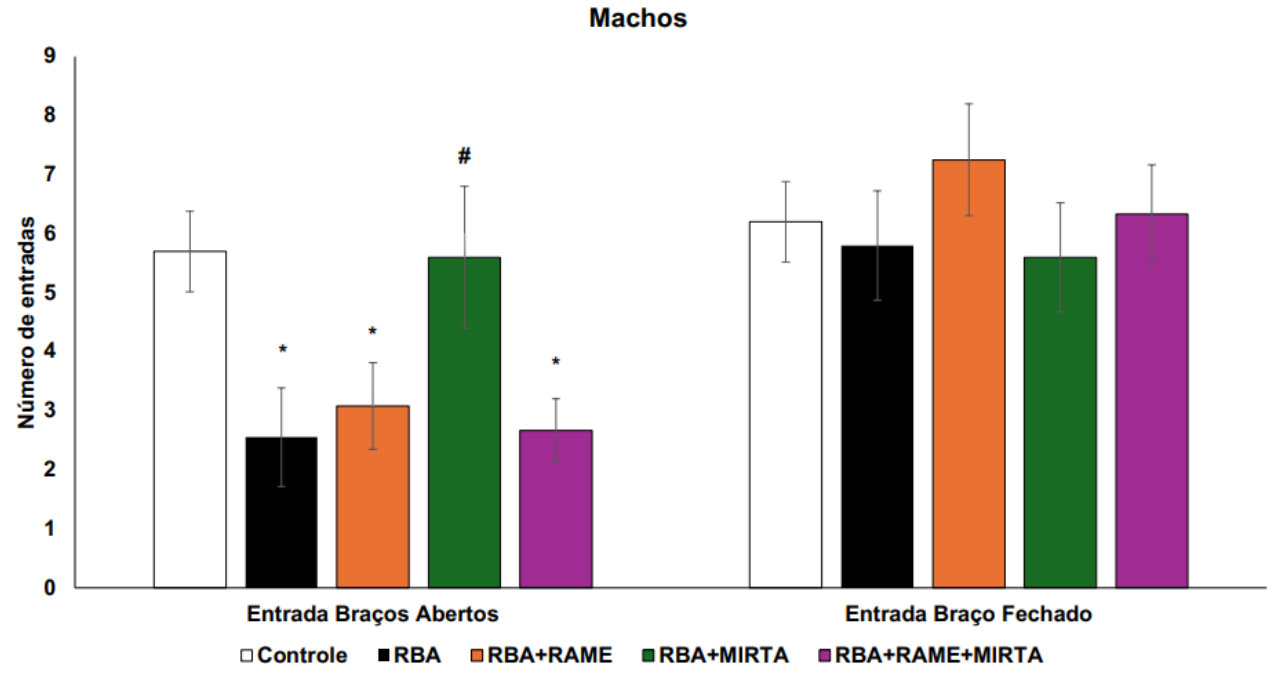
Nos machos houve uma diminuição no número de entradas e no tempo gasto nos braços abertos do grupo RBA e RBA tratados com ramelteona ou o tratamento combinado de ramelteona com mirtazapina, comparado ao grupo controle. Já o grupo tratado com mirtazapina teve maior número de entradas nos braços abertos, comparado ao grupo RBA ($p < 0,05$; Fig. 4B e 4D), indicando um efeito ansiolítico da mirtazapina. Com relação ao número de entradas e tempo gasto nos braços fechados de machos não houve diferença entre os grupos ($p > 0,05$; Fig. 4B e 4D).

Figura 4 A: Número de entradas no teste do labirinto em cruz elevado de fêmeas



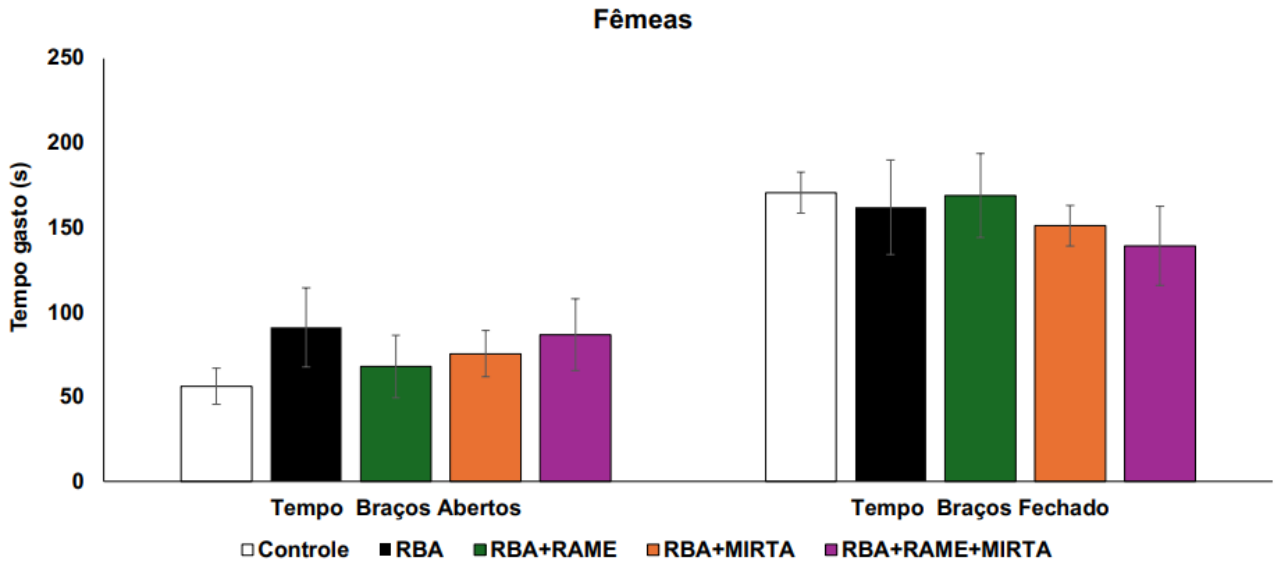
Legenda: Tratamento com mirtazapina (MIRTA) e ramelteona (RAME) em fêmeas submetidas a alterações dos ritmos biológicos (RBA) no teste do labirinto em cruz elevado. O número de entradas nos braços abertos e fechados foi avaliado. Os valores são expressos como média ± erro padrão do erro padrão. Fonte: Do autor, 2025.

Figura 4 B: Número de entradas no teste do labirinto em cruz elevado de machos



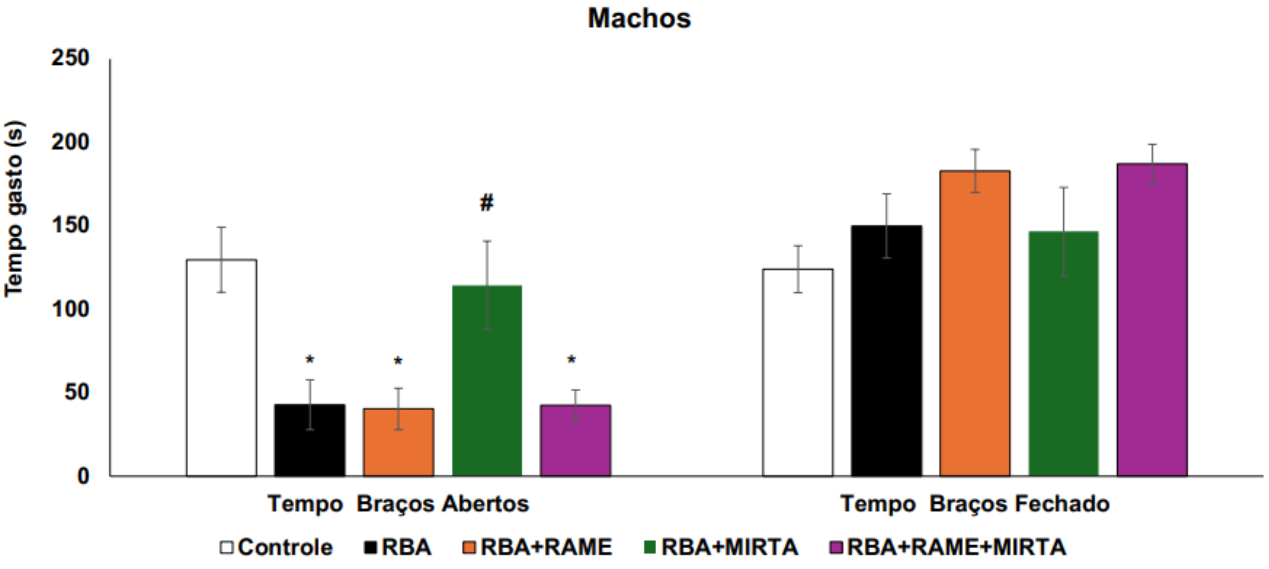
Legenda: Tratamento com mirtazapina (MIRTA) e ramelteona (RAME) em machos submetidos a alterações dos ritmos biológicos (RBA) no teste do labirinto em cruz elevado. O número de entradas nos braços abertos e fechados foi avaliado. Os valores são expressos como média ± erro padrão do erro padrão. *p < 0,05 em comparação com grupo controle; #p < 0,05 em comparação com grupo RBA. Fonte: Do autor, 2025.

Figura 4 C: Tempo gasto no teste do labirinto em cruz elevado de fêmeas



Legenda: Tratamento com mirtazapina (MIRTA) e ramelteona (RAME) em fêmeas submetidas a alterações dos ritmos biológicos (RBA) no teste do labirinto em cruz elevado. O tempo gasto nos braços abertos e fechados foi avaliado. Os valores são expressos como média ± erro padrão do erro padrão. Fonte: Do autor, 2025.

Figura 4 D: Tempo gasto no teste do labirinto em cruz elevado de machos



Legenda: Tratamento com mirtazapina (MIRTA) e ramelteona (RAME) em machos submetidos a alterações dos ritmos biológicos (RBA) no teste do labirinto em cruz elevado. O tempo gasto nos braços abertos e fechados foi avaliado. Os valores são expressos como média ± erro padrão do erro padrão. *p < 0,05 em comparação com grupo controle; #p < 0,05 em comparação com grupo RBA. Fonte: Do autor, 2025.

5 DISCUSSÃO

Nos mamíferos, o principal sincronizador do sistema circadiano é a luz do ambiente. Contudo, evidências indicam que estímulos não relacionados à luz, como as interações sociais, também exercem influência significativa na manutenção da sincronia de fase entre os diversos ritmos circadianos presentes no organismo (Golombeck; Rosenstein, 2010; Oster et al., 2017;). O alojamento individual de roedores é considerado um fator estressor capaz de provocar modificações nos sistemas comportamental, endócrino e imunológico (Greco et al., 1992; Gavrilovic; Spasojevic; Dronjak, 2010;).

O sistema de monitoramento da atividade em campo aberto avalia de forma abrangente os níveis de atividade locomotora e comportamental de camundongos. O teste é amplamente utilizado para avaliar comportamentos semelhantes à ansiedade e de exploração (Belzung & Griebel, 2001). Em particular, o campo aberto é uma ferramenta útil para avaliar déficits locomotores em modelos animais de doenças neuromusculares (Raben et al., 2000; Nagaraju et al., 2000) e a eficácia de fármacos terapêuticos que podem melhorar a locomoção e/ou a função motora (Erb et al., 2009; Malerba et al., 2011; Sali et al., 2012; Yu et al., 2013;). A avaliação da atividade em campo aberto oferece uma medida diferente da força muscular, que é comumente avaliada pelo teste de força de preensão, e demonstra como os medicamentos podem afetar outros sistemas corporais (por exemplo, o SNC) (Nagaraju, Carlson & De Luca, 2010).

Entre as alterações comportamentais observadas, destacam-se aquelas associadas ao estado emocional, como comportamentos semelhantes à depressão, à ansiedade e o aumento da agressividade (Greco et al., 1989; Grippo et al., 2014; Ieraci; Mallei; Popoli, 2016). Com base nessas evidências, os achados desta pesquisa evidenciam que a alteração dos ritmos biológicos (RBA) impactam de forma marcante o comportamento dos ratos, afetando especialmente a memória de habituação, sinais de anedonia e ansiedade, com respostas que variam conforme o sexo dos animais e os tratamentos utilizados com mirtazapina ou ramelteona.

A anedonia refere-se à redução ou ausência de interesse em atividades que normalmente proporcionam prazer, sendo um dos sintomas mais comuns em pessoas com depressão. Esse comportamento está associado a disfunções no sistema de recompensa cerebral (Pollak, Rey, Monje, 2010; Minami et al., 2017). Estudos indicam que o estresse social pode levar à diminuição da sensibilidade à recompensa em roedores, manifestando-se como um comportamento anedônico, evidenciado pela perda da resposta antecipatória

a recompensas como a sacarose. Essa condição pode ser revertida tanto pelo uso de antidepressivos quanto pelo enriquecimento ambiental (Kamal et al., 2009).

Outras observações têm sido verificadas em vertebrados, a respeito do comportamento de limpeza *(grooming),* descrito como uma expressão mútua de aceitação social e um indicativo das relações familiares, assim como de dominância, entre os diferentes membros de um grupo. Contudo, o *grooming* nem sempre está associado a consequências sociais, como evidenciado pelo fato de que a maioria das espécies animais estudadas dedicam uma parte do tempo às atividades de *grooming* (Mooring, Blumstein & Stoner, 2004).

Com o intuito de criar métodos para investigar memória e aprendizado, pesquisadores da psicologia experimental desenvolveram diversos testes voltados à avaliação de diferentes tipos de memória (Vincent, 1915). Grande parte dos procedimentos utilizados para analisar a memória espacial envolve o uso de labirintos, nos quais o animal precisa aprender um comportamento específico baseado em informações espaciais (Tolman, 1948; Barnes, 1979; Morris, 1981; Deacon & Rawlins, 2002; Carvalho et al., 2006; Oliveira-Silva et al., 2007; Vigil et al., 2010; Deacon, 2013; Liguz-Lecznar et al., 2015). Em particular, para a memória espacial de referência, o animal deve identificar e recordar a localização de um ponto específico que lhe proporcione uma recompensa.

De acordo com Karkhanis et al. (2015), a ativação da via glutamatérgica entre a amígdala basolateral e o núcleo accumbens intensifica o comportamento de busca por recompensa, sendo que o isolamento social parece potencializar essa sinalização. Além disso, a redução dos níveis de serotonina e o aumento do seu *turnover* no córtex pré-frontal e no hipocampo, têm sido associados ao aumento da procura por estímulos recompensadores como sacarose e etanol, sugerindo que essas alterações estejam relacionadas ao comportamento anedônico (Brenes & Fornaguera, 2009).

A Figura 3 na análise do comportamento anedônico no *Splash* teste mostrou que fêmeas tratadas com mirtazapina, isoladamente ou combinada à ramelteona, apresentaram aumento no tempo de *grooming*, indicativo de reversão de um comportamento compatível com anedonia. Esse efeito não foi observado em machos, o que mais uma vez aponta para respostas sexuais divergentes ao tratamento antidepressivo. No teste de habituação em campo aberto (Figura 2), tanto fêmeas quanto machos do grupo controle apresentaram redução significativa no número de *crossings*, sem alterações no número de *rearings,* sugerindo aquisição parcial da memória de habituação. Esse achado está de acordo com estudos prévios que demonstram que a familiarização com o ambiente reduz a atividade locomotora, reflexo de um processo de aprendizado e reconhecimento espacial (Tatem et al., 2014; Silva et al., 2024).

A relação entre depressão e sono é particularmente relevante, uma vez que alterações na qualidade, duração e estrutura do sono são frequentemente observadas em pacientes com transtornos de humor (Santiago, 2020). Estudos clínicos e epidemiológicos indicam que entre 50% e 90% dos indivíduos diagnosticados com depressão relatam queixas relacionadas ao sono (Kwan apud Zhang, 2022), sugerindo uma estreita ligação biológica entre ambos os fenômenos (Rethorst, 2015).

O sono é um estado comportamental complexo, caracterizado por postura relaxada, redução ou ausência de atividade motora e elevado limiar para resposta a estímulos externos. Ele é fundamental para a manutenção da saúde física e mental (Neves et al., 2013). Além de atuar como restaurador do organismo, o sono contribui para a conservação de energia, proteção do corpo e funcionamento cognitivo, sendo essencial para a consolidação da memória de longo prazo e da plasticidade sináptica (Neves et al., 2013; Schmitt, 2016).

Durante o sono normal, o corpo alterna entre dois estágios principais: REM (*Rapid Eye Movement*) e NREM (*Non-Rapid Eye Movement*). O sono REM é marcado por eventos fásicos (como movimentos rápidos dos olhos, abalos musculares e ereção peniana) e eventos tônicos (como dessincronização elétrica cortical, atonia muscular e ritmo teta hipocampal). Já o sono NREM é dividido em três fases: NREM 1 (sonolência), NREM 2 (sono leve intermediário) e NREM 3 (sono profundo) (Neves et al., 2013).

Perturbações ou privações do sono podem interferir nessa alternância natural, resultando em prejuízos significativos tanto em curto quanto em longo prazo, afetando negativamente o desempenho diário e as dimensões psicológica, cognitiva, social e somática do indivíduo (Neves et al., 2013). Diversos fatores podem contribuir para essas alterações, incluindo predisposições genéticas, condições biológicas, estilo de vida, ambiente, estresse, ansiedade, consumo de substâncias estimulantes e doenças crônicas, como a própria depressão (*National Institutes of Health*, 2005).

As alterações no sono podem se manifestar de diferentes formas, como: dificuldade para iniciar o sono, dificuldade para mantê-lo, despertar precoce com incapacidade de voltar a dormir ou ausência de sono reparador (*National Institutes of Health*, 2005). Esses sintomas são comuns na depressão maior e estão associados a um curso mais prolongado da doença, pior resposta ao tratamento e maior risco de recaídas e recorrência (Santiago, 2020).

Devido à sua alta prevalência e relevância clínica, os distúrbios do sono não apenas integram os critérios diagnósticos da depressão, como também têm sido considerados potenciais biomarcadores desse transtorno. Além disso, a perturbação do sono tem sido

reconhecida como um fator de risco importante para o desenvolvimento da depressão (Wang, 2021).

Apesar da alta prevalência e gravidade dos transtornos depressivos e ansiosos, bem como dos avanços na busca por tratamentos mais eficazes, a farmacoterapia atualmente disponível ainda apresenta diversas limitações (Casareli et al., 2021). Nesse contexto, torna-se essencial a investigação de novos agentes terapêuticos. No presente estudo foram investigadas as funções da mirtarzapina e a ramelteona em ratos Wistar submetidos a alterações do ritmo biológico. No teste do labirinto em cruz elevado (Figura 4), fêmeas não apresentaram alteração nos comportamentos ansiosos entre os grupos, sugerindo que o protocolo de RBA e os tratamentos aplicados não foram suficientes para induzir ou modular estados ansiosos nesses animais. Em contraste, os machos submetidos à RBA demonstraram redução significativa no número de entradas e no tempo nos braços abertos, refletindo aumento do comportamento ansioso. Este efeito foi parcialmente revertido pela mirtazapina, que aumentou as entradas nos braços abertos, indicando efeito ansiolítico em machos, consistente com suas propriedades farmacológicas de antagonismo nos receptores 5-HT2 e α2-adrenérgicos (Fernandes, 2017).

Esses dados são consistentes com evidências de que fêmeas possuem maior responsividade a tratamentos serotoninérgicos, como a mirtazapina, o que pode ser influenciado por fatores hormonais (Ferenczi et al., 2016). Entretanto, a exposição à RBA comprometeu essa habilidade, uma vez que os animais não apresentaram redução significativa nas medidas comportamentais entre as sessões de treino e teste, o que indica prejuízo cognitivo na aquisição da memória de habituação. Essa observação reforça a hipótese de que distúrbios do ciclo sono-vigília afetam negativamente a neuroplasticidade e a consolidação da memória, conforme sugerido por modelos anteriores de distúrbios circadianos (Bassuk, Glass & Berkman, 1999; Ferenczi et al., 2016).

O tratamento com ramelteona, um agonista de receptores melatoninérgicos, restaurou a memória de habituação em fêmeas, mas não em machos, sugerindo dimorfismo sexual na resposta ao tratamento. Por outro lado, o tratamento com mirtazapina foi eficaz apenas em machos, restaurando a aquisição da habituação. O efeito diferenciado da mirtazapina pode estar relacionado às variações na expressão de receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos entre os sexos, como já descrito na literatura (Haber & Knutson, 2010). Os achados de dimorfismo sexual na resposta à mirtazapina e à ramelteona podem ser explicados por diferenças na sinalização dos sistemas monoaminérgico e melatoninérgico entre machos e fêmeas. Estudos apontam que a expressão de receptores 5-HT_2 e α_2-adrenérgicos é modulada por esteroides sexuais, o que afetaria diretamente a eficácia

da mirtazapina no comportamento anedônico feminino e no ansiolítico masculino (Ferenczi et al., 2016). Além disso, a ramelteona, agonista dos receptores MT_1/MT_2, pode interagir de modo distinto com o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal em fêmeas, favorecendo a consolidação da memória de habituação via regulação de corticosterona e de BDNF no hipocampo (Arendt & Skene, 2005; Asher et al., 2008). Esses mecanismos sugerem que os efeitos sexuais específicos observados não são apenas fenotípicos, mas decorrentes de trajetórias moleculares divergentes nos circuitos de recompensa e memorização. O estriado, por receber entradas dopaminérgicas do mesencéfalo e sinais glutamatérgicos do córtex (Ikemoto, 2007; Haber & Knutson, 2010) ocupa uma posição central na motivação e regulação de comportamentos relacionados à recompensa (Albrecht & Eichele, 2003, Grippo et al., 2007).

Estudos anteriores utilizaram técnicas como voltametria cíclica de varredura rápida (FSCV) e registros eletrofisiológicos para avaliar, em tempo real, a dinâmica da liberação de dopamina e sua ação sobre neurônios pós-sinápticos em regiões relacionadas ao comportamento emocional e motivacional, como o núcleo accumbens e o estriado. Os resultados desses estudos demonstraram que a dopamina atua como um sinal fásico de recompensa, estando envolvida não apenas na recepção de estímulos prazerosos, mas também na antecipação e expectativa de recompensa (Phillips et al., 2003; Robinson et al., 2004;). Além disso, a liberação de dopamina pode ser modulada por estímulos emocionais e sociais, indicando que seu papel vai além da motivação clássica, sendo fundamental na regulação de estados afetivos e comportamentos relacionados à ansiedade e à interação social (Tye et al., 2013; Gunaydin et al., 2014). Esses achados reforçam que alterações na liberação ou na sinalização dopaminérgica, como as causadas por disrupções nos ritmos biológicos, podem comprometer a neuroplasticidade e os circuitos de recompensa, contribuindo para sintomas como anedonia, prejuízos cognitivos e alterações de humor.

Modelos animais foram utilizados por Gibson et al. (2010) para fins experimentais, investigando prejuízos cognitivos e de aprendizagem após repetidas alterações do *"jetlag*" em camundongos, os quais persistiram mesmo após a cessação do estímulo, sugerindo que alterações prolongadas nos ritmos biológicos podem levar a déficits cognitivos e de aprendizagem, além de problemas relacionados à saúde mental.

Diversas pesquisas têm buscado avaliar tratamentos cronobiológicos que auxiliem na regulação dos ritmos biológicos em indivíduos com depressão. Entre as várias opções terapêuticas, o antidepressivo melatoninérgico agomelatina tem se destacado como um potencial sincronizador dos ritmos circadianos (; Morley-Fletcher et al., 2011; Koresh et al., 2012; Mairesse et al., 2013). Modelos animais foram utilizados por Gibson et al. (2010)

para fins experimentais, investigando prejuízos cognitivos e de aprendizagem após repetidas alterações do “jetlag” em camundongos, os quais persistiram mesmo após a cessação do estímulo. Esse estudo sugere que alterações prolongadas nos ritmos biológicos podem levar a déficits cognitivos e de aprendizagem, além de problemas relacionados à saúde mental. Ressalta-se, portanto, a importância da regulação dos ritmos biológicos tanto para a prevenção de recaídas quanto para a minimização de possíveis comprometimentos cognitivos ao longo da vida em pacientes em remissão de transtornos mentais diagnosticados.

Segundo Blood & Zatorre (2001) a intensidade dos calafrios aumenta as mudanças no fluxo sanguíneo em diversas regiões cerebrais, com registros de aumentos e diminuições, associadas a funções como recompensa, motivação, emoção e excitação. Entre essas áreas, destacam-se o estriado ventral, o mesencéfalo, a amígdala, o córtex orbitofrontal e o córtex pré-frontal ventromedial. Essas mesmas regiões costumam ser ativadas em resposta a estímulos que provocam euforia, como a alimentação, o comportamento sexual e o uso de substâncias psicoativas.

Os dados do presente estudo reforçam que a alteração dos ritmos biológicos, especialmente em condições de isolamento social, compromete significativamente aspectos comportamentais em roedores, incluindo prejuízos em memória de habituação, aumento de comportamentos anedônicos e ansiosos, com variações conforme o sexo dos animais e os fármacos utilizados.

Embora os testes comportamentais forneçam evidências claras, a ausência de análises biomoleculares (por exemplo, dos níveis de citocinas inflamatórias como IL-1β ou de proteínas como BDNF) impede correlações diretas entre comportamento e sinalização neuronal (Haroon et al., 2018; Mosiołek et al., 2021). Além disso, o uso de apenas uma dose de ramelteona e de mirtazapina, sem curva dose-resposta, limita a generalização sobre a faixa terapêutica ideal. A coadministração simultânea, sem escalonamento temporal, também pode ter mascarado efeitos sinérgicos temporais. Por fim, o estudo não controlou possíveis influências ambientais, como a composição da microbiota intestinal, recentemente associada à modulação do eixo HHA e ao comportamento ansioso (Bailey & Coe, 2018).

Para avançar, é crucial implementar investigações que combinem comportamento e bioquímica: acrescentar análises de expressão gênica de clock genes (Per3, Bmal1) e marcadores de plasticidade sináptica em hipocampo e córtex pré-frontal após tratamentos farmacológicos (Asher et al., 2008; Monteiro et al., 2020). Pesquisas subsequentes devem explorar regimes de administração escalonada, por exemplo, ramelteona à noite e

mirtazapina pela manhã, para identificar janelas terapêuticas ideais. Ademais, a inclusão de modelos transgênicos de relógio biológico permitirá elucidar a contribuição específica de genes circadianos na eficácia dos fármacos. Esses desdobramentos fortalecerão o potencial translacional e ajudarão na personalização de terapias para transtornos do humor associados a disfunções do ciclo sono-vigília.

6 CONCLUSÃO

Os dados do presente estudo demonstram que a alteração dos ritmos biológicos (RBA) compromete de forma significativa o comportamento de roedores, resultando em déficits na memória de habituação, além do aumento de comportamentos anedônicos e ansiosos. Esses efeitos variam de acordo com o sexo dos animais e com os fármacos administrados.

As fêmeas quando submetidas ao teste de labirinto em cruz elevado e os machos submetidos ao mesmo protocolo mostraram aumento no comportamento ansioso, revertido parcialmente pela mirtazapina.

A mirtazapina demonstrou efeito antidepressivo mais evidente em fêmeas no *splash* teste (com aumento de *grooming*), enquanto sua ação ansiolítica foi mais pronunciada em machos no labirinto em cruz elevado. Já a ramelteona restaurou a memória de habituação em fêmeas, mas não teve efeito similar em machos — revelando um claro dimorfismo sexual na resposta aos tratamentos.

O uso de diferentes paradigmas comportamentais (campo aberto, *splash* test e labirinto em cruz elevado) permitiu uma avaliação abrangente de domínios como memória, anedonia e ansiedade, oferecendo uma visão integrada dos impactos neurobiológicos da RBA.

A preservação dos ritmos circadianos se apresenta como alvo terapêutico promissor não apenas para o tratamento, mas também para a prevenção de recaídas em transtornos mentais, além de minimizar déficits cognitivos cumulativos ao longo da vida.

Estudos futuros são sugeridos para investigar os impactos neurobilógicos e em circuitos cerebrais da RBA e do tratamento com mirtazapina e ramelteona.

REFERÊNCIAS

ABREU, G.A. et al. **Revisão sistemática sobre duração do sono e dislipidemia em adolescentes**: avaliando inconsistências. *Arq Bras Cardiol*, 2015.

ALBRECHT, U.; EICHELE, G. The mammalian circadian clock. **Current Opinion In Genetics & Development,** v. 13, n. 3, p.271-277, 2003.

AMANZADA, A.; MALIK, I.A.; NISCHWITZ, M.; SULTAN, S.; NAZ, N.; RAMADORI, G. **Myeloperoxidase and elastase are only expressed by neutrophils in normal and in inflammed liver**. *Histochem Cell Biol.*; v.135, n.3, p.305–15, 2011.

ANDRADE, M.S.; RODRIGUES, A.E.S.; JUNIOR, O.M.R.G.; GAMA, R.A.; OLIVEIRA, R.S.; ALHO, R.C. **Estudo do elevado consumo de antidepressivos em consequência da pandemia da Covid-19 no Brasil – Revisão integrativa**. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 13, 2022.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (APA). **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais.** DSM-5. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ARAÚJO MFM DE, LIMA ACS, ALENCAR AMPG, DE ARAÚJO TM, FRAGOSO LVC, DAMASCENO MMC. **Sleep quality assessment in college students from FortalezaCE. Texto e Context Enferm [Internet**]. 2013; v.22, n.2, p.352–60.

ARAÚJO, M.F.S. **Qualidade do sono, sonolência diurna e fatores associados em estudantes universitários**: Um estudo baseado nos determinantes sociais. Santa Cruz - RN 2020. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva.

ARENDT, J.; SKENE, D.J. **Melatonin as a chronobiotic**. *Sleep Med Rev*, 2005, 9, pp. 25-39.

ASHER, G. et al. **SIRT1 regulates circadian clock gene expression through PER2 deacetylation.** *Cell*, 2008, v.134, n.2, p.317-28.

ATTWELLS, S. et al. **Translocator protein distribution volume predicts reduction of symptoms during open-label trial of celecoxib in major depressive disorder.** *Biol Psychiatry*, 2020, v.88, p.649–56.

BANNISTER, J.V.; CALABRESE, L. **Assays for superoxide dismutase**. *Methods Biochem Anal*, 1987, v.32, p.279–312.

BARNES, C. A. **Memory Deficits Associated with Senescence**: A Neurophysiological and Behavioral Study in the Rat. Journal of Comparative and Physiological Psychology, v.93, n.1, p.74–104, 1979. DOI.org/https://doi.org/10.1037/h0077579.

BASSUK, S. S.; GLASS, T. A.; BERKMAN, L. F. **Social Disengagement and Incident Cognitive Decline in Community-Dwelling Elderly Persons**. Annals Of Internal Medicine, v. 131, n. 3, p.165-173, 1999

BELGE, J.-B. et al. **Inflammation, hippocampal volume, and therapeutic outcome following electroconvulsive therapy in depressive patients: a pilot study.** Neuropsychobiology, 2020, v.79, p.222–32.

BELZUNG, C., GRIEBEL, G. **Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice**: a review. Behav Brain Res. 125, p.141-149, 2001.

BERRY, A. et al. **Social deprivation stress is a triggering factor for the emergence of anxiety- and depression-like behaviours and leads to reduced brain BDNF levels in C57BL/6J mice**. Psychoneuroendocrinology, v. 37, n. 6, p. 762-772, 2012.

BRENES, J. C.; FORNAGUERA, J. **The effect of chronic fluoxetine on social isolation-induced changes on sucrose consumption, immobility behavior, and on serotonin and dopamine function in hippocampus and ventral striatum.** Behavioural Brain Research, v. 198, n. 1, p.199-205, 2009.

BILU, C. et al. **Diurnality, type 2 diabetes, and depressive-like behavior**. *Journal of Biological Rhythms*, v. 34, n. 1, p. 69-83, 2019.

BLOOD, A.J.; ZATORRE, R.J. **Intensely pleasurable responses to music correlate with activity in brain regions implicated in reward and emotion**. PNAS v.25, n. 98, 2001.

BRADFORD, M.M. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding**. *Anal Biochem*, , v.72, p.248–54,1976

CARNEIRO, C.A. **Padronização de um modelo de estresse subcrônico imprevisível, para indução da depressão**. Universidade Federal da Paraíba, 2017.

CARVALHO, L.A., GORENSTEIN, C., MORENO, R.A. **Melatonin levels in drug-free patients with major depression from the Southern hemisphere**.Psychoneuroendocrinology., v.31, n.6, p.761-768, 2006.

CARSKADON, M.A.; DEMENT, W.C. **Normal human sleep: an overview**. In: KRYGER, M.H.; ROTH, T.; DEMENT, W.C. (Ed.). *Principles and Practice of Sleep Medicine*. 4. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2004.

CARVALHO TMCS DA, SILVA II DA, SILVA SIQUEIR PPS DA, OLIVEIRA ALMEIDA J DE, SOARES AF, LIMA AMJ DE. **Qualidade do sono e sonolência diurna entre estudantes universitários de diferentes áreas**. Rev Neurociencias.; v.21, n.3, p.383–7, 2013.

CASARELI, A.G; LOURENÇO, Q.A.; DOMINGUES, M.; SMAIOTTO, T.A.; BIRMANN, P.T.; VIEIRA, B.; SONEGO, M. S.; SEIXAS, F.K.; COLLARES, T.; LENARDÃO, E.J.; SAVEGNAGO, L. **Comportamento anedônico e alterações neoroquímicas são abolidos por unica administração de composto contendo selênio em camundongo cronicamente estressados.** Psiconeuroendocrilogia Abrangente, v,6, 2021.

CIAMPO, L.A.D. **O sono na adolescência**. *Revista Adolescente e Saúde*, Rio de Janeiro, v. 9, n.2, p. 60-66, 2012.

COOMANS, C.P.; RAMKISOENSING, A.; MEIJER, J.H. **The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock**. *Front Neuroendocrinol*, 2015, v.37, p.29-42.

DEACON, R. M. J. **Shallow water (paddling) variants of water maze tests in mice.** Journal of Visualized Experiments: JoVE, 76, 2013. https://doi.org/10.3791/2608.

DEACON, R. M. J., & RAWLINS, J. N. P. **Learning impairments of hippocampal-lesioned mice in a paddling pool.** Behavioral Neuroscience, v.116, n.3, p.472–478, 2002. https://doi.org/https://doi.org/10.1037/0735-7044.116.3.472.

DE COURSEY, P.J.; KRULAS, J.R. **Behavior of SCN-lesioned chipmunks in natural habitat: a pilot study**. *J Biol Rhythms*, 1998, v.13, n.3, p.229-44.

DAMIOLA, F. et al. **Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus**. *Genes Devices*, 2000, v.14, p.2950-2961.

EICHLER, V.B.; MOORE, R.Y. **Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat**. *Brain Research*, 1972, v.42, p.201-206.

ERB, M. et al. **Omigapil ameliorates the pathology of muscle dystrophy caused by laminin-alpha2 deficiency**. J Pharmacol Exp Ther., v.331, n.3, p.787-95, 2009.

ESTIVILL, E. et al. **Neurocognitive and behavioral disturbances after adenotonsillectomy in obstructive sleep apnea syndrome.** *An Pediatr (Barc)*, 2014.

FERENCZI, E.A.; ZALOCUSKY, K.A.; LISTON, C., GROSENICK, L.; WARDEN, M.R.; AMATYA, D.; KATOVICH, K.; MEHTA, H.; CHARU, B.P.; RAMAKRISHNAN, P.; KALANITHI, P.; ETKIN, A.; KNUTSON, B.; GLOVER, G.H.; AND DEISSEROTH, K. **Prefrontal cortical regulation of brainwide circuit dynamics and reward-related behavior.** Science. 2016 January 1; v.351, n.6268, p.aac9698. doi:10.1126/science.aac9698.

FERNANDES, P. **A importância da interação social para o funcionamento do sistema circadiano de camundongos**. 2017. Tese (Doutorado em Fisiologia e Farmacologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

FISCHER, J.C. et al. **Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal muscle**. *Clinica Chimica Acta*, 1985, v.153, p.23-36.

GAVRILOVIC, L.; SPASOJEVIC, N.; DRONJAK, S. **Chronic Individual Housing-Induced Stress Decreased Expression of Catecholamine Biosynthetic Enzyme Genes and Proteins in Spleen of Adult Rats.** Neuroimmunomodulation, vol. 17, no. 4, p. 265-269, 2010.

GIBSON, E.M., WANG, C., TJHO, S., KHATTAR, N., KRIEGSFELD, L.J. **Experimental 'Jet Lag' Inhibits Adult Neurogenesis and Produces Long-Term Cognitive Deficits in Female Hamsters.** PLoS ONE., v.5, N.12, e15267, 2010.

GOLOMBEK, D. A.; ROSENSTEIN, R. E. **Physiology of Circadian Entrainment.** Physiological Reviews, v. 90, n. 3, p.1063-1102, 2010.

GRECO, A.M., et al. **Effects of individual housing on circadian rhythms of adult rats.** Physiol Behav, vol. 45, no. 2, pp. 363-366, 1989.

GRECO, A. M. et al. **Circadian rhythms of hypothalamic norepinephrine and of some circulating substances in individually housed adult rats.** Physiol Behav, vol. 52, no. 6, pp. 1167-72, 1992.

GREEN, L.C. et al. **Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids**. *Anal Biochem*, 1982, v.126, p.131–138.

GRIPPO, A. J. et al. **Social isolation induces behavioral and neuroendocrine disturbances relevant to depression in female and male prairie voles.** Psychoneuroendocrinology, v. 32, n. 8-10, p.966-980, 2007.

GUNAYDIN, L.A., et al. **Natural neural projection dynamics underlying social behavior.** Cell.; v.157, p.1535–1551, 2014. doi: 10.1016/j.cell.2014.05.017; pmid: 24949967.

GUO, T. et al. **Transcranial direct current stimulation ameliorates cognitive impairment via modulating oxidative stress, inflammation, and autophagy in a rat model of vascular dementia.** *Front Neurosci*, 2020, v.14, p.28.

HALBERG F. **Temporal coordination of physiologic function**. Cold Spring Harbor Symp.Quant. Biol., 25: 289-310, 1960.

HABER SN, KNUTSON B. **The reward circuit**: Linking primate anatomy and human imaging. Neuropsychopharmacology. 2010; 35:4–26. doi: 10.1038/npp.2009.129; pmid: 19812543.

HAROON, E. et al. **Antidepressant treatment resistance is associated with increased inflammatory markers in patients with major depressive disorder**. *Psychoneuroendocrinology*, 2018, v.95, p.43–49.

HASTINGS, M.H. et al. **Mechanisms of circadian control of gene expression in mammalian cells**. *Journal of Neurochemistry*, 2003.

HORNE JA, OSTERBERG OA. **Self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms**. Int J Chronobiol. 1976; v.4, n.2, p.97–110.

IERACI, A.; MALLEI, A.; POPOLI, M. **Social Isolation Stress Induces Anxious-Depressive-Like Behavior and Alterations of Neuroplasticity Related Genes in Adult Male Mice. Neural Plasticity,** v. 2016, p.1-13, 2016.

IKEMOTO, S. **Dopamine reward circuitry**: Two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. Brain Res. Rev. 2007; v,56, p.27–78. doi: 10.1016/ j.brainresrev.2007.05.004;

ILER E, BARCELÓ M, SEGARRA F, Estivill E, GIRABENT-FARRÉS M. **Neurocognitive and behavioral disturbances after adenotonsillectomy in obstructive sleep apnea syndrome**. An Pediatr. *(Barc)* 2014.

ISINGRINI, E., CAMUS, V., LE GUISQUET, A.-M., PINGAUD, M., DEVERS, S., and BELZUNG, C. **Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet**: a model of fluoxetine resistance in mice. PloS One 5, e10404, 2010.

KAMAL, A., et al., Announced reward counteracts the effects of chronic social stress on anticipatory behavior and hippocampal synaptic plasticity in rats. Exp **Brain Res**, v. 201, n. 4, p. 641-51, 2010.

KARKHANIS, A. N. et al. Social Isolation Rearing Increases Nucleus Accumbens Dopamine and Norepinephrine Responses to Acute Ethanol in Adulthood. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research,** v. 38, n. 11, p. 2770-2779, 2014.

KENIS, G.; MAES, M. **Effects of antidepressants on the production of cytokines**. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2002, v.5, p.401–12.

KNUTSON B, COOPER JC. **Functional magnetic resonance imaging of reward prediction.** Curr. Opin. Neurol.; v.18, p.411–417, 2005. doi: 10.1097/01.wco.0000173463.24758.f6; pmid: 16003117.

KOFOD, J. et al. **Depression and inflammation: correlation between changes in inflammatory markers with antidepressant response and long-term prognosis**. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2022, v.54, p.116–25.

KORESH, O., KOZLOVSKY, N., KAPLAN, Z., ZOHAR, J., MATAR, M.A., COHEN, H., 2012. **The longterm abnormalities in circadian expression of Period 1 and Period 2 genes in response to stress is normalized by agomelatine administered immediately after exposure**. Eur Neuropsychopharmacol., v.22, n.3, p.205-21, 2013.

KRAMER, G. **Experiments on bird orientation**. *Ibis*, 1952, v.94, p.265-285.

KRIEGER, D.T.; HAUSER, H.; KREY, L.C. **Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity**. *Science*, 1977, v.197, p.398–399.

KRIEGER, D.T. **Ventromedial hypothalamic lesions abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity**. *Endocrinology*, 1974, v.106, p.649-654.

KISHI T, YOSHIMURA R, KITAJIMA T, OKOCHI T, OKUMURA T, TSUNOKA T, et al. **SIRT1 gene is associated with major depressive disorder in the Japanese population**. J Affect Disord. 2010; v.126, n.1-2, p.167-73.

KWAK, C.; LEE, S-H; KAANG, B-K. Social Isolation Selectively Increases Anxiety in Mice without Affecting Depression-like Behavior. **The Korean Journal Of Physiology And Pharmacology,** v. 13, n. 5, p. 357-360, 2009.

LANDER, S. S.; LINDER-SHACHAM, D.; GAISLER-SALOMON, I. **Differential effects of social isolation in adolescent and adult mice on 74 behavior and cortical gene expression.** Behavioural Brain Research, v. 316, p. 245-254, 2017.

LIGUZ-LECZNAR, M., LEHNER, M., KALISZEWSKA, A., ZAKRZEWSKA, R., SOBOLEWSKA, A., & KOSSUT, M. **Altered glutamate/GABA equilibrium in aged mice cortex influences cortical plasticity**. Brain Structure and Function, v.220, n.3, p.1681–1693. https://doi.org/10.1007/s00429-014-0752- 6, 2015.

LOPES, H.S. et al. **Qualidade do sono entre estudantes de enfermagem e fatores associados**. *Ciências Biológicas e Da Saúde*, 2018, v.39, n.2, p.129–36.

LIU, Y.; LEE, M.L.; HAGEMAN, K.J.; YANG, Y, HAWTHORNE, S.B. **Anal. Chem.** Washington, v.69, p.5001-5005, 1997.

MALERBA, A. et al. **Chronic systemic therapy with low-dose morpholino oligomers ameliorates the pathology and normalizes locomotor behavior inmdxmice**. Mol Ther., v,19, n.2, p.345-54, 2011.

MAIRESSE, J., SILLETTI, V., LALOUX, C., ZUENA, A.R., GIOVINE, A., CONSOLAZIONE, M., VAN CAMP, G., MALAGODI, M., GAETANI, S., CIANCI, S., CATALANI, A., MENNUNI, G., MAZZETTA, A., VAN REETH, O., GABRIEL, C., MOCAËR, E., NICOLETTI, F., MORLEY-FLETCHER, S., MACCARI, S. **Chronic agomelatine treatment corrects the abnormalities in the circadian rhythm of motor activity and sleep/wake cycle induced by prenatal restraint stress in adult rats**. Int J Neuropsychopharmacol., v.16, n.2, p.323-38, 2013.

MARTINS, R.J.S. **Análise do padrão de sono em estudantes do ensino médio em São Luís - MA**. 2018. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/CCBS.

MINAMI, S. et al. **Suppression of reward-induced dopamine release in the nucleus accumbens in animal models of depression**: Differential responses to drug treatment. Neuroscience Letters, v. 650, p. 72-76, 2017.

MOORE, R.Y.; EICHLER, V.B. **Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat**. *Brain Research*, 1972, v.42, p.201-206.

MOORING, M.S.; BLUMSTEIN, D.T.; STONER, C.J. **The evolution of parasite-defence grooming in ungulates**. Biol. J. Linn. Soc., v.81, p.17± 37, 2004.

MORLEY-FLETCHER, S., MAIRESSE, J., SOUMIER, A., BANASR, M., FAGIOLI, F., GABRIEL, C. **Chronic agomelatine treatment corrects behavioral, cellular, and biochemical abnormalities induced by prenatal stress in rats.** Psychopharmacology (Berl), v.217, n.3, p.301-13, 2011.

MORRIS, G. M. **Spatial Localization Does Not Require Local Cues the Presence of.** Learning and Motivation, v.12, p.239–260, 1981. DOI.org/http://dx.doi.org/10.1016/0023-9690(81)90020-5.

MONTEIRO, C.; TAVARES, E.; CÂMARA, A.; NOBRE, J. **Regulação molecular do ritmo circadiano e transtornos psiquiátricos**: uma revisão sistemática. *J Bras Psiquiatr.*, 2020, v.69, n.1, p.57-67.

NAGARAJU, K., CARLSON, G., DE LUCA, A. **Behavioral and locomotor measurements using open field animal activity monitoring system**. TREATNMD. SOP Number M.2.1.002, 2010.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **National Institutes of Health State of the Science Conference statement on manifestations and management of chronic insomnia in adults.** NIH Consens State Sci Statements, v.22, n.2, p.1-30, 2005. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16268373/

NATIONAL SLEEP FUNDACION. **Sleep**. America Poll. 2019.

NICOLA, S.M.; SURMEIER, J.; MALENKA, R.C. **Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens**. Annu. Rev. Neurosci.; v.23, p.185–215, 2000. doi: 10.1146/ annurev.neuro.23.1.185; pmid: 10845063.

NETO, J.A.S.; CASTRO, B.F. **Melatonina, ritmos biológicos e sono - uma revisão da literatura**. *Rev Bras Neurol*, 2008, v.44, n.1, p.5-11.

NEVES, G. S. M. L et al. **Transtornos do sono**: visão geral. Revista Brasileira de Neurologia., v.49, n.2, p.57-71, 2013. Disponível em:http://files.bvs.br/upload/S/01018469/2013/v49n2/a3749.pdf.

OLIVEIRA-SILVA, I. F., PINTO, L., PEREIRA, S. R. C., FERRAZ, V. P., BARBOSA, A. J. A., COELHO, V. A. A., GUALBERTO, F. F. A. S., SOUZA, V. F., FALEIRO, R. R. M., FRANCO, G. C., & RIBEIRO, A. M. **Age-related deficit in behavioural extinction is counteracted by long-term ethanol consumption**: Correlation between 5-HIAA/5HT ratio in dorsal raphe nucleus and cognitive parameters. Behavioural Brain Research, v.180, n.2, p.226–234. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.03.012

OSTER, H. et al. The functional and clinical significance of the 24-h rhythm of circulating glucocorticoids. **Endocrine Reviews,** p. 3-1080, 2016.

PAZ, L. V. **Revisão dos mecanismos comportamentais e fisiológicos envolvidos na depressão contagiante**, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2021.

POLLAK, D. D.; REY, C. E.; MONJE, F. J. **Rodent models in depression research: Classical strategies and new directions.** Annals Of Medicine, v. 42, n. 4, p. 252-264, 2010.

PORSOLT, R.D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. **Depression**: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977.

PELLOWS, S. et al. **Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat**. *Journal of Neuroscience Methods*, 1985, v.14, n.3, p.149-167.

PEDRAZZOLI, M. **Moléculas que marcam o tempo: implicações para os fenótipos circadianos e transtornos do humor**. *Rev Bras Psiquiatr.*, v.31, n.1.2009.

PHILLIPS, PE.; ROBINSON, DL.; STUBER, GD.; CARELLI, RM.; WIGHTMAN, RM. **Real-time measurements of phasic changes in extracellular dopamine concentration in freely moving rats by fast-scan cyclic voltammetry. In: Wang, JQ., editor. Drugs of Abuse: Neurological Reviews and Protocols**. Methods in Molecular Medicine Series, Humana Press; Totowa, NJ:p. 443-464, 2003.

PORTO, J.A. **Conceito e diagnóstico**. Depressão - v. 21 - maio, 1999.

RABEN, N., NAGARAJU, K., LEE, E., PLOTZ, P. **Modulation of disease severity in mice with targeted disruption of the acid alpha-glucosidase gene**. Neuromuscul Disord. 10, 283-291, 2000.

REIMÃO, R. et al. **Sono e saúde**. Ribeirão Preto. Ed. Novo conceito, São Paulo, 2010.

ROBINSON DL, VENTON BJ, HEIEN ML, WIGHTMAN RM. **Detecting subsecond dopamine release with fast-scan cyclic voltammetry in vivo.** Clin. Chem.; v.49, p.1763–1773, 2013. doi: 10.1373/49.10.1763.

ROGERS, N.L. et al. **Neurobehavioural performance effects of daytime melatonin and temazepam administration**. *J Sleep Res.*, 2003, v.12, n.3, p.207-212.

RUSTIN, P. et al. **Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies**. *Clinica Chimica Acta*, 1994, v.228, n.1, p.35-51.

SALI, A. et al. **Glucocorticoid-treated mice are an inappropriate positive control for long-term preclinical studies in the mdx mouse**. PLoS One. v.7, n.4, e34204, 2012.

SANTIAGO, G. T. P. et al. **Changes in Cortisol but Not in Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulate the Association Between Sleep Disturbances and Major Depression**. Frontiers in Behavioral Neuroscience, v. 14, abr. 2020. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00044.

SCHMITT, K.; HOLSBOER-TRACHSLER, E.; ECKERT, A. **BDNF in sleep, insomnia, and sleep deprivation**. Annals of Medicine, v. 48, n. 1–2, p. 42–51, 2016. https://doi.org/10.3109/07853890.2015.1131327.

SCHOTT, B.H., et al. **Mesolimbic functional magnetic resonance imaging activations during reward anticipation correlate with reward-related ventral striatal dopamine release.** J. Neurosci.; v.28, p.14311–14319, 2008. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2058-08.2008;

SILVA, A. A.; FERNÁNDEZ-GUASTI, A. **The combination of mirtazapine plus venlafaxine reduces immobility in the forced swim test and does not inhibit female sexual behavior**. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2019, v.187, p.172.

SLAVICH, G.M.; IRWIN, M.R. **From stress to inflammation and major depressive disorder**: a social signal transduction theory of depression. *Psychol Bull.*, 2014, v. 140, n. 3, p. 774-815.

SILVA, A.C.R.; GOMES, E.C.C; SENA, I.C.R; SILVA, V.G.S; OLIVEIRA, A.A.; COSTA, I.S.; LUQUE, A.G.A.; LACERDA, R.F. **MEMÓRIA ESPACIAL**: Quais são suas

características e como estudá-la em modelo animal. Rev. Psicol. Saúde e Debate. Abr., v.10, n.1, p.359-383,2024.

SOUZA, L. H. **Depressão de difícil tratamento: validadores para classificação e resposta à terapia interpessoal**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

STOKKAN, K.A. et al. **Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding**. *Science*, 2001, v.291, p.490-493.

TATEM, K.S., QUINN, J.L., PHADKE, A., YU, Q., GORDISH-DRESSMAN, H., NAGARAJU, K. **Behavioral and Locomotor Measurements Using an Open Field Activity Monitoring System for Skeletal Muscle Diseases**. J. Vis. Exp. v.91, e51785, doi:10.3791/51785, 2014.

TAKATSU-COLEMAN, A. et al. **Short-term social isolation induces depressive-like behaviour and reinstates the retrieval of an aversive task**: Mood-congruent memory in male mice?. **Journal Of Psychiatry & Neuroscience,** v. 38, n. 4, p. 259-268, 2013.

TOLMAN, E. C. **Maps in your mind.** Psychological Review, v.55, 1948.

TYE K.M., et al. **Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour**. Nature.; v.493, p.537–541, 2013. doi: 10.1038/nature11740; pmid: 23235822

VIANNA, M.R.; ALONSO, M; VIOLA, H.; QUEVEDO, J; DE PARIS, F.; FURMAN, M.; DE STEIN, M.L.; MEDINA, J.H.; IZQUIERDO, I. **Role of hippocampal signaling pathways in long-term memory formation of a nonassociative learning task in the rat**. *Learn Mem*.; v.7, n.5, p.333-40.

VIGIL, F. A. B., OLIVEIRA-SILVA, I. DE F., FERREIRA, L. F., PEREIRA, S. R. C., & RIBEIRO, A. M. **Spatial memory deficits and thalamic serotonergic metabolite change in thiamine deficient rats**. Behavioural Brain Research, v.210, n.1, 140–142, 2010. DOI.org/10.1016/j.bbr.2010.02.019.

VINCENT, S. B. **The white rat and the maze problem: The introduction of visual control.** Journal of Animal Behavior, v.5, n.1, p.1–24, 2015. doi.org/10.1037/h0072410.

WANG, Y.-L. et al. **Microglial activation mediates chronic mild stress-induced depressive- and anxiety-like behavior in adult rats**. *J Neuroinflammation*, 2018, v.15, p. 21.

WANG, M. et al. **Sleep improvement is associated with the antidepressant efficacy of repeated-dose ketamine and serum BDNF levels**: a post-hoc analysis. Pharmacological Reports, v. 73, n. 2, p. 594–603, abr. 2021. https://doi.org/10.1007/s43440-020-00203-1.

WITTEN IB, et al. **Recombinase-driver rat lines: Tools, techniques, and optogenetic application to dopamine-mediated reinforcement.** Neuron.; v.72, p.721–733, 2011. doi: 10.1016/j.neuron.2011.10.028; pmid: 22153370.

WITTANN, M. et al. **Social jetlag**: Misalignment of biological and social time. *Chronobiol Int.*, 2009, v.23, n.1-2, p.497–509.

WIJNEN, H. **A circadian loop as SIRTs itself**. *Science*, 2009, v.324, n.5927, p.598-599.

YAN, T. et al. **Episodic memory in aspects of brain information transfer by resting-state network topology**. *Cereb Cortex*, 2022, v.32, p.4969–85.

YANG, Y.; ZHAO, S.; YANG, X.; LI, W.; SI, J.; YANG, X. **The antidepressant potential of lactobacillus casei in the postpartum depression rat model mediated by the microbiota-gut-brain axis.** *Neurosci. Lett.* 2022, *774*, 136474.

YOSHIMOTO, A. et al. **Ramelteon modulates gamma oscillations in the rat primary motor cortex during non-REM sleep**. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2021, v.145, n.1, p.97-104.

YU, Q. et al. **Omigapil treatment decreases fibrosis and improves respiratory rate in dy(2J) mouse model of congenital muscular dystrophy.** PLoS One., v.8, n.6, e65468, 2013.

ZHDANOVA, I.V. **Melatonin as a hypnotic**: Pro. *Sleep Med Rev.*, 2005, 9, pp. 51-65.

ANEXO I – CEUA

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

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC..

Título do projeto	Avaliação dos efeitos do tratamento com mirtazapina e ramelteona em parâmetros comportamentais e neuroquímicos de ratos submetidos a alterações dos ritmos biológicos de Parkinson
Project title	Evaluation of the effects of the treatment with mirtazapine and ramelteone on behavioral and neurochemical parameters of rats subjected to changes in biological rhythms
Número do protocolo **Protocol number**	05/2024
Pesquisador principal **Principal Investigator**	GISLAINE ZILLI RÉUS
Pesquisadores **Researchers**	Caion Alves Rodrigues, Nátalli Rosa Rocha, Letícia Manfredini Leonardo, Josimar Grassi Pereira, Laisa Nazário dos Santos, Lucas Cândido Pedro, Flávia Saccon Niero, Heloisy da Silva Serafim, Gabriel Savi Mondo Ramos, Emanuel da Silva, Henrique Medeiros Menegaz, Gabriel De Marco, Victor Hugo Côrtes Soares, Luiz Gustavo Dal Toé Dominguini, Beatriz Mariot Colombo, Luana Vieira Fernandes, Brenda Carolina De Mattia Maximiano.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/03/2024 a 01/03/2025
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Idade/Peso	21" a 83" dias / 45 a 300 gramas
Número de animais	Masculino 60 / Feminino 60
Procedência	Biotério Unesc

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that 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 by e-mail ceua@unesc.net.

Criciúma-SC, 05 de setembro de 2024

Josiane Budni

Josiane Budni

Coordenadora da CEUA