



Ministério da Educação e do Desporto  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**  
Setor de Ciências Biológicas  
Departamento de Farmacologia



**MÔNICA FLORES GONÇALVES DE SOUZA**

## **Drogas antidepressivas com possível ação estrogênica: evidências e riscos**

**Dissertação apresentada como requisito  
parcial à obtenção do grau de Mestre, pelo  
Curso de Pós-Graduação em Farmacologia,  
do Setor de Ciências Biológicas da  
Universidade Federal do Paraná.**

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto  
Dalsenter**

**CURITIBA - PR**

**2015**



## PARECER

A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado intitulada "Drogas antidepressivas com possível ação estrogênica: evidências e riscos.", de autoria da pós-graduanda MÔNICA FLORES GONÇALVES DE SOUZA sob orientação do Prof. Dr. Paulo Roberto Dalsenter e composta por: Prof. Dr. Paulo Roberto Dalsenter (Presidente - Farmacologia - UFPR); Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Janaína Menezes Zanoveli (Farmacologia – UFPR) e Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Giuliana Gelbcke Kasecker Botelho (Ciências Veterinárias – UNICENTRO), reuniu-se e, de acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a pós-graduanda foi APROVADA. Para a devida publicação o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas por seu orientador. Em Curitiba, 19 de junho de 2015.

Prof. Dr. Paulo Roberto Dalsenter (Presidente - Farmacologia - UFPR)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Janaína Menezes Zanoveli (Farmacologia – UFPR)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Giuliana Gelbcke Kasecker Botelho (Ciências Veterinárias – UNICENTRO)

## DEDICATÓRIA

**A meu marido e meu filho  
que souberam entender a  
minha ausência para que  
esta dissertação fosse  
desenvolvida.**

## AGRADECIMENTOS

- Ao **Prof. Paulo Roberto Dalsenter** pela orientação, amizade, confiança e acima de tudo pelo respeito para com as minhas dificuldades.
- Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Farmacologia da UFPR.
- Aos meus colegas de laboratório **Carol, Jonas, Juliane, Emerson e todos os alunos da Iniciação Científica (ICs)**, pelo companheirismo e ajuda nas longas horas de trabalho.
- Aos professores Emerson e Rita da UNIPAR, pela ajuda com a histologia e morfometria.
- Aos Funcionários do **biotério** do Setor de Ciências Biológicas da UFPR.
- Aos meus pais **Armando e Nair** por estarem sempre em oração para que eu fizesse boa viagem.
- Aos meus **onze irmãos**, cunhadas e sobrinhos, pelo apoio e por cuidarem do meu pequenino durante este período fora de casa.
- A minha sogra **Ivani**, aos meus cunhados **Alexandre e Bruna** que também adotaram meu filho durante minhas ausências.
- Ao meu marido **Fabricio**, que nos dias de chuva e frio em que eu chorava na hora do embarque estava ao meu lado me consolando e dando força para seguir viagem.
- Ao meu filho **Samuel** que com um ano e três meses já aprendeu a conviver ora com a mamãe, ora sem e mesmo assim abrir um lindo sorriso quando me reencontrava.
- A todos os motoristas da saúde dos municípios de Iretama, Roncador, Mamborê, Campina da Lagoa, Araruna, Janiópolis e Luiziania por todas as vezes que levaram e trouxeram de volta por estes caminhos com todo carinho e amizade.
- A Francianne e sua família pela acolhida em sua casa, nestes anos em Curitiba.
- A Prefeitura Municipal de Iretama por me liberar tantos dias de trabalho para realização deste mestrado.
- A **CAPES** pelo apoio financeiro.

## EPÍGRAFE

**“Quanto mais aumenta  
nosso conhecimento, mais  
evidente fica nossa  
ignorância” (John F.  
Kennedy)**

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELA.....	vii
LISTA DE SIGLAS.....	viii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1 Depressão.....	03
2.2 Depressão na gravidez.....	06
2.3 Tratamento e drogas antidepressivas.....	08
2.3.1 Mirtazapina.....	14
2.3.2 Paroxetina.....	15
2.3.3 Venlafaxina.....	16
2.4 Desreguladores Endócrinos.....	18
2.5 Teste Uterotrófico.....	21
3. JUSTIFICATIVA.....	22
4. OBJETIVOS .....	22
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
5.1 Animais.....	23
5.2 Drogas.....	23
5.2.1 Cálculo de doses da Mirtazapina.....	23
5.2.2 Cálculo de doses da Paroxetina.....	24
5.2.3 Cálculo de doses da Venlafaxina.....	25

5.2.4 17 $\alpha$ Etinilestradiol.....	25
5.2.5 Água destilada.....	25
5.3 Testes.....	25
5.3.1 Teste uterotrófico.....	25
5.3.1.1 Doses e vias de administração.....	25
5.3.1.2 Eutanásia.....	26
5.3.1.3 Retirada do útero.....	27
5.3.2 Histologia.....	27
5.3.3 Morfometria.....	28
6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
7. RESULTADOS.....	28
7.1 Teste Uterotrófico.....	28
7.2 Histologia.....	31
7.3 Morfometria.....	33
8. DISCUSSÃO.....	34
9. CONCLUSÃO.....	39
10 REFERÊNCIAS.....	40

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1-Mecanismo do efeito terapêutico dos antidepressivos....	08
Figura 2 – Síntese da Serotonina.....	12
Figura 3 – Estrutura Química da Mirtazapina.....	14
Figura 4 – Estrutura Química da Paroxetina.....	15
Figura 5 – Estrutura Química da Venlafaxina.....	16
Figura 6 – Curva Dose Resposta ao Estradiol.....	28
Figura 7 – (Anti) Estrogenicidade da Paroxetina.....	28
Figura 8 – (Anti) Estrogenicidade da Venlafaxina.....	29
Figura 9 – (Anti) Estrogenicidade da Mirtazapina.....	29
Figura 10 – Cortes Histológicos do tecido uterino.....	31
Figura 11 – Morfometria corpo uterino da Paroxetina.....	32
Figura 12 – Morfometria corno uterino da Venlafaxina.....	32
Figura 13 – Morfometria corno uterino daMirtazapina.....	33
Tabela 1: Doses e vias de administração.....	25

## LISTA DE SIGLAS

ACTH	– Hormônio Adrenocorticotrópico
APA	– American Psychiatric Association
AVP	– Vasopressina
BDNF	– Brain Derived Neurotrophic Factor
CEUA	– Certificado Experimentação e Uso de Animais
CID-10	– Classificação Internacional de Doenças
DMTZ	– N-desmetilmirtazapina
DSM - IV	– Manual diagnóstico Estatístico de Transtornos Mentais IV
DSM IV- TR	– Texto Revisado
EDSTC	– Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee
EPA	– Environmental Protection Agency
EPDS	– Edinburgh Postnatal Depression Scale
EPM	– Erro Padrão da Média
FDA	– Food and Drug Administration
HLC	– Hormônio Liberador de Corticotropina
HPA	– Hipotálamo Pituitária Adrenal
HPG	– Hipotálamo Pituitária Gonadal
HPP	– Hipertensão Pulmonar do Recém – Nascido
INRS	– Inibidores não Seletivos da Recaptação da Serotonina
ISRS	– Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina
MAO	– Monoaminaoxidase
OECD	– Organization for Economic Co-operation and Development
OMS	– Organização Mundial de Saúde
PDSS	– Postpartum Depression Screening Scale
PMAA	– Peso Metabólico do Animal Modelo
PMM	– Peso Metabólico do Animal
SNC	– Sistema Nervoso Central
TDM	– Transtorno Depressivo Maior
UFPR	– Universidade Federal do Paraná
US EPA	– United States Environmental Protection Agency

## LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

$\beta$	– Beta
$\alpha$	– Alfa
VX	– Venlafaxina
RM	– Receptor Mineralocorticóide
RG	– Receptor Glicocorticóide
PX	– Paroxetina
Pgp	– Fosfoglicoproteína
$p$	– Nível de Significância estatística
ng	– Nanogramas
NE	– Norepinefrina
$n$	– Tamanho da Amostra
MZ	– Mirtazapina
mL	– Mililitros
mg	– Miligramas
$\mu\text{g}$	– Microgramas
L	– Litro
kg	– Kilogramas
kcal	– Kilocalorias
IL-6	– Interleucina6
g	– Gramas
FLX	– Fluoxetina
ER	– Estrogenic Receptor
ED	– EndocrineDisrupters (Desreguladores endócrinos)
DNA	– Ácido Desoxiribonucléico
DMTZ	– N-desmetilmirtazapina
DA	– Dopamina
5-HT	– Serotonina
$^{\circ}\text{C}$	– Grau Celsius
%	- Percentual

## RESUMO

O transtorno Depressivo Maior é um grave problema de saúde pública e estudos retrospectivos têm demonstrado que há maior incidência desta doença em mulheres do que em homens. Além disso, a gestação e o pós-parto são considerados períodos de maior suscetibilidade para o acometimento ou recorrência da depressão. Dentre os medicamentos utilizados, os inibidores seletivos da recaptação da serotonina são a classe mais prescrita para as gestantes, enquanto os inibidores não seletivos e os antagonistas de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos constituem classes as quais o uso vem aumentando bastante nos últimos anos. Existem evidências de que a Fluoxetina poderia apresentar efeitos estrogênicos *in vivo* podendo, desta maneira, interferir nos processos reprodutivos. Na tentativa de identificar outras drogas antidepressivas com potencial efeito estrogênico, este trabalho teve por objetivo realizar uma triagem de três drogas pertencentes às classes descritas acima: a paroxetina (ISRS) nas doses de 0,5, 2,0 e 20 mg/kg, a venlafaxina (INSRS) nas doses de 2,1, 8,4 e 84 mg/kg e a mirtazapina (antagonista  $\alpha_2$ ) nas doses de 0,4, 1,7 e 17 mg/kg respectivamente. Para tanto foi realizado o teste uterotrófico utilizando ratas imaturas tratadas via gavagem durante três dias, além de análise histológica e morfométrica do tecido uterino. A paroxetina isolada não mostrou efeito estrogênico, porém potencializou o efeito do estradiol quando administrada concomitantemente. Já a venlafaxina e a mirtazapina isoladas foram capazes de produzir efeitos estrogênicos neste modelo. As análises histológicas corroboram estes achados, mostrando rarefação das células da submucosa endometrial em função de edema uterino. Estes resultados indicam um possível efeito estrogênico destes antidepressivos e este estudo adquire relevada importância no sentido que substâncias que possuem potencial para mimetizar hormônios endógenos podem interferir com diversos processos fisiológicos incluindo os processos reprodutivos e comportamentais.

**Palavras Chave:** Teste Uterotrófico, drogas antidepressivas, estrogenicidade, paroxetina, venlafaxina e mirtazapina.

## ABSTRACT

Depression is a serious public health problem and leads to significant disability and suffering in daily living. The selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) are the most prescribed class for treatment, while the non-selective inhibitors and  $\alpha_2$ -adrenergic receptor antagonists are classes which use has been increasing in recent years. Scientific evidence shows that fluoxetine (SSRI), has estrogenic effects and interfere with reproductive processes. This study aimed to perform a screening with antidepressant drugs (paroxetine, venlafaxine and mirtazapine) using uterotrophic assay in immature rats to investigate their estrogenic action. The results indicate that isolated paroxetine showed no estrogenic effect, but produced interaction with the estradiol. In the other hand, venlafaxine and mirtazapine isolated produced estrogenic effects in this model. Histological analysis and morphometry also performed, corroborate these findings, showing thinning of the endometrial cells due to uterine edema and proliferation cellular. The results show that these antidepressants have the potential to mimic estrogenic activity, which may interfere with reproductive processes.

### Keywords

Uterotrophic assay, antidepressant drugs, estrogenicity, paroxetine, venlafaxine, mirtazapine

# 1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2009), a depressão é o transtorno psiquiátrico mais comum encontrado na clínica e vem apresentando aumento nos índices de morbidade e mortalidade (Willner *et al*, 2012). A depressão é caracterizada por sensações de tristeza e desespero intensos, perda da concentração, preocupações pessimistas, agitação e auto depreciação. Também são relatadas alterações físicas, compreendendo insônia ou hipersonia, anorexia, perda ou ganho de peso, libido e energia diminuídos e comprometimento dos ritmos circadianos normais (Hardman *et al*, 2001). Durante a gravidez e no pós-parto, a depressão também é considerada um problema significativo para a saúde pública, podendo atingir até 20% das mulheres (Rayen *et al*, 2013). Isto pode ser explicado, pois a gestação e o puerpério são períodos que envolvem inúmeras alterações físicas, hormonais, psíquicas e de inserção social, que podem refletir diretamente na saúde mental dessas pacientes (Camacho *et al*, 2006). O tratamento da depressão baseia-se na utilização de um grupo variado de agentes terapêuticos, em parte porque a depressão é uma síndrome complexa de gravidade amplamente variada. A decisão de tratar esta doença com um agente antidepressivo é orientada pela síndrome clínica manifestada e por sua gravidade, além da história pessoal e familiar do paciente (Hardman *et al*, 2001). Em particular durante a gravidez e no período pós-parto, o tratamento é recomendado, se os efeitos benéficos da farmacoterapia materna superarem os seus potenciais riscos fetais e neonatais. Estima-se que 2-3% de mulheres grávidas recebem antidepressivos, sendo os inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS) a classe mais comumente prescrita para esta população (Oliveira *et al*, 2013). Atualmente estão disponíveis outras opções terapêuticas farmacológicas. Alguns exemplos são os inibidores não seletivos da recaptação de serotonina (INRS), sendo a venlafaxina a principal representante da classe, bem como os antagonistas de alfa-2 adrenorreceptores (mirtazapina), que substituem as classes mais antigas como os antidepressivos tricíclicos e inibidores das monoaminas oxigenases. Porém, o uso destas drogas em gestantes e lactantes, representa um desafio clínico. De acordo com Oliveira *et al* (2013) e Hackley (2010), a exposição pré-

natal a antidepressivos tem sido associada em seres humanos com baixa idade gestacional, parto prematuro, baixo peso ao nascer, restrição do crescimento intrauterino, diminuição do índice de Apgar, aumento de internação em unidade de terapia intensiva neonatal ou berçário de cuidados especiais. Por outro lado, qualquer fator que afeta a fisiologia e o comportamento da mãe é susceptível de modular o desenvolvimento do concepto. Por exemplo, o estresse materno, depressão e ansiedade, podem ter influências em longo prazo sobre o desenvolvimento físico e mental das crianças, prejudicando os resultados cognitivos e emocionais (Rayen *et al*, 2013; Hackley, 2010 ).Fatos estes que justificam uma ponderação quanto ao tratamento farmacológico neste período. Outro fator a se considerar, é que a diferenciação sexual gonadal e cerebral em ratos e humanos ocorrem predominantemente durante o período fetal (Wilson e Davies, 2007), e o fato das drogas antidepressivas apresentarem propriedade de atravessar a barreira placentária, torna o feto susceptível a efeitos adversos reprodutivos. A função reprodutiva de uma maneira geral, pode ser influenciada por diversas substâncias (incluindo drogas antidepressivas), que são capazes de atuar no sistema endócrino, interferindo na interação de hormônios naturais com seus receptores, na síntese dos hormônios naturais, ou na remoção dos mesmos da circulação (EPA, 1997). Existem evidências de que algumas drogas antidepressivas podem ter efeitos estrogênicos e tais efeitos interferem na gestação e/ou desenvolvimento fetal. Muller *et al* (2012), demonstraram o efeito estrogênico da fluoxetina em testes *in vivo* e *in vitro*.Assim, na tentativa de identificar outras drogas com possível ação estrogênica, este trabalho teve por objetivo realizar uma triagem com três drogas antidepressivas amplamente prescritas na clínica (mirtazapina, paroxetina e venlafaxina), utilizando o teste uterotrófico como modelo de protocolo, bem como a avaliação de parâmetros adicionais como a histologia uterina e morfometria.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 DEPRESSÃO

Aproximadamente 80% das desordens psiquiátricas diagnosticadas consistem em depressão e ansiedade (Erdemir *et al*, 2014). O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é uma desordem mental prevalente em todo o mundo que leva a um significativo sofrimento e incapacidade na vida diária (Jung *et al*, 2014). É uma das condições mais comumente encontradas na atenção primária sendo particularmente mais prevalente entre as mulheres, com taxas relatadas de 6,3% em homens e 12,6% em mulheres (Hackley *et al*, 2010). Evidencia-se como grande diferencial biológico, o ciclo reprodutivo feminino que é marcado por oscilações no perfil hormonal na puberdade, na gravidez no puerpério e no climatério (Veras, 2008). Existe uma forte correlação entre o aumento do risco para sintomas depressivos ou desordens afetivas e flutuações hormonais, principalmente nos níveis de estrógenos que ocorrem nos períodos pré-menstrual, pós-parto e perimenopausa. É proposto que o histórico de desordens do humor como depressão pós-parto, disforia pré-menstrual, ou depressão aumenta o risco para sintomas depressivos durante a perimenopausa (Osterlund, 2010). Prevê-se que até 2030 a depressão será o principal contribuinte para o aumento dos gastos financeiros em saúde em todo o mundo (Willner *et al*, 2012). Os transtornos depressivos estão classificados dentro da sessão dos transtornos do humor do DSM-IV (Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais) e do CID-10 (Classificação Internacional de Doenças), por se caracterizarem, predominantemente, por uma perturbação básica dentro da esfera do humor. A depressão é definida como um transtorno psiquiátrico heterogêneo, que se manifesta a nível psicológico, comportamental e fisiológico (APA, 2010). Apesar de existir vários estudos sobre a fisiologia do humor normal e a fisiologia associada à doença mental, ainda há muito a se desvendar. Verifica-se que a etiologia da depressão é multifatorial e não afeta uma única região do cérebro, mas sim, várias áreas incluindo o córtex, o hipocampo, a amígdala e o tálamo (Hackley, 2010). Recentes estudos de neuroimagem têm sugerido que anormalidades estruturais e funcionais apresentam um papel importante na gênese da TDM (Jung *et al*, 2014). De

acordo com Osborne *et al* (2013), a investigação sobre a etiologia biológica da depressão tem incidido sobre o papel de monoaminas e a desregulação do eixo Hipotálamo Pituitária Adrenal (HPA). A hipótese da deficiência de monoaminas é a mais antiga teoria que explica o transtorno depressivo (Osterlund, 2010). Aminas biogênicas como a serotonina (5-HT), norepinefrina (NE) e dopamina (DA) são neurotransmissores chave encontrados em regiões límbicas do Sistema Nervoso Central (SNC), e conhecidamente importantes na regulação de funções cognitivas, do humor, termo regulação, sensação de dor, função sexual e vários aspectos da função endócrina relacionado com a homeostasia. A síntese e liberação dos neurotransmissores são altamente reguladas, e isto se torna alvo de muitos agentes farmacológicos (Deecher *et al*, 2006). Assim, proteínas transportadoras de serotonina e noradrenalina, bem como as enzimas monoaminoxidases (MAO), são importantes mecanismos pelos quais as drogas antidepressivas atuam no sentido de aumentar os níveis destes, através do bloqueio dos seus transportadores e inibição da ação enzimática que degrada os mesmos (Osterlund, 2010). A observação dos efeitos antidepressivos dos inibidores da MAO e dos antidepressivos tricíclicos (ADTs) culminou com a hipótese monoaminérgica, que propunha a existência de uma depleção de neurotransmissores a nível sináptico como fator patogénico nos transtornos depressivos (Lafer *et al*, 1999). Os antidepressivos podem ser classificados de acordo com a estrutura química ou as propriedades farmacológicas. A estrutura cíclica (anéis benzênicos) caracteriza os antidepressivos heterocíclicos (tricíclicos e tetracíclicos). Os ADTs se dividem em dois grandes grupos: as aminas terciárias (imipramina, amitriptilina, trimipramina e doxepina) e as aminas secundárias (desmetilimipramina, nortriptilina e protriptilina). Seu mecanismo de ação em nível pré – sináptico é o bloqueio de recaptura de monoaminas, principalmente norepinefrina (NE) e serotonina (5-HT), em menor proporção dopamina (DA). Os ADTs bloqueiam receptores muscarínicos (colinérgicos), histaminérgicos de tipo 1,  $\alpha_2$  e  $\beta$  - adrenérgicos, serotoninérgicos diversos e mais raramente dopaminérgicos. Essas ações não se correlacionam necessariamente com efeito antidepressivo, mas com efeitos colaterais. O bloqueio do receptor 5-HT1 contribuiria para o efeito terapêutico (Moreno *et al*, 1999).

A outra hipótese está relacionada ao eixo HPA que apresenta sua atividade controlada pela secreção do Hormônio Liberador de Corticotropina (CRH) e Vasopressina (AVP) pelo hipotálamo, os quais, por sua vez, ativam a secreção do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) pela pituitária, que finalmente estimula a secreção de glicocorticóides pelo córtex da adrenal. Os glicocorticóides, então, interagem com seus receptores em múltiplos tecidos-alvo, incluindo o eixo HPA, onde são responsáveis pela inibição por feedback negativo da secreção do ACTH pela pituitária e do HLC a partir do hipotálamo (Nemeroff, 1996). A hiperatividade do eixo HPA está implicada na etiologia da depressão e o papel do estresse como precipitante de episódios de transtornos psiquiátricos é bem conhecido, visto que indivíduos deprimidos apresentam elevados níveis de cortisol no soro, urina e líquido cefalorraquidiano bem como apresentam estes parâmetros normalizados após tratamento com drogas antidepressivas (Binder *et al*, 2009). Essas anormalidades parecem estar relacionadas às alterações na capacidade dos glicocorticóides circulantes em exercer seu feedback negativo na secreção dos hormônios do eixo HPA por meio da ligação aos receptores de mineralocorticoides (RM) e glicocorticoides (RG) nos tecidos do eixo, fato este que dá suporte ao conceito de que a sinalização deficiente dos RGs é parte fundamental na fisiopatogenia da depressão (Jurueña *et al*, 2004). A interação de hormônios sexuais femininos (estrogênio e progesterona) e o eixo HPA, também é complexa. Altos níveis de estrógenos têm mostrado um aumento no estresse relacionado com aumento na liberação de cortisol e hormônio adrenocorticotrófico – ACTH (Binder *et al*, 2009). Além destes, fatores genéticos e ambientais também participam da gênese dos transtornos depressivos, sendo que o componente genético representa cerca de 40% da susceptibilidade para depressão unipolar e 70% para transtorno bipolar (Lafer *et al*, 1999). Estudos em gêmeos demonstraram esta importante influência genética. 60% dos filhos gêmeos idênticos de pacientes em tratamento para depressão apresentaram o transtorno, em contrapartida índice significativamente inferior (20%) foram encontrados em gêmeos dizigóticos (Veras *et al*, 2008).

## 2.2 DEPRESSÃO NA GRAVIDEZ

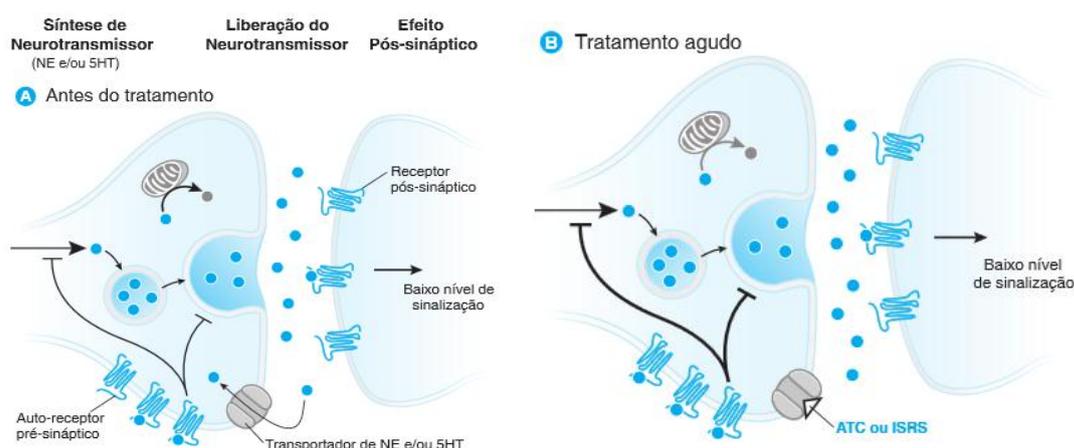
Depressão é um problema comum para mulheres em idade reprodutiva, período compreendido entre 15 e 45 anos, e deve ser diagnosticada com precisão especialmente durante a gestação (Yaris *et al*, 2004). A depressão durante a gravidez e pós-parto em especial, é um problema significativo para a saúde pública atingindo até 20% das mulheres (Rayenet *al*, 2013). A prevalência destes transtornos durante a gravidez é semelhante à prevalência no período pós-parto, sendo maior em mulheres de classes socioeconômicas menos favorecidas, muito jovens e com história de distúrbios psiquiátricos (Ibanez *et al*, 2012). Neste sentido, mulheres com histórico de depressão, tem aumentado o risco para depressão pós-parto e mulheres com histórico de depressão pós - parto tem aumentada a incidência em gestações futuras (Osterlund, 2010). Há uma estimativa de que 10% das mulheres em idade reprodutiva irão desenvolver depressão durante a gestação e 20% no pós-parto (Marcus *et al*, 2003; Moraes *et al* 2006). O DSM IV- TR (Texto Revisado), no entanto, não distingue os transtornos do humor do pós-parto dos que acontecem em outros períodos, apenas especifica “início no pós-parto”, quando os sintomas ocorrem até quatro semanas após o parto (Camacho, 2006). Os principais transtornos psiquiátricos relacionados à gravidez são a depressão pré-natal e pós-natal, recorrência de episódios depressivos ou maníacos, transtorno bipolar e esquizofrenia e adquirem relevante importância no sentido de que muitas vezes existe a necessidade de iniciar o tratamento antes do final da gravidez como medida de precaução (Oyebode *et al*, 2012). Camacho (2006) citou ainda um transtorno denominado disforia do pós-parto que costuma acometer as mulheres nos primeiros dias após o nascimento do bebê e se manifesta por choro fácil, labilidade do humor, irritabilidade e comportamento hostil para com os familiares. A literatura científica indica que a fase de maior prevalência de transtornos mentais na mulher ocorre principalmente no segundo e terceiro trimestres de gestação e nos primeiros 30 dias de puerpério e apresentam diferentes intensidades de alterações psíquicas (Araújo *et al*, 2010). Estima-se uma prevalência da ordem de 7,4% no primeiro, 12,8% no segundo e 12% no terceiro trimestre de gestação (Camacho, 2006). O período da gravidez é caracterizado por diversas

transformações biológicas, psicológicas e sociais, que afetam a saúde mental e física da gestante, podendo exercer influência sobre a saúde do bebê (Araújo *et al*, 2010). Além desta mistura complexa de fatores psicológicos e sociais, e das teorias propostas para entender a fisiopatologia da depressão, o desequilíbrio hormonal que ocorre durante a gestação é considerado fator determinante (Osborne *et al*, 2013). Tem - se que durante a gestação as taxas de hormônios produzidos pelos ovários e placenta aumentam consideravelmente. Os níveis de estrógeno e progesterona são superiores aos vistos em mulheres fora do período gestacional, aliado a isto, a queda abrupta destes hormônios no período pós-parto pode estar relacionado com as alterações de humor que ocorrem nesta fase e pode estar envolvida na etiologia da depressão puerperal (Camacho *et al*, 2006). A depressão está associada a inúmeros fatores de risco tais como antecedentes psiquiátricos, dificuldades financeiras, baixa escolaridade, gestação na adolescência, falta de suporte social, eventos estressores e história de violência doméstica (Araújo *et al*, 2010). Camacho *et al* (2006) afirmam que nas adolescentes foi observada uma prevalência duas vezes maior que nas gestantes adultas, o que pode estar relacionado à falta de maturidade afetiva e de relacionamento, bem como o abandono dos estudos em razão da maternidade. Os sinais e sintomas de depressão perinatal são basicamente os mesmos sintomas característicos, acrescido de pensamentos recorrentes de causar danos ao bebê. Não existem escalas específicas para detecção de depressão durante a gravidez, o que tem sido utilizado são escalas que abordam preditores e listam fatores de risco psicossocial para depressão pós-parto. Trabalhos recentes vêm mostrando a utilidade destas escalas de auto avaliação para triagem de mulheres com depressão pós-parto em serviços de atendimento primário, onde a possibilidade de detecção tem se mostrado maior que a detecção espontânea durante as avaliações clínicas de rotina (Buist *et al*, 2002). As escalas serviriam para alertar clínicos, obstetras e pediatras para aquelas mulheres que possivelmente precisariam de avaliação mais profunda e tratamento. Pensando nesta praticidade, foram criadas duas escalas especificamente para rastreamento de depressão pós-parto: EPDS (Edinburgh Postnatal Depression Scale) e PDSS (Postpartum Depression Screening Scale), ambas com tradução para o português e validação no Brasil (Cantilino, 2003). A PDSS é

um instrumento que possui trinta e cinco itens que avaliam distúrbios do sono, apetite, ansiedade, insegurança, labilidade emocional, prejuízo cognitivo, perda do eu, culpa, vergonha e intenção de causar dano a si (Camacho *et al*, 2006).

### 2.3 TRATAMENTO E DROGAS ANTIDEPRESSIVAS

O uso de drogas antidepressivas tem experimentado um grande aumento nas últimas décadas em muitos países, especialmente no final da década de 80 e início de 90, coincidindo com a comercialização de novos antidepressivos, especialmente os ISRSs (Verdú *et al*, 2014). Os ISRSs são: citalopram, escitalopram, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina e sertralina (Montagnini *et al*, 2013). Os antidepressivos mais frequentemente prescritos em todo o mundo são os ISRS seguido dos INSRS (Fong e Ford, 2014). Não se sabe ao certo se este aumento na prescrição de antidepressivos está justificado por uma melhor detecção e diagnóstico, ou se responde a uma situação de sobre diagnóstico e sobre tratamento relacionado com o progressivo uso de medicamento durante a vida (Verdú *et al*, 2014). O fato é que o modo de ação de ambos (ISRS/INSRS) é similar ao dos antidepressivos tricíclicos na ligação e inibição de proteínas transportadoras pré-sinápticas responsáveis pela recaptação de neurotransmissores, o que prolonga a presença destes na fenda sináptica, modulando assim a neurotransmissão serotoninérgica, dopaminérgica ou noradrenérgica (Fong e Ford, 2014).



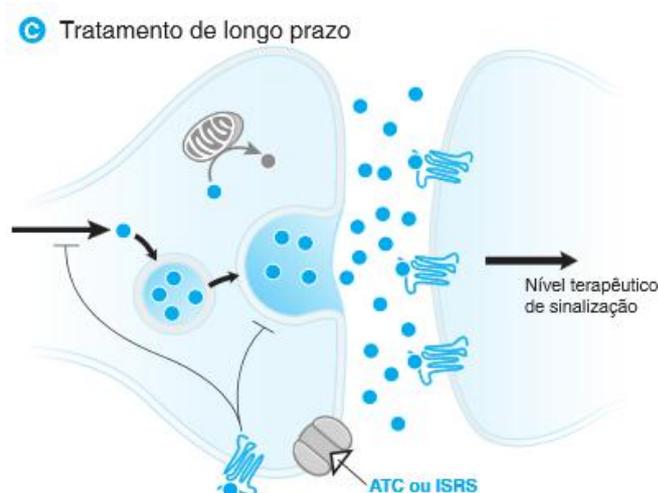


Fig. 1. Mecanismo do efeito terapêutico dos fármacos antidepressivos. A) Antes do tratamento, os neurotransmissores são liberados em níveis patologicamente baixos e exercem níveis de retroalimentação auto inibitória em estado de equilíbrio dinâmico. O efeito final consiste em nível basal anormalmente baixo de atividade dos receptores pós-sinápticos (sinalização). B) O uso em curto prazo de medicação antidepressiva resulta em liberação aumentada de neurotransmissor e/ou aumento da duração da ação do neurotransmissor na fenda sináptica. Ambos os efeitos produzem aumento da estimulação dos autoreceptores inibitórios, com inibição aumentada da síntese de neurotransmissores e da exocitose. O efeito final consiste em reduzir o efeito inicial da medicação, e a atividade dos receptores pós-sinápticos permanece em níveis de pré-tratamento. C) O uso crônico de medicação antidepressiva resulta em dessensibilização dos autoreceptores pré-sinápticos. Em consequência, ocorre redução na inibição da síntese de neurotransmissor e da exocitose. O efeito final consiste em aumento de atividade dos receptores pós-sinápticos, levando a uma resposta terapêutica. NE, norepinefrina. 5HT, serotonina. ATC, antidepressivo tricíclico. ISRS, inibidor seletivo da recaptação de serotonina.

Fonte: Figura adaptada a partir de Mireya *et al.* (2005)

O tratamento destas condições durante a gravidez tem incluído técnicas psicofarmacológicas, psicossocial, psicoterápica, hormonais e de eletroconvulsoterapia indicada para casos mais graves ou refratários a outras formas de tratamento (Camacho *et al*, 2006). Quando requer o uso de agentes psicotrópicos, isso levanta questões sobre a segurança destes medicamentos, o seu provável impacto sobre a saúde da mulher grávida, os resultados na gravidez, no desenvolvimento fetal, na saúde neonatal, o potencial para grandes e pequenas malformações, e no desenvolvimento em longo prazo da saúde da criança (Oyebode *et al*, 2012). O uso de medicamentos antidepressivos em mulheres grávidas tem crescido de forma constante ao longo do tempo, no entanto, tem havido uma preocupação crescente quanto à segurança do uso de antidepressivos durante a gravidez (Huybrechts *et al*,

2013).O tratamento da depressão durante a gravidez é acompanhado por dilemas. Por um lado, sabe-se que a depressão pós-parto pode afetar negativamente muitos aspectos do desenvolvimento da criança, incluindo os efeitos sobre o apego, comportamento e função neurocognitiva. Por outro lado, a decisão de prescrição e uso de drogas psicotrópicas durante a gestação e lactação é uma tarefa difícil devido à escassez de estudos investigando a segurança dessas drogas para os bebês, especialmente para o seu desenvolvimento neurocomportamental em longo prazo. Estudos revelaram que transtornos psiquiátricos subdiagnosticados e não tratados em gestantes podem levar a graves consequências materno-fetais (Camacho *et al*, 2006).Pawluski *et al* (2012), afirmam que a exposição maternal a desordens do humor, estresse e depressão alteram o desenvolvimento do eixo HPA com consequente alteração da regulação do estresse e elevação dos níveis basais de cortisol salivar e urinário. A origem do desenvolvimento do sistema nervoso central é influenciada pelo ambiente, assim, qualquer fator que afeta a fisiologia e o comportamento da mãe é susceptível de modular o desenvolvimento da prole. Os filhos de mães depressivas apresentaram dificuldades para dormir e se alimentar, além de prejuízos de interação corporal com o ambiente(Camacho *et al*, 2006). Há evidências de que este transtorno seja possível fator de risco para baixo peso ao nascer, estando este associado ao maior risco de morbidade e mortalidade perinatal e neonatal. A associação entre depressão materna e baixo peso ao nascer pode ser explicada por dois mecanismos: alterações hormonais e bioquímicas que levam a redução do fluxo sanguíneo uteroplacentário, bem como a interferência da depressão em comportamentos de risco, tais como, consumo de álcool e drogas, diminuição do apetite e consumo alimentar e negligenciamento do pré-natal (Araújo *et al*, 2010). De acordo com Vieira *et al*, (2013), balancear os riscos e benefícios da medicação antidepressiva com os riscos de depressão não tratada é difícil. Estudos comparativos observaram que a depressão pós-parto requer mais tempo para responder à farmacoterapia e tende a necessitar de mais agentes antidepressivos para se obter remissão dos sintomas (Camacho *et al*, 2006).Um estudo recente também encontrou um aumento do risco de desenvolvimento de pré-eclâmpsia em mulheres com depressão (Osborne *et al*, 2013). A utilização de drogas antidepressivas, durante a gravidez é comum

e é estimada entre 5% e 14% das mulheres em todo o mundo (Ibanez *et al*, 2012). Os médicos que prestam cuidados de saúde para mulheres grávidas com depressão devem equilibrar bem-estar materno fetal com potenciais riscos desses medicamentos. Há de se considerar ainda, que doses mais elevadas podem ser necessárias durante a gravidez devido aos efeitos de diluição que ocorrem em decorrência do aumento do volume plasmático, uma alteração fisiológica deste período (Hackley, 2010). Quando uma condição psiquiátrica torna necessária a farmacoterapia, os benefícios da tal terapia devem superar os potenciais riscos mínimos de malformações (Koren *et al*, 2012). Estudos demonstraram que a maioria dos antidepressivos não induzem malformações congênitas maiores (Oliveira *et al*, 2013). Porém, resultados da exposição fetal durante a gestação a novas drogas antidepressivas como venlafaxina (VX) e mirtazapina (MZ), são menos conhecidos, os dados existentes são para antidepressivos tricíclicos e ISRS (Yaris *et al*, 2004). Os tratamentos atuais da depressão materna têm como principal alvo o sistema serotoninérgico com ISRS, tendo estes a maior frequência de medicamentos prescritos para a depressão materna, tanto durante gravidez quanto no pós-parto (Rayen *et al*, 2013). A Fluoxetina (FLX), principal representante da classe, apresenta alto grau de seletividade e mínimos efeitos colaterais comparados com os antidepressivos tricíclicos e inibidores da monoamina oxidase (Vieira *et al*, 2013). A descoberta no final da década de 50 de drogas antidepressivas e sua utilização na prática clínica trouxe um avanço importante no tratamento e no entendimento de possíveis mecanismos subjacentes aos transtornos depressivos. A nova geração de antidepressivos é constituída por medicamentos que agem em um único neurotransmissor como os ISRS, ou em múltiplos neurotransmissores/ receptores como os INRS, e bloqueadores de  $\alpha_2$  adrenoreceptores, sem ter como alvo outros sítios receptores cerebrais não relacionados com a depressão, tais como histamina e acetilcolina (Moreno *et al*, 1999). No entanto, o efeito combinado da depressão materna e da exposição perinatal a antidepressivos no desenvolvimento da prole é pouco investigada (Rayen *et al*, 2013). Nenhum estudo epidemiológico até o momento seguiu descendentes para além da primeira infância e informações sobre os efeitos posteriores da exposição materna ainda não estão disponíveis (Oliveira *et al*, 2013). Logo após a introdução da fluoxetina, que foi o primeiro ISRS a ser

utilizado, casos de exposição fetal à droga começaram a acumular-se e isto levantou preocupações de profissionais de saúde e mulheres grávidas em relação à segurança fetal. A exposição pré-natal a ISRS no útero tem sido associada em seres humanos com trabalho de parto prematuro, baixo peso ao nascer, restrição do crescimento intra-uterino, diminuição do índice de Apgar, defeitos cardíacos e aumento de internação em unidade de terapia intensiva neonatal ou berçário de cuidados especiais (Hayes *et al*, 2012). O aumento do risco de hospitalizações é explicado pela síndrome de abstinência ao antidepressivo e fornece evidências de que as crianças podem ser expostas à doses neurobiologicamente relevantes no útero (Oliveira *et al*, 2013). A síndrome de abstinência ou descontinuação é caracterizada por excessivo choro, nervosismo, tremores, dificuldade de alimentação, refluxo, espirros e distúrbio do sono (Oyebode *et al*, 2012). A exposição no final da gravidez a estas substâncias tem sido associada com hipertensão pulmonar do recém-nascido (HPP) também chamada síndrome do desconforto respiratório, distúrbios metabólicos, endócrinos e hipoglicemia (Huybrechts *et al*, 2013). Os ISRS e IRSN atuam inibindo a receptação da serotonina e norepinefrina nas regiões do cérebro que estão envolvidas na regulação do humor (Koren *et al*, 2012). Os ISRSs atravessam a barreira placentária e estão presentes no leite materno, além de inibir transportadores de múltiplas drogas como a fosfoglicoproteína (P-gp) presente na barreira placentária, podendo, portanto, expor o feto a elevados níveis de serotonina o que pode afetar o desenvolvimento fetal e neonatal (Oliveira *et al*, 2013). Os sistemas serotoninérgicos, adrenérgicos e dopaminérgicos, trabalham em conjunto, mas com efeitos ligeiramente diferentes. A serotonina é formada a partir do aminoácido essencial ácido triptofano, é encontrada em níveis mais elevados no gânglio basal, no córtex frontal, no hipotálamo e no sistema límbico.

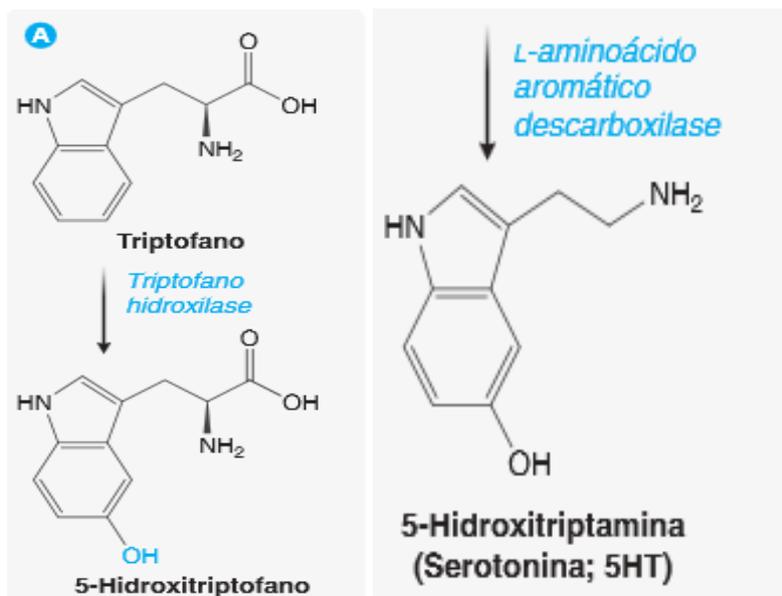


Fig. 2. Síntese de serotonina. A 5-hidroxitriptamina (serotonina) é sintetizada a partir do aminoácido triptofano em duas etapas: a hidroxilação do triptofano, para formar 5-hidroxitriptofano, e a descarboxilação subsequente desse intermediário, produzindo a 5-hidroxitriptamina (5HT). A triptofano hidroxilase é a enzima que limita a velocidade nessa via.

Fonte: Figura adaptada a partir de Mireya *et al.* (2005)

A serotonina está implicada em diversos processos do desenvolvimento, incluindo a divisão celular, a migração neuronal, a diferenciação celular e sinaptogênese, além da regulação do sono, a sensibilidade à dor, a função sexual, apetite e ajuda a manter a integridade da junção sináptica (Hackley, 2010). Assim, alterando a disponibilidade de serotonina para o recém-nascido, através da exposição aos ISRS, pode-se afetar mecanismos de desenvolvimento crucial. Além disso, a serotonina é um dos principais neurotransmissores implicado no controle do comportamento sexual durante a idade adulta. Este dimorfismo sexual é estabelecido no período pós-natal precoce pela ação dos esteroides sexuais e é modulada em parte por serotonina, embora poucos trabalhos têm sido feitos sobre os efeitos da exposição de ISRSs na diferenciação sexual cerebral e o comportamento sexual. Recente pesquisa pré-clínica demonstrou que a exposição a estas drogas pode ter um impacto em longo prazo sobre o comportamento sexual da prole masculina (Rayen *et al.*, 2013).

### 2.3.1 Mirtazapina (MZ)

A mirtazapina é um novo antidepressivo, membro da classe das piperazinoazepinas, que possui modo de ação diferente de qualquer outro antidepressivo utilizado atualmente. É o primeiro antidepressivo noradrenérgico e serotoninérgico específico (Suzuki *et al*, 2013). Apresenta como principais nomes comerciais o Menelat®, Remeron®, Razapina®, Avanza®, Remergil® entre outros. A ação antidepressiva da mirtazapina ocorre por meio de dois mecanismos aumentando a atividade central noradrenérgica e serotoninérgica, através do bloqueio de autoreceptores e heteroreceptores  $\alpha_2$  que controlam a liberação de noradrenalina e serotonina respectivamente, bem como do antagonismo seletivo de receptores 5HT<sub>2</sub> e 5HT<sub>3</sub> (Verster *et al*, 2014). Isso resulta num aumento e num melhoramento da neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica (Suzuki *et al*, 2013). Devido à sua meia-vida de eliminação, de 20 a 40 horas, a mirtazapina é administrada em uma dose única diária que varia de 15 a 45 mg (Briguenti e Bonato, 2005). É bem absorvida pelo trato gastrointestinal sofrendo pouca interação com o alimento e atingindo pico plasmático após duas horas da ingestão. Sua metabolização ocorre principalmente via oxidação hepática, catalisada pelas isoenzimas do citocromo P450 - CYP2D6, CYP3A4 e CYP1A2 (Suzuki *et al*, 2013). O metabólito ativo da mirtazapina é a N-desmetilmirtazapina (DMTZ), que apresenta atividade farmacológica de 5 a 10 % da droga original (Delbressine *et al*, 1998).

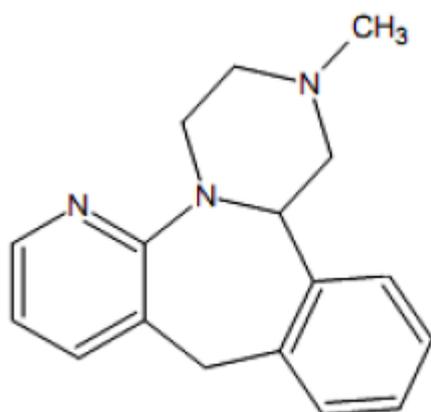


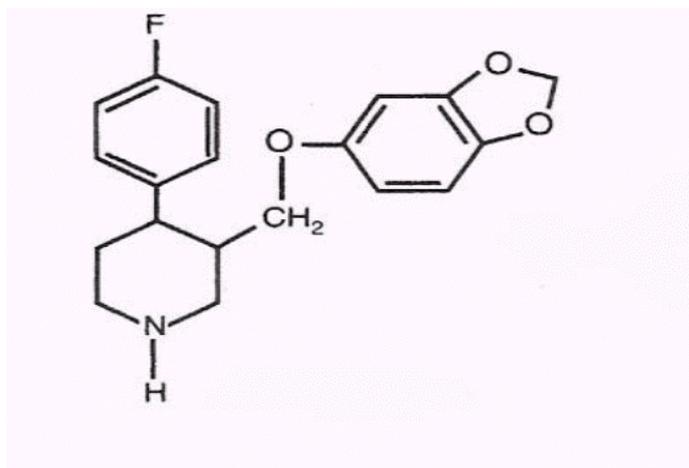
Fig. 3. Estrutura Química da Mirtazapina

Fonte: Figura adaptada a partir de Soares PJR (2006)

Apresenta baixa toxicidade aguda e de acordo com estudos de embriotoxicidade é relativamente seguro para mulheres grávidas (Scharnholz *et al*, 2010), não sendo observadas diferenças estatísticas significantes em crianças nascidas de gestantes expostas a mirtazapina comparadas com as não expostas (Winterfeld *et al*, 2013). Por bloquear pré-sinápticamente os receptores 5HT-3, pode ser usada também para o tratamento e ou profilaxia de náuseas e hiperemese gravídica, já que náuseas e vômitos são sintomas que afetam até 80% das mulheres grávidas (Janu e Rackova, 2006). Pelo mesmo motivo (bloqueio de 5HT-2 e 5HT-3), apresenta a característica de reduzir a incidência de efeitos adversos associados ao uso de ISRS como inquietação e disfunção sexual (Rouini *et al*, 2013). A eficácia da mirtazapina para o tratamento da depressão tem sido estabelecida claramente por vários estudos comparativos controlados.

### 2.3.2 Paroxetina (PX)

Cloridrato de Paroxetina se apresenta quimicamente como (-) trans-4-(4'-fluorofenil)-3-(3', 4'-metilenedioxifenoximetil)-piperidina, um derivado fenilpiperidínico. Possui como nomes comerciais Aropax®, Arotin®, Parox®, Paxil®, dentre outros e sua ação antidepressiva está relacionada à sua inibição específica da recaptação de 5-HT pelos neurônios. A paroxetina não apresenta estrutura química relacionada aos antidepressivos tricíclicos, tetracíclicos e a maioria de outros antidepressivos disponíveis.



(-)-trans-4-(4-fluorofenil)-3-(3',4'-metilenedioxifenoximetil)-piperidina (Paroxetina)

Fig. 4. Estrutura Química da Paroxetina

Fonte: Figura adaptada a partir de Soares PJR (2006)

É indicada para o tratamento da depressão, incluindo as formas graves e as acompanhadas por ansiedade e transtorno obsessivo compulsivo (Paulus *et al*, 2010). O tratamento pode ser iniciado com 10 ou 15 mg ao dia, ou a critério médico. A dose recomendada para tratamento da depressão é de 20 mg ao dia e se necessário, elevar a dose semanalmente, até atingir a dose ideal recomendada, conforme a indicação, não ultrapassando 50 mg ao dia. No final de 2005, a agência norte americana “Food and Drug Administration” (FDA), recomendou que fosse evitado o uso da paroxetina durante a gravidez devido a um aumento do risco de malformações cardiovasculares. Desde aquela época, há um contínuo e controverso debate sobre a segurança de paroxetina durante a gravidez, no entanto estudos realizados para esta finalidade não suportaram a hipótese de um efeito teratogênico da paroxetina (Paulus *et al*, 2010).

### **2.3.3 Venlafaxina (VX)**

A venlafaxina é uma nova droga que inibe de modo não seletivo a recaptção de neurotransmissores que mostrou boa penetração na barreira hematoencefálica tanto *in vivo* quanto *in vitro*, podendo assim ser utilizada para o tratamento de uma série de desordens do SNC. Atualmente existem duas drogas aprovadas nos Estados Unidos (venlafaxina e duloxetina) que atuam como inibidores seletivos da recaptção de serotonina e norepinefrina, estas experimentaram um aumento significativo em seu consumo nos últimos anos (Verdú *et al*, 2014). Apresentam como principais nomes comerciais Eflexor®, Alenthus®, Venlift® entre outros. A desvenlafaxina, o maior metabólito ativo da venlafaxina, é um novo INSRs e existe nas formas de misturas racêmicas (R+S) sendo administrada clinicamente na forma de succinato (Bellaire *et al*, 2013).

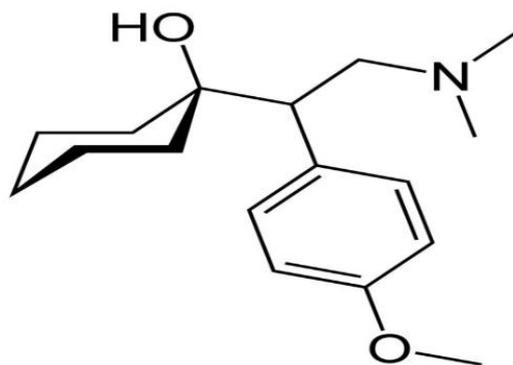


Fig. 5. Estrutura Química da Venlafaxina

Fonte: [winkimedia.org/wiki/venlafaxina](https://winkimedia.org/wiki/venlafaxina)

Seu mecanismo de ação se dá pela elevação dos níveis de certos neurotransmissores (5HT e NE) na fenda sináptica através do bloqueio de transportadores na membrana pré-sináptica, responsáveis pela sua remoção (Ings *et al*, 2012). A seletividade destas drogas por transportadores 5-Ht e NE reduz o potencial para efeitos adversos, sendo a venlafaxina indicada para o tratamento de desordens de depressão maior, ansiedade generalizada, ansiedade social, desordens do pânico (Deecher *et al*,2006). De acordo com a bula do medicamento, a venlafaxina é um inibidor da recaptção de 5-HT e NE, que não apresenta nenhuma atividade inibitória da MAO, nenhuma afinidade por receptores muscarínicos colinérgicos, H1-histaminérgicos ou alfa1-adrenérgicos. Sua eficácia no tratamento de depressão maior está relacionada à potencialização dos neurotransmissores da 5-HT e NE no SNC. Como em outros antidepressivos, a segurança da venlafaxina na gravidez em humanos não foi estabelecida, devendo ser administrada a mulheres grávidas se os benefícios esperados superarem os possíveis riscos. Yaris *et al* (2004), relatam que a venlafaxina não aumentou o risco de malformação maior em humanos. Se for usada até ou logo antes do nascimento, os efeitos da descontinuação no recém-nascido devem ser considerados. Complicações incluindo a necessidade de suporte respiratório, alimentação por sonda ou hospitalização prolongada, foram relatadas em recém-nascidos expostos a INSRs no final do terceiro trimestre. Essas complicações podem surgir imediatamente após o parto. A venlafaxina é excretada no leite humano na forma de O-desmetilvenlafaxina. Devido ao potencial para reações adversas sérias em

lactentes em decorrência da exposição à venlafaxina, deve-se decidir pela descontinuação ou não da amamentação ou pela descontinuação do medicamento, levando em consideração a importância do medicamento para a mãe. Ainda segundo a bula do medicamento, a dose recomendada para transtorno depressivo maior é de 50 mg uma vez por dia, com ou sem alimentos. Se o aumento de dose for indicado para alguns pacientes, deve ocorrer gradativamente e em intervalos de no mínimo sete dias. A dose máxima não deve exceder 200 mg/dia.

## **2.4 DESREGULADORES ENDÓCRINOS**

O sistema endócrino está envolvido no controle de vários e complexos mecanismos fisiológicos (Kang *et al*, 2005). Substâncias que interferem com a regulação hormonal do indivíduo são designadas desreguladores endócrinos (EDs) e segundo Waye e Trudeau (2011), recebem a seguinte definição:

“Desreguladores neuroendócrinos são substâncias exógenas encontradas no ambiente, capazes de agir como agonista/antagonistas ou alterando a síntese e/ou metabolismo de neuropeptídeos, neurotransmissores ou neurohormônios com subsequentes alterações na fisiologia, no desenvolvimento, reprodução e comportamento sexual de organismos ou populações”.

Isso ocorre principalmente quando o organismo imaturo é exposto, pois apresenta menor capacidade metabólica e de eliminação de substâncias (Aziz *et al*, 2001). Um dos mais graves problemas em se tratando de produtos químicos endócrino-ativos, é que eles podem afetar fetos e recém-nascidos de uma maneira mais pronunciada que os adultos, pois os tecidos destes proliferam e se diferenciam de forma mais ativa e, assim, eles podem ser mais sensíveis a essas substâncias (Sawaki *et al*, 2003). Eles podem agir através de uma ampla gama de mecanismos, incluindo processos de receptores dependentes e independentes (Müller *et al*, 2012). Testes de triagem incluem vias mediadas por receptor estrogênico (ER) como os ensaios *in vitro* de ligação e transcrição do ER, e os ensaios *in vivo* Uterotrófico e Hersberger, bem como teste de 21 dias em peixes para avaliação ambiental (Dang *et al*, 2011). Embora os testes *in vitro* sejam requeridos em estratégias de pré screening, substâncias com potencial efeito endócrino podem se apresentar

com resultado negativo, sendo, portanto, os testes *in vivo* recomendados por refletir de forma mais consistente o metabolismo dos químicos e seu complexo mecanismo de interação com o sistema endócrino (Kang *et al*, 2005). Os hormônios endógenos são ativos em doses extremamente baixas, na ordem de picomolar. Em se tratando destas substâncias, efeitos observados em baixas doses podem diferir dos observados em altas doses, o que vem provocando mudanças em conceitos toxicológicos até então bem estabelecidos (Vandenberg *et al*, 2012). Futuros estudos precisam ser projetados para testar cuidadosamente uma vasta gama de concentrações, sendo essencial determinar se baixas concentrações de vários químicos que podem induzir desregulação endócrina (Olea *et al*, 2014). Recentes estudos laboratoriais mostraram que alguns antidepressivos apresentam efeito em funções fisiológicas críticas em invertebrados como o crescimento ovariano e testicular (Fong e Ford, 2014). Neste contexto, há de se considerar que muitos fármacos estão sendo considerados contaminantes potenciais devido sua presença nos ecossistemas aquáticos, sendo necessário, portanto, avaliar seu risco ecológico em particular no que diz respeito à atividade hormonal (Fent *et al*, 2006). A presença de substâncias estrogênicas e ISRS na superfície e águas residuais e a bioconcentração de  $17\alpha$  estradiol e fluoxetina em tecidos de peixes é uma preocupação, sendo atribuídas as descargas de esgoto (Assis *et al*, 2013). A função fisiológica de compostos estrogênicos é modular receptores estrogênicos subtipos  $\alpha$  e  $\beta$ , agindo no núcleo da célula regulando a transcrição de genes alvos específicos pela ligação e associação a sequências reguladas do DNA (Paterni *et al*, 2014). Segundo Osterlund (2010), o hormônio natural  $17\beta$ -estradiol se liga igualmente em ambos os subtipos de receptores estrogênicos (ER $\alpha$  e ER $\beta$ ), porém o subtipo  $\alpha$  é mais proeminente nas glândulas mamárias e no útero (Paterni *et al*, 2014). No decorrer da última década, a classe de drogas ISRS tem sido associada com disfunções sexuais, desordens gastrointestinais, insônia, dor de cabeça, anorexia, perda de peso, bem como infertilidade principalmente em machos, isto porque a serotonina tem um importante papel na espermatogênese e seu excesso pode levar a disfunção (Erdemir *et al*, 2014). Muller *et al* (2012), demonstraram através de testes *in vivo* e *in vitro*, uma ação estrogênica da fluoxetina, principal representante da classe dos ISRS. Esses resultados indicam uma possível interferência com o

sistema endócrino, e várias destas modificações estão descritas como os efeitos das substâncias com ação estrogênica ou anti-androgênica. Muitos esforços tem sido feito para desenvolver testes que detectem EDs (Kang *et al*, 2000), e para a avaliação (triagem) de substâncias desreguladoras endócrinas existem vários protocolos recomendados. A Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos preconiza que uma substância só pode ser considerada ED após passar por vários testes e baseado nas recomendações do EDSTAC (Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee), tem desenvolvido dois níveis de abordagens que avaliam de maneira sequencial o potencial desregulador de um químico. O primeiro nível inclui uma bateria de testes designados para identificar químicos que interagem com os sistemas estrogênicos, androgênicos e tireoideanos, enquanto os testes do segundo nível são designados para determinar uma relação com a dose (Clode, 2006). Na toxicologia regulatória, assumia-se que as curvas dose resposta teriam um caráter monotônico, isto é, estabelecia relação linear entre a dose e o efeito observado. Porém, complexas e multifásicas curvas têm sido observadas e denominadas curvas dose resposta não monotônicas, o que vem promovendo mudanças nos conceitos tradicionais e despertando para a necessidade de modificações nos testes de toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento. Nestas, apenas a maior e a menor dose testada apresentam significativa ação desreguladora endócrina (Vandenberg *et al*, 2012). Estes estudos podem ajudar no estabelecimento de novos guidelines para a exposição aceitável com mínimos riscos para humanos e animais (Olea *et al*, 2014). Embora testes *in vitro* sejam capazes de identificar tais substâncias, a farmacodinâmica e a farmacocinética do metabolismo endócrino requer o uso de testes *in vivo* para a completa avaliação (Clode, 2006). De acordo com a EDSTAC (1998), os testes que caracterizam uma substância como agonista ou antagonista são: uterotrófico, Hershberger, cultivo de células MCF-7 e gene repórter. A exposição a muitos EDs especialmente durante o desenvolvimento interfere com diferenciação sexual, maturação, comportamento e função endócrina quando adultos. Futuras investigações sobre o mecanismo de ação destas substâncias são necessárias para um melhor entendimento de como eles alteram a neurofisiologia dos organismos (Olea *et al*, 2014).

## 2.5 TESTE UTEROTRÓFICO

O teste uterotrófico é um ensaio *in vivo* de curta duração utilizado na triagem de substâncias com atividade estrogênica ou antiestrogênica, recomendado pelo comitê consultivo de teste e triagem de substâncias desreguladoras endócrinas da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EDSTAC, 1998). Foi submetido a um extenso processo de validação que mostrou sua relevância e reprodutibilidade. O teste avalia a capacidade de um produto químico induzir atividades biológicas consistentes com agonistas ou antagonistas de estrógenos naturais, sendo a detecção de antagonistas menos comum que a agonista (OECD, 2007). O crescimento uterino em ratas imaturas é utilizado como indicador da ação estrogênica de uma substância enquanto o bloqueio do efeito uterotrófico do estradiol é utilizado como indicador de antiestrogenicidade (Odum *et al*, 1997). O útero responde aos estrógenos de duas maneiras: de início ocorre um aumento do peso devido à absorção de água seguido de aumento de peso devido a crescimento tecidual. Tecidos uterinos respondem com rápido e vigoroso crescimento após estimulação por estrógenos, particularmente em ratos de laboratório onde o ciclo estral é de aproximadamente quatro dias, assim tais espécies são amplamente utilizadas em estudos toxicológicos para caracterização de risco. Desta forma, o útero de roedores é um órgão alvo apropriado para triagem *in vivo* de substâncias com potencial efeito estrogênico. Agonistas e antagonistas estrogênicos agem se ligando a receptores  $\alpha$  e  $\beta$  e podem ativar ou inibir respectivamente a ação transcricional dos receptores. Existem dois métodos para realização do teste utilizando fêmeas adultas ovariectomizadas e fêmeas imaturas não ovariectomizadas. O método imaturo é um pouco menos específico, mas abrange um escopo maior de investigação porque pode responder a substâncias que interagem também com o eixo hipotalâmico – pituitário-gonadal (HPG), uma vez que este encontra-se intacto. Se um produto químico estimula direta ou indiretamente o eixo HPG, puberdade e ovulação precoce bem como aceleração da abertura vaginal podem ocorrer. Tais substâncias não podem induzir resposta uterotrófica em ratas ovariectomizadas pois seu eixo HPG não é funcional. A resposta uterotrófica não é inteiramente de origem estrogênica, isto é, outros compostos (progesterona, testosterona e sintéticos

de progestinas) podem levar a resposta de estimulação. O período do 17<sup>o</sup> ao 26<sup>o</sup> dia pós-natal é o período indicado para a realização do teste, pois representa o intervalo de tempo que o útero não se encontra em crescimento (Clode, 2006). Kang *et al* (2000), demonstrou em seu estudo uma maior sensibilidade para o efeito uterotrófico em ratas imaturas em relação a ratas ovariectomizadas, portanto este período se mostra como o preferencial nos estudos de triagem.

### **3. JUSTIFICATIVA**

Baseado em evidências que a fluoxetina apresenta atividade estrogênica (Muller *et al*, 2012) e dada a grande prevalência do uso de drogas antidepressivas inclusive durante a gestação, este trabalho teve por objetivo avaliar a possível ação estrogênica de outras drogas antidepressivas também utilizadas durante a gestação e que apresentam outros mecanismos de ação. Foram avaliadas drogas da classe dos Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (Paroxetina), Inibidores não seletivos (Venlafaxina) e antagonistas de receptores  $\alpha_2$  (Mirtazapina), utilizando o teste uterotrófico como modelo.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1 GERAL**

Avaliar a possível ação estrogênica de três drogas antidepressivas amplamente utilizadas na clínica, mirtazapina, paroxetina e venlafaxina.

#### **4.2 ESPECÍFICOS**

- Avaliar o possível aumento do peso uterino de ratas imaturas tratadas com mirtazapina, paroxetina e venlafaxina, através do teste uterotrófico.
- Avaliar a altura do epitélio uterino através da análise morfométrica.
- Avaliar alterações morfológicas no tecido uterino através da análise histológica.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Animais

Para a realização dos experimentos foram utilizadas ratas fêmeas Wistar desmamadas com 21 dias, provenientes do biotério central da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Durante a experimentação os animais foram mantidos em salas de manutenção, com temperatura constante ( $22 \pm 2^\circ \text{C}$ ), obedecendo a uma fase claro/escuro de 12 horas e recebendo água e ração *ad libitum*. Todos os experimentos foram conduzidos em acordo com as normas e legislações contidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UFPR, sob protocolo CEUA 755.

### 5.2 Drogas

O  $17\alpha$  - etinilestradiol, foi obtido da Sigma Aldrich. O Cloridrato de Paroxetina e a Venlafaxina foram obtidos da Salvena (Curitiba – PR), e a Mirtazapina da Labore (Curitiba – PR).

#### 5.2.1 Cálculo das doses da Mirtazapina

A dose terapêutica da mirtazapina recomendada para humanos varia de 15 a 45 mg/dia.

- **Primeira dose – Terapêutica para humanos**  
 $15 \text{ mg} - 45 \text{ mg} = (15 + 45) / 2 = 30 \text{ mg}/70\text{kg} = \mathbf{0,40 \text{ mg/kg}}$
- **Segunda dose – Dose alométrica para ratos**

A segunda dose foi calculada através de critérios alométricos a partir da dose recomendada para seres humanos, conforme fórmula apresentada a seguir:

$$\frac{\text{Dose p/ modelo} \times \text{Peso metabólico do animal modelo}}{(\text{PMAM})\text{Peso metabólico do modelo (PMM)}}$$

Para proceder a conversão de massa (kg) em peso metabólico (kcal), elevou-se a massa do animal à potência 0,75 (Nevill, 1994). Considerando o modelo para seres humanos um homem de 70 kg e média de peso de um rato de 250 g, obtém-se o seguinte resultado:

$$\frac{30 \times 0,25^{0,75}}{0,25} = \frac{30 \times 0,35}{0,25} = 0,42 \text{ mg}/250\text{g peso animal} = \mathbf{1,7 \text{ mg/kg}}$$

$$70^{0,75} \quad 24,9$$

- **Terceira dose – Fator de segurança da dose alométrica para ratos**

A fim de se obter uma curva dose resposta, a terceira dose foi calculada através da aplicação do fator de segurança (vezes 10) à dose terapêutica para ratos.

$$1,7 \times 10 = 17 \text{mg/kg}$$

### 5.2.2 Cálculo das doses da Paroxetina

De acordo com a bula do medicamento a dose terapêutica recomendada para humanos varia de 20 a 50 mg/dia.

- **Primeira dose**

$$20 \text{ mg} - 50 \text{ mg} = (20 + 50) / 2 = 35 \text{ mg}/70\text{kg} = 0,5 \text{ mg/kg}$$

- **Segunda dose**

$$\frac{35 \times 0,25^{0,75}}{70^{0,75}} = \frac{35 \times 0,35}{24,9} = 0,5 \text{ mg}/250\text{g peso animal} = 2 \text{ mg/kg}$$

$$70^{0,75} \quad 24,9$$

- **Terceira dose**

$$2,0 \times 10 = 20 \text{ mg/kg}$$

### 5.2.3 Cálculo das doses da Venlafaxina

A dose terapêutica da venlafaxina recomendada para humanos é de 75 – 225 mg/dia.

- **Primeira dose**

$$75 - 225 \text{ mg} = (75 + 225) / 2 = 150 \text{ mg}/70\text{kg} = 2,1 \text{ mg/kg}$$

- **Segunda dose**

$$\frac{150 \times 0,25^{0,75}}{70^{0,75}} = \frac{150 \times 0,35}{24,9} = 2,10 \text{ mg/250g peso animal} = \mathbf{8,4 \text{ mg/kg}}$$

- **Terceira dose**

$$8,4 \times 10 = \mathbf{84,0 \text{ mg/kg}}$$

#### **5.2.4 17- $\alpha$ etinilestradiol**

O 17- $\alpha$  etinilestradiol foi utilizado como controle positivo para estrogenicidade, dissolvido em óleo de canola e administrado por gavagem nas doses de 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 e 10.0  $\mu\text{g/kg}$ .

#### **5.2.5 Água destilada**

A água destilada utilizada como veículo dos antidepressivos foi utilizada como controle negativo para estrogenicidade, num volume equivalente a 5mL/kg administrado por gavagem.

### **5.3 Testes**

#### **5.3.1 Teste Uterotrófico – Estrogenicidade**

##### **5.3.1.1 Doses e vias de administração**

Para a realização do teste uterotrófico foram formados diferentes grupos experimentais utilizando ratas Wistar imaturas (21  $\pm$  1 dia pós-natal). Na investigação da possível ação estrogênica das drogas pesquisadas os animais receberam do 22<sup>o</sup> ao 24<sup>o</sup> dia pós-natal os seguintes tratamentos via gavagem:

<b>Grupos</b>	<b>Dose/Veículo</b>
1. Controle Água destilada	5 mL/kg
2. 17 $\alpha$ Etinilestradiol	0,1 $\mu\text{g/kg}$ (diluído em óleo de canola)
3. 17 $\alpha$ Etinilestradiol	0,3 $\mu\text{g/kg}$ (diluído em óleo de canola)

4. 17 $\alpha$ Eтинилестрадиол	1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (diluído em óleo de canola)
5. 17 $\alpha$ Eтинилестрадиол	3,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (diluído em óleo de canola)
6. 17 $\alpha$ Eтинилестрадиол	10,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (diluído em óleo de canola)
7. Paroxetina	0,5 mg/kg
8. Paroxetina	2,0 mg/kg
9. Paroxetina	20 mg/kg
10. Paroxetina + 17 $\alpha$ Eтинилестрадиол	20 mg/kg + 1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$
11. Venlafaxina	2,0 mg/kg
12. Venlafaxina	8,4mg/kg
13. Venlafaxina	84,0 mg/kg
14. Venlafaxina + 17 $\alpha$ Eтинилестрадиол	84,0 mg/kg + 1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$
15. Mirtazapina	0,40mg/kg
16. Mirtazapina	1,7mg/kg
17. Mirtazapina	17,0mg/kg
18. Mirtazapina + 17 $\alpha$ Eтинилестрадиол	17,0mg/kg + 1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Tabela 1: Doses e vias de administração

### 5.3.1.2 Eutanásia

Após 24 horas do último tratamento os animais tiveram aferidas suas massas corporais e em seguida foram eutanasiados por decaptação após saturação com Enflurano.

### 5.3.1.3 Retirada do útero

O útero foi retirado e seccionado logo abaixo da sua junção com a cérvix e na junção dos cornos uterinos com os ovários, dissecado cuidadosamente para retirar o tecido conectivo adjacente. Em seguida o útero foi pesado e posteriormente perfurado com uma agulha, colocado entre duas folhas de papel filtro para retirada do líquido retido e então pesado novamente. As

massas absolutas dos úteros cheios e vazios foram aferidas em balança analítica Gehaka BG 440. As massas relativas dos úteros foram determinadas e registradas percentualmente em relação ao peso corporal do animal no dia da eutanásia. Os mesmos foram fixados em formol absoluto para posterior análise histológica e morfométrica.

### **5.3.2 Histologia**

Após a remoção e pesagem dos úteros estes foram fixados em solução de formalina tamponada 10% por 48 horas e após fixação a solução foi substituída por etanol 70%. Os úteros de cada animal foram seccionados em três partes sempre na mesma altura (corpo uterino, corno uterino direito e esquerdo) e então submetidos ao processo de desidratação, impregnação e diafanização respectivamente. Foram confeccionadas tiras dos úteros de 10µm de espessura que foram coradas pelo método da Hematoxilina e Eosina (HE) para análise histológica como procedimento padronizado. As partes utilizadas permitiram a ampla observação das estruturas do endométrio (revestimento luminal, submucosa, glândulas, estroma), miométrio e perimétrio de cada região. Os cortes histológicos avaliaram cada estrutura separadamente, sendo que a histologia mostrou a morfologia das estruturas do útero quanto a edema endometrial, hiperplasia epitelial da mucosa ou das glândulas endometriais, bem como hipertrofia, hiperplasia ou edema do endométrio. As tiras foram analisadas histopatologicamente em suas mudanças no aspecto morfológico, tendo como parâmetro estruturas histológicas normais.

### **5.3.3 Morfometria**

A altura do estroma do endométrio foi medida utilizando uma câmara digital (Moticam 2000 2,0 megapixel) acoplado a uma luz microscópio triocular (objetiva de 10x). A morfometria realizada software de análise de dados utilizados Motic e Pro Images -plus, versão 2.0. As amostras foram preparadas e processadas no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva- Laboratório de Anatomia Patológico Animal- UNIPAR.

## 6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (D'Agostino & Pearson) e foram analisados por análise de variância (ANOVA - one way) e as diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de Bonferroni. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas a um nível de probabilidade de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Teste Uterotrófico

Inicialmente foi realizada uma curva dose – resposta ao estradiol, que mostrou efeito estrogênico do mesmo a partir de  $1,0\mu\text{g}/\text{kg}$ . Desta forma, foi definido que para os demais grupos experimentais seria utilizada a menor dose do estradiol que apresentou atividade uterotrófica. Os animais que receberam estradiol (controle positivo para estrogenicidade) em diferentes doses mostraram um significativo aumento no peso uterino comparado com o grupo veículo água destilada (Fig.6)

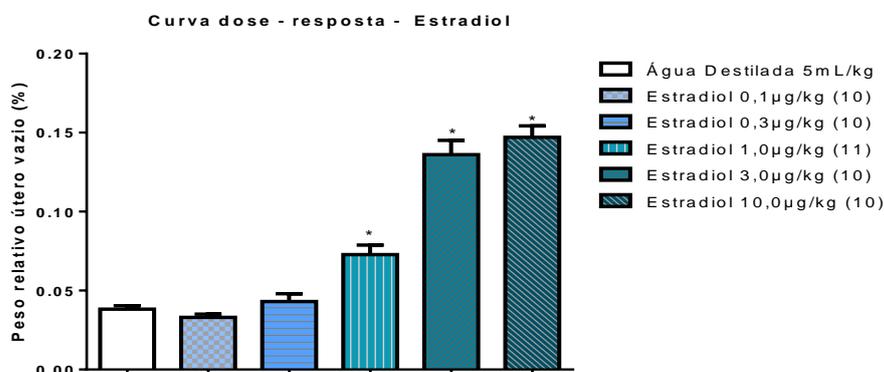


Fig. 6: Curva dose resposta ao Estradiol. Dados representam a média  $\pm$  EPM do peso relativo dos úteros vazios de ratas imaturas.  $*p < 0,05$  (ANOVA - Bonferroni), comparada com veículo (água destilada). Os números entre parênteses representam o n utilizado.

O grupo tratado com Paroxetina não mostrou diferença em relação ao grupo controle no peso relativo do útero. No entanto, quando administrado junto com

estradiol, mostrou interação com relação ao efeito estrogênico do estradiol isoladamente na dose de 1.0 µg/kg/dia (Fig. 7).

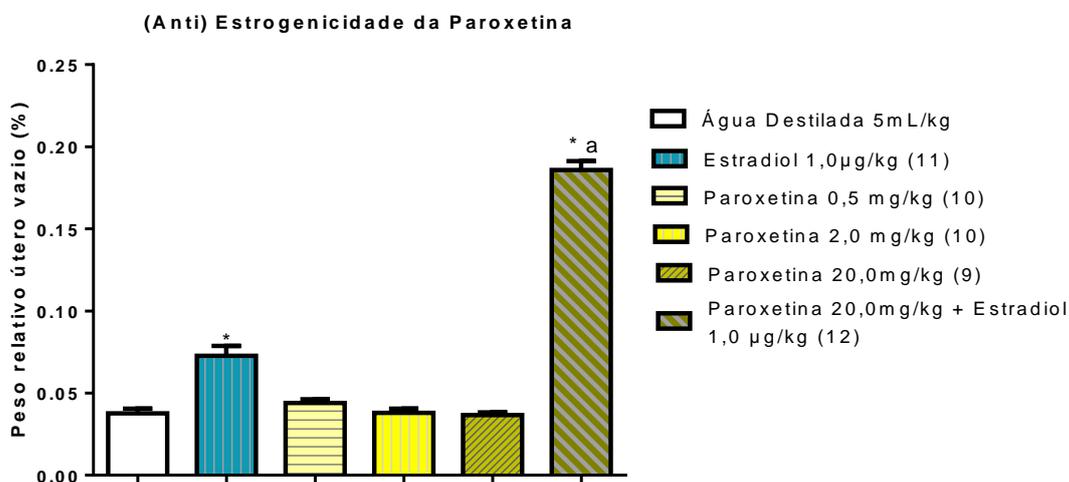


Fig. 7: Dados representam a média  $\pm$  EPM do peso relativo dos úteros vazios de ratas imaturas. \*  $p < 0.05$  (ANOVA - Bonferroni), comparado com veículo (água destilada). Onde, a=  $p < 0.05$  (ANOVA - Bonferroni), comparado com estradiol 1,0 µg/kg/dia. Os números entre parênteses representam o n utilizado.

A venlafaxina mostrou atividade estrogênica quando comparada com o controle negativo nas doses de 8,4 e 84,0mg/kg. No entanto, quando administrada concomitantemente com o estradiol não mostrou nenhuma interação(Fig.8).

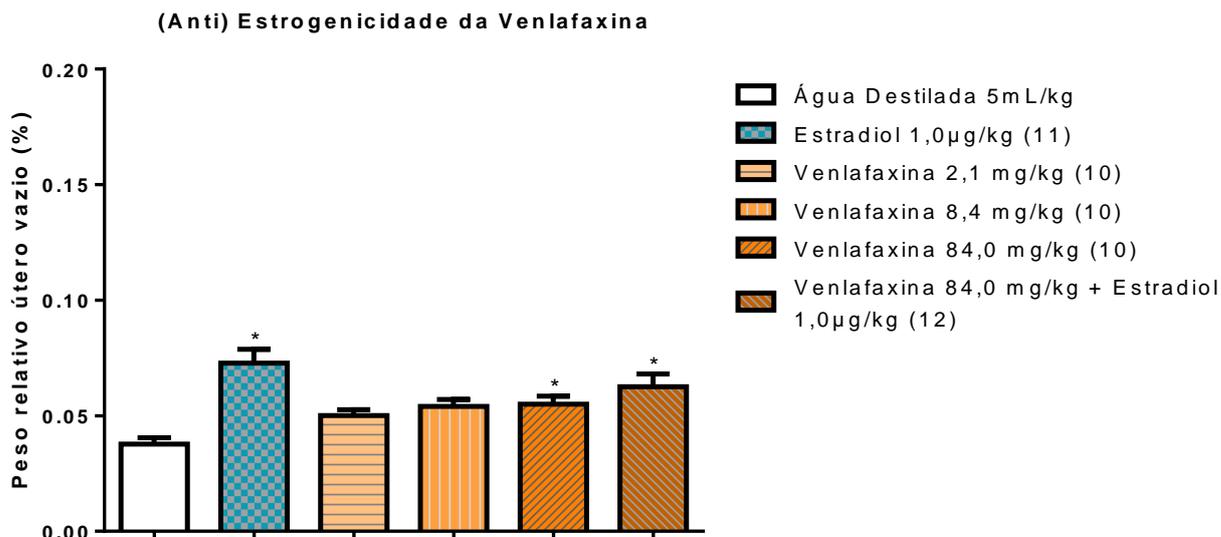


Fig. 8: Os dados representam a média  $\pm$  EPM do peso relativo dos úteros vazios de ratas imaturas. Onde \*  $p < 0,05$  (ANOVA – Bonferroni) comparado com veículo (água destilada). Os números entre parênteses representam o n utilizado.

A mirtazapina por sua vez, mostrou atividade estrogênica nas doses de 0.4 e 17mg/kg. No entanto, quando administrada concomitantemente com o estradiol não mostrou interação (Fig.9).

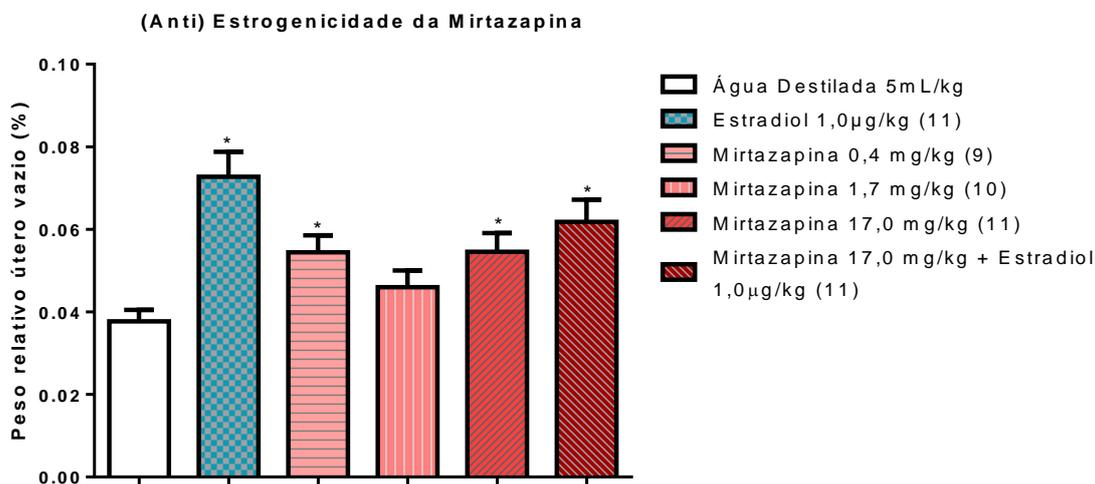
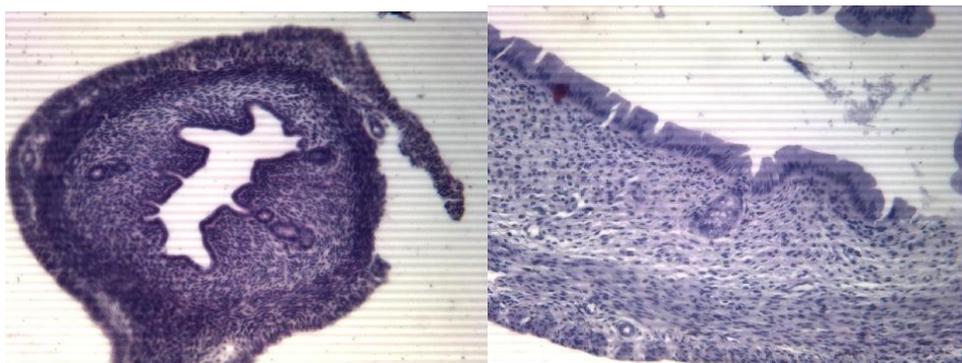


Fig. 9: Os dados representam a média  $\pm$  EPM do peso relativo dos úteros vazios de ratas imaturas. Onde \*  $p < 0,05$  (ANOVA – Bonferroni) comparado com veículo (água destilada). Os números entre parênteses representam o n utilizado.

## 7.2 Histologia

O grupo controle não mostrou alterações morfológicas nos aspectos avaliados tanto no endométrio, miométrio e perimétrio. O que pode ser observado foi o adelgaçamento das estruturas do útero, aspecto atrófico, glândulas endometriais em pequenas quantidades (fig.10A). No grupo estradiol 1,0 µg/kg (controle positivo) foram observadas mudanças estrogênicas características, tais como aumento em espessura do estrato basal, glândulas endometriais com aumento de volume e tamanho, o epitélio cilíndrico apresentando algumas células em mitose e regiões de agregação destas células no interior da glândula. Observou-se ainda edema periglandular discreto com espaçamento entre as células da lâmina basal e proliferação discreta dos vasos (fig.10B). Nos cortes histológicos dos grupos tratados com mirtazapina 17mg/kg, paroxetina 20mg/kg e venlafaxina 84mg/kg, foram observadas alterações do tipo rarefação das células da submucosa com espaçamento entre elas em relação ao grupo controle, o que sugere a ocorrência de processo edematoso (fig. 10C,D,E, respectivamente). Alterações morfológicas do tipo metaplasia, hiperplasia da submucosa e espessamento das células no interior do útero de ratas tratadas com mirtazapina 17mg/kg + estradiol 1,0 µg/kg, paroxetina 20 mg/kg + estradiol 1,0 µg/kg e venlafaxina 84 mg/kg + estradiol 1,0µg/kg, foram encontrados (fig.10F,G,H, respectivamente).



A

B

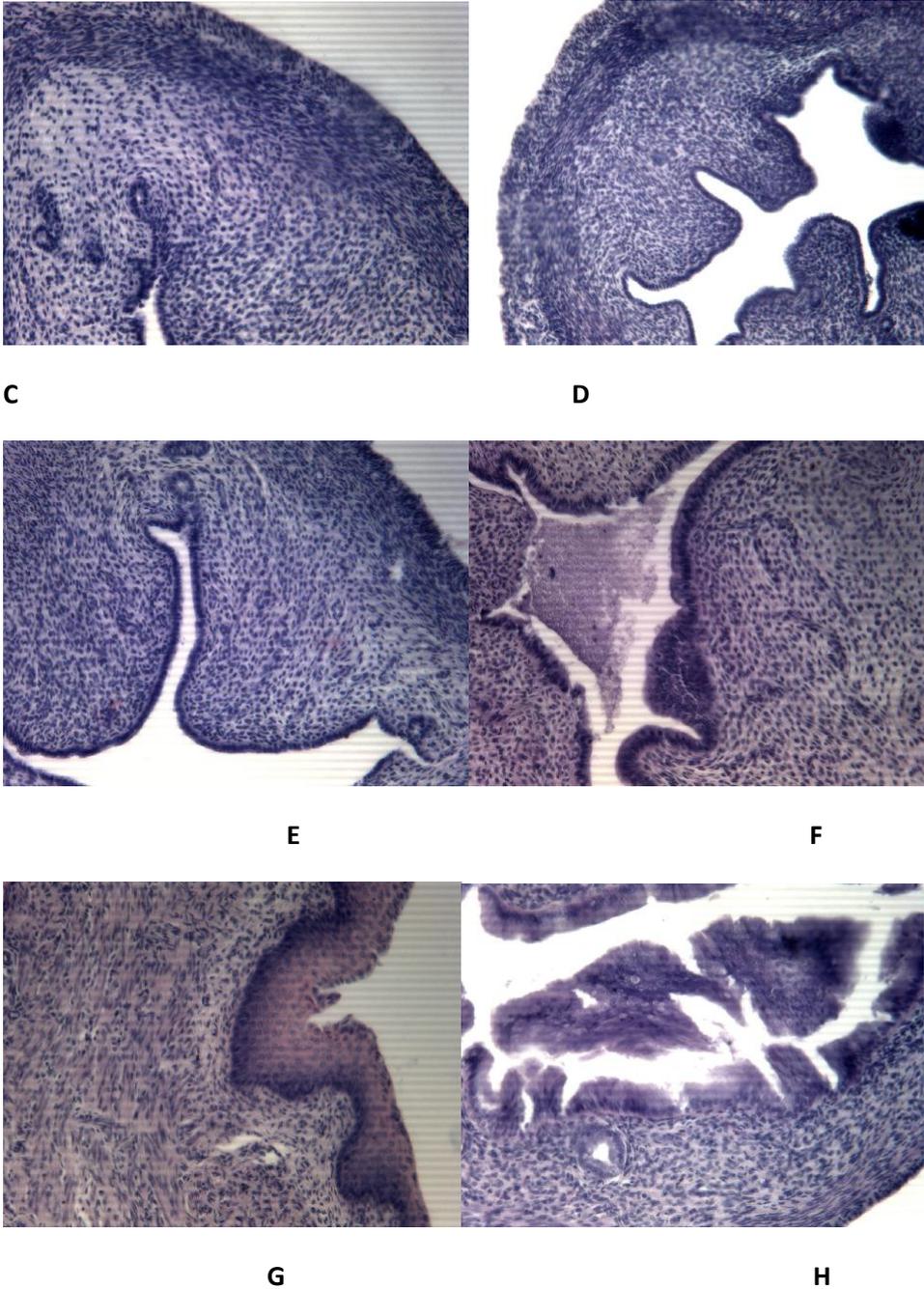


Fig.10. Cortes histológicos dos tecidos uterinos (n=5).Espessuras de 100 µm, corados com hematoxilina e eosina (HE), com aumento de 20x. Figura A, grupo controle sem alterações morfológicas. Figura B, grupo estradiol controle positivo, apresentando aumento em espessura do estrato basal, glândulas endometriais com aumento de volume e tamanho, o epitélio cilíndrico apresentando algumas células em mitose.Figuras C,D e E cortes histológicos dos grupos tratados com mirtazapina 17mg/kg, paroxetina 20mg/kg e venlafaxina 84mg/kg resectivamente, apresentando alterações do tipo rarefação das células da submucosa com espaçamento entre elas. Figuras F,G e H grupos tratados com mirtazapina 17mg/kg + estradiol 1,0 µg/kg, paroxetina 20 mg/kg + estradiol 1,0 µg/kg e venlafaxina 84 mg/kg + estradiol 1,0µg/kg respectivamente, apresentando metaplasia, hiperplasia da submucosa espessamento das células.

### 7.3 Morfometria

Os dados da morfometria corroboraram com os achados do teste uterotrófico e com a histologia. Em todos os grupos analisados, houve diferença estatística significativa comparando os grupos tratados com o controle. Nos tecidos uterinos tratados com mirtazapina 17,0mg/kg + estradiol 1,0µg/kg, observa-se um aumento ainda mais pronunciado quando comparado com estradiol 1,0µg/kg isoladamente (fig.11). O mesmo pode ser observado nos grupos tratados com paroxetina 20mg/kg + estradiol 1,0µg/kg (fig.12). Nos grupos tratados com venlafaxina, as diferenças estatísticas também foram observadas, porém sem a interação observada nas anteriores (fig.13).

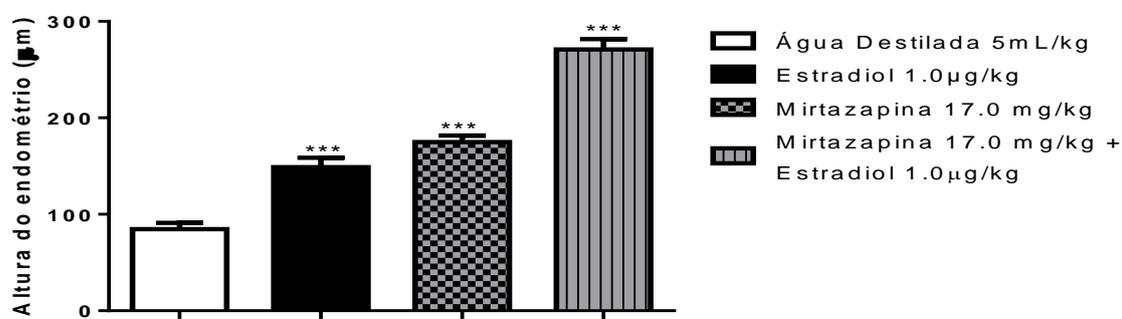


Fig. 11. Morfometria do corno uterino dos animais tratados com mirtazapina. As colunas representam a média  $\pm$  SEM da altura do epitélio ( $\mu\text{m}$ ). \*\*\* $p < 0.01$  (ANOVA – Bonferroni) comparado com o veículo (água destilada).

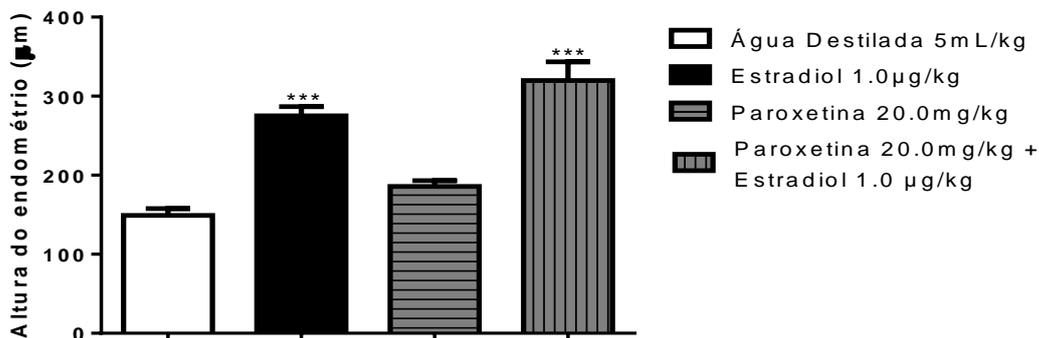


Fig.12. Morfometria do corpo uterino dos animais tratados com paroxetina. As colunas representam a média  $\pm$  SEM da altura do epitélio ( $\mu\text{m}$ ). \*\*\* $p < 0.01$  (ANOVA – Bonferroni) comparado com o veículo (água destilada).

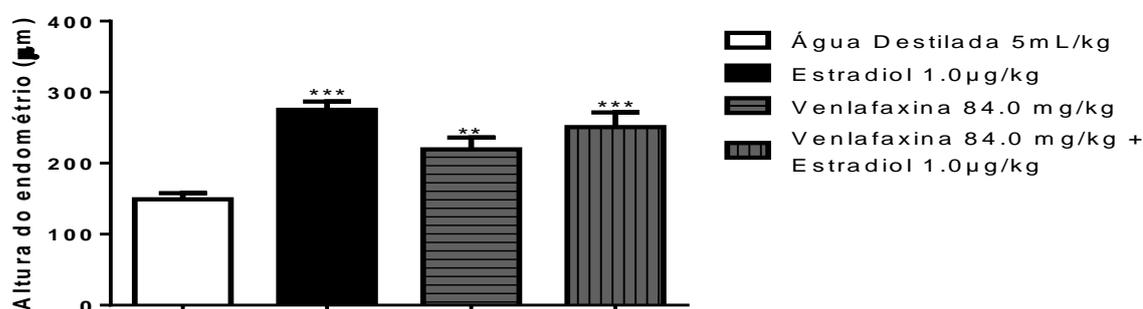


Fig. 13. Morfometria do corpo uterino dos animais tratados com venlafaxina. As colunas representam a média  $\pm$  SEM da altura do epitélio ( $\mu\text{m}$ ). \*\*\* $p < 0.01$  (ANOVA – Bonferroni) comparado com o veículo (água destilada).

## 8. DISCUSSÃO

O teste uterotrófico *in vivo* é um ensaio de curta duração considerado padrão para a detecção de substâncias capazes de mediar efeitos estrogênicos (OECD, 2007). Ele emprega um modelo de animais nos quais o eixo hipotalâmico-pituitário-ovariano não é funcional, utilizando fêmeas adultas jovens após ovariectomia ou fêmeas imaturas após o desmame e antes da puberdade (EPA, 2011). Kang *et al* (2000), no entanto, demonstraram que ratas imaturas são melhores modelos experimentais que ratas ovariectomizadas para a detecção de desreguladores endócrinos. Muitas substâncias utilizadas mundialmente, como medicamentos, pesticidas e contaminantes ambientais, estão em fase de triagem para detecção de possível atividade estrogênica. O teste uterotrófico em ratas imaturas é indicado por agências reguladoras. Neste trabalho, os resultados do teste uterotrófico revelaram um possível efeito estrogênico das três substâncias testadas. A paroxetina quando administrada com o estradiol mostrou uma interação farmacológica, indicando que ela pode potencializar o efeito do hormônio endógeno circulante. O objetivo de testar as drogas em associação com o estradiol de princípio era avaliar um possível efeito antiestrogênico de tais drogas, porém curiosamente a paroxetina apresentou comportamento distinto

do propósito investigado. Muller *et al* (2012), demonstraram efeito aditivo da fluoxetina quando exposta simultaneamente ao 17 $\beta$  estradiol no teste do gene repórter. Segundo a EDSTAC (1998), a possibilidade de ocorrer efeitos aditivos ou sinérgicos de substâncias químicas que atuam como desreguladores endócrinos é de grande preocupação quando se trata de misturas de compostos. A venlafaxina e a mirtazapina mostraram efeito estrogênico quando administradas isoladamente, porém não apresentaram nenhuma interação com o estradiol bem como não demonstraram efeito antiestrogênico, no teste uterotrófico. No entanto, dados da morfometria mostraram que a mirtazapina também apresentou interação na presença do estradiol. Estes achados indicam que se estas drogas tem o potencial de mimetizar hormônios femininos e também existe a possibilidade de interferir em outros processos reprodutivos. Devido aos seus efeitos no sistema serotoninérgico central, os ISRSs podem afetar múltiplas vias neuroendócrinas e circuitos comportamentais. Efeitos no sistema hormonal em diferentes espécies provocados pela fluoxetina e outros ISRSs são descritos na literatura (Weintrob *et al*, 2002). Em particular, a fluoxetina atua como um importante exemplo de desregulador neuroendócrino. A análise histológica de gônadas de peixes expostos a baixas doses de fluoxetina mostraram claramente uma significativa redução no número de oócitos e redução na densidade do esperma nos túbulos seminíferos, bem como um aumento no estradiol sérico (Lazzara *et al*, 2012). Este estudo sugere a possibilidade da fluoxetina induzir a desova em baixas concentrações (20-200ng/L) o que tem um impacto negativo na reprodução de peixes, uma vez que a fertilização desta espécie é externa e conseqüentemente a desova deve ser altamente sincronizada devido a curta viabilidade dos gametas na água. Assis *et al* (2013) mostraram que em machos expostos a fluoxetina presente na água houve interrupção da liberação de esperma, redução dos níveis sanguíneos de testosterona e aumento significativamente dos níveis de estradiol. No mesmo estudo foi demonstrado o aumento no número da proteína vitelogenina no plasma de peixes expostos, o que também suporta a hipótese que a fluoxetina possui a habilidade de agir sobre o sistema endócrino e, portanto exercer significativa atividade de desregulador endócrino. Em adição à fluoxetina, numerosos outros antidepressivos tais como: venlafaxina, bupropiona, sertralina, citalopram, paroxetina e seus metabólitos, têm sido

detectados na água e podem se bioconcentrar em peixes expostos, provocando efeitos similares (Olea *et al*, 2014). Estudos com outros antidepressivos como a fluvoxamina (ISRS), também mostraram indução da desova em peixes (Fong and Ford, 2014). Efeitos em outras espécies animais também foram observados. Muller *et al* (2012) demonstraram a atividade estrogênica da fluoxetina *in vivo* em ratas (teste uterotrófico) e *in vitro* (gene repórter), indicando que drogas desta classe podem interferir com processos reprodutivos. Alguns estudos fazem uma relação entre infertilidade masculina e o uso de antidepressivos. Erdemir *et al* (2014) demonstraram que a espermatogênese foi afetada em ratos tratados com sertralina, paroxetina, fluoxetina e citalopram. Há alguns estudos na literatura que sugerem ação hormonal do metilfenidato, atrasando abertura do canal vaginal e alterando o ciclo estral em ratas, o que indica alteração na maturação e funcionamento do eixo reprodutivo (Montagnini *et al*, 2013). Da mesma forma em humanos foram observados efeitos semelhantes. Homens tratados com ISRSs foram avaliados quanto ao perfil endócrino e mostraram redução nos níveis séricos de testosterona e elevação nos níveis de prolactina (Safarinejad, 2008). Montejo *et al* (2001) afirmam que os antidepressivos ISRS diminuem a libido em mulheres e homens. Mulheres com amenorreia em consequência da síndrome de Prader-willi, apresentaram sangramento do tipo menstruação seis meses após tratamento com fluoxetina, fato que indica que o sistema hipotálamo – pituitária – ovário pode ter sido afetado (Warnock *et al*, 1995). Apesar do recente aumento no uso de antidepressivos inibidores  $\alpha_2$  e ISRSs, existem poucos estudos na literatura que investigam o possível efeito estrogênico destas drogas (Leon-Olea *et al*, 2014). Neste trabalho, os resultados encontrados no teste uterotrófico indicam uma possível ação estrogênica das drogas testadas, uma vez que houve aumento considerável no peso uterino dos animais tratados isoladamente ou em associação com o estradiol. A análise histológica dos tecidos uterinos mostrou resultados que corroboram com os encontrados no teste uterotrófico. A histologia é uma análise importante, uma vez que o tecido uterino responde a estimulação estrogênica com rápido e vigoroso crescimento devido a fatores como a absorção de água e o crescimento tecidual. O estradiol é conhecido por induzir aumento na altura do epitélio glandular e luminal, bem como estimular a proliferação celular do epitélio

uterino. O útero responde ao estradiol pelo aumento na divisão celular como parte do crescimento uterino, sendo que o pico mitótico ocorre aproximadamente 24 horas após a administração do estradiol. A resposta mitótica é maior no epitélio uterino, seguido pelo estroma e miométrio (EPA, 2011). O útero de roedores é um órgão alvo apropriado para triagem *in vivo* de agonistas e antagonistas estrogênicos, pois neste modelo o ciclo estral é de aproximadamente quatro dias. Kang *et al* (2000) sugerem que mudanças na histologia são um sensível indicador para ação de desreguladores endócrinos. Dados histológicos do grupo tratado com estradiol mostraram alterações condizentes com o tratamento, isto é, respostas típicas como o aumento do volume e tamanho das glândulas, epitélio cilíndrico em mitose e proliferação de vasos sanguíneos. Efeitos estrogênicos semelhantes, hiperplasia epitelial e glandular, metaplasia escamosa em útero de ratas após três dias de tratamento com benzoato de estradiol foram encontrados por Ferre *et al* (2013). Em todos os grupos tratados com as drogas testadas foram observadas alterações do tipo rarefação das células da submucosa do endométrio, característica observada em processos edematosos, os quais corroboram com os achados no teste uterotrófico. Nos grupos tratados com paroxetina e venlafaxina + estradiol, alterações morfológicas tipo metaplasia, hiperplasia e rarefação das células da submucosa foram encontradas diferentemente daquelas encontradas no grupo estradiol isoladamente. A função fisiológica dos compostos estrogênicos modular amplamente os receptores estrogênicos subtipos alfa (ER $\alpha$ ) e beta (ER $\beta$ ). Estas proteínas têm ação no núcleo da célula regulando a transcrição de genes específicos pela ligação a sequências reguladas do DNA. O subtipo alfa é mais proeminente nas glândulas mamárias e no útero (Paterni *et al*, 2014). Em adição à aumentada divisão celular, a morfologia das células do útero é transformada em resposta ao estradiol ou substâncias que o mimetizem. Estas alterações morfológicas incluem aumento na altura das células epiteliais, do epitélio glandular, espessura do estroma e diferenciação do epitélio luminal para forma colunar (EPA, 2011). Para confirmar as mudanças morfológicas típicas do efeito uterotrófico, também observados na histologia foi realizado a análise morfométrica, a qual mostrou resultados quantitativos que corroboram aos encontrados anteriores. Nesta análise, observou-se aumento considerável na altura do epitélio endometrial

em todos os grupos tratados com as drogas investigadas. Em particular, nos grupos da mirtazapina e paroxetina + estradiol parece ter havido uma interação quando comparado com os efeitos do estradiol isoladamente. A combinação da aplicação destes parâmetros atua como ferramenta adicional para testar o amplo espectro de substâncias ativas como desreguladores endócrinos (Nishino *et al*, 2005). Os resultados mostram que as substâncias testadas neste experimento apresentam possíveis efeitos estrogênicos. Porém, é importante notar que a resposta uterotrófica não é inteiramente de origem estrogênica, isto é, há evidências que altas doses de substâncias sem atividade estrogênica (progesterona e testosterona), podem simular uma resposta estrogênica (Clode, 2006). Estes achados são relevantes no sentido de que cada vez mais estamos expostos a substâncias com potencial efeito de desreguladores endócrinos. Porém, há de se considerar que diversos mecanismos de ação estão envolvidos nestes efeitos, incluindo a interferência de outros hormônios. A questão da desregulação endócrina continua a ser de interesse para órgãos reguladores e cientistas. Muitos esforços estão sendo feitos para desenvolver ensaios para detectar produtos químicos desreguladores endócrinos, incluindo teste *in vivo* e *in vitro*. De certa forma, o ideal para detecção de tais substâncias seria uma combinação de ambos os testes, considerando que existem diferenças entre eles. Por exemplo, ensaio *in vitro* são mais adequados para a detecção de efeitos clássicos mediados por receptores. No entanto, não são capazes de fornecer resultados confiáveis devido a diferenças nas capacidades metabólicas, aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmicos ausentes nestes modelos (Baker, 2001). Por outro lado, os ensaios *in vivo* podem ser afetados por outros mecanismos endócrinos que não estejam diretamente relacionadas com os mecanismos mediados por receptores, (EDSTAC, 1998). Assim, fica evidente que uma combinação de testes *in vivo* e *in vitro* é essencial para uma avaliação abrangente do potencial efeito desregulador endócrino de uma substância ou mistura delas.

## **9. CONCLUSÃO**

Substâncias que possuem potencial para desencadear efeitos similares aos produzidos por atividade de hormônios endócrinos podem interferir com diversos processos fisiológicos, incluindo os processos reprodutivos e

comportamentais. Assim, é de fundamental importância conhecer o perfil endócrino destas drogas, a fim de correlacionar as possíveis alterações no desenvolvimento ou comportamento que a prole pode expressar.

## 10. REFERÊNCIAS

American Psychiatric Association (APA). Practice guideline for the treatment of patients with major depressive disorder. 3rd ed. Washington DC: American Psychiatric Association; 2010. <http://www.psychiatryonline.com/pracGuide/pracGuideTopic7.aspx> accessed 21.08.13

Araújo DMR, Vilarim MM, Sabroza AR *et al.* Depressão no período gestacional e baixo peso ao nascer: uma revisão sistemática da literatura. **Caderno de Saúde Pública**: 26(2); 219- 227, 2010

Assis HCS, Simmons DBD, Zamora JM *et al.* Estrogen-like effects in male Goldfish co-exposed to fluoxetine and 17 alpha-ethinylestradiol. **Environmental Science & Technology**: 47; 5372-5382, 2013

Aziz MH, Agrawal AK, Adhami VM *et al.* Neurodevelopmental consequences of gestational exposure (GD14±GD20) to low dose deltamethrin in rats. **Neuroscience Letters**: 300; 161-165, 2001

Baker VA. Endocrine disrupters – testing strategies to assess human hazard. *Toxicology in Vitro*:15, 413 – 419, 2001

Bellaire SB, Behrle JA, Parker VD *et al.* An open-label, single –dose, parallel-group study of the effects of chronic hepatic impairment on the safety and pharmacokinetics of desvenlafaxine. **Clinical Therapeutics**:35; 782-794, 2013

Binder EB, Künzel HE, Nickel T *et al.* HPA-axis at in-patient admission is associated with antidepressant therapy outcome in male but not in female depressed patients. **Psychoneuroendocrinology**:34; 99-109, 2009

Briguenti ACC e Bonato PS. Análise simultânea da mirtazapina e N-desmetilmirtazapina em plasma empregando a cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**: 41; 429-435, 2005

Buist A. Mental health in pregnancy: the sleeping giant. **Australasian Psychiatry**: 10; 203-206, 2002

Camacho RS, Cantinelli FS, Ribeiro CS, *et al.* Transtornos psiquiátricos na gestação e no puerpério: classificação, diagnóstico e tratamento. **Rev. Psiqu. Clín.**: 33; 92-102, 2006

Cantilino A. Tradução para o português e estudo de validação da Postpartum Depression Scale na População Brasileira [Dissertação de Mestrado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2003

Clode SA. Assessment of in vivo assays for endocrine disruption. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**:20; 35-43, 2006

Dang Z, Li K, Yin H *et al.* Endpoint sensitivity in fish endocrine disruption assays: Regulatory implications. **Toxicology Letters**:202; 36-46, 2011

Deecher DC, Beyer CE, Johnston G, *et al.* Desvenlafaxine Succinate: A New Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitor. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**: 318; 657-665, 2006

Delbressine LP, Moonen ME, Kaspersen FM *et al.* Pharmacokinetics and biotransformation of mirtazapine in human volunteers. **Clinical Drug Investigation**:15; 45-55,1998

Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee (EDSTAC). EPA/743/R-98/003: Final Report. Washington, 1998. Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee **EPA/743/R-98/003**: Final Report. Washington, 2011 [http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563567\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563567_eng.pdf); accessed September 04, 2013

Erdemir F, Atilgan D, Firat F *et al.* The effect of sertraline, paroxetine, fluoxetine and escitalopram on testicular tissue and oxidative stress parameters in rats. **International Bras Journal of Urology**: 40; 100-108, 2014

Eurofarma. Pondera® Bula do medicamento. São Paulo, IN: Eurofarma Laboratórios LTDA

Fent K, Escher C e Caminada D. Estrogenic activity of pharmaceuticals and mixtures in a yeast reporter gene system. **Reproductive Toxicology**: 22; 175-185, 2006

Ferre C, Belluco S, Tinwell H *et al.* Comparison of early morphological and molecular changes induced by 17-alpha- methyltestosterona and estradiol benzoate in the rat ovary. **Experimental and Toxicologic Pathology**: 65; 397-407, 2013

Fong PP e Ford AT. The biological effects of antidepressants on the molluscs and crustaceans: a review. **Aquatic Toxicology**:151; 4-13, 2014

Hackley B. Antidepressant Medication: use in pregnancy. **The American College of Nurse-Midwives**: 55, 2010

Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. Goodman & Gilman's **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001

Hayes RM, Wu P, Shelton RC *et al.* Maternal antidepressant use and adverse outcomes: a cohort study of 228,876 pregnancies. **American Journal of obstetrics & Gynecology**: 49; 207, 2012

Huybrechts KF, Palmsten K, Mogun H *et al.* National trends in antidepressant medication treatment among publicly insured pregnant women. **General Hospital Psychiatry**: 35; 265–271, 2013

Ibanez G, Charles M A, Forhan A *et al.* Depression and anxiety in women during pregnancy and neonatal outcome: Data from the EDEN mother–child cohort. **Early Human Development**: 88; 643–649, 2012

Ings JS, George N, Peter MCS *et al.* Venlafaxine and atenolol disrupt epinephrine-stimulated glucose production in rainbow trout hepatocytes. **Aquatic Toxicology**:106-107; 48-55, 2012

Janu JL e Rackova RS. Mirtazapine use during pregnancy – a report of 8 cases. **European Neuropsychopharmacology**: 16, 2006

Jung JY, Kang J, Won E *et al.* Impact of lingual gyrus volume on antidepressant response and neurocognitive functions in Major Depressive Disorder: a voxel-based morphometry study. **Journal of Affective Disorders**:169; 179-187, 2014

Juruena MF, Cleare AJ e Pariante CM. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. **Revista Brasileira de Psiquiatria**: 26; 189-201, 2004

Kang KS. Immature uterotrophic assay is more sensitive than ovariectomized uterotrophic assay for the detection of estrogenicity of p-nonylphenol in Sprague-Dawley rats. **Toxicology Letters**:118;109-115, 2000

Kang HG, Jeong SH, Cho JH *et al.* Evaluation of estrogenic and androgenic activity of butylated hydroxyanisole in immature female and castrated rats. **Toxicology**: 213;147-156, 2005

Koren GMD e Nordeng H. Antidepressant use during pregnancy: the benefit-risk ratio. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, 2012

Lafer B e Filho HPV. Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**: 21, 1999

Lazzara, R, Blásquez, M, Porte, C, *et al.* Low environmental levels of fluoxetine induce spawning and changes in endogenous estradiol levels in the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. **Aquatic Toxicology**: 106– 107, 123– 130, 2012

León- Olea M, Martyniuk CJ, Orlando EF, *et al.* Current concepts in neuroendocrine disruption. **General and Comparative Endocrinology**: 203, 158–173, 2014

Manual diagnóstico Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV-TR). Porto Alegre: Artes Médicas. 4 ed. rev: 2002

Marcus SM, Flynn HA, Blow FC *et al.* Depressive symptoms among pregnancy women screened in obstetrics settings. **J. Womens Health**: 12; 373-380, 2003

Mireya NV, Jay H. Chyung e Timothy JT. Farmacologia da Neurotransmissão Serotoninérgica e Adrenérgica Central. 2005

Montagnini BG, Bortolan S, Santos BD *et al.* Evaluation of Escitalopram, Sertraline and Methylphenidate in the Immature Rat Uterotrophic Assay. **International Journal of Toxicology**. 1-5, 2013

Montejo AL, Llorca G, Izquierdo JA *et al.* Incidence of Sexual Dysfunction Associated With Antidepressant Agents: A Prospective Multicenter study of 1022 Outpatients. **J Clin Psychiatry**: 62, 2001

Moraes I, Pinheiro RT, Silva RA *et al.* Prevalence of postpartum depression and associated factors. **Rev. Saúde Pública**: 40; 65-70, 2006

Moreno RA, Moreno DH, Soares MBM. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Rev Bras Psiquiatria**: 21; 24-40, 1999

Müller JC, Imazaki PH, Boareto AC, *et al.* In vivo and in vitro estrogenic activity of the antidepressant fluoxetine. **Reproductive Toxicology**: 34; 80– 85, 2012

Nemeroff CB. The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. **Mol Psychiatry**: 94;336, 1996

Nevill AM. The need to scale for differences in body size and mass: an explanation of Kleiber's 0.75 mass exponent. **Journal of Applied Physiology**: 77; 2870–3, 1994

Ninan PT, Shelton RC, Bao W, *et al.* BDNF, interleukin-6, and salivary cortisol levels in depressed patients treated with desvenlafaxine. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**: 48;86-91, 2014

Nishino T, Wedel T, Schmitt O, *et al.* The xenoestrogen bisphenol A in the Hershberger assay: Androgen receptor regulation and morphometrical reactions

indicate no major effects. **Steroid Biochemistry & Molecular Biology**:98,155-163, 2005

Odum J, Lefevre PA, Tittensor S *et al.* The rodent uterotrophic assay: Critical protocol features, studies with phenols, and comparison with a yeast estrogenicity assay. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**: 25;176-188, 1997

Olea ML, Martyniuk CJ, Orlando EF *et al.* Current concepts in neuroendocrine disruption. **General and Comparative Endocrinology**: 203;158-173, 2014

Oliveira JF, Ponte B, Barbosa APM, *et al.* Fluoxetine exposure during pregnancy and lactation: effects on acute stress response and behavior in the novelty-suppressed feeding are age and gender-dependent in rats. **Behavioural Brain Research**, 2013

Organization for Economic Co-operation and Development. Workshop report on OECD countries activities regarding testing, assessment and management of endocrine disrupters, Appendices 1–10, Part II. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development; 2007. <http://www.oecd.org/dataoecd/26/22/44431552.pdf>; (ccessed 20.06.13)

Osborne LM e Monk C. Perinatal depression: The fourth inflammatory morbidity of pregnancy? Theory and literature review. **Psychoneuroendocrinology**, 2013

Osterlund MK. Underlying mechanisms mediating the antidepressant effects of estrogens. **Biochimica et Biophysica Acta**:1800;1136-1144, 2010

Oyebode F, Rastogi A, Berrisford G *et al.* Psychotropics in pregnancy: Safety and other considerations. **Pharmacology & Therapeutics**: 135; 71–77, 2012

Paulus W, Schloemp S e Stoz F. Risk of congenital malformations after maternal treatment with paroxetine in early pregnancy. **Reproductive Toxicology**: 30; 233–248, 2010

Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen JA *et al.* Estrogen alpha (ER $\alpha$ ) and beta (ER $\beta$ ): Subtype-selective ligands and clinical potential. **Steroids**: 90;13-29, 2014

Pawluski JL, Rayen I, Niessen NA *et al.* Developmental fluoxetine exposure differentially alters central and peripheral measures of the HPA system in adolescent male and female offspring. **Neuroscience**: 220; 131-141, 2012

Rayen I, Steinbusch HWM, Charlier TD, *et al.* Developmental fluoxetine exposure and prenatal stress alter sexual differentiation of the brain and reproductive behavior in male rat offspring. **Psychoneuroendocrinology**, 2013

Rouini MR, Lavasani H, Sheikholeslami B *et al.* Pharmacokinetics of mirtazapine and its main metabolites after single oral administration in fasting/fed horses. **Journal of Equine Veterinary Science**:33; 410-414, 2013

Safarinejad, Mohammad Reza. Evaluation of Endocrine Profile and Hypothalamic-Pituitary-Testis Axis in Selective Serotonin Reuptake Inhibitor-Induced Male Sexual Dysfunction. **Journal of Clinical Psychopharmacology**:28,418-423, 2008

Sawaki M, Noda S, Muroi T *et al.* Evaluation of an in utero through lactational exposure protocol for detection of estrogenic effects of ethinyl estradiol on the offspring of rats: preliminary trial. **Reproductive Toxicology**:17; 335-343, 2003

Scharnholtz B, Hamann BW, Lederbogen F *et al.* Antidepressant treatment with mirtazapine, but not venlafaxine, lowers cortisol concentrations in saliva: A randomised open trial. **Psychiatry Research**: 177; 109–113, 2010

Soares PJR. Paroxetina. **Psychiatry on line Brasil**:11; 2006

Suzuki Y, Itoh H, Abe T *et al.* Mirtazapine suppresses the increases in plasma levels of adrenocorticotrophic hormone and neuropeptide Y under continual stress exposure. **Biomedicine & Aging Pathology**:2; 1-5, 2013

United States Environmental Protection Agency . EPA/630/R-96/012: Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis. Washington, DC 1997

Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, *et al.* Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals:Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses.**Endocrine Reviews**: 33; 2012

Veras AB. Depression in woman. Instituto de Psiquiatria da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IPUB-UFRJ),154 à 163, 2008

Verdú ES, Fraile JS, Larrea VP *et al.*Evolución de la utilización de antidepressivos, ansiolíticos e hipnóticos em la Comunitat Valenciana.Período 2000-2010. **Atención Primaria**: 46(8); 416-425, 2014

Verster JC, Van de Loo AJAE e Roth T. Mirtazapine as positive control drug in studies examining the effects of antidepressants on driving ability. **European journal of Pharmacology**: 2014; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.10.032>

Vieira ML, Hamada RY, Gonzaga NI *et al.* Could maternal exposure to the antidepressants fluoxetine and St. John's Wort induce long-term reproductive effects on male rats? **Reproductive Toxicology**: 35;102 – 107, 2013

Warnock Jk, Clayton AH, Shaw HA, *et al.* Onset of menses in two adult patients with Prader-Willi syndrome treated with fluoxetine. **Psychopharmacol Bull**: 31(2), 239-42, 1995

Waye A e Trudeau VL. Neuroendocrine Disruption: More Than Hormones are Upset. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews**:14; 270-291, 2011

Weintrob N, Cohen D, Klipper-Aurbach, *et al.* Decreased growth during therapy with selective serotonin reuptake inhibitors. **Arch. Pediatr. Adolesc. Med**: 156, 696–701, 2002

Willner P, Krügerb JS e Belzungc C. The neurobiology of depression and antidepressant action.**Neuroscience and Biobehavioral Reviews**,2012

Wilson CA, Davies DC.The control of sexual differentiation of the reproductive system and brain.**Reproduction**:133; 331-359, 2007

Winterfeld U, Buclin T, Klinger G *et al.* Pregnancy outcome following maternal exposure to mirtazapine: Preliminary results of a collaborative entis study. **Clinical Therapeutics**: 35; 8,2013

World Health Organization. Mental health aspects of women's reproductive health: a global review of the literature. Geneva: World Health Organization, Department of Reproductive Health and research; 2009

Wyeth. Pristiq® bula do medicamento. Itapevi, IN: Wyeth Pharmaceuticals Company, 2008

Yaris F, Kadioglu M, Kesim M *et al.* Newer antidepressants in pregnancy: prospective outcome of a case series. **Reproductive Toxicology**: 19; 235-238, 2004