

Breno Satler de Oliveira Diniz

**A atividade da enzima Glicogênio Sintase Quinase 3 Beta  
(GSK-3B) em pacientes idosos com depressão maior:  
associação com parâmetros clínicos, psicopatológicos e  
cognitivos**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São  
Paulo para obtenção do título de  
Doutor em Ciências.

Programa de Psiquiatria

Orientador: Prof. Dr. Orestes Vicente  
Forlenza

São Paulo

2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Diniz, Breno Satler de Oliveira

A atividade da enzima Glicogênio Sintase Quinase 3 Beta (GSK-3B) em pacientes idosos portadores de transtorno depressivo maior : associação com aspectos clínicos, psicopatológicos e cognitivos / Breno Satler de Oliveira Diniz. -- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Psiquiatria.

Orientador: Orestes Vicente Forlenza.

Descritores: 1.Quinase 3 da glicogênio sintase 2.Depressão/fisiopatologia  
3.Idoso 4.Cognição

USP/FM/DBD-096/11

## Dedicatória

Dedico este trabalho especialmente aos meus pais, Aroldo e Sonia, sempre presentes e apoiando nos momentos mais difíceis nestes últimos 32 anos...

Dedico a minha vó Nadir, exemplo de envelhecimento e amor...

Dedico também a minha esposa Katrini, companheira de todos os momentos e fonte de eterna inspiração e paz...

Dedico aos pacientes, que voluntariamente se dispuseram doar o seu tempo a este trabalho...

E claro, ao Boris e a Valentina...

## Agradecimento

Agradeço ao Professor Wagner Farid Gattaz pela invejável estrutura que criou e mantém no Laboratório de Neurociências – LIM 27 o que sem dúvida possibilitou a execução deste projeto de pesquisa...

Agradeço aos colegas do Laboratório de Neurociências – LIM 27, em particular a Vanessa e Helena pelo apoio e ajuda na elaboração e execução de várias fases deste projeto...

Agradeço ao colega Rodrigo Machado-Vieira que, apesar do tão pouco e recente contato, trouxe discussões, contribuições e ideias valorosas para este e outros trabalhos...

Agradeço aos vários bons amigos (presentes e “ausentes”) que estiveram sempre ao lado durante esta caminhada muitas vezes solitárias...

Agradeço as minhas queridas Dorli, Ana Carolina, Debora e Sandra pela presença e escuta...

Agradeço aos meus sogros, Gilmar e Bell, por terem me “presenteado” com uma pérola única (e também os churrascos e festas de aniversários!)

## Agradecimento especial

Agradeço especialmente ao meu orientador e mestre Professor Orestes Vicente Forlenza pela paciência, proximidade e oportunidades de crescimento pessoal, científico e profissional, antes, durante (e espero que após!) a realização deste trabalho. Exemplo que espero seguir nos meus próximos passos...

Não poderia deixar de agradecer a Leda Talib, colega sempre presente nos melhores momentos, e também nos mais difíceis, desta jornada e com quem ainda tenho muito o que aprender...

## Sumário

Lista de tabelas	ix
Lista de figuras	xi
Lista de quadros	xii
Lista de gráficos	xiii
Resumo	xiv
Summary	xvi
1. Introdução	1
1.1. Aspectos clínicos e epidemiológicos da depressão geriátrica	1
1.2. Alterações cognitivas na depressão geriátrica	5
1.3. Neurobiologia da depressão geriátrica	8
1.3.1. Achados de neuroimagem	9
1.3.2. Alterações em cascatas inflamatórias e neurotróficas	11
1.4. Glicogênio Sintase Quinase 3	14
1.4.1. Aspectos gerais	14
1.4.2. Atividade da GSK-3B na fisiopatologia da depressão maior	18
2. Objetivos	21
3. Hipóteses	22
4. Métodos	23
4.1. Desenho	23
4.2. Contexto	24
4.3. Aspectos éticos	25
4.4. Critérios de inclusão	26
4.4.1. Pacientes com episódio depressivo maior	26
4.4.2. Grupo comparativo	27
4.5. Critérios de exclusão	28
4.6. Exame do estado mental	30
4.7. Avaliação cognitiva	31

4.8. Classificação do episódio depressivo maior	32
4.8.1. Apresentação psicopatológica	33
4.8.2. Idade de início do transtorno depressivo	34
4.8.3. Presença de déficits cognitivos	35
4.8.4. Gravidade do episódio depressivo	36
4.8.5. Padrão de recorrência do episódio depressivo	37
4.8.6. Cronicidade do episódio depressivo	38
4.8.7. Tempo total de duração do transtorno depressivo	39
4.9. Avaliação dos idosos do grupo comparativo	40
4.10. Coleta de sangue e preparo de plaquetas	41
4.11. Expressão de GSK-3B em plaquetas e determinação indireta da atividade enzimática	42
4.12. Análise estatística	45
4.12.1. Análise descritiva	46
4.12.2. Análise de distribuição de frequência de variáveis dicotômicas	47
4.12.3. Análise para comparação de médias entre grupos	48
4.12.4. Análise de covariância e análise multifatorial	49
5. Resultados	50
5.1. Descrição da amostra	50
5.2. Análise univariada: variáveis sócio-demográficas, sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo	51
5.3. Análise univariada: níveis plaquetários da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B	66
5.4. Análise de covariância e análise multifatorial	75
6. Discussão	78
6.1. Discussão geral dos achados principais	78
6.2. Aumento da atividade da GSK-3B: relevância fisiopatológica	81
6.3. Inespecificidade das alterações na atividade da GSK-3B	84

6.4. Alterações na atividade da GSK-3B: implicações prognósticas	86
6.5. Limitações do estudo	88
6.6. Perspectivas futuras	90
7. Conclusões	91
8. Referências	92

Apêndice I. Termo de consentimento livre e esclarecido

Apêndice II. Artigo relacionado aos achados principais da tese publicado no periódico *The World Journal of Biological Psychiatry* (fator de impacto: 5,506 – ISI Web of Knowledge 2009).

## Lista de tabelas

Tabela 1. Depressão maior vs. Controles: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

Tabela 2. Subtipo psicopatológico: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

Tabela 3. Idade de início do 1º episódio depressivo: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

Tabela 4. Padrão de recorrência dos episódios depressivos: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

Tabela 5. Gravidade da sintomatologia depressiva: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

Tabela 6. Gravidade dos déficits cognitivos associados ao episódio depressivo: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo

Tabela 7. Cronicidade do episódio depressivo atual: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

Tabela 8. Tempo de duração do transtorno depressivo: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

Tabela 9. Depressão maior vs. Controles: nível plaquetário da GSK3B (total e fosforilada) e razão da GSK3B nos pacientes com episódio depressivo maior vs. controles.

Tabela 10. Subtipo psicopatológico: níveis plaquetários da GSK3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

Tabela 11. Idade de início do 1º episódio depressivo: níveis plaquetários da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

Tabela 12. Padrão de recorrência dos episódios depressivos: níveis plaquetários da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

Tabela 13. Gravidade da sintomatologia depressiva: níveis plaquetários da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

Tabela 14. Gravidade dos déficits cognitivos associados ao episódio depressivo: nível plaquetário da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK3B.

Tabela 15. Cronicidade do episódio depressivo atual: nível plaquetário da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK3B.

Tabela 16. Tempo de duração do transtorno depressivo: nível plaquetário da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

Tabela 17. Análise de covariância.

## Lista de figuras

Figura 1. Vias de sinalização intracelular da GSK-3B.

Figura 2. Funções da GSK-3B.

Figura 3. Ilustração esquemática das etapas principais do ensaio imunoenzimático.

Lista de quadros

Quadro 1. Padrão de déficits cognitivos de acordo com a idade de início do episódio depressivo.

## Lista de gráficos

Gráfico 1 – Interação entre a gravidade dos sintomas depressivos VS. gravidade dos déficits cognitivos sobre a razão da GSK-3B.

Diniz BSO. A atividade da enzima Glicogênio Sintase Quinase 3 Beta (GSK-3B) em pacientes idosos com depressão maior: associação com parâmetros clínicos, psicopatológicos e cognitivos

## **Resumo**

Apesar da elevada prevalência dos transtornos depressivos em idosos, os mecanismos fisiopatológicos subjacentes a estes quadros são pouco conhecidos. Atualmente, o principal foco dos estudos sobre a fisiopatologia da depressão geriátrica são as alterações cerebrovasculares associadas a estes quadros. Outros mecanismos fisiopatológicos têm sido estudados, como as alterações em cascatas neurotróficas e inflamatórias. A enzima glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK-3B) tem sido implicada na patogênese de diversos transtornos mentais, em especial os transtornos afetivos (i.e. depressão maior e o transtorno afetivo bipolar) e doenças neurodegenerativas (i.e. doença de Alzheimer). Entretanto, não há estudos que avaliam o papel desta enzima nos pacientes idosos com depressão maior. Desta maneira, o objetivo principal deste trabalho é avaliar a atividade da GSK-3B em pacientes idosos com depressão maior. A hipótese deste estudo é que a atividade enzimática está aumentada nos pacientes idosos deprimidos em relação a idosos saudáveis. Para este estudo, recrutamos 40 idosos com depressão maior (de acordo com os critérios diagnósticos do DSM-IV) e que não estavam em uso de antidepressivos. O grupo comparativo foi constituído por 13 idosos saudáveis, sem evidências de transtornos cognitivos ou do humor. A gravidade da sintomatologia depressiva foi avaliada pela escala de depressão de Hamilton de 21 itens

(HAM-D); o desempenho cognitivo dos pacientes e controles foi avaliado pelo teste cognitivo de Cambridge (CAMCOG) e pelo mini-exame do estado mental (MEEM). A expressão da GSK-3B foi determinada em plaquetas através de ensaio imunoenzimático (EIA), sendo estabelecido os níveis totais da GSK-3B (T-GSK-3B) e de sua forma fosforilada (P-GSK-3B), inativa. A atividade enzimática foi inferida indiretamente pela razão P-GSK-3B / T-GSK-3B. Nos pacientes idosos com depressão maior, observou-se uma redução significativa dos níveis P-GSK-3B ( $p=0,03$ ) e da razão da GSK-3B ( $p=0,03$ ). Os pacientes com sintomatologia depressiva mais grave (HAM-D > 21) e déficits cognitivos mais intensos (CAMCOG < 86) apresentaram maior atividade enzimática ( $p=0,03$  e teste,  $p=0,01$ , respectivamente). Os resultados deste trabalho sugerem que a atividade da GSK-3B está significativamente aumentada em pacientes idosos com depressão maior e que esta alteração é mais pronunciada nos pacientes com sintomatologia depressiva e déficits cognitivos mais graves. Neste contexto, a atividade da GSK-3B pode ser considerada um marcador de estado em pacientes idosos com episódios depressivos mais graves e ser um importante alvo para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para estes quadros.

Descritores: glicogênio sintase quinase 3; depressão/fisiopatologia; idoso; cognição.

Diniz BSO. Glycogen Synthase Kinase 3 Beta (GSK-3B) activity in elderly patients with major depressive disorder: association with clinical, psychopathological and cognitive aspects.

## **Summary**

Despite the high prevalence of depressive disorders in the elderly, its main physiopathological mechanisms are largely unknown. In the recent years, most of the research efforts focused on the association between cerebrovascular changes and geriatric depression. Nonetheless, other mechanisms have been studied, such as changes in neurotrophic and inflammatory cascades. The enzyme glycogen synthase kinase 3 beta (GSK-3B) has been implicated in many mental disorders, in particular affective disorders (i.e. major depression and bipolar disorder) and neurodegenerative disorders (i.e. Alzheimer's disease). However, there is no study so far that addressed the role of this enzyme in elderly patients with major depression. Therefore, the main objective of this study was to evaluate if GSK-3B activity is changed in elderly patients with major. The working hypothesis is that enzyme activity is significantly increased in elderly patients with major depression as compared to elderly controls. We recruited 40 elderly patients with current major depressive episode (according to the DSM-IV criteria) that was not under antidepressant treatment. The comparison group included 13 healthy elderly subjects with no evidence of cognitive impairment or major psychiatric disorder. The severity of depressive symptoms was assessed by the Hamilton Depression Scale 21 items; cognitive performance was assessed by the Cambridge Cognitive test (CAMCOG) and the Mini-mental

State Examination (MMSE). The levels of total and phosphorylated GSK-3B (T-GSK-3B and P-GSK-3B, respectively) levels were determined in platelets by immunoenzymatic assay (EIA). Enzyme activity was indirectly inferred by the ratio P-GSK-3B / T-GSK-3B. Elderly patients with major depression had a significant reduction in the P-GSK-3B levels ( $p = 0.03$ ) and GSK-3B ratio ( $p = 0.03$ ). The patients with severe depressive episode (HAM-D scores above 21 points) and cognitive impairment (CAMCOG scores below 86 points) presented the more significant reduction of GSK-3B ratio ( $p = 0.03$  and  $p = 0.01$ , respectively). These data altogether suggest that GSK-3B activity is significantly increased in elderly patients with major depression, in particular in those with more severe depressive episode and worse cognitive performance. In this context, the increased enzyme activity may be regarded as a state marker of severe depressive episodes and may an important target to the development of therapeutic strategies to this disorder.

Descriptors: glycogen synthase kinase 3; depression/physiopathology; elderly; cognition.



## **1. Introdução**

### *1.1. Aspectos clínicos e epidemiológicos da depressão geriátrica*

Estudos epidemiológicos populacionais conduzidos no final da década de 80 e na década de 90 mostraram que a prevalência global de depressão maior no idoso era menor que na população adulta em geral, acometendo cerca de 1% dos idosos residentes na comunidade (Djernes, 2006). Porém, uma grande parcela da população idosa apresentava sintomatologia depressiva que não preenche critérios para depressão maior. Quase um terço (29%) dos idosos residentes na comunidade apresentavam queixas depressivas, sendo que o principal sintoma relatado é a disforia. Destes indivíduos, 15% preenchiam critérios para síndromes depressivas menores, 2% para distímia e 4% foram diagnosticados com transtorno de ajustamento com sintomas depressivos (Koenig e Blazer, 1992). Uma revisão sistemática da literatura demonstrou que a prevalência de síndromes depressivas em geral na população idosa é de aproximadamente 13,5%, sendo a prevalência de depressão maior de 1,8%, significativamente menor que a prevalência de depressão menor (9,8%) (Beekman et al., 1999).

Apesar da menor intensidade sintomática, os quadros depressivos subsindrômicos estão associados a um alto grau de incapacidade funcional, alterações cognitivas, maior morbimortalidade, e apresentam um maior risco

de desenvolverem um episódio depressivo maior no seguimento de longo prazo (Alexopoulos et al. 2002).

Estudos nacionais recentes demonstraram uma elevada variabilidade nas taxas de prevalência das síndromes depressivas em idosos. Em um estudo epidemiológico realizado em Bambuí - MG, Castro-Caldas et al. (2007) reportaram prevalência de 1 mês para depressão maior de cerca de 20% e de 4% para distímia. Nesta mesma coorte, a prevalência da presença de sintomas depressivos foi de 38,5% (Castro-Caldas et al., 2008). Em outro estudo, Gazalle et al. (2004) reportou uma frequência elevada de sintomas depressivos em idosos, variando de 27 a 73% na população estudada. Em um estudo epidemiológico conduzido na cidade de São Paulo, Barcellos-Ferreira et al. (2009) relataram uma elevada frequência de sintomas depressivos em idosos (19 a 62%). Porém, a prevalência de sintomatologia clinicamente significativa nesta população foi de 13%. Em uma meta-análise recente, Barcellos-Ferreira et al. (2010) mostraram que a prevalência de depressão maior na população idosa brasileira era de 7% e de sintomas depressivos clinicamente significativos de 26%.

Em geral, os quadros depressivos em idosos, mesmo em apresentações oligosintomáticas, se associaram a maior grau de comprometimento cognitivo (Ávila et al., 2009), piora da qualidade de vida (Chachamovic et al., 2008), maior morbimortalidade (Alexopoulos et al., 2002; Alexopoulos, 2005; Andrei et al., 2007). Além destes fatores, os quadros depressivos nos idosos

foram fatores de risco para o desenvolvimento da doença de Alzheimer (Ownby et al., 2006).

A apresentação dos quadros depressivos nos idosos é mais heterogênea e menos estereotipada que nos adultos, tornando o seu diagnóstico e sistematização mais difícil na prática clínica. Se dividirmos os sintomas depressivos entre manifestações psíquicas ou somáticas, o idoso tende a apresentar maior quantidade de sintomas somáticos (p.ex. dor crônica, alterações do sono e apetite, redução da energia e fadigabilidade) em relação aos sintomas psíquicos propriamente ditos (p.ex. tristeza) (Diniz e Forlenza, 2008). Entretanto, os sintomas psíquicos são mais relevantes na definição diagnóstica das síndromes depressivas de acordo com os principais sistemas classificatórios vigentes (p.ex. DSM-IV e CID X). Desta maneira, além da dificuldade diagnóstica imposta pela heterogeneidade do quadro clínico, as classificações diagnósticas atuais não são adequadas para classificar estes quadros no idoso, tornando o diagnóstico clínico da depressão neste grupo populacional mais difícil. Apesar destas limitações, os critérios diagnósticos para as síndromes depressivas nos idosos são os mesmos usados para o diagnóstico dos quadros depressivos nos pacientes mais jovens.

Sintomas melancólicos são comuns em idosos com depressão maior. Eles se caracterizam por perda intensa de prazer e interesse por atividades habituais e antes prazerosas, sentimentos de culpa, redução da iniciativa e do apetite, insônia terminal, acentuação dos sintomas depressivos no

período matutino, e alterações marcantes da psicomotricidade (Fink e Taylor, 2007; Brodaty et al., 1991). Queixas somáticas também são muito frequentes, podendo inclusive predominar na apresentação clínica do paciente idoso. Dentre os sintomas somáticos mais comuns destacam-se a diminuição da energia, cansaço excessivo, diminuição do apetite e perda de peso, sintomas dolorosos inespecíficos, alterações do ciclo sono-vigília, desconforto abdominal, tonturas, etc. Muitas vezes pode-se observar a associação de múltiplas queixas somáticas sem a presença de condições clínicas que as justifiquem, expondo o paciente ao risco de investigações clínicas suplementares desnecessárias.

Os sintomas psicóticos nos pacientes deprimidos idosos também são frequentes (Brodaty et al., 1991). Porém a temática das ideias delirantes nestes pacientes é geralmente diferente dos pacientes jovens. Delírios de culpa e de ruína material são menos frequentes, sendo mais comuns os delírios persecutórios e os delírios de ruína corporal, que podem variar de simples ideias de ser portador de uma doença grave e incurável até a síndrome de Cottard, que consiste no delírio niilista associado à negação de órgãos.

## *1.2. Alterações cognitivas na depressão geriátrica*

Queixas de dificuldades cognitivas, principalmente dificuldades de memória, são muito comuns durante um episódio depressivo no paciente idoso. Em muitos casos, não há a comprovação objetiva de déficits cognitivos associado ao quadro depressivo (Lautenschlager et al., 2005; Jorm et al., 2001). Entretanto, em estudos recentes mostram que a prevalência de alterações cognitivas nos pacientes idosos com quadros depressivos é elevada, acometendo 30 a 60% destes pacientes (Steffens et al., 2006). Os déficits cognitivos mais comumente relatados nestes estudos envolvem os domínios de memória episódica recente e função executiva (Steffens e Potter, 2008).

O padrão de déficits cognitivos é influenciado pela idade de início do quadro depressivo. Déficits mais intensos em funções executivas são mais comuns em pacientes com depressão de início tardio (isto é, aqueles em que o primeiro episódio depressivo ocorreu após 60 - 65 anos de idade) (Elderkin-Thompson et al., 2003; Elderkin-Thompson et al., 2007). Por outro lado, os pacientes com depressão maior recorrente de início precoce (isto é, quando o primeiro episódio depressivo ocorreu antes dos 60 - 65 anos de idade) apresentam déficits mais proeminentes em memória episódica recente (Rapp et al., 2005). Estudos meta-analíticos recentes demonstraram que os pacientes com depressão de início tardio, além da disfunção executiva, também apresentam déficits significativos em memória episódica

recente. Já os pacientes com depressão de início precoce apresentam déficits mais circunscritos à memória episódica recente (Herrmann et al., 2007). A presença de déficits cognitivos pode ter implicações prognósticas importantes nos pacientes idosos. Eles se associam a pior resposta ao tratamento antidepressivo (Nebes et al., 2003; Baldwin et al., 2004), maior incapacitação funcional (Grabovich et al., 2010) e maior risco de evolução para quadros demenciais (Mondrego e Fernandez, 2004).

Quadro 1. Padrão de déficits cognitivos de acordo com a idade de início do episódio depressivo.

Depressão de início precoce	Depressão de início tardio
<p><b>Déficits:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Memória episódica recente</li> <li>• Memória semântica</li> </ul> <p><b>Maior preservação:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Atenção</li> <li>• Velocidade de processamento</li> <li>• Função executiva</li> </ul>	<p><b>Déficits:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Atencionais</li> <li>• Menor velocidade de processamento</li> <li>• Disfunção executiva</li> <li>• Memória episódica recente</li> <li>• Memória semântica</li> </ul>

Este padrão distinto de déficits cognitivos de acordo com a idade de início do quadro depressivo sugere que diferentes substratos neurobiológicos possam estar relacionados a fisiopatologia dos déficits cognitivos na depressão geriátrica (Steffens e Potter, 2010). Neste caso, a disfunção executiva observada nos pacientes com depressão de início tardio seria

mediada principalmente por lesões de substância branca profunda em circuitos neuronais fronto-estriatais subcorticais (Herrmann et al., 2008). Já os déficits mais proeminentes em memória episódica recente nos pacientes com depressão de início precoce seria mediado principalmente por atrofia hipocampal (Janssen et al., 2007).

Portanto, os quadros depressivos são muito comuns na população geriátrica. Porém, apesar de sua importância clínica, existe uma proporção considerável de casos que não são identificados por profissionais de saúde mental. A depressão não é uma consequência natural do envelhecimento, mas um transtorno psiquiátrico associado a intenso sofrimento e deterioração da qualidade de vida. A depressão em idosos se associa a piora da qualidade de vida, maior morbimortalidade, maior utilização dos recursos de saúde em geral e são hospitalizados com mais frequência (Chachamovic et al., 2008; Blazer et al., 2005; Alexopoulos et al., 2002). Estes quadros se associam a declínio cognitivo e funcional, além de aumentar o risco de desenvolvimento de síndromes demências (Ownby et al., 2006). Estes fatores em conjunto fazem com que a depressão geriátrica esteja associada a um elevado custo social direto e indireto (Alexopoulos e Kelly, 2009).

### *1.3. Neurobiologia da depressão geriátrica*

Os mecanismos neurobiológicos associados à depressão geriátrica não estão completamente esclarecidos. A heterogeneidade clínica dos quadros depressivos sugere que diversos mecanismos neurobiológicos podem estar relacionados a sua fisiopatologia. Por outro lado, esta heterogeneidade clínica pode dificultar a seleção de pacientes para estudos sobre os mecanismos neurobiológicos subjacentes a depressão geriátrica. Portanto, diferentes abordagens são necessárias para uma maior compreensão dos seus mecanismos fisiopatológicos.

### *1.3.1. Achados de neuroimagem*

Estudos de neuroimagem estrutural mostram uma associação entre a presença de lesões cerebrovasculares e as síndromes depressivas no idoso. Em meados da década de 90, o termo “depressão vascular” foi proposto para descrever um subgrupo de pacientes em que determinadas características clínicas se associavam a lesões decorrentes da microangiopatia em substância branca, principalmente na região frontal subcortical, afetando a integridade dos circuitos córtico-subcortical pré-frontais (Alexopoulos et al., 1997; Krishnan et al, 2004). Tais pacientes apresentavam depressão de início tardio, caracterizada clinicamente por retardo psicomotor, déficits cognitivos, apatia, redução da capacidade de crítica em relação à condição mórbida e maior , na vigência de queixas de humor deprimido menos intensas.

Diversos estudos clínico-radiológicos posteriores confirmaram a associação entre doença cerebrovascular e a depressão de início tardio (Herrmann et al., 2008). A presença de lesões cerebrovasculares mostrou correlação com maior gravidade da sintomatologia depressiva (Bell-McGinty et al., 2002). Estudos clínico-epidemiológicos sugeriram que a presença de lesões cerebrovasculares em substância branca pode anteceder o surgimento dos sintomas depressivos (Nebes et al., 2002). Por outro lado, a progressão destas lesões em pacientes idosos também se relaciona com o surgimento ou o agravamento de sintomas depressivo em pacientes idosos

(Teodorczuk et al., 2010; Teodorczuk et al., 2007). Além da relevância do ponto de vista fisiopatológico, a presença de lesões cerebrovasculares é um importante preditor de uma pior resposta ao tratamento antidepressivo e de um maior risco de refratariedade (Alexopoulos et al., 2008; Bell-McGinty et al., 2002).

Estudos recente sugerem que em pacientes idosos com depressão recorrente de início precoce podem apresentar um padrão de alterações em neuroimagem distinto daquele observado nos pacientes com depressão de início tardio. Na depressão de início precoce, as alterações estruturais mais comuns são a atrofia hipocampal bilateral (Janssen et al., 2007; Ballmeyer et al., 2008), o que sugere a existência de padrões fisiopatológicos distintos de acordo com a idade de início da doença depressiva.

### *1.3.2. Alterações em cascatas inflamatórias e neurotróficas*

Alterações em cascatas inflamatórias e neurotróficas têm ganhando destaque na literatura recente acerca da fisiopatologia da depressão maior. Diversos estudos mostraram uma elevação significativa de interleucinas (IL) pró-inflamatórias (p.ex. IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF $\alpha$ ), e uma redução das interleucinas anti-inflamatórias (p.ex. IL-10, TGF- $\beta$ ) em pacientes deprimidos (Miller et al., 2009; Maes et al., 2009). Em pacientes idosos com depressão maior também se observam alterações significantes em cascatas inflamatórias, com o predomínio da ativação de cascatas pró-inflamatórias em relação às cascatas anti-inflamatórias (Bremmer et al., 2008; Andrei et al., 2007; van den Biggelaar et al., 2007).

Em estudos recentes conduzidos no Laboratório de Neurociências-LIM 27, no Instituto de Psiquiatria do HC-FMUSP, em conjunto com o Laboratório de Neuroimunologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, mostraram que os níveis plasmáticos de IL-1 $\beta$  e do receptor solúvel 2 do TNF- $\alpha$  estavam significativamente aumentados nos idosos deprimidos em relação a idosos controles (Diniz et al., 2010; Diniz et al., 2009). Estas alterações se correlacionavam com a presença de déficits cognitivos nestes pacientes e era marginalmente mais intensas nos idosos com depressão de início precoce.

Outro evento relacionado à fisiopatologia da depressão maior é a redução do suporte neurotrófico (Teixeira et al., 2010). Em modelos animais de

depressão observa-se redução significativa da produção do fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) (Duman e Monteggia, 2006). Em camundongos geneticamente modificados, através do *knock-out* do gene ou haploinsuficiência genética, nos quais se observa uma redução da produção de BDNF, houve o surgimento de comportamentos depressivos (p.ex. menor atividade de exploração ambiental, maior tempo de imobilização, menor esquia a estímulos negativos) (Lyons et al., 1999). Por outro lado, o restabelecimento dos níveis de BDNF se correlaciona com a melhora do comportamento depressivo neste modelos e é um dos mecanismos de ação propostos para diversos tratamentos usados atualmente para depressão maior (Duman e Monteggia, 2006).

Estudos genéticos mostram uma forte associação entre a ocorrência de depressão e a presença de polimorfismos do gene do BDNF, em especial o polimorfismo de um único nucleotídeo (*single nucleotide polymorphism*) *Val66Met* (Verhagen et al., 2010). Em pacientes com depressão maior não tratados com antidepressivos, se observa uma redução significativa dos níveis de BDNF em fluidos biológicos periféricos (p.ex. plasma e soro; Brunoni et al., 2008). Após o tratamento antidepressivo, há o restabelecimento dos níveis de BDNF comparável aos dos indivíduos sem transtornos psiquiátricos (Piccini et al., 2008; Huang et al., 2008; Matriciano et al., 2009). O aumento dos níveis de BDNF se correlaciona significativamente com a resposta antidepressiva nestes estudos.

Há poucos estudos que avaliam o papel de cascatas neurotróficas em pacientes idosos deprimidos. Pacientes idosos deprimidos e não tratados apresentam uma redução significativa dos níveis de BDNF plasmático (Shi et al., 2010). Um estudo conduzido pelo Laboratório de Neurociências-LIM 27 também demonstrou que os níveis periféricos de BDNF estavam reduzidos em pacientes idosos deprimidos (Diniz et al, 2010). Neste estudo, os níveis de BDNF estavam marginalmente reduzidos nos pacientes com depressão de início tardio e se correlacionavam negativamente com a gravidade da sintomatologia depressiva. Entretanto, um estudo não confirmou a os achados de redução do BDNF em idosos deprimidos (Ziegenhorn et al., 2007).

## 1.4. Glicogênio Sintase Quinase 3

### 1.4.1. Aspectos gerais

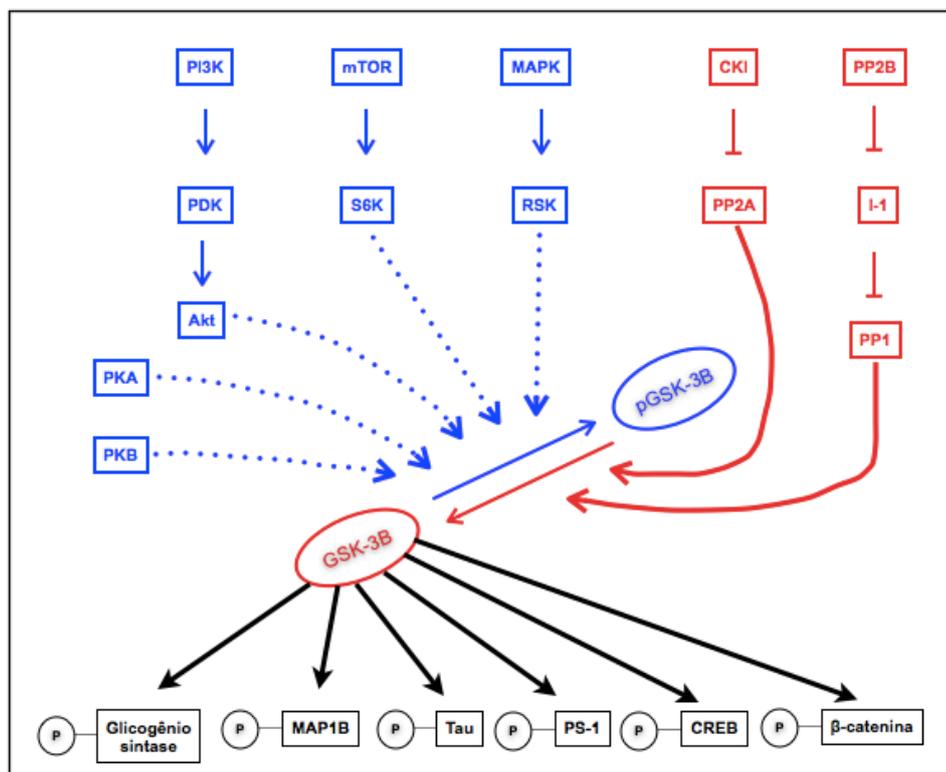
A Glicogênio Sintase Quinase 3 (GSK-3) é uma enzima presente em vários sistemas biológicos. As várias funções reguladas pela GSK, através da fosforilação de diversos substratos, mostram que esta quinase participa de vários processos homeostáticos (Joje et al., 2007). A enzima tem duas isoformas principais: alfa (GSK-3A), de 51 KDa, e beta (GSK-3B), de 46 KDa. As isoformas de GSK-3 são codificadas por genes diferentes, porém são reguladas de forma semelhante (Barry et al., 2003).

A atividade da GSK-3 é regulada fundamentalmente pela fosforilação e defosforilação de epítomos de serina e treonina, num processo dependente do balanço entre diversas quinases e fosfatases proteicas. Sua atividade também é regulada pela formação de complexos proteicos e por sua distribuição intracelular. A GSK-3 é uma enzima constitutivamente ativa, através da fosforilação de resíduos de tirosina 216 (GSK-3B) ou tirosina 279 (GSK-3A). A enzima é inativada fosforilação adicional dos resíduos de serina 9 (GSK-3B) ou do resíduo de serina 21 (GSK-3A) (Wang et al., 1994; Doble e Woodgett, 2003).

A GSK-3B é a isoforma mais abundante no organismo, altamente expressa no sistema nervoso central. Inicialmente, acreditava-se que a GSK-3B estaria envolvida apenas no metabolismo energético, através da

regulação da atividade da enzima glicogênio sintase (GS), passo fundamental no metabolismo do glicogênio intracelular (Rylatt et al., 1980). Entretanto, a descoberta de que outras vias de sinalização intracelular, além da via de sinalização da insulina, convergiam sobre a GSK-3B (p.ex. a via da Akt e via canônica da Wnt) e que outras proteínas, além da glicogênio sintase, eram seus substratos (p.ex. proteína Tau,  $\beta$ -catenina, CREB), demonstrou que esta enzima poderia estar envolvida em diversas funções celulares além da regulação do metabolismo energético (Peineau et al., 2008; Gould e Manji, 2005).

Figura 1. Vias de sinalização intracelular da GSK-3B.



GSK-3B: glicogênio sintase quinase 3 beta; pGSK-3B: glicogênio sintase quinase 3 beta fosforilada; CREB, cAMP responsive element binding protein; CK1, casein kinase 1; I-1, inhibitor 1; MAP1B, microtubule-associated protein 1B; MAPK, mitogen-activated protein kinase; mTOR, mammalian target of rapamycin; PDK, phosphoinositide-dependent protein kinase; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; PP1, protein phosphatase 1; PP2A, protein phosphatase 2A; PP2B, protein phosphatase 2B; PS-1, presenilin 1; RSK, p90 ribosomal S6 kinase.

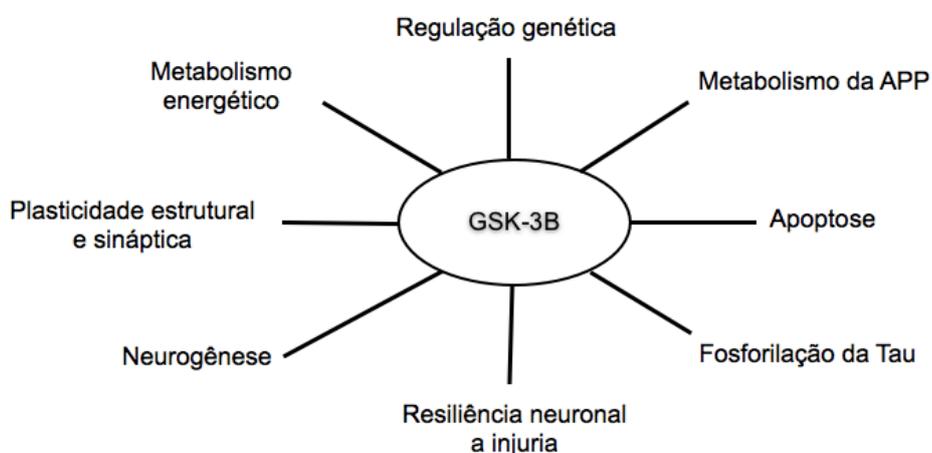
Os elementos gráficos e fontes em azul denotam inibição enzimática.

Os elementos gráficos e fontes em vermelho denotam ativação enzimática.

Adaptado de Peineau et al., 2008

Em neurônios, as principais vias de sinalização regulatórias da GSK-3B são a via canônica da Wnt-1 (Inesterosa e Arenas, 2009; Patel et al., 2004) e a via PI3K/Akt (Hanada et al., 2004). Desta maneira, a atividade da GSK-3B influencia, direta ou indiretamente, diversas vias de sinalização intracelular que controla aspectos essenciais do funcionamento neuronal: neuroplasticidade, neurotransmissão, metabolismo celular, crescimento neuronal e polarização, morte neuronal (Grimes et al., 2001; Peineau et al., 2008). Além disto, a atividade da GSK-3B está relacionada à neurogênese hipocampal (Sirerol-Piquer et al., 2010). Portanto, a atividade da GSK3B parece estar inversamente relacionada à viabilidade neuronal e a sua ativação excessiva pode comprometer a habilidade do neurônio regular sua expressão gênica em resposta a vários estímulos diferentes, levando a degeneração e morte neuronal (Ryves e Harwood., 2003).

Figura 2. Funções da GSK-3B.



Dada a ampla distribuição tecidual de GSK-3B e o envolvimento desta quinase em diferentes vias de sinalização celular, esta enzima tem sido objeto de estudos em doenças sistêmicas como o diabetes, câncer, inflamação. (Dugo et al., 2007). Alterações da atividade da GSK-3B podem estar relacionadas ao desenvolvimento de doenças afetivas (transtorno afetivo bipolar e a depressão unipolar) e da doença de Alzheimer (DA) (Jope e Roh, 2007; Hye et al., 2005; Hooper et al., 2008).

#### *1.4.2. Atividade da GSK-3B na fisiopatologia da depressão maior*

Até o presente momento, há poucos estudos na literatura que abordam diretamente a relação entre a atividade da GSK-3B e os quadros de transtornos afetivos, especialmente em pacientes idosos. Entretanto, uma série de estudos recentes demonstram a relevância da hiperatividade desta enzima como um dos eventos neurobiológicos centrais para a fisiopatologia destes quadros.

Estudos em camundongos demonstraram que comportamento depressivo induzido por trauma cerebral leve associou-se ao aumento da atividade da GSK-3B (Shapira et al., 2007). Outra importante linha de evidência para a associação entre atividade da GSK-3B e a fisiopatologia da depressão advém de estudos que mostram que a atividade serotoninérgica regula a fosforilação e a defosforilação da GSK-3B, modulando o seu estado funcional. Em um estudo com camundongos geneticamente modificados nos quais havia uma redução da produção de serotonina, os animais apresentavam um aumento significativo da atividade da GSK-3B, que se correlacionava com a presença de comportamentos depressivos (Beaulieu et al., 2008). A ativação de receptores 5HT<sub>1a</sub> aumenta a fosforilação da GSK-3B, diminuindo a sua atividade; já ativação de receptores 5HT<sub>2</sub> leva a defosforilação enzimática o que provoca o aumento de sua atividade (Li et al., 2004). Portanto, a atividade da GSK-3B é em parte regulada pelo balanço entre a atividade dos diferentes receptores de serotonina. Este

achado é muito relevante tendo em vista que a alteração da homeostase normal entre a ativação destes dois subtipos de receptores está implicada na neurobiologia da depressão (Borsini, 1994; Berendsen et al., 1995). Portanto, alterações nos sistemas serotoninérgicos podem determinar aumento da atividade da GSK-3B, sendo um fator importante na fisiopatologia da depressão (Jope e Roh, 2006).

Além de sua relevância para a fisiopatologia da depressão, a atividade da GSK-3B pode ser um alvo terapêutico importante nesta doença. Estudos mostram que antidepressivos inibidores seletivos da recaptura da serotonina aumentam a fosforilação da GSK-3B, inibindo a sua atividade (Beaulieu 2007; Li et al., 2004). O lítio também é um potente inibidor da GSK-3B (Klein e Melton, 1996; Bauer et al., 2003). Além destes, a GSK-3B também é inibida por antipsicóticos atípicos e pelo ácido valpróico (Li et al., 2007). Drogas inibidoras da atividade da GSK-3B têm efeitos antidepressivo rápido e significativo em modelos animais de depressão (Kaidanovich-Beilin et al., 2004; Roh et al., 2003).

Há poucos estudos clínicos investigando a atividade da GSK-3B em pacientes deprimidos. Em um estudo *post-mortem*, a atividade da GSK-3B mostrou-se significativamente aumentada no córtex pré-frontal de pacientes deprimidos jovens que se suicidaram em relação aos controles (Karege et al., 2007). Estudos recentes demonstraram uma redução significativa da porção fosforilada da GSK-3B, sem alteração da expressão proteica total, em adultos deprimidos que não estavam em uso de antidepressivos (Polter

et al., 2010). A redução da P-GSK-3B se correlacionou com a gravidade dos sintomas depressivos nestes pacientes. Entretanto, um outro estudo recente não encontrou alterações na atividade enzimática em pacientes jovens com depressão maior unipolar, ao contrário dos pacientes com transtorno bipolar (Pandey et al., 2010).

Portanto, uma série de evidências, derivadas de vários modelos experimentais, demonstram o envolvimento de alterações da atividade da GSK-3B na fisiopatologia da depressão maior.

## **2. Objetivos**

O objetivo primário deste estudo é comparar a atividade da enzima GSK-3B em plaquetas de pacientes idosos deprimidos com aquela observada em idosos saudáveis.

O objetivo secundário é avaliar a atividade da GSK-3B em plaquetas destes pacientes de acordo com as seguintes características clínicas: idade de início do transtorno depressivo, padrão de recorrência dos episódios depressivos, gravidade dos sintomas e a ocorrência de déficits cognitivos, cronicidade do episódio depressivo atual, tempo total de doença a partir do 1º episódio depressivo.

### **3. Hipóteses**

A hipótese de trabalho é de que a atividade da GSK-3B encontra-se aumentada nos pacientes portadores de transtorno depressivo maior em relação ao grupo comparativo.

As hipóteses de trabalho secundárias são que o aumento da atividade da GSK3B correlaciona-se com parâmetros que indicam maior gravidade da doença.

## **4. Métodos**

### *4.1. Desenho*

Estudo clínico, caso-controle, transversal.

#### 4.2. Contexto

O estudo foi conduzido em ambiente ambulatorial no Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. Todas as coletas de material biológico, armazenamento e análises laboratoriais foram feitas no Laboratório de Neurociências – LIM 27, Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Todos pacientes e controles foram recrutados, de maneira voluntária, entre os idosos em acompanhamento no Programa de Psiquiatria Geriátrica do Laboratório de Neurociências – LIM 27, Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina – Universidade de São Paulo. Todos os pacientes e controles incluídos neste estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e passaram por todos as avaliações clínicas e laboratoriais propostas para o presente trabalho.

#### *4.3. Aspectos éticos*

Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq nº 0248/07).

#### 4.4. Critérios de inclusão

##### 4.4.1. Pacientes com Depressão:

- i. Idade acima de 60 anos;
- ii. Diagnóstico de episódio depressivo maior atual (Transtorno Depressivo Maior, episódio único ou recorrente), de acordo com os critérios do DSM-IV.
- iii. Não estar em uso atual de medicações antidepressivas;
- iv. Não estar em uso de medicações antipsicóticas, anticonvulsivantes ou carbonato de lítio;

#### 4.4.2. Grupo comparativo:

- i. Idade acima de 60 anos;
- ii. Ausência de história atual ou pregressa de episódios depressivos ou outros transtornos psiquiátricos maiores;
- iii. Não estar em uso atual de medicações antidepressivas, anticonvulsivantes, antipsicóticas, carbonato de lítio;
- iv. Ausência de evidência de déficits cognitivos através de avaliação neuropsicológica.

#### 4.5. Critérios de exclusão:

Foram excluídos pacientes que apresentavam:

- i. Deficiências sensoriais, intelectuais que os impediriam de desempenhar adequadamente os testes necessários para avaliação das funções cognitivas;
- ii. Pacientes deprimidos com risco suicida;
- iii. Quadro demencial pré-existente;
- iv. Doenças clínicas ou neurológicas com impacto sobre a capacidade cognitiva;
- v. Diagnóstico de outras doenças neurodegenerativas (p.ex. Doença de Parkinson);
- vi. Doenças clínicas sem controle clínico adequado ou indivíduos com saúde frágil no momento da avaliação inicial;
- vii. Outros transtornos psiquiátricos maiores, tais como esquizofrenia, transtorno bipolar;
- viii. História ou evidências de alcoolismo ou abuso de substâncias depressoras do sistema nervoso central;
- ix. Uso atual de medicações antidepressivas, anticonvulsivantes, antipsicóticas, carbonato de lítio;
- x. Recusa em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

- xi. Recusa em participar de um ou mais procedimentos relacionados ao trabalho.

#### *4.6. Exame do estado mental*

A avaliação do episódio depressivo maior (Transtorno Depressivo Maior, episódio único ou recorrente) foi realizado através da versão brasileira da Entrevista Clínica Estruturada para o Diagnóstico de Transtornos Mentais do Eixo I do DSM IV (SCID – I/P) (First et al., 2002).

#### *4.7. Avaliação cognitiva*

A avaliação cognitiva dos pacientes e controles foi realizada através dos Teste Cognitivo de Cambridge (Cambridge Cognitive Test, CAMCOG) (Roth et al., 1986; Nunes et al., 2008) e do Mini-Exame do Estado Mental (MEEM), (Folstein et al., 1975).

#### *4.8. Classificação do episódio depressivo maior*

O episódio depressivo maior foi classificado de acordo com a sua apresentação psicopatológica e características clínicas.

#### 4.8.1. Apresentação psicopatológica

Os pacientes foram classificados de acordo com os subtipos de episódios depressivos propostos pelo DSM-IV em:

- i. Melancólico;
- ii. Psicótico;
- iii. Atípico;
- iv. Catatônico;
- v. Pós-parto;
- vi. Não-classificado.

#### *4.8.2. Idade de início do transtornos depressivo*

Os pacientes foram classificados de acordo com a idade de surgimento do 1º episódio depressivo ao longo da vida em:

- i. Depressão de início precoce: 1º episódio depressivo ocorreu antes dos 60 anos de idade;
- ii. Depressão de início tardio: 1º episódio depressivo ocorreu após os 60 anos de idade;

#### *4.8.3. Presença de déficits cognitivos*

Os pacientes foram classificados de acordo com o desempenho cognitivo em:

- i. Sem déficits cognitivos: escores no CAMCOG maior ou igual a 87 pontos;
- ii. Com déficits cognitivos: escores no CAMCOG menor ou igual a 86 pontos;

#### *4.8.4. Gravidade do episódio depressivo*

Os pacientes foram classificados de acordo com a gravidade dos sintomas depressivos atuais em:

- i. Episódio depressivo leve a moderado: Escores na HAM-D 21 entre 7 e 21 pontos;
- ii. Episódio depressivo atual grave: escores na HAM-D 21 acima de 22 pontos;

*4.8.5. Padrão de recorrência do episódio depressivo:*

Os pacientes foram classificados de acordo com o padrão de recorrência dos episódios depressivos em:

- i. Transtorno depressivo maior, episódio único;
- ii. Transtorno depressivo maior, recorrente.

#### *4.8.6. Cronicidade do episódio depressivo:*

Os pacientes foram classificados de acordo com a cronicidade do episódio depressivo atual em:

- i. Episódio depressivo agudo: duração menor ou igual a 12 meses;
- ii. Episódio depressivo crônico: duração maior que 12 meses;

#### *4.8.7. Tempo total de duração do transtorno depressivo:*

Os pacientes foram classificados de acordo com o tempo total de duração do transtorno depressivo, isto é, o tempo entre a idade do diagnóstico do 1º episódio depressivo a data de diagnóstico do episódio depressivo atual em:

- i. Duração menor que 5 anos;
- ii. Duração maior que 5 anos;

#### *4.9. Avaliação dos idosos do grupo comparativo*

Os idosos incluídos no grupo comparativo foram selecionados da coorte de idosos em acompanhamento no Programa de Psiquiatria Geriátrica do LIM – 27 (Diniz et al., 2008; Forlenza et al., 2010) e foram avaliados pelos mesmo instrumentos que os pacientes deprimidos:

- i. Entrevista SCID I/P: ausência de história atual ou pregressa de depressão ou outros transtornos psiquiátricos;
- ii. HAM-D 21 itens: escore igual a 0;
  - a. Idosos que preenchem o critério i. que, porém, tiveram pontuação na escala HAM-D 21 itens maior ou igual a 1 p.ex. por queixa de alteração de padrão de sono) não foram incluídos no grupo comparativo para este trabalho.
- iii. Avaliação cognitiva através do CAMCOG e MEEM;
  - a. A exclusão da presença de déficits cognitivos foi feita através da avaliação neuropsicológica e confirmada através de avaliações neuropsicológicas no acompanhamento destes idosos (Diniz et al., 2008; Forlenza et al., 2010).

#### *4.10. Coleta de sangue e preparo de plaquetas*

Após a avaliação do episódio depressivo, os pacientes e controles realizaram coleta de amostra de sangue (10 ml), em tubo contendo EDTA, através de punção venosa, em veia antecubital, no período matutino (entre 8h e 10h). Todos os sujeitos estavam em jejum de 8 a 10 horas.

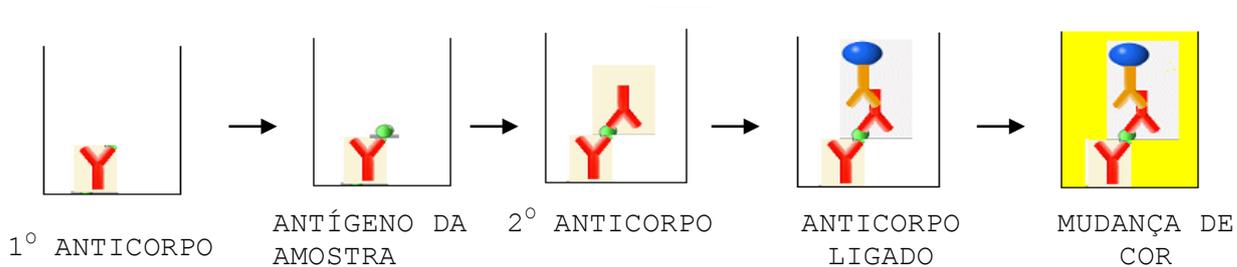
Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a 515xG por 15 minutos a 20°C em uma solução de dextrose e citrato ácido. Alíquotas de plasma rico em plaquetas (PRP) foram resuspensas em solução de lavagem (citrato de sódio 30nM pH 6.5, cloreto de potássio 5nM, cloreto de cálcio 2nM, cloreto de magnésio 1nM, glicose 5nM, albumina 500 µg/mL e apirase 50µg/mL), centrifugadas a 1159xG por 8 minutos a 20°C. O sobrenadante foi resuspenso em solução de tris-sucrose e as alíquotas de plaquetas foram armazenadas imediatamente em freezer a -70°C até as análises.

#### *4.11. Expressão de GSK-3B em plaquetas e determinação indireta da atividade enzimática*

Antes das análises bioquímicas, a concentração proteica de cada amostra de plaqueta foi determinada através do método de Lowry modificado, sendo normalizada para 0,1 mg/ml com tampão apropriado e solução de inibidores de protease fornecido pelo fabricante do ensaio. As plaquetas foram rompidas com o tampão celular RIPA modificado pela adição do inibidor de protease PIC (Sigma P8340) e PMSF (Sigma P7626).

Os níveis plaquetários da GSK-3B total (T-GSK-3B) e da Ser-9 fosfo-GSK-3B (P-GSK-3B) foram determinados por um Ensaio Imunométrico Enzimático (EIA - Enzyme Immunometric Assay) (TiterZyme EIA - Assay Designs, Inc). TiterZyme EIA é um ensaio que utiliza anticorpos monoclonais imobilizados na parede da placa de ensaio que se ligam a GSK-3B humana presente nas amostras experimentais. Os pontos da curva de padronização do ensaio foram geradas a partir de diluições seriadas das amostras (P-GSK-3B: 2000; 1000; 500; 250; 125; 62.5; 0 pg/ml; T-GSK-3B: 5000; 2500; 1250; 625; 312.5; 156.3; 78.1; 0 pg/ml).

Figura 3. Ilustração esquemática das etapas principais do ensaio imunoenzimático.



ADAPTADO DE: <http://www.med4you.at/laborbefunde/techniken/enzyme/eliza.gif>

Cem microlitros de solução padrão ou amostra foram pipetados em cada poço da placa de ensaio. A placa de ensaio foi vedada e incubada em temperatura ambiente, sob agitação, por 1 hora. Após a incubação, cada poço foi esvaziado e a placa de ensaio foi lavada com 400  $\mu$ L de solução de lavagem. Este procedimento foi repetido por 5 vezes. Após a última lavagem, 100  $\mu$ L de anticorpos policlonais anti-T-GSK3B e anti-P-GSK3B foi adicionado a cada poço da placa de ensaio, exceto nos poços vazios (“blanks”). A placa de ensaio foi vedada e incubada em temperatura ambiente, sob agitação, por mais 1 hora. Novamente, as placas foram esvaziadas e lavadas por 5 vezes. Cem microlitros de anticorpos monoclonais anti-T-GSK3B e anti-P-GSK3B conjugados com horseradish peroxidase, que se ligam aos anticorpos policlonais anti-T-GSK3B e anti-P-GSK3B, foram adicionados a cada poço da placa de ensaio. A placa de ensaio foi vedada e incubada em temperatura ambiente, sob agitação, por 30 minutos. A placa de ensaio foi esvaziada e lavada por 5 vezes. Cem

microlitros de solução substrato foi adicionado a cada poço da placa de ensaio e a reação enzimática foi interrompida após incubação por 30 minutos em temperatura ambiente. A cor gerada pela reação enzimática foi lida na frequência de 450 nm.

A atividade da GSK-3B, para cada amostra, foi inferida indiretamente através da razão da GSK-3B, como descrito anteriormente pelo nosso grupo (Forlenza et al., 2010) (equação 1).

$$(1) \quad \text{Razão da GSK-3B} = \frac{\text{P-GSK-3B}}{\text{T-GSK-3B}}$$

A razão da GSK-3B nos informa sobre a proporção entre a concentração da forma inativa da proteína (i.e. P-GSK-3B) e a sua concentração total em uma amostra. Portanto, quanto menor a razão da GSK-3B, maior a atividade enzimática, e vice-versa.

#### *4.12. Análise estatística*

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico SPSS v. 18 (Statistical Package for Social Science, Chicago, IL). O teste Kolmogorov-Sminorf foi realizado para avaliar se as variáveis contínuas tinham distribuição normal. A significância estatística para todas as análises realizadas foram estabelecidas para valores de  $p < 0,05$  ( $\alpha = 95\%$ ).

#### *4.12.1. Análise descritiva*

As análises descritivas da amostra total e de cada grupo diagnóstico foram realizadas para cada variável contínua ou dicotômica. Para as variáveis contínuas obteve-se medidas de posição (média) e dispersão (desvio-padrão, erro padrão e intervalo de confiança de 5%). Tabelas de distribuição de frequência foram obtidas para as variáveis dicotômicas.

#### *4.12.2. Análise de distribuição de frequência de variáveis dicotômicas*

A distribuição da frequência das variáveis dicotômicas (gênero) de acordo com o diagnóstico foi realizada com a análise de qui-quadrado de Pearson ou do teste exato de Fisher, quando indicado.

#### 4.12.3. Análises para comparação de médias entre grupos:

Após a divisão da amostra total de acordo com o grupo diagnóstico (controle ou depressão maior), análises com o teste T de Student foram realizadas para se avaliar diferenças entre as médias das variáveis contínuas para dois grupos.

Após a divisão dos pacientes com depressão maior de acordo com as características clínicas e psicopatológicas do episódio depressivo (melancólico vs. não melancólico), análises de variância (ANOVA) foram realizadas para se avaliar diferenças entre as médias das variáveis contínuas para três grupos (subtipo 1, subtipo 2 e controles). Caso houvesse diferença estatisticamente significativa nas ANOVAs, teste de Tukey para as comparações múltiplas foram realizados para avaliar o nível de significância estatística das diferenças em comparações binárias.

#### *4.12.4. Análise de covariância e análise multifatorial:*

Análises de covariância (ANCOVA) foram realizadas para avaliar o potencial de variáveis de confusão em afetar os níveis plaquetários da GSK3B (total, fosforilada e razão), caso indicado pelos resultados das análises estatísticas não ajustadas. Análises univariadas fatoriais (ANOVA fatorial) foram realizadas para avaliar o potencial de interação entre diferentes fatores (p.ex. gravidade do episódio depressivo vs. desempenho cognitivo) nos níveis plaquetários da GSK3B (total, fosforilada e razão), caso indicado pelos resultados das análises estatísticas não ajustadas.

## **5. Resultados**

### *5.1. Descrição da amostra*

A amostra recrutada para este estudo foi de 53 indivíduos (40 com diagnóstico de Episódio Depressivo Maior e 13 controles). Houve o predomínio do sexo feminino (80% da amostra total) e os sujeitos incluídos tinham média de idade de  $71,0 \pm 5,1$  anos e escolaridade média de  $11,0 \pm 5,1$  anos.

5.2. Análise univariada: variáveis sócio-demográficas, sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

A Tabela 1 apresenta os dados sócio-demográficos e da avaliação clínica dos pacientes e controles.

Tabela 1. Depressão maior vs. Controles: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

		Diagnóstico				
		Controles (n=13)	Depressão maior (n=40)	<i>g.l.</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
Gênero*	Masculino	3	8	1	-	0,54
	Feminino	10	32			
Idade		72.7 (5.2)	70.5 (5.0)	51	1,38	0,17
Escolaridade		15.5 (4.1)	9.5 (4.6)	51	4,23	<0,001
HAM-D		-	18.5 (5.8)	-	-	-
MEEM		29.0 (1.2)	26.8 (2.6)	51	4,03	<0,001
CAMCOG		98.3 (3.8)	87.1 (7.1)	51	7,16	<0,001

\* Teste de Qui-quadrado de Fischer.

HAM-D: Escala de Depressão de Hamilton, 21 itens, MEEM: Mini-Exame do Estado Mental, CAMCOG: Teste Cognitivo de Cambridge.

Dados são mostrados como média (desvio-padrão).

Em média, os pacientes apresentaram episódio depressivo de intensidade moderada, medido pela pontuação na escala de depressão de Hamilton 21 itens. Os pacientes deprimidos eram menos escolarizados que os idosos do grupo controle e tiveram escores significativamente menores no MMSE e no CAMCOG. Não se observaram diferenças estatisticamente significantes na distribuição de gênero e na idade média dos pacientes deprimidos em relação aos indivíduos do grupo controle (tabela 1).

As tabelas a seguir mostram os dados sócio-demográficos e da avaliação clínica após a subdivisão dos pacientes deprimidos de acordo com o subtipo psicopatológico (tabela 2), idade de início do 1º episódio depressivo (tabela 3), padrão de recorrência dos episódios depressivos (tabela 4), gravidade da sintomatologia depressiva (tabela 5), gravidade dos déficits cognitivos (tabela 6), cronicidade do episódio depressivo (tabela 7), tempo de duração do transtorno depressivo (tabela 8).

Os pacientes deprimidos foram classificados de acordo com o subtipo psicopatológico do episódio atual em: melancólicos (n = 24), atípico (n = 3), episódio depressivo não especificado (n = 13). Devido o pequeno número de sujeitos com episódio depressivo atípico, eles foram agrupados com os pacientes com episódio depressivo não-especificado. Portanto, os pacientes foram divididos em 2 grupos para as análises estatísticas (melancólicos e não-melancólicos, tabela 2).

Tabela 2. Subtipo psicopatológico: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

		Subtipo depressivo			g.l.	F	p
		Controle (n=13)	Melancólico (n=24)	Não-melancólico (n=16)			
Gênero*	Masculino	3	7	1	2	-	0,21
	Feminino	10	17	15			
Idade		72,7 (5,2)	69,5 (4,0)	71,9 (6,1)	2,50	2,05	0,14
Escolaridade		15,5 (4,1)	9,0 (4,8)	10,1 (4,4)	2,50	9,11	< 0,001
HAM-D 21**			21,3 (5,3)	14,4 (3,8)	38	4,46	< 0,001
MEEM		29,0 (1,2)	26,9 (2,8)	26,8 (2,5)	2,50	3,94	0,02
CAMCOG		98,3 (3,8)	87,8 (7,0)	86,3 (7,3)	2,50	14,64	< 0,001

\* Teste de Qui-quadrado de Fischer.

\*\* Teste T de Student.

HAM-D: Escala de Depressão de Hamilton, 21 itens, MEEM: Mini-Exame do Estado Mental, CAMCOG: Teste Cognitivo de Cambridge.

Dados são mostrados como média (desvio-padrão).

Os pacientes com episódio depressivo subtipo melancólico apresentavam sintomatologia depressiva mais intensa em relação aos pacientes com subtipos não-melancólicos ( $p < 0,001$ ). Na análise *pos-hoc* com teste de Tukey, os pacientes de com subtipo melancólico e não-melancólico eram significativamente menos escolarizados ( $p < 0,01$ ) que os idosos controles. Não observaram diferenças estatisticamente significantes com relação a idade ou a escolaridade entre os diferentes subtipos psicopatológicos ( $p > 0,05$ ).

Tanto os pacientes de com subtipo melancólico quanto não-melancólico tiveram escores no CAMCOG e no MEEM significativamente menores que os idosos controles ( $p < 0,01$ ). Não se observaram diferenças significantes na distribuição de gêneros e média de idade entre os grupos de pacientes deprimidos ( $p > 0,05$ ).

Tabela 3. Idade de início do 1º episódio depressivo: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

		Idade de início do 1º episódio depressivo					
		Controle (n = 13)	DIT (n = 24)	DIP (n = 16)	<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Gênero*	Masculino	3	6	2	2	-	0,59
	Feminino	10	18	14			
	Idade	72,3 (5,1)	71,8 (5,1)	68,5 (4,5)	2,49	2,72	0,07
	Escolaridade	16,2 (3,6)	9,6 (4,4)	9,3 (5,0)	2,49	10,56	< 0,001
	Idade de início do 1º episódio depressivo**	-	64,3	44,5	38	4,5	< 0,001
	HAM-D 21**	-	16,8 (4,8)	21,1 (6,2)	38	- 2,47	0,02
	MEEM	29,1 (1,2)	26,9 (2,6)	26,7 (2,8)	2,47	3,97	0,02
	CAMCOG	98,4 (3,9)	87,0 (7,2)	87,4 (7,3)	2,47	13,43	< 0,001

\* Teste de Qui-quadrado de Fischer.

\*\* Teste T de Student.

DIT: Depressão de início tardio (> 60 anos); DIP: Depressão de início precoce (< 60 anos);

HAM-D: Escala de Depressão de Hamilton, 21 itens; MEEM: Mini-Exame do Estado Mental; CAMCOG: Teste Cognitivo de Cambridge.

Idade do 1º episódio depressiva em anos.

Dados são mostrados como média (desvio-padrão).

Após dividir os pacientes deprimidos de acordo com a idade de início do 1º episódio depressivo, observou-se que os pacientes com depressão de início precoce apresentavam sintomatologia depressiva mais grave que os pacientes com depressão de início tardio ( $p=0,02$ ).

Na análise *pos-hoc* com teste de Tukey, tanto os pacientes com depressão de início precoce quanto de início tardio eram significativamente menos escolarizados ( $p < 0,01$ ) que os idosos controles. Não se observaram diferenças estatisticamente significantes na idade e escolaridade entre os pacientes com depressão de início precoce e tardio ( $p > 0,05$ ).

Os pacientes com depressão de início precoce e tardio apresentaram menores escores no MEEM ( $p < 0,05$ ) e no CAMCOG ( $p < 0,01$ ) em relação aos idosos controles. Não se observaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos de pacientes nos escores nestes testes cognitivos ( $p > 0,05$ ).

Tabela 4. Padrão de recorrência dos episódios depressivos: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

		Padrão de recorrência dos episódios depressivos					
		Controle (n=13)	Episódio único (n=13)	Depressão recorrente (n=27)	<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Gênero*	Masculino	3	2	6	2	-	0,86
	Feminino	10	11	21			
Idade		72,7 (5,2)	70,2 (5,9)	70,6 (4,7)	2,50	0,95	0,39
Escolaridade		15,5 (4,1)	11,2 (4,0)	8,6 (4,7)	2,50	10,77	<0,001
HAM-D 21**		-	16,3 (4,1)	19,6 (6,2)	38	- 1,72	0,09
MEEM		29,0 (1,2)	27,1 (2,3)	26,7 (2,9)	2,48	4,04	0,02
CAMCOG		98,3 (3,8)	87,9 (6,8)	86,7 (7,4)	2,48	14,47	< 0,001

\* Teste de Qui-quadrado de Fischer.

\*\* Teste T de Student.

HAM-D: Escala de Depressão de Hamilton, 21 itens; MEEM: Mini-Exame do Estado Mental; CAMCOG: Teste Cognitivo de Cambridge.

Dados são mostrados como média (desvio-padrão).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na gravidade de sintomas depressivos do episódio atual de acordo com o padrão de recorrência do transtorno depressivo.

Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, os pacientes que apresentavam transtorno depressivo recorrente tiveram escores menores no MEEM que os pacientes com episódio depressivo único e idosos controles ( $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ , respectivamente). Não se observaram diferenças

estatisticamente significantes entre os pacientes com episódio depressivo único e indivíduos do grupo controles ( $p > 0,05$ ).

Tanto os pacientes com transtorno depressivo recorrente e episódio depressivo único tiveram escores no CAMCOG significativamente menores que os idosos do grupo controle ( $p < 0,01$ ). Não se observaram diferenças estatisticamente significantes nos escores do CAMCOG entre os grupos de pacientes ( $p > 0,05$ ).

Tabela 5. Gravidade da sintomatologia depressiva: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

		Gravidade da sintomatologia depressiva					
		Controle (n=13)	HAM-D < 21 (n=33)	HAM-D ≥21 (n=7)	<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Gênero*	Masculino	3	8	0	2	-	0,34
	Feminino	10	25	7			
Idade		72,7 (5,2)	70,2 (5,2)	71,7 (4,6)	2,50	1,21	0,30
Escolaridade		15,5 (4,1)	10,6 (4,3)	4,3 (1,3)	2,50	18,93	<0,001
HAM-D 21**		-	16,6 (4,0)	27,6 (3,7)	38	- 6,62	< 0,001
MEEM		29,0 (1,2)	27,3 (2,4)	24,7 (2,9)	2,48	7,84	0,001
CAMCOG		98,3 (3,8)	88,1 (6,7)	82,0 (7,7)	2,48	18,11	< 0,001

\* Teste de Qui-quadrado de Fischer.

\*\* Teste T de Student.

HAM-D: Escala de Depressão de Hamilton, 21 itens; MEEM: Mini-Exame do Estado Mental; CAMCOG: Teste Cognitivo de Cambridge.

Dados são mostrados como média (desvio-padrão).

Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, os pacientes com episódio depressivo grave (HAM-D ≥ 21) tiveram escores no MEEM significativamente menores no MEEM ( $p < 0,05$ ) e marginalmente significante no CAMCOG ( $p = 0,08$ ) em relação com os pacientes com episódio depressivo leve a moderado (HAM-D < 21). Ambos os grupos de pacientes apresentaram escores tanto no MEEM quanto no CAMCOG significativamente menores que os idosos controles ( $p < 0,01$ ).

A escolaridade nos dois grupos de pacientes era significativamente menor que em relação aos controles ( $P < 0,01$ ). Os pacientes com episódio depressivo grave também eram significativamente menos escolarizados que os pacientes com episódio depressivo leve a moderado ( $P < 0,01$ ).

Tabela 6. Gravidade dos déficits cognitivos associados ao episódio depressivo: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

		Gravidade dos déficits cognitivos					
		Controle (n=13)	CAMCOG = 87 (n=22)	CAMCOG < 86 (n=18)	<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Gênero*	Masculino	3	7	2	2	-	0,14
	Feminino	10	15	16			
	Idade	72,7 (5,2)	69,7 (5,3)	71,7 (4,6)	2,49	1,58	0,21
	Escolaridade	15,5 (4,1)	12,1 (3,9)	6,1 (2,8)	2,49	26,69	< 0,001
	HAM-D 21**	-	17,1 (4,2)	20,2 (7,2)	38	-1,55	0,13
	MEEM	29,0 (1,2)	28,2 (1,7)	25,0 (2,6)	2,47	18,39	< 0,001
	CAMCOG	98,3 (3,8)	92,1 (3,8)	80,3 (4,3)	2,47	79,41	< 0,001

\* Teste de Qui-quadrado de Fischer.

\*\* Teste T de Student.

HAM-D: Escala de Depressão de Hamilton, 21 itens; MEEM: Mini-Exame do Estado Mental; CAMCOG: Teste Cognitivo de Cambridge.

Dados são mostrados como média (desvio-padrão).

Após a divisão dos pacientes deprimidos de acordo com a gravidade dos déficits cognitivos, não se observadas diferenças estatisticamente significantes na gravidade da sintomatologia depressiva.

Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, os pacientes com déficits cognitivos mais graves (CAMCOG < 86) eram significativamente menos escolarizados que os demais pacientes ( $p < 0,01$ ) e idosos controles ( $p < 0,01$ ).

Os pacientes foram divididos de acordo com o tempo de duração do episódio depressivo atual em: episódio agudo (duração menor ou igual que 12 meses) e episódio crônico (duração maior que 12 meses) (tabela 7).

Tabela 7. Cronicidade do episódio depressivo atual: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

		Cronicidade do episódio depressivo					
		Controle (n=13)	Agudo (n=28)	Crônico (n=12)	<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Gênero*	Masculino	3	5	3	2	-	0,85
	Feminino	10	23	9			
Idade		72,7 (5,2)	69,6 (4,4)	72,5 (5,9)	2,50	2,44	0,1
Escolaridade		15,5 (4,1)	9,8 (4,4)	8,8 (5,3)	2,50	8,93	< 0,001
Duração do episódio depressivo atual**		-	6,9 (4,5)	24,7 (11,5)	38	- 7,22	< 0,001
HAM-D 21**		-	18,4 (5,6)	18,8 (6,5)	38	- 0,22	< 0,82
MEEM		29,0 (1,2)	27,2 (2,6)	25,9 (2,5)	2,48	5,37	0,008
CAMCOG		98,3 (3,8)	87,8 (7,6)	85,5 (5,6)	2,48	15,10	< 0,001

\* Teste de Qui-quadrado.

\*\* Teste T de Student.

Episódio agudo: duração ≤ 12 meses; Episódio crônico: duração > 12 meses.

HAM-D: Escala de Depressão de Hamilton, 21 itens; MEEM: Mini-Exame do Estado Mental; CAMCOG: Teste Cognitivo de Cambridge.

Duração do episódio depressivo atual em meses.

Dados são mostrados como média (desvio-padrão).

Não se observaram diferenças estatisticamente significantes na gravidade da sintomatologia depressiva entre estes dois grupos de pacientes.

Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, os pacientes dos dois grupos tiveram escores no MEEM e CAMCOG significativamente menores que os idosos controles ( $p < 0,01$ ). Não se observaram diferenças significantes de desempenho cognitivo entre os grupos de pacientes (MEEM,  $p > 0,05$ ; CAMCOG,  $p > 0,05$ ).

Os pacientes foram divididos de acordo com o tempo de duração total de doença desde o 1º episódio depressivo até o diagnóstico do episódio atual em: (1) duração menor que 5 anos; (2) duração maior que 5 anos (tabela 8).

Tabela 8. Tempo de duração do transtorno depressivo: dados sócio-demográficos, gravidade da sintomatologia depressiva e desempenho cognitivo.

		Tempo de doença após o 1º episódio depressivo					
		Controles (n=13)	< 5 anos (n=15)	> 5 anos (n=25)	<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Gênero	Masculino	3	4	5	2	-	0,74
	Feminino	10	11	20			
	Idade	72,7 (5,2)	70,9 (5,6)	70,1 (4,9)	2,50	1,04	0,36
	Escolaridade	15,5 (4,1)	10,2 (4,5)	8,8 (4,6)	2,50	9,78	< 0,001
	Tempo de doença**	-	2,0 (1,4)	22,1 (14,8)	38	-5,21	< 0,001
	HAM-D 21**	-	18,4 (4,3)	18,8 (6,6)	38	-0,22	0,82
	MEEM	29,0 (1,2)	26,7 (3,0)	26,8 (2,5)	2,50	4,11	0,02
	CAMCOG	98,3 (3,8)	87,7 (6,7)	86,7 (7,6)	2,50	14,09	< 0,001

\* Teste de Qui-quadrado.

\*\* Teste T de Student.

HAM-D: Escala de Depressão de Hamilton, 21 itens; MEEM: Mini-Exame do Estado Mental; CAMCOG: Teste Cognitivo de Cambridge.

Tempo de duração da doença a partir do 1º episódio depressivo em anos.

Dados são mostrados como média (desvio-padrão).

Não se observaram diferenças estatisticamente significantes na gravidade da sintomatologia depressiva entre estes dois grupos de pacientes.

Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, os pacientes dos dois grupos tiveram escores no MEEM e CAMCOG significativamente menores que os idosos controles ( $p < 0,01$ ). Não se observaram diferenças significantes de desempenho cognitivo entre os grupos de pacientes (MEEM,  $p > 0,05$ ; CAMCOG,  $p > 0,05$ ).

### 5.3. Análise univariada: níveis plaquetário da GSK-3B (total e fosforilada) e razão de GSK-3B

A tabela 9 mostra os valores dos níveis plaquetários da T-GSK-3B, P-GSK-3B e a razão da GSK-3B dos pacientes deprimidos e idosos do grupo controle.

Tabela 9. Depressão maior vs. Controles: nível plaquetário da GSK3B (total e fosforilada) e razão da GSK3B nos pacientes com episódio depressivo maior vs. controles.

	Diagnóstico		<i>g.l.</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
	Controles (n=13)	Depressão maior (n=40)			
T-GSK-3B	1.993,34 (440,20)	1.863,69 (680,99)	51	0,64	0,52
P-GSK-3B	946,52 (266,28)	730,83 (327,83)	51	2,15	0,03
Razão da GSK-3B	0,48 (0,12)	0,40 (0,11)	51	2,23	0,03

GSK-3B: glicogênio sintase quinase-3B; T-GSK-3B: GSK-3B total; P-GSK-3B: GSK-3B fosforilada; Razão de GSK-3B: P-GSK-3B / T-GSK-3B.

Nos pacientes deprimidos observou-se uma redução estatisticamente significativa dos níveis plaquetários da P-GSK3B. Não houve diferença significativa dos níveis plaquetários da T-GSK3B. Os pacientes com

depressão maior tinham uma razão da GSK3B significativamente reduzida em relação aos idosos controle (tabela 9).

As tabelas a seguir mostram os valores dos níveis plaquetários da T-GSK-3B, P-GSK-3B e a razão da GSK-3B após a subdivisão dos pacientes deprimidos de acordo com o subtipo psicopatológico (tabela 10), idade de início do 1º episódio depressivo (tabela 11), padrão de recorrência dos episódios depressivos (tabela 12), gravidade da sintomatologia depressiva (tabela 13), gravidade dos déficits cognitivos (tabela 14), cronicidade do episódio depressivo (tabela 15), tempo de duração do transtorno depressivo (tabela 16).

Tabela 10. Subtipo psicopatológico: níveis plaquetários da GSK3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

	Subtipo depressivo			<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
	Controle (n=13)	Melancólico (n=24)	Não-melancólico (n=16)			
T-GSK-3B	1.993,34 (440,20)	1.984,37 (778,74)	1.682,68 (466,49)	2,50	1,33	0,27
P-GSK-3B	946,52 (266,28)	795,29 (358,28)	634,13 (256,87)	2,50	3,68	0,03
Razão da GSK-3B	0,48 (0,12)	0,41 (0,11)	0,38 (0,11)	2,50	2,81	0,07

GSK-3B: glicogênio sintase quinase-3B; T-GSK-3B: GSK-3B total; P-GSK-3B: GSK-3B fosforilada; Razão de GSK-3B: P-GSK-3B / T-GSK-3B.

Não se observaram diferenças estatisticamente significantes nos níveis plaquetários da T-GSK3B e da razão da GSK3B de acordo com os diferentes subtipos psicopatológicos do episódio depressivo.

No entanto, os níveis plaquetários da P-GSK3B foi significativamente diferente entre os 3 grupos. Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, os pacientes do grupo não-melancólico apresentavam níveis plaquetários da P-GSK3B reduzidos em relação aos idosos controles ( $p = 0,04$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os subtipos melancólicos e não-melancólicos ou entre os pacientes do grupo melancólico e idosos controles ( $p > 0,05$ ).

Tabela 11. Idade de início do 1º episódio depressivo: níveis plaquetários da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

	Idade de início do 1º episódio depressivo			<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
	Controle (n = 13)	DIT (n = 24)	DIP (n = 16)			
T-GSK-3B	1.993,34 (440,20)	1.810,67 (719,53)	1.943,23 (632,97)	2,50	0,43	0,65
P-GSK-3B	946,52 (266,28)	714,39 (295,57)	755,49 (380,00)	2,50	2,31	0,1
Razão da GSK-3B	0,48 (0,12)	0,41 (0,11)	0,39 (0,12)	2,50	2,41	0,1

GSK-3B: glicogênio sintase quinase-3B; T-GSK-3B: GSK-3B total; P-GSK-3B: GSK-3B fosforilada; Razão de GSK-3B: P-GSK-3B / T-GSK-3B.

Não se observaram diferenças estatisticamente significantes nos níveis plaquetários da GSK3B (total e fosforilada) e da razão da GSK3B de acordo com a idade de início do 1º episódio depressivo maior.

Tabela 12. Padrão de recorrência dos episódios depressivos: níveis plaquetários da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

	Padrão de recorrência dos episódios depressivos			<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
	Controle (n=13)	Episódio único (n=13)	Depressão recorrente (n=27)			
T-GSK-3B	1.993,34 (440,20)	1.941,26 (896,25)	1.826,35 (566,06)	2,50	0,35	0,70
P-GSK-3B	946,52 (266,28)	758,12 (382,65)	717,68 (305,09)	2,50	2,34	0,10
Razão da GSK-3B	0,48 (0,12)	0,40 (0,12)	0,40 (0,11)	2,50	2,45	0,10

GSK-3B: glicogênio sintase quinase-3B; T-GSK-3B: GSK-3B total; P-GSK-3B: GSK-3B fosforilada; Razão de GSK-3B: P-GSK-3B / T-GSK-3B

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nos níveis plaquetários da GSK3B (total e fosforilada) e da razão da GSK3B de acordo com o padrão de recorrência dos episódios depressivos.

Tabela 13. Gravidade da sintomatologia depressiva: níveis plaquetários da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

	Gravidade da sintomatologia depressiva			<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
	Controle (n=13)	HAM-D < 21 (n=33)	HAM-D = 21 (n=7)			
T-GSK-3B	1.993,34 (440,20)	1.855,72 (733,49)	1.901,27 (378,10)	2,50	0,22	0,80
P-GSK-3B	946,52 (266,28)	740,34 (324,42)	685,96 (366,61)	2,50	2,36	0,10
Razão da GSK-3B	0,48 (0,12)	0,41 (0,11)	0,34 (0,11)	2,05	2,53	0,03

GSK-3B: glicogênio sintase quinase-3B; T-GSK-3B: GSK-3B total; P-GSK-3B: GSK-3B fosforilada; Razão de GSK-3B: P-GSK-3B / T-GSK-3B

Após a divisão dos pacientes deprimidos de acordo com a gravidade da sintomatologia depressiva, a razão da GSK-3B estava significativamente reduzida nos pacientes deprimidos.

Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, a redução da razão da GSK-3B foi mais significativa entre os pacientes com episódio depressivo grave e os idosos controles ( $p=0,03$ ). Não se observaram diferenças estatisticamente significante entre os dois grupos de pacientes ( $p > 0,05$ ) ou entre os pacientes com episódio depressivo leve a moderado e idosos controles ( $p > 0,05$ ). Não houve diferenças significantes entre os grupos nos níveis plaquetários da T-GSK3B.

Tabela 14. Gravidade dos déficits cognitivos associados ao episódio depressivo: nível plaquetário da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK3B.

	Gravidade dos déficits cognitivos			g.l.	F	p
	Controle (n=13)	CAMCOG = 87 (n=22)	CAMCOG < 86 (n=18)			
T-GSK-3B	1.993,34 (440,20)	1.829,28 (622,16)	1.860,96 (761,81)	2,51	0,28	0,75
P-GSK-3B	946,52 (266,28)	773,38 (348,78)	657,29 (296,50)	2,51	3,14	0,05
Razão da GSK-3B	0,48 (0,12)	0,43 (0,12)	0,36 (0,09)	2,51	4,73	0,01

GSK-3B: glicogênio sintase quinase-3B; T-GSK-3B: GSK-3B total; P-GSK-3B: GSK-3B fosforilada; Razão de GSK-3B: P-GSK-3B / T-GSK-3B.

Após a divisão dos pacientes deprimidos de acordo com a gravidade dos déficits cognitivos, os níveis plaquetários da P-GSK-3B e a razão da GSK-3B estavam significativamente reduzidas nos pacientes deprimidos. Não houve diferenças estatisticamente significante na expressão proteica total da GSK-3B entre os grupos.

Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, a redução da razão da GSK-3B e dos níveis plaquetários da P-GSK-3B foi mais significativa nos pacientes com déficits cognitivos mais graves em relação aos idosos controles (p = 0,01 e p= 0,04, respectivamente).

Tabela 15. Cronicidade do episódio depressivo atual: nível plaquetário da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK3B.

	Cronicidade do episódio depressivo			<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
	Controle (n=13)	Agudo (n=28)	Crônico (n=12)			
T-GSK-3B	1.993,34 (440,20)	1.958,65 (760,68)	1.642,13 (383,93)	2,51	1,28	0,28
P-GSK-3B	946,52 (266,28)	768,85 (358,48)	642,09 (230,97)	2,51	3,01	0,05
Razão da GSK-3B	0,48 (0,12)	0,40 (0,12)	0,39 (0,10)	2,51	2,46	0,09

GSK-3B: glicogênio sintase quinase-3B; T-GSK-3B: GSK-3B total; P-GSK-3B: GSK-3B fosforilada; Razão de GSK-3B: P-GSK-3B / T-GSK-3B.

Após a divisão dos pacientes deprimidos de acordo com a cronicidade do episódio depressivo atual, os níveis plaquetários da P-GSK-3B apresentou uma redução marginalmente significativa nos pacientes em relação aos idosos controles ( $p = 0,05$ ).

Na análise *pos-hoc* com o teste de Tukey, os pacientes com episódio depressivo crônico apresentavam a redução mais significativa dos níveis plaquetários da P-GSK-3B em relação aos idosos controles. Não se observaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos de pacientes deprimidos ( $p > 0,05$ ) ou entre os pacientes com episódio depressivo agudo e os idosos controles ( $p > 0,05$ ) nos níveis plaquetários da P-GSK-3B.

Tabela 16. Tempo de duração do transtorno depressivo: nível plaquetário da GSK-3B (total e fosforilada) e razão da GSK-3B.

	Tempo de doença após o 1º episódio depressivo			<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
	Controles (n=13)	< 5 anos (n=15)	> 5 anos (n=25)			
T-GSK-3B	1.993,34 (440,20)	1.920,45 (833,69)	1.839,35 (597,88)	2,51	0,25	0,78
P-GSK-3B	946,52 (266,28)	765,73 (343,11)	708,06 (330,49)	2,51	2,38	0,10
Razão da GSK-3B	0,48 (0,12)	0,41 (0,12)	0,39 (0,11)	2,51	2,63	0,08

GSK-3B: glicogênio sintase quinase-3B; T-GSK-3B: GSK-3B total; P-GSK-3B: GSK-3B fosforilada; Razão de GSK-3B: P-GSK-3B / T-GSK-3B.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nos níveis plaquetários da GSK3B (total e fosforilada) e da razão da GSK3B de acordo com a duração do transtorno depressivo.

#### *5.4. Análise de covariância e análise multifatorial*

Como a magnitude dos déficits cognitivos e a gravidade do quadro depressivo se associaram significativamente com a atividade da GSK-3B, análises adicionais foram conduzidas para controlar o impacto destas possíveis variáveis de confusão sobre a variável dependente.

O primeiro grupo de análises foi realizado para controlar os efeitos que essas duas variáveis podem exercer sobre a atividade enzimática (análise de covariância). As variáveis foram definidas do seguinte modo: variável dependente (contínua): razão da GSK-3B; variáveis independentes (categóricas): (a) gravidade da sintomatologia depressiva (HAM-D < 21 e HAM-D ≥ 21) e (b) gravidade dos déficits cognitivos (CAMCOG > 87 e CAMCOG ≤ 86); covariáveis (contínuas): (b) escores na HAM-D 21 e (a) no CAMCOG (tabela 17).

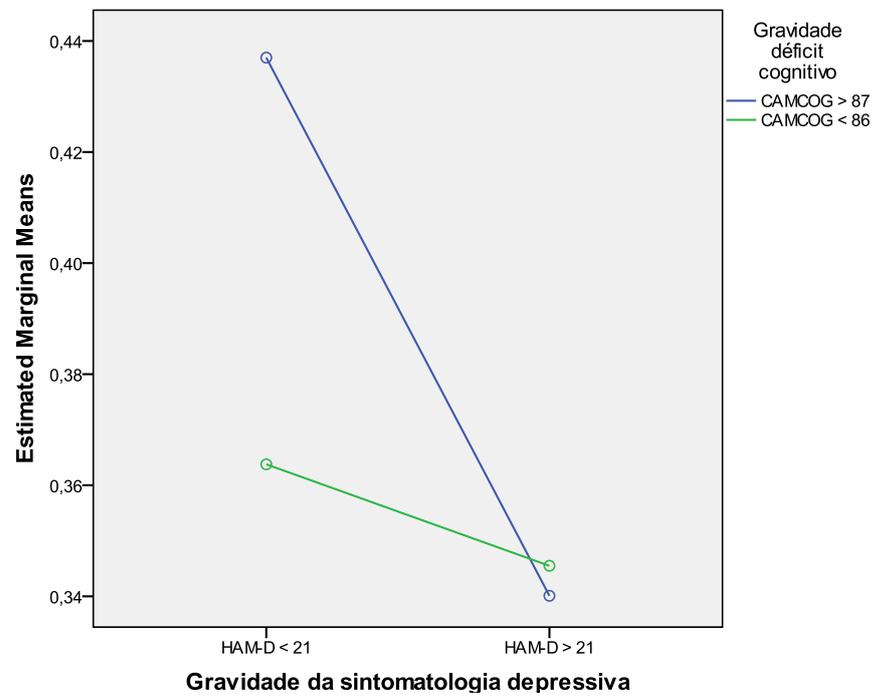
Neste grupo de análises, mostramos que a atividade da GSK manteve-se significativamente aumentada nos pacientes com déficits cognitivos mais graves após controlar pelos escores na HAM-D (g.l. = 1, F = 4,59, p = 0,03). Entretanto, não foram observadas diferenças significantes na atividade enzimática de acordo com a gravidade da sintomatologia depressiva após controlar pelos escores do CAMCOG (g.l. = 1, F = 0,53, p = 0,47).

Tabela 17. Análise de covariância.

<b>Modelo 1</b>		
<i>Variável dependente</i>	<i>Variável independente</i>	<i>Covariável</i>
Razão da GSK-3B	Gravidade dos déficits cognitivos (CAMCOG > 87 e CAMCOG ≤ 86)	Escores na HAM-D 21 itens
<b>Resultado</b>	<b>g.l. 1, F 4,59, p = 0,03, R<sup>2</sup> = 0,12</b>	
<b>Modelo 2</b>		
<i>Variável dependente</i>	<i>Variável independente</i>	<i>Covariável</i>
Razão da GSK-3B	Gravidade da sintomatologia depressiva (HAM-D < 21 e HAM-D ≥ 21)	Escores no CAMCOG
<b>Resultado</b>	<b>g.l. = 1, F = 0,53, p = 0,47, R<sup>2</sup> = 0,06</b>	

O segundo grupo de análises corresponde à análise de variância (ANOVA) fatorial, tipo 2 X 2, com método de soma dos quadrados do tipo III, com o objetivo de testar a interação entre estes dois fatores (i.e. gravidade da sintomatologia depressiva e a gravidade dos déficits cognitivos) sobre a atividade da GSK-3B. Não foram observadas interações significantes destes dois fatores sobre a atividade enzimática (g.l. = 1, F= 0,395, p=0,5).

Gráfico 1 – Interação entre a gravidade dos sintomas depressivos VS. gravidade dos déficits cognitivos sobre a razão da GSK-3B.



## 6. Discussão

### 6.1. Discussão geral dos achados principais

No presente trabalho, demonstramos que uma redução estatisticamente significativa nos níveis plaquetários da forma fosforilada da enzima GSK-3B e da razão fosforilada/total da enzima em pacientes idosos durante episódio depressivo maior; não se observaram diferenças significantes nos níveis plaquetários da T-GSK-3B nestes pacientes. Podemos afirmar que os resultados, em conjunto, rejeitam a hipótese nula principal deste trabalho, e indicam, portanto, que a atividade da GSK-3B está significativamente aumentada nos pacientes deprimidos em relação a idosos saudáveis.

Após os pacientes deprimidos serem agrupados de acordo com diferentes características clínicas e psicopatológicas do episódio depressivo atual, a atividade enzimática foi significativamente maior nos pacientes com déficits cognitivos mais graves (escores no CAMCOG < 86 pontos) e episódio depressivo grave (escores na HAM-D 21 > 21 pontos). Houve um aumento marginalmente significativo nos pacientes com subtipo psicopatológico não-melancólico e naqueles com episódio depressivo atual crônico. Não se observaram alterações dos níveis plaquetários da P-GSK-3B ou na atividade enzimática, após os pacientes serem classificados de acordo com a idade de início do transtorno depressivo, ou pelo padrão de recorrência do

episódio depressivo ou pelo tempo de duração do transtorno depressivo. Estes resultados, em conjunto, indicam que aspectos clínicos e psicopatológicos, principalmente a gravidade da sintomatologia depressiva e dos déficits cognitivos associados ao episódio depressivo, são fatores associados ao aumento da atividade enzimática.

Os resultados deste trabalho estão em linha com evidências da literatura que mostram que a redução da forma fosforilada, e, conseqüentemente, o aumento da atividade da GSK-3B ocorre em pacientes deprimidos unipolares e em pacientes bipolares adultos em fase depressiva (Pandey et al., 2009; Polter et al., 2010). Estas alterações são mais intensas nos pacientes com quadros mais graves e em geral se correlacionam de modo significativo com a gravidade da sintomatologia depressiva (Polter et al., 2010). Em estudos *post-mortem* (Karege et al., 2007), pacientes deprimidos que cometeram suicídio tinham menor concentração da P-GSK-3B no córtex pré-frontal em relação aos que faleceram por outras causas. Os achados deste estudo reforçam os dados da literatura de que a redução dos níveis de P-GSK-3B e o aumento da atividade da GSK3B são mais intensos nos pacientes com sintomatologia depressiva grave.

As análises univariadas fatoriais mostraram que não houve interação significativa entre a gravidade da sintomatologia depressiva e a intensidade dos déficits cognitivos sobre a atividade da GSK-3B. Estes resultados sugerem que o aumento da atividade enzimática nestes dois subgrupos de pacientes seja secundário a disfunções em mecanismos independentes de

regulação da atividade da GSK-3B no transtorno depressivo. Alternativamente, estas duas variáveis clínicas podem representar um mesmo subgrupo de pacientes, i.e. aqueles com maior gravidade do episódio depressivo. Desta maneira, o aumento da atividade enzimática nestes pacientes pode ser considerado um marcador de gravidade do episódio depressivo atual.

## 6.2. Aumento da atividade da GSK-3B: relevância fisiopatológica

O aumento atividade da GSK-3B foi secundário a redução significativa da P-GSK-3B (forma inativa da enzima), sem alterações correspondentes da expressão proteica total. Diversas vias intracelulares são responsáveis pelo equilíbrio entre fosforilação e defosforilação desta enzima, em particular, a atividade da via canônica da Akt/Wnt e da MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) (Inestrosa et al., 2009). Estudos mostram uma redução significativa da atividade da Akt e da MAPK na depressão maior (Duric et al., 2010; Kumamaru et al., 2008; Hsiung et al., 2003). A redução da atividade destas cascatas intracelulares na depressão maior são secundárias a diversos fatores, como a redução da atividade do receptor 5-HT<sub>1a</sub>, o aumento da atividade da MAPK fosfatase-1 (MKP-1), ativação da cascata de glicocorticoides e a redução do aporte neurotrófico. Portanto, o aumento da atividade da GSK-3B observado neste trabalho pode ter sido secundário a alterações de vias intracelulares que modulam o estado de fosforilação enzimática.

A disfunção dos sistemas serotoninérgicos cerebrais é considerado um dos principais mecanismos fisiopatológicos do transtorno depressivo maior (Smolin et al., 2007). Nos episódios depressivos, o aumento da ativação dos receptores 5HT<sub>2A</sub> e a redução da ativação dos receptores 5HT<sub>1A</sub> determina o aumento da atividade da GSK-3B decorrente da redução da fosforilação desta enzima (Borsini, 1994; Berendsen et al., 1995). Por outro lado, o uso

de antidepressivos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS) leva a um aumento das formas fosforiladas desta enzima e uma redução da sua atividade (Li et al., 2004). A redução na atividade da GSK-3B acompanhada a resposta antidepressiva (Gould et al., 2004; Kaidanovich-Beilin et al., 2004). Portanto, a atividade da GSK-3B tem uma relação íntima com a disfunção do sistema serotoninérgico observada na depressão maior e pode ser um mediador do efeito antidepressivo associado a diversas drogas com ação no sistema serotoninérgico central.

O aumento da atividade da GSK-3B também tem sido associado a uma redução do aporte neurotrófico e da neurogênese hipocampal (Sirerol-Piquer et al., 2010; Kumamaru et al., 2008; Mai et al., 2002), menor tolerância a insultos inflamatórios (Beurel et al., 2010), estimulação de cascatas pró-apoptóticas (Mishra et al., 2007) e aumento da resistência a insulina (Lee e Kim, 2007). Mais recentemente, a atividade da GSK-3B tem sido implicada na estabilização do tráfego de receptores AMPA na membrana neuronal, regulando a atividade do sistema glutamatérgico, o que tem efeito antidepressivo significativo (Du et al., 2010). Estas alterações, em geral, têm sido implicadas na fisiopatologia dos quadros depressivos (Krishnan e Nestler, 2008).

Portanto, a GSK-3B interage de modo significativo com diversos outros mecanismos e vias de sinalização intracelular que podem estar envolvidos na fisiopatologia da depressão maior. O aumento da atividade da GSK-3B pode ser um importante efector e/ou mediador de efeitos deletérios da

ativação ou inibição destas cascatas patológicas durante episódio depressivo maior.

### *6.3. Inespecificidade das alterações na atividade da GSK-3B*

O aumento da atividade da GSK3B também é descrito em outros transtornos neuropsiquiátricos, como a doença de Alzheimer (DA) (Hooper et al., 2008) e em pacientes portadores do transtorno afetivo bipolar (Rowe et al., 2007). Estudos recentes com pacientes bipolares mostraram redução significativa da P-GSK-3B, com o respectivo aumento da atividade enzimática, tanto na fase maníaca quanto na fase depressiva (Pandey et al., 2009; Polter et al., 2010, Li et al., 2010).

Em pacientes com DA observa-se uma redução significativa dos níveis da P-GSK-3B e aumento da atividade enzimática em leucócitos (Hye et al., 2005). Em um estudo recente conduzido em nosso grupo, o aumento da atividade enzimática estava presente nos pacientes com comprometimento cognitivo leve (Forlenza et al., 2010). Neste estudo, o aumento da atividade enzimática nos pacientes com CCL e DA se relacionou negativamente com a intensidade dos déficits cognitivos nestes pacientes. A magnitude do aumento da atividade da GSK-3B foi semelhante entre os pacientes deprimidos e os pacientes com CCL e DA observado no trabalho de Forlenza et al. (2010).

Portanto, diferentes linhas de evidência convergem para o fato que o aumento da atividade da GSK-3B seja um fenômeno central na ativação e estimulação de cascatas neurodegenerativas (Hooper et al., 2008; Muyliaert et al., 2008). Portanto, podemos supor que o aumento da atividade da GSK-

3B seja um marcador sensível de alterações neurodegenerativas nos pacientes com diferentes transtornos neuropsiquiátricos.

#### *6.4. Implicações prognósticas da alteração na atividade da GSK-3B*

A história de episódios depressivos prévios é um importante fator de risco para o desenvolvimento do comprometimento cognitivo leve (CCL) e da doença de Alzheimer (Dotson et al., 2010; Ownby et al., 2006). Nos pacientes deprimidos, a gravidade da sintomatologia depressiva e a presença de déficits cognitivos mais intensos são preditores clínicos importantes do risco de demência nestes pacientes (Chen et al., 2008; Mondrego et al., 2004). No presente estudo, os pacientes com sintomas depressivos e déficits cognitivos mais intensos foram aqueles que apresentavam aumento mais significativo da atividade enzimática, em níveis similares aos observados em pacientes com CCL e DA (Forlenza et al., 2011).

Diversos mecanismos neurobiológicos podem mediar a relação entre a depressão maior e a DA (Caraci et al., 2010; Leonard, 2007). Em ambas doenças observa-se uma redução do aporte neurotrófico e estimulação de cascatas pró-inflamatórias (Diniz et al., 2009; Diniz et al., 2010; Diniz et al., 2010; Diniz et al., 2010; Forlenza et al., 2009; Forlenza et al., 2010; Forlenza et al., 2011). Síndrome da resistência insulina é um fator de risco tanto para depressão maior quanto para DA (Baker et al., 2011; Schrijvers et al., 2010; Pan et al., 2008; Rasgon e Kenna, 2005). Todas estas alterações estão associadas, direta ou indiretamente, ao aumento da atividade da GSK-3B.

Portanto, a depressão maior e a DA compartilham diversos mecanismos neurobiológicos em comum nos quais o aumento da atividade da GSK-3B

tem um papel central no seu desenvolvimento. Desta maneira, o aumento da atividade da GSK-3B pode ser um marcador de risco do desenvolvimento de alterações neurodegenerativas em pacientes idosos deprimidos, com o consequente aumento do risco de desenvolvimento futuro da doença de Alzheimer nestes sujeitos.

### *6.5. Limitações do estudo*

Algumas limitações devem ser levadas em consideração para uma melhor contextualização dos resultados deste trabalho. Em primeiro lugar, a casuística recrutada para este trabalho é composta de pacientes idosos deprimidos não-medicados com antidepressivos, tendo como grupo comparativo idosos saudáveis sem história psiquiátrica atual ou pregressa e sem déficits cognitivos. Esta amostra não usual pode inflar o risco de erro estatístico do tipo I. Porém, como não havia estudos anteriores sobre a atividade da GSK-3B em depressão geriátrica, esta estratégia de seleção de pacientes foi escolhida para se aumentar a especificidade dos resultados do estudo. Nestes caso, se a atividade da GSK3B fosse significativamente aumentada nos pacientes idosos deprimidos, esta diferença seria mais evidente com a seleção de pacientes deprimidos mais graves e idosos mais saudáveis.

Outro fator que limita a generalização destes dados é o pequeno número de idosos controles recrutados para este estudo e o seu desenho transversal. A exclusão de pacientes deprimidos que já estavam em uso de antidepressivos também limita a generalização dos resultados deste estudo, principalmente, com relação ao fato que o aumento da atividade da GSK3B possa ser um marcador de estado dos episódios depressivos.

A replicação destes resultados em amostras independentes e com maior número de pacientes e controles é necessário para a confirmação dos dados apresentados neste trabalho. Além disto, estudos com a avaliação longitudinal destes pacientes, com foco nas alterações de humor e cognitivas, assim como a avaliação do efeito do tratamento antidepressivo sobre a atividade enzimática, são necessários para confirmar ou refutar algumas hipóteses levantadas durante a discussão dos resultados deste trabalho.

### *6.6. Perspectivas Futuras*

A partir dos resultados, das hipóteses formuladas durante a interpretação e a discussão dos mesmos e das limitações metodológicas deste trabalho, estamos trabalhando para aumentar a amostra de idosos controles e também de idosos com depressão maior já em uso de antidepressivos para reforçar os achados atuais, principalmente sobre a atividade da GSK-3B como marcador de estado durante episódio depressivo. Além disto, planejamos avaliar o impacto da atividade da GSK-3B sobre a resposta terapêutica em pacientes idosos deprimidos e também se o uso de antidepressivos influencia a atividade plaquetária da GSK-3B. Finalmente, o acompanhamento a longo prazo dos idosos deprimidos permitirá avaliar se a atividade da GSK-3B é um preditor de risco para doença de Alzheimer nestes pacientes.

## 7. Conclusões

No presente estudo demonstramos que a atividade da GSK-3B está aumentada em idosos com depressão maior em relação a controles saudáveis. O aumento da atividade enzimática foi secundária a uma redução significativa das formas fosforiladas (inativas) da GSK-3B, não acompanhada por alterações na expressão proteica total. O aumento da atividade enzimática é mais pronunciado nos pacientes com episódios depressivos mais graves (tanto em relação a intensidade dos sintomas depressivos quanto a presença de déficits cognitivos mais graves). Desta maneira, o aumento da atividade da GSK-3B pode ser considerado um marcador de estado de episódios depressivos em idosos, particularmente nos pacientes com quadros mais graves. Além disto, o aumento da atividade desta enzima pode indicar a estimulação de cascatas neurodegenerativas durante o episódio depressivo, com implicações prognósticas importantes nestes pacientes.

## 8. Referências

Alexopoulos GS, Borson S, Cuthbert BN, Devanand DP, Mulsant BH, Olin JT, et al. Assessment of late life depression. *Biol Psychiatry*. 2002;52:164-74.

Alexopoulos GS, Kelly RE. Research advances in geriatric depression. *World Psychiatry*. 2009;8:140-9.

Alexopoulos GS, Meyers BS, Young RC, Campbell S, Silbersweig D, Charlson M. 'Vascular depression' hypothesis. *Arch Gen Psychiatry*. 1997;54(10):915-22.

Alexopoulos GS, Meyers BS, Young RC, Kakuma T, Silbersweig D, Charlson M. Clinically defined vascular depression. *Am J Psychiatry*. 1997;154(4):562-5.

Alexopoulos GS, Murphy CF, Gunning-Dixon FM, Latoussakis V, Kanellopoulos D, Klimstra S, et al. Microstructural white matter abnormalities and remission of geriatric depression. *Am J Psychiatry*. 2008;165:238-44.

Andrei AM, Fraguas R, Telles RM, Alves TC, Strunz CM, Nussbacher A, et al. Major depressive disorder and inflammatory markers in elderly patients with heart failure. *Psychosomatics*. 2007;48:319-24.

Avila R, Moscoso MA, Ribeiz S, Arrais J, Jaluul O, Bottino CM. Influence of education and depressive symptoms on cognitive function in the elderly. *Int Psychogeriatr*. 2009;21:560-7.

Baker LD, Cross DJ, Minoshima S, Belongia D, Watson GS, Craft S. Insulin

Resistance and Alzheimer-like Reductions in Regional Cerebral Glucose Metabolism for Cognitively Normal Adults With Prediabetes or Early Type 2 Diabetes. *Arch Neurol*. 2011;68(1):51-7.

Baldwin R, Jeffries S, Jackson A, Sutcliffe C, Thacker N, Scott M, et al. Treatment response in late-onset depression: relationship to neuropsychological, neuroradiological and vascular risk factors. *Psychol Med*. 2004;34:125-36.

Barcelos-Ferreira R, Izbicki R, Steffens DC, Bottino CM. Depressive morbidity and gender in community-dwelling Brazilian elderly: systematic review and meta-analysis. *Int Psychogeriatr*. 2010;22(5):712-26.

Barcelos-Ferreira R, Pinto JA, Nakano EY, Steffens DC, Litvoc J, Bottino CM. Clinically significant depressive symptoms and associated factors in community elderly subjects from Sao Paulo, Brazil. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2009;17:582-90.

Barry FA, Graham GJ, Fry MJ, Gibbins JM. Regulation of glycogen synthase kinase 3 in human platelets: a possible role in platelet function? *FEBS Letters*. 2003;553:173-8.

Bauer M, Adli M, Baethge C, Berghafer A, Sasse J, Heinz A, et al. Lithium augmentation therapy in refractory depression: clinical evidence and neurobiological mechanisms. *Can J Psychiatry*. 2003;48:440-8.

Beaulieu JM, Zhang X, Rodriguiz RM, Sotnikova TD, Cools MJ, Wetsel WC, et al. Role of GSK3 beta in behavioral abnormalities induced by serotonin

deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:1333-8.

Beaulieu JM. Not only lithium: regulation of glycogen synthase kinase-3 by antipsychotics and serotonergic drugs. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2007;10(1):3-6.

Beekman AT, Copeland JR, Prince MJ. Review of community prevalence of depression in later life. *Br J Psychiatry*. 1999;174:307-11.

Bell-McGinty S, Butters MA, Meltzer CC, Greer PJ, Reynolds CF, Becker JT. Brain morphometric abnormalities in geriatric depression: long-term neurobiological effects of illness duration. *Am J Psychiatry*. 2002;159:1424-7.

Berendsen HH. Interactions between 5-hydroxytryptamine receptor subtypes: is a disturbed receptor balance contributing to the symptomatology of depression in humans? *Pharmacol Ther*. 1995;66(1):17-37.

Beurel E, Jope RS. Glycogen synthase kinase-3 regulates inflammatory tolerance in astrocytes. *Neuroscience*. 2010;169:1063-70.

Blazer DG, Hughes DC, George LK. The epidemiology of depression in an elderly community population. *Gerontologist* 1987;27: 281-287.

Borsini F. Balance between cortical 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptor function: hypothesis for a faster antidepressant action. *Pharmacol Res*. 1994;30(1):1-11.

Brodaty H, Peters K, Boyce P, Hickie I, Parker G, Mitchell P, et al. Age and depression. *J Affect Disord*. 1991;23(3):137-49.

Brunoni AR, Lopes M, Fregni F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008;11:1169-80.

Caraci F, Copani A, Nicoletti F, Drago F. Depression and Alzheimer's disease: neurobiological links and common pharmacological targets. *Eur J Pharmacol.* 2010;626(1):64-71.

Castro-Costa E, Dewey M, Stewart R, Banerjee S, Huppert F, Mendonca-Lima C, et al. Prevalence of depressive symptoms and syndromes in later life in ten European countries: the SHARE study. *Br J Psychiatry.* 2007;191:393-401.

Castro-Costa E, Lima-Costa MF, Carvalhais S, Firmo JO, Uchoa E. Factors associated with depressive symptoms measured by the 12-item General Health Questionnaire in community-dwelling older adults (The Bambuí Health Aging Study). *Rev Bras Psiquiatr.* 2008;30:104-9.

Chachamovich E, Fleck M, Laidlaw K, Power M. Impact of major depression and subsyndromal symptoms on quality of life and attitudes toward aging in an international sample of older adults. *The Gerontologist.* 2008;48:593-602.

Chen R, Hu Z, Wei L, Qin X, McCracken C, Copeland J. Severity of depression and risk for subsequent dementia: cohort studies in China and the UK. *Br J Psychiatry.* 2008;193(5):373-7.

Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder, 4th edition – Text Revision. 2000. American Psychiatric Publishing, Inc. Arlington, USA.

Diniz BS, Nunes PV, Yassuda MS, Pereira FS, Flaks MK, Viola LF, Radanovic M, Abreu ID, Borelli DT, Gattaz WF, Forlenza OV. Mild cognitive impairment: cognitive screening or neuropsychological assessment? *Rev Bras Psiquiatr.* 2008;30(4):316-21.

Diniz BS, Teixeira AL, Ojopi EB, Talib LL, Mendonca VA, Gattaz WF, et al. Higher Serum sTNFR1 Level Predicts Conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2010;22(4):1305-11.

Diniz BS, Teixeira AL, Talib L, Gattaz WF, Forlenza O. Interleukin-1beta serum levels is increased in antidepressant-free elderly depressed patients. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2010;18:172-6.

Diniz BS, Teixeira AL, Talib LL, Mendonca VA, Gattaz WF, Forlenza OV. Serum brain-derived neurotrophic factor level is reduced in antidepressant-free patients with late-life depression. *World J Biol Psychiatry.* 2010;11(3):550-5.

Diniz BS, Teixeira AL, Talib LL, Mendonça VA, Gattaz WF, Forlenza O. Increased soluble TNF receptor 2 in antidepressant-free patients with late-life depression. *J Psychiatr Res.* 2010;44(14):917-20

Diniz, BS, Forlenza, OV *Depressão Geriátrica* In: *Depressão: do neurônio ao funcionamento social.* 1 ed. Sao Paulo: Artmed, 2008, v.1, p. 85-98.

Djernes JK. Prevalence and predictors of depression in populations of

elderly: a review. *Acta Psychiatr Scand*. 2006;113(5):372-87.

Doble BW, Woodgett JR. GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase. *J Cell Sci*. 2003;116(Pt 7):1175-86.

Dotson VM, Beydoun MA, Zonderman A. Recurrent depressive symptoms and the incidence of dementia and mild cognitive impairment. *Neurology*. 2010;75:27-34.

Du J, Wei Y, Liu L, Wang Y, Khairova R, Blumenthal R, et al. A kinesin signaling complex mediates the ability of GSK-3beta to affect mood-associated behaviors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(25):11573-8.

Dugo L, Collin M, Thiemermann C. Glycogen synthase kinase 3beta as a target for the therapy of shock and inflammation. *Shock*. 2007;27(2):113-23.

Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2006;59:1116-27.

Duric V, Banasr M, Licznanski P, Schmidt HD, Stockmeier CA, Simen AA, et al. A negative regulator of MAP kinase causes depressive behavior. *Nat Med*. 2010;16(11):1328-32.

Elderkin-Thompson V, Kumar A, Bilker WB, Dunkin JJ, Mintz J, Moberg PJ, et al. Neuropsychological deficits among patients with late-onset minor and major depression. *Arch Clin Neuropsychol*. 2003;18:529-49.

Elderkin-Thompson V, Mintz J, Haroon E, Lavretsky H, Kumar A. Executive dysfunction and memory in older patients with major and minor depression. *Arch Clin Neuropsychol*. 2007;22:261-70.

Fink M, Taylor MA. Resurrecting melancholia. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2007;115 (Suppl. 433):14-20.

First, M.B., Spitzer, L. R., Williams, M.G., Janet B.W. Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders, Research Version, Patient Edition. (SCID-I/P). 2002. New York: Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975;12(3):189-98.

Forlenza OV, Diniz BS, Talib LL, Mendonca VA, Ojopi EB, Gattaz WF, et al. Increased serum IL-1beta level in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2009;28(6):507-12.

Forlenza OV, Diniz BS, Teixeira AL, Ojopi EB, Talib LL, Mendonca VA, et al. Effect of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and serum levels on the progression of mild cognitive impairment. *World J Biol Psychiatry.* 2010;11(6):774-80.

Forlenza OV, Diniz BS, Talib LL, Radanovic M, Yassuda MS, Ojopi EB, Gattaz WF. Clinical and biological predictors of Alzheimer's disease in patients with amnesic mild cognitive impairment. *Rev Bras Psiquiatr.* 2010;32(3):216-22.

Forlenza OV, Torres CA, Talib LL, de Paula VJ, Joaquim HP, Diniz BS, et al. Increased platelet GSK3B activity in patients with mild cognitive impairment

and Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res.* 2011;45(2):220-4.

Gazalle FK, Lima MS, Tavares BF, Hallal PC. [Depressive symptoms and associated factors in an elderly population in southern Brazil]. *Rev Saude Publica.* 2004;38(3):365-71.

Gould TD, Einat H, Bhat R, Manji HK. AR-A014418, a selective GSK-3 inhibitor, produces antidepressant-like effects in the forced swim test. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2004;7:387-90.

Gould TD, Manji HK. Glycogen synthase kinase-3: a putative molecular target for lithium mimetic drugs. *Neuropsychopharmacology.* 2005;30(7):1223-37.

Grabovich A, Lu N, Tang W, Tu X, Lyness JM. Outcomes of subsyndromal depression in older primary care patients. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2010;18(3):227-35.

Grimes CA, Jope RS. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3beta in cellular signaling. *Prog Neurobiol.* 2001;65(4):391-426.

Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960; 23: 56-62.

Hanada M, Feng J, Hemmings BA. Structure, regulation and function of PKB/AKT--a major therapeutic target. *Biochim Biophys Acta.* 2004;1697(1-2):3-16.

Herrmann LL, Goodwin GM, Ebmeier KP. The cognitive neuropsychology of depression in the elderly. *Psychol Med.* 2007;37:1693-702.

Herrmann LL, Le Masurier M, Ebmeier KP. White matter hyperintensities in late life depression: a systematic review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79:619-24.

Hooper C, Killick R, Lovestone S. The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2008;104:1433-9.

Hsiung SC, Adlersberg M, Arango V, Mann JJ, Tamir H, Liu KP. Attenuated 5-HT<sub>1A</sub> receptor signaling in brains of suicide victims: involvement of adenylyl cyclase, phosphatidylinositol 3-kinase, Akt and mitogen-activated protein kinase. *J Neurochem*. 2003;87(1):182-94.

Huang TL, Lee CT, Liu YL. Serum brain-derived neurotrophic factor levels in patients with major depression: effects of antidepressants. *J Psychiatr Res*. 2008;42:521-5.

Hye A, Kerr F, Archer N, Foy C, Poppe M, Brown R, et al. Glycogen synthase kinase-3 is increased in white cells early in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2005;373:1-4.

Inestrosa N, Arenas E. Emerging roles of Wnts in the adult nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2010;11(2):77-86

Inestrosa NC, Arenas E. Emerging roles of Wnts in the adult nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2010;11(2):77-86.

Janssen J, Hulshoff Pol HE, de Leeuw FE, Schnack HG, Lampe IK, Kok R, et al. Hippocampal volume and subcortical white matter lesions in late life depression: comparison of early and late onset depression. *J Neurol*

Neurosurg Psychiatry. 2007;78:638-40.

Jope RS, Roh MS. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3) in psychiatric diseases and therapeutic interventions. *Curr Drug Targets*. 2006;7:1421-34.

Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics. *Neurochem Res*. 2007;32:577-95.

Jorm AF, Christensen H, Korten AE, Jacomb PA, Henderson AS. Memory complaints as a precursor of memory impairment in older people: a longitudinal analysis over 7-8 years. *Psychol Med*. 2001;31(3):441-9.

Kaidanovich-Beilin O, Milman A, Weizman A, Pick CG, Eldar-Finkelman H. Rapid antidepressive-like activity of specific glycogen synthase kinase-3 inhibitor and its effect on beta-catenin in mouse hippocampus. *Biol Psychiatry*. 2004;55:781-4.

Karege F, Perroud N, Burkhardt S, Schwald M, Ballmann E, La Harpe R, et al. Alteration in kinase activity but not in protein levels of protein kinase B and glycogen synthase kinase-3beta in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Biol Psychiatry*. 2007;61:240-5.

Klein PS, Melton DA. A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:8455-9.

Koenig HG, Blazer DG. Epidemiology of geriatric affective disorders. *Clin Geriatr Med*. 1992;8(2):235-51.

Krishnan KR, Taylor WD, McQuoid DR, Macfall JR, Payne M, Provenzale JM, et al. Clinical characteristics of magnetic resonance imaging-defined

subcortical ischemic depression. *Biol Psychiatry*. 2004;55:390-7.

Kumamaru E, Numakawa T, Adachi N, Yagasaki Y, Izumi A, Niyaz M, et al. Glucocorticoid prevents brain-derived neurotrophic factor-mediated maturation of synaptic function in developing hippocampal neurons through reduction in the activity of mitogen-activated protein kinase. *Mol Endocrinol*. 2008;22(3):546-58.

Lautenschlager NT, Flicker L, Vasikaran S, Leedman P, Almeida OP. Subjective memory complaints with and without objective memory impairment: relationship with risk factors for dementia. *Am J Geriatr Psychiatry* 2005;13:731-34.

Lee J, Kim MS. The role of GSK3 in glucose homeostasis and the development of insulin resistance. *Diabetes research and clinical practice*. 2007;77 Suppl 1:S49-57.

Leonard BE. Inflammation, depression and dementia: are they connected? *Neurochem Res*. 2007;32:1749-56.

Levy R, Dubois B. Apathy and the functional anatomy of the prefrontal cortex-basal ganglia circuits. *Cereb Cortex*. 2006;16(7):916-28.

Li X, Liu M, Cai Z, Wang G. Regulation of glycogen synthase kinase-3 during bipolar mania treatment. *Bipolar Disord*. 2010;12(7):741-52.

Li X, Rosborough KM, Friedman AB, Zhu W, Roth KA. Regulation of mouse brain glycogen synthase kinase-3 by atypical antipsychotics. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2007;10:7-19.

Lyons WE, Mamounas LA, Ricaurte GA, Coppola V, Reid SW, Bora SH, et al. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:15239-44.

Maes M, Yirmiya R, Noraberg J, Brene S, Hibbeln J, Perini G, et al. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: leads for future research and new drug developments in depression. *Metab Brain Dis*. 2009;24:27-53.

Mai L, Jope RS, Li X. BDNF-mediated signal transduction is modulated by GSK3beta and mood stabilizing agents. *J Neurochem*. 2002;82:75-83.

Matriciano F, Bonaccorso S, Ricciardi A, Scaccianoce S, Panaccione I, Wang L, et al. Changes in BDNF serum levels in patients with major depression disorder (MDD) after 6 months treatment with sertraline, escitalopram, or venlafaxine. *J Psychiatr Res*. 2009;43:247-54.

Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry*. 2009;65:732-41.

Mishra R, Barthwal MK, Sondarva G, Rana B, Wong L, Chatterjee M, et al. Glycogen synthase kinase-3beta induces neuronal cell death via direct phosphorylation of mixed lineage kinase 3. *J Biol Chem*. 2007;282:30393-405.

Modrego PJ, Ferrández J. Depression in patients with mild cognitive

impairment increases the risk of developing dementia of Alzheimer type: a prospective cohort study. *Arch Neurol*. 2004;61:1290-3.

Muyllaert D, Kremer A, Jaworski T, Borghgraef P, Devijver H, Croes S, et al. Glycogen synthase kinase-3beta, or a link between amyloid and tau pathology? *Genes Brain Behav* 2008;7 (Suppl 1):57-66.

Nebes RD, Pollock BG, Houck PR, Butters MA, Mulsant BH, Zmuda MD, et al. Persistence of cognitive impairment in geriatric patients following antidepressant treatment: a randomized, double-blind clinical trial with nortriptyline and paroxetine. *J Psychiatr Res*. 2003;37:99-108.

Nebes RD, Reynolds CF, Boada F, Meltzer CC, Fukui MB, Saxton J, et al. Longitudinal increase in the volume of white matter hyperintensities in late-onset depression. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2002;17:526-30.

Nunes PV, Diniz BS, Radanovic M, Abreu ID, Borelli DT, Yassuda MS, et al. CAMcog as a screening tool for diagnosis of mild cognitive impairment and dementia in a Brazilian clinical sample of moderate to high education. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2008;23(11):1127-33.

O'Brien WT, Klein PS. Regulation of glycogen synthase kinase-3 in patients with affective disorders. *Biol Psychiatry*. 2007;61:139-41.

Ownby RL, Crocco E, Acevedo A, John V, Loewenstein D. Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63:530-8.

Pan A, Ye X, Franco OH, Li H, Yu Z, Zou S, et al. Insulin resistance and

depressive symptoms in middle-aged and elderly Chinese: findings from the Nutrition and Health of Aging Population in China Study. *J Affect Disord.* 2008;109:75-82.

Pandey GN, Ren X, Rizavi HS, Dwivedi Y. Glycogen synthase kinase-3beta in the platelets of patients with mood disorders: effect of treatment. *J Psychiatr Res.* 2010;44:143-8.

Patel S, Doble B, Woodgett JR. Glycogen synthase kinase-3 in insulin and Wnt signalling: a double-edged sword? *Biochem Soc Trans.* 2004;32(Pt 5):803-8.

Peineau S, Bradley C, Taghibiglou C, Doherty A, Bortolotto ZA, Wang YT, et al. The role of GSK-3 in synaptic plasticity. *Br J Pharmacol.* 2008;153 (Suppl. 1): S428-37.

Piccinni A, Marazziti D, Catena M, Domenici L, Del Debbio A, Bianchi C, et al. Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments. *J Affect Disord.* 2008;105:279-83.

Rapp MA, Dahlman K, Sano M, Grossman HT, Haroutunian V, Gorman JM. Neuropsychological differences between late-onset and recurrent geriatric major depression. *Am J Psychiatry.* 2005;162:691-8.

Rasgon NL, Kenna HA. Insulin resistance in depressive disorders and Alzheimer's disease: revisiting the missing link hypothesis. *Neurobiol Aging.* 2005;26 (Suppl. 1):103-7.

Roh MS, Kang UG, Shin SY, Lee YH, Jung HY, Juhn YS, et al. Biphasic changes in the Ser-9 phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  after electroconvulsive shock in the rat brain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003;27(1):1-5.

Roth M, Tym E, Mountjoy CQ, Huppert FA, Hendrie H, Verma S, et al. CAMDEX: A Standardized Instrument for the Diagnosis of Mental Disorders in the Elderly with Special Reference to Early Detection of Dementia. *Br J Psychiatry* 1986;149:698-709.

Rowe MK, Wiest C, Chuang DM. GSK-3 is a viable potential target for therapeutic intervention in bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2007;31:920-31.

Rylatt DB, Aitken A, Bilham T, Condon GD, Embi N, Cohen P. Glycogen synthase from rabbit skeletal muscle. Amino acid sequence at the sites phosphorylated by glycogen synthase kinase-3, and extension of the N-terminal sequence containing the site phosphorylated by phosphorylase kinase. *Eur J Biochem*. 1980;107(2):529-37.

Ryves WJ, Harwood AJ. The interaction of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) with the cell cycle. *Prog Cell Cycle Res*. 2003;5:489-95.

Schrijvers EM, Witteman JC, Sijbrands EJ, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM. Insulin metabolism and the risk of Alzheimer disease: the Rotterdam Study. *Neurology*. 2010;75(22):1982-7.

Shapira M, Licht A, Milman A, Pick CG, Shohami E, Eldar-Finkelman H. Role

of glycogen synthase kinase-3beta in early depressive behavior induced by mild traumatic brain injury. *Mol Cell Neurosci*. 2007;34(4):571-7.

Shi Y, You J, Yuan Y, Zhang X, Li H, Hou G. Plasma BDNF and tPA are associated with late-onset geriatric depression. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2010;64:249-54.

Sirerol-Piquer M, Gomez-Ramos P, Hernández F, Perez M, Morán M, Fuster-Matanzo A, et al. GSK3 $\beta$  overexpression induces neuronal death and a depletion of the neurogenic niches in the dentate gyrus. *Hippocampus*. 2010 [Epub ahead of print].

Smolin B, Klein E, Levy Y, Ben-Shachar D. Major depression as a disorder of serotonin resistance: inference from diabetes mellitus type II. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2007;10:839-50.

Steffens DC, Otey E, Alexopoulos GS, Butters MA, Cuthbert B, Ganguli M, et al. Perspectives on depression, mild cognitive impairment, and cognitive decline. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63:130-8.

Steffens DC, Potter GG. Geriatric depression and cognitive impairment. *Psychol Med*. 2008;38:163-75.

Teixeira AL, Barbosa IG, Diniz BS, Kummer A. Circulating levels of brain-derived neurotrophic factor: correlation with mood, cognition and motor function. *Biomark Med*. 2010;4(6):871-87.

Teodorczuk A, Firbank MJ, Pantoni L, Poggesi A, Erkinjuntti T, Wallin A, et al. Relationship between baseline white-matter changes and development of

late-life depressive symptoms: 3-year results from the LADIS study. *Psychol Med.* 2010;40:603-10.

Teodorczuk A, O'Brien JT, Firbank MJ, Pantoni L, Poggesi A, Erkinjuntti T, et al. White matter changes and late-life depressive symptoms: longitudinal study. *Br J Psychiatry.* 2007;191:212-7.

van den Biggelaar AH, Gussekloo J, de Craen AJ, Frølich M, Stek ML, van der Mast RC, et al. Inflammation and interleukin-1 signaling network contribute to depressive symptoms but not cognitive decline in old age. *Exp Gerontol* 2007;42:693-701.

Verhagen M, van der Meij A, van Deurzen PA, Janzing JGE, Arias-Vasquez A, Buitelaar JK, et al. Meta-analysis of the BDNF Val66Met polymorphism in major depressive disorder: effects of gender and ethnicity. *Mol Psychiatry.* 2010;15:260-71.

Wang QM, Fiol CJ, DePaoli-Roach AA, Roach PJ. Glycogen synthase kinase-3 beta is a dual specificity kinase differentially regulated by tyrosine and serine/threonine phosphorylation. *J Biol Chem.* 1994;269:14566-74.

Ziegenhorn AA, Schulte-Herbruggen O, Danker-Hopfe H, Malbranc M, Hartung HD, Anders D, et al. Serum neurotrophins--a study on the time course and influencing factors in a large old age sample. *Neurobiol Aging.* 2007;28:1436-45.



Apêndice I. Termo de consentimento livre e esclarecido.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:.....  
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M  F   
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....  
ENDEREÇO:..... Nº ..... APTO: .....  
BAIRRO:.....  
CIDADE .....  
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2. RESPONSÁVEL LEGAL .....  
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....  
DOCUMENTO DE IDENTIDADE:..... SEXO: M  F   
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....  
ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....  
BAIRRO: .....  
CIDADE: .....  
CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: A ATIVIDADE DA ENZIMA GSK-3 $\beta$  EM PACIENTES IDOSOS PORTADORES DE TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR: ASSOCIAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS, PSICOPATOLÓGICOS E COGNITIVOS

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Orestes Vicente Forlenza

CARGO/FUNÇÃO: Medico comissionado. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 65.590

PESQUISADOR EXECUTANTE: Breno Satler de Oliveira Diniz

CARGO/FUNÇÃO: Medico Pós-graduando. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 113.571

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto de Psiquiatria

SEM RISCO ( ) RISCO MÍNIMO ( X ) RISCO BAIXO ( ) RISCO MÉDIO ( )

RISCO MAIOR ( )

DURAÇÃO DA PESQUISA : 12 meses.

1 – Desenho do estudo e objetivo(s):

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa avaliar a atividade da enzima glicogênio sintase quinase 3 $\beta$  em pacientes idosos portadores de depressão maior em comparação com sujeitos controles.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros:

Entrevistas psiquiátrica e de avaliação cognitiva, incluindo os seguintes testes: SCID – DSM IV (entrevista estruturada para diagnóstico de transtornos mentais baseado nos critérios diagnósticos do DSM-IV) para diagnóstico de Síndrome Depressiva, a Escala de Depressão de Hamilton – 21 itens para a avaliação da gravidade de sintomas depressivos e a entrevista CAMDEX para a avaliação de status cognitivo. A atividade da enzima glicogênio sintase quinase 3 $\beta$  será realizada através de método ELISA a partir de amostras de sangue coletadas por punção venosa periférica em veia do antebraço. Não serão realizados avaliações clínicas ou procedimentos que não são rotineiros na avaliação de Episódios Depressivos durante este projeto.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados:

Avaliação psiquiátrica e cognitiva através da entrevista SCID-DSM-IV e CAMDEX e coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3:

Os desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3 são mínimos e relacionados principalmente à punção periférica da veia do antebraço.

5 – Benefícios para o participante:

Os pacientes que forem diagnosticados com quadros depressivos serão tratados de acordo com o que é preconizado na literatura médica atual a cerca do assunto.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar:

Não há.

7 – Garantia de acesso:

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr Orestes Vicente Forlenza, e o Investigador Executante é o Dr. Breno Satler de Oliveira Diniz que podem ser encontrados no endereço Instituto de Psiquiatria, Laboratório de Neurociência, 3º andar, telefone(s) 3069-7924. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappelq@hcnet.usp.br

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;  
09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;





Apêndice II. Artigo relacionado aos achados principais da tese publicado no periódico *The World Journal of Biological Psychiatry* (fator de impacto: 5,506 – ISI Web of Knowledge 2009).

Apêndice II. Artigo relacionado aos achados principais da tese publicado no periódico *The World Journal of Biological Psychiatry* (fator de impacto: 5,506 – ISI Web of Knowledge 2009).

