

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE BIOTECNOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CITALOPRAM SOBRE A CRISE EPILÉPTICA  
INDUZIDA NO MODELO *para<sup>bss1</sup>* de *Drosophila melanogaster***

**MARCOS PAULO DE OLIVEIRA**

Monografia apresentada à Coordenação do  
Curso de Biotecnologia, da Universidade  
Federal de Uberlândia, para obtenção do  
grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia – MG  
Julho – 2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
CURSO DE BIOTECNOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CITALOPRAM SOBRE A CRISE EPILÉPTICA  
INDUZIDA NO MODELO *para<sup>bss1</sup>* de *Drosophila melanogaster***

**MARCOS PAULO DE OLIVEIRA**

Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Júnior  
Ms. Jéssica Regina da Costa Silva

Monografia apresentada à Coordenação do  
Curso de Biotecnologia, da Universidade  
Federal de Uberlândia, para obtenção do  
grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia - MG  
Julho – 2018

*Dedico este espaço a eterna lembrança de todas pessoas  
que estiveram ao meu lado neste percurso e que  
somaram a minha vida experiências incríveis e  
momentos marcantes*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, minha mãe Marisa Cristina e minha irmã Nathália Cordeiro que me acompanham, me observam, me cuidam, me amam, incentivando a ser quem eu sou a qualquer momento e buscarem o melhor para me fortalecer.

A memória de meu falecido pai, Sebastião, que apesar de não ter me acompanhado neste percurso da universidade, me apoiou muito na infância em minhas escolhas sempre demonstrado amor e carinho para mim e minha irmã mesmo nos momentos mais difíceis.

Demonstro meu eterno carinho a Jane Pereira, seu filho e meu melhor amigo Kemps, a sua filha Kimberly e toda sua família, que fizeram meus dias ficarem mais vívidos, alegres e por me acolherem como parte da família. Obrigado por me cuidarem de mim de forma carinhosa durante todo este tempo e pelos momentos que passamos.

Agradeço aos meus velhos e verdadeiros amigos dos tempos de colégio, em especial Danilo Barbaresco, Matheus Henrique, Paulo Vitor, Antonio Neto, Romulo, Ana Clara, Joyce, Camila, Stefhany e Carol pelos tempos em que estivemos juntos, conversas e risadas que tivemos e que não serão esquecidas.

Aos grandes amigos que fiz na universidade que caminham ao meu lado, especialmente a: Larissa Caroline, Anna Clara Rios, Pedro Henrique Guedes, Camylla Medeiros e Maria Paula Camargo pelo companheirismo nos momentos difíceis, pelos conselhos e incentivo.

A minha turma, onde consegui cultivar amizades que me fizeram ter novas perspectivas, especialmente ao Filipe Cruz Naves e Luiz Felipe por serem grandes amigos e parceiros em qualquer hora.

A todos do LabGen que me acolheram de forma carinhosa e me ajudaram a amadurecer profissionalmente. Romualdo, Ana Paula, Jéssica, Luiza, Fabiola, Patrícia,

Tamiris, Mariana muito obrigado por fazer do laboratório uma nova casa para mim. Em especial aos professores, Carlos Ueira que me recebeu de portas abertas e por depositar muita de sua confiança em mim; Ana Maria Bonetti por ser esta pessoa incrível que ama e trata igualmente todas formas de vida e por ser uma excelente profissional e ao Luiz Carlos por ter orientado meu caminho nesta etapa final.

Muito obrigado a todos!

*A ciência as vezes pode não prever o amanhã, contudo podemos usá-la para trocar o medo do desconhecido pela esperança, pois ela é a forma que nos possibilita escolher como chegaremos lá*

## RESUMO

Epilepsia é atualmente a quarta doença neurológica mais ocorrente no mundo que afeta todas idades, sendo caracterizada principalmente pela presença de crises convulsivas recorrentes em curto tempo. A enfermidade também está relacionada a quadros de depressão e seu tratamento é afetado pelos antidepressivos devido a possíveis interações geradas com os fármacos e as próprias crises. O citalopram foi escolhido neste estudo como representante dos antidepressivos para avaliar a sua interação sobre a taxa de recuperação das crises no modelo para<sup>bss1</sup> de *Drosophila melanogaster*, a qual apresenta crises similares a de humanos e fenótipo fortemente característico. Testes referentes a toxicidade e indução de crise foram realizados para demonstrar os efeitos do citalopram sobre as moscas. Segundo a primeira análise, as diferentes doses não apresentaram toxicidade significativa ( $P < 0.05$ ) em relação ao controle. O teste de indução de crise após o tratamento com citalopram de forma aguda e crônica demonstrou resultados diversos em diferentes períodos de tempo analisados, contudo de forma geral a administração do fármaco reduziu a taxa de crises nas moscas de forma significativa ( $P < 0.05$ ) com base nos testes estatísticos.

Palavras-chave: epilepsia, citalopram, *Drosophila melanogaster*

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1.1. Epilepsia: um breve conceito</b> .....	1
<b>1.2. Citalopram e os inibidores seletivos de recaptação de serotonina</b> .....	3
<b>1.3. Citalopram e sua relação com a epilepsia</b> .....	4
<b>1.4. <i>Drosophila melanogaster</i>: um incrível modelo animal</b> .....	6
<b>1.5. <i>Drosophila melanogaster</i> como modelo de crises epiléticas</b> .....	7
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	10
<b>2.1. Objetivo Geral</b> .....	10
<b>2.2. Objetivos específicos</b> .....	10
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	11
<b>3.1. Moscas e sua alimentação</b> .....	11
<b>3.2. Teste de sobrevivência</b> .....	11
<b>3.3. Teste de indução de crise</b> .....	12
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	13
<b>4.1. Teste de sobrevivência</b> .....	13
<b>4.2. Teste de indução de crise</b> .....	14
<b>4.2.1. Resposta aguda do tratamento com citalopram</b> .....	16
<b>4.2.2. Resposta crônica do tratamento com citalopram</b> .....	19
<b>4.3. Possíveis alterações na expressão gênica</b> .....	20
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	21
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	23

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Epilepsia: um breve conceito

Epilepsia é um conjunto de desordens neurológicas que caracterizadas por crises convulsivas idiopáticas e recorrentes (BLUME et al., 2001; PANAYIOTOPOULOS, 2010). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que aproximadamente 50 milhões de pessoas no mundo são epiléticas. A maior parte desses pacientes, 80% deles, residem em países com baixo índice de desenvolvimento humano (IDH) e não tem tratamento adequado disponível. Esta condição está associada a problemas sociais e econômicos, é acompanhada de estigma social e exige maiores gastos para uma condição de vida satisfatória (MOSHÉ et al., 2015).

As crises convulsivas podem afetar qualquer pessoa, podendo ser secundárias a uma outra doença ou idiopática. Várias condições predis põe a ocorrência de crises convulsivas, desde o desbalanço entre a neurotransmissão excitatória e inibitória (RANG et al, 2015), mutações em receptores neuronais (HAWKINS et al., 2011), encefalopatas (KORENKE et al., 2004), fatores genéticos (NAKAYAMA, 2009) até processos inflamatórios (VEZZANI et al., 2011).

O termo “epilepsia” deriva do grego *epilambanein*, “tomar” ou “possuir”, porque acreditava-se na cultura grega que convulsões eram manifestações do sobrenatural e possessões demoníacas. Em meados de 400 A.C, Hipócrates em seu texto “A doença sagrada” foi o primeiro a atribuir que os sintomas das crises eram algum tipo de doença natural relacionada ao encéfalo sem nenhuma relação a algo divino. Contudo seus estudos não avançaram para explicar suas causas (PANAYIOTOPOULOS, 2010).



Durante a Idade Média, ela foi relacionada a bruxaria e muitas pessoas foram perseguidas por apresentar a doença (MASIA; DEVINSKY, 2000). Apenas em meados do século passado é que as pessoas com epilepsia começaram a receber tratamentos adequados para sua condição. Apesar disso a muitos ainda eram tratados como loucos e sofriam dentro de manicômios sob condições precárias (MASIA; DEVINSKY, 2000). Estes fatores influenciaram muito no atraso do desenvolvimento de práticas médicas para tratamento desta patologia. Atualmente várias organizações, como a *International League Against Epilepsy* (ILAE) e *International Bureau for Epilepsy* (IBE), procuram incentivar os estudos relacionados a doença e reduzir o seu estigma.

De acordo com as atuais definições as crises convulsivas são desencadeadas por despolarização anormal de uma população neuronal por desequilíbrio entre fatores excitatórios e inibitórios (CHEN et al, 2017). De modo geral, quando a despolarização afeta apenas um hemisfério cerebral, denomina-se “crise com início local”. Já a sua propagação a outras regiões do encéfalo caracteriza-se por ser uma “crise generalizada” (KORFF; SCHEFFER, 2013).

O tratamento atual da epilepsia ocorre, preferencialmente, pela administração de drogas anticonvulsivantes como a fenitoína (FT), o fenobarbital (FB), a carbamazepina (CBZ) e o ácido valproílico (AVP) (HANAYA; ARITA, 2016). Tais drogas modulam o equilíbrio entre os neurotransmissores excitatórios e inibitórios por ação em receptores específicos, normalmente canais iônicos voltagem-dependentes.

É frequente a comorbidade de epilepsia com transtornos mentais. Um dos transtornos mentais mais frequentes é a depressão. As crises convulsivas afetam a plasticidade neural e predispõe a sintomas negativos relacionados ao humor, afeto e relação social no paciente. Por isso é frequente a utilização de antidepressivos em associação aos antiepilépticos (SPECCHIO et al., 2004).

## 1.2. Citalopram e os inibidores seletivos de recaptção de serotonina

A classe de fármacos inibidores seletivos de recaptção de serotonina (ISRS) são compostos antidepressivos que atuam inibindo o transportador pré-sináptico de serotonina (do inglês, SERT). Antes de sua descoberta estavam disponíveis para tratamento de depressão apenas os fármacos inibidores de monoamino-oxidase (IMAO) e os antidepressivos tricíclicos (BALL; KILOH, 1959; GIBAS, 1953; LOPEZ-MUNOZ; ALAMO, 2009; SANDLER, 1990).

Visto o controverso perfil de segurança dos IMAO's e dos efeitos colaterais secundários dos ATC's, pesquisadores e empresas farmacêuticas promoveram estudos para desenvolver drogas que atuassem de forma específica sobre a inibição da recaptção das monoaminas (HANNON; HOYER, 2008).

A fluoxetina surgiu então como o primeiro representante dos ISRS desenvolvida pela companhia americana Eli Lilly em 1974 (CARLSSON; LINDQVIST, 1969). Sob o codinome "LY-110140", o seu protótipo foi testado e demonstrou ser 6 vezes mais potente e 100 vezes mais específico sobre a recaptção de serotonina que as outras classes (WONG et al., 1974). Com estes achados, a fluoxetina foi inicialmente distribuída na Bélgica e posteriormente aceita pela *Food and Drugs Administration* (FDA), organização que regulamenta medicamentos e alimentos nos Estados Unidos, e enfim disponibilizada ao mercado americano (LOPEZ-MUNOZ; ALAMO, 2009).

Em 1971, o Citalopram surgiu como derivado do Talopram (Lu 03-010) pela farmacêutica Lundbeck ao procurar por novos fármacos antidepressivos. Seu precursor se mostrou ser eficiente no bloqueio da recaptção de NA em testes in vitro, porém na triagem de testes clínicos mostrou ter um perfil de induzir os pacientes a pensamentos suicidas e por isso foi descontinuado (CARLSSON et al., 1969). O Citalopram (Lu 10-171) por sua vez se

mostrou mais potente em bloquear a recaptação de 5-HT e apresentar melhor perfil de segurança (HYTTEL, 1978).

Neste século, os ISRS são a primeira via de tratamento contra a depressão pois, de modo geral, apresentam melhor perfil de segurança devido ao seu design racionalizado, demonstrando que seus efeitos colaterais tendem a ser correlacionados ao elevação de serotonina na fenda sináptica (CIPRIANI et al., 2018; FERGUSON, 2001; HIERONYMUS et al., 2017). O Citalopram é atualmente comercializado tanto como racemato ou como escitalopram, produto que contém apenas o enantiômero S(+)-citalopram demonstrado como a forma mais potente sobre a inibição SERT (SÁNCHEZ, 2006).

### **1.3. Citalopram e sua relação com a epilepsia**

Desde sua descoberta, os primeiros antidepressivos já levantavam alguns questionamentos sobre seu perfil de segurança para utilização. Em meados de 1970 já se sabia que alguns dos antidepressivos inibidores de monoamino-oxidase inibiam irreversivelmente ambas de suas isoformas A e B e poderiam causar hipertensão, baixa absorção de tiramina e até o quadro de síndrome serotoninérgica caso em associação com outros fármacos ou precursores que elevavam a disponibilidade da serotonina na fenda sináptica (LOPEZ-MUNOZ; ALAMO, 2009).

Com o advento dos ISRS e o desenho racional de fármacos, certos efeitos colaterais considerados perigosos dos antigos fármacos reduziram substancialmente. Contudo, estudos comparativos em pessoas que possuem certas patologias e consomem ISRS surgiram a fim de procurar evidências de sua segurança ou relatar interações (LOPEZ-MUNOZ; ALAMO, 2009).

Pesquisas recentes mostraram a capacidade citotóxica de certos ISRS sobre células tumorais (SAKKA et al., 2017), da atuação em recuperar memórias de curto prazo na Doença de Alzheimer (BARTELS et al., 2018; ZHANG et al., 2018), da importância sobre a modulação da resposta inflamatória (SACRE et al., 2010; VEZZANI et al., 2011), da capacidade de modular a expressão gênica em *Drosophila melanogaster* e de sua relação com a epilepsia (VERMOESEN et al., 2012).

Ao se tratar das interações do ISRS com a epilepsia nota-se controvérsia em sua utilização para tratamento de depressão em pacientes epiléticos. Alguns trabalhos na literatura indicam relação bidirecional entre as vias envolvidas na depressão e epileptogênica fazendo ligação entre serotonina, receptores serotoninérgicos, ácido gama-aminobutírico (GABA) e o glutamato (KANNER, 2011). Em um dos primeiros estudos em relação ao tema, pesquisadores demonstraram significativa elevação dos níveis de 5-HT no encéfalo de ratos após o tratamento com vários tipos de fármacos anticonvulsivos (BONNYCASTLE; GIARMAN; PAASONEN, 1957).

Em relação a serotonina existem 7 tipos de receptores 5-HT distribuídos em todo o organismo humano. Sua nomenclatura é representada por 5-HT seguida pelo número subscrito do tipo de receptor junto ao subtipo (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, por exemplo). Seis tipos de receptores estão acoplados a proteína G (5-HT<sub>1,2,4,5,6</sub>), desses: Três estão acoplados a proteína Gs (5-HT<sub>4,6,7</sub>); Dois estão acoplados a proteína Gi (5-HT<sub>1,5</sub>) e um acoplado a proteína Gq (5-HT<sub>2</sub>). O receptor 5-HT<sub>3</sub> está acoplado a canal iônico ativado por ligante e tem efeito primordialmente excitatório (HANNON; HOYER, 2008).

O *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) disponibiliza a via serotoninérgica em humanos e nota-se a atuação da 5-HT sobre os diversos de seus receptores pré e pós-sinápticos (Figura 1) de forma ilustrada.



hereditariedade liderada por Thomas Hunt Morgan e seus alunos, A.H Sturtevant; C.B. Bridges; H.J. Muller em 1910 na Universidade da Columbia. Morgan e seu grupo conseguiram demonstrar, com o primeiro mapa genético, que os genes estavam organizados linearmente em uma ordem (ARIAS, 2008).

Mais tarde, juntamente a pesquisas envolvendo não-disjunção cromossômica, postulou-se que a hereditariedade era devido a transferência dos genes que por sua vez eram parte dos cromossomos (ARIAS, 2008). Não obstante, Morgan foi laureado com o prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1933 pela sua teoria da hereditariedade cromossômica e Muller, seu aluno, recebeu-o mais tarde em 1946 por demonstrar o efeito mutagênico que a radiação ionizante causa sobre os mesmos (RUBIN; LEWIS, 2000).

As pesquisas com a mosca-da-fruta não se mantiveram apenas no enfoque da genética clássica. Como modelo, a *Drosophila* se mostrou valiosa por apresentar requisitos favoráveis para seu estudo devido ao seu pequeno porte, elevado número de indivíduos por geração, curto tempo de vida, baixo custo de manutenção e possui várias similaridades com os processos biológicos humanos (PANDEY; NICHOLS, 2011).

O sucesso da espécie no estudo de diversas patologias já é muito bem documentado na literatura, os exemplos variam desde pesquisas da Doença de Alzheimer (CHAKRABORTY et al., 2011), da depressão (RIES et al., 2017) de processos inflamatórios (IGAKI et al., 2002) e até de quadros epiléticos (LÖSCHER, 1997; PARKER et al., 2011).

### **1.5. *Drosophila melanogaster* como modelo de crises epiléticas**

Existem aproximadamente 17 linhagens consideradas sensíveis a crises convulsivas de *Drosophila melanogaster* disponíveis (SARAS et al., 2016). Consegue-se encontrar no

*Bloomington Drosophila Stock Center* 15 linhagens únicas sensíveis a crises convulsivas por diversos fatores (Tabela 1).

Gene (Mosca)	Fenótipo mutante (Mosca)	Ortólogo humano
couch potato (cpo)	Sensível a choques mecânicos	Proteína de ligação ao RNA com múltiplos splicings
Easily shocked (eas)	Sensível a choques mecânicos	Etanolamina quinase (ETNK1)
ether a go-go (eag)	Sensível a choques mecânicos	Canais de potássio voltage-dependente
jitterbug (jbug)	Sensível a choques mecânicos	filaminas
kazachoc (kcc)	Sensível a choques mecânicos	Transportadores de potássio/cloro
knockdown (kdn)	Sensível a choques mecânicos	Citrato sintase
Letm1	-----	LETM1
paralytic (para)	Sensível a choques mecânicos	Canais de sódio voltage-dependente
seizure (sei)	Sensível a temperatura	Canais de potássio voltage-dependente
Shaker (Sh)	Problemas comportamentais/coordenação	Canais de potássio voltage-dependente
shaking B (shakB)	Problemas comportamentais/coordenação	Proteínas <i>gap junction</i>
slamdance (sda)	Sensível a choques mecânicos	Alanil aminopeptidase (ANPEP)
slowpoke (slo)	Sensível a temperatura	Canais de potássio/cálcio
stress-sensitive B (sesB)	Sensível a choques mecânicos	Translocador de nucleotídeo de adenina
technical knockout (tko)	Sensível a choques mecânicos	Proteína ribossomal mitocondrial S12 (MRPS12)

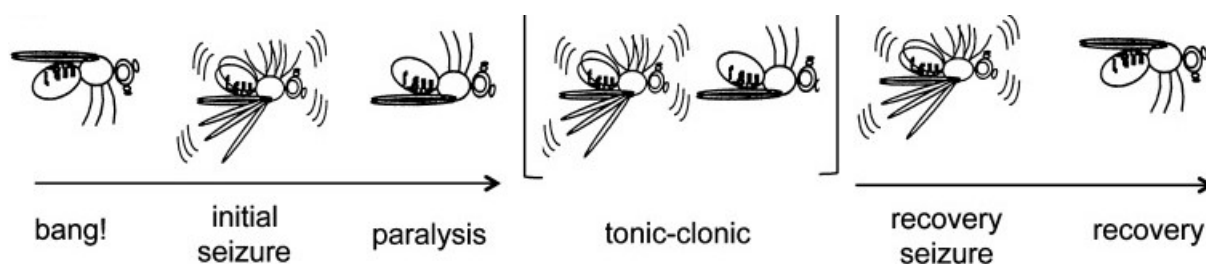
**Tabela 1: Linhagens de *Drosophila melanogaster* sensíveis a crises convulsivas.** A primeira coluna refere-se ao gene afetado que caracteriza o fenótipo mutante na segunda coluna, enquanto que a terceira coluna refere-se aos produtos dos genes ortólogos em humanos relacionados. Acesso: <https://bdsc.indiana.edu/stocks/hd/seizures.html>. Adaptado.

Os indivíduos da linhagem *bss*<sup>1</sup> demonstram ser relevantes para a pesquisa, visto que suas crises se assemelham em quase sua totalidade a crises convulsivas generalizadas em humanos. Apresenta um tipo de crise intratável e de natureza agressiva, visto que as moscas passam aproximadamente 4 minutos entre episódios convulsivos tônico-clônicos e paralisia (PARKER et al., 2011).

Considerando aspectos moleculares, a linhagem foi originada a partir de uma mutação pontual induzida pelo metano sulfonato de etila (do inglês, EMS), composto altamente mutagênico que, neste caso, gerou alteração na posição 5069pb (C > T) do gene *para* (*paralytic*) codificante do canal de sódio voltagem dependente Nav1-1 contendo, por sua vez, mudança do aminoácido lisina na posição 1676 para fenilalanina (L1676F) (PARKER et al., 2011).

Aspectos comportamentais como alimentação, acasalamento, geotaxia e fototaxia que se mantêm semelhantes ao tipo selvagem, ou seja normais, sendo que o fenótipo epiléptico característico ocorre apenas devido a choques-mecânicos provocados (PARKER et al., 2011).

A  $Na_v$  em *Drosophila melanogaster* é homologa a subunidade alfa 1 dos canais de sódio voltagem-dependentes (SCN1A) em humanos. Tais subunidades são responsáveis por transportar íons de sódio ao interior celular a partir da sua ativação por potencial elétrico. São compostas por 4 domínios homólogos (DI – DIV), sendo cada um dividido em 6 segmentos transmembrana (S1 – S6). Análises moleculares indicam que o segmento S4 trabalha como voltímetro para a corrente elétrica, enquanto a área entre os segmentos S5 e S6 atua como o próprio poro (PARKER et al., 2011).



**Figura 2: Esquema comportamental da linhagem mutante *para*<sup>bss1</sup>.** Após um estímulo (BANG!), a mosca entra em uma crise convulsiva inicial (1) seguido por um período de paralisia (2) que posteriormente retorna com crises do tipo tônico-clônico (3 e 4) e finalmente, começa a se recuperar ao estado normal (5 e 6). Este comportamento perdura por aproximadamente 3 a 5 minutos. Adaptado de Parker et al., 2011.



Perspectivamente é necessário um teste voltado aos efeitos agudos e crônicos do citalopram sobre a crise epilética, além da validação com dados por análise da expressão gênica e biofísicos por avaliação do potencial de ação dos neuronios das moscas tratadas em relação as não tratadas.

A partir de tais observações, o presente estudo se justifica por se utilizar de um modelo animal representativo da crise epilética intratável em humanos para se avaliar os efeitos agudos e crônicos do citalopram sobre a taxa de crises convulsivas induzidas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Demonstrar os efeitos modulatórios do citalopram sobre as crises convulsivas induzidas na linhagem para<sup>bss1</sup> de *Drosophila melanogaster* como um modelo de epilepsia para humanos.

### **2.2. Objetivos específicos**

Contribuir com dados científicos para validação do modelo para<sup>bss1</sup> como bom representante de crise epilética;

Observar os efeitos tóxicos do citalopram sobre a vida da mosca;

Observar os efeitos danosos causados pela indução de crise repetidamente;

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Moscas e sua alimentação

Para todos os experimentos descritos neste trabalho, foram utilizadas moscas da linhagem para<sup>bss1</sup> de *Drosophila melanogaster*. Para sua expansão, as moscas foram alimentadas com meio padrão bloomington. O meio de purê enriquecido foi utilizado como substrato para administração das doses de citalopram de forma oral nas moscas.

#### 3.2. Teste de sobrevivência

Foram coletadas moscas jovens da linhagem para<sup>bss1</sup> com intervalo de 0 a 5 dias após a eclosão e divididas em 5 grupos. Cada grupo foi subdividido em triplicatas, que por sua vez, continham aproximadamente 20 moscas em cada. O grupo controle recebeu o meio de purê enriquecido dissolvido em 5ml de água (veículo). Para os grupos de tratamento adicionou-se ao meio purê solução de citalopram diluído em água destilada nas concentrações 0,625mM, 1,25mM, 2,5mM e 5,0mM.

Após a administração das doses oralmente (alimentação no meio), a quantidade de mortes foi contabilizada em cada dia de experimento até que não houvessem mais indivíduos nos vials e a partir disto foi plotado um gráfico de sobrevivência no *software* GraphPad Prism (versão 7.0).

### 3.3. Teste de indução de crise

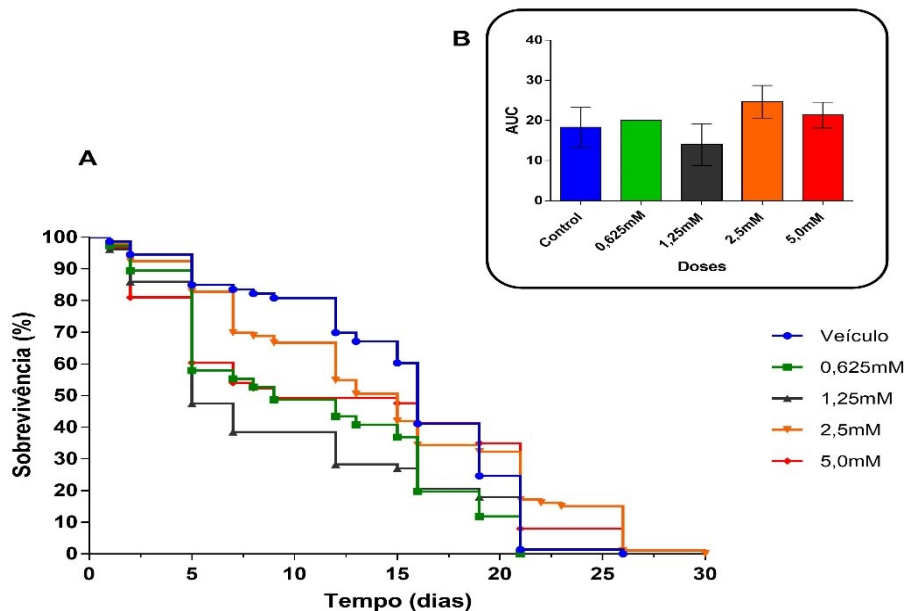
Foram coletadas 225 moscas da linhagem para<sup>bss1</sup> contendo de 0 a 5 dias pós-eclosão e distribuídas igualmente entre 4 grupos de tratamento e 1 grupo controle, todos em triplicata. Todos os grupos receberam como substrato 1g meio purê enriquecido. Nos grupos de tratamento foram administrados volumes de 5mL em concentrações de: 0,625mM, 1,25mM, 2,5mM, e 5mM, de citalopram, respectivamente. Já o grupo controle recebeu 5mL de água destilada (veículo). O meio foi trocado a cada 72 horas para manter a biodisponibilidade de citalopram.

Após 24, 48, 120, 168 horas a crise convulsiva foi induzida por 10 segundos de vortexagem no equipamento (Equipamento) de acordo com o protocolo proposto (HOWLETT et al., 2013). A partir disto foi contabilizado o número de moscas que retornaram da crise nos tempos de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 segundos.

Os dados foram analisados no *software* GraphPad Prism (versão 7.0). Cada gráfico (moscas que retornaram *versus* tempo) foi plotado para cada dia de testes. A análise dos resultados foi realizada por one-way ANOVA com teste *post hoc* Tukey para distribuições paramétricas e por teste Kuskal-Wallis com *post hoc* Dunn's para distribuições não paramétricas. Para a determinação da distribuição dos dados, foram realizados os testes de normalidade de D'Agostino-Pearson, Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Sminork.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Teste de sobrevivência



**Figura 3:** Gráfico de sobrevivência de *para<sup>bss1</sup>* após tratamento com citalopram. (A) evidenciando todos os tratamentos (0,625mM; 1,25mM; 2,5mM; 5,0mM) e o grupo veículo. (B) Representa a área sobre a curva (AUC) respectivos dos tratamentos em (A).

A análise estatística por ANOVA na área sobre a curva não indicou diferença significativa para nenhuma concentração usada ( $p < 0,05$ ). Visualmente, de forma geral os tratamentos com citalopram induziram certa mortalidade no início do teste, contudo o tempo total de sobrevivência das moscas da linhagem *para<sup>bss1</sup>* se manteve semelhante (aproximadamente 25 dias) para todos os grupos.

São escassos na literatura, dados que indicam a ação de antidepressivos com a modulação da sobrevivência dos modelos utilizados. No modelo de *Caenorhabditis elegans*, dois estudos controversos indicaram que a utilização de ISRS tanto diminuía relativamente o tempo de vida do verme (ZARSE; RISTOW, 2008) quanto aumentava em outras circunstâncias (PETRASCHECK; YE; BUCK, 2007).

Considerando que as doses utilizadas neste trabalho não surtiram efeitos toxicológicos visíveis, pode-se testar todas as doses para avaliar o efeito sobre a modulação de crise epiléptica.

#### 4.2. Teste de indução de crise

Os dados referentes a 24, 48 e 120 horas de tratamento demonstraram distribuição gaussiana pelos testes de normalidade D'Agostino-Pearson (n amostral pequeno para 24 e 48 horas), Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Sminork. A partir de 168 horas de tratamento, os dados passaram a ter distribuição não-paramétrica devido a redução do número de moscas a partir do aumento da mortalidade.

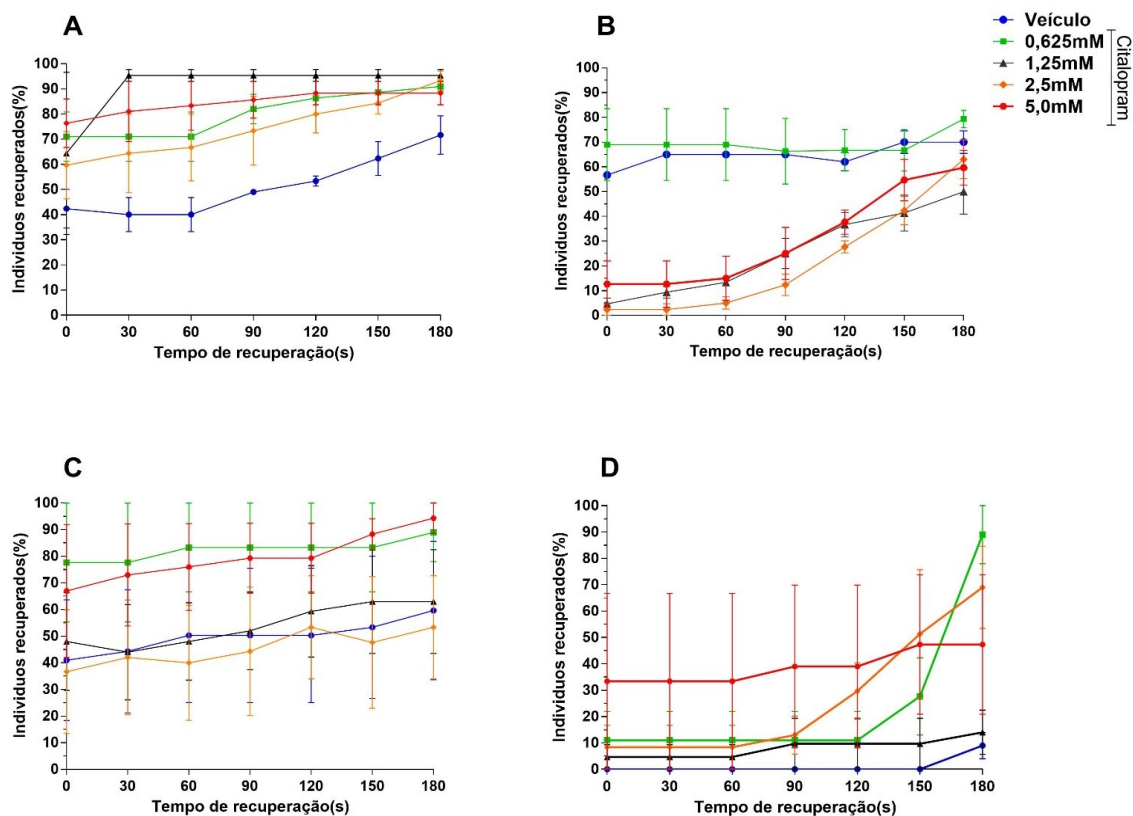


Figura 4: Resultados do tempo de crise epiléptica na linhagem para <sup>bss1</sup>. Após a administração do citalopram por via oral o teste de indução foi realizado para A) em 24 horas, B) 48 horas, C) 120 horas e D) 168

horas. Foram estatisticamente significantes ( $P < 0,05$ ) em relação ao veículo por ANOVA seguido por teste de Tukey: **(A)** 0,625mM (\*\*\*) ; 1,25mM (\*\*\*\*) ; 2,5mM (\*\*) ; 5,0mM (\*\*\*\*) ; **(B)** 1,25mM (\*\*\*) ; 2,5mM (\*\*\*) ; 5,0mM (\*\*); **(C)** 1,25mM (\*) ; 5,0mM (\*\*); e por Kruskal-Wallis seguido por teste de Dunn's: **(D)** 0,625mM (\*) ; 2,5mM (\*) ; 5,0mM (\*\*\*\*).

Em 24 horas (Figura 4A), a *one-way* ANOVA com teste *post hoc* de Tukey dos dados mostrou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias para todos os grupos tratados em relação ao controle. A taxa de recuperação dos tratamentos se manteve entre 60 a 80% no início do teste, enquanto que no controle 40% das moscas retornaram da crise no tempo inicial. Observa-se a crescente melhora das taxas de recuperação dos grupos tratados durante a passagem de tempo, indicando que a administração do citalopram nas doses determinadas foi eficaz em reduzir a crise.

Os resultados obtidos a partir de 48 horas de tratamento (Figura 4B) demonstraram que os grupos 1,25mM; 2,5mM e 5,0mM tiveram significativa ( $p < 0,05$ ) redução da taxa de recuperação em relação ao controle por *one-way* ANOVA com teste *post hoc* de Tukey. Contudo comparando-se a variação do número de moscas recuperadas desde o início até o final do teste se observa graficamente que os tratamentos dessas doses conseguiram reduzir substancialmente a quantidade de moscas em crise ao passar do tempo em contraste ao grupo controle e menor dose (0,625mM), onde o número de moscas recuperadas se mostrou relativamente similar por todo o teste.

Estatisticamente os resultados obtidos a partir do tratamento de 120 horas (Figura 4C) demonstraram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o grupo controle e os grupos 1,25mM e 5,0mM por ANOVA com teste *post hoc* de Tukey. Apesar do resultado estatístico, observa-se graficamente que os grupos de 5,0mM e 0,625mM tiveram maior taxa de moscas recuperadas.

Tal fato remete certa semelhança com os resultados obtidos após 24 horas de tratamento, em comparação aos grupos 1,25mM; 2,5mM e controle, onde se observa uma menor taxa de moscas recuperadas.

Para o tratamento após 168 horas (Figura 4D), a análise estatística de Kruskal-Wallis com teste *post hoc* de Dunn's demonstrou que os grupos 0,625mM; 2,5mM e 5,0mM tiveram diferença significativa em relação ao controle ( $P < 0,05$ ).

Analiticamente, no início do teste, as moscas de todos os grupos tiveram relevante piora na crise epiléptica em comparação aos outros dias, isto é evidenciado pelas taxas diminutas de moscas recuperadas para todos os grupos ( $< 30\%$ , exceto 5,0mM que demonstrou  $> 35\%$ ), vide o grupo controle que em média nenhuma mosca retornou até 150 segundos de avaliação. Contudo, é importante observar que os grupos 0,625mM e 5,0mM tiveram diferença de 80 e 70% de moscas recuperadas entre o final do teste e o início em comparação aos outros grupos que a diferença foi menor que 10%.

#### **4.2.1. Resposta aguda do tratamento com citalopram**

Sabe-se que o citalopram atua de forma inibitória sobre o receptor SERT em questão de minutos ou horas, contudo a resposta antidepressiva é favorecida apenas após semanas ou meses de tratamento (RANG; DALE, 2007).

Em humanos, o primeiro impacto da inibição seria o aumento da disponibilidade de 5-HT na fenda sináptica que rapidamente atuaria ativando os seus receptores neuronais pós-sinápticos, contudo um mecanismo de *feedback* negativo é iniciado no momento em que a serotonina se liga aos auto-receptores 5-HT<sub>1A</sub>.

O 5-HT<sub>1A</sub> é um receptor acoplado a proteína G inibitória (Gi) e sua ativação induz uma cascata de transdução de sinal que leva a inibição da enzima Adenilato Ciclase (AC),

induzindo diminuição dos níveis de AMP cíclico (AMPC) que por sua vez induz a diminuição da secreção de vesículas contendo 5-HT (RANG; DALE, 2007).

A comparação dos resultados entre 24 e 48 horas de tratamento na mosca indica relação da possível ação anticonvulsivante da 5-HT com o mecanismo farmacológico agudo do citalopram induzindo, em um primeiro momento, aumento nos níveis da monoamina e posteriormente a ação do *feedback* negativo, diminuindo o nível da 5-HT e consequentemente reduzindo os efeitos anticonvulsivantes.

Na figura, em C é observado reversão do quadro de 48 horas onde os grupos tratados com doses de 1,25mM e 5,0mM (estatisticamente) e 0,625mM (visualmente) obtiveram melhora na taxa de recuperação. Tal observação pode estar relacionada a possível neuroadaptação inicial do tratamento, como dessensibilização dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, tanto como a afinidade ou ação das diferentes concentrações sobre o organismo da mosca.

O presente estudo corrobora com dados da literatura, onde evidenciam que o aumento concentração de 5-HT na fenda sináptica melhora o quadro epiléptico com a provável ativação de moduladores ou receptores capazes de reduzir a crise em diversos modelos animais.

Alguns dados indicam as respostas celulares e farmacológicas do aumento de 5-HT na fenda sináptica a partir da utilização de antidepressivos já foram descritas por induzirem hiperpolarização de neurônios glutamatérgicos por ativação de receptores 5-HT<sub>1A</sub> e despolarização de neurônios GABAérgicos e serotoninérgicos por ativação de 5-HT<sub>2C</sub> e 5-HT<sub>3</sub> em diferentes circuitos no encéfalo de modelos murinos (BAGDY et al., 2007).

Foi demonstrado que a ativação do receptor 5-HT<sub>1A</sub> gera efeitos anticonvulsivantes após tratamento com citalopram (CLINCKERS et al., 2004). Outro estudo utilizando técnicas de clonagem e agonistas de receptores 5-HT, demonstrou sua participação em modular a



ativação de receptores GABA<sub>A</sub> no córtex pré-frontal de ratos por mecanismo de proteína quinase C (PKC) (FENG et al., 2001; RIES et al., 2017).

Em um estudos utilizando o modelo GEFR, demonstrou-se grande liberação de serotonina no hipocampo dos ratos após tratamento com o antiepiléptico carbamazepina (CZ) (DAILEY et al., 1997). Mostrando a potencial função deste neurotransmissor em modular de alguma forma a crise epilética.

Em contraste existem relatos de caso demonstrando a indução de crises convulsivas em pacientes que possuíam altos níveis de metabólitos após o uso excessivo de doses de ATC's. Outros estudos indicam que a atuação do receptor 5-HT<sub>2C</sub> controversamente tem importante participação na formação da crise epilética induzida por cocaína em roedores (DELL et al., 2000). Enquanto que um estudo sugere que a ativação dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>2A/C</sub> e 5-HT<sub>1A</sub> por agonistas não produz efeitos anticonvulsivantes (WATANABE et al., 2000).

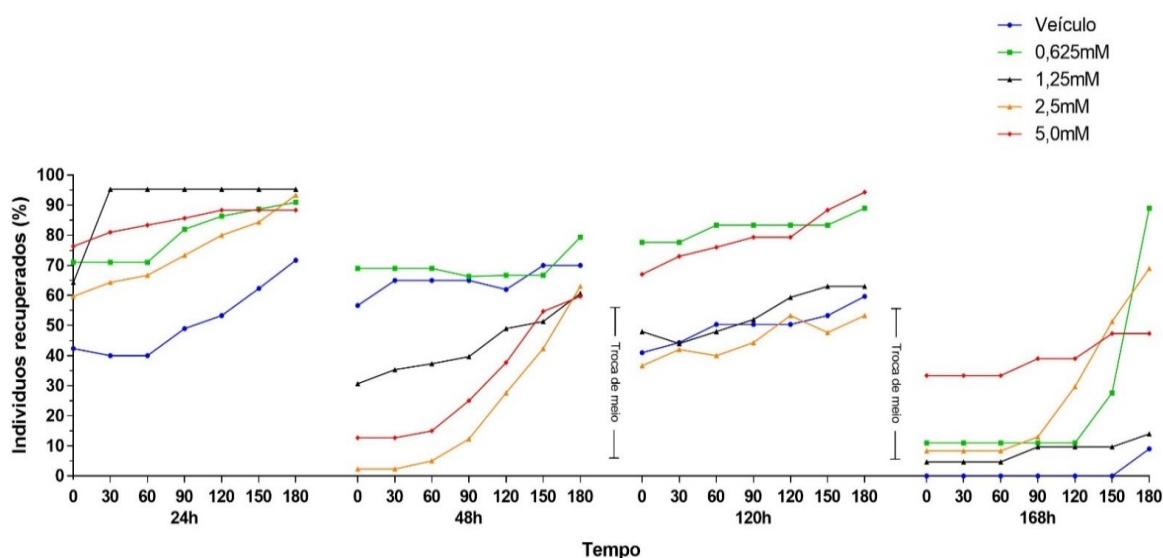
Apesar de a maioria dos estudos relacionando a ação de 5-HT e crises convulsivas terem sido realizados em modelos mamíferos como camundongos, a *Drosophila melanogaster* compartilha similaridades com humanos quanto a algumas classes de receptores serotoninérgicos como 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>7</sub> (HEN, 1992; HUSER et al., 2017).

Além disso existe relativa similaridade entre os sistemas nervosos centrais de moscas e de seres humanos no que se diz respeito a quantidade de neurotransmissores e alguns tipos celulares compartilhados entre os dois organismos. Em conjunto com a diversidade de ferramentas disponíveis atualmente, possibilita-se que a *Drosophila* seja um organismo modelo válido para o estudo de doenças neurológicas em humanos (SHULMAN et al., 2003).

#### 4.2.2. Resposta crônica do tratamento com citalopram

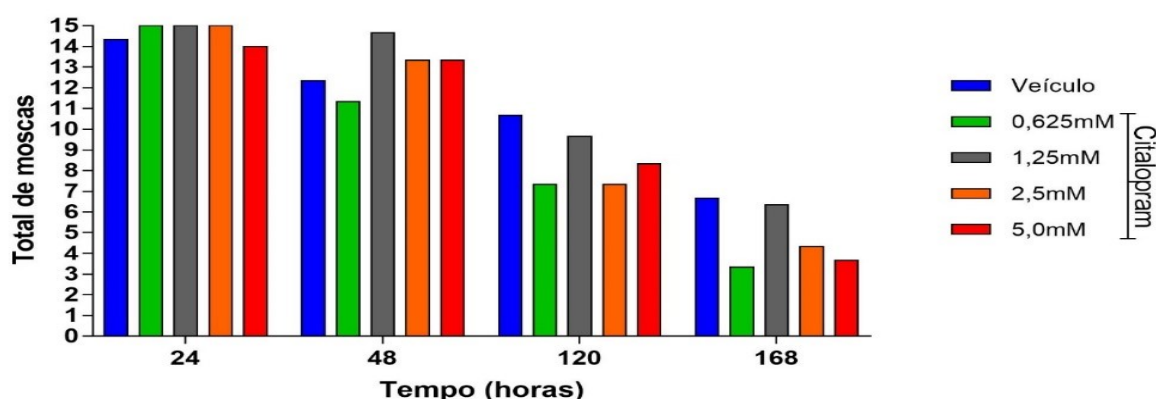
Em relação aos resultados crônicos (168 horas de tratamento) o presente trabalho mostra que tanto os grupos tratados quanto o controle tiveram relevante piora no quadro da crise, observado pela taxa de moscas recuperadas. Aqui é necessário pontuar 2 possíveis interferências.

Em primeiro lugar apesar da pequena taxa de recuperação no início do tratamento, durante o experimento as moscas dos grupos 0,625mM, 2,5mM e 5mM mostraram se recuperar em maior taxa quando comparados ao grupo controle e 1,25mM. Tal resultado também é facilmente observado nos grupos 1,25mM, 2,5mM e 5mM em 48 horas de tratamento, mostrando que o citalopram consegue melhorar a taxa de recuperação das moscas em crise em maior grau que o grupo controle (Figura 6).



**Figura 5: Comparativo entre todos os dias de tratamento no teste de indução de crise em para<sup>bss1</sup> para cada dose utilizada.** Neste contexto foram adicionados os dias em que foram trocados os meios utilizados no tratamento.

Sequentemente observa-se o aumento na taxa de mortalidade das moscas durante a passagem de tempo entre os testes (Figura 7). Tal característica pode estar associada proporcionalmente ao acúmulo do número de crises induzidas nos testes anteriores, demonstrando que as crises aumentam a taxa de mortalidade nas moscas, isto se torna evidente ao se comparar a taxa de mortes deste teste com a taxa de mortes no teste de sobrevivência, no qual nenhuma crise foi induzida propositalmente.



**Figura 6: Mortalidade no teste de indução de crise na *para<sup>bss1</sup>*.** Relação da quantidade de moscas totais vivas para cada dia de teste de indução de crise na linhagem *para<sup>bss1</sup>*.

### 4.3. Possíveis alterações na expressão gênica

O avanço das técnicas de biologia molecular, biologia de sistemas e bioinformática nas últimas décadas proporcionou aos pesquisadores novos meios para explicar ou testar suas teorias, além de informar com detalhes a níveis genéticos ou celulares sobre mecanismos pouco explicados. A junção das três áreas nos permite fazer um paralelo entre formas indiretas e pouco intuitivas que o citalopram pode induzir a redução na crise das moscas.

Com base no estudo que analisou a alteração na expressão gênica na linhagem *Canton S.* de *Drosophila melanogaster* após o tratamento crônico com citalopram, evidencia-se que o

fármaco foi capaz de modular a expressão de 361 genes em 1,25mM e 233 genes em 5,0mM (JÚNIOR, 2017).

Níveis de alteração na expressão gênica de produtos relacionados a processos inflamatórios também foram descritos no mesmo trabalho como a redução da expressão gene Cam da via Toll-imd. Estudos já identificaram a relação intrínseca entre o desenvolvimento de processos inflamatórios na depressão e também na epilepsia e a sua redução com o tratamento com citalopram ou ISRS (HUNG et al., 2016; SACRE et al., 2010; XIWEI ZHENG, CONG BI, MARISSA BROOKS, 2015).

## 5. CONCLUSÃO

Os dados indicaram variação da taxa de recuperação em diferentes dias, no geral o tratamento em diferentes doses demonstrou efetividade na recuperação das moscas e redução do tempo total de crise quando se comparado ao grupo controle para o teste de indução de crise, enquanto que não observou-se toxicidade frente a concentração das doses no teste de sobrevivência.

Correlacionando os resultados obtidos neste trabalho com os dados descritos na literatura, observa-se que a modulação da crise epiléptica no modelo para<sup>bss1</sup> pelo citalopram tem grande probabilidade de ocorrer de forma indireta pelo aumento da concentração da serotonina na fenda sináptica e por possíveis alterações na expressão gênica em tratamento crônico.

As variações negativas observadas podem ser pontuadas como possíveis interferências de outros fatores, tanto internos, como: Ação de penetrância e expressividade do alelo mutante da mosca; acúmulo de fatores estressantes a cada crise estimulada, dentre outros ou fatores externos como: As doses utilizadas, número amostral e outros.

Apesar das diferenças entre humanos e moscas, principalmente em relação ao sistema nervoso pode-se traçar paralelos entre ambos organismos devido a quantidade de fenótipos patológicos humanos já induzidos em *Drosophila*, principalmente neurológicos, como doença de alzheimer e epilepsia e a semelhança de comportamento quando aplicação de tratamento, indicando a validade do teste experimental de drogas sobre tal modelo. Sendo assim, o modelo se mostrou útil para avaliar os efeitos específicos do tratamento com citalopram sobre a condição epiléptica induzida nas moscas.

Perspectivamente ainda é necessário obter maior quantidade de dados para realçar tais resultados obtidos neste estudo. Análises moleculares após o tratamento com citalopram sobre os receptores 5-HT são indicados para avaliar os seus efeitos modulatórios sobre a crise, assim como testes eletrofisiológicos para quantificar o potencial elétrico neuronal após o tratamento.

## 6. REFERÊNCIAS

ARIAS, A. M. *Drosophila melanogaster* and the Development of Biology in the 20th Century. **Methods in Molecular Biology**, v. 420, p. 1–25, 2008.

BAGDY, G. et al. Serotonin and epilepsy. **Journal of Neurochemistry**, v. 100, n. 4, p. 857–873, 2007.

BALL, J. R.; KILOH, L. G. A controlled trial of imipramine in treatment of depressive states. **British medical journal**, v. 2, n. 5159, p. 1052–5, 1959.

BARTELS, C. et al. Impact of SSRI therapy on risk of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's dementia in individuals with previous depression. **American Journal of Psychiatry**, v. 175, n. 3, p. 232–241, 2018.

BLUME, W. T. et al. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: Report of the ILAE Task Force on classification and terminology. **Epilepsia**, v. 42, n. 9, p. 1212–1218, 2001.

BONNYCASTLE, D. D.; GIARMAN, N. J.; PAASONEN, M. K. Anticonvulsant Compounds and 5-Hydroxy-Tryptamine in Rat Brain. **Brit. J. Pharmacol**, v. 532, n. 12, p. 2–5, 1957.

CARLSSON, A. et al. Effect of antidepressant drugs on the depletion of intraneuronal brain 5-hydroxytryptamine stores caused by 4-methyl- $\alpha$ -ethyl-meta-tyramine. **European Journal of Pharmacology**, v. 5, n. 4, p. 357–366, 1969.

CARLSSON, A.; LINDQVIST, M. Central and peripheral monoaminergic membrane-pump blockade by some addictive analgesics and antihistamines. **J. Pharm. Pharmac.**, v. 12, n. Table 2, p. 460–464, 1969.

CHAKRABORTY, R. et al. Characterization of a *drosophila* Alzheimer's disease

model: Pharmacological rescue of cognitive defects. **PLoS ONE**, v. 6, n. 6, 2011.

CIPRIANI, A. et al. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. **The Lancet**, v. 391, n. 10128, p. 1357–1366, 2018.

CLINCKERS, R. et al. Anticonvulsant action of GBR-12909 and citalopram against acute experimentally induced limbic seizures. **Neuropharmacology**, v. 47, n. 7, p. 1053–1061, 2004.

DAILEY, J. W. et al. Anticonvulsant doses of carbamazepine increase hippocampal extracellular serotonin in genetically epilepsy-prone rats: Dose response relationships. **Neuroscience Letters**, v. 227, n. 1, p. 13–16, 1997.

DELL, L. E. O. et al. The Role of Serotonin 2 Receptors in Mediating Cocaine-Induced Convulsions. **Science**, v. 65, n. 4, p. 677–681, 2000.

FENG, J. et al. Serotonin receptors modulate GABA(A) receptor channels through activation of anchored protein kinase C in prefrontal cortical neurons. **J Neurosci**, v. 2001/08/23, n. 17, p. 6502–6511, 2001.

FERGUSON, J. M. SSRI Antidepressant Medications: Adverse Effects and Tolerability. **Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry**, v. 3, n. 1, p. 22–27, 2001.

GIBAS, J. T. SYNTHETIC TUBERCULOSTATS. V. XLKYLIDENE DERIVATIVES OF ISONICOTINYLDRAZINE. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 18, n. 8, p. 983–989, 1953.

HANAYA, R.; ARITA, K. The New Antiepileptic Drugs: Their Neuropharmacology and Clinical Indications. **Neurologia medico-chirurgica**, v. 56, n. 5, p. 205–220, 2016.

HANNON, J.; HOYER, D. Molecular biology of 5-HT receptors. **Behavioural Brain Research**, v. 195, n. 1, p. 198–213, 2008.

HAWKINS, N. A. et al. Neuronal voltage-gated ion channels are genetic modifiers of generalized epilepsy with febrile seizures plus. **Neurobiology of Disease**, v. 41, n. 3, p. 655–660, 2011.

HEN, R. Of mice and flies: commonalities among 5-HT receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 13, n. C, p. 160–165, 1992.

HIERONYMUS, F. et al. Efficacy of selective serotonin reuptake inhibitors in the absence of side effects: a mega-analysis of citalopram and paroxetine in adult depression. **Molecular Psychiatry**, n. March, p. 1–6, 2017.

HOWLETT, I. C. et al. Drosophila as a Model for Intractable Epilepsy: Gilgamesh Suppresses Seizures in para bss1 Heterozygote Flies. **G3: Genes|Genomes|Genetics**, v. 3, n. 8, p. 1399–1407, 2013.

HUNG, Y. Y. et al. Antidepressants normalize elevated Toll-like receptor profile in major depressive disorder. **Psychopharmacology**, v. 233, n. 9, p. 1707–1714, 2016.

HUSER, A. et al. Anatomy and behavioral function of serotonin receptors in *Drosophila melanogaster* larvae. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, p. 1–27, 2017.

HYTTEL, J. Effect of a specific 5-HT uptake inhibitor, citalopram (Lu 10-171), on 3H-5-HT uptake in rat brain synaptosomes in vitro. **Psychopharmacology**, v. 60, n. 1, p. 13–18, 1978.

IGAKI, T. et al. Eiger, a TNF superfamily ligand that triggers the *Drosophila* JNK pathway. **EMBO Journal**, v. 21, n. 12, p. 3009–3018, 2002.

JÚNIOR, L. C. DE O. **Efeitos do citalopram sobre a expressão gênica em**



**Drosophila melanogaster**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2017.

KANNER, A. M. Depression and epilepsy: A bidirectional relation? **Epilepsia**, v. 52, n. SUPPL. 1, p. 21–27, 2011.

KORENKE, G. C. et al. Severe encephalopathy with epilepsy in an infant caused by subclinical maternal pernicious anaemia: Case report and review of the literature. **European Journal of Pediatrics**, v. 163, n. 4–5, p. 196–201, 2004.

KORFF, C. M.; SCHEFFER, I. E. Epilepsy classification. **Current Opinion in Neurology**, v. 26, n. 2, p. 163–167, 2013.

LOPEZ-MUNOZ, F.; ALAMO, C. Monoaminergic Neurotransmission: The History of the Discovery of Antidepressants from 1950s Until Today. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 14, p. 1563–1586, 2009.

LÖSCHER, W. Animal models of intractable epilepsy. **Progress in Neurobiology**, v. 53, n. 2, p. 239–258, 1997.

MASIA, S. L.; DEVINSKY, O. Epilepsy and Behavior: A Brief History. **Epilepsy & Behavior**, v. 1, n. 1, p. 27–36, 2000.

MOSHÉ, S. L. et al. Epilepsy: New advances. **The Lancet**, v. 385, n. 9971, p. 884–898, 2015.

NAKAYAMA, J. Progress in searching for the febrile seizure susceptibility genes. **Brain and Development**, v. 31, n. 5, p. 359–365, 2009.

PANDEY, U. B.; NICHOLS, C. D. Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery. **Drug Delivery**, v. 63, n. 2, p. 411–436, 2011.

PARKER, L. et al. *Drosophila* as a model for epilepsy: *bss* is a gain-of-function mutation in the para sodium channel gene that leads to seizures. **Genetics**, v. 187, n. 2, p. 523–534, 2011.

PETRASCHECK, M.; YE, X.; BUCK, L. B. An antidepressant that extends lifespan in adult *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 450, n. 7169, p. 553–556, 2007.

RANG, H. P.; DALE, M. M. **Farmacologia**. [s.l.] Elsevier, 2007.

RIES, A.-S. et al. Serotonin modulates a depression-like state in *Drosophila* responsive to lithium treatment. **Nature Communications**, v. 8, p. 15738, 2017.

RUBIN, G. M.; LEWIS, E. B. THE *DROSOPHILA* GENOME: A Brief History of *Drosophila*'s Contributions to Genome Research. **Science**, v. 287, n. March, p. 2216–2219, 2000.

SACRE, S. et al. Fluoxetine and citalopram exhibit potent antiinflammatory activity in human and murine models of rheumatoid arthritis and inhibit toll-like receptors. **Arthritis and Rheumatism**, v. 62, n. 3, p. 683–693, 2010.

SAKKA, L. et al. Assessment of citalopram and escitalopram on neuroblastoma cell lines. Cell toxicity and gene modulation. **Oncotarget**, v. 8, n. 26, p. 42789–42807, 2017.

SÁNCHEZ. The Pharmacology of Citalopram Enantiomers : The Antagonism by R-Citalopram on the Effect of S-Citalopram. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 99, n. 2, p. 91–95, 2006.

SANDLER, M. Monoamine Oxidase Inhibitors in Depression: History and Mythology. **Journal of Psychopharmacology**, v. 4, n. 3, p. 136–139, 1990.

SARAS, A. et al. *Drosophila* seizure disorders: genetic suppression of seizure susceptibility. **Frontiers in Biology**, v. 11, n. 2, p. 96–108, 2016.

SHULMAN, J. M. et al. From fruit fly to bedside. **Current Opinion in Neurology**, v. 16, n. 4, p. 443–449, 2003.

SPECCHIO, L. M. et al. Citalopram as treatment of depression in patients with epilepsy. **Clinical Neuropharmacology**, v. 27, n. 3, p. 133–136, 2004.

VERMOESEN, K. et al. The antidepressants citalopram and reboxetine reduce seizure frequency in rats with chronic epilepsy. **Epilepsia**, v. 53, n. 5, p. 870–878, 2012.

VEZZANI, A. et al. The role of inflammation in epilepsy. **Nature Reviews Neurology**, v. 7, n. 1, p. 31–40, 2011.

WATANABE, K. I. et al. The effect of the acute administration of various selective 5-HT receptor antagonists on focal hippocampal seizures in freely-moving rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 398, n. 2, p. 239–246, 2000.

WONG, D. T. et al. A selective inhibitor of serotonin uptake: Lilly 110140, 3-(p-Trifluoromethylphenoxy)-n-methyl-3-phenylpropylamine. **Life Sciences**, v. 15, n. 3, p. 471–479, 1974.

XIWEI ZHENG, CONG BI, MARISSA BROOKS, AND D. S. H. Stress-induced neuroinflammation is mediated by GSK3- dependent TLR4 signaling that promotes susceptibility to depression-like behavior. **Anal Chem.**, v. 25, n. 4, p. 368–379, 2015.

ZARSE, K.; RISTOW, M. Antidepressants of the serotonin-antagonist type increase body fat and decrease lifespan of adult *Caenorhabditis elegans*. **PLoS ONE**, v. 3, n. 12, p. 1–4, 2008.

ZHANG, Q. et al. Citalopram restores short-term memory deficit and non-cognitive behaviors in APP/PS1 mice while halting the advance of Alzheimer's disease-like pathology. **Neuropharmacology**, v. 131, n. 2018, p. 475–486, 2018.