

Bettina Moritz dos Santos

**ASCORBATO COMO UMA POSSÍVEL ALTERNATIVA PARA O  
TRATAMENTO DA DEPRESSÃO E SINTOMAS DE ANSIEDADE**

Tese submetida ao Programa de Pós  
graduação em neurociências da  
Universidade Federal de Santa Catarina  
para a obtenção do Grau de Doutora em  
Neurociências.

Orientador: Prof. Dr Alcir Luiz Dafré  
Co-orientadora: Prof Dra Ana Lúcia S.  
Rodrigues

Florianópolis  
2016

Santos, Bettina Moritz dos  
ASCORBATO COMO UMA POSSÍVEL ALTERNATIVA PARA O  
TRATAMENTO DA DEPRESSÃO E SINTOMAS DE ANSIEDADE / Bettina  
Moritz dos Santos ; orientador, Alcir Luiz Dafré ;  
coorientadora, Ana Lúcia Severo Rodrigues. - Florianópolis,  
SC, 2016.  
148 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós  
Graduação em Neurociências.

Inclui referências

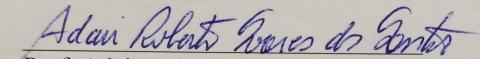
1. Neurociências. 2. Ascorbato. 3. Ansiedade. 4.  
Depressão. 5. Vitamina C. I. Dafré, Alcir Luiz . II.  
Rodrigues, Ana Lúcia Severo. III. Universidade Federal de  
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.  
IV. Título.

**BETTINA MORITZ DOS SANTOS**

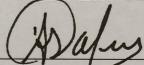
**“ASCORBATO COMO UMA POSSÍVEL ALTERNATIVA  
PARA O TRATAMENTO DA DEPRESSÃO E SINTOMAS  
DE ANSIEDADE”**

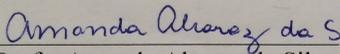
Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do Grau de  
Doutor em Neurociências na área de Neurobiologia Celular e  
Molecular no Programa de Pós-Graduação em Neurociências da  
Universidade Federal de Santa Catarina

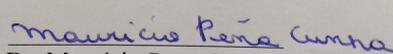
Florianópolis, 26 de abril de 2016.

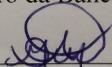
  
Prof. Adair Roberto Soares dos Santos  
Coordenador do Curso

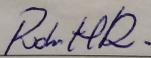
Banca Examinadora:

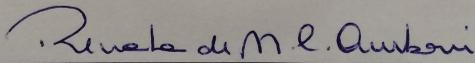
  
Prof. Alcir Luiz Dafre  
Orientador – UFSC

  
Prof. Amanda Alcaraz da Silva  
Membro da Banca Externo

  
Dr. Mauricio Peña Cunha  
Membro - UFSC

  
Prof. Morgana Moretti  
Membro - UFSC

  
Prof. Roberta J. Ramos  
Membro da Banca Externo

  
Prof. Renata Dias de Mello C. Amboni  
Membro - UFSC



Este trabalho é dedicado a todos que acreditaram em mim e que me apoiaram para concretizá-lo.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente:

Aos meus pais (in memoriam) pelo eterno incentivo aos estudos.

Ao meu professor e orientador Alcir Luiz Dafré e minha coorientadora Ana Lúcia Severo Rodrigues pela confiança, orientação e todo apoio nesta longa jornada. Seus ensinamentos foram muito valiosos para mim e fundamentais para minha formação.

Aos doutores Marcelo Libório Schwarzbald, Ricardo Guarnieri e Alexandre Paim Diaz pelo apoio e colaboração nos trabalhos.

Aos amigos Luana Meller Manosso, Ariana Ern Schmitz e Luiz Felipe de Souza pela colaboração nos trabalhos e disponibilidade em auxiliar sempre que precisei.

Ao meu marido Cláudio Vernalha e meus filhos Ana Laura, Pedro e Gustavo que acompanharam parte desta jornada e aceitaram parte de minha ausência em família.

Ao meu sogro Cláudio Cesar, sogra Ana Therezinha e a Imtrauth Ern que auxiliaram nos cuidados com meus filhos, permitindo a execução deste trabalho.

Aos demais colegas do Laboratório de Defesas antioxidantes, que de alguma forma contribuíram para a viabilização deste trabalho.

A minha sócia e amiga Ana Carolina Abreu Maravalhas e ao amigo Victor Maravalhas que tantas vezes me ajudaram, cuidando dos meus filhos, para que eu pudesse cumprir minhas obrigações durante o doutorado.

A todos os familiares e amigos que torceram por mim.

A Vitalfarm que gentilmente forneceu as cápsulas para realização deste trabalho.

Ao CNPq pelo financiamento.

Muito obrigada!

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

- Figura 1. Esquema simplificado do eixo HPA e sistema nervoso simpático que atuam em situações de estresse..... 28
- Figura 2. Relação entre estresse e depressão..... 29

### Capítulo 2

- Figura 3. Efeitos do ascorbato no estado de ansiedade..... 77
- Figura 4. Efeitos do ascorbato no afeto..... 80



**LISTA DE TABELAS****Capítulo 1**

Tabela 1.	Estudos pré-clínicos que associam o uso do ascorbato ao efeito tipo-antidepressivo.....	48
Tabela 2.	Estudos clínicos que associam o uso do ascorbato a depressão e ansiedade.....	57

**Capítulo 2**

Tabela 3.	Características basais da amostra.....	74
-----------	--	----



**LISTA DE ABREVIATURAS**

5-HIAA – 5- hidroxiiindol acético  
ACTH - Hormônio adrenocorticotrófico  
AMPA -  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propionato  
AMPc - Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico  
ATP - Adenosina trifosfato  
BDNF - Fator neurotrófico derivado do encéfalo  
CRH – Hormônio liberador de corticotrofina  
DHA – Dehidroascorbato  
ERO - Espécies reativas de oxigênio  
GABA – ácido gamaaminobutírico  
GMPc - Guanosina 3',5'-monofosfato cíclico  
GSK-3 $\beta$  - Glicogenio sintase cinase-3 $\beta$   
GULO - L-gulonolactona oxidase  
HPA – Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal  
HIF – Fator indutível por hipóxia  
HO – Heme oxigenase  
i.c.v. – Intracerebroventricular  
IDATE – Inventário de Ansiedade Traço-Estado  
i.p. – Intraperitoneal  
L-DOPA – L-3,4-dihidroxifenilalanina  
mTOR – proteína alvo da rapamicina em mamíferos  
NADPH – Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina  
NMDA - N-metil-D-aspartato  
Nrf2 – Fator nuclear eritróide 2  
ODQ - 1H-[1,2,4]Oxadiazol[4,3-a]quinoxalin-1-ona]  
v.o.- Via oral  
PI3K - Fosfatidilinositol-3-cinase  
SNC - Sistema Nervoso Central  
SVCT - Transportadores de vitamina C dependentes de sódio  
TNF - Teste do nado forçado  
TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral  $\alpha$   
TSC - Teste da suspensão pela cauda  
VAMS - Escala Analógica Visual de Humor



## SUMÁRIO

RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	19
1. INTRODUÇÃO.....	21
<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>25</b>
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
1.1. Depressão.....	25
1.2. Ansiedade.....	30
1.3. Funções do ascorbato.....	34
1.4. Papel do ascorbato no sistema nervoso central.....	37
1.4.1. Efeitos do ascorbato sobre os neurotransmissores.....	38
1.5. Ascorbato e depressão.....	42
1.5.1. Estudos pré-clínicos.....	42
1.5.2. Estudos clínicos.....	53
1.6. Ascorbato e ansiedade.....	56
<b>CAPÍTULO 2</b>	<b>63</b>
1. INTRODUÇÃO.....	65
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	68
2.1. Sujeitos.....	68
2.2. Critérios de inclusão e exclusão.....	68
2.3. Avaliações.....	69
2.4. Desenho do estudo.....	71
2.5. Análise estatística.....	72
3. RESULTADOS.....	74
4. DISCUSSÃO.....	82
5. CONCLUSÃO.....	91
REFERÊNCIAS.....	93
APÊNDICE A – Anamnese.....	133
APÊNDICE B - Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE).....	137
APÊNDICE C - Escala Analógica Visual de Humor (VAMS).....	141
ANEXO – LIVRO NUTRIÇÃO CLÍNICA FUNCIONAL: NEUROLOGIA.....	145



## RESUMO

Tratamento com vitamina C, ou ascorbato, diminui o comportamento tipo-depressivo em modelos animais, e já é utilizado na clínica médica como um adjuvante no tratamento da depressão. Há uma grande comorbidade entre depressão e ansiedade, sendo que até 70% dos pacientes com depressão, também possuem sintomas de ansiedade. Além disto, em estudos pré-clínicos há indícios de que a administração repetida de ascorbato tem feito ansiolítico. Com o objetivo de sistematizar o conhecimento sobre os efeitos do ascorbato sobre a ansiedade e depressão, o capítulo 1 apresenta a tradução de uma revisão a ser publicada. Além disto, hipotetizamos que uma única dose de ascorbato via oral poderia apresentar efeito ansiolítico. Para tal, avaliamos o efeito da suplementação com ascorbato no estado de ansiedade de universitários, o que é apresentado no capítulo 2. Foi utilizada uma amostra randomizada duplo-cego controlada por placebo envolvendo estudantes de pós-graduação que foram suplementados com uma única dose de ascorbato (1000 mg), ou placebo. Logo antes da ingestão do ascorbato, os participantes foram avaliados através do Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE) e Escala Analógica Visual de Humor (VAMS). Duas horas após a ingestão do ascorbato, ou placebo, os estudantes foram novamente avaliados pela IDATE A-estado e VAMS. Nenhuma diferença entre o grupo controle e o grupo ascorbato foi observada nos escores da escala IDATE A-estado e VAMS, quando todos os sujeitos foram incluídos na comparação. Os sujeitos do estudo foram, então, separados em dois grupos de acordo com seus escores na escala IDATE A-traço. O primeiro grupo foi constituído pelos indivíduos (75% da amostra) com os menores escores, sendo este considerados o grupo com traço de ansiedade baixo a moderado. O segundo grupo foi constituído pelos indivíduos (25% da amostra) com maiores escores de ansiedade, os quase foram considerados como tendo alto traço de ansiedade. Os resultados mostraram que o ascorbato reduziu os escores de ansiedade em ambas as escalas nos indivíduos com traço de ansiedade alto. Nenhuma diferença foi observada no subgrupo com traço de ansiedade baixo a moderado. O estudo avaliou uma amostra com características sociodemográficas muito limitada, composta principalmente de mulheres jovens com terceiro grau completo, limitando a generalização destes achados. Entretanto, os dados obtidos claramente indicam que o ascorbato tem

um potencial efeito ansiolítico, especialmente em estudantes caracteristicamente mais ansiosos. Estudos futuros avaliando os mecanismos de ação do ascorbato sobre os estados emocionais poderão fornecer evidências que apoiem esta hipótese, que se confirmada, poderá levar ao desenvolvimento de novos tratamentos.

**Palavras-chave:** ascorbato; ansiedade, ansiedade traço, vitamina C, Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE), Escala Analógica Visual de Humor (VAMS)

## ABSTRACT

Vitamin C, or ascorbate, treatment decreases the antidepressant-like behavior in pre-clinical animal studies and is being used in the medical practice as an adjuvant in the treatment of depression. The rate of depression and anxiety comorbidity is high, up to 70% of depressed patients also present anxiety symptoms. Beyond that, pre-clinical studies indicate that repeated administration of ascorbate present anxiolytic effects. Aiming at systematize the available knowledge over the ascorbate effects on anxiety and depression, chapter 1 presents a translated literature review to be published. Furthermore, we hypothesized that a single oral dose of ascorbate would present an anxiolytic effect. To accomplish this objective, we evaluated the effect of ascorbate supplementation on anxiety state, which is presented in chapter 2. A double blind randomized sample controlled by placebo involving post-graduation students that received a single ascorbate dose (1000 mg) or placebo. Immediately before ascorbate ingestion, the participants were evaluated by using the Trait Anxiety Inventory-State (STAI) and Visual Analog Scale of Humor (VAMS). Two hours after ascorbate, or placebo ingestion the students were assessed a second time by the STAI A-state and VAMS. No difference was found in the scale scores STAI A-state and VAMS when all subjects were included in the analysis. The subjects were then divided in two groups according to their scores on the STAI A-trait scale. The first group was composed of 75% of individuals with the lowest scores, and considered to present low to moderate trace of anxiety. The second group consisted of 25% of individuals with highest anxiety scores and considered to have high trait anxiety. The results showed that ascorbate decreased anxiety scores in both scales in individuals with high trait of anxiety. The results showed that ascorbate treatment decreased the anxiety scores in both scales in high trait anxiety subjects. No difference was noted in the subgroup with low to moderate trait of anxiety. This study evaluated a sample with very limited sociodemographic characteristics, composed mainly of young women with full college, limiting the generalization of the findings. However, the obtained data clearly indicate that ascorbate has a potential anxiolytic effect on students that are typically more anxious. Future studies evaluating the mechanisms by which ascorbate acts on

the emotional states may provide evidence to support this hypothesis, if confirmed, could lead to the development of new treatments.

**Keywords:** ascorbate; anxiety; trait of anxiety; vitamin C; State-trait Anxiety Inventory (STAI); Visual Analog Mood Scale (VAMS)

## 1. INTRODUÇÃO

Transtornos mentais geram um elevado custo para os cofres públicos de diversos países. Em 2010, somente na Europa, foram gastos 798 bilhões de euros com o tratamento de transtornos mentais, representando um custo anual de 5.550 euros por habitante. Dentre os transtornos mentais que geram os maiores custos anuais (em euros) destacam-se os transtornos de ansiedade (65,7 bilhões) e os transtornos depressivos (113,4 bilhões) (OLESEN et al., 2012). Aproximadamente 50% dos indivíduos depressivos apresentam transtornos de ansiedade como comorbidade associada (KESSLER et al., 2003).

A maior parte das drogas utilizadas para tratamento de transtornos de ansiedade e depressão apresentam efeitos colaterais, incluindo alterações metabólicas, sexuais e disfunções cognitivas (MASAND; GUPTA, 2002; UZUN et al., 2010). E ainda, estas drogas frequentemente geram tolerância ou resistência, e sua prescrição por longos períodos é controversa e problemática para populações como crianças, idosos, gestantes e indivíduos com histórico de abuso de drogas (CLOOS; FERREIRA, 2009; DELL'OSSO; LADER, 2013; STARCEVIC, 2014). Adiciona-se ainda o fato de que muitas destas drogas apresentam uma janela terapêutica, onde o início da resposta terapêutica inicia-se após semanas de uso, para que, então, seja observada melhora significativa dos sintomas (BYSTRITSKY, 2016). No caso do tratamento da depressão somente 70% dos indivíduos tratados apresentam completa remissão (NESTLER, 2002; WONG; LICINIO, 2001). Com isso, é de grande relevância o estudo e descoberta de drogas alternativas, principalmente aquelas que possam ser utilizadas em populações especiais e apresentem baixo ou nenhum efeito colateral, e que apresentem baixo custo (FARACH et al., 2012).

O ascorbato, conhecido popularmente como vitamina C, é uma vitamina hidrossolúvel, essencial para seres humanos e alguns mamíferos, sendo necessário seu consumo através de alimentos ou suplementos (LINSTER; VAN SCHAFTINGEN, 2007). Além de seu forte efeito antioxidante (NAUSER et al., 2015), o ascorbato apresenta ainda função de cofator para várias enzimas, onde, destaca-se sua participação na produção do colágeno (HUDSON; EYRE, 2013; MUSSELMAN et al., 2006; PETERKOFISKY, 1991), na produção da

carnitina (ZIATS et al., 2015), na produção de catecolaminas (BROWNLEE et al., 2010; MAY et al., 2013), na reciclagem da tetrahidrobiopterina (BAKER; MILSTIEN; KATUSIC, 2001; VAN AMSTERDAM; OPPERHUIZEN, 1999), e no metabolismo do ferro (LANE; RICHARDSON, 2014). Além disto, a vitamina C apresenta função imunomoduladora (WINTERGERST; MAGGINI; HORNIG, 2006), além de efeitos no sistema nervoso central (GRANT; BARBER; GRIFFITHS, 2005; MUSSELMAN et al., 2006; SHIN et al., 2004). Apresenta ainda efeito modulador sobre neurotransmissores como acetilcolina (DHINGRA; PARLE; KULKARNI, 2006; HARRISON et al., 2009), catecolaminas (BINFARÉ et al., 2009; CASTAGNÉ et al., 2004; SEITZ et al., 1998), serotonina (BINFARÉ et al., 2009; WARD et al., 2013) e glutamato (MORETTI et al., 2011).

Vários estudos clínicos recentes tem apresentado efeito positivo na suplementação de ascorbato no tratamento da depressão (ABURAWI et al., 2014; AMR et al., 2013; BRODY et al., 2002; CARR; VISSERS, 2012; KHAJEHNASIRI et al., 2013; WANG et al., 2013; ZHANG et al., 2011), mas poucos estudos relacionam o uso do ascorbato com a melhora da ansiedade (MAZLOOM; EKRAMZADEH; HEJAZI, 2013; DE OLIVEIRA et al., 2015). Todos os estudos citados foram realizados suplementando o ascorbato por semanas ou meses e nenhum destes estudos foi publicado, que se tenha conhecimento, que tenha testado o efeito agudo da suplementação do ascorbato na ansiedade.

Desta forma, este trabalho está apresentado e estruturado em dois capítulos:

## Capítulo 1: Revisão Bibliográfica

Neste capítulo foi feita uma revisão bibliográfica sobre os efeitos da suplementação de ascorbato sobre transtornos de ansiedade e depressão. Nesta revisão foram descritos os tópicos relacionados a transtornos de ansiedade e depressão, funções do ascorbato e sua relação com o sistema nervoso central (SNC), estudos pré-clínicos e clínicos relacionados a ansiedade e depressão.

Capítulo 2: Efeito da suplementação de uma única dose de ascorbato sobre o estado de ansiedade em estudantes de pós-graduação.

Neste estudo, o traço e o estado de ansiedade foram avaliados através do Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE) em estudantes de pós-graduação antes e após a ingestão de 1000 mg de ácido ascórbico. Duas horas após a ingestão, os efeitos da suplementação aguda de 1000 mg de ascorbato sobre o estado de ansiedade de estudantes de pós-graduação foi avaliado através do Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE) e da Escala Análoga Visual de Humor (VAMS). Para realização deste experimento, considerou-se os trabalhos publicados pelo grupo de pesquisa da co-orientadora deste trabalho, que mostraram efeitos positivos da suplementação aguda do ascorbato na melhora do comportamento tipo-depressivo em roedores. Considerando-se que depressão e ansiedade são comorbidade frequentemente associadas e que ambas apresentam muitos mecanismos bioquímicos em comum, optou-se por avaliar o efeito agudo do ascorbato em estudo clínico.

Ao logo do doutorado foi publicado um livro “Moritz, B.; Manosso, L.M. Nutrição Clínica Funcional: Neurologia. São Paulo: Valéria Paschoal Editora Ltda., 2013. 240 p., cujo comprovante está apresentado no anexo A.



## CAPÍTULO 1

### 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 1.1. Depressão

O transtorno depressivo maior (referido nesta tese como depressão) parece ser a principal causa de incapacidade mental no mundo, e estima-se, que em 2020, conquiste o segundo lugar em causas de incapacidade geral em adultos, sendo um dos transtornos psiquiátricos mais onerosos para a sociedade, gerando altos custos sociais e pessoais (WHO, 2015). Dados indicam que a causa da depressão seja multifatorial, envolvendo fatores ambientais, genéticos e epigenéticos (ARCHER et al., 2013; NESTLER et al., 2002).

O indivíduo com depressão apresenta redução do bem-estar geral, o que gera redução na capacidade de trabalho e aumento na busca pela utilização de serviços públicos de saúde, com consequente aumento dos gastos pelos órgãos públicos de saúde (BROADHEAD et al., 1990; LICINIO; WONG, 2011). Os principais sintomas associados à depressão são: humor deprimido, perda do interesse e prazer por atividades antes prazerosas (anedonia), alterações de sono, apetite, sentimento de culpa ou desvalia, fadiga, falta de energia, entre outros (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). A depressão tem sido associada à comorbidades como doenças cardiovasculares, endocrinológicas, renais, oncológicas, doenças associadas à dor crônica, doenças neurodegenerativas, transtornos de ansiedade e está associada a redução da expectativa de vida, além de aumentar os índices de morte por suicídio (TENG; HUMES; DEMETRIO, 2005).

A depressão tem alta prevalência na população mundial, chegando a afetar 17% dos indivíduos em algum momento da vida (KESSLER et al., 2012). Já referente a população dos Estados Unidos da América, estima-se que 20% dos indivíduos irão apresentar ao menos um episódio depressivo ao longo da vida (SANACORA et al., 2008). A depressão afeta o dobro de mulheres, em relação aos homens (WONG; LICINIO, 2001; TIERNEY, 2007). A depressão parece ser mais prevalente na América do Sul e no sul da Ásia, do que na Europa Ocidental (FERRARI et al., 2013). No Brasil, os mais afetados são mulheres, de 40-59 anos e 80 anos ou mais, moradores de áreas urbanas,

com menor nível educacional, fumantes, hipertensos, diabéticos e portadores de transtornos cardiovasculares (MUNHOZ et al., 2016). De acordo com a Organização Mundial de Saúde, estima-se que 350 milhões de pessoas no mundo tenham depressão, e destas 800 mil morram por ano decorrente de suicídio, sendo esta a segunda causa de morte em jovens com idade entre 15-29 anos (WHO, 2015). Ressalta-se que dos indivíduos afetados, menos de 10% destes recebem o tratamento adequado para a depressão (WHO, 2015).

Alguns genes foram relacionados ao desenvolvimento da depressão, entre eles se destacam: um gene do BDNF variante (SCHUMACHER et al., 2005); polimorfismo sobre a região promotora do gene da monoamino-oxidase A (SCHULZE et al., 2000); polimorfismo no gene do transportador da serotonina (5-HTT) (CASPI et al., 2003); e, mutação no gene da triptofano hidroxilase-2 (ZHANG et al., 2005). A depressão é caracterizada por modificações bioquímicas e estruturais em várias regiões cerebrais, especialmente uma disfunção do córtex pré-frontal, atrofia do hipocampo, aumento da ativação de regiões límbicas como amígdala, estriado e tálamo, entre outras (DREVETS et al., 1992; FRANGOU, 2009).

Dentre os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da depressão a primeira hipótese postulada foi a monoaminérgica (SCHILDKRAUT, 1965). Esta teoria foi baseada em estudos clínicos sobre a ação dos fármacos iproniazida (utilizado para tuberculose) e imipramina (anti-histamínico), nos quais se observou que ambas as drogas produziam melhora do humor, euforia e elevavam as concentrações de monoaminas na fenda sináptica (GARVER; DAVIS, 1979). Segundo a hipótese monoaminérgica, a depressão ocorre por uma diminuição nos níveis de monoaminas (serotonina, noradrenalina ou dopamina) na fenda sináptica ou por alterações nos receptores desses neurotransmissores, prejudicando a neurotransmissão das mesmas (PRINS; OLIVIER; KORTE, 2011).

Medicamentos antidepressivos, desenvolvidos com base na hipótese monoaminérgica, têm sido largamente utilizados para o tratamento da depressão com a finalidade de aumentar as concentrações das monoaminas no sistema nervoso central, são eles: a) inibidores seletivos da recaptação de serotonina; b) inibidores da enzima monoamina oxidase; c) tricíclicos; d) inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina; e e) atípicos, incluindo a fluvoxamina, mianserina,

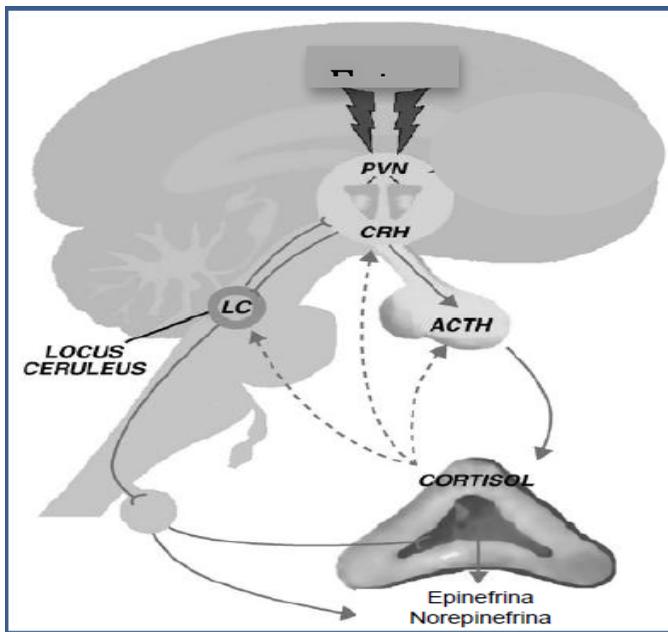
mirtazapina, reboxetina, tialeptina, trazodona, venlafaxina, duloxetine e bupropiona (BERTON; NESTLER, 2006).

O estresse parece ser um dos principais fatores associados ao desenvolvimento de transtornos depressivos e de ansiedade (NESTLER et al., 2002; SIEGRIST et al., 2012). Eventos estressantes durante a vida têm sido correlacionados com o surgimento e progressão da depressão, sendo que 60% dos indivíduos com maior grau de estresse apresentam algum sintoma depressivo (NESTLER et al., 2002; SIEGRIST et al., 2012). Ainda, alguns indivíduos depressivos parecem apresentar níveis aumentados de glicocorticóides (PIWOWARSKA et al., 2012).

O estresse é definido como um estado de homeostase ameaçado, após a exposição à “forças adversas”, extrínsecas ou intrínsecas, que são chamados de agentes estressores, os quais geram no indivíduo uma resposta adaptativa ao evento estressor. Entretanto, em situações de exposição crônica a eventos estressores, pode-se gerar uma resposta mal-adaptativa, trazendo consequências prejudiciais ao organismo, como enxaqueca, alterações de sono e apetite, alterações no sistema imunológico, aumento do risco de doenças cardiovasculares, sintomas depressivos, entre outros. Estes sintomas podem limitar o bem-estar e a capacidade funcional do indivíduo atingido (BLACK; GARBUTT, 2002; KYROU; TSIGOS, 2009).

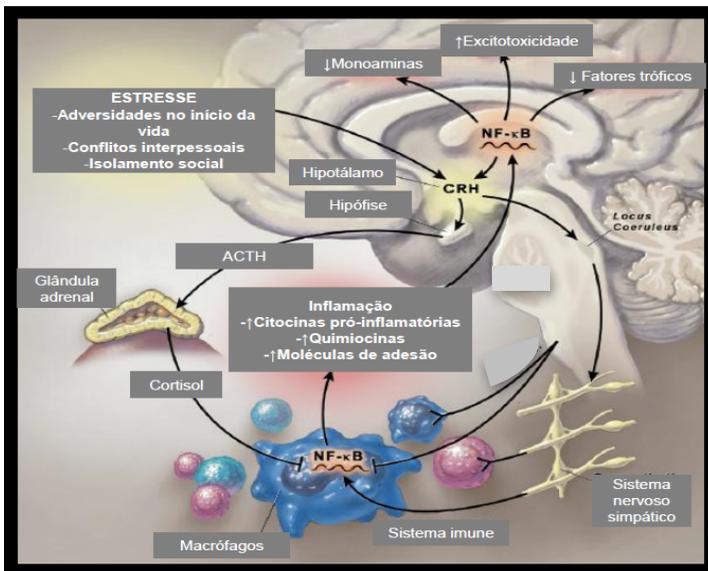
Situações estressoras ativam o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), ocasionando inicialmente a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pelo núcleo paraventricular do hipotálamo, que por sua vez estimulará a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise e este será liberado na circulação sanguínea. Existem receptores para o ACTH nas glândulas adrenais que estimulam a produção de glicocorticóides, especialmente o cortisol (Figura 1) (GONCHAROVA, 2013; KYROU; TSIGOS, 2009). O próprio cortisol, quando ligado a receptores hipocâmpais, realizará o *feedback* negativo, reduzindo a estimulação do eixo HPA (CARRASCO; VAN DE KAR, 2003). Estes mecanismos de retroinibição são interrompidos quando níveis aumentados de cortisol são mantidos cronicamente elevados. Esta elevação excessiva do cortisol pode ser tóxica para as células do hipocampo, levando à atrofia hipocâmpal (MALYKHIN; COUPLAND, 2015). Esta produção exacerbada de cortisol pode ter um efeito devastador sobre as funções hipocâmpais, tais como a memória, e também pode ser um fator que contribui para o aparecimento da depressão em alguns indivíduos

(MALYKHIN et al., 2010; MILLER; MALETIC; RAISON, 2009). A concentração aumentada de cortisol, de forma crônica, é capaz de estimular inflamação periférica, liberando mediadores inflamatórios. Estes, especialmente citocinas pró-inflamatórias, ao atingirem o sistema nervoso central (SNC), podem causar ativação da microglia e aumentar a excitotoxicidade, diminuir fatores tróficos e a produção de monoaminas. Estes são alguns dos fatores associados ao desenvolvimento da depressão (Figura 2). Ainda o cortisol irá ativar o sistema nervoso simpático que poderá estimular novamente o processo inflamatório (MILLER; MALETIC; RAISON, 2009).



**Figura 1** – Esquema simplificado do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e sistema nervoso simpático que atuam em situações de estresse. O estresse estimula a liberação do hormônio liberador de corticotropina (CRH) no hipotálamo, que ativa a produção do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) na glândula hipófise ou pituitária. Este último é liberado na corrente sanguínea e irá produzir efeito na supra-renal induzindo a produção de cortisol. Ao mesmo tempo o estresse é capaz de estimular o *locus coeruleus* que produzirá efeito indutor na produção de norepinefrina e epinefrina pela glândula supra-renal. PVN – núcleo paraventricular. Adaptado de Kyrou e Tsigos (2009).

A literatura tem relatado vários outros mecanismos que possivelmente contribuem para o desenvolvimento da depressão, considerando que a hipótese monoaminérgica seja limitada para explicar a fisiopatologia desse transtorno. Vários mecanismos alternativos têm sido postulados, incluindo a participação de processos inflamatórios e citocinas (CATENA-DELL'OSSO et al, 2011; DHABHAR et al., 2009; KIECOLT-GLASER; GLASER, 2002; MAES, 2008; MILLER; MALETIC; RAISON, 2009), estresse oxidativo (BEHR; MOREIRA; FREY, 2012; FORLENZA; MILLER, 2006; IRIE; MIYATA; KASAI, 2005; NG et al., 2008), desequilíbrio de fatores neurotróficos (DUMAN; HENINGER; NESTLER, 1997; DUMAN; MONTEGGIA, 2006), distúrbios no sistema glutamatérgico (CHUNG, 2012; GARCIA et al., 2008; MATHEW; KEEGAN; SMITH, 2005; SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012), e da via da L-arginina óxido nítrico (DHIR; KULKARNI, 2011; HARKIN et al., 1999; KRASS et al., 2011; LEE et al., 2006; ZOMKOWSKI et al., 2012).



**Figura 2** – Relação entre estresse e depressão. O estresse ocasionado por adversidades no início da vida, conflitos interpessoais ou isolamento social, levam a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), etimulando a produção de hormônio liberador de corticotropina (CRH), hormônio

adrenocorticotrópico (CRH) e cortisol. Esta produção de cortisol de forma crônica exerce influência sobre o sistema imune, induzindo processos inflamatórios, via estímulo de NF- $\kappa$ B (Fator nuclear kappa B – complexo protéico que desempenha função como fator de transcrição), aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e moléculas de adesão. Estes fatores poderão estimular o processo inflamatório no SNC e levar a redução na produção de monoaminas e fatores tróficos, além de estimular a excitotoxicidade. Adaptado de Miller, Maletic e Raison (2009).

## 1.2. Ansiedade

Uma das comorbidades mais prevalentes associadas a depressão é a ansiedade, afetando cerca de 42% dos indivíduos com depressão (ZIMMERMAN; MCDERMUT; MATTIA, 2000). Dentre os transtornos psiquiátricos, acredita-se que os transtornos de ansiedade sejam os mais prevalentes na população, afetando 18,1% da população americana e destes somente 12,7% dos indivíduos recebem o mínimo tratamento adequado (NIH, 2015). Os transtornos de ansiedade formam um grupo de transtornos psiquiátricos caracterizados por sintomas de ansiedade patológica e persistente que pode piorar com o tempo, podendo apresentar diversos sintomas físicos como palpitações, taquicardia, dores musculares, e psicológicos como sensação de medo, apreensão, tensão ou desconforto desproporcional em relação ao estímulo causador (BLACKFORD; PINE, 2012). Estes transtornos apresentam-se de forma crônica, frequentemente associados a comorbidades como doenças cardiovasculares, depressão e alto risco de suicídio, e com baixas taxas de remissão (FAWCETT, 1992; KESSLER et al., 2010; ROY-BYRNE et al., 2008). Os transtornos de ansiedade afetam diretamente a qualidade de vida e o rendimento no trabalho dos indivíduos acometidos, aumentando os gastos com saúde.

Estudos demonstram que transtornos de ansiedade estão associados a desregulação do circuito amígdala-córtex pré-frontal, onde observa-se uma hiperreatividade da amígdala e uma hipoatividade do córtex pré-frontal (RAUCH; SHIN; PHELPS, 2006; SHIN; HADWARGER, 2009). O complexo amígdala basolateral é a região responsável pela modulação da ansiedade e comportamentos emocionais, o qual apresenta-se hiperreativo em humanos com transtornos de ansiedade (RAUCH; SHIN; WRIGHT, 2003).

Um modelo animal para o estudo da ansiedade é o “residente-inturso”. O teste “residente-intruso” consiste em adicionar um intruso na caixa do animal residente por 5 minutos. O comportamento de ambos

é registrado por filmadora e avaliados quanto a frequência e tempo dispendidos o comportamento de agressividade como mordidas, ataques. Também são avaliados comportamentos de cheirar o intruso, montar, entre outros. Animais mais ansiosos tendem a agredir mais os intrusos e substâncias com efeito ansiolítico tendem a reduzir esta agressividade (NIN et al., 2014). Através deste teste, recentemente, foi demonstrado que a ativação da via amígdala basolateral – córtex pré-frontal medial reduziu a interação social em camundongos, enquanto que a inibição desta via facilitou a interação social. Além disso, a ativação de vias eferentes da amígdala basolateral, chegando ao córtex pré-frontal medial, produziu efeito ansiogênico no teste do labirinto em cruz elevado e no teste do campo aberto, enquanto que a inibição produziu efeito ansiolítico (FELIX-ORTIZ et al., 2015). Estes dados ressaltam a importância desta via na modulação da ansiedade.

Outra região envolvida com a ansiedade parece ser o hipocampo, estrutura fundamental na formação de novas memórias, e rica em neurônios colinérgicos. Estudos de ressonância magnética e registros eletrofisiológicos *in vivo* demonstram que o giro denteado, componente do hipocampo, apresenta importante função, tanto na separação de padrão, quando na comparação de experiências novas com as informações armazenadas, diferenciando as novas memórias das já registradas (BAKKER et al., 2008; LEUTGEB et al., 2007). Ainda, alguns tipos de transtornos de ansiedade levam a redução do volume do hipocampo (IRLE et al., 2010; KITAYAMA et al., 2005). Adicionalmente, neuropeptídeos localizados exclusivamente em neurônios hipocámpais, denominados orexinas ou hipocretinas, têm sido associados a modulação de circuitos neurais envolvidos na expressão e extinção de memórias de medo (FLORES et al., 2015).

Também vem sendo estudada a relação entre estresse e transtornos de ansiedade (GILLESPIE; NEMEROFF, 2005; VREEBURG et al., 2010). Eventos estressantes estimulam o *locus coeruleus* a liberar norepinefrina (Figura 1). O aumento da atividade tônica do sistema *locus coeruleus*-norepinefrina é necessário e suficiente para desencadear comportamento de ansiedade e aversão desencadeados pelo estresse. Por outro lado, a inibição seletiva destes neurônios durante o estresse impede o comportamento de ansiedade. Adicionalmente, a secreção de CRH endógeno aumenta a atividade tônica do *locus coeruleus*, induzindo comportamento de ansiedade (MCCALL et al., 2015). As fêmeas de roedores parecem ser mais vulneráveis aos efeitos

do estresse crônico, quando comparadas aos machos (NIKNAZAR et al., 2015). Ratas submetidas ao estresse crônico apresentaram menor expressão hipocampal do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), quando comparadas aos machos. Destaca-se que esta é uma neurotrofina envolvida na sobrevivência, diferenciação neuronal, axonal e dendrítica. Além disso, ratos submetidos ao estresse crônico na fase da adolescência apresentam maiores concentrações de corticosterona e comportamento tipo-ansioso, com predominância em fêmeas (NIKNAZAR et al., 2015). O estresse é um dos fatores frequentemente associados aos transtornos depressivos e de ansiedade (CHESNEY; GOODWIN; FAZEL, 2014; NEMEROFF, 2007; NEMEROFF; OWENS, 2002). O estresse pode ser um dos principais gatilhos para as crises de ansiedade, onde este ativa o eixo HPA e regula a liberação de neurotransmissores, hormônios peptídicos e glicocorticóides (GILLESPIE; NEMEROFF, 2005). Ainda, indivíduos com transtorno de pânico e transtorno de ansiedade generalizada apresentam níveis aumentados de cortisol quando em crise, e níveis normalizados quando em remissão dos sintomas (VREEBURG et al., 2010).

O sistema serotoninérgico parece estar relacionado a fisiopatologia dos transtornos de ansiedade. Indivíduos com transtorno de ansiedade generalizada ou fobias apresentam menores níveis de serotonina no encéfalo (RESSLER; NEMEROFF, 2000). Ainda, foi observado que humanos portadores de polimorfismo no gene do transportador da serotonina, com cópias curtas do alelo, apresentam maior reatividade ao estresse (KARG et al., 2011). Corroborando com estes achados, fármacos inibidores seletivos da recaptação de serotonina têm sido amplamente utilizados para o tratamento destes transtornos (BALDWIN et al., 2005; BALDWIN; BUIS; MAYERS, 2002; KAPCZINSKI et al., 2003; KATZMAN, 2014), tanto quanto os agonistas do receptor serotoninérgico 5-HT<sub>1A</sub>, as azapironas (CHESSICK et al., 2006).

Outro sistema de neurotransmissores envolvido com a ansiedade é o GABAérgico. Indivíduos diagnosticados com transtorno de estresse pós-traumático apresentaram redução do número de receptores GABA<sub>A</sub> no córtex cerebral (BREMNER et al., 2000; NUTT; MALIZIA, 2004), e há uma estreita relação entre a redução dos receptores GABAérgicos no córtex cerebral e a gravidade dos sintomas de ansiedade (HASLER et al., 2008; MALIZIA et al., 1998). O uso de fármacos com efeito similar aos benzodiazepínicos reduz a ansiedade

(MARTIN et al., 2007). Os benzodiazepínicos ligam-se a um sítio específico dos receptores GABAérgicos produzindo um efeito ansiolítico por potencializar os efeitos inibitórios deste neurotransmissor (DAVIDSON et al., 1993; HIDALGO; TUPLER; DAVIDSON, 2007; MARTIN et al., 2007). Ainda, outros fármacos como a gabapentina e pregabalina, que apresentam estrutura análoga ao GABA, aumentam a neurotransmissão GABAérgica e apresentam efeitos benéficos no tratamento da ansiedade (ADAM et al., 2012; BALDWIN; AJEL, 2007; LAVIGNE et al., 2012; MONTGOMERY et al., 2008).

Algumas evidências sugerem, ainda, que o transtorno obsessivo compulsivo tenha o envolvimento do sistema glutamatérgico, pois foram encontrados níveis aumentados de glutamato no fluido cerebro-espinhal dos indivíduos acometidos por esta patologia (CHAKRABARTY et al., 2005).

Mais recentemente tem sido aventada a hipótese de que o neuropeptídeo ocitocina esteja relacionado a melhora de transtornos de ansiedade, como a ansiedade generalizada e fobia social. Parece que uma redução da biodisponibilidade de receptores para ocitocina leva a um aumento da ansiedade (NEUMANN; SLATTERY, 2015).

Ainda, transtornos de humor e de ansiedade têm sido associados ao aumento do estresse oxidativo (TSALUCHIDU; COCCHI; TONELLO; PURI, 2008). O SNC parece ser especialmente sensível ao estresse oxidativo por ser rico em ácidos graxos poli-insaturados e metais de transição, relativamente pobre em antioxidantes, além de apresentar alto consumo de oxigênio (HALLIWELL, 2006; PASTORE et al., 2003; VALKO et al., 2007). Estudos demonstram que indivíduos depressivos apresentaram menores concentrações plasmáticas de antioxidantes, incluindo menores níveis de ascorbato (KHANZODE et al., 2003),  $\alpha$ -tocoferol (MAES et al., 2000), enzimas antioxidantes (BILICI et al., 2001; OZCAN et al., 2004) e maiores índices de peróxidos lipídicos (OZCAN et al., 2004; TSUBOI et al., 2004). Aumento nos índices de peroxidação lipídica também é encontrado no sangue e urina de indivíduos com transtornos de ansiedade (BEHL et al., 2010; BULUT et al., 2007; CHAKRABORTY et al., 2009; ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLLNER, 1991; GUICHARDANT et al., 1994). Por outro lado, em relação à atividade de enzimas antioxidantes, em indivíduos com transtornos de ansiedade, os resultados são contraditórios (ESKIOCAK et al., 2005; HAZNECI et al., 2005; KULOGLU et al., 2002; OZDEMIR et al., 2009; TEZCAN et al., 2003).

### 1.3. Funções do ascorbato

O ascorbato é a forma biologicamente ativa do ácido L-ascórbico, conhecida popularmente como vitamina C. Esta é uma vitamina solúvel em água e essencial para seres humanos e alguns mamíferos. Plantas e a maioria dos animais sintetizam ascorbato a partir da glicose, enquanto que seres humanos, macacos, morcegos, camundongos e ratos são incapazes de produzir ascorbato devido a inativação do gene L-gulonolactona oxidase (GULO). Por esta razão não sintetizam a enzima L-gulono-lactona oxidase (essencial na biossíntese do ascorbato). Estes animais dependem do consumo desta vitamina através dos alimentos ou suplementos (LINSTER; SCHAFTINGEN, 2007). A deficiência de ascorbato acomete 10-15% da população (HAMPL; TAYLOR; JOHNSTON, 2004; MOSDOL; ERENS; BRUNNER, 2008), e os indivíduos com maior risco são aqueles com menores posições sócio-econômicas, fumantes, idosos, gestantes e crianças com baixo *status* nutricional (JOHNSTON; THOMPSON, 1998; MADRUGA DE OLIVEIRA; RONDO; BARROS, 2004; ORTEGA et al., 1998; WRIEDEN et al., 2000). Fatores genéticos também são apontados como possíveis causadores desta hipovitaminose (HANSEN; TVEDEN-NYBORG; LYKKESFELDT, 2014).

A suplementação com ascorbato tem uma modesta influência em suas concentrações plasmáticas por este ser absorvido pelo trato gastro-intestinal por um processo muito bem controlado (DU et al., 2012). Em humanos, o ascorbato é absorvido no lúmen intestinal, através de transportadores dependentes de sódio denominado SVCT1, já no encéfalo depende do transportador SVCT2 (MAY, 2012; MAY et al., 2013). O ascorbato é encontrado em células nucleadas em concentrações milimolares e em concentrações micromolares em fluidos extracelulares e eritrócitos, sendo suas maiores concentrações encontradas nas glândulas supra-renais, medula espinhal e encéfalo (REBEC; PIERCE, 1994; RICE, 2000; WILSON, 2005).

O ascorbato age como um importante antioxidante endógeno em meio hidrossolúvel, onde este é capaz reagir com espécies reativas ao oxigênio (ERO), facilitando sua eliminação. O ascorbato pode reagir com radicais livres protegendo biomoléculas contra dano oxidativo (NAUSER; KOPPENOL; SCHÖNEICH, 2015). O ascorbato também participa indiretamente como antioxidante, regenerando a vitamina E (reduzindo o  $\alpha$ -tocoferoxil, forma oxidada da vitamina E, novamente a  $\alpha$ -tocoferol), destacando assim a importância do ascorbato nas ações

antioxidantes da vitamina E contra a peroxidação lipídica e na eliminação de ERO (JIANG, 2014; TRABER, 2007).

O ascorbato, a forma aniônica da vitamina C, é um excelente agente redutor e sofre rapidamente duas oxidações consecutivas de um elétron para formar, primeiramente o radical ascorbil, e por final a sua forma oxidada, deidroascorbato (DHA). O radical ascorbil é pouco reativo, devido a estabilidade de sua forma radicalar, e depois de alguns minutos dois radicais ascorbil podem transformar-se em uma molécula de ascorbato e uma de DHA (DU et al., 2012). O DHA extracelular pode ser importado para dentro das células por transportadores de glicose, e mais tarde ser reduzido novamente a ascorbato por reações não-enzimáticas e enzimáticas dependentes de glutathione e thioltransferases. O DHA é instável em pH fisiológico, e se não for reduzido a ascorbato, é facilmente metabolizado irreversivelmente a ácido 2,3-dicetogulônico, que pode ser metabolizado a ácido oxálico, xilose, xilonato, e outros produtos que serão, então, excretados principalmente pela urina (DU et al., 2012; TRABER, 2007).

As propriedades redutoras do ascorbato estão associadas a várias funções biológicas, incluindo reações de hidroxilação (LANE; RICHARDSON, 2014). Dentre estas reações, o ascorbato é cofator das enzimas envolvidas na produção do colágeno (prolina hidroxilase, prolina pró-colágeno 2-oxoglutarato-3-dioxigenase e lisina hidroxilase) (HUDSON; EYRE, 2013; MUSSELMAN et al., 2006; PETERKOFISKY, 1991). Ressalta-se que na ausência do ascorbato, o colágeno será sintetizado de forma alterada, e este é o primeiro componente para formação da membrana basal dos vasos sanguíneos. Desta forma, sua deficiência pode levar a alterações na integridade da parede vascular, podendo resultar em hemorragia e, com deficiência prolongada, levando ao aparecimento do escorbuto (HUDSON; EYRE, 2013; SOTIRIOU et al., 2002). O ascorbato atua também como cofator das enzimas g-butirotetaina hidroxilase (RYDZIK et al., 2014) e N-trimetil-lisina dioxigenase (ZIATS et al., 2015), essenciais na produção da carnitina. Deficiência de carnitina prejudica o transporte de ácidos graxos de cadeia média e longa para a mitocôndria, e é geralmente associada ao metabolismo do miocárdio (SMELAND et al., 2012), mas também tem sido associada ao autismo (ZIATS et al., 2015). O ascorbato ainda é um doador de elétrons para dopamina β-hidroxilase que catalisa a conversão da dopamina a norepinefrina (MAY et al., 2013) e para a enzima hidroxifenilpiruvato dioxigenase, responsável

pelo catabolismo da tirosina (BROWNLEE et al., 2010). O ascorbato também participa indiretamente na biossíntese de catecolaminas através da reciclagem da tetrahidrobiopterina, um importante cofator para a enzima tirosina hidroxilase, a qual está envolvida na síntese de L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) (BAKER; MILSTIEN; KATUSIC, 2001; VAN AMSTERDAM; OPPERHUIZEN, 1999). A formação de L-DOPA é o primeiro e limitante passo na biossíntese de catecolaminas (WHITFIELD et al., 2014).

O ascorbato participa na redução intracelular do ferro e modula o metabolismo deste mineral, estimulando a síntese de ferritina, inibindo a degradação lisossômica da ferritina, e diminuindo o efluxo de ferro celular. O mecanismo de captação do ferro é de particular relevância para o seu metabolismo nos astrócitos e em mecanismos de sobrecarga de ferro nos tecidos, especialmente na hemocromatose hereditária e  $\beta$ -talassemia. A anemia induzida por deficiência de ascorbato pode ser explicada pela capacidade do ascorbato regular a captação do ferro a partir da transferrina (LANE; RICHARDSON, 2014).

O ascorbato apresenta, ainda, função imunomoduladora, atuando na produção de neutrófilos, linfócitos, células *natural killers*, IgA, IgG, interferon e modulando a síntese de prostaglandinas (WINTERGERST; MAGGINI; HORNIG, 2006). Acidentalmente, infecções levam à redução rápida nas concentrações de ascorbato (WINTERGERST; MAGGINI; HORNIG, 2006). Outras funções também têm sido relatadas, como sua ação antihistamínica (CLEMETSON, 2004), ação antitumoral (TOOHEY, 2008) e ação antinociceptiva (ROSA et al., 2005). Ainda, alguns estudos evidenciam uma relação direta entre a ascorbato e o estresse. O ascorbato é importante para o funcionamento adequado do córtex adrenal, atuando como cofator da enzima citocromo P45011 $\beta$ , essencial na produção de cortisol e corticosterona (PATAK; WILLENBERG; BORNSTEIN, 2004). A suplementação com ascorbato melhora os sintomas de estresse e é capaz de reduzir os níveis de cortisol (HEAD; KELLY, 2009). O aumento nos níveis de cortisol desencadeado pelo tratamento com ACTH foi impedido pelo uso de ascorbato (3 g/dia durante 5 dias) (LIAKAKOS et al., 1975). Em um estudo clínico, pontuações nas escalas *Spielberger State Anxiety Scale* e *Trier Social Stress Test*, foram melhoradas pelo uso de ascorbato (3 g/dia durante 14 dias) em indivíduos saudáveis. Foi constatada, ainda, a redução dos níveis de cortisol salivar (BRODY et al., 2002).

#### 1.4. Papel do ascorbato no sistema nervoso central

O transporte de ascorbato para o SNC depende do transportador SVCT2, que está presente no plexo coróide, e dali o ascorbato é transportado para o líquido cefalorraquidiano. Alternativamente, o ascorbato também pode ser transportado por difusão facilitada através de transportadores de glicose (GLUT4) na forma de DHA (BÜRZLE; HEDIGER, 2012; RICE 2000). Após seu transporte, o DHA pode ser reduzido a ascorbato intracelularmente e mantido na forma ativa (BÜRZLE; HEDIGER, 2012; MAY, 2012; RICE; RUSSO-MENNA, 1997). No encéfalo são encontradas altas concentrações de ascorbato, mesmo quando existe relativa deficiência de ascorbato em outros órgãos (LYKKESFELDT et al., 2007; RICE, 2000). As maiores concentrações neuronais de ascorbato encontram-se nos neurônios do hipocampo, córtex frontal e occipital (HARRISON; MAY, 2009).

Durante o desenvolvimento do encéfalo de roedores, foi demonstrado que os níveis de ascorbato aumentam em paralelo com a redução da glutathiona. Este processo acontece com a morte de neurônios e a proliferação de células gliais, o que corrobora com dados indicando que o ascorbato tem maiores concentrações nas células gliais, enquanto que a glutathiona tem maior concentração nos neurônios (RICE, 2000; RICE; RUSSO-MENNA, 1997). A deficiência de ascorbato nesta fase de desenvolvimento pode levar a anormalidades no desenvolvimento do encéfalo, redução do volume do hipocampo em 10-15%, que pode persistir até a vida adulta, alteração da memória e pode, ainda, ser responsável por hemorragias cerebrais e levar a morte (HARRISON; MAY, 2009; SOTIRIOU et al., 2002; TVEDEN-NYBORG et al., 2009; TVEDEN-NYBORG et al., 2012). Os mecanismos envolvidos nas alterações do encéfalo associadas a deficiência de ascorbato são desconhecidos, mas estudos pré-clínicos estão de acordo com a idéia de que o ascorbato induz a expressão de genes que participam na neurogênese e na neurotransmissão (SHIN et al., 2004). Neste mesmo sentido, o ascorbato pode aumentar a diferenciação de células tronco embrionárias para o fenótipo neuronal quando estudado *in vitro* (LEE et al., 2000). O ascorbato pode, ainda, estimular a expressão de BDNF em células de neuroblastoma, levando a um aumento da sobrevivência celular (GRANT; BARBER; GRIFFITHS, 2005). A função do encéfalo pode também ser afetada pela deficiência de ascorbato, pois diminui a formação do colágeno tipo IV, essencial para a formação da mielina

(CAREY; TODD, 1987; ELDRIDGE, 1987; MUSSELMANN et al., 2006; PADH, 1991).

O ascorbato é também um cofator da dioxigenase-2-oxiglutarato, incluindo a prolil-4-dydroxilase colagenase, as quais são hidroxilases que regulam a atividade do fator de transcrição induzido por hipoxia 1 alfa (HIF-1 $\alpha$ ). Estas enzimas contém ferro não-heme no sítio ativo e são dependentes de oxigênio molecular para suas atividades (LOENARZ; SCHOFIELD, 2011). O HIF-1 $\alpha$  controla a transcrição de centenas de genes que estão relacionados a sobrevivência celular e ao estresse metabólico. O ascorbato poderia afetar a estabilização de HIF-1 $\alpha$  e/ou a expressão de gens controlados por este, através da regulação da atividade das HIF-hidroxilases (KUIPER et al., 2014). Ao controlar o HIF, o ascorbato pode afetar o desenvolvimento neuronal, a homeostase de oxigênio e a angiogênese, o que pode levar ao desenvolvimento vascular anormal do encéfalo (FLASHMAN et al., 2010; HUANG et al., 2001; IYER et al., 1998; PATE; LUKERT; KIPP, 1996; SCHJOLDAGER; TVEDEN-NYBORG; LYKKESFELDT, 2013; SCHOFIELD; RATCLIFFE, 2004; ZHANG et al., 2011).

#### **1.4.1. Efeitos do ascorbato sobre os neurotransmissores**

O ascorbato parece estar associado a neurotransmissão colinérgica. A incubação com 0,5 mM de ascorbato na presença de ATP, cálcio e magnésio, promoveu a liberação de acetilcolina de vesículas de sinaptossomas (KUO; YOSHIDA, 1980). A acetilcolina é um neurotransmissor produzido a partir da acetil coenzima A que doa um grupamento acetil para a colina, formando a acetilcolina e coenzima A. Esta reação é catalizada pela enzima colina acetiltransferase (DOBRANSKY; RYLLET, 2003; PHILLIS, 2005). Após a liberação na fenda sináptica, a acetilcolina pode se ligar a receptores muscarínicos metabotrópicos ou receptores nicotínicos ionotrópicos (PICCIOTTO; HIGLEY; MINEUR, 2012). Após sua liberação, a acetilcolina será degradada em colina e acetato (SOREQ; SEIDMAN, 2001) por duas enzimas, a acetilcolinesterase ou butirilcolinesterase, sendo a primeira de maior relevância (POHANKA, 2012). A acetilcolina apresenta papel importante sobre a memória e aprendizado (BORLONGAN, 2012). A modulação dos níveis de acetilcolina, a partir da administração de ascorbato em camundongos, foi capaz de atenuar déficits de aprendizagem espacial induzidos pela escopolamina (uma droga

antagonista de receptores muscarínicos, com atividade anticolinérgica). Este efeito poderia estar associado a um aumento na liberação de acetilcolina (HARRISON et al., 2009). Adicionalmente, a administração de ascorbato via intra-peritoneal (i.p.) na dose de 60 mg/kg, por 3 dias, foi capaz de reduzir a atividade da enzima acetilcolinesterase em 17,1%, e melhorar a memória de camundongos (DHINGRA; PARLE; KULKARNI, 2006). Por fim, o tratamento com ascorbato melhorou a performance de camundongos mutantes APP/PSEN1 e selvagens com 9 meses de idade, limitando a perda de memória relacionada com a idade. Esta linhagem de camundongos (APP/PSEN1) é um conhecido modelo de doença de Alzheimer (KENNARD; HARRISON, 2014). Destaca-se que a morte de neurônios colinérgicos é parte importante da neurodegeneração encontrada no encéfalo de pacientes com o mal de Alzheimer (LOMBARDO; MASKOS, 2015).

Alterações nas vias dopaminérgicas têm sido associadas a anedonia e melancolia, podendo estar relacionadas a gênese da depressão (MILLAN, 2004). A dopamina é um neurotransmissor produzido a partir do aminoácido tirosina, que por ação da tirosina hidroxilase (dependente de ferro e tetrahidrobiopterina), transforma-se em L-DOPA (DAUBNER; LE; WANG, 2011). A seguir este sofre descarboxilação pela ação da L-aminoácido aromático descarboxilase (dependente de piridoxina), formando a dopamina (BEST; NIJHOUT; REED, 2009). A dopamina apresenta capacidade de se ligar a 5 diferentes subtipos de receptores acoplados a proteína G, denominados D1 a D5 (VALLONE; PICETTI; BORRELLI, 2000). Após a sua ação, a dopamina é recaptada para o neurônio pré-sináptico. Após ser recaptada, a dopamina pode ser degradada pelas enzimas monoaminoxidase B e aldeído desidrogenase, formando o ácido dehidrofenilacético, que posteriormente será metilado pela enzima catecol-O-metiltransferase, formando o ácido homovanílico (BEST; NIJHOUT; REED, 2009).

O ascorbato também parece exercer algum efeito neuromodulador sobre a neurotransmissão dopaminérgica. A incubação de células de neuroblastoma da linhagem celular SK-N-SH com ascorbato aumentou a síntese de L-DOPA e dopamina, uma resposta que foi associada a um aumento na expressão do gene da tirosina hidroxilase (SEITZ et al., 1998). Antagonistas de receptores dopaminérgicos do subtipo D<sub>2</sub>, administrados em camundongos, foram capazes de abolir o efeito antidepressivo apresentado pelo ascorbato no TSC, mostrando

que, de alguma forma, o ascorbato poderia participar na ação destes receptores (BINFARÉ et al., 2009). O uso de ascorbato potencializou a preferência de local condicionado pela administração de anfetamina, um agonista dopaminérgico, e levou ao aumento da secreção de dopamina no córtex cerebral de ratos (PIERCE et al., 1995). Ainda, a administração de meta-anfetamina em ratos aumentou a liberação de ascorbato no estriado e núcleo-acumbens (DAI et al., 2006; GU et al., 2006). Também foi demonstrado que a redução dos níveis de ascorbato prejudicou a memória quando associado a um inibidor da recaptação de dopamina (GBR 12909) (CASTAGNÉ et al., 2004).

A norepinefrina é o produto da hidroxilação da dopamina catalizada pela enzima  $\beta$ -hidroxilase. A hipofunção do sistema noradrenérgico também tem sido associado a depressão (TAYLOR et al., 2005). O ascorbato poderia participar na modulação da neurotransmissão noradrenérgica, pois um estudo pré-clínico mostrou que antagonistas de adrenoreceptores  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e  $\beta$  foram capazes de abolir o efeito tipo-antidepressivo apresentado por camundongos tratados com ascorbato e submetidos ao TSC (BINFARÉ et al., 2009). Estudos em culturas de astrócitos de ratos também mostram envolvimento do ascorbato sobre o metabolismo da norepinefrina (KIMELBERG; GODERIE, 1993; PATERSON; HERTZ, 1989). Ainda, o ascorbato aumentou eficientemente a produção de norepinefrina em culturas celulares (MAY et al., 2013).

A serotonina é produzida a partir do aminoácido triptofano que por ação da triptofano hidroxilase transforma-se em 5-hidroxitriptofano, que em seguida sofre descarboxilação por ação da L-aminoácido aromático descarboxilase, formando a serotonina (MOHAMMAD-ZADEH; MOSES; GWALTNEY-BRANT, 2008). Destaca-se que um dos cofatores importantes para o funcionamento da enzima triptofano hidroxilase é a tetrahidrobiopterina, que é dependente do ascorbato para sua produção (BAKER; MILSTIEN; KATUSIC, 2001; VAN AMSTERDAM; OPPERHUIZEN, 1999).

Estudos recentes mostraram o envolvimento do ascorbato no metabolismo da 5-hidroxitriptamina, também conhecida como serotonina. No estudo de Ward e colaboradores (2013), camundongos submetidos a dieta deficiente de ascorbato apresentaram uma redução nas concentrações de serotonina no estriado e redução do metabólito da serotonina, 5-hidroxiindolacidoacético (5-HIAA), no estriado e córtex. Binfaré e colaboradores (2009) também evidenciaram o envolvimento

ascorbato sobre o sistema serotoninérgico, pois antagonistas dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> foram capazes de abolir o efeito tipo-antidepressivo do ascorbato.

O glutamato é produzido a partir da glutamina por ação da enzima glutaminase, ou a partir do  $\alpha$ -cetoglutarato através de transaminação (PLATT, 2007). Após a liberação do glutamato na fenda sináptica, este liga-se a receptores metabotrópicos (vários subtipos associados as proteínas G) e ionotrópicos ( $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA), kainato e N-metil-D-aspartato (NMDA)). Quando ativados, os receptores NMDA aumentam a entrada de cálcio para o interior do neurônio, o que ativa a enzima óxido nítrico sintase neuronal, e conseqüentemente a produção de óxido nítrico a partir da L-arginina (CALABRESE et al., 2007; STEINERT; CHERNOVA; FORSYTHE, 2010).

O ascorbato parece modular o sistema glutamatérgico. Supõe-se que ascorbato seja liberado no líquido extracelular do estriado quando o glutamato é captado por astrócitos ou recaptado por neurônios pré-sinápticos. Neste processo, a troca de ascorbato por glutamato é realizada por transportadores de glutamato de alta afinidade, especialmente EAAT2 e EAAT3, aumentando as concentrações extracelulares de ascorbato nestas regiões no SNC (REBEC; PIERCE, 1994; RICE, 2000).

O óxido nítrico foi associado a modulação de neurônios monoaminérgicos e também está envolvido na morte neuronal induzida pelo excesso de glutamato (DHIR; KULKARNI, 2011; STRIJBOS; LEACH; GARTHWAITE, 1996). O aumento da concentração plasmática de NO, bem como estímulos para formação de ácido quinolínico (um agonista NMDA), têm sido associados a maior incidência de suicídio (LEE et al., 2006; MILLER; MALETIC; RAISON, 2009).

Dentre os receptores do glutamato, o NMDA é o mais estudado, o qual está relacionado a patologias do SNC (TYMIANSKI et al, 1993). O ascorbato é um fraco antagonista do receptor NMDA, e pode também estar envolvido na internalização destes receptores, o que irá diminuir a neurotransmissão glutamatérgica (MAJEWSKA; BELL; LONDON, 1990; YUSA, 2001). Este é considerado um mecanismo pelo qual o ascorbato poderia exercer seu efeito antidepressivo (MORETTI et al., 2011). Adicionalmente, estudos têm demonstrado que a cetamina, um antagonista dos receptores NMDA, apresenta efeito antidepressivo tanto

em estudos pré-clínicos (GARCIA et al., 2009; ROGOZ et al., 2002), quanto em estudos clínicos (BERMAN et al., 2000; ZARATE et al., 2006). Estudos desenvolvidos com humanos evidenciam que uma única dose de cetamina, já foi capaz de melhorar os sintomas de depressão de forma rápida (cerca de 1 h após sua administração) e sustentada (por cerca de uma semana), mas destaca-se que este não é o único mecanismo responsável pelo seu efeito rápido na melhora dos sintomas de depressão (BERMAN et al., 2000; DUMAN, 2014; PRICE et al., 2009; ZARATE et al., 2006). Antagonistas de receptores NMDA também têm demonstrado efeitos modulatórios sobre o sistema serotoninérgico, alterando a densidade de receptores 5-HT<sub>1A</sub> e aumentando os níveis de dopamina e serotonina (LOSCHER; ANNIES; HONACK, 1991; WEDZONY et al., 1997).

Já são bem conhecidos os efeitos excitatórios do glutamato através da ativação de neurônios glutamatérgicos (DEUTSCHENBAUR et al., 2016), além disso, o glutamato também pode estimular ou inibir a atividade de outros neurônios, tais como os GABAérgicos, dopaminérgicos e serotoninérgicos (FITZGERALD, 2012), os quais são conhecidos por estar envolvidos nos transtornos do humor (BENSON et al., 2015; COPLAN, 2015). O glutamato também vem sendo associado a doenças neurodegenerativas como doença de Alzheimer (REVETT et al., 2013), doença de Huntington (REBEC, 2013; RIBEIRO et al., 2014), entre outras. Na doença de Huntington há uma desregulação do processamento neuronal cortical e estriatal. A expressão aumentada do transportador de glutamato 1 (GLT1) aumenta a captação de glutamato no estriado, concomitantemente com liberação ascorbato. Neste sentido, num modelo de doença de Huntington, o tratamento com ascorbato melhora os parâmetros comportamentais e o padrão de disparo de neurônios estriatais (REBEC, 2013).

## **1.5. Ascorbato e depressão**

### **1.5.1. Estudos pré-clínicos**

Em estudos pré-clínicos, o TSC e o teste do nado forçado (TNF) são utilizados, tipicamente, para identificar e caracterizar os fármacos e substâncias com potencial atividade antidepressiva em seres humanos (CRYAN; MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005). O TNF consiste em manter camundongos ou ratos em situação inescapável forçando-os a procurar escape (natação). Com o tempo as tentativas de escape vão reduzindo e os animais fazem esforço somente para flutuar

(imobilidade). Da mesma forma, no TSC o animal fica preso pela cauda, o que força o mesmo a fazer movimentos para tentar escapar, sendo que o tempo sem estes movimentos é considerado como tempo de imobilidade. Normalmente o teste demora 6 minutos e o tempo de imobilidade é registrado. As drogas que apresentam atividade antidepressiva normalmente diminuem o tempo de imobilidade no TNF e no TSC (BOURIN; MASSE; HASCOET, 2005).

O primeiro estudo pré-clínico sobre os possíveis mecanismos de ação antidepressiva foi publicado apenas a alguns anos atrás (BINFARÉ et al., 2009). Neste, a suplementação de ascorbato v.o. (1-10 mg/kg) ou i.c.v. (0,1 nmol/camundongo) produziu um efeito tipo antidepressivo no teste da suspensão da cauda. Uma dose subativa de ascorbato potencializou o efeito de uma dose subativa de antidepressivos convencionais (fluoxetina, imipramina, ou bupropiona). Ainda, o tratamento com ascorbato reduziu o tempo de imobilidade, o que foi revertido pelo uso de antagonistas de receptores monoaminérgicos, incluindo antagonistas de receptores dopaminérgicos do subtipo  $D_2$ , serotoninérgicos  $5-HT_{1A}$ ,  $5-HT_{2A/2C}$ ,  $5-HT_3$  e  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ - e  $\beta$ -adrenoreceptores. Estes dados indicam um possível envolvimento destes receptores na ação tipo-antidepressiva do ascorbato (BINFARÉ et al., 2009).

Vários estudos sobre a fisiopatologia da depressão têm sugerido a participação do sistema glutamatérgico na indução desta patologia, especialmente relacionados ao receptor NMDA (HASHIMOTO, 2009; MACHADO-VIEIRA; YUAN; BRUTSCHE, 2009; ZARATE et al., 2006), mas a interrelação entre o ascorbato e receptores NMDA foi pouco estudada. O uso de doses subativas de ascorbato associado ao uso de um antagonista não competitivo de receptores NMDA, o MK-801, (0,001 mg/kg, i.p.), apresentou efeito sinérgico, levando a um efeito tipo-antidepressivo no TSC (MORETTI et al., 2011). O ascorbato é capaz de inibir a ligação do glutamato aos receptores NMDA, modulando esta via (MAJEWSKA; BELL; LONDON, 1990). Ainda, já é sabido que transportadores de glutamato de alta afinidade (EAAT2 e EAAT3) participam na remoção do glutamato da fenda sináptica, e concomitantemente promovem a liberação de ascorbato (REBEC; PIERCE, 1994). No seu conjunto, estes dados indicam que o efeito do antidepressivo do ascorbato pode estar ligado a inibição da neurotransmissão glutamatérgica.

Os efeitos relacionados ao comportamento tipo-depressivo induzidos pela ativação de receptores NMDA (dependente do influxo de cálcio que ocorre mediante ativação destes receptores) parecem estar relacionados à ativação da enzima óxido nítrico sintetase (MCCARTHY et al., 2012; SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012). Além disso, o aumento da produção de óxido nítrico pode levar ao estresse oxidativo, aumentando a produção de superóxido e peroxidação lipídica (HARKIN et al., 1999). Concordando com esta idéia, o tratamento com L-arginina aumentou a produção de óxido nítrico (WU; MORRIS, 1998). Além disso, o estudo de Moretti e colaboradores (2011) demonstrou o envolvimento do óxido nítrico no efeito tipo-antidepressivo apresentado com a administração do ascorbato (1 mg/kg). Por outro lado, a administração de uma dose subativa de ascorbato e de um inibidor da enzima óxido nítrico sintetase neuronal, o 7-nitroindazol, ou um inibidor da guanilato ciclase solúvel, o ODQ (30 pmol/sítio), apresentaram efeito sinérgico, potencializando a ação antidepressiva do ascorbato no TSC. Adicionalmente, o tratamento com um inibidor da enzima fosfodiesterase 5 (sildenafil), 30 min antes de administração de 1 mg/kg de ascorbato, foi capaz de reverter a redução do tempo de imobilidade promovido pelo uso do ascorbato de forma isolada (MORETTI et al., 2011). Estes dados suportam a idéia, de que pelo menos em parte, o efeito antidepressivo do ascorbato pode ser devido ao seu envolvimento na inibição da produção de óxido nítrico.

Estudos indicam que a transmissão glutamatérgica leva a ativação da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), que pode envolver a ativação da via de sinalização mediada por PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  (DWYER; LEPACK; DUMAN, 2012; LI et al., 2010). Esta via parece estar envolvida na fisiopatologia da depressão, pois a redução na atividade da PI3K foi observada em suicidas (DWIVEDI et al., 2008), e pacientes depressivos apresentaram elevação da atividade da GSK-3 $\beta$  no córtex pré-frontal (KAREGE et al., 2007; OH; PARK; KIM, 2010). A ativação de PI3K catalisa a produção de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato, ativando várias vias de sinalização, incluindo a fosforilação de Akt. Uma vez fosforilada, Akt fosforila e inativa GSK-3 $\beta$  (KENNEDY et al., 1997). A modulação da atividade da mTOR parece ser um mecanismo subjacente associado ao efeito antidepressivo do ascorbato, pois o uso da rapamicina, um inibidor seletivo de mTOR, aboliu completamente o efeito antidepressivo apresentado pelo pré-tratamento do ascorbato no TSC (MORETTI et al.,

2014). O tratamento com um inibidor reversível da PI3K (LY294002) foi capaz de abolir o efeito antidepressivo do ascorbato no TSC. Efeito sinérgico foi observado em camundongos administrados com uma dose subativa de ascorbato (0,1 mg/kg), associado ao tratamento com dois inibidores da GSK-3 $\beta$ , cloreto de lítio (10 mg/kg) e AR-A014418 (0,01  $\mu$ g/sítio, i.c.v.) (MORETTI et al., 2014).

Como já mencionado, a ativação de processos inflamatórios tem sido associada ao desenvolvimento da depressão (HESTAD et al., 2003). Adicionalmente, pacientes submetidos a imunoterapia estão mais susceptíveis a apresentar sintomas depressivos (UDINA et al., 2012). O ascorbato parece apresentar efeito anti-inflamatório, potencializando seu efeito antidepressivo (MORETTI et al., 2015). Neste estudo, a administração de TNF- $\alpha$  (0,0001 fg/sítio, i.c.v.), uma citocina pró-inflamatória, induziu comportamento tipo-depressivo em camundongos e o tratamento com ascorbato (1 mg/kg) impediu este efeito. Além disso, os autores também demonstraram que o tratamento com doses subativas de ascorbato (0,1 mg/kg) associado ao uso de doses subativas de antidepressivos como fluoxetina (5 mg/kg), imipramina (0,1 mg/kg), bupropiona (1 mg/kg) ou tratamento com um antagonista não-competitivo do receptor NMDA (MK-801) ou com antagonista da óxido nítrico sintetase neuronal (7-nitroindazole) produziram efeito antidepressivo sinérgico, quando os animais foram tratados com TNF- $\alpha$  ou não. O tratamento com TNF- $\alpha$  aumentou a fosforilação da p38MAPK (proteína modulada por citocinas pro-inflamatórias) que foi revertido pela administração do ascorbato (1 mg/kg). O ascorbato (1 mg/kg) foi capaz de inibir os receptores NMDA induzindo efeito tipo-antidepressivo e este efeito parece ainda estar relacionado a ativação do sistema monoaminérgico. Ainda a administração do ascorbato em dose ativa (1 mg/kg) ou subativa (0,1 mg/kg) foi capaz de aumentar a fosforilação da ERK1 no hipocampo (MORETTI et al., 2015).

A indução da heme-oxigenase 1 (HO-1) pode estar relacionada com efeitos antidepressivos, uma vez que esta enzima aumenta a atividade antioxidante e reduz os efeitos deletérios do estresse oxidativo (DAL-CIM et al., 2012; GOZZELINO; JENEY; SOARES, 2010; KOCANOVA et al., 2007). O tratamento com um inibidor da HO-1, a protoporfirina de zinco, foi capaz de abolir o efeito antidepressivo do ascorbato no TSC. Este estudo mostrou que o efeito tipo-antidepressivo do ascorbato depende da ativação de HO-1, provavelmente através da via PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$ /Nrf-2 (MORETTI et al., 2014). Evidências

recentes indicam que GSK-3 $\beta$  apresenta um importante papel na regulação do Nrf2 (CHEN et al., 2012). A ativação do fator de transcrição Nrf2 induziu a expressão de alguns genes relacionados a enzimas de detoxificação de fase II e de defesas antioxidantes, como NAD(P)H: quinona oxidoreductase 1 (NQO1), HO-1, glutathiona S-transferase, and aldocetoreductase (AR) (GU et al., 2011; HWANG; JEONG, 2010; CALKINS et al., 2009). Esta resposta tem potencial atividade antidepressiva devido a diminuição do estresse oxidativo, reforçando a idéia de que a administração de antioxidantes possam ser candidatos coadjuvantes no tratamento da depressão (MORETTI et al., 2014).

A ativação de canais de potássio pode levar ao comportamento tipo depressivo em cobaias (GALEOTTI et al., 1999; GUO et al., 1996), por outro lado, a inibição destes canais resultou em comportamento tipo-antidepressivo (KASTER et al., 2005). Adicionalmente a utilização de fármacos com atividade antidepressiva associados a bloqueadores de canais de potássio apresentaram efeito sinérgico (BORTOLATTO et al., 2010; GUO et al., 1995). O próprio ascorbato reduziu correntes de potássio em neurônios de drosófilas (ALSHUAIB; MATHEW, 2006) e em células bipolares de retina de peixe dourado (FAN; YAZULLA, 1999). Além disso, foi observado que o tratamento de camundongos com uma dose subativa de ascorbato (0,1 mg/kg) apresentou efeito sinérgico quando associado ao tratamento com doses subativas de antagonistas de canais de potássio (teatraetilamonia, glibenclamida, caribdotoxina e apamina), produzindo um comportamento tipo antidepressivo no TSC (MORETTI et al., 2012a). Sabe-se que os bloqueadores de canais de potássio são capazes de induzir a liberação de serotonina (BORTOLATTO et al., 2010; CHOI et al., 2004), com isso, é possível que o efeito sinérgico com o ascorbato, apresentado pelo uso destes bloqueadores na melhora do comportamento tipo depressivo esteja associado a liberação de serotonina. Corroborando com esta informação, a administração de antagonistas de receptores de serotonina (NAN-190, cetanserina e MDL72222) reverteram completamente o efeito tipo-antidepressivo do ascorbato no TSC (BINFARÉ et al., 2009).

Outra parte do efeito tipo-antidepressivo parece ser devido a um bloqueio indireto dos canais potássio pelo ascorbato, através da inibição dos receptores NMDA e da síntese de óxido nítrico. Adicionalmente, estudos mostram que o óxido nítrico e o GMPc podem ativar diferentes tipos de canais de potássio (BOLOTINA et al., 1994; JEONG et al.,

2001), o que pode ser, potencialmente, associado ao efeito tipo-antidepressivo apresentado pelo ascorbato, visto que o ascorbato é capaz de reduzir a secreção de óxido nítrico (MORETTI et al., 2011). Esta possibilidade é reforçada ainda pelo fato de que o tratamento de camundongos com ativadores dos canais de potássio (cromacalim) foi capaz de bloquear o efeito antidepressivo produzido pelo uso concomitante de ascorbato e um inibidor da óxido nítrico sintetase, o 7-nitroindazol (MORETTI et al., 2012a).

Sabe-se que os protocolos de estresse crônico são capazes de induzir comportamento depressivo (MORETTI et al., 2012b). Camundongos submetidos a um período de 14 dias consecutivos de estresse induziu a um comportamento tipo depressivo, o qual foi mantido durante os 3 meses subsequentes ao estresse, mesmo na ausência dos agentes estressores (SEO et al., 2012). Além disso, o tratamento com glicocorticóides também induziu a um comportamento tipo-depressivo (ZHAO et al., 2008), e aumento na produção de ERO (LEE et al., 2009; SATO et al., 2010). Em outro estudo, camundongos submetidos a 14 dias de estresse crônico imprevisível apresentaram um comportamento tipo depressivo no TSC aliado a um aumento dos sinais de estresse oxidativo no córtex cerebral e hipocampo, incluindo peroxidação lipídica e redução das defesas antioxidantes. Foram observadas diminuições nas atividades de enzimas antioxidantes no córtex cerebral, incluindo a catalase no hipocampo, glutathione redutase e nos níveis de glutathione. O tratamento com ascorbato, começando no 8º dia de estresse, impediu o comportamento tipo depressivo, reduziu a peroxidação lipídica e reverteu os efeitos sobre a glutathione redutase no hipocampo, e sobre a atividade da catalase no córtex cerebral (MORETTI et al., 2012b).

Diminuição dos níveis ascorbato no SNC de camundongos submetidos ao estresse crônico por 28 dias corroboram com a idéia de que a ação antidepressiva do ascorbato pode estar ligada a um decréscimo no estresse oxidativo. Esta redução nos níveis de ascorbato foi simultânea a uma diminuição significativa nos níveis de atividade da enzima glutathione peroxidase e nos níveis de glutathione (EREN; NAZIROGLU; DEMIRDAS, 2007). O complexo II da cadeia respiratória e a enzima citocromo C oxidase são conhecidos por serem vulneráveis ao estresse oxidativo. Associação de ascorbato (100 mg/kg) e vitamina E (40 mg/kg) restaurou a atividade do complexo II da cadeia

respiratória e da citocromo C oxidase no córtex pré-frontal de ratos, induzida pelo estresse crônico de 40 dias (TAGLIARI et al., 2010).

Camundongos submetidos ao estresse de contenção agudo por 7 h apresentaram um comportamento tipo depressivo no TNF, bem como um aumento da peroxidação lipídica, da atividade das enzimas superóxido dismutase e glutatona peroxidase no hipocampo e no córtex cerebral, e da enzima glutatona redutase no córtex cerebral. O pré-tratamento com ascorbato (1 mg/kg), 1 hora antes do estresse, preveniu o comportamento tipo depressivo e controlou a peroxidação lipídica (MORETTI et al., 2012c). Estas alterações foram acompanhadas por um aumento da proteína Bcl-2, que está geralmente associada a um aumento das defesas antioxidantes e da capacidade redox mitocondrial (RUDIN et al., 2003; KOWALTOWSKI; FISKUM, 2005). Os autores sugerem que este aumento da Bcl-2 seria uma resposta compensatória para neutralizar o estresse oxidativo induzido pelo estresse de contenção, dado que a indução de Bcl-2 foi previamente associada a um aumento das defesas antioxidantes (KOWALTOWSKI; FISKUM, 2005). Concordando com esta idéia, a diabetes induzida por estreptozotocina levou a uma diminuição na expressão de Bcl-2 no hipocampo. Duas semanas de tratamento com ascorbato reverteu essa alteração (JAFARI ANARKOOLLI et al., 2009). Células neuronais primárias tratadas com ascorbato aumentaram os níveis de Bcl-2, e foram protegidos contra a toxicidade de etanol e pentilenotetrazol, o que foi atribuído à ação anti-apoptótica de Bcl-2 (NASEER et al., 2011). A Tabela 1 apresenta os dados dos estudos pré-clínicos relacionando o uso do ascorbato ao efeito tipo-antidepressivo.

**Tabela 1. Estudos pré-clínicos que associam o uso do ascorbato ao efeito tipo-antidepressivo**

Resultados principais	Animal/Droga/Tratamento	Referência
O tratamento com ascorbato reduziu o tempo de imobilidade no TSC, que foi revertido pelo de antagonistas monoaminérgicos (5-HT <sub>1A</sub> , 5-HT <sub>2A/2C</sub> , 5-HT <sub>3</sub> e $\alpha_1$ -, $\alpha_2$ - e $\beta$ -adrenoreceptores,	Camundongos pré-tratados com NAN-190 (0,5 mg/kg, antagonista do receptor 5-HT <sub>1A</sub> ), cetanserina (5 mg/kg, antagonista do receptor 5-HT <sub>2A/2C</sub> ), MDL72222 (0,1 mg/kg, antagonista do receptor 5-HT <sub>3</sub> ), prazosina (62,5 $\mu$ g/kg, antagonista do adrenoreceptor $\alpha_1$ ), yohimbina (1	BINFARÉ et al., 2009

antagonista não seletivo do receptor dopaminérgico e receptor D <sub>2s</sub> )	mg/kg, antagonista de adrenoceptor $\alpha_2$ ), propanolol (2 mg/kg, antagonista do adrenoceptor $\beta$ ), haloperidol (0,2 mg/kg, antagonista não seletivo do receptor dopaminérgico, SCH23390 (0,05 mg/kg, antagonista do receptor dopaminérgico D <sub>1</sub> ), sulpirida (50 mg/kg, antagonista do receptor dopaminérgico D <sub>2</sub> ). Todos administrados i.p., exceto SCH23390 que foi administrado s.c.	
O ascorbato (1-10 mg/kg, v.o. ou 0,1 nmol/camundongo, i.c.v.) causou efeito tipo-antidepressivo nos animais submetidos ao TSC	30 min após foram tratados com ascorbato (0,1 mg/kg, i.p.). Após 30 min foram submetidos ao TSC	
Dose subativa do ascorbato potencializou o efeito de doses subativas de antidepressivos convencionais (fluoxetina, imipramina e bupropiona)	Ascorbato (0,1-100 mg/kg, v.o. e 0,01-10 nmol/camundongo, i.c.v.). Os animais foram submetidos ao TSC, 15 e 60 min após a administração i.c.v. e v.o., respectivamente. Fluoxetina (1 mg/kg, inibidor da recaptção de serotonina), imipramina (0,1mg/kg, inibidor da recaptção de serotonina e noradrenalina), bupropiona (1 mg/kg, inibidor da recaptção de dopamina) e imediatamente após foram tratados com ascorbato (0,1 mg/kg). Todos administrados v.o. 60 min após foram submetidos ao TSC	
Ascorbato apresentou efeito tipo antidepressivo no TSC mediado pela inibição de receptores NMDA	Ascorbato 1 mg/kg v.o. e 30 min após foi administrado 0,1 pmol/sítio/i.c.v de NMDA	MORETTI et al., 2011
Dose subativa de ascorbato associado a antagonista não competitivos dos receptores NMDA (MK-801) apresentaram redução do tempo de imobilidade de forma sinérgica no TSC	Ascorbato 0,1 mg/kg, v.o. 30min antes de ser administrado 0,001 mg/kg de MK-801. O TSC foi realizado 60min depois	

O tratamento com L-arginina aumentou a produção de óxido nítrico e foi capaz de abolir o efeito antidepressivo apresentado com o uso do ascorbato

Dose subativa do ascorbato associado ao uso de um inibidor da óxido nítrico sintetase (7-nitroindazol) ou inibidor da guanilato ciclase solúvel (ODQ)

apresentaram efeito sinérgico, potencializando a ação antidepressiva do ascorbato no TSC

Tratamento com inibidor da fosfodiesterase 5 (sildenafil), 30 min antes da administração do ascorbato reverteu o efeito tipo antidepressivo produzido pelo ascorbato de forma isolada

L-arginina (750 mg/kg i.p.) e 30 min após foi administrado ascorbato (1 mg/kg, v.o.). 60 min após foi realizado o TSC

Dose subativa de ascorbato (0,1 mg/kg, v.o.) com dose subativa de 7-nitroindazol (25 mg/kg, i.p.) ou ODQ (inibidor da guanilato ciclase solúvel) (30 pmol/sítio, i.c.v.)

Sildenafil (5 mg/kg, i.p.) e 30 min após foi administrado ascorbato (1 mg/kg, v.o.). 60 min depois foi realizado o TSC

Doses subativas de ascorbato associado a doses subativas de antagonistas de canais de potássio (teatraetilamonia, glibenclamida, caribdotoxina e apamina) produziram comportamento tipo anti-depressivo no TSC

Ascorbato (0,1 mg/kg, v.o.) associado a teatraetilamonia (25pg/sítio, i.c.v.), glibenclamida (0,5 pg/sítio, i.c.v.), caribdotoxina (25 pg/sítio, i.c.v.) e apamina (10 pg/sítio, i.c.v), 15min após os camundongos foram submetidos ao TSC

MORETTI et al., 2012<sup>a</sup>

Abridores de canais de potássio (cromacalima ou minoxidil) foram capazes de reverter o efeito tipo-antidepressivo ocasionado pela administração do ascorbato

Cromacalima (10 µg/sítio, i.c.v.) ou minoxidil (10 µg/sítio, i.c.v.), 45 min após a administração de ascorbato (1 mg/kg, v.o.). 15 min após foi realizado o TSC

Doses subativas de ascorbato e inibidor da óxido nítrico sintetase neuronal foram capazes de

Cromacalima (10 µg/sítio, i.c.v.), 45 min após a administração de ascorbato 0,1 mg/kg, v.o.) associado a 7- nitroindazol (25 mg/kg i.p.), 15

<p>produzir efeito tipo-antidepressivo que foi revertido pela administração do abridor de canal de potássio (cromacalima)</p>	<p>min após foi realizado o TSC</p>	<p>MORETTI et al., 2012b</p>
<p>Tratamento com ascorbato impediu o comportamento tipo-depressivo e reverteu a peroxidação lipídica</p>	<p>Camundongos foram submetidos ao estresse crônico por 14 dias. A partir do 8º dia de estresse foram tratados com ascorbato (10 mg/kg/dia) ou fluoxetina (10 mg/kg/dia) por 7 dias. No 15º dia foram submetidos ao TSC. Foram avaliadas as atividades da glutatona redutase e glutatona peroxidase, além das concentrações de glutatona reduzida e formação de TBARS</p>	<p>MORETTI et al., 2012b</p>
<p>O pré-tratamento com ascorbato foi capaz de prevenir o comportamento tipo-depressivo desencadeado pelo estresse agudo, além de reduzir o estresse oxidativo e aumentar a expressão da Bcl-2</p>	<p>Camundongos foram submetidos ao estresse de contenção (imobilização por 7h). Foi administrado ascorbato (1 mg/kg, v.o.) ou fluoxetina (10 mg/kg, v.o.) 2h antes do estresse agudo. Após o estresse, os animais foram submetidos ao TSC. Foram avaliadas as atividades da glutatona redutase, glutatona peroxidase e superóxido dismutase, além dos níveis de glutatona e formação de TBARS. Foi avaliada a expressão da Bcl-2 e Bax por <i>western blotting</i></p>	<p>MORETTI et al., 2012c</p>
<p>Rapamicina (inibidor seletivo da mTOR aboliu completamente o efeito antidepressivo do ascorbato no TSC O tratamento com um inibidor reversível da PI3K(LY294002) foi capaz de abolir o efeito antidepressivo do ascorbato no TSC Dose subativa de ascorbato associado a inibidores da GSK-3β (cloreto de lítio ou AR-A014418) apresentou</p>	<p>Camundongos foram pré-tratados com ascorbato (1 mg/kg) e após 45 min foram tratados com rapamicina (0,2 nmol/sítio, i.c.v.) Camundongos foram pré-tratados com ascorbato (1 mg/kg) 45 min antes do tratamento com LY294002 (10 nmol/sítio). 15 min após foram submetidos ao TSC Dose subativa de ascorbato (0,1 mg/kg, v.o.) + dose subativa de cloreto de lítio (10 mg/kg, v.o.) ou AR-A014418 (0,01µg/sítio, i.c.v.)</p>	<p>MORETTI et al., 2014</p>

efeito tipo-antidepressivo de forma sinérgica	Após foram submetidos ao TSC	
<p>O uso de um inibidor da HO-1 (protoporfirina de zinco) foi capaz de abolir o efeito antidepressivo do ascorbato no TSC</p> <p>O tratamento com dose subativa de ascorbato associado a dose subativa de um indutor da HO-1 (protoporfirinas de cobalto) produziu efeito tipo-antidepressivo no TSC</p>	<p>Camundongos foram pré-tratados com ascorbato (1 mg/kg) 45 min antes do tratamento com protoporfirina de zinco (10 ng/sítio, i.c.v.)</p> <p>Dose subativa de ascorbato (0,1 mg/kg, v.o.) e dose subativa de protoporfirinas de cobalto (0,01 µg/sítio, i.c.v.)</p>	
<p>A administração de TNF-<math>\alpha</math> induziu comportamento tipo-depressivo, o tratamento com ascorbato impediu este efeito</p>	<p>Camundongos tratados com TNF-<math>\alpha</math> (0,0001 fg/sítio, i.c.v.) e ascorbato (1 mg/kg)</p>	<p>MORETTI et al., 2015</p>
<p>Dose subativa de ascorbato associado a dose subativa de antidepressivos ou antagonista não-competitivo do receptor NMDA ou antagonista do óxido nítrico sintetase neuronal apresentaram efeito tipo-antidepressivo de forma sinérgica quando os animais foram tratados com TNF-<math>\alpha</math> ou não.</p>	<p>Ascorbato (0,1 mg/kg), e imediatamente após -fluoxetina (5 mg/kg) ou imipramina (0,1 mg/kg) ou bupropiona (1 mg/kg) ou MK-801 ou &amp;-nitroindazole. Após 30min foram tratados com TNF-<math>\alpha</math> (0,0001 fg/sítio, i.c.v.). 30 min após foram submetidos ao TSC</p>	
<p>Doses subativas de ascorbato e dose subativa do inibidor da óxido nítrico sintetase neuronal apresentaram efeito sinérgico e foram capazes abolir o efeito depressogênico induzido pela administração de TNF-<math>\alpha</math></p>	<p>Camundongos foram pré-tratados com dose subativa de ascorbato (0,1 mg/kg, v.o.). 30 min após dose subativa de 7-nitroindazol e em seguida foi administrado TNF-<math>\alpha</math> (0,0001 fg/sítio, i.c.v.). 30 min após foram submetidos ao TSC</p>	
<p>TNF-<math>\alpha</math> aumentou a fosforilação da p38MAPK, que foi revertida pela</p>	<p>Camundongos foram tratados com ascorbato (0,1 mg/kg) ou (1 mg/kg), v.o. e após foi administrado TNF-<math>\alpha</math></p>	

administração de ascorbato (1 mg/kg). A administração de ascorbato em ambas as doses foi capaz de aumentar a fosforilação da ERK1 no hipocampo

(0,0001 fg/sítio, i.c.v.). Foram detectadas ERK 1/2, p38<sup>MAPK</sup> e JNK 1/2/3 total e formas fosforiladas

### 1.5.2. Estudos clínicos

O primeiro relato na literatura mostrando uma relação entre os efeitos antidepressivos do ascorbato em humanos datam da década de 50 (MCINTOSH, 1959), o qual, baseado na observação de sintomas depressivos em indivíduos com escorbuto, sugeriu que a depressão pode ser um sintoma precoce da deficiência de ascorbato. Em 1963, Milner observou melhora dos sintomas depressivos em indivíduos esquizofrênicos tratados com ascorbato na dose de 1 g/dia, por 3 semanas (MILNER, 1963). Em 1994, Stoger e colaboradores, também relataram que um paciente com escorbuto foi internado no hospital com idéias suicidas (STOGER et al., 1994). Um outro estudo associou a presença de escorbuto com depressão, em um indivíduo de 52 anos com carcinoma de cólon. Este apresentava sintomas de redução do apetite, fadiga, fraqueza, anedonia e depressão. O tratamento com ascorbato (1 g/dia, intramuscular por 7 dias e na semana subsequente 1,5 g de ascorbato via oral) eliminou os sintomas de escorbuto e de depressão (CHANG et al., 2007), resultado semelhante já havia sido reportado anteriormente (NGUYEN et al., 2003). Ainda, concentrações insuficientes de ascorbato (entre 23-28 µM) foram encontradas no sangue de um homem de 18 anos apresentando depressão e dificuldade em cicatrizar feridas. A suplementação com 1 g/dia de ascorbato levou a melhora nos sintomas depressivos (CARR; VISSERS, 2012).

Sabe-se que o estresse crônico está associado a fisiopatologia da depressão (MILLER; MALETIC; RAISON, 2009), mas não está estabelecido se o ascorbato apresenta eficácia sobre o estresse. A depressão induzida por administração de ACTH em uma menina de 5 anos com hepatite crônica foi revertida com o uso de ascorbato intravenoso (50 mg/kg/dia associado a 5% de glicose) por 2 semanas. Os mesmos autores relataram que o mesmo protocolo de administração de ascorbato intravenoso resultou na eliminação de todos os sintomas depressivos em outros 2 adultos jovens com 19 e 29 anos e um menino de 7 anos apresentando depressão de causa desconhecida (COCCHI et al., 1980). Ainda, 136 homens trabalhadores de uma refinaria de óleo,

com idade entre 22 e 38 anos e que trabalham em turnos alternados, utilizaram suplementação de ascorbato (250 mg) e/ou ômega-3 (180 mg de ácido eicosapentanoico e 120 mg de ácido docosahexanoico) duas vezes ao dia por via oral por 60 dias. Tanto a suplementação de ômega-3, quanto a suplementação com ascorbato, ou a utilização de ambos, foram capazes de melhorar os escores de depressão (avaliados pelo Inventário Beck de Depressão) (KHAJEHNASIRI et al., 2013).

O ascorbato tem grande potencial para ser um coadjuvante no tratamento da depressão. Por exemplo, crianças depressivas em uso de fluoxetina também apresentaram benefício com o uso do ascorbato. O estudo avaliou 12 crianças depressivas, seguindo tratamento com fluoxetina (10-20 mg/dia), que foram suplementadas com 1 g/dia de ascorbato por 6 meses. Estas apresentaram uma significativa redução nos sintomas depressivos, quando comparados aos sintomas de crianças tratadas apenas com fluoxetina. Estes dados mostram um efeito sinérgico do ascorbato em combinação com o uso de ISRS (AMR et al., 2013), como já discutido anteriormente, e demonstrado por experimentos pré-clínicos (BINFARÉ et al., 2009; MORETTI et al., 2015).

Mais estudos investigaram a eficácia da associação do ascorbato com terapias convencionais para depressão. Efeito sinérgico também foi observado em adultos com diagnóstico de depressão, que por 8 semanas receberam 500 mg de ascorbato e antidepressivo (a prescrição do tipo de antidepressivo ficou a critério do psiquiatra podendo ser de qualquer classe). Aqueles que receberam a associação de ascorbato com antidepressivo apresentaram significativa redução na escala de depressão de Hamilton (*Hamilton Depression Rating Scale*) (ABURAWI et al., 2014). Contudo, Sahraian, Ghanizadeh e Kasemeini não encontraram o mesmo efeito sinérgico quando suplementaram adultos deprimidos em uso de citalopram, quando foi associado a 1 g/dia de ascorbato por 8 semanas. O tratamento com ascorbato não alterou os valores da escala de depressão, quando avaliados através da escala de Hamilton (SAHRAIAN; GHANIZADEH; KASEMEINI, 2015). Por outro lado, 15 indivíduos hospitalizados que foram suplementados com 500 mg/dia de ascorbato por 6 semanas apresentaram aumento do número de leucócitos mononucleares e redução em 34% os escores de alterações de humor (avaliado através do questionário *Profile Mood State-B*, validado para pacientes hospitalizados). Já os 17 indivíduos que foram suplementados com 1000 UI por dia de vitamina D pelo mesmo período não apresentaram qualquer relação com o humor dos pacientes

(ZHANG et al., 2011). Outro estudo foi desenvolvido com 52 homens e mulheres hospitalizados, com idade média de 64 anos, e suplementados com ascorbato (1 g/dia) ou vitamina D (5000 UI/dia) por 8 semanas. Após este período foi avaliada a carga de estresse e o humor dos indivíduos. Aqueles que ingeriram ascorbato apresentaram redução de 71% nas alterações de humor e diminuição de 51% do estresse psicológico, enquanto que indivíduos que utilizaram vitamina D não apresentaram diferença significativa nestes parâmetros (WANG et al., 2013).

Mesmo indivíduos saudáveis (42 homens e mulheres com idade média de 24 anos), quando suplementados com 3 g de ascorbato por 14 dias, apresentaram redução nos escores em uma escala de depressão (*Beck Depression Inventory*), quando comparado ao grupo placebo (BRODY, 2002). O consumo de 2 kiwis/dia (totalizando 212 mg de ascorbato) por 35 jovens do sexo masculino durante 6 semanas também reduziu em 38% as alterações de humor dos indivíduos que apresentam as maiores pontuações para alterações de humor no questionário *Profile of Mood questionnaire*, mas sem diagnóstico de depressão. Ainda, foi observada uma redução de 38% na fadiga, e melhora de 31% do vigor, quando comparados aos indivíduos que consumiram somente meio kiwi/dia. Indivíduos com menores escores de alteração de humor não apresentaram melhora, mesmo consumindo 2 kiwis/dia (CARR et al., 2013).

É possível que as propriedades antioxidantes do ascorbato possam contribuir para seu efeito antidepressivo em humanos sob estresse crônico, pela redução do estresse oxidativo gerado nestas condições (AHMAD et al., 2012; ATIF; YOUSUF; AGRAWAL, 2008). Além disso, humanos submetidos ao estresse crônico apresentam um aumento nas necessidades de ascorbato (ANDERSON, 2008; GROMOVA et al., 1990; HEAD; KELLY, 2009; LIAKAKOS et al., 1975), o que é necessário para a produção de glicocorticóides e catecolaminas. O aumento na produção de glicocorticóides está associado ao aumento na produção de superóxido pela NADPH oxidase. Além disso, inibidores da NADPH oxidase podem abolir o comportamento tipo depressivo durante ou após períodos de estresse (SEO et al., 2012). Este aumento na produção de ERO pode ser evitado com a suplementação de antioxidantes, levando a eliminação do comportamento tipo depressivo (AMR et al., 2013; BERK et al., 2008; BRODY, 2002; KHAJEHNASIRI et al., 2013; ZHANG et al., 2011).

Estudos indicam que o estresse oxidativo participa na fisiopatologia da depressão (BAJPAI et al., 2014), e que os antioxidantes, tais como ascorbato, vitamina E e N-acetilcisteína, melhoram os sintomas de depressão (AMR et al., 2013; BERK et al., 2008; BRODY, 2002; GERMAN et al., 2011; KHAJEHNASIRI et al., 2013; ZHANG et al., 2011), apesar disso, existem poucos estudos com seres humanos. Por exemplo, o uso de N-acetilcisteína (2 g/dia, durante 24 semanas) induziu uma remissão dos sintomas de depressão (BERK et al., 2008). Estudantes universitários com diagnóstico de depressão apresentavam menor ingestão diária de ascorbato, em comparação com estudantes saudáveis (PROHAN et al., 2014). Níveis séricos de ascorbato mais baixos foram encontrados em pacientes deprimidos, em comparação com controles saudáveis. Altos índices de peroxidação lipídica e aumento da atividade da superóxido dismutase também foram encontrados em pacientes deprimidos, e o tratamento com citalopram e fluoxetina restauraram estas variáveis bioquímicas (KHANZODE et al., 2003). Além disso, os antidepressivos são capazes de diminuir os marcadores de estresse oxidativo nos soros de indivíduos com depressão (BILICI et al., 2001; HERKEN et al., 2007). No entanto, a investigação com 50 pacientes com depressão maior durante episódios de depressão aguda mostrou que as enzimas antioxidantes SOD e catalase estavam aumentadas, bem como o índice de peroxidação lipídica (malondialdeído), enquanto que a capacidade antioxidante total do plasma foi menor do que nos indivíduos do grupo controle. Após 3 meses de tratamento com fluoxetina os pacientes apresentaram remissão dos sintomas, mas não melhoraram as alterações bioquímicas (GATECKI et al., 2009). A tabela 2 apresenta os dados dos estudos clínicos relacionando o uso do ascorbato ao efeito antidepressivo.

### **1.6. Ascorbato e ansiedade**

Poucos são os estudos que associam o efeito do ascorbato em modelos pré-clínicos de ansiedade. Um estudo desenvolvido com peixes zebra tratados com metilmercúrio (1 µg/g, i.p.), demonstrou efeito ansiogênico, o qual foi bloqueado com o pré-tratamento com ascorbato (2 mg.g<sup>-1</sup> i.p.). Neste estudo, observou-se que o uso de metilmercúrio foi capaz de reduzir os níveis extracelulares de serotonina e aumentar os níveis de seu metabólito (tryptamina-4,5-diona), além de aumentar os índices de peroxidação lipídica (PUTY et al., 2014). Adicionalmente, um estudo desenvolvido com ratos adultos (machos e fêmeas) que

consumiram ascorbato (75-100 mg/kg/dia, v.o.) por 3 meses, mostrou que o tratamento teve um efeito tipo ansiolítico, quando comparados ao grupo controle (HUGHES; LOWTHER; VAN NOBELEN, 2011), enquanto que camundongos deficientes em ascorbato não apresentaram alteração nos níveis de ansiedade (CHEN et al., 2012).

Um estudo realizado no Irã, 15 adultos diabéticos tipo II que receberam ascorbato (1 g/dia por 6 semanas), e foram submetidos a uma avaliação através da escala DASS-21 (*Depression Anxiety Stress Scales-21*) apresentaram redução dos níveis de ansiedade, mas não de depressão ou estresse (MAZLOOM; EKRAMZADEH; HEJAZI, 2013). Níveis séricos menores de ascorbato foram detectados em pacientes com transtorno de ansiedade generalizada. A suplementação com um multivitamínico contendo ascorbato (1 g/dia), vitamina A (0,6 g/dia) e vitamina E (0,8 g/dia) em associação com alprazolam, reduziu os escores de ansiedade quando comparado aos que receberam somente alprazolam (GAUTAM et al., 2012). Adicionalmente, um estudo recente desenvolvido com 42 estudantes universitários saudáveis, os quais receberam 500mg de ascorbato ou placebo por 14 dias, demonstrou aumento das concentrações plasmáticas de ascorbato e redução dos escores de ansiedade quando avaliados através da escala de Beck (*Beck Anxiety Inventory*) (DE OLIVEIRA et al., 2015).

Os resultados dos estudos clínicos que relacionam o uso do ascorbato a melhora de sintomas de ansiedade também podem ser vistos na Tabela 2.

**Tabela 2. Estudos clínicos que associam o uso do ascorbato à depressão e ansiedade**

Resultados principais	Sujeitos	Referencia
Melhorou os sintomas depressivos de um paciente com esquizofrenia	40 homens hospitalizados por 17,7 anos, com idade média de 52,6 anos. 4 portadores de psicose maniaco-depressiva, 2 com paralisia geral do insano e 34 com esquizofrenia. Os pacientes receberam 1g/dia de ascorbato por 3 semanas	Milner, 1963
Recuperou a depressão desenvolvida pela administração de ACTH em 1 menina de 5 anos,	1 menina de 5 anos foi suplementada com 50 mg/kg/dia de ascorbato associado a 5% de glicose via endovenosa por 2 semanas	COCCHI et al., 1980

e melhorou depressão de causa desconhecida de 2 homens jovens	2 homens jovens (19 e 29 anos) receberam o mesmo protocolo acima	
Reduziu escores de uma escala de depressão ( <i>Beck Depression Inventory</i> ) em indivíduos saudáveis não diagnosticados com depressão	42 homens e mulheres saudáveis suplementados com 3g de ascorbato e 39 receberam placebo por 2 semanas	BRODY, 2002
Indivíduos deprimidos tinham menores níveis séricos de ascorbato quando comparado ao placebo	62 indivíduos com depressão e 40 indivíduos saudáveis	KHANZODE et al., 2003
Melhorou sintomas depressivos e anedonia de 1 indivíduo com depressão e carcinoma de cólon	1 homem com câncer de cólon suplementado com ascorbato (1 g/dia, intramuscular por 1 semana e na semana subsequente 1,5 g de ascorbato via oral)	CHANG et al, 2007
Melhorou o humor e estresse mental, vigor e cognição quando comparado com o placebo	215 homens saudáveis, com idade entre 30-55 anos, suplementados com ascorbato (500mg), complexo B (B1 (15 mg), B2 (15 mg), B6 (10 mg), B12 (10 mcg), biotina (150 mcg), ácido fólico (400 mcg), nicotinamida (50 mg), ácido pantotênico (23 mg)) e minerais (cálcio (100 mg), magnésio (100 mg), zinco (10 mg)), por aproximadamente 5 semanas (33 dias $\pm$ 2 dias)	KENNEDY et al., 2010
O uso de ascorbato reduziu 34% os escores de alterações de humor de acordo com o questionário <i>Profile Mood State-B</i> , validado para pacientes hospitalizados	15 homens e mulheres hospitalizados suplementados com 500 mg de ascorbato e 17 indivíduos suplementados com 1000 UI de vitamina D por 6 semanas	ZHANG et al., 2011
Homem de 18 anos com deficiência de ascorbato por baixo consumo dietético. Apresentou melhora dos sintomas	Homem de 18 anos suplementado com 1g de ascorbato dia, por 17 semanas	Carr; Vissers, 2012

de depressão com o uso do ascorbato		
Efeito sinérgico na melhora dos sintomas depressivos com o uso de fluoxetina e ácido ascórbico quando avaliado pelos questionários <i>Children's Depression Rating Scale</i> , <i>Children's Depression Inventory</i> e <i>Clinical Global Impressions Scale</i>	Crianças depressivas, com idade entre 7-14 anos, tratadas por 6 meses 12 foram suplementadas com 1000 mg de ascorbato + fluoxetina (10-20mg) e 12 receberam placebo +fluoxetina 10-20mg	AMR et al., 2013
Reduziu em 38% as alterações de humor dos indivíduos que apresentaram maior pontuação na escala de humor, mas sem diagnóstico de depressão comparado com aqueles que consumiram somente ½ kiwi	35 homens jovens que consumiram 2 kiwis/dia com 212 mg de ascorbato, por 6 semanas	CARR et al., 2013
O uso de ascorbato com ou sem Ômega-3 melhorou os escores de depressão (21-itens <i>Beck Depression Inventory</i> )	136 homens trabalhadores de uma refinaria de óleo com idade entre 22 e 38 anos, suplementados com 250mg de ascorbato por 2 meses	Khajehnasiri et al., 2013
A suplementação de ascorbato reduziu 71% as alterações de humor e 51% o estresse psicológico	52 homens e mulheres hospitalizados (idade média 64 anos) suplementados com 500mg de ascorbato por 8 semanas	WANG et al., 2013
O uso do ascorbato associado ao uso de antidepressivo reduziu significativamente os escores de depressão de pacientes depressivos ( <i>Hamilton Rating Scale for Depression</i> -	13 homens e mulheres adultos receberam 500 mg de ascorbato e antidepressivo; 9 indivíduos receberam placebo e antidepressivo, por 8 semanas	ABURAWI et al., 2014

HAM-D 17-item)		
Indivíduos deprimidos tinham menores níveis séricos de ascorbato quando comparado ao placebo	16 homens e mulheres depressivos com menos de 60 anos	BAJPAI et al., 2014
Estudantes universitários deprimidos tinham menor consumo de frutas, legumes, oleaginosas, ascorbato e carotenoides	30 homens universitários com diagnóstico de depressão; 30 homens universitários controle	PROHAN et al., 2014
Indivíduos depressivos não apresentaram benefício adicional com o uso de ascorbato no tratamento da depressão quando associado ao uso do citalopram; avaliados pela escala de Hamilton	21 homens e mulheres adultos receberam 60 mg/dia de citalopram e 1000 md/dia de ascorbato; 22 receberam 60 mg/dia de citalopram e placebo; Tratamento realizado por 8 semanas	Sahraian; Ghanizadeh; Kazemeini, 2015
Ansiedade		
Indivíduos com transtorno de ansiedade generalizada ou depressão apresentavam níveis séricos mais baixos de ascorbato, vitamina A e vitamina E quando comparados aos indivíduos saudáveis (sem transtorno de ansiedade ou depressão). A suplementação de ascorbato, vitamina A e vitamina E, por 6 semanas, reduziu a pontuação de ansiedade e depressão na escala de Hamilton ( <i>Max Hamilton Anxiety Rating Scale – HAM-A</i> )	40 indivíduos diagnosticados com transtorno de ansiedade generalizada (20 alprazolam + placebo e 20 multivitamínico + alprazolam); 40 com depressão (20 placebo + escitalopram e 20 multivitamínico + escitalopram); 20 controle; Indivíduos com 20-60 anos; Multivitamínico utilizado por 6 semanas - 1000 mg de ascorbato, 600 mg de vitamina A e 800 mg de vitamina E	GAUTAM et al., 2012

---

e <i>Max Hamilton Depression Rating Scale –HAM-D</i> )		
Indivíduos com DM II apresentaram melhora nos níveis de ansiedade com o uso de vitamina C ou vitamina E, mas não foi observado melhora dos escores de estresse e depressão, quando avaliados pela escala <i>Depression Anxiety Stress Scale 21-item</i> )	15 indivíduos receberam ascorbato (1 g), 15 receberam vitamina E (400UI), 15 placebo, por 6 semanas	Mazloom; Ekramzade, HEjazi, 2013
Estudantes universitários saudáveis demonstraram aumento das concentrações plasmáticas de ascorbato e redução dos escores de ansiedade quando avaliados pela escala de Beck ( <i>Beck Anxiety Inventory</i> )	21 indivíduos receberam ascorbato 500 mg e 21 receberam placebo, por 2 semanas	DE OLIVEIRA et al., 2015

---



## **CAPÍTULO 2**

### **EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE UMA ÚNICA DOSE DE ASCORBATO SOBRE O ESTADO DE ANSIEDADE EM ESTUDANTES DE PÓS-GRADUAÇÃO**



## 1. INTRODUÇÃO

A ansiedade é uma emoção caracterizada por apreensão, preocupação e tensão. Ela pode ser entendida como uma resposta fisiológica, adaptativa a possíveis ameaças (PERUSINI; FANSELOW, 2015). No entanto, a ansiedade persistente ou exagerada é patológica e constitui a marca de transtornos de ansiedade. Os transtornos de ansiedade são os transtornos psiquiátricos mais comuns na população, com uma prevalência de cerca de 30% (GREENBERG et al., 1999; KESSLER et al., 2005; VIANA; ANDRADE, 2012). Os transtornos de ansiedade prejudicam a qualidade de vida e desempenho no trabalho, e são altamente onerosos para a sociedade (BAXTER et al., 2014). A ansiedade é clinicamente relevante, e também está associada a uma gama de doenças mentais, em particular os transtornos de humor. Por exemplo, comorbidade entre depressão e ansiedade ocorre em mais do que 50% dos indivíduos (KESSLER et al., 2003). Além disso, a ansiedade pode ser estudada dentro de um paradigma traço-estado, em que o “traço” de ansiedade representa uma predisposição individual generalizada a ter ansiedade, enquanto a ansiedade “estado” consiste na emoção aguda e transitória (ENDLER; KOCOVSKI, 2001).

Benzodiazepínicos e antidepressivos (especialmente os inibidores seletivos da recaptção da serotonina) são atualmente os medicamentos mais usados para tratar transtornos de ansiedade. Apesar de serem eficazes em muitos casos, estas drogas não são livres de efeitos secundários, que incluem principalmente disfunções metabólica, sexual e cognitiva (MASAND; GUPTA, 2002; UZUN et al., 2010). No caso dos benzodiazepínicos, os usuários frequentemente desenvolvem

tolerância e dependência, e sua prescrição de longo prazo é controversa. Seu uso é problemático em populações específicas, tais como os idosos e para pessoas susceptíveis ao abuso de substâncias (CLOOS; FERREIRA, 2009; DELLOSSO; LADER, 2013; STARCEVIC, 2014). Drogas alternativas e novas drogas, capazes de produzir uma resposta terapêutica rápida, sem efeitos colaterais graves, e em maiores proporções de pacientes, têm sido avidamente investigadas pela comunidade científica e farmacêutica (FARACH et al., 2012).

O ácido ascórbico é uma vitamina hidrosolúvel, essencial para os seres humanos. Esta, apresentar efeito antioxidante e atua como um cofator de várias enzimas (LANE; RICHARDSON, 2014). Sintomas psiquiátricos têm sido relatados em indivíduos com escorbuto (CARR; VISSERS, 2012; DESANTIS, 1993), vários estudos pré-clínicos e clínicos indicam que o ascorbato apresenta efeitos sobre a cognição e emoção que parecem não estar relacionados com a o seu clássico papel de uma vitamina. Por exemplo, o ascorbato modula a função glutamatérgica (MAJEWSKA; BELL; LONDON, 1990; MORETTI et al., 2011) e parece exibir atividade antidepressiva em roedores em diferentes modelos de depressão (MORETTI et al., 2015, 2012a, 2012b). Estudos em humanos demonstraram que o ascorbato pode produzir melhora no humor e aliviar sintomas depressivos e de ansiedade (BRODY, 2002; DE OLIVEIRA et al., 2015; KHAJEHNASIRI et al., 2013). O ascorbato também pode ser eficaz em pacientes com depressão maior, transtorno de ansiedade generalizada e condições médicas gerais (AMR et al., 2013; GAUTAM et al., 2012; MAZLOOM; EKRAMZADEH; HEJAZI, 2013; ZHANG et al., 2011).

Estes estudos têm centrado esforços sobre os efeitos do ascorbato quando administrado ao longo do período de semanas a meses, enquanto que os efeitos de curto prazo de uma dose única de ascorbato em estados emocionais ainda são desconhecidos.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do ascorbato no estado de ansiedade e humor em uma amostra de estudantes de pós-graduação através de um estudo duplo-cego, randomizado, controlado por placebo. Questionários que avaliam ansiedade e humor foram aplicados antes e após a administração oral de uma dose única de 1000 mg de ascorbato ou placebo e os resultados foram analisados de acordo com os grupos de tratamento e níveis de ansiedade traço. A dose de 1000 mg foi escolhida com base em um único estudo clínico, realizado anteriormente a coleta de dados deste trabalho, associando a melhora da ansiedade com a suplementação de 1000 mg de ascorbato por 6 semanas (MAZLOOM; EKRAMZADEH; HEJAZI, 2013). Além disso, esta é a dose limite considerada suplemento nutricional, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O protocolo agudo foi escolhido, pois alguns estudos sugerem que o ascorbato melhora estados de ansiedade quando utilizado de forma crônica, acima de 2 semanas (GAUTAM et al., 2012; MAZLOOM; EKRAMZADEH; HEJAZI, 2013; DE OLIVEIRA et al., 2015), mas nenhum estudo avaliando seu efeito agudo foi realizado, que se tenha conhecimento. Além disso, estudos pré-clínicos demonstram que o ascorbato apresenta efeitos diretos no SNC de forma aguda, mostrando sua rápida ação (MORETTI et al., 2014; 2015).

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Sujeitos**

Este estudo foi previamente aprovado pelo comitê local de ética e pesquisa com seres humanos (CEPSH-UFSC) da Universidade Federal de Santa Catarina (# 1.147.315). Foi utilizada uma amostra de conveniência, onde foram recrutados estudantes de pós-graduação em nutrição do Instituto Valéria Paschoal de Educação, dos cursos de nutrição clínica funcional, nutrição esportiva funcional e fitoterapia, durante o ano de 2014, das cidades de Florianópolis e São Paulo. Participaram da pesquisa 320 indivíduos saudáveis. Foram excluídos da pesquisa 165 indivíduos por se enquadrarem nos critérios de exclusão ou erros no preenchimento dos testes. Foram incluídos na pesquisa 155 indivíduos sem diagnóstico prévio de transtornos de ansiedade, com idades entre 25 e 32 anos, sendo 96,8% da amostra do sexo feminino, 76 incluídos no grupo placebo e 79 no grupo ascorbato. Os voluntários assinaram um termo de consentimento com explicações detalhadas do estudo autorizando sua participação, benefícios e riscos da pesquisa.

### **2.2. Critérios de inclusão e exclusão**

Foram incluídos estudantes de pós-graduação que relataram estar sem doença diagnosticada no momento do teste. Foram excluídos da pesquisa os estudantes que usavam regularmente suplementos contendo ascorbato, os que utilizaram qualquer tipo de suplemento nutricional ou medicamento fitoterápico até 6 horas antes do teste, usuários de drogas ilícitas, fumantes, portadores de insuficiência renal

aguda ou crônica e indivíduos com histórico de alergenidade ao ascorbato.

### **2.3. Avaliações**

Inicialmente os participantes foram submetidos a uma anamnese para avaliação dos critérios de inclusão ou exclusão na amostra (Apêndice A). As avaliações utilizadas para análise do estado de humor e ansiedade incluíram Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE) (Apêndice B) (SPIELBERGER; GORSUCH; LUSHENE, 1970) e a Escala Analógica Visual de Humor (VAMS) (Apêndice C) (NORRIS, 1971). Ambos os questionários são auto-aplicáveis e foram adaptados e validados no Brasil (BIAGGIO et al., 1977; GORENSTEIN; ANDRADE, 1996; ZUARDI et al., 1993; ZUARDI; KARNIOL, 1981).

A IDATE é subdividida em duas partes: a escala A-estado (em anexo identificada como IDATE parte I) que mede o estado de ansiedade, isto é, o nível de ansiedade no momento da avaliação; e, a escala A-traço (em anexo identificada como IDATE parte II) que mede a ansiedade traço, isto é, os níveis de ansiedade mais ou menos estáveis e característicos do indivíduo. Para avaliação do A-estado solicita-se que o indivíduo leia cada um dos itens e faça um círculo ao redor do número a direita da afirmação (sendo “1” absolutamente não, “2” um pouco, “3” bastante, “4” muitíssimo) que melhor indicar como o mesmo se sente no momento do teste. Para avaliação da A-traço o mesmo procedimento deve ser realizado, levando-se em consideração como o indivíduo geralmente se sente. Os números assinalados são então somados. Quanto

maior o escore encontrado maior o nível de ansiedade. A análise da escala fatorial do estado de ansiedade revela dois fatores (VIGNEAU; CORMIER, 2008), que podem ser entendidos como duas subescalas, denominadas ansiedade-ausente (correspondendo às questões “positivas”) e ansiedade-presente (correspondente às questões “negativas”).

A VAMS foi desenvolvida a princípio para estudos psicofarmacológicos (NORRIS, 1971; ZUARDI; KARNIOL, 1981) e sua análise fatorial revela quatro subescalas fatoriais: ansiedade (itens 2, 8 e 10), sedação física (itens 3, 4, 5, 6, 9, 12, 16), sedação mental (itens 1 e 11) e outros sentimentos e atitudes (itens 7, 13, 14 e 15) (ZUARDI et al., 1993). Foram levadas em consideração estas subescalas para avaliação dos estudantes. Quanto maior a pontuação na VAMS, maior a intensidade destes sentimentos. Para realização do teste o indivíduo deveria avaliar como se sentia no momento do teste em relação aos itens compostos no mesmo (Anexo V) e marcar cada linha com um traço vertical no ponto que melhor descrevesse seus sentimentos. Para obtenção da pontuação da VAMS foi mensurado cada item em milímetros (0 - 100 mm) a partir da marcação do participante até o final da linha à direita, sendo todos os itens medidos neste sentido. Depois foram invertidos os itens 4 (confuso), 6 (apático), 8 (preocupado), 9 (raciocínio difícil), 10 (tenso), 12 (incompetente), 14 (hostil) e 16 (retraído), subtraindo a pontuação de 100. Para avaliação foi utilizado o valor da diferença dos escores antes e após a administração do tratamento ( $\text{delta} = \text{escore final} - \text{escore inicial}$ ).

#### 2.4. Desenho do estudo

O estudo foi realizado durante o ano de 2014, durante as aulas de pós-graduação, onde os indivíduos responderam a questionários de auto-avaliação, para avaliação do estado de humor (IDATE e VAMS) imediatamente antes de receber 2 cápsulas brancas de igual tamanho contendo 500 mg de ascorbato, totalizando uma dose de 1 g de ascorbato de sódio ou placebo (amido de milho). O ascorbato foi administrado por via oral, em um sábado, no período matutino, imediatamente antes do intervalo de aula, por volta das 10h da manhã. Foi vetado aos participantes o consumo de bebidas, alimentos ou suplementos 2 horas antes e durante o período do teste. Os alunos retornaram normalmente as aulas e duas horas após a ingestão das cápsulas (placebo ou ascorbato), imediatamente antes do intervalo para almoço, os participantes responderam novamente aos questionários IDATE A-estado e VAMS. Durante as aulas os alunos não foram submetidos a provas ou quaisquer procedimento que pudesse aumentar o estado de ansiedade ou estresse.

Este é um estudo duplo-cego, randomizado, controlado por placebo. Cada participante foi atribuído aleatoriamente a um dos dois grupos para receber uma dose única oral de 1.000 mg de ascorbato de sódio (*Hebei Welcome Pharmaceutical Co*, China, fracionada e distribuída pela Natural Pharma no Brasil, São Paulo, SP) ou placebo (amido de milho), em cápsulas de gelatina idênticas. O número de alunos em sala foi contado e dividido em dois, sendo que um lado da sala recebeu as cápsulas do frasco chamado de frasco 1 no momento do teste, e os demais receberam as cápsulas que estavam no frasco 2.

As cápsulas foram identificadas por um código numérico e os investigadores que administraram não sabiam o seu conteúdo. As cápsulas foram gentilmente manipuladas e cedidas pela farmacêutica da farmácia de manipulação Vitalfarm, em Florianópolis, e somente esta tinha acesso aos códigos. Imediatamente antes da administração das cápsulas, os participantes responderam aos questionários da VAMS e IDATE A-estado e T-estado, além de um questionário de anamnese. Depois de duas horas, os alunos responderam as escalas VAMS e IDATE A-estado.

## **2.5. Análise estatística**

Mudanças nos estados emocionais de linha de base foram definidos pela diferença entre as pontuações no VAMS e IDATE A-estado. Para cada uma dessas escalas e suas subescalas fatoriais, foi calculada a pontuação após o tratamento, da qual foi subtraída a pontuação antes do tratamento. As análises foram realizadas comparando os grupos placebo e ascorbato de acordo com uma nota de corte da escala IDATE A-traço inferior ao percentil 75 para definir traço de ansiedade baixo a moderado e indivíduos ranqueados com os 25% maiores escores foram considerados como grupo de pessoas com traço de ansiedade alto. As variáveis numéricas foram comparadas utilizando o teste  $t$  não pareado, teste  $t$  não pareado com correção de Welch, ou o teste U de Mann-Whitney de acordo com a normalidade e homoscedasticidade de dados, como definido pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e teste de Levene, respectivamente. As variáveis categóricas foram analisadas pelo teste exato de Fisher. Um nível de significância de

$p$  inferior a 0,05 foi estabelecido para todos os testes estatísticos. Os dados foram analisados usando o programa SPSS 17.0 para Windows (SPSS Inc., IL, USA) e os gráficos foram feitos no programa GraphPad Prism para Windows (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA).

### 3. RESULTADOS

As características demográficas dos participantes e o estado emocional antes do teste (basal) estão apresentados na Tabela 3. Os grupos placebo e ascorbato não apresentaram diferenças estatísticas significativas em termos de gênero, escores na escala IDATE A-traço e escores na escala IDADE A-estado ou VAMS, tanto quanto nas suas respectivas subescalas fatoriais no estado basal. A média de idade do grupo ascorbato era  $28,6 \pm 6,1$  anos e do grupo placebo  $30,0 \pm 6,3$  apresentando uma tendência de idade mais elevada para o grupo de ascorbato ( $p = 0,08$ ); no entanto, uma diferença média de cerca de dois anos em adultos jovens parece irrelevante para diferenças no metabolismo do ascorbato e cognição. Uma tendência para maiores escores na subescala fatorial ansiedade-presente no IDATE A-estado também foi observado no grupo ascorbato ( $p = 0,10$ ). Não foram reportados pelos indivíduos efeitos adversos que pudessem ser atribuídos ao ascorbato.

**Tabela 3.** Características basais da amostra quanto a idade, gênero, escores totais e suas respectivas subescalas para VAMS e IDATE traço-estado

Variáveis	Todos os sujeitos $n = 155$ (%)	Placebo 76 (49%)	Ascorbato 79 (51%)	$p$
Idade (anos), mediana (IQR) <sup>b</sup>	28,0 (25,3 – 31,0)	27,0 (25,0 – 30,3)	29,0 (26,0 – 32,0)	0,08

Sexo

Feminino	150 (96,8)	73 (48,7)	77 (51,3)	0,68
Masculino	5 (3,2)	3 (60,0)	2 (40,0)	
VAMS (mm), média $\pm$ DP <sup>c</sup>				
Total	639,1 $\pm$ 240,8	620,8 $\pm$ 223,6	656,4 $\pm$ 256,4	0,41
Ansiedade	140,3 $\pm$ 6,3	136,6 $\pm$ 67,8	143,7 $\pm$ 69,1	0,56
Sedação física	276,5 $\pm$ 123,6	263,1 $\pm$ 112,7	289,1 $\pm$ 132,7	0,24
Sedação mental	101,9 $\pm$ 42,6	100,7 $\pm$ 38,4	103,0 $\pm$ 46,4	0,76
Outros sentimentos	120,5 $\pm$ 69,2	120,4 $\pm$ 65,8	120,6 $\pm$ 72,8	0,99
IDATE (escore), média $\pm$ DP				
Traço de ansiedade total <sup>d</sup>	44,1 $\pm$ 10,1	43,2 $\pm$ 9,2	45,0 $\pm$ 10,8	0,29
Estado de ansiedade total <sup>e</sup>	41,1 $\pm$ 8,9	40,3 $\pm$ 8,1	41,8 $\pm$ 9,6	0,31
Ansiedade ausente	25,5 $\pm$ 5,4	25,4 $\pm$ 4,7	25,6 $\pm$ 5,9	0,86
Ansiedade presente	15,6 $\pm$ 4,9	14,9 $\pm$ 4,3	16,2 $\pm$ 5,4	0,10

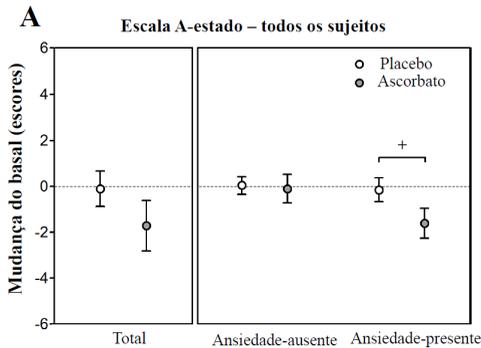
<sup>a</sup> A variável “idade” foi analisada pelo teste U Mann-Whitney; a variável “sexo” foi analisada pelo teste exato de Fisher; outras variáveis foram analisadas pelo teste *t* não pareado. <sup>b</sup> O grupo placebo apresentou duas perdas e o grupo

ascorbato uma perda. <sup>c</sup> Quatorze perdas no grupo placebo e 13 perdas no grupo ascorbato. <sup>d</sup> Seis perdas no grupo placebo e 4 perdas no grupo ascorbato. <sup>e</sup> Cinco perdas no grupo placebo e grupo ascorbato. IQR = intervalo interquartil. VAMS = Escala Analógica Visual de Humor. SD = desvio padrão. IDATE = Inventário de Ansiedade Traço-Estado.

A Figura 3 mostra mudanças do estado basal (escores obtidos 2 horas após o tratamento menos escores imediatamente antes do tratamento) que diz respeito a escala IDATE A-estado, apresentando os escores para o total e subescalas fatoriais ansiedade ausente e ansiedade presente. Quando todos os sujeitos foram analisados ( $n = 66$  e  $69$  para o grupo placebo e ascorbato, respectivamente) (Fig. 3A) nenhuma mudança foi observada nos escores totais (teste  $t$  não pareado,  $p = 0,23$ ), e na subescala ansiedade ausente (teste  $t$  não pareado com correção de Welch,  $p = 0,84$ ). Por outro lado, os indivíduos que foram suplementados com ascorbato apresentaram uma tendência de menor pontuação para os escores da subescala ansiedade presente quando comparado ao grupo placebo (teste  $t$  não pareado,  $p = 0,08$ ).

A partir destes resultados, indicando um possível efeito ansiolítico do ascorbato, os indivíduos foram classificados de acordo com o traço de ansiedade, sendo considerado baixo a moderado traço de ansiedade quando os escores brutos da IDATE A-traço foram  $<50$  (correspondente aos 75 % dos indivíduos ranqueados com os menores escores), ou considerados como tendo traço de ansiedade alto (25% dos indivíduos com os mais elevados escores). Quando os sujeitos com traço de ansiedade baixo a moderado foram analisados ( $n = 49$  e  $45$  para o grupo placebo e ascorbato, respectivamente) (Fig. 3B), nenhuma diferença nos escores foi observada no total (teste  $t$  não pareado,  $p =$

0,60), ansiedade ausente (teste *t* não pareado,  $p = 0,56$ ) e ansiedade presente (teste *t* não pareado,  $p = 0,77$ ). Entretanto, quando os sujeitos com traço de ansiedade alto foram analisados ( $n = 13$  e  $20$  para placebo e ascorbato, respectivamente) (Fig. 3C), aqueles que receberam suplementação com ascorbato apresentaram redução nos escores de ansiedade (teste *t* não pareado,  $p = 0,04$ ). O grupo tratado com ascorbato também apresentou os menores escores na subescala ansiedade presente (teste *t* não pareado,  $p = 0,03$ ), mas nenhuma diferenças nos escores de ansiedade ausente (teste *t* não pareado,  $p = 0,19$ ). Dados nas escalas IDATE A-traço e A-estado foram desconsiderados para 8 sujeitos devido a erros na execução deste teste.



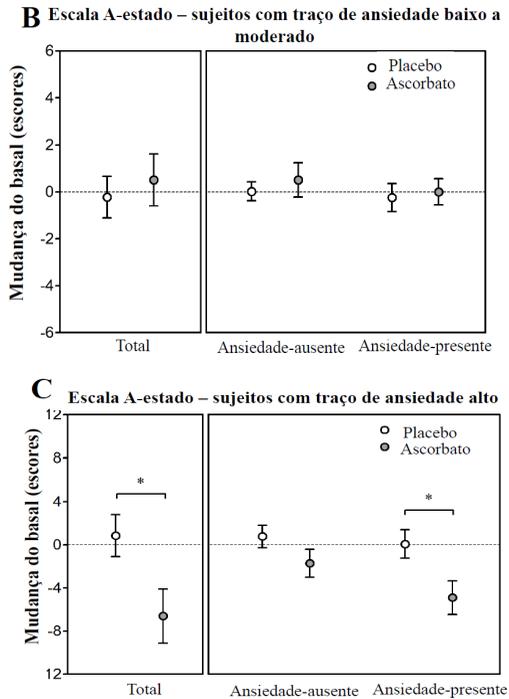


Figura 3 – Efeito do ascorbato no estado de ansiedade. A escala IDATE A-estado foi aplicada imediatamente antes da administração do placebo ou ascorbato e foi reaplicado 2 horas após. Mudanças nos valores basais estão apresentados como média e erro padrão da média, juntamente com a pontuação das subescalas fatoriais, ansiedade ausente e ansiedade presente. Os sujeitos foram definidos com traço de ansiedade baixo a moderada pelos escores da IDATE A-traço com valores menor que o percentil 75 da amostra. A) As análises de todos os sujeitos ( $n = 66$  e  $69$  para os grupos placebo e ascorbato respectivamente) revelaram uma tendência para redução nos escores de ansiedade presente no grupo ascorbato ( $p = 0,08$ ). B) As análises dos indivíduos com traço de ansiedade baixa a moderada ( $n = 49$  e  $45$  para os grupos placebo e ascorbato, respectivamente) não apresentaram diferenças entre os grupos ( $p > 0,05$ ). C) As análises dos indivíduos com traço de ansiedade alto ( $n = 13$  e  $20$  para os grupos placebo e ascorbato, respectivamente) mostraram que a administração do ascorbato diminuiu significativamente do total (\*,  $p = 0,04$ ) e nos escores da ansiedade presente (\*,  $p = 0,03$ ). Teste  $t$  não pareado foi empregado em todas as análises, com correção de Welch nas análises dos escores de ansiedade ausente de todos os sujeitos.

A Figura 4 mostra a análise da VAMS, incluindo os escores totais e os escores de suas subescalas fatoriais: ansiedade, sedação física, sedação mental, e outros sentimentos. Quando mudanças a partir do basal foram analisadas (escores 2 horas após o tratamento menos escores imediatamente antes do tratamento) ( $n = 62$  e  $66$  para o grupo placebo e ascorbato, respectivamente) (Fig. 4A), nenhuma diferença foi observada no escore incluindo todos os indivíduos e nos escores das subescalas ansiedade, sedação física, sedação mental ou outros sentimentos (todos analisados pelo teste  $t$  não pareado,  $p = 0,74, 0,31, 0,79, 0,56$  e  $0,81$ , respectivamente). Quando os sujeitos foram ranqueados como traço de ansiedade baixo a moderado ( $n = 46$  e  $43$  para o grupo placebo e ascorbato, respectivamente) (Fig. 4B), nenhuma diferença foi observada nos escores totais ou nas subescalas de ansiedade, sedação física, sedação mental ou outros sentimentos (todos analisados pelo teste  $t$  não pareado,  $p = 0,40, 0,81, 0,42, 0,21$  e  $0,74$ , respectivamente). Entretanto, quando os sujeitos com traço de ansiedade alto foram analisados ( $n = 10$  e  $19$  para o grupo placebo e ascorbato, respectivamente) (Fig. 4C), aqueles que foram tratados com ascorbato apresentaram menores escores de ansiedade (teste  $t$  não pareado,  $p = 0,04$ ), mas nenhuma diferença foi observada nos escores totais ou nas subescalas sedação física, sedação mental ou outros sentimentos (todos analisados pelo teste  $t$  não pareado,  $p = 0,12, 0,24, 0,39$  e  $0,60$ , respectivamente). Dados de ambas as escalas IDATE A-traço e da VAMS foram desconsiderados para 10 sujeitos devido a erros na execução deste teste.

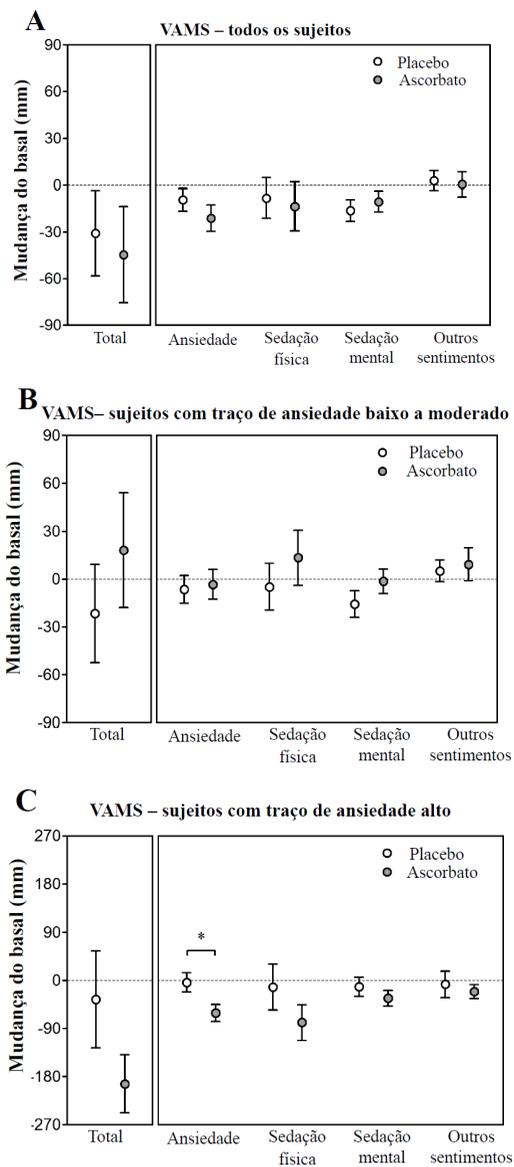


Figura 4 – Efeitos do ascorbato sobre sentimentos relacionados ao afeto. A VAMS foi aplicada imediatamente antes da administração do placebo ou

ascorbato e foi reaplicado duas horas mais tarde. Alterações nos valores basais são apresentados como média e erro padrão da média para o escore geral, e para as subescalas fatorias ansiedade, sedação física, sedação mental e outros sentimentos. A) A análise de todos os sujeitos ( $n = 62$  e  $66$  para os grupos placebo e ascorbato, respectivamente) e B) Sujeitos com traço de ansiedade baixo a moderado ( $n = 46$  e  $43$  para os grupos placebo e ascorbato, respectivamente), não apresentaram diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ). C) A análise de sujeitos com traço de ansiedade alto ( $n = 10$  e  $19$  para os grupos placebo e ascorbato, respectivamente) mostraram que a administração do ascorbato reduziu significativamente os escores da subescala ansiedade (\*,  $p = 0,04$ ). Teste  $t$  não pareado foi empregado em todas as análises.

#### 4. DISCUSSÃO

O presente estudo utilizou um desenho duplo-cego, randomizado, controlado por placebo para avaliar os efeitos de uma única dose oral de ascorbato (1000 mg) sobre a ansiedade e outros estados emocionais, avaliados pelas escalas IDATE e VAMS numa amostra de jovens estudantes de pós-graduação, predominantemente do sexo feminino. Os efeitos do ascorbato foram dependentes dos níveis basais de ansiedade dos indivíduos (traço de ansiedade baixo a moderado ou traço de ansiedade alto, usando o percentil 75 da escala IDATE A-traço na amostra como ponto de corte). Quando comparado ao basal, o ascorbato produziu um efeito ansiolítico significativo, o qual foi restrito aos sujeitos com traço de ansiedade alto, como evidenciado pelos menores escores encontrados nas subescalas fatoriais das escalas IDATE A-estado e VAMS. De maneira geral, os grupos placebo e ascorbato apresentaram valores basais similares nas características demográficas, A-traço e A-estado e outros estados emocionais, eliminando qualquer possibilidade de que os efeitos observados possam ser atribuídos a diferenças nessas variáveis anteriormente ao tratamento.

A principal limitação deste estudo foi o uso de uma amostra com características sociodemográficas muito específicas, composta principalmente por adultos jovens, nutricionistas, do sexo feminino, com elevado grau de instrução (3<sup>o</sup> grau completo). Isto poderia limitar a generalização dos resultados para outras populações, como a do sexo masculino. Diferenças de gênero tem sido descritas nas manifestações do estado e traço de ansiedade (MCLEAN; ANDERSON, 2009), tanto

quanto no metabolismo do ascorbato (BLANCHARD, 1991; OREOPOULOS et al., 1993). Outra limitação foi o número relativamente pequeno de indivíduos com traço de ansiedade alto, reduzindo o poder estatístico. Portanto, a replicação em amostras maiores poderia revelar diferenças adicionais. Ainda, tivemos uma grande perda da amostra, devido a erros no preenchimento dos questionários e por se enquadrarem nos critérios de exclusão. Muitos dos alunos faziam uso freqüente de suplementos alimentares, e haviam utilizado estes suplementos em algum momento das 6h que antecederam ao teste. Além disso, alguns estudantes consumiram alimentos no período do teste, no qual havia sido solicitado que se mantivessem em jejum. Outra limitação apresentada foi o fato dos alunos, durante o teste, estarem dentro de sala de aula, assistindo aulas distintas, com professores diferentes, e acredita-se que o tema de aula, bem como o professor que estava ministrando a aula podem também ter influenciado no estado de ansiedade e humor dos alunos avaliados naquele momento. Apesar destas limitações, para o nosso conhecimento, esta é primeira descrição que mostra a capacidade de uma única dose de ascorbato em provocar efeitos ansiolíticos em seres humanos.

Estudos com animais corroboram com dados encontrados neste estudo, indicando um possível efeito ansiolítico do ascorbato. No estudo desenvolvido por Puty e colaboradores (2014), peixes zebra expostos ao metilmercúrio apresentaram comportamento tipo-ansioso que foi abolido com o pré-tratamento com ascorbato. Em outro estudo, o comportamento tipo-ansioso foi reduzido em ratos com o uso de ascorbato por 3 meses (HUGHES; LOWTHER; VAN NOBELEN,

2011). Apesar deste estudo ter avaliado somente o efeito agudo, os resultados encontrados também estão de acordo com os observados em outros estudos clínicos que avaliaram os efeitos emocionais da administração do ascorbato durante semanas ou meses. Um único ensaio clínico, randomizado, placebo controlado também apresentou redução dos escores de ansiedade quando avaliados pela escala *Depression Anxiety Stress Scale-21* em adultos portadores de diabetes tipo II, após a suplementação de ascorbato (1000 mg/dia por 6 semanas). Vale ressaltar, que o uso de ascorbato não afetou os escores de depressão neste estudo (MAZLOOM; EKRAMZADEH; HEJAZI, 2013).

Concordando com os resultados obtidos neste trabalho, o estudo de De Oliveira (2015) também avaliou o efeito da suplementação de ascorbato em estudantes universitários e encontrou redução dos níveis de ansiedade quando avaliados pela escala de Beck (*Beck Anxiety Inventory*), onde estes estudantes foram suplementado por 2 semanas, utilizando a dose de 500 mg, diferente deste estudo (1 g) (DE OLIVEIRA et al., 2015).

Sintomas de ansiedade são prevalentes e persistentes na população de estudantes e sua grande maioria não recebe o tratamento minimamente adequando pelo período de mais de anos (CRANFORD; EISENBERG; SERRAS, 2009; ZIVIN et al., 2009). Ainda, elevados níveis de ansiedade em estudantes parecem estar relacionados a diminuição da memória de trabalho, raciocínio, causar distração (ARONEN et al., 2004; CASSADY; JOHNSON, 2002), além de levar a prejuízos significativos no desempenho acadêmico (LUIGI et al., 2007; SENA; LOWE; LEE, 2007). Estudantes de engenharia apresentaram

melhora dos níveis de ansiedade e, conseqüente melhora da performance acadêmica em um estudo de intervenção (VITASARI et al., 2011). Com isto, estudantes que apresentam alto nível de ansiedade precisam de atenção especial e soluções preventivas com intuito de minimizar seus efeitos (RATANASIRIPONG et al., 2010). Portanto, a suplementação de ascorbato realizada de forma aguda em estudantes mais ansiosos, ou de forma crônica em todos estudantes, poderia reduzir os sintomas de ansiedade, além de possivelmente melhorar o desempenho acadêmico (DE OLIVEIRA et al., 2015).

Um estudo publicado em 2012 mostrou que indivíduos com diagnóstico de transtorno de ansiedade generalizada apresentavam níveis séricos mais baixos de ascorbato, vitamina A e vitamina E, e o uso destas 3 vitaminas associadas (ascorbato 1 mg/dia, vitamina A 600 mg/dia e vitamina E 800 mg/dia) por 6 semanas reduziu os escores de ansiedade e depressão (GAUTAM et al., 2012). Apesar do ascorbato não ter sido suplementado isoladamente, a suplementação de vitamina E demonstrou aumentou significativamente os escores de ansiedade em estudo publicado no ano seguinte (MAZLOOM; EKRAMZADEH; HEJAZI, 2013); além disso, sugere-se que os efeitos do ascorbato sobre o estado de ansiedade possam ser principalmente devido presença do ascorbato na fórmula, pois estudos anteriores mostram que o uso do ascorbato poderia melhorar os escores de depressão em indivíduos deprimidos (AMR et al., 2013; ABURAWI et al., 2014; SAHRAIAN; GHANIZADEH; KAZEMEINI, 2015), hospitalizados (ZHANG et al., 2011; WANG et al., 2013), e indivíduos saudáveis (BRODY, 2002; KHAJEHNASIRI et al., 2013).

Outro estudo desenvolvido com adultos jovens, sem diagnóstico de transtorno de ansiedade ou depressão, sugerem que a suplementação de ascorbato, por 2 semanas, apresenta efeito sobre a disposição e sobre frequência de relações sexuais em adultos jovens saudáveis, melhorando estes parâmetros. No referido estudo também observou-se a redução dos escores de depressão avaliados através da escala de Beck (*Beck Depression Inventory*) (BRODY, 2002). Adultos jovens saudáveis (trabalhadores de uma refinaria de óleo) também apresentaram melhora nos escores de depressão quando foram suplementados por 250 mg de ascorbato por períodos maiores (2 meses) (KHAJEHNASIRI et al., 2013). Inclusive, crianças também apresentam melhora dos escores de depressão quando suplementadas com alta dose ascorbato v.o. (1000 mg), o qual foi associado ao uso de fluoxetina, por um período de 6 meses, quando comparado ao uso de fluoxetina de maneira isolada (AMR et al., 2013). Estes dados sugerem que o ascorbato poderia ser uma alternativa para o tratamento da depressão em pacientes pediátricos (LOPRESTI, 2015).

A escolha da dose utilizada neste estudo foi baseada em um estudo anterior (MAZLOOM; EKRAMZADEH; HEJAZI, 2013). Neste estudo de Mazloom, Ekramzadeh e Hejazi (2013), a dose suplementada foi de 1000 mg/dia de ascorbato por um período de 6 semanas em indivíduos diabéticos. Ressalta-se que não foram encontrados estudos clínicos avaliando o efeito agudo do ascorbato no estado de ansiedade ou depressão que se tenha conhecimento. Este parece ser o primeiro estudo apresentando relação entre o uso do ascorbato e melhora dos sintomas de ansiedade, utilizando um protocolo agudo. Estudos

anteriores desenvolvidos com adultos jovens saudáveis apresentando melhora de escores de depressão utilizaram doses de 250 e 3000 mg, por um tempo de 2 meses e 2 semanas, respectivamente (BRODY, 2002; KHAJEHNASIRI et al., 2013). A dose de 3 g/dia é considerada alta e limítrofe na absorção diária pelo intestino, já a dose de 250 mg/dia foi considerada baixa e sujeita a não apresentar efeitos colaterais em protocolos para um único dia. Ainda, foi levado em consideração o fato de que a dose de 1000 mg é a dose máxima considerada suplemento nutricional pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil, para ser utilizada em dose única, e sendo que o ascorbato apresenta história clínica de baixa toxicidade e alta tolerância (VERHAMME et al., 2009) e que não eram conhecidos estudos anteriores com protocolo agudo.

É notável que este estudo apresentou efeito do ascorbato somente em sujeitos com traço de ansiedade alto. Traço de ansiedade pode ser amplamente definido como uma predisposição para ansiedade, apresentando uma maior resposta ao estresse e ameaças psicológicas (ENDLER; KOCOVSKI, 2001; REISS, 1997). Diferenças em respostas terapêuticas têm sido descritas, dependendo dos níveis de traço de ansiedade. Por exemplo, um estudo com pacientes depressivos demonstrou que a interação de menor traço de ansiedade e maior resiliência foi preditiva de uma melhor resposta terapêutica (MIN et al., 2012). Bruijn e colaboradores (2001) avaliaram os pacientes com depressão em um estudo transversal e não encontraram diferenças em relação a resposta antidepressiva de acordo com o traço de ansiedade. Entretanto, os autores concluíram que uma única dose de diazepam (40

mg) aliviou os sintomas depressivos sem sedação em pacientes com traço de ansiedade alto e induziu sedação sem melhorar os sintomas depressivo naqueles que apresentavam traço de ansiedade baixo.

A ideia de definir subgrupos mais homogêneos de pacientes potencialmente capazes de responder diferentemente aos tratamentos é um dos objetivos da iniciativa do *Research Domain Criteria* (RDoC) do *National Institute of Mental Health* (INSEL, 2014). O RDoC busca integrar neurociência e psiquiatria em nível de pesquisa através de uma classificação de forte validade biológica (CUTHBERT; INSEL, 2013). Embora a ansiedade-traço seja um conceito psicológico e não um marcador neurobiológico, já foi demonstrado que esta afeta as respostas cognitivas e sociais e está relacionada à ativação de circuitos neurais envolvendo a amígdala e córtex pré-frontal (BISHOP, 2009; ETKIN et al., 2004; XU et al., 2013). De fato, o IDATE está listado na matriz do RDoC como uma medida auto-relatada do constructo de ameaça agudo/medo no domínio de valência negativa. O RDoC é fortemente translacional, refletindo a diferenciação etológica clássica entre medo e ansiedade (TOVOTE; FADOK; LÜTHI, 2015). Entretanto, o papel dessa diferenciação ainda não é bem compreendido a nível clínico (PERUSINI; FANSELOW, 2015).

Como já mencionado, sintomas de ansiedade e depressão são frequentemente concomitantes. Sugere-se que estes sintomas possam apresentar vários mecanismos neurobiológicos em comum (GOODWIN, 2015). Ainda não se sabe o exato mecanismo associado ao efeito ansiolítico do ascorbato, mas estudos pré-clínicos propuseram uma série de alvos possíveis, tais como ação antioxidante e neuroprotetora

(MORETTI et al., 2012a, 2012b), e mecanismos relacionados com a ação antidepressiva do ascorbato (BINFARÉ et al., 2009; LOPRESTI, 2015; MAJEWSKA et al., 1990; MORETTI et al., 2014, 2012a, 2012b; YUSA, 2001), que poderiam potencialmente ser explorados para tratar a ansiedade. Estas vias incluem canais de potássio (MORETTI et al., 2012c), receptores NMDA (MORETTI et al., 2011), ativação do sistema monoaminérgico (BINFARÉ et al., 2009), assim como a via L-arginina-NO-GMPc (MAJEWSKA et al., 1990; YUSA, 2001; ZOMKOWSKI et al., 2012). As vias de sinalização que podem modular o efeito do ascorbato incluem a ativação da via PI3K/mTOR, inibição da GSK3- $\beta$ , e indução da HO-1 (MORETTI et al., 2014).

O rápido efeito apresentado pelo ascorbato na melhora dos escores de ansiedade nos indivíduos com alto traço de ansiedade poderia ser devido a efeitos bioquímicos semelhantes aos demonstrados em estudos pré-clínicos. No estudo de Moretti e colaboradores (2014) foi demonstrado que o efeito tipo-antidepressivo do ascorbato apresentado no TSC em camundongos envolveu a ativação de PI3K/Akt, inibição de GSK3- $\beta$ , o aumento da sinalização de mTOR. Além disso, o efeito tipo-antidepressivo provocado pelo ascorbato foi associado ao aumento da fosforilação da cinase 70S6K do hipocampo e aumento dos níveis de PSD-95, mostrando que o ascorbato, tão rápido quanto 1h após a sua administração, foi capaz de modular dois alvos anteriores e bem conhecidos da via de ativação de mTOR. A ativação de mTOR parece apresentar um papel importante no efeito antidepressivo apresentado pelo ascorbato. Déficits na fosforilação de mTOR e na síntese de proteína mTOR-dependente têm sido vinculados as alterações

moleculares associadas a fisiopatologia da depressão (CHANDRAN et al., 2013; JERNIGAN et al., 2011). Adicionalmente, a inibição de GSK3- $\beta$  parece ser necessária para um efeito antidepressivo rápido do ascorbato em camundongos (BEUREL et al., 2011). Mais estudos são necessários para confirmar esta hipótese.

## 5. CONCLUSÃO

Grandes esforços têm sido feitos na busca por novas drogas que auxiliem no tratamento da ansiedade. Embora os tratamentos com benzodiazepínicos sejam seguros, estes ainda possuem limitações, como efeitos colaterais, demora no aparecimento da resposta terapêutica e um grande número de respostas parciais ou não respostas. Por esse motivo, o uso de plantas medicinais e de suplementos nutricionais tem sido uma alternativa para auxiliar no tratamento da ansiedade. Vários estudos que sugerem que o ascorbato tem um papel interessante no tratamento da depressão. Aventa-se a possibilidade que também possa ser utilizado como adjuvante no tratamento da ansiedade.

Considerando que: a) já há boas evidências de que o ascorbato auxilia no tratamento da depressão, b) parece reduzir sintomas de ansiedade, c) adicionado ao fato de que o ascorbato apresenta história clínica de baixa toxicidade e alta tolerância, sugere-se que o uso do ascorbato em estudantes de pós-graduação, predominante mulheres, poderia reduzir a ansiedade daqueles indivíduos com altos traços de ansiedade. Sugere-se que o ascorbato possa ser utilizado para auxiliar no tratamento de sintomas de ansiedade especialmente em parcelas especiais da população como crianças, idosos, gestantes, ou ainda, utilizado de forma complementar no tratamento de pacientes resistentes ou que não respondem ao tratamento convencional. Entretanto, estudos adicionais são necessários para comprovar sua eficácia nestas populações. E ainda, novos estudos são necessários para elucidar os mecanismos bioquímicos pelos quais o ascorbato exerce seus efeitos ansiolíticos. Sugere-se, ainda, que sejam realizados novos estudos

utilizando doses aguda ou repetidas de ascorbato em indivíduos com diagnóstico de transtorno de ansiedade. Conclui-se com este estudo que a suplementação com dose única de 1 g de ascorbato melhorou a ansiedade dos estudantes universitários no grupo dos 25% indivíduos com maiores traços de ansiedade.

**REFERÊNCIAS**

- ABURAWI, S. M.; AGHMBIRLOU, F.; ATTUMI, A. A. *et al.* . Effect of ascorbic acid on mental depression drug therapy: clinical study. **Psychol Psychother**, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2014.
- ADAM, F.; BORDENAVE, L.; SESSLER, D. I. *et al.* . Effects of a single 1200-mg preoperative dose of gabapentin on anxiety and memory. **Ann Fr Anesth Reanim**, v. 31, n. 10, p. e223-7, 2012.
- AHMAD, A.; RASHEED, N.; ASHRAF, G. M. *et al.* . Brain region specific monoamine and oxidative changes during restraint stress. **Can J Neurol Sci**, v. 39, n. 3, p. 311-8, 2012.
- ALSHUAIB, W. B.; MATHEW, M. V. Vitamins C and E modulate neuronal potassium currents. **J Membr Biol**, v. 210, n. 3, p. 193-8, 2006.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. Arlington: 2013.
- AMR, M.; EL-MOGY, A.; SHAMS, T. *et al.* . Efficacy of vitamin C as an adjunct to fluoxetine therapy in pediatric major depressive disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. **Nutr J**, v. 12, p. 31, 2013.
- ANDERSON, D. C. Assessment and Nutraceutical Management of Stress-induced Adrenal Dysfunction. **Integrative Medicine**, v. 7, n. 5, 2008.
- ARCHER, T.; OSCAR-BERMAN, M.; BLUM, K. *et al.* . Epigenetic Modulation of Mood Disorders. **J Genet Syndr Gene Ther**, v. 4, n. 120, 2013.
- ARONEN, E.T.; VUONTELLA, V.; STEENARI, M.R.; SALMI, J.; CARLSON, S. Working memory, psychiatric symptoms, and academic performance at school. **Neurobiol Learn Mem**, v. 83, n. 1, p. 33-42, 2004.

- ATIF, F.; YOUSUF, S.; AGRAWAL, S. K. Restraint stress-induced oxidative damage and its amelioration with selenium. **Eur J Pharmacol**, v. 600, n. 1-3, p. 59-63, 2008.
- BAJPAI, A.; VERMA, A. K.; SRIVASTAVA, M. *et al.* Oxidative stress and major depression. **J Clin Diagn Res**, v. 8, n. 12, p. CC04-7, 2014.
- BAKKER, A.; KIRWAN, C. B.; MILLER, M. *et al.* Pattern separation in the human hippocampal CA3 and dentate gyrus. **Science**, v. 319, n. 5870, p. 1640-2, 2008.
- BAKER, T. A.; MILSTIEN, S.; KATUSIC, Z. S. Effect of vitamin C on the availability of tetrahydrobiopterin in human endothelial cells. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 37, n. 3, p. 333-8, 2001.
- BALDWIN, D.; BUIS, C.; MAYERS, A. Selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of generalized anxiety disorder. **Expert Rev Neurother**, v. 2, n. 5, p. 717-24, 2002.
- BALDWIN, D. S.; AJEL, K. Role of pregabalin in the treatment of generalized anxiety disorder. **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 3, n. 2, p. 185-91, 2007.
- BALDWIN, D. S.; ANDERSON, I. M.; NUTT, D. J. *et al.* Evidence-based guidelines for the pharmacological treatment of anxiety disorders: recommendations from the British Association for Psychopharmacology. **J Psychopharmacol**, v. 19, n. 6, p. 567-96, 2005.
- BAXTER, A.J.; VOS, T.; SCOTT, K.M.; FERRARI, A.J.; WHITEFORD, H.A. The global burden of anxiety disorders in 2010. **Psychol. Med**, v. 44, p. 2363–2374, 2014.
- BEHL, A.; SWAMI, G.; SIRCAR, S. S. *et al.* Relationship of possible stress-related biochemical markers to oxidative/antioxidative status in obsessive-compulsive disorder. **Neuropsychobiology**, v. 61, n. 4, p. 210-4, 2010.

- BEHR, G. A.; MOREIRA, J. C.; FREY, B. N. Preclinical and clinical evidence of antioxidant effects of antidepressant agents: implications for the pathophysiology of major depressive disorder. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2012, p. 609421, 2012.
- BENSON, C.; MIFFLIN, K.; KERR, B.; JESUDASAN, S.J.B.; DURSUN, S.; BAKER, G. Biogenic Amines and the Amino Acids GABA and Glutamate: Relationships with Pain and Depression. **Mod. Trends Pharmacopsychiatry**, v. 30, p. 67–79, 2015.
- BERK, M.; COPOLOV, D. L.; DEAN, O. *et al.* . N-acetyl cysteine for depressive symptoms in bipolar disorder--a double-blind randomized placebo-controlled trial. **Biol Psychiatry**, v. 64, n. 6, p. 468-75, 2008.
- BERMAN, R. M.; CAPPIELLO, A.; ANAND, A. *et al.* . Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. **Biol Psychiatry**, v. 47, n. 4, p. 351-4, 2000.
- BERTON, O.; NESTLER, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Nat Rev Neurosci**, v. 7, n. 2, p. 137-51, 2006.
- BEST, J. A.; NIJHOUT, H. F.; REED, M. C. Homeostatic mechanisms in dopamine synthesis and release: a mathematical model. **Theor Biol Med Model**, v. 6, p. 21, 2009.
- BEUREL, E.; SONG, L.; JOPE, R.S. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 is necessary for the rapid antidepressant effect of ketamine in mice. **Mol Psychiatry**, v. 16, p. 1068-70, 2011.
- BIAGGIO, A.M.; NATALÍCIO, L.; SPIELBERGER, C.D. Desenvolvimento da forma experimental em português do Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE) de Spielberger. **Arq Bras Psic Apl**, v. 29, p. 31–41, 1977.
- BILICI, M.; EFE, H.; KOROGLU, M. A. *et al.* . Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by

- antidepressant treatments. **J Affect Disord**, v. 64, n. 1, p. 43-51, 2001.
- BINFARE, R. W.; ROSA, A. O.; LOBATO, K. R. *et al.* . Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 33, n. 3, p. 530-40, 2009.
- BISHOP, S.J. Trait anxiety and impoverished prefrontal control of attention. **Nat. Neurosci**, v. 12, p. 92–98, 2009.
- BLACK, P. H.; GARBUTT, L. D. Stress, inflammation and cardiovascular disease. **J Psychosom Res**, v. 52, n. 1, p. 1-23, 2002.
- BLACKFORD, J. U.; PINE, D. S. Neural substrates of childhood anxiety disorders: a review of neuroimaging findings. **Child Adolesc Psychiatr Clin N Am**, v. 21, n. 3, p. 501-25, 2012.
- BLANCHARD, J. Effects of gender on vitamin C pharmacokinetics in man. **J Am Coll Nutr**, v. 10, p. 453-59, 1991.
- BOLOTINA, V. M.; NAJIBI, S.; PALACINO, J. J. *et al.* . Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**, v. 368, n. 6474, p. 850-3, 1994.
- BORLONGAN, C. V. Recent preclinical evidence advancing cell therapy for Alzheimer's disease. **Exp Neurol**; v. 237, n. 1, p. 142-6, 2012.
- BORTOLATTO, C. F.; JESSE, C. R.; WILHELM, E. A. *et al.* . Involvement of potassium channels in the antidepressant-like effect of venlafaxine in mice. **Life Sci**, v. 86, n. 9-10, p. 372-6, 2010.
- BOURIN, M.; MASSE, F.; HASCOET, M. Evidence for the activity of lamotrigine at 5-HT(1A) receptors in the mouse forced swimming test. **J Psychiatry Neurosci**, v. 30, n. 4, p. 275-82, 2005.

- BREMNER, J. D.; NARAYAN, M.; ANDERSON, E. R. *et al.* . Hippocampal volume reduction in major depression. **Am J Psychiatry**, v. 157, n. 1, p. 115-8, 2000.
- BROADHEAD, W. E.; BLAZER, D. G.; GEORGE, L. K. *et al.* . Depression, disability days, and days lost from work in a prospective epidemiologic survey. **JAMA**, v. 264, n. 19, p. 2524-8, 1990.
- BRODY, S. High-dose ascorbic acid increases intercourse frequency and improves mood: a randomized controlled clinical trial. **Biol Psychiatry**, v. 52, n. 4, p. 371-4, 2002.
- BRODY, S.; PREUT, R.; SCHOMMER, K.; SCHUMEYER, T.H. A randomized controlled trial of high dose ascorbic acid for reduction of blood pressure, cortisol, and subjective responses to psychological stress. **Psychopharmacology**, v. 159, p. 319-324, 2002.
- BROWNLEE, J.M.; HEINZ, B.; BATES, J.; MORAN, G.R. Product Analysis and Inhibition Studies of a Causative Asn to Ser Variant of 4-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase Suggest a Simple Route to the Treatment of Hawkinsinuria. **Biochemistry**, v. 49, p. 7218–7226, 2010.
- BRUIJN, J.A.; MOLEMAN, P.; VAN DEN BROEK, W.W.; MULDER, P.G. Trait anxiety and the effect of a single high dose of diazepam in unipolar depression. **J. Psychiatr. Res**, v. 35, p. 331–337, 2001.
- BULUT, M.; SELEK, S.; GERGERLIOGLU, H. S. *et al.* . Malondialdehyde levels in adult attention-deficit hyperactivity disorder. **J Psychiatry Neurosci**, v. 32, n. 6, p. 435-8, 2007.
- BÜRZLE, M.; HEDIGER, M.A. Functional and physiological role of vitamin C transporters. **Curr. Top. Membr**, v. 70, p. 357–375, 2012.
- BYSTRITSKY, A. Treatment-resistant anxiety disorders. **Mol. Psychiatry**, v. 11, p. 805–814, 2006.

- CALABRESE, V.; MANCUSO, C.; CALVANI, M. *et al.* . Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. **Nat Rev Neurosci**, v. 8, n. 10, p. 766-75, 2007.
- CALKINS, M. J.; JOHNSON, D. A.; TOWNSEND, J. A. *et al.* . The Nrf2/ARE pathway as a potential therapeutic target in neurodegenerative disease. **Antioxid Redox Signal**, v. 11, n. 3, p. 497-508, 2009.
- CAREY, D. J.; TODD, M. S. Schwann cell myelination in a chemically defined medium: demonstration of a requirement for additives that promote Schwann cell extracellular matrix formation. **Brain Res**, v. 429, n. 1, p. 95-102, 1987.
- CARR, A. C.; BOZONET, S. M.; PULLAR, J. M. *et al.* . Mood improvement in young adult males following supplementation with gold kiwifruit, a high-vitamin C food. **J Nutr Sci**, v. 2, p. e24, 2013.
- CARR, A. C.; VISSERS, M. C. Good nutrition matters: hypovitaminosis C associated with depressed mood and poor wound healing. **N Z Med J**, v. 125, n. 1362, p. 107-9, 2012.
- CARRASCO, G. A.; VAN DE KAR, L. D. Neuroendocrine pharmacology of stress. **Eur J Pharmacol**, v. 463, n. 1-3, p. 235-72, 2003.
- CASPI, A.; SUGDEN, K.; MOFFITT, T. E. *et al.* . Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science**, v. 301, n. 5631, p. 386-9, 2003.
- CASSADY, J. C.; JOHNSON, R. E. Cognitive test anxiety and academic performance. **Contemp Educ Psychol**, v.27, p. 270–295, 2002.
- CASTAGNÉ, V.; ROUGEMONT, M.; CUENOD, M.; DO, K.Q. Low brain glutathione and ascorbic acid associated with dopamine uptake inhibition during rat's development induce long-term

cognitive deficit: relevance to schizophrenia. **Neurobiol Dis**, v. 15, p. 93–105, 2004.

CATENA-DELL'OSSO, M.; BELLANTUONO, C.; CONSOLI, G. *et al.* . Inflammatory and neurodegenerative pathways in depression: a new avenue for antidepressant development? **Curr Med Chem**, v. 18, n. 2, p. 245-55, 2011.

CHAKRABARTY, K.; BHATTACHARYYA, S.; CHRISTOPHER, R. *et al.* . Glutamatergic dysfunction in OCD. **Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 9, p. 1735-40, 2005.

CHAKRABORTY, S.; SINGH, O. P.; DASGUPTA, A. *et al.* . Correlation between lipid peroxidation-induced TBARS level and disease severity in obsessive-compulsive disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 33, n. 2, p. 363-6, 2009.

CHANDRAN, A; IYO, A.H.; JERNIGAN, C.S.; LEGUTKO, B.; AUSTIN, M.C.; KAROLEWICZ, B. Reduced phosphorylation of the mTOR signaling pathway components in the amygdala of rats exposed to chronic stress. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 40, p. 240-5, 2013.

CHANG, C. W.; CHEN, M. J.; WANG, T. E. *et al.* . Scurvy in a patient with depression. **Dig Dis Sci**, v. 52, n. 5, p. 1259-61, 2007.

CHEN, Y.; CURRAN, C.P.; NEBERT, D.W.; PATEL, K.V.; WILLIAMS, M.T.; VORHEES, C.V. Effect of vitamin C deficiency during postnatal development on adult behavior: functional phenotype of Gulo<sup>-/-</sup> knockout mice. **Genes Brain Behav.**, v. 11. P. 269–277, 2012.

CHESNEY, E.; GOODWIN, G.M.; FAZEL, S. Risks of all-cause and suicide mortality in mental disorders: a meta-review. **World Psychiatry**, v.13, n. 2, p. 153-60, 2014.

- CHESSICK, C. A.; ALLEN, M. H.; THASE, M. *et al.* . Azapirones for generalized anxiety disorder. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 3, p. CD006115, 2006.
- CHOI, J. S.; CHOI, B. H.; AHN, H. S. *et al.* . Fluoxetine inhibits A-type potassium currents in primary cultured rat hippocampal neurons. **Brain Res**, v. 1018, n. 2, p. 201-7, 2004.
- CHUNG, C. New perspectives on glutamate receptor antagonists as antidepressants. **Arch Pharm Res**, v. 35, n. 4, p. 573-7, 2012.
- CLEMETSON, C.A. Elevated blood histamine caused by vaccinations and Vitamin C deficiency may mimic the shaken baby syndrome. **Med Hypotheses**, v. 62, n. 4, p. 533-6, 2004.
- CLOOS, J.M.; FERREIRA, V. Current use of benzodiazepines in anxiety disorders. **Curr. Opin. Psychiatry**, v. 22, p. 90–95, 2009.
- COCCHI, P.; SILENZI, M.; CALABRI, G.; SALVI, G. Antidepressant effect of vitamin C. **Pediatrics**, v. 65, n. 4, p. 862-3, 1980.
- COPLAN, J.D. Treating comorbid anxiety and depression: Psychosocial and pharmacological approaches. **World J. Psychiatry**, v. 5, p. 366, 2015.
- CRANFORD, J.A.; EISENBERG, D.; SERRAS, A.M. Substance use behaviors, mental health problems, and use of mental health services in a probability sample of college students. **Addict Behav**, v. 34, p. 134-145, 2009.
- CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 29, n. 4-5, p. 571-625, 2005.
- CUTHBERT, B.N.; INSEL, T.R. Toward the future of psychiatric diagnosis: the seven pillars of RDoC. **BMC Med**, v. 11, p. 126, 2013.

- DAI, F.; YANG, J. Y.; GU, P. F.; HOU, Y.; WU, C. F. Effect of drug-induced ascorbic acid release in the striatum and the nucleus accumbens in hippocampus-lesioned rats. **Brain Res**, v. 1125, n. 1, p. 163-170, 2006.
- DAL-CIM, T.; MOLZ, S.; EGEEA, J. *et al.* Guanosine protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against mitochondrial oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  pathway. **Neurochem Int**, v. 61, n. 3, p. 397-404, 2012.
- DAUBNER, S.C.; LE, T.; WANG, S. Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. **Arch Biochem Biophys**, v. 508, n. 1, p. 1-12, 2011.
- DAVIDSON, J. R.; POTTS, N.; RICHICHI, E. *et al.* Treatment of social phobia with clonazepam and placebo. **J Clin Psychopharmacol**, v. 13, n. 6, p. 423-8, 1993.
- DELL'OSSO, B.; LADER, M. Do benzodiazepines still deserve a major role in the treatment of psychiatric disorders? A critical reappraisal. **Eur. Psychiatry J. Assoc. Eur. Psychiatr**, v. 28, p. 7–20, 2013.
- DE OLIVEIRA, I. J.; DE SOUZA, V. V.; MOTTA, V. *et al.* Effects of Oral Vitamin C Supplementation on Anxiety in Students: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. **Pak J Biol Sci**, v. 18, n. 1, p. 11-8, 2015.
- DESANTIS, J. Scurvy and psychiatric symptoms. **Perspect Psychiatr Care**, v. 29, p. 18–22, 1993.
- DEUTSCHENBAUR, L.; BECK, J.; KIYHANKHADIV, A. *et al.* Role of calcium, glutamate and NMDA in major depression and therapeutic application. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 64, p. 325-33, 2016.
- DHABHAR, F. S.; BURKE, H. M.; EPEL, E. S. *et al.* Low serum IL-10 concentrations and loss of regulatory association between IL-6 and IL-10 in adults with major depression. **J Psychiatr Res**, v. 43, n. 11, p. 962-9, 2009.

- DHINGRA, D.; PARLE, M.; KULKARNI, S. K. Comparative brain cholinesterase-inhibiting activity of Glycyrrhiza glabra, Myristica fragrans, ascorbic acid, and metrifonate in mice. **J Med Food**, v. 9, n. 2, p. 281-3, 2006.
- DHIR, A.; KULKARNI, S. K. Nitric oxide and major depression. **Nitric Oxide**, v. 24, n. 3, p. 125-31, 2011.
- DOBRANSKY, T.; RYLETT, R. J. Functional regulation of choline acetyltransferase by phosphorylation. **Neurochem Res**, v. 28, n. 3-4, p. 537-42, 2003.
- DREVETS, W. C.; VIDEEN, T. O.; PRICE, J. L. *et al.* A functional anatomical study of unipolar depression. **J Neurosci**, v. 12, n. 9, p. 3628-41, 1992.
- DU, J.; CULLEN, J.J.; BUETTNER, G.R. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Rev. Cancer*, v. 1826, p. 443-457, 2012.
- DUMAN, R. S. Neurobiology of stress, depression, and rapid acting antidepressants: remodeling synaptic connections. **Depress Anxiety**, v. 31, n. 4, p. 291-6, 2014.
- DUMAN, R. S.; HENINGER, G. R.; NESTLER, E. J. A molecular and cellular theory of depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 54, n. 7, p. 597-606, 1997.
- DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biol Psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1116-27, 2006.
- DWIVEDI, Y.; RIZAVI, H. S.; TEPPEN, T. *et al.* Lower phosphoinositide 3-kinase (PI 3-kinase) activity and differential expression levels of selective catalytic and regulatory PI 3-kinase subunit isoforms in prefrontal cortex and hippocampus of suicide subjects. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 10, p. 2324-40, 2008.

- DWYER, J. M.; LEPACK, A. E.; DUMAN, R. S. mTOR activation is required for the antidepressant effects of mGluR(2)/(3) blockade. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 15, n. 4, p. 429-34, 2012.
- ELDRIDGE, C. F.; BUNGE, M. B.; BUNGE, R. P. *et al.* Differentiation of axon-related Schwann cells in vitro. I. Ascorbic acid regulates basal lamina assembly and myelin formation. **J Cell Biol**, v. 105, n. 2, p. 1023-34, 1987.
- ENDLER, N.S.; KOCOVSKI, N.L. State and trait anxiety revisited. **J. Anxiety Disord**, v. 15, p. 231–245, 2001.
- EREN, I.; NAZIROGLU, M.; DEMIRDAS, A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. **Neurochem Res**, v. 32, n. 7, p. 1188-95, 2007.
- ESKIOCAK, S.; GOZEN, A. S.; YAPAR, S. B. *et al.* Glutathione and free sulphhydryl content of seminal plasma in healthy medical students during and after exam stress. **Hum Reprod**, v. 20, n. 9, p. 2595-600, 2005.
- ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radic Biol Med**, v. 11, n. 1, p. 81-128, 1991.
- ETKIN, A.; KLEMENHAGEN, K.C.; DUDMAN, J.T.; ROGAN, M.T.; HEN, R.; KANDEL, E.R.; HIRSCH, J. Individual differences in trait anxiety predict the response of the basolateral amygdala to unconsciously processed fearful faces. **Neuron**, v. 44, p. 1043–1055, 2004.
- FAN, S. F.; YAZULLA, S. Modulation of voltage-dependent K<sup>+</sup> currents (IK(V)) in retinal bipolar cells by ascorbate is mediated by dopamine D1 receptors. **Vis Neurosci**, v. 16, n. 5, p. 923-31, 1999.

- FARACH, F.J; PRUITT, L.D.; JUN, J.J.; JERUD, A.B.; ZOELLNER, L.A.; ROY-BYRNE, P.P. Pharmacological treatment of anxiety disorders: current treatments and future directions. **J. Anxiety Disord**, v. 26, p. 833–843, 2012.
- FAWCETT, J. Suicide risk factors in depressive disorders and in panic disorder. **J Clin Psychiatry**, v. 53 Suppl, p. 9-13, 1992.
- FELIX-ORTIZ, A. C.; BURGOS-ROBLES, A.; BHAGAT, N. D. *et al.* Bidirectional modulation of anxiety-related and social behaviors by amygdala projections to the medial prefrontal cortex. **Neuroscience**, 2015.
- FERRARI, A.J.; SOMERVILLE, A.J.; BAXTER, A.J.; NORMAN, R.; PATTEN, S.B.; VOS, T.; WHITEFORD, H.A.; Global variation in the prevalence and incidence of major depressive disorder: a systematic review of the epidemiological literature. **Psychol Med**, v. 43, p. 471-81, 2013.
- FITZGERALD, P.J. The NMDA receptor may participate in widespread suppression of circuit level neural activity, in addition to a similarly prominent role in circuit level activation. **Behav. Brain Res**, v. 230, p. 291–298, 2012.
- FLASHMAN, E.; DAVIES, S. L.; YEOH, K. K. *et al.* Investigating the dependence of the hypoxia-inducible factor hydroxylases (factor inhibiting HIF and prolyl hydroxylase domain 2) on ascorbate and other reducing agents. **Biochem J**, v. 427, n. 1, p. 135-42, 2010.
- FLORES, A.; SARAVIA, R.; MALDONADO, R. *et al.* Orexins and fear: implications for the treatment of anxiety disorders. **Trends Neurosci**, v. 38, n. 9, p. 550-9, 2015.
- FORLENZA, M. J.; MILLER, G. E. Increased serum levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in clinical depression. **Psychosom Med**, v. 68, n. 1, p. 1-7, 2006.
- FRANGO, S. Functional neuroimaging in mood disorders. **Psychiatry Investig**, v. 8, n. 3, p. 102-104, 2009.

- GALEOTTI, N.; GHELARDINI, C.; CALDARI, B. *et al.* Effect of potassium channel modulators in mouse forced swimming test. **Br J Pharmacol**, v. 126, n. 7, p. 1653-9, 1999.
- GARCIA, L. S.; COMIM, C. M.; VALVASSORI, S. S. *et al.* Acute administration of ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases BDNF levels in the rat hippocampus. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 32, n. 1, p. 140-4, 2008.
- GARCIA, L. S.; COMIM, C. M.; VALVASSORI, S. S. *et al.* Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 33, n. 3, p. 450-5, 2009.
- GARVER, D.L.; DAVIS, J.M. Biogenic amine hypotheses of affective disorders. **Life Sci**, v.24, p.383-94, 1979.
- GATECKI, P.; SZEMRAJ, J.; BIENKIEWICZ, M.; *et al.* Lipid peroxidation and antioxidant protection in patients during acute depressive episodes and in remission after fluoxetine treatment. **Pharmacol Rep**, v. 61, p. 436-47, 2009.
- GAUTAM, M.; AGRAWAL, M.; GAUTAM, M. *et al.* Role of antioxidants in generalised anxiety disorder and depression. **Indian J Psychiatry**, v. 54, n. 3, p. 244-7, 2012.
- GERMAN, L.; KAHANA, C.; ROSENFELD, V.; ZABROWSKY, I.; WIEZER, Z.; FRASER, D., *et al.* Depressive symptoms are associated with food insufficiency and nutritional deficiencies in poor community-dwelling elderly people. **J. Nutr. Health Aging**, v.15, n. 1, p. 3-8, 2011.
- GILLESPIE, C. F.; NEMEROFF, C. B. Hypercortisolemia and depression. **Psychosom Med**, v. 67 Suppl 1, p. S26-8, 2005.

- GONCHAROVA, N. D. Stress responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: age-related features of the vasopressinergic regulation. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 4, p. 26, 2013.
- GOODWIN, G.M. The overlap between anxiety, depression, and obsessive-compulsive disorder. **Dialogues Clin. Neurosci**, v. 17, p. 249–260, 2015.
- GORENSTEIN, C.; ANDRADE, L. Validation of a Portuguese version of the Beck Depression Inventory and the State-Trait Anxiety Inventory in Brazilian subjects. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 29, p. 453–457, 1996.
- GOZZELINO, R.; JENEY, V.; SOARES, M. P. Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 50, p. 323-54, 2010.
- GRANT, M. M.; BARBER, V. S.; GRIFFITHS, H. R. The presence of ascorbate induces expression of brain derived neurotrophic factor in SH-SY5Y neuroblastoma cells after peroxide insult, which is associated with increased survival. **Proteomics**, v. 5, n. 2, p. 534-40, 2005.
- GREENBERG, P. E.; SISITSKY, T.; KESSLER, R. C. *et al.* The economic burden of anxiety disorders in the 1990s. **J Clin Psychiatry**, v. 60, n. 7, p. 427-35, 1999.
- GROMOVA, E. G.; SVIRIDOVA, S. P.; KUSHLINSKII, N. E. *et al.* [Regulation of the indices of neuroendocrine status in surgical patients with lung cancer using optimal doses of ascorbic acid]. **Anesteziol Reanimatol**, n. 5, p. 71-4, 1990.
- GU, J.; SUN, X.; WANG, G. *et al.* . Icariside II enhances Nrf2 nuclear translocation to upregulate phase II detoxifying enzyme expression coupled with the ERK, Akt and JNK signaling pathways. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9234-44, 2011.

- GUICHARDANT, M.; VALETTE-TALBI, L.; CAVADINI, C. *et al.* Malondialdehyde measurement in urine. **J Chromatogr B Biomed Appl**, v. 655, n. 1, p. 112-6, 1994.
- GUO, W.; TODD, K.; BOURIN, M. *et al.* Additive effects of glyburide and antidepressants in the forced swimming test: evidence for the involvement of potassium channel blockade. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 54, n. 4, p. 725-30, 1996.
- GUO, W. Y.; TODD, K. G.; BOURIN, M. *et al.* The additive effects of quinine on antidepressant drugs in the forced swimming test in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 121, n. 2, p. 173-9, 1995.
- HALLIWELL, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **J Neurochem**, v. 97, n. 6, p. 1634-58, 2006.
- HAMPL, J.S.; TAYLOR, C.A.; JOHNSTON, C.S. Vitamin C deficiency and depletion in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 to 1994. **Am J Public Health**, v.94, n. 5, p. 870-5, 2004.
- HANSEN, S. N.; TVEDEN-NYBORG, P.; LYKKESFELDT, J. Does vitamin C deficiency affect cognitive development and function? **Nutrients**, v. 6, n. 9, p. 3818-46, 2014.
- HARKIN, A. J.; BRUCE, K. H.; CRAFT, B. *et al.* Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice. 1. Acute treatments are active in the forced swim test. **Eur J Pharmacol**, v. 372, n. 3, p. 207-13, 1999.
- HARRISON, F. E.; MAY, J. M. Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. **Free Radic Biol Med**, v. 46, n. 6, p. 719-30, 2009.
- HARRISON, F.E.; HOSSEINI, A.H.; DAWES, S.M.; WEAVER, S.; MAY, J.M. Ascorbic acid attenuates scopolamine-induced spatial learning deficits in the water maze. **Behav Brain Res**, v. 205, p.550-58, 2009.

- HASHIMOTO, K. Comments on "An innovative design to establish proof of concept of the antidepressant effects of the NR2B subunit selective N-methyl-D-aspartate antagonist, CP-101,606 in patients with treatment-refractory major depressive disorder". **J Clin Psychopharmacol**, v. 29, n. 4, p. 411-2; author reply 412, 2009.
- HASLER, G.; NUGENT, A. C.; CARLSON, P. J. *et al.* Altered cerebral gamma-aminobutyric acid type A-benzodiazepine receptor binding in panic disorder determined by [<sup>11</sup>C]flumazenil positron emission tomography. **Arch Gen Psychiatry**, v. 65, n. 10, p. 1166-75, 2008.
- HAZNECI, E.; KARABULUT, A. B.; OZTURK, C. *et al.* A comparative study of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities and nitrate levels in vitiligo patients. **Int J Dermatol**, v. 44, n. 8, p. 636-40, 2005.
- HEAD, K. A.; KELLY, G. S. Nutrients and botanicals for treatment of stress: adrenal fatigue, neurotransmitter imbalance, anxiety, and restless sleep. **Altern Med Rev**, v. 14, n. 2, p. 114-40, 2009.
- HESTAD, K. A.; TONSETH, S.; STOEN, C. D. *et al.* . Raised plasma levels of tumor necrosis factor alpha in patients with depression: normalization during electroconvulsive therapy. **J ECT**, v. 19, n. 4, p. 183-8, 2003.
- HIDALGO, R. B.; TUPLER, L. A.; DAVIDSON, J. R. An effect-size analysis of pharmacologic treatments for generalized anxiety disorder. **J Psychopharmacol**, v. 21, n. 8, p. 864-72, 2007.
- HOROWSKI, R.; DOROW, R. Anxiogenic, not psychotogenic, properties of the partial inverse benzodiazepine receptor agonist FG 7142 in man. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 162, n. 2, p. 223-4, 2002.
- HUANG, J.; AGUS, D. B.; WINFREE, C. J. *et al.* . Dehydroascorbic acid, a blood-brain barrier transportable form of vitamin C, mediates potent cerebroprotection in experimental stroke. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 98, n. 20, p. 11720-4, 2001.

- HUDSON, D.M.; EYRE, D.R. Collagen prolyl 3-hydroxylation: a major role for a minor post-translational modification? **Connect. Tissue Res**, v. 54, p. 245–251, 2013.
- HUGHES, R. N.; LOWTHER, C. L.; VAN NOBELEN, M. Prolonged treatment with vitamins C and E separately and together decreases anxiety-related open-field behavior and acoustic startle in hooded rats. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 97, n. 3, p. 494-9, 2011.
- HWANG, Y. P.; JEONG, H. G. Ginsenoside Rb1 protects against 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress by increasing heme oxygenase-1 expression through an estrogen receptor-related PI3K/Akt/Nrf2-dependent pathway in human dopaminergic cells. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 242, n. 1, p. 18-28, 2010.
- INSEL, T.R. The NIMH Research Domain Criteria (RDoC) Project: precision medicine for psychiatry. **Am. J. Psychiatry**, v. 171, p. 395–397, 2014.
- IRIE, M.; MIYATA, M.; KASAI, H. Depression and possible cancer risk due to oxidative DNA damage. **J Psychiatr Res**, v. 39, n. 6, p. 553-60, 2005.
- IRLE, E.; RUHLEDER, M.; LANGE, C. *et al.* Reduced amygdalar and hippocampal size in adults with generalized social phobia. **J Psychiatry Neurosci**, v. 35, n. 2, p. 126-31, 2010.
- IYER, N. V.; KOTCH, L. E.; AGANI, F. *et al.* Cellular and developmental control of O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. **Genes Dev**, v. 12, n. 2, p. 149-62, 1998.
- JAFARI ANARKOOLI, I.; SANKIAN, M.; VAHEDI, F. *et al.* Evaluation of insulin and ascorbic acid effects on expression of Bcl-2 family proteins and caspase-3 activity in hippocampus of STZ-induced diabetic rats. **Cell Mol Neurobiol**, v. 29, n. 1, p. 133-40, 2009.

- JEONG, S. Y.; HA, T. S.; PARK, C. S. *et al.* Nitric oxide directly activates large conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels (rSlo). **Mol Cells**, v. 12, n. 1, p. 97-102, 2001.
- JERNIGAN, C.S.; GOSWAMI, D.B.; AUSTIN, M.C.; IYO, A.H.; CHANDRAN, A. STOCKMEIER, C.A. *et al.* The mTOR signaling pathway in the prefrontal cortex is compromised in major depressive disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 35, p. 1774-9, 2011.
- JIANG, Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. **Free Radic. Biol. Med**, v. 72, p. 76–90, 2014.
- JOHNSTON, C.S.; THOMPSON, L.L. Vitamin C status of an outpatient population. **J Am Coll Nutr**, v. 17, n. 4, p. 336-70, 1998.
- KAPCZINSKI, F.; LIMA, M. S.; SOUZA, J. S. *et al.* Antidepressants for generalized anxiety disorder. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 2, p. CD003592, 2003.
- KAREGE, F.; PERROUD, N.; BURKHARDT, S. *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**, v. 61, n. 2, p. 240-5, 2007.
- KARG, K.; BURMEISTER, M.; SHEDDEN, K. *et al.* The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis revisited: evidence of genetic moderation. **Arch Gen Psychiatry**, v. 68, n. 5, p. 444-54, 2011.
- KASTER, M. P.; FERREIRA, P. K.; SANTOS, A. R. *et al.* Effects of potassium channel inhibitors in the forced swimming test: possible involvement of L-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway. **Behav Brain Res**, v. 165, n. 2, p. 204-9, 2005.
- KATZMAN, M. A.; BLEAU, P.; BLIER, P. *et al.* Canadian clinical practice guidelines for the management of anxiety, posttraumatic

stress and obsessive-compulsive disorders. **BMC Psychiatry**, v. 14 Suppl 1, p. S1, 2014.

KENNARD, J.A.; HARRISON, F.E. Intravenous ascorbate improves spatial memory in middle-aged APP/PSEN1 and wild type mice. **Behav. Brain Res**, v. 264, p. 34–42, 2014.

KENNEDY, S. G.; WAGNER, A. J.; CONZEN, S. D. *et al.* The PI 3-kinase/Akt signaling pathway delivers an anti-apoptotic signal. **Genes Dev**, v. 11, n. 6, p. 701-13, 1997.

KESSLER, R.C.; BERGLUND, P.; DEMLER, O.; JIN, R.; KORETZ, D.; MERIKANGAS, K.R.; RUSH, A.J.; WALTERS, E.E.; WANG, P.S. National Comorbidity Survey Replication. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). **JAMA**, v. 289, p. 3095–3105, 2003.

KESSLER, R.C.; BERGLUND, P.; DEMLER, O.; JIN, R.; MERIKANGAS, K.R.; WALTERS, E.E. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 62, p. 593–602, 2005.

KESSLER, R. C.; PETUKHOVA, M.; SAMPSON, N. A. *et al.* Twelve-month and lifetime prevalence and lifetime morbid risk of anxiety and mood disorders in the United States. **Int J Methods Psychiatr Res**, v. 21, n. 3, p. 169-84, 2012.

KESSLER, R. C.; RUSCIO, A. M.; SHEAR, K. *et al.* Epidemiology of anxiety disorders. **Curr Top Behav Neurosci**, v. 2, p. 21-35, 2010.

KHAJEHNASIRI, F.; MORTAZAVI, S. B.; ALLAMEH, A. *et al.* Effect of omega-3 and ascorbic acid on inflammation markers in depressed shift workers in Shahid Tondgoyan Oil Refinery, Iran: a randomized double-blind placebo-controlled study. **J Clin Biochem Nutr**, v. 53, n. 1, p. 36-40, 2013.

- KHANZODE, S. D.; DAKHALE, G. N.; KHANZODE, S. S. *et al.* Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. **Redox Rep**, v. 8, n. 6, p. 365-70, 2003.
- KIECOLT-GLASER, J. K.; GLASER, R. Depression and immune function: central pathways to morbidity and mortality. **J Psychosom Res**, v. 53, n. 4, p. 873-6, 2002.
- KIMELBERG, H. K.; GODERIE, S. K. Effect of ascorbate on Na(+)-independent and Na(+)-dependent uptake of [3H]norepinephrine by rat primary astrocyte cultures from neonatal rat cerebral cortex. **Brain Res**, v. 602, n. 1, p. 41-4, 1993.
- KITAYAMA, N.; VACCARINO, V.; KUTNER, M. *et al.* Magnetic resonance imaging (MRI) measurement of hippocampal volume in posttraumatic stress disorder: a meta-analysis. **J Affect Disord**, v. 88, n. 1, p. 79-86, 2005.
- KOCANOVA, S.; BUYTAERT, E.; MATROULE, J. Y. *et al.* Induction of heme-oxygenase 1 requires the p38MAPK and PI3K pathways and suppresses apoptotic cell death following hypericin-mediated photodynamic therapy. **Apoptosis**, v. 12, n. 4, p. 731-41, 2007.
- KOWALTOWSKI, A. J.; FISKUM, G. Redox mechanisms of cytoprotection by Bcl-2. **Antioxid Redox Signal**, v. 7, n. 3-4, p. 508-14, 2005.
- KRASS, M.; WEGENER, G.; VASAR, E. *et al.* The antidepressant action of imipramine and venlafaxine involves suppression of nitric oxide synthesis. **Behav Brain Res**, v. 218, n. 1, p. 57-63, 2011.
- KUIPER, C.; DACHS, G.U.; CURRIE, M.J.; VISSERS, M.C.M. Intracellular ascorbate enhances hypoxia-inducible factor (HIF)-hydroxylase activity and preferentially suppresses the HIF-1 transcriptional response. **Free Radic. Biol. Med**, v. 69, p. 308-317, 2014.

- KULOGLU, M.; ATMACA, M.; TEZCAN, E. *et al.* Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in patients with obsessive-compulsive disorder. **Neuropsychobiology**, v. 46, n. 1, p. 27-32, 2002.
- KUO, C. H.; YOSHIDA, H. Ascorbic acid, an endogenous factor required for acetylcholine release from the synaptic vesicles. **Jpn J Pharmacol**, v. 30, n. 4, p. 481-92, 1980.
- KYROU, I.; TSIGOS, C. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. **Curr Opin Pharmacol**, v. 9, n. 6, p. 787-93, 2009.
- LANE, D. J.; RICHARDSON, D. R. The active role of vitamin C in mammalian iron metabolism: much more than just enhanced iron absorption! **Free Radic Biol Med**, v. 75, p. 69-83, 2014.
- LAVIGNE, J. E.; HECKLER, C.; MATHEWS, J. L. *et al.* A randomized, controlled, double-blinded clinical trial of gabapentin 300 versus 900 mg versus placebo for anxiety symptoms in breast cancer survivors. **Breast Cancer Res Treat**, v. 136, n. 2, p. 479-86, 2012.
- LEE, B. H.; LEE, S. W.; YOON, D. *et al.* Increased plasma nitric oxide metabolites in suicide attempters. **Neuropsychobiology**, v. 53, n. 3, p. 127-32, 2006.
- LEE, K. W.; KIM, J. B.; SEO, J. S. *et al.* Behavioral stress accelerates plaque pathogenesis in the brain of Tg2576 mice via generation of metabolic oxidative stress. **J Neurochem**, v. 108, n. 1, p. 165-75, 2009.
- LEE, S. H.; LUMELSKY, N.; STUDER, L. *et al.* Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells. **Nat Biotechnol**, v. 18, n. 6, p. 675-9, 2000.
- LEUTGEB, J. K.; LEUTGEB, S.; MOSER, M. B. *et al.* Pattern separation in the dentate gyrus and CA3 of the hippocampus. **Science**, v. 315, n. 5814, p. 961-6, 2007.

- LI, N.; LEE, B.; LIU, R. J. *et al.* mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. **Science**, v. 329, n. 5994, p. 959-64, 2010.
- LIAKAKOS, D.; DOULAS, N. L.; IKKOS, D. *et al.* Inhibitory effect of ascorbic acid (vitamin C) on cortisol secretion following adrenal stimulation in children. **Clin Chim Acta**, v. 65, n. 3, p. 251-5, 1975.
- LICINIO, J.; WONG, M. L. Advances in depression research: 2011. **Mol Psychiatry**, v. 16, n. 7, p. 686-7, 2011.
- LINSTER, C.L.; VAN SCHAFTINGEN, E. Vitamin C. Biosynthesis, recycling and degradation in mammals. **FEBS J**, v. 274, n. 1, p. 1-22, 2007.
- LOENARZ, C.; SCHOFIELD, C.J. Physiological and biochemical aspects of hydroxylations and demethylations catalyzed by human 2-oxoglutarate oxygenases. **Trends Biochem Sci.**, v. 36, p. 7-18, 2011.
- LOMBARDO, S.; MASKOS, U. Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. **Neuropharmacol**, v.96, p. 1-8, 2015.
- LOPRESTI, A.L. A review of nutrient treatments for paediatric depression. **J. Affect. Disord**, v. 181, p. 24-32, 2015.
- LOSCHER, W.; ANNIES, R.; HONACK, D. The N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 induces increases in dopamine and serotonin metabolism in several brain regions of rats. **Neurosci Lett**, v. 128, n. 2, p. 191-4, 1991.
- LUIGI, M.; FRANCESCA, D.; MARIA, D.S.; ELEONORA, P.; VALENTINA, G.D.; BENEDETTO, V. The role of anxiety symptoms in school performance in a community sample of children and adolescents. **BMC Public Health**, v. 7, n. 347, p. 1471-2458, 2007.

- LYKKESFELDT, J.; TRUEBA, G. P.; POULSEN, H. E. *et al.* Vitamin C deficiency in weanling guinea pigs: differential expression of oxidative stress and DNA repair in liver and brain. **Br J Nutr**, v. 98, n. 6, p. 1116-9, 2007.
- MACHADO-VIEIRA, R.; YUAN, P.; BRUTSCHE, N. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor and initial antidepressant response to an N-methyl-D-aspartate antagonist. **J Clin Psychiatry**, v. 70, n. 12, p. 1662-6, 2009.
- MADRUGA DE OLIVEIRA, A.; RONDO, P.H.; BARROS, S.B. Concentrations of ascorbic acid in the plasma of pregnant smokers and nonsmokers and their newborns. **Int J Vitam Nutr Res**, v. 74, n. 3, p. 193-8, 2004.
- MAES, M. The cytokine hypothesis of depression: inflammation, oxidative & nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. **Neuro Endocrinol Lett**, v. 29, n. 3, p. 287-91, 2008.
- MAES, M.; DE VOS, N.; PIOLI, R. *et al.* Lower serum vitamin E concentrations in major depression. Another marker of lowered antioxidant defenses in that illness. **J Affect Disord**, v. 58, n. 3, p. 241-6, 2000.
- MAJEWSKA, M. D.; BELL, J. A.; LONDON, E. D. Regulation of the NMDA receptor by redox phenomena: inhibitory role of ascorbate. **Brain Res**, v. 537, n. 1-2, p. 328-32, 1990.
- MALYKHIN, N. V.; CARTER, R.; SERES, P. *et al.* Structural changes in the hippocampus in major depressive disorder: contributions of disease and treatment. **J Psychiatry Neurosci**, v. 35, n. 5, p. 337-43, 2010.
- MALYKHIN, N. V.; COUPLAND, N. J. Hippocampal neuroplasticity in major depressive disorder. **Neuroscience**, v. 309, p. 200-13, 2015.

- MARTIN, J. L.; SAINZ-PARDO, M.; FURUKAWA, T. A. *et al.* Benzodiazepines in generalized anxiety disorder: heterogeneity of outcomes based on a systematic review and meta-analysis of clinical trials. **J Psychopharmacol**, v. 21, n. 7, p. 774-82, 2007.
- MASAND, P.S.; GUPTA, S. Long-term side effects of newer-generation antidepressants: SSRIS, venlafaxine, nefazodone, bupropion, and mirtazapine. **Ann. Clin. Psychiatry Off. J. Am. Acad. Clin. Psychiatr**, v. 14, p. 175-182, 2002.
- MATHEW, S. J.; KEEGAN, K.; SMITH, L. Glutamate modulators as novel interventions for mood disorders. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 27, n. 3, p. 243-8, 2005.
- MAY, J.M. Vitamin C transport and its role in the central nervous system. **Subcell. Biochem**, v. 56, p. 85-103, 2012.
- MAY, J.M.; QU, Z.; NAZAREWICZ, R.; DIKALOV, S. Ascorbic acid efficiently enhances neuronal synthesis of norepinephrine from dopamine. **Brain Res. Bull**, v. 90, p. 35-42, 2013.
- MAZLOOM, Z.; EKRAMZADEH, M.; HEJAZI, N. Efficacy of supplementary vitamins C and E on anxiety, depression and stress in type 2 diabetic patients: a randomized, single-blind, placebo-controlled trial. **Pak J Biol Sci**, v. 16, n. 22, p. 1597-600, 2013.
- MCCALL, J. G.; AL-HASANI, R.; SIUDA, E. R. *et al.* CRH Engagement of the Locus Coeruleus Noradrenergic System Mediates Stress-Induced Anxiety. **Neuron**, v. 87, n. 3, p. 605-20, 2015.
- MCCARTHY, D.J.; ALEXANDER, R.; SMITH, M.A.; PATHAK, S.; KANES, S.; LEE, C.M.; SANACORA, G. Glutamate-based depression GBD. **Med Hypotheses**, v. 78, n. 5, p. 675-81, 2012.
- MCINTOSH, R. **In Textbook of medicine**. p. 555, 1959.

- MCLEAN, C.P.; ANDERSON, E.R. Brave men and timid women? A review of the gender differences in fear and anxiety. **Clin. Psychol. Rev**, v.29, p. 496–505, 2009.
- MILLAN, M. J. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant agents: a critical review. **Eur J Pharmacol**, v. 500, n. 1-3, p. 371-84, 2004.
- MILLER, A. H.; MALETIC, V.; RAISON, C. L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biol Psychiatry**, v. 65, n. 9, p. 732-41, 2009.
- MILNER, C. Ascorbic acid in chronic psychiatric patients: A controlled trial. **Br J Psychiatry**, v. 1109, n. 294, 1963.
- MIN, J.A.; LEE, N.B.; LEE, C.U.; LEE, C.; CHAE, J.H. Low trait anxiety, high resilience, and their interaction as possible predictors for treatment response in patients with depression. **J. Affect. Disord**, v.137, p. 61–69, 2012.
- MOHAMMAD-ZADEH, L. F.; MOSES, L.; GWALTNEY-BRANT, S. M. Serotonin: a review. **J Vet Pharmacol Ther**, v. 31, n. 3, p. 187-99, 2008.
- MONTGOMERY, S.; CHATAMRA, K.; PAUER, L. *et al.* Efficacy and safety of pregabalin in elderly people with generalised anxiety disorder. **Br J Psychiatry**, v. 193, n. 5, p. 389-94, 2008.
- MORETTI, M.; BUDNI, J.; DOS SANTOS, D. B. *et al.* Protective Effects of Ascorbic Acid on Behavior and Oxidative Status of Restraint-Stressed Mice. **J Mol Neurosci**, 2012a.
- MORETTI, M.; BUDNI, J.; FREITAS, A. E. *et al.* TNF-alpha-induced depressive-like phenotype and p38(MAPK) activation are abolished by ascorbic acid treatment. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 25, n. 6, p. 902-12, 2015.
- MORETTI, M.; BUDNI, J.; FREITAS, A. E. *et al.* Antidepressant-like effect of ascorbic acid is associated with the modulation of

- mammalian target of rapamycin pathway. **J Psychiatr Res**, v. 48, n. 1, p. 16-24, 2014.
- MORETTI, M.; BUDNI, J.; RIBEIRO, C. M. *et al.* Involvement of different types of potassium channels in the antidepressant-like effect of ascorbic acid in the mouse tail suspension test. **Eur J Pharmacol**, v. 687, n. 1-3, p. 21-7, 2012b.
- MORETTI, M.; COLLA, A.; DE OLIVEIRA BALEN, G. *et al.* Ascorbic acid treatment, similarly to fluoxetine, reverses depressive-like behavior and brain oxidative damage induced by chronic unpredictable stress. **J Psychiatr Res**, v. 46, n. 3, p. 331-40, 2012c.
- MORETTI, M.; FREITAS, A. E.; BUDNI, J. *et al.* Involvement of nitric oxide-cGMP pathway in the antidepressant-like effect of ascorbic acid in the tail suspension test. **Behav Brain Res**, v. 225, n. 1, p. 328-33, 2011.
- MOSDOL, A.; ERENS, B.; BRUNNER, E.J. Estimated prevalence and predictors of vitamin C deficiency within UK's low-income population. **J Public Health (Oxf)**, v. 30, n. 4, p. 456-60, 2008.
- MUNHOZ, T.N.; NUNES, B.P.; WEHRMEISTER, F.C.; SANTOS, I.S.; MATIJASEVICH, A. A nationwide population-based study of depression in Brazil. **J Affect Disord**, v. 192, p. 226-233, 2016.
- MUSSELMANN, K.; KANE, B.; ALEXANDROU, B. *et al.* Stimulation of collagen synthesis by insulin and proteoglycan accumulation by ascorbate in bovine keratocytes in vitro. **Invest Ophthalmol Vis Sci**, v. 47, n. 12, p. 5260-6, 2006.
- NASEER, M. I.; ULLAH, N.; ULLAH, I. *et al.* Vitamin C protects against ethanol and PTZ-induced apoptotic neurodegeneration in prenatal rat hippocampal neurons. **Synapse**, v. 65, n. 7, p. 562-71, 2011.

- NAUSER, T.; KOPPENOL, W.H.; SCHÖNEICH, C. Protein thiy radical reactions and product formation: a kinetic simulation. **Free Radic. Biol. Med**, v. 80, p. 158–163, 2015.
- NEMEROFF, C.B. The burden of severe depression: a review of diagnostic challenges and treatment alternatives. **J Psychiatr Res**, v. 41, n. 3-4, p. 189-206, 2007.
- NEMEROFF, C.B.; OWENS, M.J. Treatment of mood disorders. **Nat Neurosci**, v. 5, n. suppl, p. 1068-70, 2002.
- NESTLER, E. J.; BARROT, M.; DILEONE, R. J. *et al.* Neurobiology of depression. **Neuron**, v. 34, n. 1, p. 13-25, 2002.
- NEUMANN, I. D.; SLATTERY, D. A. Oxytocin in General Anxiety and Social Fear: A Translational Approach. **Biol Psychiatry**, 2015.
- NG, F.; BERK, M.; DEAN, O. *et al.* Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 11, n. 6, p. 851-76, 2008.
- NGUYEN, R. T.; COWLEY, D. M.; MUIR, J. B. Scurvy: a cutaneous clinical diagnosis. **Australas J Dermatol**, v. 44, n. 1, p. 48-51, 2003.
- NIH. **Prevalence of any anxiety disorder**. [citado em 2015, oct]. Disponível em: <http://www.nimh.nih.gov/health/topics/anxiety-disorders/index.shtml>.
- NIKNAZAR, S.; NAHAVANDI, A.; PEYVANDI, A.A. *et al.* Comparison of the Adulthood Chronic Stress Effect on Hippocampal BDNF Signaling in Male and Female Rats. **Mol Neurobiol**, 2015.
- NIN, M.S.; CALETTI, G.; SCHNEIDER JR, R.; GOMEZ, R. Ansiedade. *In*: FUNCHAL, C.; DANI, C. **Neurociências: Modelos experimentais em animais**. Editora Metodista IPA; EDIPUCRS: Porto Alegre, 2014. p. 118.

- NORRIS, H. The action of sedatives on brain stem oculomotor systems in man. **Neuropharmacology**, v. 10, p. 181–191, 1971.
- NUTT, D. J.; MALIZIA, A. L. Structural and functional brain changes in posttraumatic stress disorder. **J Clin Psychiatry**, v. 65 Suppl 1, p. 11-7, 2004.
- OH, D. H.; PARK, Y. C.; KIM, S. H. Increased glycogen synthase kinase-3beta mRNA level in the hippocampus of patients with major depression: a study using the stanley neuropathology consortium integrative database. **Psychiatry Investig**, v. 7, n. 3, p. 202-7, 2010.
- OLESEN, J.; GUSTAVSSON, A.; SVENSSON, M. *et al.* The economic cost of brain disorders in Europe. **Eur J Neurol**, v. 19, n. 1, p. 155-62, 2012.
- OREOPOULOS, D.G.; LINDEMAN, R.D.; VANDERJAGT, D.J.; TZAMALOUKAS, A.H.; BHAGAVAN, H.N.; GARRY, P.J. Renal excretion of ascorbic acid: effect of age and sex. **J. Am. Coll. Nutr**, v. 12, p. 537–542, 1993.
- ORTEGA, R.M.; LOPEZ-SOBALER, A.M.; MARTINEZ, R.M.; ANDRES, P.; QUINTAS, M.E. Influence of smoking on vitamin E status during the third trimester of pregnancy and on breast-milk tocopherol concentrations in Spanish women. **Am J Clin Nutr**, v. 68, n. 3, p. 662-7, 1998.
- OZCAN, M. E.; GULEC, M.; OZEROL, E. *et al.* Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. **Int Clin Psychopharmacol**, v. 19, n. 2, p. 89-95, 2004.
- OZDEMIR, E.; CETINKAYA, S.; ERSAN, S. *et al.* . Serum selenium and plasma malondialdehyde levels and antioxidant enzyme activities in patients with obsessive-compulsive disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 33, n. 1, p. 62-5, 2009.

- PADH, H. Vitamin C: newer insights into its biochemical functions. **Nutr Rev**, v. 49, n. 3, p. 65-70, 1991.
- PASTORE, A.; FEDERICI, G.; BERTINI, E. *et al.* . Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. **Clin Chim Acta**, v. 333, n. 1, p. 19-39, 2003.
- PATAK, P.; WILLENBERG, H.S.; BORNSTEIN, S.R. Vitamin C is an important cofactor for both adrenal cortex and adrenal medulla. **Endocrine Res**, v.30, n. 4, p. 871-5, 2004.
- PATE, S.K.; LUKERT, B.P.; KIPP, D.E. Tissue vitamin C levels of guinea pig offspring are influenced by maternal vitamin C intake during pregnancy. **J Nutr Biochem**, v. 7, p. 524-8, 1996.
- PATERSON, I. A.; HERTZ, L. Sodium-independent transport of noradrenaline in mouse and rat astrocytes in primary culture. **J Neurosci Res**, v. 23, n. 1, p. 71-7, 1989.
- PERUSINI, J.N.; FANSELOW, M.S. Neurobehavioral perspectives on the distinction between fear and anxiety. **Learn. Mem. Cold Spring Harb**, v. 22, p. 417-425, 2015.
- PETERKOFISKY, B. Ascorbate requirement for hydroxylation and secretion of procollagen: relationship to inhibition of collagen synthesis in scurvy. **Am J Clin Nutr**, v. 54, n. 6 Suppl, p. 1135S-1140S, 1991.
- PHILLIS, J. W. Acetylcholine release from the central nervous system: a 50-year retrospective. **Crit Rev Neurobiol**, v. 17, n. 3-4, p. 161-217, 2005.
- PICCIOTTO, M. R.; HIGLEY, M. J.; MINEUR, Y. S. Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. **Neuron**, v. 76, n. 1, p. 116-29, 2012.
- PIERCE; R.C.; ROWLETT, J.K.; REBEC, G.V.; BARDO, M.T. Ascorbate potentiates amphetamine-induced conditioned place

- preference and forebrain dopamine release in rats. **Brain Res**, v. 688, n.1-2, p. 21-6, 1995.
- PIWOWARSKA, J.; CHIMIAK, A.; MATSUMOTO, H. *et al.* Serum cortisol concentration in patients with major depression after treatment with fluoxetine. **Psychiatry Res**, v. 198, n. 3, p. 407-11, 2012.
- PLATT, S.R. The role of glutamate in central nervous system health and disease--a review. **Vet J**, v. 17, n. 2, p. 278-86, 2007.
- POHANKA, M. Acetylcholinesterase inhibitors: a patent review (2008 - present). **Expert Opin Ther Pat**, v. 22, n. 8, p. 871-86, 2012.
- PRICE, R. B.; NOCK, M. K.; CHARNEY, D. S. *et al.* Effects of intravenous ketamine on explicit and implicit measures of suicidality in treatment-resistant depression. **Biol Psychiatry**, v. 66, n. 5, p. 522-6, 2009.
- PRINS, J.; OLIVIER, B.; KORTE, S. M. Triple reuptake inhibitors for treating subtypes of major depressive disorder: the monoamine hypothesis revisited. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 20, n. 8, p. 1107-30, 2011.
- PROHAN, M.; AMANI, R.; NEMATPOUR, S. *et al.* Total antioxidant capacity of diet and serum, dietary antioxidant vitamins intake, and serum hs-CRP levels in relation to depression scales in university male students. **Redox Rep**, v. 19, n. 3, p. 133-9, 2014.
- PUTY, B.; MAXIMINO, C.; BRASIL, A. *et al.* Ascorbic acid protects against anxiogenic-like effect induced by methylmercury in zebrafish: action on the serotonergic system. **Zebrafish**, v. 11, n. 4, p. 365-70, 2014.
- RATANASIRIPONG, P.; SVERDUK, K.; HAYASHINO, D.; PRINCE, J. Setting up the next generation biofeedback program for stress and anxiety management for college students: a simple and cost-effective approach. **Coll Stud J**, v. 44, n. 1, p. 97-100, 2010.

- RAUCH, S. L.; SHIN, L. M.; PHELPS, E. A. Neurocircuitry models of posttraumatic stress disorder and extinction: human neuroimaging research--past, present, and future. **Biol Psychiatry**, v. 60, n. 4, p. 376-82, 2006.
- RAUCH, S. L.; SHIN, L. M.; WRIGHT, C. I. Neuroimaging studies of amygdala function in anxiety disorders. **Ann N Y Acad Sci**, v. 985, p. 389-410, 2003.
- REBEC, G.V. Dysregulation of Corticostriatal Ascorbate Release and Glutamate Uptake in Transgenic Models of Huntington's Disease. **Antioxid. Redox Signal**, v. 19, p. 2115–2128, 2013.
- REBEC, G. V.; PIERCE, R. C. A vitamin as neuromodulator: ascorbate release into the extracellular fluid of the brain regulates dopaminergic and glutamatergic transmission. **Prog Neurobiol**, v. 43, n. 6, p. 537-65, 1994.
- REISS, S. Trait anxiety: it's not what you think it is. **J. Anxiety Disord**, v.11, p. 201–214, 1997.
- RESSLER, K. J.; NEMEROFF, C. B. Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. **Depress Anxiety**, v. 12 Suppl 1, p. 2-19, 2000.
- REVETT, T.J.; BAKER, G.B.; JHAMANDAS, J.; KAR, S. Glutamate system, amyloid  $\beta$  peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. **J Psychiatry Neurosci**, v.38, n.1, p. 6-23, 2013.
- RIBEIRO, F.M.; HAMILTON, A.; DORIA, J.G.; GUIMARAES, I.M.; CREGAN, S.P.; FERGUSON, S.S.G. Metabotropic glutamate receptor 5 as a potential therapeutic target in Huntington's disease. **Expert Opin Ther Targets**, v.18, n. 11, p. 1293-1304, 2014.
- RICE, M. E. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. **Trends Neurosci**, v. 23, n. 5, p. 209-16, 2000.

- RICE, M.E.; RUSSO-MENNA, I. Differential compartmentalization of brain ascorbate and glutathione between neurons and glia. *Neuroscience*, v. 82, p. 1213–1223, 1997.
- ROGOZ, Z.; SKUZA, G.; MAJ, J. *et al.* Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. **Neuropharmacology**, v. 42, n. 8, p. 1024-30, 2002.
- ROSA, K.A.; GADOTTI, V.M.; ROSA, A.O.; RODRIGUES, A.L.; CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R. Evidence for the involvement of glutamatergic system in the antinociceptive effect of ascorbic acid. **Neurosci Lett**, v. 381, n. 1-2, p. 185-8, 2005.
- ROY-BYRNE, P. P.; DAVIDSON, K. W.; KESSLER, R. C. *et al.* Anxiety disorders and comorbid medical illness. **Gen Hosp Psychiatry**, v. 30, n. 3, p. 208-25, 2008.
- RUDIN, C. M.; YANG, Z.; SCHUMAKER, L. M. *et al.* . Inhibition of glutathione synthesis reverses Bcl-2-mediated cisplatin resistance. **Cancer Res**, v. 63, n. 2, p. 312-8, 2003.
- RYDZIK, A.M.; CHOWDHURY, R.; KOCHAN, G.T.; WILLIAMS, S.T.; MCDONOUGH, M.A.; KAWAMURA, A.; SCHOFIELD, C.J. Modulating carnitine levels by targeting its biosynthesis pathway – selective inhibition of  $\gamma$ -butyrobetaine hydroxylase. **Chem. Sci. R. Soc. Chem**, v. 2010, n. 5, p. 1765–1771, 2014.
- SAHRAIAN, A.; GHANIZADEH, A.; KAZEMEINI, F. Vitamin C as an adjuvant for treating major depressive disorder and suicidal behavior, a randomized placebo-controlled clinical trial. **Trials**, v. 16, p. 94, 2015.
- SANACORA, G.; ZARATE, C.A.; KRYSTAL, J.H. *et al.* Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. **Nat Rev Drug Discov**, v. 7, n. 5, p. 426-37, 2008.
- SANACORA, G.; TRECCANI, G.; POPOLI, M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of

neuropsychopharmacology for mood disorders. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 63-77, 2012.

SATO, H.; TAKAHASHI, T.; SUMITANI, K. *et al.* Glucocorticoid Generates ROS to Induce Oxidative Injury in the Hippocampus, Leading to Impairment of Cognitive Function of Rats. **J Clin Biochem Nutr**, v. 47, n. 3, p. 224-32, 2010.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **Am J Psychiatry**, v. 122, n. 5, p. 509-22, 1965.

SCHJOLDAGER, J. G.; TVEDEN-NYBORG, P.; LYKKESFELDT, J. Prolonged maternal vitamin C deficiency overrides preferential fetal ascorbate transport but does not influence perinatal survival in guinea pigs. **Br J Nutr**, v. 110, n. 9, p. 1573-9, 2013.

SCHOFIELD, C. J.; RATCLIFFE, P. J. Oxygen sensing by HIF hydroxylases. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 5, n. 5, p. 343-54, 2004.

SCHULZE, T. G.; MULLER, D. J.; KRAUSS, H. *et al.* Association between a functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter and major depressive disorder. **Am J Med Genet**, v. 96, n. 6, p. 801-3, 2000.

SCHUMACHER, J.; JAMRA, R. A.; BECKER, T. *et al.* Evidence for a relationship between genetic variants at the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) locus and major depression. **Biol Psychiatry**, v. 58, n. 4, p. 307-14, 2005.

SEITZ, G.; GEBHARDT, S.; BECK, J.F.; BOHM, W.; LODE, H.N.; NIETHAMMER, D., *et al.* Ascorbic acid stimulates DOPA synthesis and tyrosine hydroxylase gene expression in the human neuroblastoma cell line SK-N-SH. **Neurosci Lett**, v. 244, n. 1, p. 33-6, 1998.

SENA, J.D.W.; LOWE, P.A.; LEE, S.W. Significant predictors of test anxiety among students with and without learning disabilities. **J Learn Disab**, v. 40, n. 4, p. 360-376, 2007.

- SEO, J. S.; PARK, J. Y.; CHOI, J. *et al.* . NADPH oxidase mediates depressive behavior induced by chronic stress in mice. **J Neurosci**, v. 32, n. 28, p. 9690-9, 2012.
- SHIN, D. M.; AHN, J. I.; LEE, K. H. *et al.* . Ascorbic acid responsive genes during neuronal differentiation of embryonic stem cells. **Neuroreport**, v. 15, n. 12, p. 1959-63, 2004.
- SHIN, L. M.; HANDWERGER, K. Is posttraumatic stress disorder a stress-induced fear circuitry disorder? **J Trauma Stress**, v. 22, n. 5, p. 409-15, 2009.
- SIEGRIST, J.; LUNAU, T.; WAHRENDORF, M. *et al.* Depressive symptoms and psychosocial stress at work among older employees in three continents. **Global Health**, v. 8, p. 27, 2012.
- SMELAND, O. B.; MEISINGSET, T. W.; BORGES, K. *et al.* Chronic acetyl-L-carnitine alters brain energy metabolism and increases noradrenaline and serotonin content in healthy mice. **Neurochem Int**, v. 61, n. 1, p. 100-7, 2012.
- SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase - new roles for an old actor. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, n. 4, p. 294-302, 2001.
- SOTIRIOU, S.; GISPERT, S.; CHENG, J. *et al.* Ascorbic-acid transporter Slc23a1 is essential for vitamin C transport into the brain and for perinatal survival. **Nat Med**, v. 8, n. 5, p. 514-7, 2002.
- SPIELBERGER, C.D.; GORSUCH, R.I.; LUSHENE, R.E. **Manual for the State-trait Anxiety Inventory**. Consulting Psychologists Press, Palo Alto, CA, 1970.
- STARCEVIC, V. The reappraisal of benzodiazepines in the treatment of anxiety and related disorders. **Expert Rev. Neurother**, v. 14, p. 1275-1286, 2014.

- STEINERT, J. R.; CHERNOVA, T.; FORSYTHE, I. D. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. **Neuroscientist**, v. 16, n. 4, p. 435-52, 2010.
- STOGER, H.; WILDERS-TRUSCHNIG, M.; SCHMID, M. *et al.* [Scurvy after a suicide attempt by starvation]. **Dtsch Med Wochenschr**, v. 119, n. 16, p. 589-92, 1994.
- STRIJBOS, P. J.; LEACH, M. J.; GARTHWAITE, J. Vicious cycle involving Na<sup>+</sup> channels, glutamate release, and NMDA receptors mediates delayed neurodegeneration through nitric oxide formation. **J Neurosci**, v. 16, n. 16, p. 5004-13, 1996.
- TAGLIARI, B.; NOSCHANG, C. G.; FERREIRA, A. G. *et al.* Chronic variable stress impairs energy metabolism in prefrontal cortex and hippocampus of rats: prevention by chronic antioxidant treatment. **Metab Brain Dis**, v. 25, n. 2, p. 169-76, 2010.
- TAYLOR, C.; FRICKER, A. D.; DEVI, L. A. *et al.* Mechanisms of action of antidepressants: from neurotransmitter systems to signaling pathways. **Cell Signal**, v. 17, n. 5, p. 549-57, 2005.
- TENG, C. T.; HUMES, E. C.; DEMETRIO, F.N. Depression and medical comorbidity. **Rev psiquiatr clín**, v. 32, n. 3, 2005.
- TEZCAN, E.; ATMACA, M.; KULOGLU, M. *et al.* Free radicals in patients with post-traumatic stress disorder. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, v. 253, n. 2, p. 89-91, 2003.
- TIERNEY, J. G. Treatment-resistant depression: managed care considerations. **J Manag Care Pharm**, v. 13, n. 6 Suppl A, p. S2-7, 2007.
- TOOHEY, J.I. Dehydroascorbic acid as an anti-cancer agent. **Cancer Lett**, v. 263, n. 2, p. 164-9, 2008.
- TOVOTE, P.; FADOK, J.P.; LÜTHI, A. Neuronal circuits for fear and anxiety. **Nat. Rev. Neurosci**, v. 16, p. 317–331, p. 2015.

- TSALUCHIDU, S.; COCCHI, M.; TONELLO, L. *et al.* Fatty acids and oxidative stress in psychiatric disorders. **BMC Psychiatry**, v. 8 Suppl 1, p. S5, 2008.
- TRABER, M.G. Vitamin E regulatory mechanisms. **Annu. Rev. Nutr**, v. 27, p. 347–362, 2007.
- TSUBOI, H.; SHIMOI, K.; KINAE, N. *et al.* Depressive symptoms are independently correlated with lipid peroxidation in a female population: comparison with vitamins and carotenoids. **J Psychosom Res**, v. 56, n. 1, p. 53-8, 2004.
- TVEDEN-NYBORG, P.; JOHANSEN, L. K.; RAIDA, Z. *et al.* Vitamin C deficiency in early postnatal life impairs spatial memory and reduces the number of hippocampal neurons in guinea pigs. **Am J Clin Nutr**, v. 90, n. 3, p. 540-6, 2009.
- TVEDEN-NYBORG, P.; VOGT, L.; SCHJOLDAGER, J. G. *et al.* Maternal vitamin C deficiency during pregnancy persistently impairs hippocampal neurogenesis in offspring of guinea pigs. **PLoS One**, v. 7, n. 10, p. e48488, 2012.
- TYMIANSKI, M.; CHARLTON, M. P.; CARLEN, P. L. *et al.* Source specificity of early calcium neurotoxicity in cultured embryonic spinal neurons. **J Neurosci**, v. 13, n. 5, p. 2085-104, 1993.
- UDINA, M.; CASTELLVI, P.; MORENO-ESPANA, J. *et al.* Interferon-induced depression in chronic hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. **J Clin Psychiatry**, v. 73, n. 8, p. 1128-38, 2012.
- UZUN, S.; KOZUMPLIK, O.; JAKOVLJEVIĆ, M.; SEDIĆ, B. Side effects of treatment with benzodiazepines. **Psychiatr. Danub**, v. 22, p. 90–93, 2010.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J. *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

- VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 24, n. 1, p. 125-32, 2000.
- VAN AMSTERDAM, J. G.; OPPERHUIZEN, A. Nitric oxide and biopterin in depression and stress. **Psychiatry Res**, v. 85, n. 1, p. 33-8, 1999.
- VERHAMME, C.; DE HAAN, R.J.; VERMEULEN, M.; BAAS, F.; DE VISSER, M.; VAN SCHAİK, I.N. Oral high dose ascorbic acid treatment for one year in young CMT1A patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase II trial. **BMC Med**, v. 7, p. 70, 2009.
- VIANA, M.C.; ANDRADE, L.H. Lifetime Prevalence, age and gender distribution and age-of-onset of psychiatric disorders in the São Paulo Metropolitan Area, Brazil: results from the São Paulo Megacity Mental Health Survey. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 34, p. 249-260, 2012.
- VIGNEAU, F.; CORMIER, S. The factor structure of the State-Trait Anxiety Inventory: an alternative view. **J. Pers. Assess.**, v. 90, p. 280-285, 2008.
- VITASARI, P.; WAHAB, M.N.A.; HERAWAN, T.; OTHMAN, A.; SINNADURAI, S.K. A pilot study of pre- post anxiety treatment to improve academic performance for engineering students. **Proc Soc Behav Sci**, v. 15, p. 3826-3830, 2011.
- VREEBURG, S. A.; ZITMAN, F. G.; VAN PELT, J. *et al.* Salivary cortisol levels in persons with and without different anxiety disorders. **Psychosom Med**, v. 72, n. 4, p. 340-7, 2010.
- WANG, Y.; LIU, X. J.; ROBITAILLE, L. *et al.* Effects of vitamin C and vitamin D administration on mood and distress in acutely hospitalized patients. **Am J Clin Nutr**, v. 98, n. 3, p. 705-11, 2013.

- WARD, M.S.; LAMB, J.; MAY, J.M.; HARRISON, F.E. Behavioral and monoamine changes following severe vitamin C deficiency. **J Neurochem**, v. 124, n. 3, p. 363-75, 2013.
- WEDZONY, K.; MACKOWIAK, M.; CZYRAK, A. *et al.* Single doses of MK-801, a non-competitive antagonist of NMDA receptors, increase the number of 5-HT1A serotonin receptors in the rat brain. **Brain Res**, v. 756, n. 1-2, p. 84-91, 1997.
- WHITFIELD, A.C.; MOORE, B.T.; DANIELS, R.N. Classics in Chemical Neuroscience: Levodopa. **ACS Chem. Neurosci**, v. 5, p. 1192-1197, 2014.
- WHO, W.H.O. Depression: Fact sheet n369 [citado em 2015, oct]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>
- WILSON, J. X. Regulation of vitamin C transport. **Annu Rev Nutr**, v. 25, p. 105-25, 2005.
- WINTERGERST, E.S.; MAGGINI, S.; HORNIG, D.H. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. **Ann Nutr Metab**, v. 50, n. 2, p. 85-94, 2006.
- WONG, M. L.; LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, n. 5, p. 343-51, 2001.
- WRIEDEN, W.L.; HANNAH, M.K.; BOLTON-SMITH, C.; TAVENDALE, R.; MORRISON, C.; TUNSTALL-PEDOE, H. Plasma vitamin C and food choice in the third Glasgow MONICA population survey. **J Epidemiol Community Health**, v.54, n. 5, p. 355-60, 2000.
- WU, G.; MORRIS, S. M., JR. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochem J**, v. 336, p. 1-17, 1998.
- XU, P.; GU, R.; BROSTER, L.S.; WU, R.; VAN DAM, N.T.; JIANG, Y.; FAN, J.; LUO, Y. Neural basis of emotional decision making in

trait anxiety. **J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci**, v. 33, p.18641–18653, 2013.

YUSA, T. Increased extracellular ascorbate release reflects glutamate re-uptake during the early stage of reperfusion after forebrain ischemia in rats. **Brain Res**, v. 897, n. 1-2, p. 104-13, 2001.

ZARATE, C. A., JR.; SINGH, J. B.; CARLSON, P. J. *et al.* A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 63, n. 8, p. 856-64, 2006.

ZHANG, M.; ROBITAILLE, L.; EINTRACHT, S. *et al.* Vitamin C provision improves mood in acutely hospitalized patients. **Nutrition**, v. 27, n. 5, p. 530-3, 2011.

ZHANG, X.; GAINETDINOV, R. R.; BEAULIEU, J. M. *et al.* Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. **Neuron**, v. 45, n. 1, p. 11-6, 2005.

ZHAO, Y.; MA, R.; SHEN, J. *et al.* A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections. **Eur J Pharmacol**, v. 581, n. 1-2, p. 113-20, 2008.

ZIATS, M.N., COMEAUX, M.S., YANG, Y., SCAGLIA, F., ELSEA, S.H., SUN, Q., BEAUDET, A.L., SCHAAF, C.P., 2015. Improvement of regressive autism symptoms in a child with TMLHE deficiency following carnitine supplementation. **Am. J. Med. Genet. A**, v. 167, p. 2162–2167, 2015.

ZIMMERMAN, M.; MCDERMUT, W.; MATTIA, J. I. Frequency of anxiety disorders in psychiatric outpatients with major depressive disorder. **Am J Psychiatry**, v. 157, n. 8, p. 1337-40, 2000.

ZIVIN, K.; EISENBERG, D.; GOLLUST, S.E.; GOLBERSTEIN, E. Persistence of mental health problems and needs in a college student population. **J Affect Disord**, v.117, p. 180–185, 2009.

- ZOMKOWSKI, A. D.; ENGEL, D.; CUNHA, M. P. *et al.* The role of the NMDA receptors and l-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in the antidepressant-like effect of duloxetine in the forced swimming test. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 103, n. 2, p. 408-17, 2012.
- ZUARDI, A.; KARNIOL, I.G. Estudo transcultural de uma escala de auto-avaliação para estados subjetivos. **J Bras Psiquiatr**, v. 30, p. 403-406, 1981.
- ZUARDI, A.W.; COSME, R.A.; GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. **J. Psychopharmacol. Oxf. Engl**, v. 7, p. 82-88, 1993.

**APÊNDICE A**



## ANAMNESE “Estudo do potencial efeito do ácido ascórbico sobre o humor de pessoas saudáveis”,

Nome: .....

Endereço: .....

Data de nascimento: ..... Profissão: .....

Email: .....

Data de hoje: ..... Horário de agora: .....

1) Você tem ou já teve alguma doença clínica? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, qual? (ex: hipertensão, diabetes, asma, anemia, problemas de tireoide, outros)? (Coloque a data do início e fim caso tenha desaparecido)

2) Você tem ou já teve alguma doença psiquiátrica ou neurológica? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, qual? (Ex: depressão, ansiedade, pânico, anorexia, bulimia) (Coloque a data do início e fim caso tenha desaparecido)

3) Você tem problemas de sono? ( ) Sim ( ) Não. Quantas horas você dorme, em média? ..... Quantas horas dormiu na última noite? .....

4) Está com algum problema de saúde agudo ( ) Sim ( ) Não. Se sim, qual? (Resfriado, gripe, crise de asma, diarreia, etc.) .....

5) Fuma? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, quantos cigarros por dia, em média? ..... Quando fumou a última vez? .....

6) Utilizou bebidas alcoólicas nas últimas 24 horas? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, quanto? ..... Se sim, à quantas horas? .....

7) Fez uso de outras drogas nos últimos 30 dias (maconha, cocaína, anfetaminas, outras)? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, quais? ..... Há quanto tempo? .....

8) Faz uso regular de suplementos? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, quais? ..... Se sim, há quanto tempo? .....

9) Fez uso de suplementos nas últimas 24 h? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, quais? ..... Se sim, há quanto tempo? .....

10) Horário que consumiu a última refeição. .... O que consumiu? .....

11) Você consumiu algum alimento com cafeína? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, quais (café, chá, chocolate, outros)? .....

12) Faz uso regular de algum medicamento ( ) Sim ( ) Não. Se sim, quais? ..... Há quanto tempo? .....

13) Tomou algum medicamento nas últimas 24 horas? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, quais (informe os nomes e as doses)? .....

14) Fez atividade física hoje? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, qual e por quanto tempo? .....

15) Você é atleta? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, qual(is) modalidade(s)? .....

16) Faz algum tipo de dieta? ( ) Sim ( ) Não. Se sim, qual tipo e por quanto tempo? .....

Descreva resumidamente? .....

.....

.....

.....

17) Usa anticoncepcional? ( ) Sim Não ( ) Quantos dias dura o seu ciclo menstrual, em média? ..... O ciclo é regular ( ) Sim (.) Qual é a data da última menstruação? Dia ..... Mês ..... Ano .....

18) No momento, você está passando por algum problema grave que esteja lhe causando muita preocupação? (problemas pessoais familiares graves, financeiros, outros)? Descreva resumidamente.

.....

19) Observações adicionais que gostaria de relatar: .....

.....

.....

**APÊNDICE B**



## IDATE PARTE I

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

Instruções: A seguir serão dadas algumas afirmações que têm sido usadas para descrever os sentimentos pessoais. Leia cada uma e faça um círculo ao redor do número, a direita da afirmação, que melhor indicar como você se sente agora, "neste momento". Não há respostas certas ou erradas, não gaste muito tempo numa única afirmação, mas tente dar uma resposta que mais se aproxime de como você se sente "neste momento".

	ABSOLUTAMENTE NÃO	UM POUCO	BASTANTE	MUITÍSSIMO
1. Sinto-me calmo (a)	1	2	3	4
2. Sinto-me seguro (a)	1	2	3	4
3. Estou tenso (a)	1	2	3	4
4. Estou arrependido (a)	1	2	3	4
5. Sinto-me a vontade	1	2	3	4
6. Sinto-me perturbado (a)	1	2	3	4
7. Estou preocupado com possíveis infortúnios	1	2	3	4
8. Sinto-me descansado (a)	1	2	3	4
9. Sinto-me ansioso (a)	1	2	3	4
10. Sinto-me "em casa" (a)	1	2	3	4
11. Sinto-me confiante (a)	1	2	3	4
12. Sinto-me nervoso (a)	1	2	3	4
13. Estou agitado (a)	1	2	3	4
14. Sinto-me uma pilha de nervos	1	2	3	4
15. Estou descontraindo (a)	1	2	3	4
16. Sinto-me satisfeito (a)	1	2	3	4
17. Estou preocupado (a)	1	2	3	4
18. Sinto-me super excitado e confuso (a)	1	2	3	4
19. Sinto-me alegre	1	2	3	4
20. Sinto-me bem	1	2	3	4

## IDATE PARTE II

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

Instruções: A seguir serão dadas algumas afirmações que têm sido usadas para descrever os sentimentos pessoais. Leia cada uma e faça um círculo ao redor do número, a direita da afirmação, que melhor indicar como você geralmente se sente. Não há respostas certas ou erradas, não gaste muito tempo numa única afirmação, mas tente dar uma resposta que mais se aproxime de como você geralmente se sente.

	ABSOLUTAMENTE NÃO	UM POUCO	BASTANTE	MUITÍSSIMO
1. Sinto-me bem	1	2	3	4
2. Canso-me facilmente	1	2	3	4
3. Tenho vontade de chorar	1	2	3	4
4. Gostaria de poder ser tão feliz quanto os outros parecem ser	1	2	3	4
5. Perco oportunidades porque não consigo tomar decisões rapidamente	1	2	3	4
6. Sinto-me descansado (a)	1	2	3	4
7. Sou calmo (a), ponderado (a) e senhor de mim mesmo (a)	1	2	3	4
8. Sinto que as dificuldades estão se acumulando de tal forma que não consigo resolver	1	2	3	4
9. Preocupo-me demais com as coisas sem importância	1	2	3	4
10. Sou feliz	1	2	3	4
11. Deixo-me afetar pela coisas	1	2	3	4
12. Não tenho confiança em mim mesmo (a)	1	2	3	4
13. Sinto-me seguro (a)	1	2	3	4
14. Evito ter que enfrentar crises ou problemas	1	2	3	4
15. Sinto-me deprimido (a)	1	2	3	4
16. Estou satisfeito (a)	1	2	3	4
17. As vezes ideias sem importância me entram na cabeça e ficam me preocupando	1	2	3	4
18. Levo os desapontamentos tão a sério que não consigo tira -los da cabeça	1	2	3	4
19. Sou uma pessoa estável	1	2	3	4
20. Fico tenso e perturbado (a) quando penso em meus problemas no momento	1	2	3	4

**APÊNDICE C**



VAMS

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

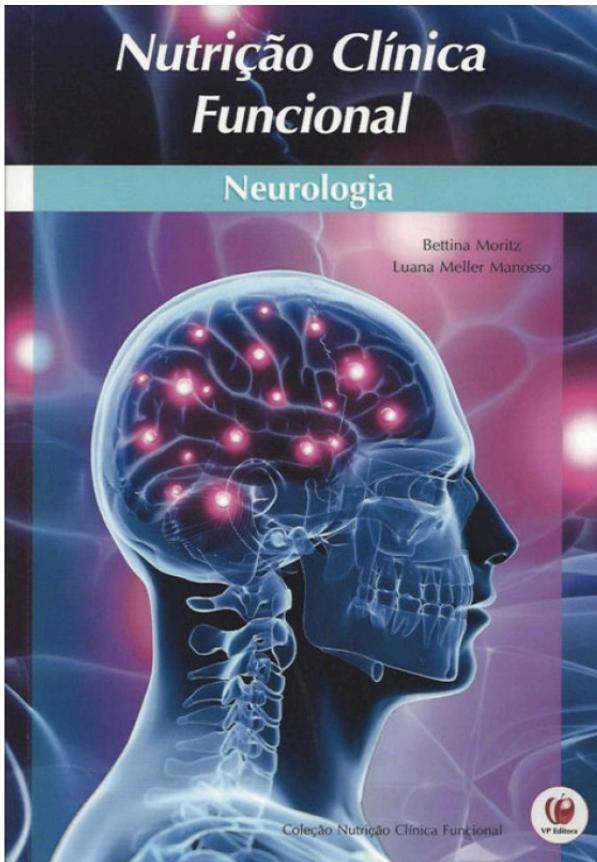
Instruções: Avalie como você se sente agora em relação aos itens abaixo e marque cada linha com um traço vertical no ponto que melhor descreve seus sentimentos. O centro de cada linha indica como você habitualmente se encontra e as extremidades indicam o máximo de cada condição.

ALERTA	_____	SONOLENTO
CALMO	_____	AGITADO
FORTE	_____	FRACO
CONFUSO	_____	COM IDEIAS CLARAS
ÁGIL	_____	DESAJEITADO
APÁTICO	_____	DINÂMICO
SATISFEITO	_____	INSATISFEITO
PREOCUPADO	_____	TRANQUILO
RACIOCINIO	_____	PERSPICAZ
DIFÍCIL	_____	
TENSO	_____	RELAXADO
ATENTO	_____	DISTRAÍDO
INCAPAZ	_____	CAPAZ
ALEGRE	_____	TRISTE
HOSTIL	_____	AMISTOSO
INTERESSADO	_____	DESINTERESSA DO
RETRAÍDO	_____	SOCIÁVEL



**ANEXOS**





# Nutrição Clínica Funcional

## Neurologia

Bettina Moritz  
Luana Meller Manosso

1ª edição

Coleção Nutrição Clínica Funcional



**VP Editora**

São Paulo

2013

**Dados Técnicos**

Projeto gráfico e editorial,  
 diagramação, editoração, ilustrações:  
 Bárbara Feracim Meira  
 Capa: Leonardo Paschoal Rodrigues  
 Impressão: AR Fernandez Gráfica Ltda.  
 Revisão ortográfica: Ana Nilce Rodrigues  
 Revisão técnica: Ana Beatriz Baptistella Leme da Fonseca  
 Viviane Sant'Anna

1ª Edição - São Paulo - SP - Brasil

P279n

Moritz, Bettina  
 Nutrição Clínica Funcional: Neurologia/ Bettina Moritz, Luana Meller  
 Manosso. – São Paulo: Valéria Paschoal Editora  
 Ltda., 2013. -- (Coleção Nutrição Clínica Funcional).  
 Nº de pág.240; 24cm x 17cm.

ISBN: 978-85-60880-11-9

1. Nutrição Funcional. 2. Neurologia I. Bettina Moritz. II. Luana Meller  
 Manosso. III. Coleção Nutrição Clínica Funcional.

CDU 612.3

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte deste livro pode ser reproduzida ou utilizada por nenhuma forma ou por qualquer meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer sistema de armazenamento e recuperação, exceto por citações breves as quais devem ser atribuídas a publicação correspondente dos autores.

Lei nº 9610 de 19 de fevereiro de 1998.

## Sumário

<b>Capítulo 1 - Funcionamento do sistema nervoso central.....</b>	<b>10</b>
Dra. Luana Meller Manosso	
<b>Capítulo 2 - Estresse.....</b>	<b>35</b>
<b>2.1 Neuroendocrinologia do estresse.....</b>	<b>36</b>
Dra. Luana Meller Manosso e Dra. Bettina Moritz	
<b>2.2 Distúrbio do sono.....</b>	<b>51</b>
Dra. Fernanda Serpa	
<b>2.3 Enxaqueca.....</b>	<b>72</b>
Dra. Luana Meller Manosso	
<b>Capítulo 3 - Transtornos de ansiedade.....</b>	<b>93</b>
Dra. Morgana Moretti, Dra. Bettina Moritz e Dra. Luana Meller Manosso	
<b>Capítulo 4 - Transtornos de humor.....</b>	<b>108</b>
<b>4.1 Depressão.....</b>	<b>109</b>
Dra. Luana Meller Manosso e Dra. Bettina Moritz	
<b>4.1.1 Fisiopatologia da depressão.....</b>	<b>110</b>
Dra. Luana Meller Manosso e Dra. Bettina Moritz	
<b>4.1.2 Tratamento da depressão.....</b>	<b>132</b>
Dra. Luana Meller Manosso e Dra. Bettina Moritz	
<b>4.2 Transtorno bipolar.....</b>	<b>166</b>
Dra. Morgana Moretti, Dra. Bettina Moritz e Dra. Luana Meller Manosso	
<b>Capítulo 5 - Síndromes demenciais.....</b>	<b>181</b>
<b>5.1 Doença de Alzheimer.....</b>	<b>182</b>
Dra. Bárbara Rita Cardoso e Dra. Bettina Moritz	
<b>5.2 Doença de Parkinson.....</b>	<b>205</b>
Dra. Arianna Schmitz e Dra. Bettina Moritz	
<b>5.3 Doença de Huntington.....</b>	<b>221</b>
Dra. Bárbara Rita Cardoso e Dra. Patrícia Fonseca Teixeira	