



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Tamires Martins Marchetto

**Efeito de antidepressivos em roedores no teste do nado forçado e influência de
covariáveis: uma revisão sistemática e meta-análise**

Florianópolis

2022

Tamires Martins Marchetto

Efeito de antidepressivos em roedores no teste do nado forçado e influência de covariáveis: uma revisão sistemática e meta-análise

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cilene Lino de Oliveira

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pela autora,
através do Programa de Geração automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Martins, Tamires

Efeito de antidepressivos em roedores no teste do nado forçado e influência de covariáveis: uma revisão sistemática e meta-análise / Tamires Martins ; orientador, Cilene Lino de Oliveira, 2022.

158 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. Imobilidade. 3. Viés de publicação. 4. Qualidade interna. I. Oliveira, Cilene Lino de . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Farmacologia. III. Título.

Tamires Martins Marchetto

Efeito de antidepressivos em roedores no teste do nado forçado e influência de covariáveis: uma revisão sistemática e meta-análise

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Ana Belen Ramos Hryb, Dr.(a)

Harvard Medical School

Prof.(a) Leandro J. Bertoglio, Dr.(a)

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Karolina Domingues, Dr.(a)

Universidade de São Paulo – USP

Prof.(a) Aurea Elizabeth Linder, Dr.(a)

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof^a Cilene Lino de Oliveira, Dr^a

Orientadora

Florianópolis, 2022

Este trabalho é dedicado à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe e minha família.

A mozimozimô, por ter revisado o texto deste trabalho e por me apoiar nos momentos de ânimos e desânimos.

A minha querida Universidade Federal de Santa Catarina, por me receber novamente.

Ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia pela oportunidade e aos colegas pelas trocas. Thayná, obrigada pela parceria nessa jornada.

Àqueles que transformam como eu enxergo o mundo, os professores. Em especial a minha orientadora. Cilene, tem sido um prazer explorar o universo científico em colaboração com você.

Aos meus colegas do Laboratório de Neurobiologia do Comportamento (LabNeC) Fabiani, Fabíola, Johnny e Juliana. Por terem revisado os inúmeros dados gerados neste trabalho e pela parceria, no dia-a-dia e no levantamento de copo. A Ana, Camila e Marcus pela colaboração neste projeto.

A todos aqueles que compartilham seus conhecimentos abertamente na internet, seria injusto citar apenas alguns nomes aqui. Destaco também a contribuição indireta da comunidade R e *R-ladies*.

*“I once saw a rat drink from a can of Coke there.
Both hands.
Extraordinary.”*

- Carolyn Martens (Phoebe Waller-Bridge)

RESUMO

O teste do nado forçado (TNF) é um dos testes comportamentais utilizados para prever o efeito de compostos potencialmente antidepressivos em roedores de laboratório. A avaliação da eficácia do tratamento é feita pela mensuração do tempo em que os animais gastam com o comportamento de imobilidade. Tratamento com antidepressivos diminui o tempo em imobilidade e aumenta em atividade. Desde sua criação em 1977, foram incorporadas modificações ao teste e condições experimentais. Com o tempo, também aconteceram transformações na qualidade de estudos em animais emergindo a preocupação que o excesso de resultados positivos na literatura poderia ser resultado de vieses. Para investigar a incidência de vieses na literatura usando o TNF, planejou-se uma revisão sistemática e meta-análise (PROSPERO: CRD42020200604) para responder as seguintes perguntas: “Qual o tamanho de efeito dos antidepressivos sobre o tempo de imobilidade de roedores no TNF?”, “Como as condições experimentais e qualidade dos estudos afetam esse efeito?” e “O efeito é influenciado por viés de publicação ou outros vieses? Dessa forma, recuperou-se 14.719 publicações em quatro bases bibliográficas (Medline via Pubmed, Web of Science, Scopus e Embase via Periódicos CAPES) que, após exclusão das duplicatas, geraram uma lista de 5.137 publicações. Ao final de um processo de seleção feito por dois revisores independentes, foram incluídas em uma biblioteca 2.588 publicações. Para o presente estudo foram sorteadas aleatoriamente 200 publicações (com 561 estudos) para extração dos dados. O tamanho da amostra foi definido para obter poder analítico mínimo de 80%. Um revisor extraiu as informações sobre a referência bibliográfica, população, intervenção, desfecho, qualidade interna (ROB SYRCLE) e qualidade externa e condutas (CAMARADES adaptado), que foram conferidas por um segundo revisor. Os tamanhos de efeito das meta-análises foram estimados com o modelo de efeitos aleatórios. A heterogeneidade foi estimada com I^2 e τ^2 . O efeito de pequenos estudos foi acessado com o gráfico em funil, *Egger's regression* e *Trim and fill*. O viés de publicação foi acessado com *Weight-Function model*. A análise da influência de covariáveis e qualidade foi realizada com meta-análises estratificadas e meta-regressão. A estimativa de efeito global favoreceu o tratamento com antidepressivos, com um tamanho de efeito muito grande e estatisticamente significativo (Hedges $g = 1,66$; IC 95% [1,53; 1,79]; $k = 561$), mas com alta inconsistência ($I^2 = 81,47\%$). As estimativas de efeito foram positivas e significantes para a maioria dos subgrupos analisados. Efeito de pequenos estudos e viés de publicação parecem inflar a estimativa de efeito, principalmente no subgrupo de camundongos. Para camundongos, a qualidade e tamanho de efeito apresentaram uma relação negativa, e para ratos, a relação foi positiva. Assim, conclui-se que os antidepressivos diminuíram a duração da imobilidade de ratos e camundongos de laboratório para a maioria dos subgrupos. Além disso, por falta de informações nos artigos, o risco de viés foi incerto para os estudos, limitando um julgamento da validade interna e externa nesta literatura.

Palavras-chave: Desenho Experimental. Imobilidade. Sexo. Qualidade. Viés de publicação.

ABSTRACT

The forced swim test (FST) is one of the most used behavioral tests to predict the effect of potentially antidepressant compounds in laboratory rodents. The evaluation of the effectiveness of the treatment is made by measuring the time that animals spend with the immobility behavior. Treatment with antidepressants decreases time in immobility and increases activity. Since its standardization in 1977, modifications have been incorporated into the test and experimental conditions. Over time, changes in the quality of animal studies also took place, raising the concern that the excess of positive results in the literature could result from bias. To investigate the incidence of bias in the literature using FST, a systematic review and meta-analysis (PROSPERO: CRD42020200604) was planned, answering the following questions: “What is the effect size of antidepressants on the immobility time of rodents in FST?”, “How do experimental conditions and quality of studies affect this effect?”, and “Is the effect influenced by publication or other biases? Thus, 14,719 publications were retrieved in four bibliographic databases (Medline via Pubmed, Web of Science, Scopus, and Embase via CAPES Periodicals), which after deletion of duplicates, generated a list of 5,137 publications. At the end of a selection process by two independent reviewers, 2,588 publications were included in a library. For the present study, 200 publications (with 561 studies) were randomly selected for data extraction. The sample size was set to obtain a minimum analytical power of 80%. One reviewer extracted information on the bibliographic reference, population, intervention, outcome, internal quality (ROB SYRCLE), and external quality and conducts (adapted CAMARADES), which were checked by a second reviewer. The effect sizes of the meta-analyses were estimated with the random-effects model. Heterogeneity was estimated with I^2 and τ^2 . The effect of small studies was assessed with the funnel plot, Egger’s regression, and Trim and fill. Publication bias was assessed with the Weight-Function model. The influence of covariates and quality was analyzed with stratified meta-analyses and meta-regression. The estimation of the overall effect favored treatment with antidepressants, with a very large and statistically significant effect size (Hedges $g = 1.66$; 95% CI [1.53; 1.79]; $k = 561$), but with a high inconsistency ($I^2 = 81.47\%$). Effect estimates were positive and significant for most subgroups analyzed. The effect of small studies and publication bias appears to inflate the effect estimate, especially in the subgroup of mice. For mice, effect quality and size showed a negative relationship; for rats, the relationship was positive. Thus, it is concluded that antidepressants decreased the duration of immobility in laboratory rats and mice in most of subgroups. In addition, the risk of bias was uncertain for the studies, limiting a judgment of internal and external validity in this literature.

Keywords: Experimental Design. Immobility. Sex. Quality. Publication bias.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cálculo de poder meta-analítico.	37
Figura 2 - Ferramenta “medir” e “Google Lens” na extração dos dados.	39
Figura 3 - Exemplo de resultado da ação “Find and Highlight Words”.	44
Figura 4 - Fluxograma PRISMA da revisão sistemática. Adaptado de (PAGE et al., 2021)..	52
Figura 5 - Número de publicações da amostra distribuídas no tempo.	58
Figura 6 - Número de publicações da amostra distribuídas por país e idioma.	59
Figura 7 - Espécie e sexo dos roedores utilizados nos estudos.	60
Figura 8 - Distribuição da idade dos roedores utilizados nos estudos.	61
Figura 9 - Distribuição do peso dos roedores utilizados nos estudos.	62
Figura 10 - Linhagem dos roedores mostrada em três níveis: publicação, estudo e população.	63
Figura 11 - Modelos animais mostrados em três níveis: publicação, estudo e população.	64
Figura 12 - Condições de luz, temperatura e umidade nos biotérios de roedores de laboratório.	65
Figura 13 - Espaço de acondicionamento para os roedores.	66
Figura 14 - Classes de antidepressivos utilizadas nos estudos.	67
Figura 15 - Antidepressivos: classes, fármacos e doses administrados aos camundongos.	68
Figura 16 - Antidepressivos: classes, fármacos e doses administrados aos ratos.	69
Figura 17 - Administração dos antidepressivos nos camundongos: via, frequência e duração.	70
Figura 18 - Administração dos antidepressivos nos ratos: via, frequência e duração.	71
Figura 19 - Protocolos do teste do nado forçado aplicados nos roedores.	72
Figura 20 - Métodos de análise do teste do nado forçado aplicados nos roedores.	73
Figura 21 - Medidas do aparato e água utilizados no teste do nado forçado.	74
Figura 22 - Julgamento do risco de viés através da ferramenta ROB SYRCLE.	81
Figura 23 - Julgamento do risco de viés através da ferramenta CAMARADES.	82
Figura 24 - Diagnóstico de <i>outliers</i> e casos influentes.	87
Figura 25 - Gráficos em funil.	89
Figura 26 - Gráficos de funil com estudos faltantes.	90
Figura 27 - Gráficos de funil por espécie com estudos faltantes.	92
Figura 28 - Análise de subgrupos por característica da população (camundongos).	94

Figura 29 - Análise de subgrupos por característica da população (ratos).....	95
Figura 30 - Análise de subgrupos por característica da intervenção (camundongos).	96
Figura 31 - Análise de subgrupos por característica da intervenção (ratos).....	97
Figura 32 - Análise de subgrupos por característica do desfecho (camundongos).	98
Figura 33 - Análise de subgrupos por característica do desfecho (ratos).....	99
Figura 34 - Meta-regressão com moderadores da população.	101
Figura 35 - Meta-regressão com moderador da intervenção (dose).	102
Figura 36 - Meta-regressão com moderador do desfecho (profundidade da água).	103
Figura 37 - Meta-regressão com moderadores da publicação.	104

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estratégia de busca na base Embase (data: 18/11/2020).....	31
Quadro 2 - Critérios de Seleção.	33
Quadro 3 - Julgamento das perguntas ROB SYRCLE.....	40
Quadro 4 - Julgamento dos itens adaptados do CAMARADES.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados utilizados na definição de parâmetros para cálculo de k.....	36
Tabela 2 - Confiabilidade e concordância entre revisores na fase de seleção.....	53
Tabela 3 - Confiabilidade e concordância entre revisores na extração dos dados.	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIRS	Antagonistas e inibidores de recaptção de serotonina
CUMs	Estresse crônico moderado imprevisível
IC 95%	Intervalo de confiança em 95%
ILND	Agentes de liberação de noradrenalina-dopamina
IMAO	Inibidores da monoamina oxidase
IRN	Inibidores de recaptção da noradrenalina
IRND	Inibidores de recaptção de noradrenalina-dopamina
IRSN	Inibidores de recaptção de serotonina e noradrenalina
ISRS	Inibidores seletivos de recaptção de serotonina
OSF	Open Science Framework
TCA	Antidepressivos tricíclicos
TeCA	Antidepressivos tetracíclicos
TEG	Tamanho de efeito global
TNF	Teste do nado forçado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	OS ANTIDEPRESSIVOS	17
1.2	O TESTE DO NADO FORÇADO	21
1.3	A QUALIDADE DOS ESTUDOS NÃO CLÍNICOS EM ANIMAIS.....	24
1.4	O VIÉS DE PUBLICAÇÃO.....	25
1.5	OBJETIVOS	28
1.5.1	Objetivo Geral.....	28
1.5.2	Objetivos Específicos	28
2	METODOLOGIA.....	29
2.1	ESTRATÉGIA DE AÇÃO	29
2.2	PROTOCOLO	29
2.3	CRITÉRIO DE ELEGIBILIDADE	30
2.4	BUSCA	31
2.5	SELEÇÃO	32
2.6	CÁLCULO DE PODER E AMOSTRAGEM	35
2.7	EXTRAÇÃO DE DADOS	38
2.8	AVALIAÇÃO DE RISCO DE VIÉS (QUALIDADE).....	39
2.8.1	Qualidade interna (ROB SYRCLE)	40
2.8.2	Qualidade externa e condutas (CAMARADES adaptado).....	42
2.9	DESTAQUE DE PALAVRAS-ALVO NAS PUBLICAÇÕES.....	43
2.10	SÍNTESE DOS DADOS E TRATAMENTO ESTATÍSTICO	45
2.10.1	Medida de efeito.....	45
2.10.2	Medida de efeito global	46
2.10.3	Heterogeneidade	47
2.10.4	Análise de <i>outliers</i> e casos influentes.....	47

2.10.5	Análise de viés de publicação	48
2.10.6	Análise de subgrupos e meta-regressão	49
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
3.1	BUSCA E SELEÇÃO	51
3.1.1	Concordância entre os revisores no processo de seleção	53
3.1.2	Discussão sobre a busca e seleção	53
3.2	DESCRIÇÃO DA AMOSTRA	56
3.2.1	Extração dos dados: concordância	56
3.2.2	Características da amostra	57
3.2.2.1	<i>Sobre as publicações</i>	57
3.2.2.2	<i>Sobre a População</i>	59
3.2.2.3	<i>Sobre a Intervenção</i>	66
3.2.2.4	<i>Sobre o desfecho</i>	71
3.2.3	Discussão sobre a descrição da amostra	75
3.2.4	Sobre as qualidades	80
3.2.4.1	<i>Qualidade interna (ROB SYRCLE)</i>	80
3.2.4.2	<i>Qualidade externa e condutas (CAMARADES adaptado)</i>	81
3.2.5	Discussão sobre as validades interna e externa dos estudos	83
3.3	META-ANÁLISE	86
3.3.1	Tamanho de efeito global	86
3.3.2	Análise de <i>outliers</i> e casos influentes	86
3.3.3	Análise de viés de publicação	88
3.3.3.1	<i>Análise de viés de publicação por espécie</i>	91
3.3.4	Análise de subgrupos	93
3.3.5	Análise de moderadores por meta-regressão	100
3.3.6	Discussão sobre a meta-análise	105
4	CONCLUSÃO	111

Perspectivas	112
REFERÊNCIAS.....	113
APÊNDICE A – META-ANÁLISE EM REDE.....	126
APÊNDICE B – PUBLICAÇÕES INCLUÍDAS NA REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE	141

1 INTRODUÇÃO

1.1 OS ANTIDEPRESSIVOS

O tratamento farmacológico para a depressão não era possível até a metade do século passado. A descoberta de fármacos antidepressivos não só possibilitou o tratamento da doença e o entendimento da psicopatologia (PLETSCHER, 1991), como também melhorou o manejo clínico de outras condições a exemplo a dor crônica, ansiedade, enxaqueca e adicção (SCHNEIDER; PATTERSON; JIMENEZ, 2019; SKÅNLAND; CIEŚLAR-POBUDA, 2019). A depressão acomete 5,8% dos brasileiros e aproximadamente 322 milhões de pessoas no mundo, majoritariamente mulheres (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Entre 2005 e 2015 a estimativa do número de pessoas com depressão aumentou em 18,4% (VOS et al., 2016), acompanhado do aumento no consumo de fármacos antidepressivos.

Os primeiros fármacos antidepressivos foram descobertos por acaso durante estudos sobre a aplicação clínica de moléculas antituberculosas e anti-histamínicas modificadas, respectivamente, iproniazida e imipramina (KUHN, 1957; PLETSCHER, 1991; ZELLER; BARKSKY; BERMAN, 1955). Com os conhecimentos obtidos sobre os mecanismos de ação dos fármacos pioneiros aliados a evidência que a depressão causada pela reserpina (um anti-hipertensivo) em humanos ocorria via depleção de monoaminas (ROBINSON, 2018), foi elaborada a teoria monoaminérgica da depressão. Segundo essa teoria, os níveis dos neurotransmissores monoaminérgicos (serotonina, dopamina e noradrenalina) estariam diminuídos no indivíduo depressivo e seriam recuperados pelo tratamento com antidepressivos (SCHILDKRAUT; KETY, 1967). A teoria das monoaminas também explicaria a eficácia de uma variedade de classes antidepressivas que existem hoje. As classes de fármacos mais antigas e as mais modernas, com efeitos adversos mais brandos -e.g. os inibidores de recaptção-, têm como um resultado final comum o aumento das monoaminas disponíveis no meio extracelular. Aumento da disponibilidade de monoaminas na fenda sináptica facilita a interação com os receptores alvo, e por consequência aumenta as transmissões monoaminérgicas (LIEBERMAN, 2003; SCHILDKRAUT; KETY, 1967; SLATTERY; HUDSON; NUTT, 2004).

Uma das primeiras classes de antidepressivos, os inibidores da monoaminas oxidase (IMAOs) atuam inibindo a enzima monoamina oxidase (MAO). Existem duas isoformas de MAO, a MAO-A e MAO-B, encontradas em células do trato gastrointestinal, fígado, plaquetas e sistema nervoso (EDMONDSON; BINDA, 2018). A degradação das monoaminas é regulada

principalmente pela MAO-A, portanto em nível celular, nos neurônios, quando as monoaminas são recaptadas da sinapse para dentro do neurônio via transportador, a MAO atua degradando-a. Os IMAOs retardam essa reação enzimática e, conseqüentemente, aumentam a disponibilidade dos neurotransmissores monoaminérgicos (FIŠAR, 2016). Além das amins endógenas, as MAOs também catalisam a degradação de amins exógenas, como a tiramina encontrada em alimentos. Em condições normais, a MAO-A do trato gastrointestinal degrada a tiramina antes que essa seja absorvida e aumente a liberação de noradrenalina. Porém quando inibida por IMAO irreversível, pode gerar uma crise hipertensiva (EDMONDSON; BINDA, 2018).

Os primeiros inibidores de recaptção, os TCAs, possuem três anéis cíclicos e atuam inibindo a recaptção de serotonina e noradrenalina através da interação com seus respectivos transportadores presentes na membrana do neurônio pré-sináptico, inibindo-os (OBATA, 2017). Ao interagir também com receptores histaminérgicos, muscarínicos colinérgicos, α 1-adrenérgicos e canais iônicos, esses fármacos podem gerar uma série de efeitos colaterais, como: sedação, hipotensão postural, taquicardia, boca seca, entre outros (LIEBERMAN, 2003; MILLAN, 2006). Com objetivo de desenvolver novos antidepressivos através de modificações estruturais dos já existentes, na década de 70 foram desenvolvidos os antidepressivos tetracíclicos (TeCA) que possuem estrutura similar aos TCAs (FANGMANN et al., 2008), a exemplo a mianserina, e duas décadas mais tarde seu sucessor mirtazapina. Os TeCA são antagonistas dos receptores α 2-adrenérgicos pré-sinápticos (autoreceptores), assim, eles impedem que ocorra um feedback negativo mediado por esses receptores (MILLAN, 2006; SLATTERY; HUDSON; NUTT, 2004); e receptores 5-HT₂ pós-sinápticos, preservando a função sexual (WALDINGER; ZWINDERMAN; OLIVIER, 2003). A mianserina teve seu papel no tratamento da depressão de idosos, devido ao seu efeito modulatório na dor (analgésico) e ao baixo efeito anticolinérgico, quando comparado com TCAs (FANGMANN et al., 2008).

Por elevarem níveis centrais de mais de uma monoamina, os TCA apresentam um efeito analgésico superior comparado a agentes de ação seletiva que foram desenvolvidos posteriormente, como os inibidores seletivos de recaptção de serotonina (ISRS) e inibidores de recaptção da noradrenalina (IRN) (FISHBAIN et al., 2000). Mas, a partir da década de 90 foram sintetizados antidepressivos com ação dual (inibidores de recaptção de serotonina e noradrenalina (IRSN), como a duloxetina, que também podem ser empregados no tratamento

de dores (OBATA, 2017), mas apresentam vantagens sobre os TCAs em relação aos potenciais efeitos colaterais indesejáveis (LIEBERMAN, 2003).

Os ISRSs foram a primeira classe de antidepressivos desenvolvida a partir de uma estratégia planejada, na busca por um fármaco com atuação em um alvo específico, para minimizar efeitos colaterais (PEREIRA; HIROAKI-SATO, 2018). Contudo, mesmo que mais tolerados, esses não são isentos de efeitos colaterais, podendo alterar o sono e a libido, e causar irritabilidade, náusea, dores de cabeça, ansiedade, entre outros (MILLAN, 2006). Seu desenvolvimento representa um avanço no tratamento da depressão, uma vez que tem um perfil de tolerabilidade e segurança maior, tornando-os os antidepressivos de primeira escolha (LIEBERMAN, 2003). Como descrito no nome da classe, esses fármacos atuam ao inibir os transportadores de serotonina no neurônio pré-sináptico, impedindo sua recaptura e posterior degradação pela MAO (SLATTERY; HUDSON; NUTT, 2004).

No mesmo sentido do mecanismo de ação dos ISRSs, foram desenvolvidos também os IRNs, que inibem o transportador de noradrenalina; os IRSNs que inibem tanto a recaptura da noradrenalina quanto da serotonina; e os inibidores de recaptura de noradrenalina-dopamina (IRNDs), que estendem sua ação sobre a neurotransmissão dopaminérgica ao inibir o transportador de dopamina. A via dopaminérgica mesocorticolímbica desempenha um papel importante sobre o prazer e recompensa, os quais muitas vezes apresentam uma disfunção em pacientes depressivos (SLATTERY; HUDSON; NUTT, 2004). A bupropiona, um exemplo de IRND, é utilizada para cessação de fumo de cigarros contendo nicotina (LIEF, 1996). Com função similar aos IRND, os agentes de liberação de noradrenalina-dopamina (ALND), também modulam os níveis das catecolaminas noradrenalina e dopamina, mas seu mecanismo de ação é através da indução da depleção das vesículas sinápticas de monoaminas, aumentando suas quantidades no meio intracelular e através do transporte reverso, tem como desfecho final a liberação desses neurotransmissores dos neurônios para a sinapses (ROBERTSON; MATTHIES; GALLI, 2009).

Já os antagonistas e inibidores de recaptura de serotonina (AIRS), a exemplo a nefazodona, inibe a recaptura de serotonina e antagoniza os receptores 5-HT_{2A} pós-sinápticos, além de interagir com outros alvos os quais tem menos afinidade (CUSACK; NELSON; RICHELSON, 1994). Acredita-se que sua interação com os receptores 5-HT_{2A} pós-sinápticos possam suprimir a inibição serotoninérgica sobre neurônios noradrenérgicos (SLATTERY; HUDSON; NUTT, 2004) e minimizar certos efeitos colaterais gerados pelos antidepressivos, como disfunção sexual e distúrbios do sono (DEVANE; GROTHE; SMITH, 2002).

Para o tratamento farmacológico com antidepressivos promoverem a melhora clínica dos sintomas depressivos, leva-se aproximadamente 4 semanas de tratamento crônico (SLATTERY; HUDSON; NUTT, 2004). Para explicar essa demora do efeito por parte dos antidepressivos, até o momento, a teoria mais aceita, seria sobre o tempo em que leva para dessensibilizar os receptores inibitórios pré-sinápticos, que por sua vez, regulam a liberação de monoaminas por meio de feedback negativo (ROBINSON, 2018; RUTTER; CHRISANA; AUERBACH, 1994; ZANOVELI et al., 2010). Com a administração de antidepressivos, há um aumento de monoaminas na fenda sináptica, levando a uma interação dessas com os autoreceptores inibitórios que diminuem sua própria liberação mantendo, assim, os níveis dessas monoaminas baixos. Com o tratamento crônico, ocorre a dessensibilização desses autoreceptores e os níveis extracelulares dessas monoaminas se elevam como resultado da inibição da recaptação ou da metabolização (RUTTER; CHRISANA; AUERBACH, 1994), com consequente melhora clínica.

Outra hipótese para explicar a demora do efeito clínico de antidepressivos, é baseada na teoria neurotrófica (DUMAN; LI, 2012). Ela é baseada em uma série de evidências da diminuição do volume hipocampal em pessoas com depressão e animais estressados (BELLEAU; TREADWAY; PIZZAGALLI, 2019). Levando a uma associação entre a ação terapêutica dos antidepressivos com a neurogênese hipocampal em animais (SANTARELLI et al., 2003) e humanos (BOLDRINI et al., 2012). Embora exista evidência sobre a diminuição nos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no soro de pacientes com depressão e um aumento quando tratados com antidepressivos (SEN; DUMAN; SANACORA, 2008), ainda não se tem evidências do efeito neurogênico dos antidepressivos levar a melhora dos sintomas depressivos (BOLDRINI et al., 2012), nem se o efeito terapêutico de todos antidepressivos é dependente da neurogênese (BOLZAN, 2020). Uma publicação recente com camundongos utilizando metodologias *in silico*, *in vitro* e *in vivo*, sugere que a ação neurogênica dos antidepressivos ocorra através da ligação alostérica desses ao receptor de tirosina quinase B (TRKB), facilitando sua interação e sinalização com o BDNF (CASAROTTO et al., 2021), um fator crítico na plasticidade sináptica, que promove a transcrição de CREB (NESTLER; GOULD; MANJI, 2002). Esse possível mecanismo também se estende aos antidepressivos de ação rápida (e.g. cetamina), mas o que explicaria o menor tempo em que leva para esses gerarem efeito, estaria relacionado a rápida permeabilidade no cérebro pela cetamina (anestésico, antagonista do receptor de glutamato NMDA), alcançando uma concentração sináptica suficiente de forma rápida; enquanto outros antidepressivos demorariam várias semanas para

alcançarem uma concentração suficiente para interagir com os receptores TRKB (KORNHUBER; RETZ; RIEDERER, 1995), alvo que esses possuem baixa afinidade (CASAROTTO et al., 2021).

1.2 O TESTE DO NADO FORÇADO

Para estudar a neurobiologia da depressão e mecanismos de ação de substâncias com potencial ação antidepressiva, são utilizados animais geneticamente modificados, com pré-disposição a expressar fenótipos “*depressive-like*”, e aplicados protocolos para criação de modelos animais de depressão (WILLNER; MITCHELL, 2002). Inicialmente eles foram baseados em procedimentos cirúrgicos como a bulbectomia olfatória (CAIRNCROSS et al., 1978), e protocolos de estressores físicos, como o desamparo aprendido (MAIER, 1984), separação materna (VÁZQUEZ et al., 2000) e estresse crônico imprevisível (KATZ; ROTH; CARROLL, 1981); e procedimentos químicos (e.g. administração de corticosterona (GOURLEY et al., 2008) e reserpina (SCHILDKRAUT, 1965). Esses modelos possuem boa validade de face e constructo (NESTLER; GOULD; MANJI, 2002), referindo-se respectivamente a semelhança do comportamento com a manifestação clínica (e.g. anedonia); da causalidade e mecanismo psicopatológico com os teóricos (e.g. estresse imprevisível e elevação plasmática de corticosterona) (BELZUNG; LEMOINE, 2011), além da validade preditiva.

O terceiro critério de validade para modelos animais de depressão proposto por Willner (1984), a validade preditiva, se refere a capacidade do modelo de prever em animais os efeitos antidepressivos de intervenções terapêuticas, farmacológicas ou não, em humanos (WILLNER; MITCHELL, 2002). Alguns exemplos de testes que atendem a esse critério são: preferência por sacarose, teste da suspensão pela cauda e teste do nado forçado. A validação desses testes só foi possível devido ao conhecimento sobre a eficácia clínica dos antidepressivos de primeira geração, aqueles descobertos ao acaso, mas sua aplicação teve papel fundamental no descobrimento de antidepressivos da segunda geração (ROBINSON, 2018) e de novos alvos terapêuticos (SLATTERY; HUDSON; NUTT, 2004). Esses paradigmas podem ser combinados ou não à prévia exposição de protocolos estressores para indução de fenótipos. Já o teste do nado forçado, pode ser o próprio agente estressor no desenvolvimento do modelo animal, como também o teste preditivo.

O teste do nado forçado é um teste comportamental baseado no paradigma de desespero comportamental (PORSOLT; BERTIN; JALFRE, 1977) utilizado para avaliar o potencial efeito antidepressivo de drogas em camundongos e ratos de laboratório. No teste, o roedor é colocado numa cuba com água e, inicialmente, apresentam comportamentos ativos, *como quem* tenta escapar da cuba (PORSOLT et al., 1978). Porém, com o tempo os animais diminuem a atividade e passam a apresentar uma inibição comportamental expressa por imobilidade, descrita como: flutuação do corpo, fazendo apenas movimentos necessários para manter a cabeça acima da água (*sic*) (para detalhes metodológicos ler (SLATTERY; CRYAN, 2012). O tratamento com antidepressivos faz com que a duração da imobilidade diminua, e sua latência aumente (CASTAGNE; PORSOLT; MOSER, 2009; PETIT-DEMOULIERE; CHENU; BOURIN, 2005). Ao mesmo tempo, aumenta o tempo gasto em comportamentos ativos, escalada e nado, a depender do mecanismo de ação do fármaco. Enquanto os ISRSs parecem aumentar o comportamento de nado, os IRNs aumentam a escalada (DETKE; RICKELS; LUCKI, 1995; LUCKI, 1997). O teste do nado forçado possui uma boa validade preditiva, porém não de face (fenótipo comportamental) e constructo (alteração fisiopatológica), uma vez que ele é utilizado como uma ferramenta reveladora do efeito potencialmente antidepressivo da intervenção, através das alterações em seus possíveis desfechos.

Desde sua primeira descrição por Porsolt, Bertin & Jalfre (1977), foram propostas algumas modificações na aplicação do teste do nado forçado: em seu protocolo, e.g. a realização do teste do nado forçado repetido, onde é conduzida um sessão de 15 minutos, e outras três de 5 minutos cada, 1, 7, e 14 dias após a primeira exposição ao aparato, possibilitando assim analisar o efeito agudo e crônico de antidepressivos nos mesmos animais (DETKE; JOHNSON; LUCKI, 1997; MEZADRI et al., 2011); no aparato, e.g. aumento da profundidade da água, impossibilitando o animal de se sustentar com as patas ou cauda (ABEL, 1994; DETKE; LUCKI, 1996); e até mesmo da análise etológica, e.g. gravação da sessão para análise posterior de vários comportamentos, ao invés de quantificação em tempo real do comportamento de imobilidade (CRYAN; VALENTINO; LUCKI, 2005), e contagem dos comportamentos (*score*) em segmentos de 5 em 5 segundos do vídeo da sessão, substituindo a análise tradicional contínua que gera os parâmetros de latência, duração e frequência (DETKE; RICKELS; LUCKI, 1995).

Além das modificações nos protocolos do teste, há também uma grande diversidade no desenho dos estudos. Como já foi visto em outra área, para modelos animais de isquemia em roedores saudáveis ou com comorbidade (MACLEOD et al., 2004), a variabilidade na literatura

pode impactar no tamanho de efeito estimados de um tratamento. Com isso, estudar como essas fontes de heterogeneidade afetam o tamanho do efeito dos fármacos antidepressivos no TNF pode melhorar o planejamento de experimentos futuros e colaborar com a reprodutibilidade dos estudos na área de investigação (VESTERINEN et al., 2014). A diversidade inerente ao desenho dos estudos, além de estar presente no protocolo do teste do nado forçado, também permeia aspectos da população utilizada e intervenção.

O primeiro fator a ser mencionado, é a espécie do roedor, que por si só demanda diferenças no protocolo do teste aplicado. As linhagens podem apresentar desfechos comportamentais distintos em seu estado basal, além de apresentarem respostas diferentes no teste após o tratamento com antidepressivos (BOGDANOVA et al., 2013). A linhagem *Flinders Sensitive*, por exemplo, foi proposta como modelo animal de pré-disposição a depressão (OVERSTREET et al., 2005). Algumas publicações apontam diferenças entre machos e fêmeas no desfecho comportamental do teste do nado forçado e na resposta ao tratamento com antidepressivos, mas esses resultados parecem divergir entre si. Enquanto uns apontam uma maior imobilidade nas fêmeas que nos machos (BOGDANOVA et al., 2013), outros apontam resultados contrários (PETIT-DEMOULIERE; CHENU; BOURIN, 2005), ou não indica efeito do sexo, apenas da linhagem (ARMARIO; GAVALDÀ; MARTÍ, 1995).

Aspectos referentes ao estágio de vida do animal e massa corporal também parecem relevantes para seu desempenho no teste do nado forçado. Já fora observado um maior tempo de imobilidade em ratos idosos, comparados a jovens, além de que a sensibilidade a antidepressivos se altera com a idade (PETIT-DEMOULIERE; CHENU; BOURIN, 2005). Seria esperado que uma pré-exposição ao estresse tenha um efeito depressogênico do roedor no teste do nado forçado, e embora a maioria dos resultados pareçam favorecer essa expectativa, existem achados com resultados contrários também (BOGDANOVA et al., 2013). Além das características do animal em si, o seu condicionamento também pode influenciar no seu comportamento, como o ciclo de luz em que o animal é condicionado (BOGDANOVA et al., 2013).

Além dessas variáveis citadas, o comportamento dos roedores no teste do nado forçado também parece ser suscetível a exposição prévia do animal a outro teste comportamental. Blokland et al. (2012) observaram que os ratos que passavam por outro teste comportamental um dia antecedendo a exposição ao teste nado forçado, apresentavam um maior tempo de imobilidade que os ratos expostos ao teste do nado forçado primeiro. Os fatores referentes a intervenção vão incluir a classe antidepressiva do composto; o composto testado; a dose

administrada no animal; a duração do tratamento, se agudo ou crônico; e a via de administração, onde a via intraperitoneal, por exemplo, pode inserir o fator estresse do procedimento.

1.3 A QUALIDADE DOS ESTUDOS NÃO CLÍNICOS EM ANIMAIS

A qualidade dos estudos é um fator que pode influenciar diretamente a reprodutibilidade dos estudos pré-clínicos e exploratórios, além de impactar sobre o poder translacional do teste (HAN et al., 2017). No trabalho de Mccann et al. (2014) foi constatada uma relação inversa entre a qualidade dos estudos e os tamanhos de efeito. Aqueles que tinham menor pontuação de qualidade apresentavam um maior efeito dos antidepressivos na redução do tamanho do infarto cerebral em roedores submetidos ou não ao protocolo de estresse crônico moderado imprevisível (MCCANN et al., 2014). Outras duas meta-análises sobre tratamentos em modelos animais (roedores e primatas não-humanos) de acidente vascular cerebral isquêmico também constataram um menor tamanho de efeito para os estudos com maior qualidade (MACLEOD et al., 2005; PEDDER et al., 2014). Se a qualidade dos estudos pode ter impacto sobre a eficácia de fármacos em testes preditivos por distorcer os tamanhos de efeitos, é fundamental que haja avaliação dos riscos de vieses antes de iniciar um novo projeto na área de pesquisa (RAMOS-HRYB et al., 2018). A apreciação dos riscos de vieses desses estudos é fundamental para a validação translacional desses testes e descoberta de novas drogas com potencial antidepressivo (RAMOS-HRYB et al., 2018).

Para melhorar a qualidade de estudos da área biomédica, incluindo estudos exploratórios em animais, vêm sendo desenvolvidos e publicados guias com o intuito de auxiliar os pesquisadores na construção de pesquisas e relatórios científicos de maior qualidade e transparência (para mais informações, <https://www.equator-network.org/>), e.g. ARRIVE *guidelines* para relatar pesquisa em animais (PERCIE DU SERT et al., 2020), e PRISMA *statement* para revisões sistemáticas e meta-análises (MOHER et al., 2009; PAGE et al., 2021). Por essas iniciativas terem sua popularidade aumentada mais recentemente, é possível também pensar na possibilidade de a qualidade dos estudos em animais acompanharem essa transformação, se elevando com o passar dos anos.

Han et al. (2017) compararam a qualidade de relato de estudos publicados em 2013 e 2015 na *Cell* e *Nature* (*checklist* obrigatório na submissão do manuscrito em 2015). Eles verificaram entre os anos um aumento no rigor de relato de descrição dos animais e, além disso, também houve um aumento na execução de práticas para redução de vieses (randomização e

cegamento), e aumento da precisão (cálculo do tamanho amostral). Comparando as duas revistas, foi constatada uma diferença maior na qualidade entre os anos para a revista *Nature* que para a *Cell*, evidenciando o papel de *checklist* de relato no incremento da qualidade dos estudos.

1.4 O VIÉS DE PUBLICAÇÃO

Na literatura, grande parte das publicações apresenta resultados positivos do efeito de antidepressivos no teste do nado forçado, onde diminuem o tempo de imobilidade e aumentam os comportamentos ativos (KARA; STUKALIN; EINAT, 2018). O excesso de resultados positivos pode significar que há um viés de publicação, ou seja, uma tendência de encontrar publicações com resultados positivos enquanto os resultados negativos são suprimidos independente da sua qualidade. Este fenômeno já foi observado em outras áreas da ciência (CARVALHO et al., 2016). A investigação de viés de publicação pode ser conduzida a partir de métodos meta-analíticos (MAVRIDIS; SALANTI, 2014). As fontes de viés de publicação podem ser divididas em duas grandes categorias: uma relacionada ao desfecho estatístico (tamanho amostral, direção do resultado, significância estatística) e a outra a acessibilidade do resultado (devido a custos de acesso a publicação, idioma da publicação, etc.) (MCSHANE; BÖCKENHOLT; HANSEN, 2016).

Uma das fontes importantes de viés de publicação é um fenômeno conhecido como “efeito de pequenos estudos”, quando estudos com um baixo tamanho amostral e conseqüente pequeno poder estatístico estão presentes na literatura. Por apresentarem uma ampla faixa de tamanhos de efeitos, favoráveis ou não ao tratamento, os estudos pequenos trazem inconsistências para a literatura (BORENSTEIN, 2006). Além disso, como é frequentemente observado em gráficos de funil (gráfico de dispersão com medida de precisão/tamanho amostral *versus* tamanho de efeito), a literatura pode apresentar um excesso destes estudos pequenos – presentes na base do funil invertido - são mais publicados quando o tamanho de efeito é grande, possibilitando um resultado estatisticamente significativo, na direção predita pela hipótese inicial do estudo (BORENSTEIN, 2006; KOSSMEIER; TRAN; VORACEK, 2019). Esse padrão de resultados leva a assimetria do gráfico de funil, que pode suportar a presença do efeito de pequenos estudos (SPINELI; PANDIS, 2021).

O indício do viés de publicação demanda uma discussão cuidadosa pois a distorção dos resultados e conclusões dos estudos pode inflar artificialmente os efeitos de um fármaco. Um

exemplo é o estudo de Turner et al. (2008), onde foi verificado que o viés de publicação influiu o efeito de antidepressivos em estudos clínicos com pacientes diagnosticados com depressão. Mccann et al. (2014) observou algo parecido, o viés de publicação gerou uma distorção no tamanho de efeito sobre a performance comportamental de roedores que passaram por infartos cerebrais e que foram submetidos ou não ao protocolo de estresse crônico moderado imprevisível, e essa superestimação relativa foi de 47,1% favorecendo o efeito de antidepressivos.

A expectativa inflada da eficácia dos fármacos nos estudos não clínicos e pré-clínicos pode prejudicar o desenvolvimento de fármacos aumentando as discrepâncias e reduzindo a reprodutibilidade entre os estudos. No caso dos antidepressivos, ao mesmo tempo em que nos estudos exploratórios e pré-clínicos os antidepressivos vêm apresentando resultados positivos e promissores, a eficácia terapêutica em estudos clínicos tem apresentado falhas, com ausência de resposta e longos períodos para adequação do tratamento nos pacientes (MAOZ, 2007; SINYOR; SCHAFFER; LEVITT, 2011). Há uma série de fatores que podem colaborar para as divergências entre os estudos, mas neste estudo, o foco são fatores relevantes para os estudos em animais. Dentre eles se destacam a variedade de populações estudadas, métodos de aplicar as intervenções e métodos de coletar os dados do desfecho comportamental.

Previamente, foram realizadas duas publicações de trabalhos pertencentes ao projeto. A segunda publicação, que foi submetida antes, é uma primeira versão do protocolo para revisão sistemática e meta-análise de dados de estudos pré-clínicos aplicando o teste do nado forçado (RAMOS-HRYB et al., 2019), que posteriormente sofreu algumas alterações na sua versão final, o qual foi utilizado no presente estudo. A outra publicação foi um comentário em resposta a publicação de Kara et al. (2018), onde foi ressaltada a possibilidade de um viés de publicação para a literatura com o teste do nado forçado e questionamento do impacto desse possível viés sobre o tamanho de efeito medido nessa literatura, possivelmente inflando-o (RAMOS-HRYB et al., 2018). Nesse trabalho, reforçou-se o excesso de resultados positivos na literatura através de pilotos realizados com amostras provindas da biblioteca do projeto geral, corroborando com os dados de Kara et al. (2018). Porém, ao investigar um possível viés de publicação através da *trim-and-fill* e curva-p, não foi encontrada evidência desse viés e menos da metade das publicações incluídas (cinco) apresentaram dados suficientes para a construção da curva-p, ressaltando a necessidade de um estudo mais amplo para dar continuidade a essa investigação (RAMOS-HRYB et al., 2018).

Para isso, foi realizada uma revisão sistemática seguida de meta-análise dos estudos avaliando a eficácia de antidepressivos em roedores de laboratórios submetidos ao teste do nado forçado, que, segundo nossa hipótese, diminui o tempo de imobilidade do animal no teste. Esta literatura será descrita em termos de propriedades da população, tratamento, condução do teste e tamanhos de efeito. Os descritores serão usados para investigar a influência das covariáveis sobre o tamanho de efeito estimado para os antidepressivos no teste do nado forçado. E por fim, se avaliará a contribuição da qualidade dos estudos, dos vieses experimentais, e do viés de publicação sobre a eficácia do antidepressivo no teste de nado forçado. As hipóteses são que, quanto menor a qualidade dos estudos ou maiores os vieses, maior será o tamanho de efeito estimado para os antidepressivos no teste de nado forçado.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo Geral

Investigar a influência dos antidepressivos, de covariáveis, e de vieses sobre o tempo de imobilidade de roedores de laboratório no teste do nado forçado em estudos da literatura científica.

1.5.2 Objetivos Específicos

1. Descrever e avaliar de forma qualitativa as características da população, tratamento e desfecho nas publicações incluídas na revisão sistemática e meta-análise.
2. Verificar qual o tamanho, direção e significância estatística do efeito de antidepressivos em geral sobre a imobilidade de roedores no teste do nado forçado.
3. Identificar como o protocolo experimental dos estudos publicados afeta o tamanho de efeito de antidepressivos em geral sobre a imobilidade de roedores no teste do nado forçado.
4. Identificar como a qualidade dos estudos publicados afeta o tamanho de efeito de antidepressivos em geral sobre a imobilidade de roedores no teste do nado forçado.
5. Identificar como o viés de publicação afeta o tamanho de efeito de antidepressivos em geral sobre a imobilidade de roedores no teste do nado forçado.

2 METODOLOGIA

2.1 ESTRATÉGIA DE AÇÃO

Para responder às perguntas levantadas nesse trabalho foi conduzida uma revisão sistemática seguida de meta-análise. Essas metodologias começaram a ser utilizadas na área clínica afim de sintetizar evidências da literatura, como ferramenta na medicina baseada em evidências e decisões políticas (MUKA et al., 2020). Com o passar do tempo e elevação no número de publicações, a aplicação dessas metodologias também se mostra necessária na área pré-clínica (SENA et al., 2014).

Enquanto a revisão sistemática facilita a identificação de estudos relevantes para responder uma determinada pergunta de forma sistemática, a meta-análise possibilita o tratamento estatístico dos dados presentes nesses estudos, chegando em conclusões através de resultados globais gerados por comparações em pares. Mesmo estando no topo da pirâmide de evidências, essas metodologias não são isentas de perda de qualidade (MUKA et al., 2020). Na verdade, hoje, a revisão sistemática e meta-análise é vista como uma lupa, que amplia os resultados presentes na literatura, já que os resultados da revisão sistemática e meta-análise são diretamente afetados pela qualidade dos estudos incluídos e metodologia aplicada durante a revisão e tratamento dos dados (MURAD et al., 2016). Por isso o viés de relato deve ser minimizado, permitindo que leitores e revisores tenham conhecimento sobre como o estudo foi conduzido. Para isso, a versão final desse trabalho foi relatada de acordo com o *checklist* PRISMA para “Revisões Sistemáticas e Meta-análises” (PAGE et al., 2021).

Duas meta-análises em rede também foram conduzidas e apresentadas no [APÊNDICE A](#). A meta-análise em rede além da comparação direta, permite fazer comparações indiretas entre tratamentos que não necessariamente foram vistos nos estudos primários ao utilizar um comparador em comum, e nessa metodologia é possível gerar um ranking global das intervenções (TONIN et al., 2017), de acordo com a probabilidade de tais tratamentos serem o mais eficaz, ordenando-os de acordo com a eficácia.

2.2 PROTOCOLO

O protocolo dessa revisão sistemática foi previamente elaborado e publicado no banco de registro prospectivo de revisões sistemáticas PROSPERO (ID CRD42020200604), disponível

em https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42020200604. Esse protocolo foi atualizado uma vez entre a publicação do protocolo e disponibilização dos resultados gerados no presente trabalho. As atualizações foram as seguintes: Mudança na ordem dos autores, colocando a autora sênior no final da lista de autores; inserção da pergunta de revisão “*Is there any relationship between quality scores and ES of outcomes reported in preclinical studies employing FST?*”; a medida de efeito foi corrigida de “diferença entre as médias normalizada” para “diferença entre as médias padronizada”.

E alguns procedimentos foram realizados de forma distinta a prevista no protocolo. A extração dos dados de qualidade foi realizada por um revisor e conferida por um segundo revisor, e não por dois revisores independentes. A análise da relação entre tamanho de efeito e qualidade dos estudos foi realizada através de meta-regressão em vez de análise de correlação. Além do relato do I^2 , também se fez o relato do valor de Q Cochran e τ^2 para descrever a heterogeneidade nas meta-análises. E aplicou-se o “*Weight-Function model*” para acessar especificamente o viés de publicação.

2.3 CRITÉRIO DE ELEGIBILIDADE

Para delinear a pergunta, características dos estudos alvo e definir os termos de busca dessa revisão sistemática foi utilizada a ferramenta PICO, baseada na população “*population, P*”, intervenção “*intervention, I*” e desfecho “*outcome, O*” (METHLEY et al., 2014), o “*comparison, C*” não foi utilizado. Para responder à pergunta geral “Qual a eficácia de antidepressivos (I) sobre a redução do tempo de imobilidade (O) de roedores (P) no teste do nado forçado?” e derivadas, foram incluídos estudos originais de qualquer idioma, publicados de 1977 -ano em que o primeiro estudo conduzindo o teste do nado forçado foi publicado (PORSOLT; BERTIN; JALFRE, 1977)- até 2017. Nesses estudos deveriam estar descritos os efeitos dos antidepressivos (I) administrados em roedores de laboratório (ratos e camundongos, P), revelados pelo teste do nado forçado através do tempo de imobilidade (O), e tendo como grupo comparador, animais tratados ou não com veículo ou outro antidepressivo, independente de aleatorização.

2.4 BUSCA

A busca pelos estudos foi realizada nas bases de dados Embase, *Medline (PubMed)*, SCOPUS e *Web of Science*. Nas bases *Medline (PubMed)*, SCOPUS e *Web of Science* a busca foi conduzida previamente por colaboradores do Laboratório de Neurobiologia do Comportamento (LabNeC – UFSC) (RAMOS-HRYB et al., 2019), apenas a busca na base bibliográfica Embase foi realizada pela autora. Os termos de busca foram definidos a partir de variações que se referem a: camundongos e ratos (população), nomes genéricos de antidepressivos comuns e classes (intervenção, listados por (MCCANN et al., 2014) e teste do nado forçado (revelador do desfecho). Alguns filtros foram aplicados de acordo com as especificações das bases de dados utilizadas, como por exemplo “[animal experiment]/lim” no Embase para especificar experimentos em animais, e *Subject Headings MESH terms* no *PubMed* para aumentar a sensibilidade da busca, levando em consideração a hierarquia dos termos (LEENAARS et al., 2012). Um exemplo da estratégia de busca pode ser encontrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Estratégia de busca na base Embase (data: 18/11/2020)

ID Busca	Termos	Recuperados
#1	('rodent' OR 'mice'/exp OR mice OR mus OR 'mouse'/exp OR mouse OR 'murine'/exp OR murine OR 'wood mouse'/exp OR 'wood mouse' OR 'rat'/exp OR rat OR 'murinae'/exp OR murinae OR 'muridae'/exp OR muridae OR cottonian OR cottonrat OR 'rodentia'/exp OR rodentia OR 'rodent'/exp OR rodent OR 'rodents'/exp OR rodents)	4,238,445

#2	('ssri' OR 'selective serotonin-reuptake inhibitor' OR 'fluoxetine' OR 'citalopram' OR 'escitalopram' OR 'fluvoxamine' OR 'paroxetine' OR 'sertraline' OR 'dapoxetine' OR 'snri' OR 'serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor' OR 'duloxetine' OR 'levomilnacipran' OR 'sibutramine' OR 'bicyclanil' OR 'venlafaxine' OR 'desvenlafaxine' OR 'milnacipran' OR 'tramadol' OR 'TCA' OR 'tricyclic antidepressant' OR 'amitriptyline' OR 'butriptyline' OR 'clomipramine' OR 'desipramine' OR 'dosulepine' OR 'doxepin' OR 'imipramine' OR 'iprindole' OR 'lofepramine' OR 'melitracen' OR 'nortriptyline' OR 'opipramol' OR 'protriptyline' OR 'trimipramine' OR 'sari' OR 'serotonin antagonist and reuptake inhibitor' OR 'etoperidone' OR 'loripirazole' OR 'mepiprazol' OR 'lurasdone' OR 'nefazodone' OR 'trazodone' OR 'nris' OR 'norepinephrine reuptake inhibitors' OR 'atomoxetine' OR 'reboxetine' OR 'viloxazine' OR 'ndri' OR 'norepinephrine dopamine reuptake inhibitor' OR 'bupropion' OR 'dexamethylphenidate' OR 'methylphenidate' OR 'ndma' OR 'nras' OR 'norepinephrine dopamine releasing agent' OR 'amphetamine' OR 'dextroamphetamine' OR 'dextromethylamphetamine' OR 'lisdexamfetamine' OR 'teca' OR 'texas' OR 'tetracyclic antidepressant' OR 'amoxapine' OR 'maprotiline' OR 'mianserin' OR 'mirtazapine' OR 'maoi' OR 'monoamine oxidase inhibitor' OR 'isocarboxazid' OR 'moclobemide' OR 'phenelzine' OR 'pirlindol' OR 'selegiline' OR 'tranylcypromine' OR 'antidepressant')	957,478
#3	('forced swimming test' OR 'forced swimming test, fst' OR fst OR 'forced swim test' OR 'forced-swimming test' OR 'forced-swim test' OR 'porsolt test')	17,569
#4	[animal experiment]/lim AND [embase]/lim AND [1977-2017]/py	2,155,929
#5	#1 and #2	154,878
#6	#1 and #3	13,133
#7	#2 and #3	7,618
#8	#1 and #2 and #3	7,229
#9	#1 and #2 and #3 and #4	4,230

Na primeira coluna está presente a identidade da busca. Na segunda coluna está presente o conjunto de termos com operadores Booleanos utilizados na busca. Na terceira coluna está apresentado o número de publicações obtidas na busca. Do ID Busca #5 ao #9 estão as combinações entre os conjuntos de termos. Na ID Busca #9 está destacada a quantidade final de publicações recuperadas na busca dentro da base bibliográfica Embase.

2.5 SELEÇÃO

As referências obtidas nas buscas foram importadas para o gerenciador de referências *EndNote*, para então excluir as referências duplicadas de duas formas: 1- Pela função automática do *EndNote* que possui a limitação de excluir apenas as duplicadas idênticas, e 2-

Pela exclusão manual. Após essa limpeza as bibliotecas ficaram prontas para realizar o processo de seleção de acordo com os critérios pré-estabelecidos (Quadro 2). A seleção dos artigos foi realizada por dois revisores de forma independente em duas etapas: 1- Leitura do título e resumo. 2- Leitura do texto completo. Para aqueles estudos em que ocorrerem a discordância sobre a inclusão ou exclusão, um terceiro revisor avaliou e definiu a atribuição final. No Quadro 2 estão elencados os critérios de inclusão e exclusão de acordo com suas categorias, fase de seleção empregada, e prioridade sequencial.

Quadro 2 - Critérios de Seleção.

Fase 1: Título e Resumo	
Não encontrado	<p>Inclusão: Não se aplica.</p> <p>Exclusão: Artigo completo não encontrado.</p>
Tipo de Publicação	<p>Inclusão: Artigos originais de qualquer idioma, publicado a partir de 1977.</p> <p>Exclusão: Revisões, revisões sistemáticas, meta-análises, cartas, editoriais.</p>
População	<p>Inclusão: Ratos ou camundongos de qualquer sexo, idade, linhagem e fenótipo.</p> <p>Exclusão: Estudos <i>ex vivo</i>, <i>in vitro</i>, <i>in silico</i> e em humanos.</p>
Fase 2: Texto Completo	
Desenho Experimental	<p>Inclusão: Qualquer estudo que descreva o efeito de antidepressivos - de qualquer classe clinicamente testada* - no teste do nado forçado.</p> <p>Exclusão: Experimentos usando o nado forçado em ratos ou camundongos apenas como estressor, sem apresentar os dados comportamentais.</p>
Desfecho	<p>Inclusão: Primário: Imobilidade (tempo, %, scores, etc.) no teste do nado forçado. Secundário: nado, escalada (tempo, %, scores, etc.) no teste do nado forçado e medidas de locomoção no teste do campo aberto.</p> <p>Exclusão: Não mostra as medidas comportamentais de interesse e de dispersão: desvio padrão, ou dados que permitam o cálculo (erro padrão da média, n).</p>

Intervenção	<p>Inclusão: Antidepressivo administrado por qualquer via, dose e esquema de administração antes do teste do nado forçado.</p> <p>Exclusão: Experimentos contendo apenas desfecho de cotratamento.</p>
Comparador	<p>Inclusão: Com grupo comparador tratado ou não com veículo ou outro antidepressivo.</p> <p>Exclusão: Sem grupo comparador.</p>

*Agentes de liberação de dopamina e noradrenalina (ALDN), antagonistas e inibidores de recaptção de serotonina (AIRS), antidepressivos tetracíclicos (TeCA), antidepressivos tricíclicos (TCA), inibidores da monoamina oxidase (IMAO), inibidores de recaptção de noradrenalina (IRN), inibidores de recaptção de noradrenalina -dopamina (IRND)), inibidores de recaptção de serotonina-noradrenalina (IRSN), inibidores seletivos de recaptção de serotonina (ISRS).

Na primeira biblioteca, que contém os artigos das bases de dados Medline (PubMed), SCOPUS e Web of Science, o processo de seleção foi realizado por dois revisores, e a conciliação foi conduzida pela autora desse projeto. Para a segunda biblioteca (artigos provenientes do Embase) o processo de seleção foi realizado pela autora e uma colaboradora, e a conciliação por um terceiro revisor. Ao final, as duas bibliotecas foram unificadas e se tornaram a principal biblioteca do projeto, que sofrerá atualizações posteriores.

A análise de confiabilidade inter-observadores na fase seleção foi realizada com o coeficiente de kappa de Cohen (κ) (COHEN, 1960), adequado para variáveis categóricas nominais (KOTTNER et al., 2011), que calcula o índice levando em consideração a concordância entre os observadores (P_0) e a concordância esperada devido ao acaso (P_E), dado pela Equação 1:

$$\kappa = \frac{P_0 - P_E}{1 - P_E} \quad (1)$$

Equação 1. κ = kappa de Cohen, P_0 = concordância entre observadores, P_E = concordância esperada devido ao acaso.

Essa análise foi realizada na interface R studio (versão 2021.9.1.372, RSTUDIO TEAM, 2021) do *software* R (versão 4.0.4, R CORE TEAM, 2021) com auxílio dos pacotes: “dplyr” (versão 1.0.7, WICKHAM et al., 2021), “rel” (versão 1.4.2, LOMARTIRE, 2020) e “irr” (versão 0.84.1, GAMER; LEMON; SINGH, 2019). O código da análise pode ser encontrado no repositório do projeto na plataforma [OSF](#) e no [github](#).

Os resultados do coeficiente variam -1 a +1, podendo a confiabilidade ser interpretada de acordo com onde o resultado se encontra nas faixas de interpretação, criada por Landis e

Koch (1977), sendo: valor menor que zero considerada sem acordo; de 0 a 0,20 considerada desprezível; de 0,21 a 0,40 suave; de 0,41 a 0,60 moderada; de 0,61 a 0,80 substancial; e de 0,81 a 1 quase perfeito. No presente trabalho, os valores de kappa (confiabilidade) foram expressos junto aos seus intervalos de confiança de 95% e percentual de concordância entre revisores, o qual não leva em consideração o acordo ao acaso.

A análise de concordância para a fase de seleção foi aplicada para as duas bibliotecas separadamente (primeira: *Medline (PubMed)*, SCOPUS e *Web of Science*, e segunda: Embase), resultantes das buscas sistemáticas e seleções em duas fases e períodos diferentes de realização. Além disso, a análise de concordância foi aplicada à atribuição dos revisores sobre os estudos como “excluído” ou “incluído” na biblioteca da revisão, e também ao motivo de exclusão como “não encontrado”, “tipo de publicação”, “população”, “desenho experimental”, “desfecho”, “intervenção” e “comparador” para aqueles artigos que os revisores acharam que deveriam ser excluídos.

2.6 CÁLCULO DE PODER E AMOSTRAGEM

Foram considerados aptos a inclusão, um total de 2584 artigos do período de 1977 a 2017. Tendo em vista a grande quantidade de estudos e a limitação de tempo para realizar esse projeto, foi aplicada uma estratégia para obter uma amostra aleatória e representativa dessa biblioteca. Primeiro calculou-se o número de artigos (k) necessários para alcançar um poder de pelo menos 80% na meta-análise. O cálculo foi conduzido na interface Rstudio do *software* R (versão 4.0.4, R CORE TEAM, 2021) com a função “*mpower()*” do pacote “*metapower*” (versão 0.2.2, GRIFFIN, 2020). Para decidir quais os valores dos parâmetros aplicados ao cálculo, utilizou-se dados prévios de pilotos conduzidos por integrantes do Laboratório de Neurobiologia do Comportamento (LabNeC – UFSC) (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados utilizados na definição de parâmetros para cálculo de k.

Piloto	Hedges' g	I ² (%)	k	n	Peso	Características
RAMOS-HRYB et al. 2019.	3	>80	17	6	15,2	Camundongo, imipramina.
Não pub. I	1,24	-	4	10	3,57	Ratos estressados, amitriptilina.
Não pub. II	0,19	-	43	5	38,4	Ratos estressados, fluoxetina.
Não pub. III	0,33	-	5	10	4,46	Ratos estressados, reboxetina.
Não pub. IV	3,85	88,5	43	7	38,4	Ratos estressados, 21 antidepressivos*.
RESUMO	2,07	86,1	112	6	100	Roedores, alguns antidepressivos.
DECISÃO	0,5	90	?	6	-	Roedores, antidepressivos incluídos na revisão.

Legenda: Dados de pilotos prévios. Na linha resumo contém o resumo do grupo de pilotos para cada parâmetro, levando em consideração o peso de cada um. Na linha decisão contém os valores decididos para cada parâmetro, os quais foram utilizados no cálculo do k. Não pub. = Não publicado; Hedges' g = tamanho de efeito; I² = heterogeneidade; k = número de estudos analisados; n = número de animais por grupo, peso = contribuição do piloto de acordo com o k; características = características dos estudos analisados. *21 antidepressivos = agomelatina, amitriptilina, bupropiona, citalopram, clomipramina, desvenlafaxina, duloxetina, escitalopram, fluoxetina, fluvoxamina, levomilnaciprano, milnaciprano, mirtazapina, nefazodona, paroxetina, reboxetina, sertralina, trazodona, venlafaxina, vilazodona e vortioxetina.

Para o cálculo, considerou-se o número de animais (n) de 6 por estudo. Mas, para decidir o valor da heterogeneidade (I²) e tamanho de efeito (Hedges' g) aplicou-se uma estratégia mais conservadora, arredondando o I² para um valor superior (90%), e o valor do tamanho de efeito utilizou-se um valor inferior (Hedges' g = 0,5), considerado um tamanho de efeito médio (SAWILOWSKY, 2009). Dessa forma, uma maior heterogeneidade e menor tamanho de efeito, implicariam em um poder menor, assim o número calculado de estudos necessários para análise (k) será o suficiente para garantir um poder de 80% nesse cenário conservador (VALENTINE; PIGOTT; ROTHSTEIN, 2010).

Como a função “mpower()” utiliza como tamanho de efeito o *Cohen's d*, realizou a conversão do Hedges' g para *cohen's d* através da **Equação 2** transformada em função no *software R* ($g_to_d \leftarrow function(vg, vn) \{ vd <- vg / (1 - 3 / (4 * (vn) - 9)) return(vd) \}$), conferida com a função “hedges_g()” do pacote “esc” (LÜDECKE, 2019). O código para o cálculo do poder pode ser encontrado no repositório do projeto na plataforma [OSF](#) e no [github](#).

$$g = d \times \left(1 - \frac{3}{4(n + n) - 9} \right) \quad (2)$$

Equação 2. d = Cohen's d , n = número de animais por grupo.

Como resultado, obteve-se um poder de aproximadamente 83% ao utilizar um total de 200 estudos (k) com a aplicação de um Modelo de efeito aleatório e I^2 de 90%, como pode ser visualizado na Figura 1:

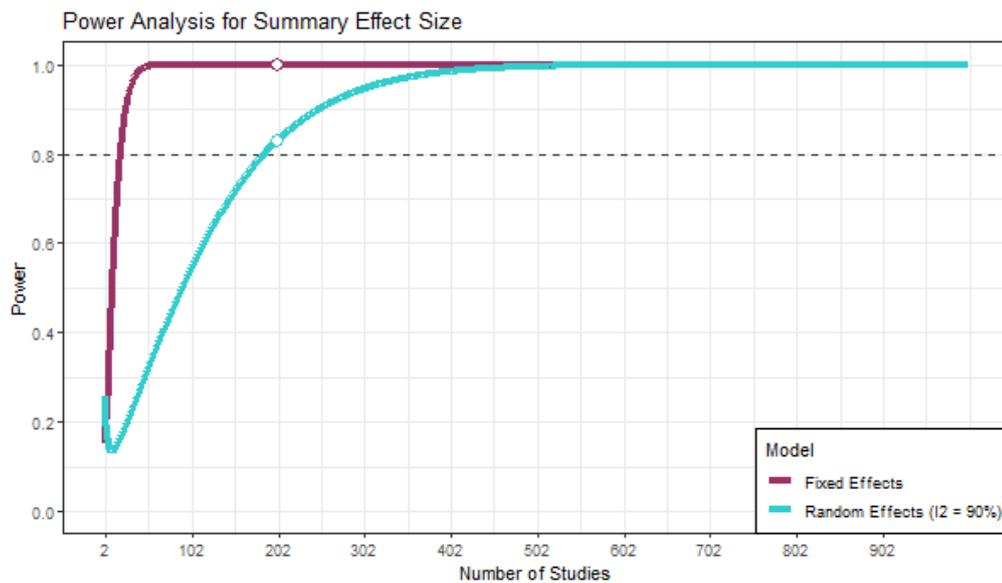


Figura 1 - Cálculo de poder meta-analítico. No eixo y está presente o poder, e no eixo x o número de estudos incluídos na análise, para um modelo de efeitos fixo (roxo) e aleatório com $I^2 = 90\%$ (azul). Círculo branco indica no eixo y o poder para o número de estudos escolhido (tamanho amostra = 200). Linha horizontal tracejada localizada no poder de 80%.

A partir desses resultados, realizou-se o sorteio dos estudos ($k = 200$) para obter um panorama geral do que pode ser encontrado na biblioteca e com poder suficiente para gerar resultados meta-analíticos. O sorteio foi realizado com a função “=ALEATORIOENTRE(inferior; superior)” no *software* Microsoft Excel, sendo inferior o número “1” e superior o número “2584”, ou seja, o número total de artigos na biblioteca. Essa função foi arrastada por um total de 200 células, para obter os 200 números/artigos sorteados. A formatação condicional de realce dos valores duplicados foi utilizada para indicar visualmente aqueles números/artigos sorteados mais de uma vez, pois quando repetidos entre si ou com os números dos sorteios prévios, era gerado um novo número aleatório e substituído.

2.7 EXTRAÇÃO DE DADOS

A extração dos dados foi realizada por um revisor e tabulada em uma planilha no Excel. Um segundo revisor conferiu as informações e sinalizou aquelas em desacordo, resolvido posteriormente numa discussão para entrar em consenso. Foram extraídos dados qualitativos e quantitativos (adaptados de RAMOS-HRYB et al. (2019)) do texto presente no artigo completo, listados a seguir de acordo com suas categorias:

- Identificação do estudo: Autores, ano de publicação, idioma, país e referência completa.
- Desenho do estudo: Número de experimentos ou replicação, grupo comparador (controle ou tratado), exposição a outro teste comportamental (antes do teste do nado forçado).
- Características da população: Sexo, espécie, idade, linhagem, peso e protocolo de estresse.
- Características do acondicionamento: Ciclo de luz, temperatura, umidade, tamanho da gaiola e número de animais por caixa de moradia.
- Características da intervenção: Antidepressivo, classe do antidepressivo, dose, duração do tratamento, via de administração, quantidade de administrações/dia, tempo entre a administração e o desfecho.
- Características dos desfechos: Imobilidade (tempo, %, *scores*, etc.) média em qualquer sessão do nado forçado (ou repetido) em que os animais foram tratados previamente. Desvio padrão da média, erro padrão da média ou outra medida de dispersão que permite o cálculo; tamanho da amostra e número de comparações com o grupo comparador.
- Outros (específicos para o teste do nado forçado): Protocolo do teste do nado forçado utilizado, método para acessar desfecho (manual ou automatizado), dimensão do tanque, temperatura e altura da água no cilindro.

Quando os dados -principalmente quantitativos- estavam apresentados em figuras, realizou-se a extração com o auxílio da ferramenta “medir” do Adobe (Figura 2). Para extração dos dados dos artigos escritos em outros idiomas que não inglês e português, utilizou-se o aplicativo de celular *Google Lens* (Figura 2) para traduzir tais idiomas para o inglês. Escolheu-se esse aplicativo porque com ele é possível fazer traduções de idiomas com alfabetos não

latinos de forma eficaz, enquanto a função de traduzir documentos do google tradutor apenas traduz algumas palavras dentro do texto. A tradução de artigos através do Google Lens foi realizada com um aparelho celular, clicando em “Pesquise usando a câmera” e “Traduzir”. Assim, ao direcionar a câmera do celular para o texto, é realizada uma tradução automática que pode ser salva em formato de imagem. Um tutorial curto desse procedimento pode ser acessado nesse [vídeo](#).

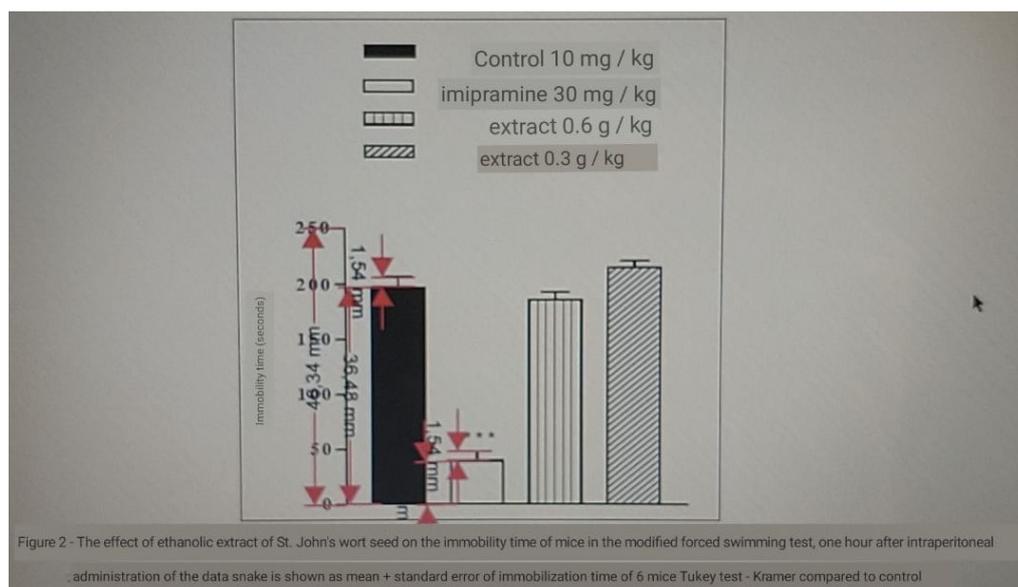


Figura 2 - Ferramenta “medir” e “Google Lens” na extração dos dados. As setas em vermelho mostram as medidas do eixo y e das barras, com a ferramenta “medir” do Adobe. Acima das barras e abaixo da figura, estão presentes os textos traduzidos em tempo real com o aplicativo de celular “Google Lens”.

2.8 AVALIAÇÃO DE RISCO DE VIÉS (QUALIDADE)

Para estabelecer margens de confiança sobre os resultados da meta-análise e verificar o impacto da qualidade sobre o tamanho de efeito, acessou-se os riscos de vieses referentes a qualidade interna e externa dos estudos incluídos. Conduzido por um revisor com o auxílio de *checklists* adaptados de: SYRCLE¹ *Rob tool* (HOOIJMANS et al., 2014) e CAMARADES² (MACLEOD et al., 2004), e um segundo revisor conferiu e destacou as inconsistências. Esse processo foi feito de forma distinta à planejada no protocolo, que previa uma extração por dois revisores independentes, porém devido ao tempo limitado não foi possível aplicá-lo.

¹ Systematic Review Centre for Laboratory animal Experimentation, www.SYRCLE.nl

² Collaborative Approach to Meta-Analysis and Review of Animal Data from Experimental Studies, www.camarades.info.

2.8.1 Qualidade interna (ROB SYRCLE)

A qualidade dos estudos usando a ferramenta ROB SYRCLE foi avaliada a partir de perguntas, com respostas “sim”, “não”, e “incerto”, que corresponderão a: “baixo”, “alto”, e “incerto” risco de viés, respectivamente (HOOIJMANS et al., 2014). As perguntas adaptadas do *checklist* SYRCLE são: (1) A alocação de tratamento foi adequadamente gerada e aplicada? (2) Os grupos (controle e tratado) eram similares no início do experimento? (3) A alocação foi adequadamente escondida? (4) Os animais foram acondicionados aleatoriamente? (5) Os investigadores eram cegos quanto ao tratamento durante os experimentos? (6) Os animais foram selecionados aleatoriamente para acessar o desfecho? (7) A avaliação do resultado foi cega? (8) Dados incompletos foram adequadamente endereçados? e.g. razão pertinente para ausência de dado, (9) Os relatos do estudo são livres de seleção de desfecho relatado? e.g. só relatar os resultados estatisticamente significantes, e (10) O estudo está aparentemente livre de algum outro problema que poderia resultar em alto risco de viés? Sendo classificadas nos tipos de risco: viés de seleção (1, 2 e 3), viés de desempenho (4 e 5), viés de detecção (6 e 7), viés de atrito (8), viés de relato (9) e outro tipo de viés (9) (HOOIJMANS et al., 2014) . A forma de como foi realizado o julgamento para cada questão se encontra no quadro abaixo (Quadro 3):

Quadro 3 - Julgamento das perguntas ROB SYRCLE.

Item	Julgamento
(1) A alocação de tratamento foi adequadamente gerada e aplicada?	O estudo descreve os métodos usados, se houver, para gerar a sequência de alocação em detalhes suficientes para permitir uma avaliação se deve produzir grupos comparáveis? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto".
(2) Os grupos (controle e tratado) eram similares no início do experimento?	O estudo descreve todos os possíveis fatores prognósticos ou características dos animais, se houver, que são comparados a fim de julgar se os grupos de intervenção e controle eram semelhantes no início do experimento? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto".
(3) A alocação foi adequadamente escondida?	O estudo descreve o método usado para ocultar a sequência de alocação em detalhes suficientes para determinar se as alocações de intervenção poderiam ter sido previstas antes ou durante a designação? * Quando

	afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto".
(4) Os animais foram acondicionados aleatoriamente?	O estudo descreve todas as medidas usadas, se houver, para alojar os animais aleatoriamente na sala dos animais? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto". Obs.: Apenas afirmar que foi "alojado aleatoriamente" não é suficiente, é necessário descrever como.
(5) Os investigadores eram cegos quanto ao tratamento durante os experimentos?	O estudo descreve todas as medidas usadas, se houver, para que os cuidadores e pesquisadores do ensaio cego saibam qual intervenção cada animal recebeu? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto".
(6) Os animais foram selecionados aleatoriamente para acessar o desfecho?	O estudo descreve se os animais foram selecionados aleatoriamente ou não para avaliação dos resultados e quais métodos para selecionar os animais, se houver, foram usados? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto". Obs.: Aplicado quando existe um número "x" de animais no grupo, mas o resultado só é acessado em "y" animais.
(7) A avaliação do resultado foi cega?	O estudo descreve todas as medidas usadas, se houver, para cegar avaliadores de resultados de saber qual intervenção cada animal recebeu? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto".
(8) Dados incompletos foram adequadamente endereçados?	O estudo descreve a integridade dos dados do resultado para cada resultado principal, incluindo atrito e exclusões da análise. Declara se atritos e exclusões foram relatados, os números em cada grupo de intervenção (em comparação com o total de animais randomizados), motivos para atritos ou exclusões e quaisquer reinclusões nas análises? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto". Obs.: O número de animais na seção de métodos e nos resultados foi o mesmo? O número de animais nos grupos é igual? Explicaram por que não?
(9) Os relatos do estudo são livres de seleção de desfecho relatado?	Declara como o relato seletivo de resultados foi examinado e o que foi encontrado? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido,

	considerou "Incerto". Obs: Os desfechos especificados nos métodos e resultados são os mesmos?
(10) O estudo está aparentemente livre de algum outro problema que poderia resultar em alto risco de viés?	O estudo indica alguma preocupação importante sobre o viés não coberto por outros domínios da ferramenta? * Quando afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não mencionou ou não ficou nítido, considerou "Incerto".

* = Descrição original (HOOIJMANS et al., 2014).

2.8.2 Qualidade externa e condutas (CAMARADES adaptado)

Os itens do *checklist* CAMARADES foram julgados como “sim”, “não”, e “incerto”, e algumas variações mais específicas de acordo com o item (Quadro 4). Os itens adaptados são: (1) Estudo seguiu algum guia; (2) Declaração de conformidade com os regulamentos de bem-estar animal; (3) Declaração de possíveis conflitos de interesse; (4) Relato das condições de acondicionamento ou ações para melhora do bem estar dos animais experimentais; (5) Relato da espécie/linhagem ou características específicas dos animais; (6) Relato do fenótipo de interesse; (7) Relato da idade, peso ou estágio de vida dos animais; (8) Relato do sexo dos animais; (9) Relato sobre o método do teste comportamental e aquisição dos desfechos comportamentais; e (10) Relato do cálculo amostral.

Quadro 4 - Julgamento dos itens adaptados do CAMARADES.

Item	Julgamento
(1) Estudo seguiu algum guia.	Se usaram algum guia relacionado a relatório ou uso de animais, considerou apenas “Sim”. Também foi anotada informação adicional sobre o guia, e.g.: ARRIVE, guia para uso de animais de laboratório. Se claramente não usou nada, considerou "Não". E se não menciona ou não ficou nítido, considerou "Incerto".
(2) Declaração de conformidade com os regulamentos de bem-estar animal.	Se declarou, considerou “Sim”. Se nitidamente não, considerou “Não”. Se não menciona ou não ficou nítido, considerou “Incerto”.
(3) Declaração de possíveis conflitos de interesse.	Se no artigo está presente a declaração confirmatória quanto ao conflito de interesse, considerou “Sim, com conflito”. Se declarou não ter conflito de interesse, considerou: “Sim, sem conflito”. Se não está presente, considerou “Não”.
(4) Relato das condições de acondicionamento ou ações para melhora do bem-estar dos animais experimentais.	Se: 1. declararam preocupação sobre isso, 2. relatou ao menos 3 de 5 condições do biotério (medidas da gaiola, animais por gaiola, umidade, ciclo de luz e temperatura) considerou "Sim". Se reportarem menos de 3,

	considerou "Incerto". E se não reportaram, considerou "Não".
(5) Relato da espécie/linhagem ou características específicas dos animais.	Em caso afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não". E se não menciona ou não ficou nítido, considerou "Incerto".
(6) Relato do fenótipo de interesse.	e.g. estressado e/ou depressivo. Em caso afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não".
(7) Relato da idade, peso ou estágio de vida dos animais.	Em caso afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não".
(8) Relato do sexo dos animais.	Em caso afirmativo, considerou "Sim". Se nitidamente não, considerou "Não".
(9) Relato sobre o método do teste comportamental e aquisição dos desfechos comportamentais	e.g. pré-teste 15 min + teste 5 min e automatizado. Em caso afirmativo, considerou "Sim". Se não relatou ao menos um deles (protocolo ou método de aquisição), considerou "Não". E se relatou um deles (protocolo ou método de aquisição), considerou "Incerto".
(10) Relato do cálculo amostral.	Se relatou como o tamanho da amostra foi calculado, considerou "Sim". Caso contrário, foi atribuído "não". Se não estivesse nítido, considerou "Incerto".

Na primeira versão desse documento havia mais um item a respeito da revista em que o estudo foi publicado, se era revisada por pares ou se estava listada do site <https://predatoryjournals.com/>. Porém, o site foi retirado do ar, então esses resultados foram retirados na versão final do documento.

2.9 DESTAQUE DE PALAVRAS-ALVO NAS PUBLICAÇÕES

Para facilitar a extração de dados qualitativos e de risco de viés, fora utilizada a ferramenta “Assistente de ação” do *software* Adobe Acrobat Pro DC (NUR; ADAMS; BRAILSFORD, 2016), com ela a extração dos dados é facilitada e reduz-se a incidência de erros nessa fase (DO PRADO, 2021). Essa ferramenta permite aplicar um conjunto de comandos personalizados, denominado ações, a um conjunto de documentos, diminuindo o tempo dedicado à análise manual de um documento por vez. No presente trabalho, foi utilizada uma ação já existente “Find and Highlight Words” baixada da web (<https://acrobatusers.com/actions-exchange/?trackingid=JZXYQ>). Essa ação contém os comandos “Pesquisar e remover texto”, “Destacar” e “Salvar”, onde o primeiro reconhece palavras-alvo, o segundo destaca essas palavras, e por fim, a terceira salva todos os arquivos de PDF automaticamente.

A partir dessa ação, foi realizada pela autora a personalização de acordo com as necessidades do trabalho. Criou-se arquivos .txt com palavras alvos de: qualidade (risco de viés), Intervenção e população, importados para a função “Pesquisar e remover texto”, a opção “Diferenciar maiúsculas/minúsculas” permaneceu desabilitada, e a opção “Apenas palavras inteiras” foi habilitada somente para o conjunto de palavras-alvo da população. Para cada conjunto de palavras aplicou-se o comando “Destacar” personalizando a variável do *Javascript* “colHilite = color.yellow” com as cores: *cyan* = ciano (qualidade), *green* = verde (intervenção) e *magenta* = magenta (população). Tanto a Ação personalizada quanto os arquivos .txt de cada conjunto de palavras podem ser acessados no repositório do projeto no [OSF](#) (pasta: ActionWizard_AssistenteDeacao). A Figura 3 apresenta como exemplo um *printscreen* do PDF de um estudo o qual passou por esse processo.

Method
1. Animals
 Male adult Wistar rats (60 days old, 250-300g) were obtained from Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), Criciúma, Brazil) breeding colony. Four were housed per cage with food and water available *ad libitum* and maintained on a 12-h light/dark cycle (lights on at 7:00 AM). All experimental procedures involving animals were performed following the NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and the Brazilian Society for Neuroscience and Behavior (SBNeC) recommendations for animal care, with the approval of UNESC Ethics Committee of accord with protocol number 543/2007. Additionally, all efforts were made to minimize animal suffering as well as to reduce the number of animals.

2. Acute administration of ketamine and imipramine
 Ketamine was obtained from Fort Dodge (Brazil) and imipramine, the standard antidepressant, from Novartis Pharmaceutical Industry (Brazil). Different groups of rats (n = 8 each^{33,34}) were administered intraperitoneally with saline or different doses of ketamine (5, 10 and 15mg/kg) or imipramine (10, 20 and 30mg/kg) 60 minutes before the test session (forced swimming test). The range of doses of ketamine employed in this work was chosen based on a previous study, which reported an increase in spontaneous locomotor activity at 25mg/kg, while no changes were observed at 10mg/kg³³. None of the rats was excluded.

Figura 3 - Exemplo de resultado da ação “Find and Highlight Words”. Destaque de palavras-alvo através da ferramenta “Assistente de Ação” do Acrobat Pro DC. Cores de acordo com as categorias: ciano = qualidade, verde = intervenção e magenta = população. Estudo: (ASSIS et al., 2009)

2.10 SÍNTESE DOS DADOS E TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Foi conduzida uma síntese qualitativa e quantitativa dos resultados. Na narrativa descreveu-se as características predominantes dos estudos incluídos na revisão, assim como sua respectiva qualidade avaliada. Além da meta-análise conduzida, devido os dados apresentaram elevada heterogeneidade (I^2), também foi conduzida uma meta-análise estratificada e meta-regressão para explorar a heterogeneidade, quando o número de estudos permitiu. A meta-análise foi conduzida a partir do pacote *metafor* (VIECHTBAUER, 2010) no *software* R (R CORE TEAM, 2021). Os códigos das análises assim como os arquivos com dados podem ser encontrados no [github](#) e no repositório do projeto na plataforma [OSF](#).

2.10.1 Medida de efeito

Os cálculos do tamanho de efeito para o desfecho primário (variável quantitativa contínua) foram realizados a partir da diferença entre as médias padronizadas, que permite ser calculado para diferentes escalas de medidas do mesmo desfecho (e.g. duração da imobilidade em segundos e %). A medida será expressa em Hedges' g , que corrige viés para tamanho amostral pequeno (HEDGES; OLKIN, 1985), comum em estudos com animais.

O cálculo é baseado nas médias, desvios padrões e tamanho da amostra dos dois grupos comparados (Equação 3 e 4, (VESTERINEN et al., 2014)). Para grupo comparador com mais de uma comparação, será feita uma correção do tamanho do grupo pelo número de comparações incluídas na meta-análise (Equação 5, (VESTERINEN et al., 2014)), assim o peso atribuído ao tamanho de efeito não será exacerbado. Em uma publicação em particular (KULKARNI; BHUTANI; BISHNOI, 2008), o número de grupos tratados comparados ao grupo controle excedeu o número de animais dentro do grupo controle (n grupos = 9, n controle = 6), não permitindo o mínimo de um animal por controle comparado ao tratado. Nesse caso, foi realizado o sorteio (<https://sorteador.com.br/>) de uma comparação/dose por fármaco, onde de três fármacos com três doses, permaneceu uma dose para cada fármaco. Também, para as publicações que apresentaram o mesmo desfecho (imobilidade no nado forçado) mais de uma vez para o mesmo grupo de animais, p.e. em dois momentos diferentes, realizou-se um sorteio (<https://sorteador.com.br/>) para escolha de apenas um desfecho por grupo.

$$ES = \frac{\bar{x}_c - \bar{x}_{rx}}{Spooled} \times \left(1 - \frac{3}{4N - 9}\right) \quad (3)$$

Equação 3. ES = tamanho de efeito, \bar{x}_c = média do controle, \bar{x}_{rx} = média do tratado, Spooled = desvio padrão agrupado, N= tamanho amostral total.

$$Spooled = \sqrt{\frac{(n'_c - 1)SD_c^2 + (n_{rx} - 1)SD_{rx}^2}{N - 2}} \quad (4)$$

Equação 4. n'_c = tamanho amostral controle corrigido, n_{rx} = tamanho amostral tratado, SD_c^2 = desvio padrão controle, SD_{rx}^2 = desvio padrão tratado, N = tamanho amostra total.

$$n'_c = \frac{n_c}{n_{rx}} \quad (5)$$

Equação 5. n'_c = tamanho amostral controle corrigido, n_c = tamanho amostral controle, n_{rx} = tamanho amostral tratado.

2.10.2 Medida de efeito global

Para estimar o tamanho de efeito global (TEG) a partir do conjunto de comparações, foi utilizado o modelo de efeitos aleatórios devido a heterogeneidade prevista entre os estudos (DERSIMONIAN; LAIRD, 1986). O método aplicado foi o “estimador de máxima verossimilhança restrito” (*default* da função rma do pacote metafor) em vez do método de DerSimonian e Laird (presente no protocolo), pois este é negativamente enviesado quanto há moderada a alta heterogeneidade entre estudos, pois supõe que a variabilidade dentro do estudo é conhecida, quando na realidade é estimada (TANRIVER-AYDER et al., 2021). Ao usar modelo de efeitos aleatórios (Equação 6, (VESTERINEN et al., 2014)), o peso do tamanho de efeito de cada comparação é calculado através do inverso da soma do erro padrão do estudo ao quadrado e variância entre estudos -dada por τ^2 (τ^2) -. O tamanho de efeito estimado será expresso em Hedges' g com 95% de intervalo de confiança.

$$ES_{rand}^* = ES \times \frac{1}{SE^2 + \tau^2} \quad (6)$$

Equação 6. ES_{rand}^* = tamanho de efeito (por modelo de efeitos aleatórios), ES = tamanho de efeito, SE^2 = erro padrão ao quadrado, τ^2 = variância entre estudos.

Para facilitar a interpretação dos resultados, a magnitude do tamanho de efeito será considerada de acordo com as faixas: “muito pequeno” (0,01-0,19); “pequeno” (0,2–0,49); “médio” (0,5–0,79); “grande” (0,8–1,19); “muito grande” (1,2–1,99); “enorme” (≥ 2)

(SAWILOWSKY, 2009). E o resultado será considerado estatisticamente significativo quando o intervalo de confiança não se estender sobre o efeito nulo (zero), quando ocorrer, o resultado será considerado inconclusivo (NAKAGAWA; CUTHILL, 2007).

2.10.3 Heterogeneidade

Para acessar a heterogeneidade entre os estudos foram utilizados I^2 e τ^2 . O I^2 , calculado com o valor de Q Cochran (ver Equação 30 em (VESTERINEN et al., 2014) e graus de liberdade, dado pela Equação 7, se refere a proporção da variabilidade que pode ser atribuída a heterogeneidade e não ao erro amostral, podendo ser considerada como uma medida de inconsistência, variando entre 0% (variação devido ao acaso) e 100% (variação reflete diferença real entre os tamanhos de efeito dos estudos), mas para facilitar a interpretação dos resultados iremos avaliar a inconsistência de acordo com as faixas: "muito baixa" (< 25 %); "baixa" (25 – 50 %); "moderada" (50 – 75 %); "alta" (> 75 %) (HIGGINS et al., 2003). Já o τ^2 é a medida de variância dos estudos, possibilitando quantificar a magnitude da heterogeneidade. Adicionalmente, foram exploradas possíveis fontes de heterogeneidade a partir da análise de subgrupos e meta-regressão.

$$I^2 = \frac{Q - df}{Q} \times 100\% \quad (7)$$

Equação 7. I^2 = inconsistência, Q = Q Cochran, df = graus de liberdade.

2.10.4 Análise de *outliers* e casos influentes

Como análise de sensibilidade, foram aplicados testes para identificar *outliers* e casos influentes sobre os resultados do modelo. Para isso, foi usada a função “influence()” do pacote *metafor* (VIECHTBAUER, 2010). Essa função contém uma série de procedimentos para diagnóstico de *outliers* e casos influentes sobre os resultados de modelos de efeitos aleatórios em meta-análises, são eles: resíduos padronizados externamente (rstudent), valores DFFITS (dffits), “Cook’s distances” (cook.d), razões de covariância (cov.r), estimativa “leave-one-out” da heterogeneidade (tau2.del), estimativa “leave-one-out” do teste de heterogeneidade (QE.del), valores *hat* (hat) e peso do estudo no modelo (weight) (VIECHTBAUER; CHEUNG, 2010).

O *rstudent* avalia se cada estudo se encaixa no modelo, se seu efeito observado desvia do tamanho de efeito esperado baseado em três fontes de variabilidade (variabilidade amostral, heterogeneidade e imprecisão do efeito previsto), e se o resíduo ultrapassar o limite de 1,96, esse será considerado um *outlier*. O *dffits* indica por quantos desvios padrões o efeito médio previsto para o estudo muda após exclusão desse no ajuste do modelo. E o *cook.d* é uma medida para examinar o efeito da exclusão do estudo no modelo, através da distância entre os valores previstos para todos os estudos, incluindo e excluindo o estudo avaliado do modelo ajustado. Tanto o valor de *dffits* quanto de *cook.d* evidenciam os estudos que podem ser considerados casos influentes.

Um valor de *cov.r* menor que um indica que a remoção do estudo provavelmente produz estimativas mais precisas do coeficiente estimado pelo modelo. Também é possível calcular o percentual de precisão obtida ao excluir o estudo do modelo, através do inverso do valor de *cov.r*. O *tau2.del* revela quanto da heterogeneidade é alterada quando o estudo é excluído do modelo, e o *QE.del* examina mudanças no teste estatístico para heterogeneidade após exclusão do estudo. Alteração em ambas estimativas podem sinalizar a presença de um *outlier* e/ou caso influente. Por fim, os valores de *hat* e *weight* revelam quanto o estudo contribui para o tamanho de efeito predito e modelo.

Depois de examinados esses índices, verificou quanto da estimativa do modelo foi alterada com a exclusão de cada estudo sinalizado como *outlier* e influente. Quando grandes mudanças ocorreram, foi realizada uma inspeção minuciosa do estudo, para verificar possíveis erros dos valores tabulados e características singulares dentro do estudo.

2.10.5 Análise de viés de publicação

O viés de publicação foi estimado a partir do gráfico de funil, “*Egger’s regression*“, “*Trim and fill*” e “*Weight-Function model*”. Os três primeiros métodos citados estão mais relacionados a um possível efeito de pequenos estudos, que podem estar sujeitos a publicação seletiva e consequente viés de publicação, mas não são a única fonte do viés, enquanto o “*Weight-Function model*” é mais direcionado para avaliar um possível viés de publicação. No gráfico de funil checou-se a simetria na distribuição dos estudos, dado pelo erro padrão da média ou inverso da raiz do tamanho amostral no eixo y (ordenada) e valor do tamanho de efeito no eixo x (abscissa). Escolheu-se realizar a análise com ambos os moderadores no eixo y, porque o erro padrão ou inverso de erro padrão podem levar a uma distorção do funil quando

o tamanho de efeito utilizado é a diferença entre as médias padronizada, uma vez que no cálculo do erro padrão da média é incluída a própria diferença entre as médias padronizadas, tendo como consequência falsos positivos na inspeção visual do gráfico e no resultado do “*Egger’s regression*” (ZWETSLOOT et al., 2017), principalmente quando os estudos possuem pequeno tamanho amostral.

A assimetria foi testada pela *Egger’s regression*, onde uma forte correlação indicaria o efeito de pequenos estudos favorecendo um resultado (LIN; CHU, 2018), uma vez que estudos pequenos possuem um menor poder, variando seus resultados numa ampla faixa de tamanhos de efeitos, de positivos à negativos, e seu acúmulo à um dos lados do gráfico de funil, pode evidenciar a supressão na publicação desses estudos quando os resultados são negativos. Complementarmente, através da técnica meta-analítica “*Trim and fill*”, foram adicionados ao gráfico, estudos teóricos ausentes (SENA et al., 2014) e fora ajustado o tamanho de efeito global estimado (DUVAL; TWEEDIE, 2000). Por fim, utilizou-se o “*Weight-Function model*”, para avaliar um possível viés de publicação, através da redistribuição do peso dos estudos de acordo com probabilidade de publicação, onde estudos com valores de p menores que o nível de significância estatística ($\alpha = 0,05$) tiveram seus pesos diminuídos, e um novo tamanho de efeito global do modelo ajustado foi calculado (VEVEA; HEDGES, 1995).

2.10.6 Análise de subgrupos e meta-regressão

Para verificar o impacto das características dos estudos e qualidade sobre a eficácia dos tratamentos, conduziu-se a análise de subgrupos. A variável dependente, como descrito anteriormente, é o tamanho de efeito para imobilidade no teste do nado forçado (primária). Enquanto as variáveis independentes são as mais diversas: espécie, linhagem, sexo, protocolo do teste do nado forçado, idade dos animais, regime do fármaco, dose, tempo entre administração e desfecho, e outros.

A análise de subgrupos para o desfecho primário foi realizada através de meta-análise estratificada para as variáveis independentes categóricas nominais, e meta-regressão para as variáveis quantitativas contínuas ou categóricas ordinais. Estabelecendo como número mínimo de estudos os seguintes critérios arbitrários: três por categoria da variável na análise estratificada e dez estudos por variável na meta-regressão. Além dessas análises, também foi conduzida uma verificação do impacto da qualidade dos estudos na eficácia do tratamento. Para isso, utilizou-se a pontuação de qualidade previamente atribuída (ROB SYRCLE), como fator

moderador na meta-regressão. Foi atribuída a pontuação para cada pergunta por estudo, sendo: “sim” = 1 ponto, “não” = -1 ponto e “incerto” = 0, somando a pontuação total por estudo, que pode variar entre -10 (mínimo) a 10 (máximo) pontos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 BUSCA E SELEÇÃO

Os resultados quantitativos das etapas de busca, triagem (em duas fases de seleção) e inclusão estão presentes no fluxograma PRISMA (Figura 4). A busca foi realizada em 4 bases de dados, identificando um total de 14.719 publicações, sendo 4.017 no Pubmed *Medline*, 1.705 no Scopus, 4.767 no *Web of Science* e 4.230 no Embase. Dentro dessa biblioteca de 14.719 publicações, havia trabalhos encontrados em mais de uma base de dado, podendo ter as informações de identificação idênticas ou com algumas diferenças, p.e. uma possuía o nome completo da revista e outra apresentava a abreviação do nome. Assim, foi realizada a exclusão de duplicadas automatizada no *software* EndNote em um total de 4.349 publicações, e por conferência manual em um total de 5.233. Com isso, um total de 5.137 publicações passaram para a etapa de seleção a partir de critérios de elegibilidade pré-estabelecidos. Ao analisar o título e resumo na primeira fase da seleção, um total de 344 artigos foram excluídos (critérios descritos na Figura 4, lista de referências no [OSF](#)), resultando em 4.793 publicações para acessar o texto completo, contudo só foi possível acessar um total de 4.474 artigos, pois os outros 319 não foram encontrados.

Na segunda fase da seleção, através da avaliação do texto completo, um total de 1.913 publicações foram excluídas. Ao final do processo de seleção, um total de 2.588 publicações foram incluídas na biblioteca, que com posterior sorteio, selecionou-se de modo aleatório 200 publicações para a condução do presente trabalho (detalhes na seção 2.6 CÁLCULO DE PODER E AMOSTRAGEM, lista de referências no [APÊNDICE B](#)), e dentre essas publicações havia 561 estudos. Durante o processo de extração de dados, mais 28 publicações foram excluídas por não atenderem aos critérios de seleção, restando 2.560 publicações na biblioteca (lista de referências no [OSF](#)).

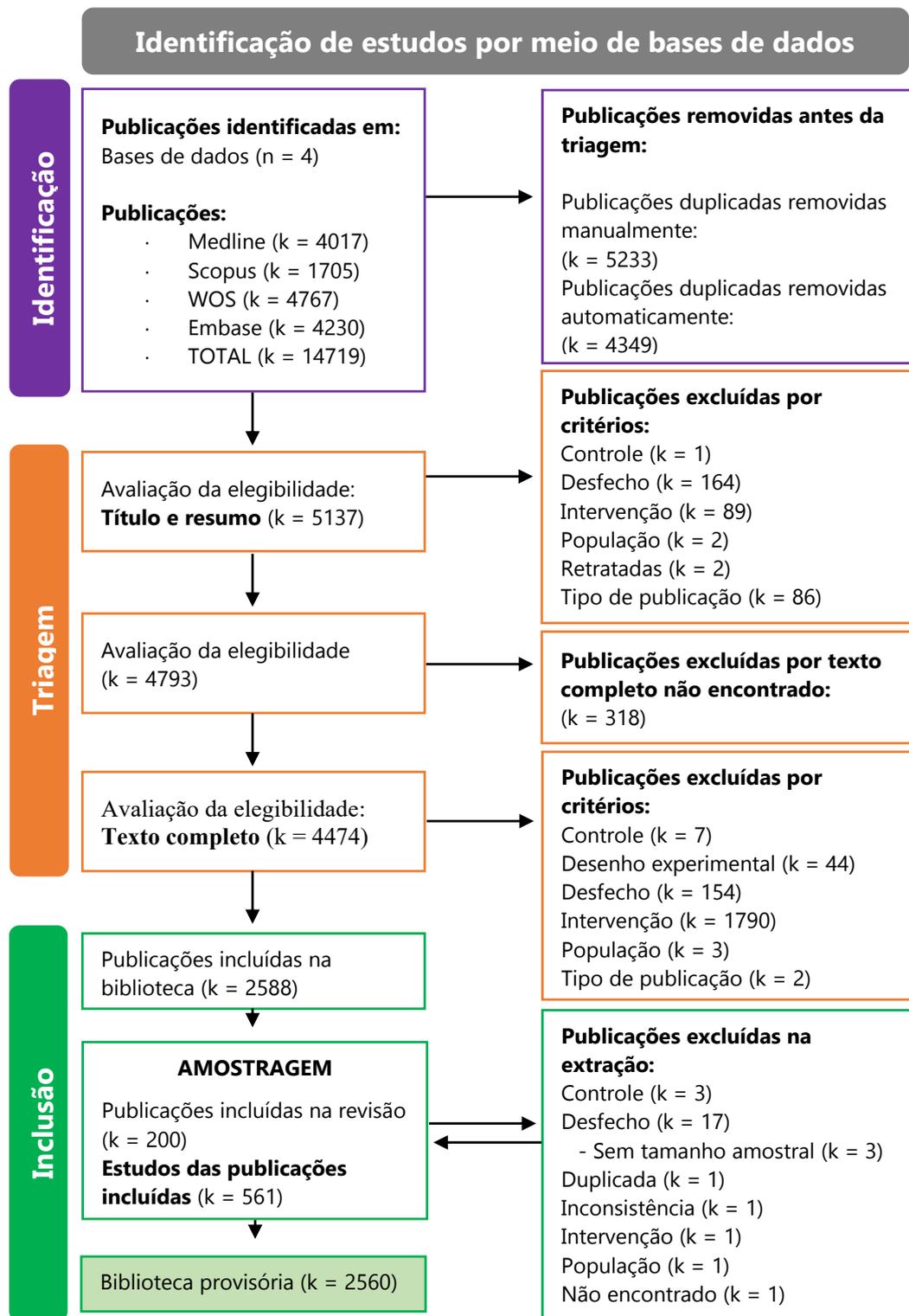


Figura 4 - Fluxograma PRISMA da revisão sistemática. Adaptado de (PAGE et al., 2021).

3.1.1 Concordância entre os revisores no processo de seleção

Na Tabela 2, estão presentes os resultados contendo o Kappa de Cohen (κ), intervalo de confiança, percentual de acordo entre os observadores e número de observações (n), para cada análise realizada.

Tabela 2 - Confiabilidade e concordância entre revisores na fase de seleção.

Categoria	K	IC95 κ	% de concordância	n
Primeira biblioteca: <i>Medline (PubMed)</i> , SCOPUS e <i>Web of Science</i>				
Atribuição da seleção	0,90	0,88-0,91	94,9	4017
Motivo de exclusão	0,89	0,83-0,95	96,3	1901
Segunda biblioteca: Embase				
Atribuição da seleção	0,77	0,73-0,81	89,1	1120
Motivo de exclusão	0,61	0,43-0,80	73,6	614

Legenda: κ = Kappa de Cohen (confiabilidade); IC95 κ = intervalo de confiança em 95% do valor de Kappa; % de concordância = percentual de acordo entre os observadores, n = número de observações.

Os resultados mostram um alto índice de confiabilidade entre os revisores na primeira biblioteca, mais precisamente, o resultado do Kappa classifica como quase perfeito para ambos: atribuição da seleção (0,90, IC95%: 0,88-0,91) e motivo de exclusão (0,89, IC95%: 0,83-0,95). Além disso, o percentual de concordância foi de 94,9% e 96,3% respectivamente, com uma margem de desacordo baixíssima. Já os resultados da segunda biblioteca foram inferiores, a confiabilidade inter-observadores foi de 0,77 (IC95%: 0,73-0,81) para atribuição da seleção e 0,61 (IC95%: 0,43-0,80) para o motivo de exclusão. Porém, o percentual de concordância para atribuição da seleção foi de 89,1% e para motivo de exclusão foi 73,6%.

3.1.2 Discussão sobre a busca e seleção

Aproximadamente 2/3 das publicações recuperadas na busca eram duplicadas, mostrando que algumas publicações estão presentes em mais de um base bibliográfica, e a tradução da estratégia de busca aplicada foi suficiente para acessá-las nas diferentes bases. Após a seleção, quase a metade das publicações foram incluídas na biblioteca, revelando uma especificidade moderada.

Na primeira etapa de seleção (título e resumo), a razão de exclusão para a maioria das publicações foi o desfecho. Essas exclusões foram realizadas prontamente nessa fase pois se tratavam de resumos publicados em conferências, os quais usualmente os autores relatam apenas o resultado do teste estatístico, mas não os dados de tendência central, variância e tamanho amostral dos grupos. Esse hábito leva a uma perda preciosa de dados na literatura, pois esse tipo de publicação é uma das fontes de literatura cinzenta (SCHERER; SALDANHA, 2019), que seria de interesse incluí-las na biblioteca, para se obter estimativas de efeitos mais fidedignas ao que está sendo produzido na área.

Para excluir a grande maioria dos estudos, foi preciso acessar o texto completo na segunda etapa da seleção. Isso ocorreu porque muitos estudos usam os antidepressivos e/ou usam o teste do nado forçado como algo complementar, e não como o principal objetivo do estudo, assim, só os menciona no corpo do artigo e não no resumo. Nessa mesma etapa, podemos perceber também que algumas publicações foram excluídas por mais de uma razão, normalmente por causa da intervenção e desfecho. Vinte e oito publicações precisaram ser excluídas durante a extração de dados, as quais os critérios de exclusão não foram percebidos durante a seleção. A maioria faltava informações sobre o desfecho, três delas referentes ao tamanho amostral dos grupos, que não foram encontrados no artigo, material complementar, e o autores não retornaram o contato via *ResearchGate* e e-mail.

Os resultados de confiabilidade e concordância na seleção diferiu entre as duas bibliotecas. Como o motivo de exclusão possui mais opções de categorias para atribuir, aumenta a chance de desacordo entre os revisores. Tanto para “atribuição da seleção” quanto para “motivo de exclusão”, as atribuições da primeira biblioteca alcançaram uma confiabilidade e concordância maior. Esse resultado pode estar relacionado a experiência dos revisores com o assunto trabalhado na revisão, que é mais consistente nos revisores da primeira biblioteca. Mas, ambos resultados de confiabilidade da segunda biblioteca se encontram na faixa considerada como “substancial”, a qual ainda pode ser considerada uma confiabilidade adequada (MCHUGH, 2012). De qualquer forma, as discrepâncias observadas foram resolvidas por um terceiro avaliador, portanto, não influenciam o resultado final desta revisão.

No contexto que esse trabalho se encontra, esses resultados evidenciam a importância de realizar a seleção das publicações de uma revisão sistemática por dois revisores de forma independente, com um terceiro indivíduo para apreciação das atribuições e decisão final, ou através de um consenso entre os revisores, uma vez que esse processo pode ser diretamente

influenciado pela experiência (WAFFENSCHMIDT et al., 2019) e atenção dos revisores na realização da tarefa, além do conhecimento prévio sobre o tema estudado.

3.2 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Nessa seção estão presentes as características extraídas da amostra. Na primeira parte se encontra a análise de confiabilidade e concordância entre os revisores, e na segunda, a descrição dessas características com as discordâncias corrigidas.

3.2.1 Extração dos dados: concordância

Na Tabela 3 é possível verificar o resultado da concordância entre o primeiro e o segundo revisor, os resultados estão expressos em Kappa de Cohen (κ), intervalo de confiança, percentual de acordo entre os observadores e número de observações (n), para cada categoria de informação extraída: características da amostra, quantitativa (medidas do desfecho) e qualidade, para detalhes ver seções [2.7](#) e [2.8](#).

Tabela 3 - Confiabilidade e concordância entre revisores na extração dos dados.

Categoria	κ	IC95 κ	% de concordância	n
Características	0,999	0,998-1,00	99,2	16257
Quantitativa	0,995	0,992-0,998	98,8	9758
Qualidade	0,97	0,97-0,98	98,4	11907

Legenda: κ = Kappa de Cohen (confiabilidade); IC95 κ = intervalo de confiança em 95% do valor de Kappa; % de concordância = percentual de acordo entre os observadores, n = número de observações.

Os resultados mostram um alto índice de confiabilidade entre os revisores em todas as categorias de dados, com uma classificação de Kappa como quase perfeito e intervalo de confiança bastante estreito. O percentual de concordância também foi bastante satisfatório para as três categorias de dados: características da amostra (99,2 %), quantitativa (medidas do desfecho, 98,8 %) e qualidade (98,4 %).

Nas características da amostra, as discordâncias aconteceram em informações diversas, nos dados quantitativos as discordâncias eram mais frequentes para o tamanho amostral. E nos dados sobre qualidade, a maioria das discordâncias eram sobre a primeira questão do ROB SYRCLE “A alocação de tratamento foi adequadamente gerada e aplicada?” e o 10º tópico do CAMARADES adaptado “Relato sobre o método do teste comportamental e aquisição dos desfechos comportamentais”.

Na pergunta ROB SYRCLE sobre alocação, a discordância se deu porque um dos revisores considerou como “sim” quando no artigo só estava relatado que os grupos foram determinados de forma aleatória, enquanto o outro revisor só considerou um “sim” quando o autor relatava também de que forma a randomização foi feita. Já no tópico 10 do CAMARADES, a discordância se deu porque um revisor considerou como “sim” quando o autor mencionava o protocolo e qual comportamento fora extraído do nado forçado, enquanto o outro revisor só considerava como “sim” quando o autor relatava diretamente qual metodologia tinha sido usada para acessar o comportamento (e.g. manual, videoanálise).

3.2.2 Características da amostra

Essa sessão é um passeio por dentro da amostra, com descrição dos dados extraídos das publicações incluídas ($k = 200$), sendo 119 delas com camundongos e 81 com ratos. A estatística descritiva utilizada para as variáveis numéricas foi a mediana, como medida de tendência central, e intervalo interquartil, para medida de dispersão. Essa escolha se dá porque nem todas os dados apresentaram uma distribuição normal, então o valor se mantém mais fidedigno aos dados nesses casos, quando comparamos a uma média, e quando a distribuição dos dados é próxima da curva normal, o resultado da mediana se aproxima da média.

As variáveis dessa seção permitiam ser avaliadas em três níveis diferentes: número publicações (k), estudos (k) e animais (n). Porém, cada uma foi julgada individualmente para estabelecer qual nível faria mais sentido analisar. As características da publicação por exemplo, obviamente faz mais sentido analisar a nível de publicação, assim como condições de biotério que normalmente são padronizadas. Variáveis como sexo ou espécie é mais enriquecedor analisar a nível de número de animais e estudos, pois uma publicação pode ter mais de um estudo e cada um utilizando um sexo ou espécie diferente. O nível escolhido para análise de cada variável está descrito no eixo (x ou y) de cada figura a seguir.

3.2.2.1 Sobre as publicações

Nessa amostra, as publicações incluídas foram publicadas a partir de 1986 até 2017 (Figura 5), ainda que as publicações da biblioteca geral incluam estudos a partir de 1977. É possível perceber um aumento no número de publicações com o tempo, sendo a menor

quantidade com uma publicação, em 1987, 1989, 1995, 1996, 2000 e 2003 e maior quantidade em 2014, com 28 artigos publicados.

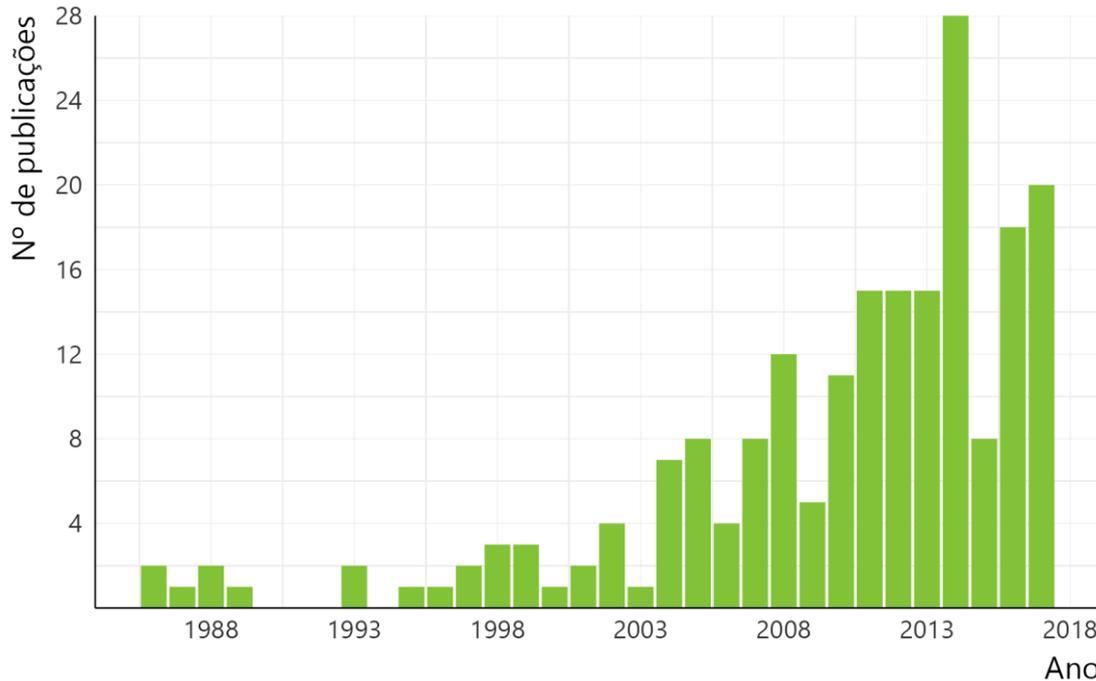


Figura 5 - Número de publicações da amostra distribuídas no tempo. No eixo y se encontra o número de publicações incluídas na amostra ($k = 200$). Os números de publicações estão distribuídos de acordo com o ano de publicação no eixo x.

A grande maioria das publicações incluídas na amostra tem como idioma o inglês ($k = 196$), seguido do persa ($k = 3$) e um em mandarim (Figura 6). Os primeiros autores dos artigos estão vinculados a instituições de países localizados nos cinco continentes. Na amostra que inclui publicações de 1986 até 1996 as publicações se concentram na América do Norte, Europa e Ásia. Na amostra até 2006 já inclui publicações na América do Sul, onde o Brasil aparece com duas publicações, e a Itália e Japão se tornam os países com maior número de publicações ($k = 7$ e $k = 6$) comparados aos outros países. Porém, na amostra até 2017, os países com maior número de publicação (mais de 10), destacados na Figura 6, são: Índia ($k = 29$), China ($k = 28$), Japão ($k = 19$), Brasil ($k = 18$), Estados Unidos ($k = 12$), Itália ($k = 12$), e Polônia ($k = 11$).

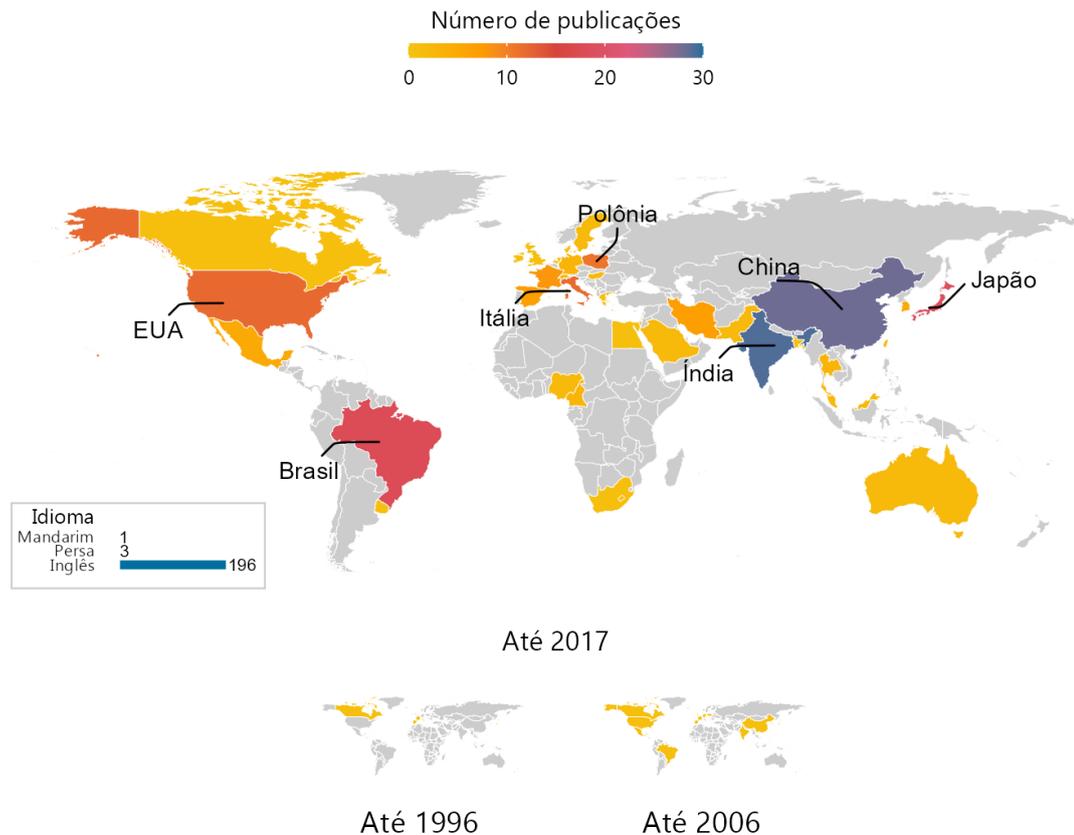


Figura 6 - Número de publicações da amostra distribuídas por país e idioma. No mapa é apresentado o número de publicações por país ($k = 200$), do amarelo (menor número) ao azul (maior número), em cinza indica países sem publicação na amostra. O mapa na posição superior contém as publicações da amostra inteira, de 1986 a 2017, os mapas na posição inferior possuem publicações de 1986 a 1996, e 1986 a 2006. Os países com os nomes em destaque são aqueles com mais de 10 publicações. No centro da imagem, canto esquerdo, está apresentada a distribuição dos idiomas das publicações.

3.2.2.2 Sobre a População

A espécie de roedores mais usada pelos estudos foram os camundongos (Figura 7a). O número de estudos utilizando ratos foi maior que camundongos na maioria dos anos até 2004, a partir desse ano a proporção de estudos utilizando camundongos foi se elevando e seguiu como maioria até 2017 (Figura 7b). Quanto ao sexo (Figura 7c), o uso de machos foi aproximadamente 5 vezes maior que o de fêmeas (6.721 *versus* 1.236), o uso de ambos os sexos foi ainda menor (451), e 358 animais não tiveram o sexo relatado. O uso de fêmeas nessa amostra só apareceu no ano de 1995 (Figura 7d), e ambos os sexos em 1996, e mesmo que ao passar dos anos aumente o número de estudos que também incluem fêmeas, ainda assim o uso de apenas machos predomina até o ano de 2017.

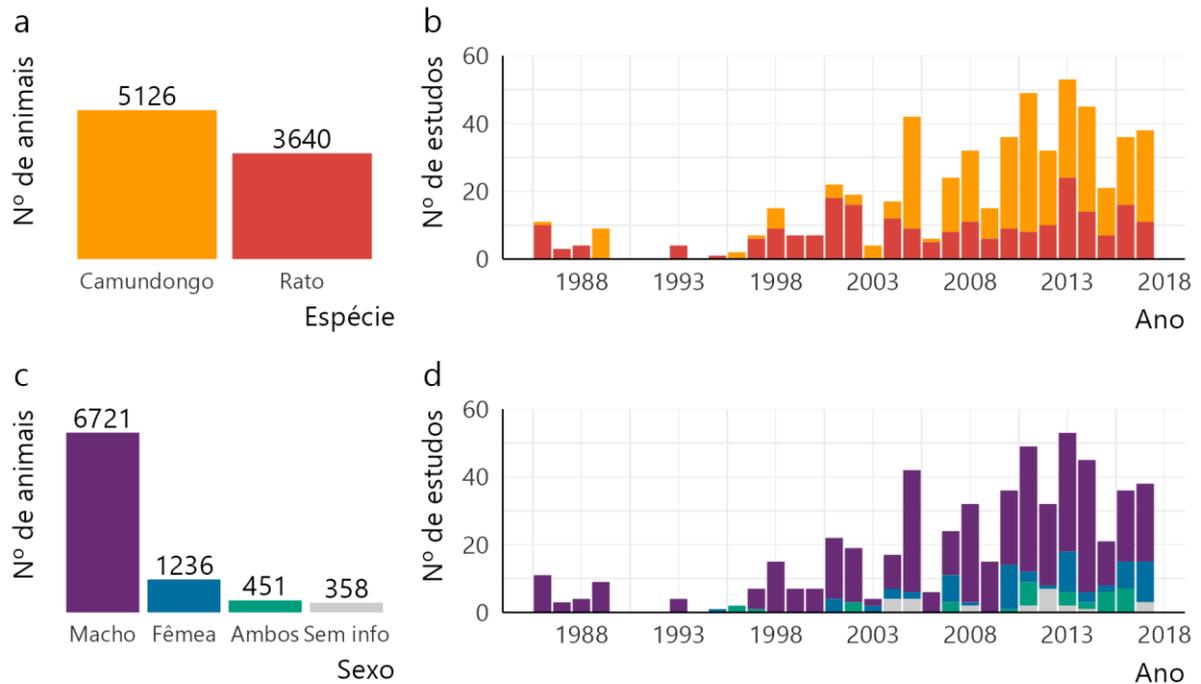


Figura 7 - Espécie e sexo dos roedores utilizados nos estudos. O número total de animais na amostra está apresentado por espécie (a) e sexo (c). O número de estudos (k = 561) que utilizaram esses animais está apresentado por espécie (b) e sexo (d) distribuídos nos anos de publicação. Os tamanhos amostrais (número total de estudos) por variável são os seguintes: espécie (b): camundongos = 326 e ratos = 235; sexo (d): machos = 425, fêmeas = 75, ambos = 36 e sem informação do sexo = 25.

Tanto para a idade quanto para o peso foi extraído o valor exato relatado no artigo, mas quando fornecido uma margem, calculou-se a média da faixa de valor informado no estudo. A idade dos camundongos utilizados variou de 28 a 390 dias (Figura 8, painel esquerdo). A idade das fêmeas estudadas foi, de forma geral, maior que a dos machos, e apresentou uma maior variação entre os estudos. Quando usados ambos os sexos as idades foram menos heterogêneas entre os estudos, e os animais que não foram relatados os sexos tiveram uma grande variação na idade, assim como as fêmeas, mas a mediana se mostrou superior à delas. A faixa de idade dos ratos utilizados foi de 42,5 a 585 dias (Figura 8, painel direito), onde os machos utilizados tinham idade menor e menos variada em comparação as ratas fêmeas. Nenhum estudo que usou ratos de ambos os sexos relataram a idade dos animais, e os ratos que não tiveram seu sexo relatado tinham a idade semelhante à dos machos, com baixa variação.

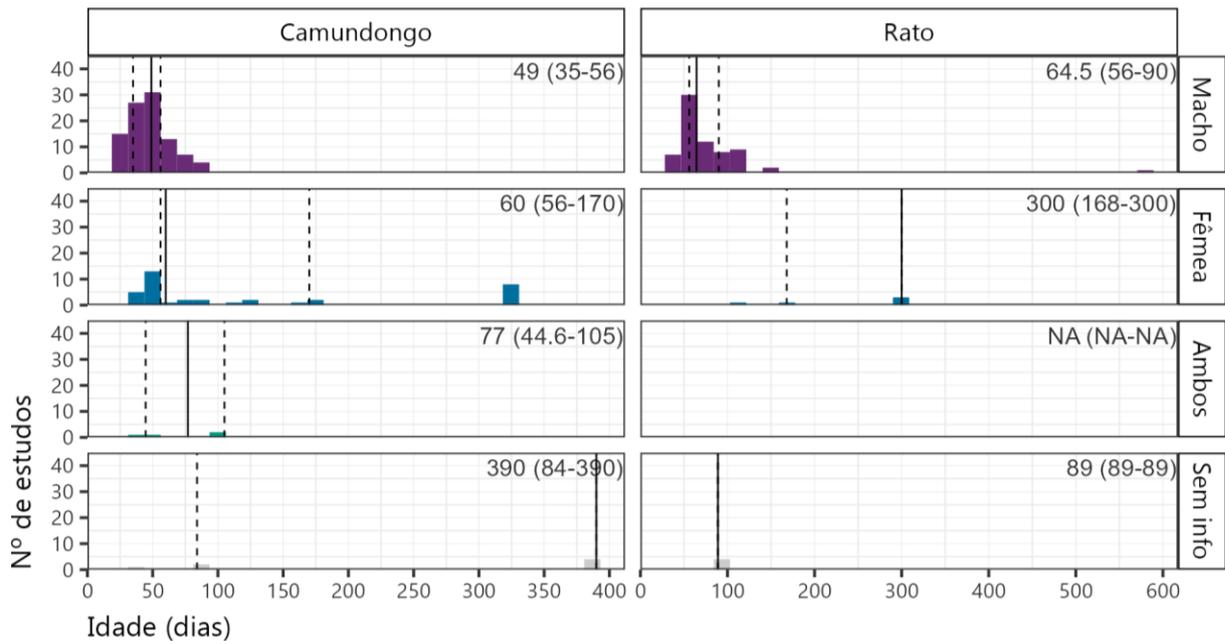


Figura 8 - Distribuição da idade dos roedores utilizados nos estudos. Distribuição das idades dos roedores (em dias) utilizados nos estudos, divididos em espécies (painéis verticais) e sexo (painéis horizontais). No canto superior direito dos painéis se encontra a mediana (intervalo interquartil). As linhas verticais da cor preta sobre os histogramas também indicam o valor da mediana, e as tracejadas o intervalo interquartil. Os tamanhos amostrais dos subgrupos (número de estudos que relataram idade/número de estudos total) são os seguintes: camundongos machos = 97/217, camundongas fêmeas = 37/61, camundongos de ambos os sexos = 4/29, camundongos sem informação do sexo = 7/19, ratos machos = 69/208, ratas fêmeas = 5/14, ratos de ambos os sexos = 0/7 e ratos sem informação do sexo = 4/6.

O peso dos camundongos usados se estende de 11 a 37,5 gramas (Figura 9, painel esquerdo), as fêmeas eram um pouco mais pesadas que os machos e apresentaram uma variação maior no peso. Quando os estudos abrangiam ambos os sexos, os pesos foram menos variáveis e semelhantes à utilização de camundongos que não foram relatados os sexos, os quais apresentaram uma menor variação nos dados. A faixa de peso relatado dos ratos utilizados foi de 61 a 560 gramas (Figura 9, painel direito), a mediana do peso dos machos e de ambos os sexos foi similar (230 e 225 gramas), mas a variação desses dados diferiu entre esses animais, sendo mais heterogêneo nos machos, e menos variado nos estudos que analisaram animais de ambos os sexos. A mediana do peso das ratas foi um pouco maior que dos machos, mas aqueles que não relataram o sexo, apresentaram uma mediana do peso superior aos outros animais (375) e com pouca variação entre os estudos, pois esses pertenciam a mesma publicação.

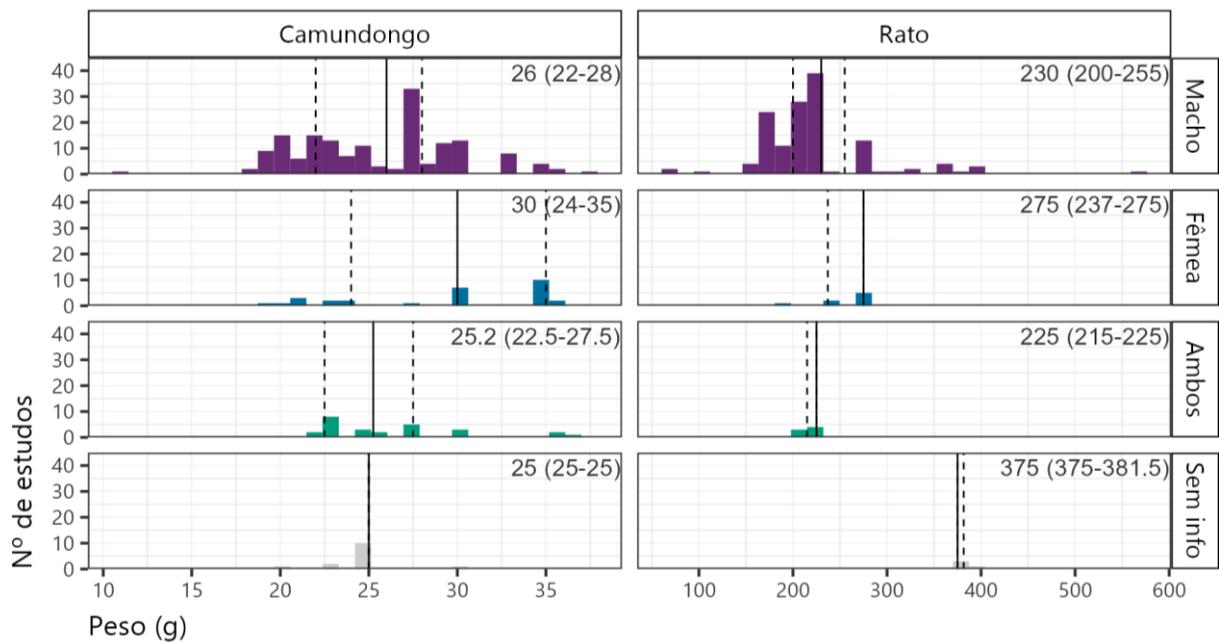


Figura 9 - Distribuição do peso dos roedores utilizados nos estudos. Distribuição dos pesos dos roedores (em gramas) utilizados nos estudos, divididos em espécies (painéis verticais) e sexo (painéis horizontais). No canto superior direito dos painéis se encontra a mediana (intervalo interquartil). As linhas verticais da cor preta sobre os histogramas também indicam o valor da mediana, e as tracejadas o intervalo interquartil. Os tamanhos amostrais dos subgrupos (número de estudos que relataram peso/ total) são os seguintes: camundongos machos = 161/217, camundongas fêmeas = 29/61, camundongos de ambos os sexos = 26/29, camundongos sem informação do sexo = 14/19, ratos machos = 182/208, ratas fêmeas = 8/14, ratos de ambos os sexos = 7/7 e ratos sem informação do sexo = 4/6.

As linhagens mais frequentes são as mesmas em cada nível analisado (publicação, estudos e número de animais) tanto para camundongo quanto para ratos (Figura 10). As linhagens de camundongos mais usada foram *Swiss* ($k = 54$), *CD-1* ($k = 24$) e *C57BL* ($k = 16$) (Figura 10, painel superior), enquanto cada uma das outras 14 linhagens foram utilizadas por menos de 6 publicações, e duas publicações não relataram a linhagem dos animais. Os ratos utilizados eram em sua maioria *Wistar* ($k = 47$) e *Sprague Dawley* ($k = 25$) (Figura 10, painel inferior), as outras 7 linhagens foram utilizadas em no máximo 4 publicações, e apenas uma publicação não relatou a linhagem.

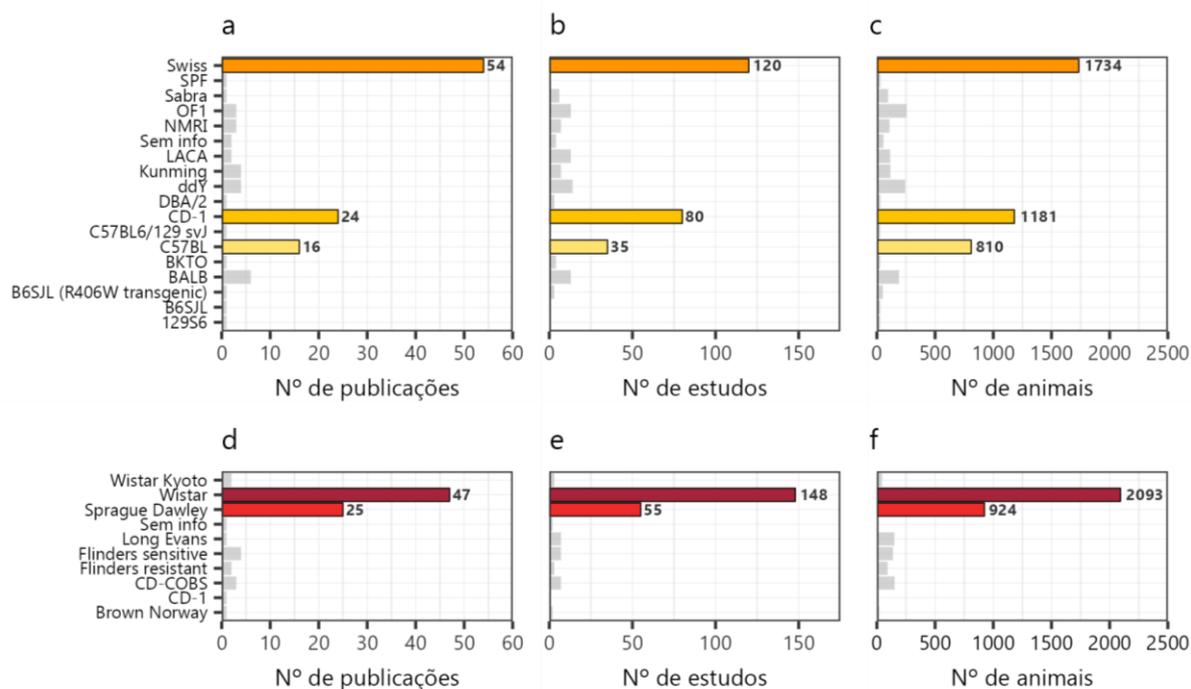


Figura 10 - Linhagem dos roedores mostrada em três níveis: publicação, estudo e população. Número de publicações, estudos e animais para cada linhagem de camundongo (painel superior) e rato (painel inferior) utilizados nos estudos primários. As linhagens utilizadas estão à esquerda dos painéis (eixo y), e no eixo x se encontra a contagem. Em destaque os mais frequentes, contendo o número total dentro das barras.

Das 200 publicações, apenas 56 fizeram indução de modelos animais, somando um total de 33 modelos diferentes na amostra incluída no presente estudo (Figura 11). Nos camundongos (Figura 11, painéis à esquerda), o modelo mais utilizado por diferentes publicações foi o estresse crônico moderado imprevisível (CUMs – *Chronic unpredictable mild stress*), com um total de 6 publicações, incluindo 9 estudos e somando um total de 177 animais. O lipopolissacarídeo foi segundo mais aplicado em diferentes publicações ($k = 3$). Em número de estudos e animais, o protocolo de convulsões por pentilenotetrazol ficou na segunda posição, porém esse só foi aplicado em uma publicação contendo 7 estudos. O CUMs também fora o mais aplicado a ratos (Figura 11, painéis à direita), totalizando 5 publicações e 96 animais. A retirada de antidepressivo foi o segundo protocolo mais aplicado nos ratos em número de publicações ($k = 3$) e primeiro em número de animais ($n = 132$). Considerando o número de animais, fica evidente também a ovariectomia (120 animais, 6 estudos, 2 publicações), e o quarto modelo mais aplicado em número de animais foi o de separação materna (88 animais, 3 estudos, 2 publicações).

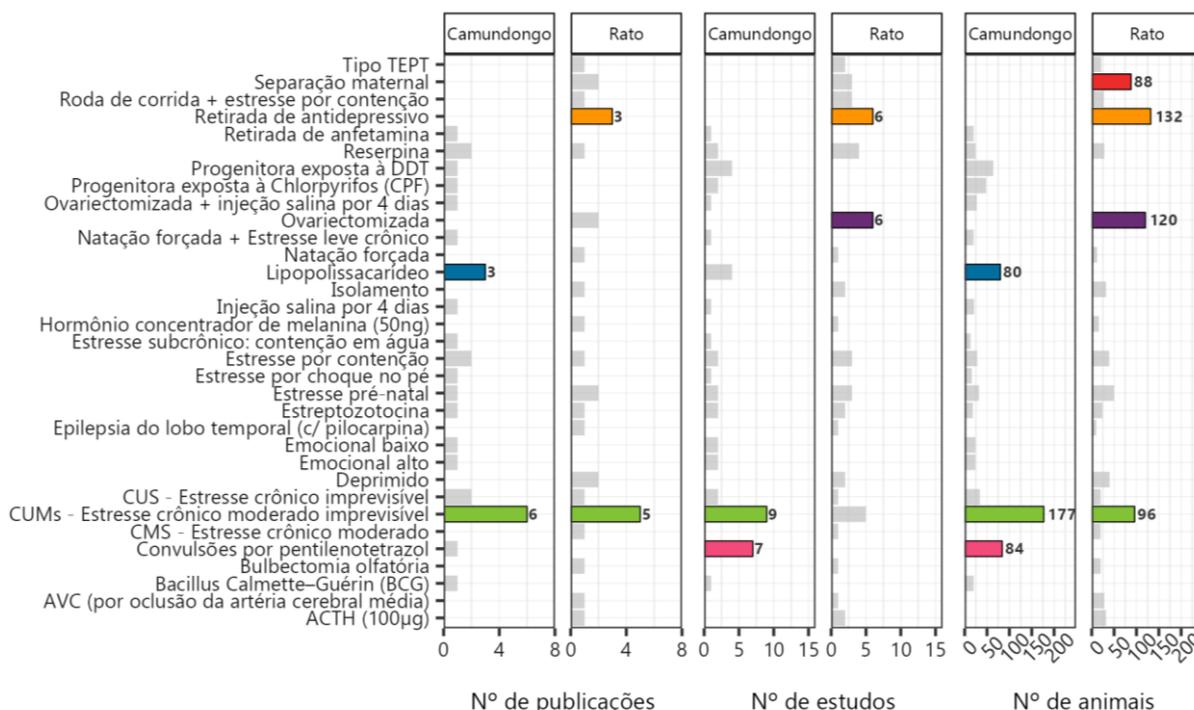


Figura 11 - Modelos animais mostrados em três níveis: publicação, estudo e população. Número de publicações, estudos e animais para cada modelo animal de camundongo (painéis da direita) e rato (painéis da esquerda) utilizados nos estudos primários. Os modelos aplicados estão à esquerda dos painéis (eixo y), e no eixo x se encontra a contagem. Em destaque os mais frequentes, contendo o número total dentro das barras. Número de publicações que relataram modelo/total = 56/200 (camundongo = 17/119, rato = 18/82); Número de estudos que relataram modelo/total = 97/561 (camundongo = 47/326, rato = 50/235); Número de animais com modelo relatado/total = 1629/7137 (camundongo = 774/5126, rato = 855/3640).

Algumas condições físicas aplicadas aos biotérios em que os animais foram armazenados estão na Figura 12. O modo de relato para as condições de luz do biotério foram vários, agrupados em 6 categorias (Figura 12a), sendo a “12/12 normal” aplicada em mais da metade das publicações; nela a luz do biotério é ligada durante o dia e desligada a noite. O segundo regime de luz mais aplicado foi o “12/12”, onde a publicações só relataram essa proporção sem nenhuma informação adicional sobre em que horário era a jornada de luz ligada e desligada. Vinte e uma publicações não relataram sobre o ciclo de luz o qual os animais foram submetidos. Os três protocolos menos aplicados foram os “12/12 inverso” (inverso a luz do dia), “Natural” e “10/14”.

Para o manejo dos dados relativos à temperatura e umidade do biotério, foi extraído o valor exato relatado, mas quando fornecido uma margem, calculou-se a média da faixa de valor informado. A mediana da temperatura mantida no biotério das publicações foi de 22 °C, com uma variação de 20 °C no mínimo a 25 °C no máximo (Figura 12b). Já a umidade aplicada aos

biotérios teve uma mediana de 55 %, variando entre 35 e 70 % entre as publicações (Figura 12c).

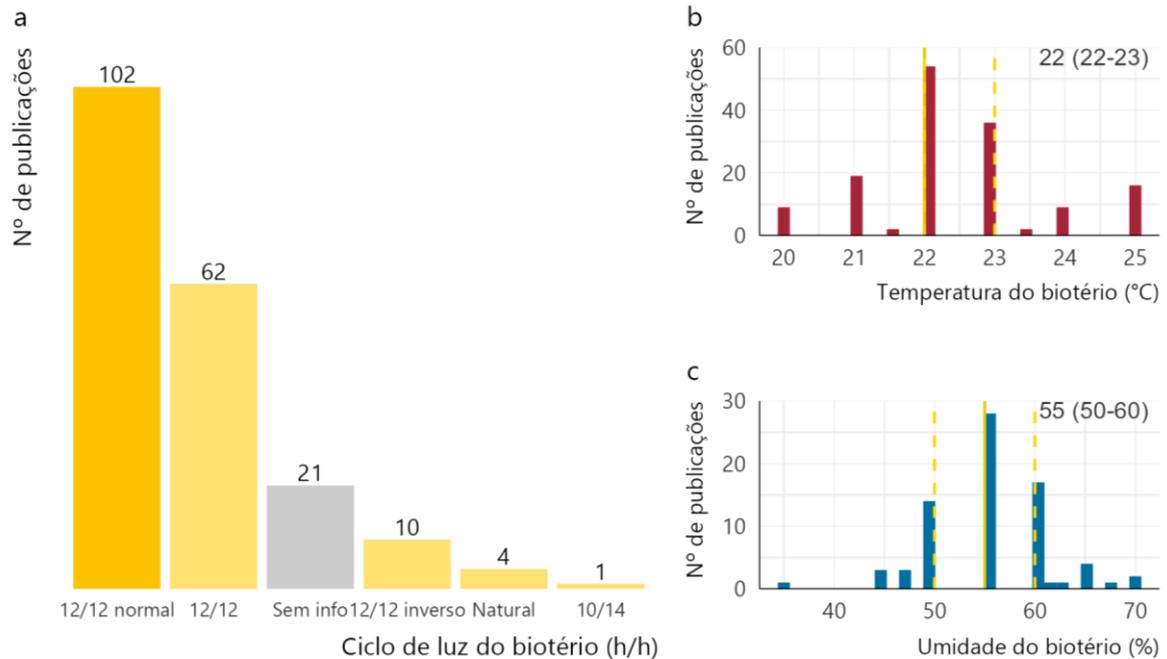


Figura 12 - Condições de luz, temperatura e umidade nos biotérios de roedores de laboratório. Condições físicas dos biotérios em que os animais foram acondicionados em cada publicação. No painel (a) o regime de luz aplicado, (b) a temperatura e (c) a umidade. Acima das barras no painel (a) está presente a contagem de publicações que aplicaram cada regime de luz ($k = 200$). No canto superior direito dos painéis (b) e (c) se encontra a mediana (intervalo interquartil). As linhas verticais na cor amarela sobre os histogramas também indicam o valor da mediana, e as tracejadas o intervalo interquartil. O tamanho amostral (número de publicações, k) das variáveis foi o seguinte: temperatura ($k = 147$ de 200) e umidade ($k = 75$ de 200).

Outra condição de acondicionamento avaliada foi a comodidade dos animais nas caixas de moradia (Figura 13), através do volume da caixa por animal (Figura 13a, esquerda: camundongos, direita: ratos) e volume da caixa corrigido por peso do animal (Figura 13b, esquerda: camundongos, direita: ratos), devido a grande diferença de peso entre espécies (Figura 9). O volume de caixa por animal foi bastante variado tanto para camundongo quanto para ratos, mas a mediana do volume por animal foi superior para os ratos comparados aos camundongos (7.448 *versus* 1.843,2 cm^3 , ou 7,448 *versus* 1,843 L). Mas quando verificamos o volume de caixa por peso do animal, os camundongos possuíam quase três vezes mais espaço (76,8 *versus* 26,7 cm^3/g , ou 0,077 *versus* 0,027 L/g). Por necessitar do relato do tamanho da caixa (3 dimensões), número de animais por caixa e peso dos animais no cálculo dessas variáveis, a quantidade de publicações nessa análise foi pequena (Figura 13, ver legenda).

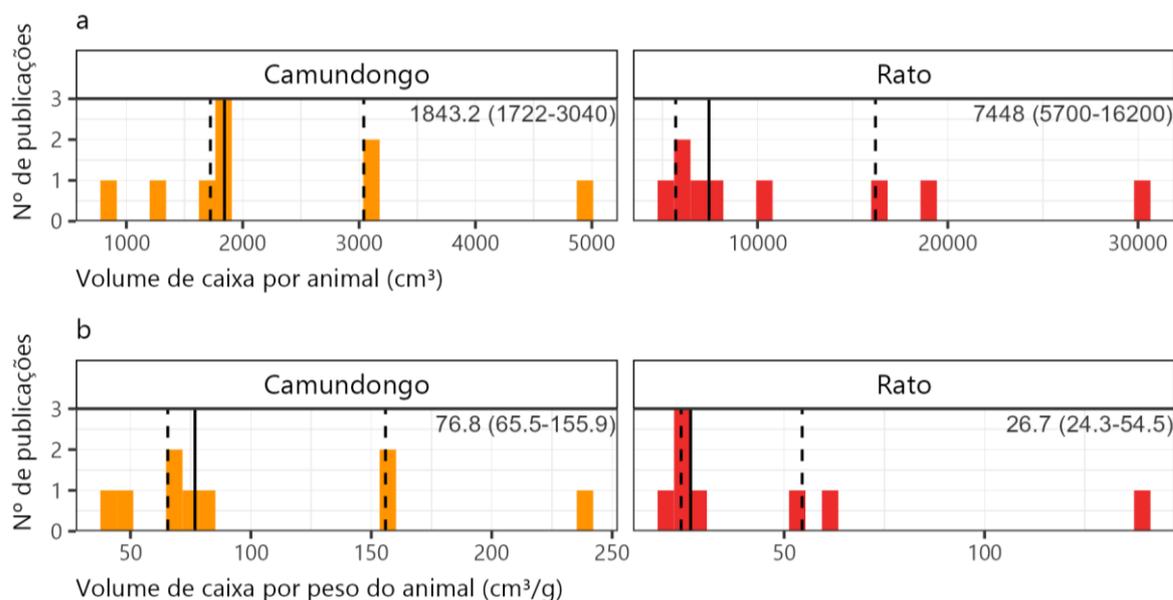


Figura 13 - Espaço de acondicionamento para os roedores. Distribuição do volume de caixa de moradia por animal (a) e volume de caixa por peso do animal (b). A espécie dos roedores está organizada com os camundongos nos painéis do lado direito e ratos nos painéis do lado esquerdo. No canto superior direito dos painéis se encontra a mediana (intervalo interquartil). As linhas verticais da cor preta sobre os histogramas também indicam o valor da mediana, e as tracejadas o intervalo interquartil. Os tamanhos amostrais (número de publicações, k) são os seguintes: (a) camundongos = 9 de 119 e ratos = 9 de 82, (b) camundongos = 9 de 119 e ratos = 8 de 82.

3.2.2.3 Sobre a Intervenção

A classe de antidepressivos mais usada nos estudos (Figura 14a) foram os antidepressivos tricíclicos (TCA), com frequência de utilização muito próxima do segundo, os inibidores seletivos de recaptção de serotonina (ISRS), só essas duas classes foram usadas em mais de 80 % dos estudos (k = 464 de 561). A terceira classe mais usada (menos de 10 % dos estudos) foram os inibidores de recaptção de serotonina e noradrenalina (IRSN), as outras classes foram usadas em menos de 18 estudos, o agente de liberação de dopamina e noradrenalina (ALDN) foi utilizado em apenas um estudo. Os estudos publicados nos anos iniciais do uso do nado forçado, até 1999, administravam mais TCA nos animais (Figura 14b), além de algumas outras classes menos frequentes, em destaque os tetracíclicos (TeCA). A partir do ano 2001 os ISRS começaram a aparecer na presente amostra, ganhando uma maior proporção de uso com o tempo, e se tornando a maioria no ano de 2017.

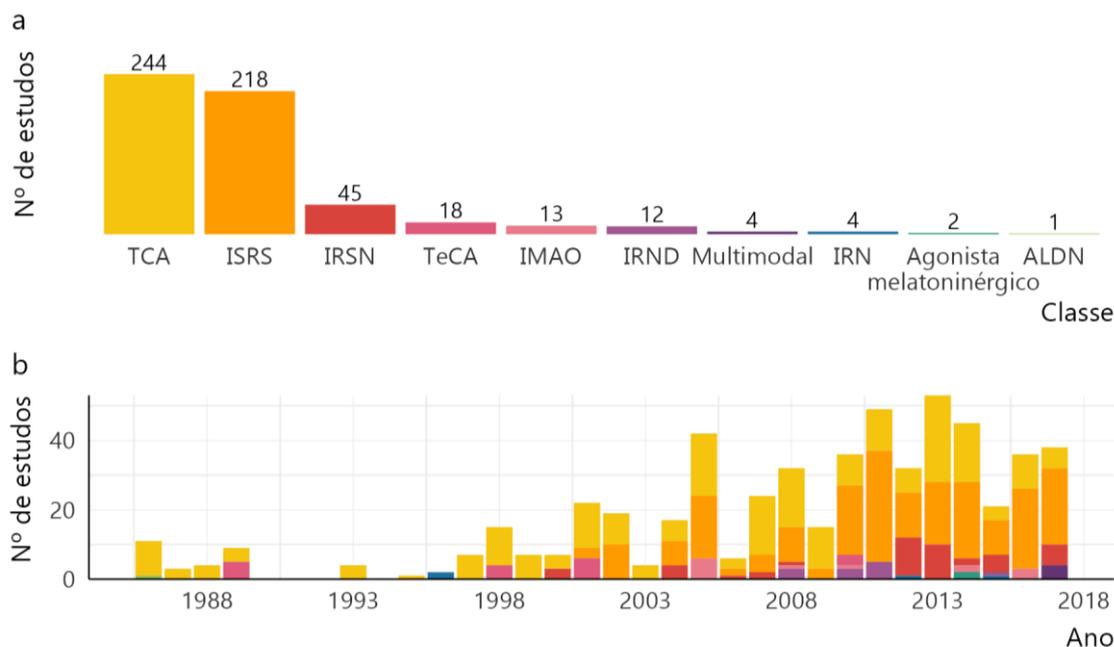


Figura 14 - Classes de antidepressivos utilizadas nos estudos. O número total de estudos ($k = 561$) que utilizaram cada classe de antidepressivo está apresentado no painel a), e sua distribuição no tempo no painel b).

Ao avaliarmos as classes administradas nos camundongos (Figura 15), é possível verificar que os TCA e ISRS permanecem como os mais aplicados, com a imipramina administrada na maioria dos camundongos tratados com TCA, e a fluoxetina administrada na maioria dos camundongos tratados com ISRS, vale destacar também a frequência dos fármacos desipramina (TCA, $k = 21$) e paroxetina (ISRS, $k = 27$). Dos IRSN, o fármaco mais utilizado foi a venlafaxina ($k = 16$), e dos inibidores de recaptação de noradrenalina e dopamina (IRND) o único representante foi a bupropiona ($k = 10$).

A dose dos fármacos administrados nos camundongos apresentou uma mediana bem variada entre eles (Figura 15b), contudo os fármacos desipramina, venlafaxina, bupropiona, amitriptilina (TCA, $k = 10$), clomipramina (TCA, $k = 9$), e citalopram (ISRS, $k = 6$) apresentaram a mesma dose mediana (10 mg/Kg). A desipramina, fluvoxamina (ISRS, $k = 6$) e alguns fármacos menos frequentes (categoria: “Outros”, classes: ISRS, IRN, IMAO e outras, $k = 18$), foram os fármacos com doses mais variadas, chegando a 100 mg/Kg em alguns estudos. O fármaco com a maior dose mediana (30 mg/Kg) foi a fluvoxamina, e os fármacos com a menor dose mediana (2,5 e 3 mg/Kg) foram o escitalopram (ISRS, $k = 14$) e a selegina (IMAO, $k = 6$) respectivamente.

Os 15 estudos com camundongos que não relataram a dose em mg/Kg estão distribuídos em três publicações, uma delas não descreveu qual unidade de dose utilizou

(imipramina, três estudos), outra relatou a dose em $\mu\text{g/mL}$ da solução (amitriptilina, quatro estudos), posteriormente convertida em mg/mL , e a terceira relatou em mg/Kg de ração disponibilizadas aos animais (fármacos: vortioxetina e vilazadona (multimodal), duloxetina (SNRI) e fluoxetina, 8 estudos), dificultando o cálculo da dose de forma precisa.

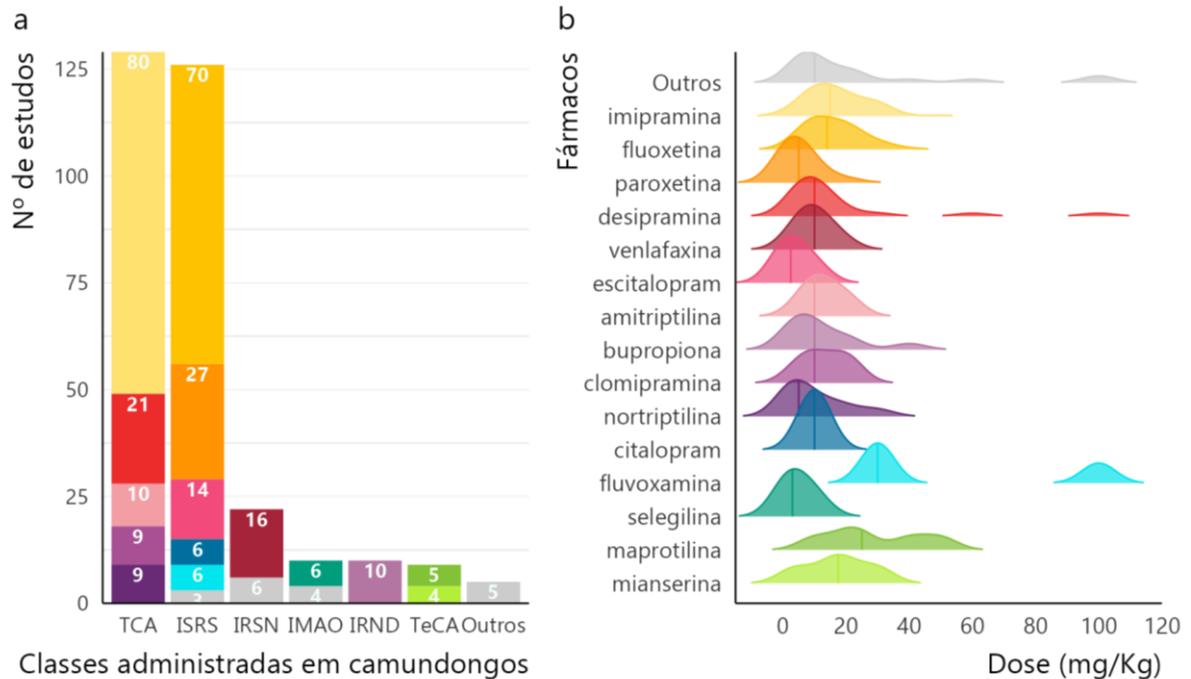


Figura 15 - Antidepressivos: classes, fármacos e doses administrados aos camundongos. No painel a) o número de estudos com camundongos que relataram a dose em mg/kg ($k = 311$ de 326) estão distribuídos por classe (eixo x) e fármaco antidepressivo (preenchimento da barra). O número dentro da barra é referente ao número de estudos que utilizaram tal fármaco. No painel b) é apresentada a distribuição da dose (eixo x) dos fármacos (eixo y), a linha vertical no gráfico de densidade representa a mediana das doses utilizadas. As cores vivas representam os fármacos mais frequentes, a cor cinza e a categoria “Outros” compilam as classes (a) e fármacos (b) menos frequentes.

Nas classes administradas nos ratos (Figura 16), os TCA e ISRS também permanecem como os mais aplicados, com a imipramina administrada na maioria dos ratos ($k = 60$) tratados com TCA, e a fluoxetina administrada na maioria dos ratos ($k = 51$) tratados com ISRS, vale destacar também a frequência dos fármacos desipramina (TCA, $k = 29$) e sertralina (ISRS, $k = 10$). Dos IRSN, o fármaco mais utilizado foi a venlafaxina ($k = 11$).

A dose dos fármacos administrados nos ratos apresentou também uma mediana bem variada entre eles (Figura 16b), contudo os fármacos fluoxetina, desipramina, sertralina e citalopram (ISRS, $k = 5$) apresentaram a mesma dose mediana (10 mg/Kg). A imipramina, fluoxetina e venlafaxina foram os fármacos com doses mais variadas, chegando a 70 mg/Kg em alguns estudos. O fármaco com a maior dose mediana (25 mg/Kg) foi o escitalopram, (ISRS, k

= 5), e os fármacos com a menor dose mediana (1,25 e 1,62 mg/Kg) foram a clomipramina (TCA, k = 5) e a fluvoxamina (ISRS, k = 6).

Os 7 estudos com ratos que não relataram a dose em mg/Kg estão distribuídos em três publicações, uma que descreveu a unidade da dose em micrograma (imipramina, dois estudos), outra em nmol por volume (fluoxetina, quatro estudos) aplicado diretamente no hipocampo através de microinjeção, e em pmoles (citalopram, um estudo) aplicado no córtex inflalímbico através de microinfusão.

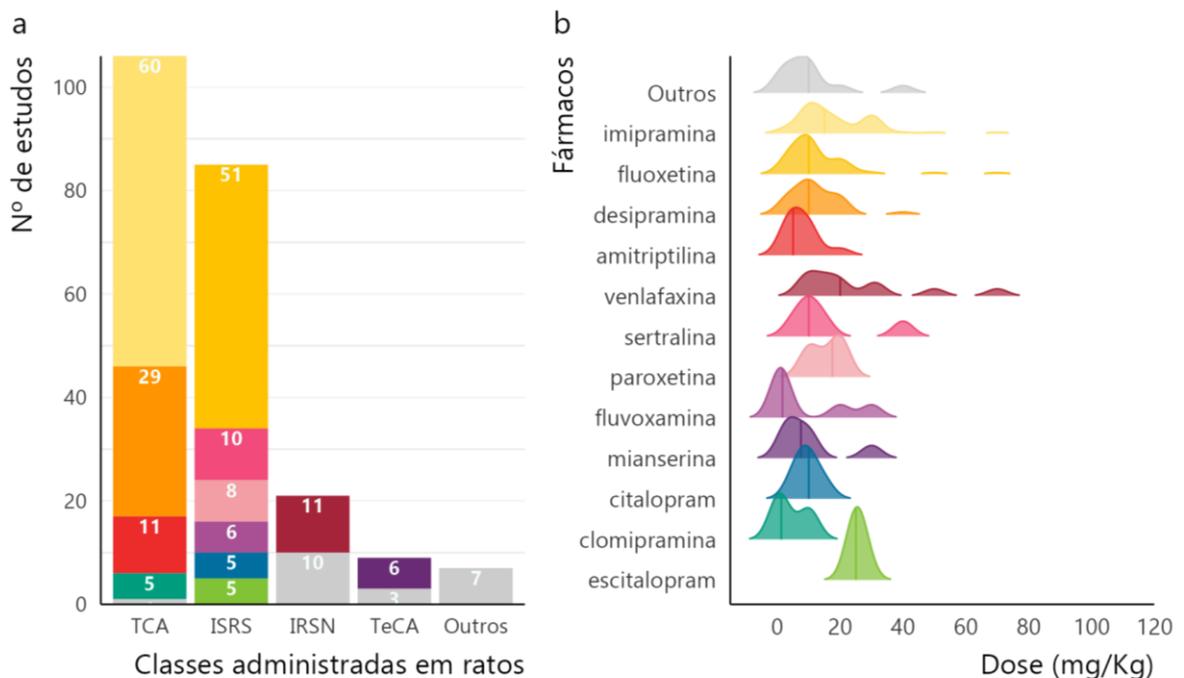


Figura 16 - Antidepressivos: classes, fármacos e doses administrados aos ratos. No painel a) o número de estudos com ratos que relataram a dose em mg/kg (k = 228 de 235) estão distribuídos pela classe (eixo x) e fármaco antidepressivo (preenchimento da barra). O número dentro da barra é referente ao número de estudos que utilizaram tal fármaco. No painel b) é apresentada a distribuição da dose (eixo x) dos fármacos (eixo y), a linha vertical no gráfico de densidade representa a mediana das doses utilizadas. As cores vivas representam os fármacos mais frequentes, a cor cinza e a categoria “Outros” compilam as classes (a) e fármacos (b) menos frequentes.

Quanto a via e regime de administração dos antidepressivos nos camundongos, é possível visualizar os detalhes na Figura 17. A via de administração mais utilizada nos camundongos foi a intraperitoneal, seguida da via oral, gavagem e subcutânea, 3 estudos não relatam a via de administração (Figura 17a). A frequência diária de administração mais usada foi uma vez ao dia. A duração do tratamento foi mais variada quando o fármaco foi administrado apenas uma vez no dia, por via intraperitoneal (1 a 110 dias) e oral (1 a 90 dias), mas a mediana

da duração do tratamento para cada via de administração se mantivera abaixo de 8 dias (Figura 17b).

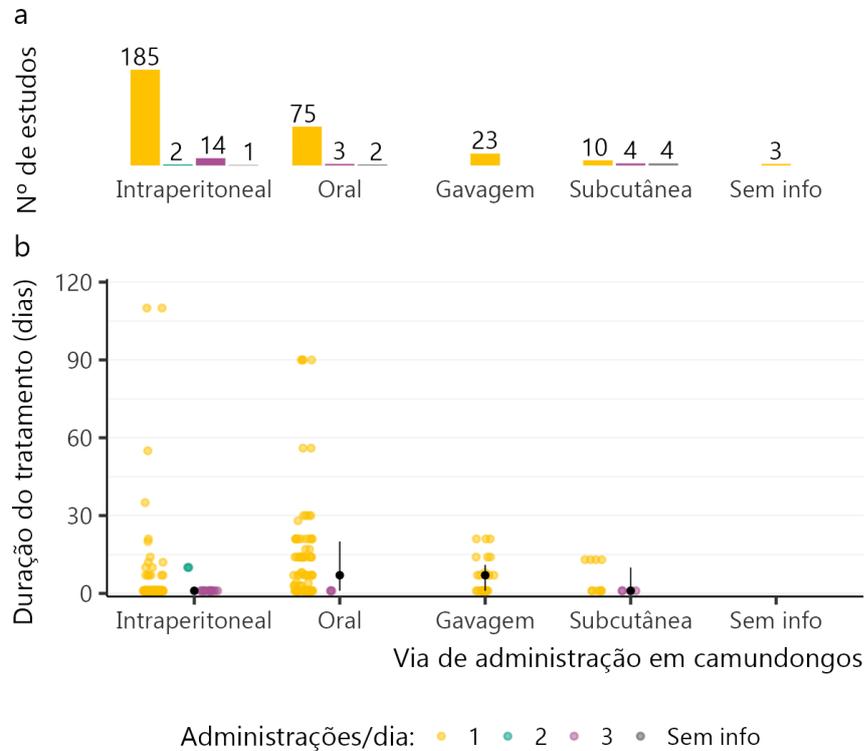


Figura 17 - Administração dos antidepressivos nos camundongos: via, frequência e duração. No painel a) o número de estudos com camundongos ($k = 326$) estão distribuídos por via de administração (eixo x) e subdivididos pelo número de administração por dia (cores). No painel b) esses mesmos subgrupos de estudos estão distribuídos pela duração do tratamento no eixo y, onde cada ponto representa um estudo. O ponto preto sobre os pontos coloridos representa a mediana e a linha atravessa na vertical o intervalo interquartil.

As vias de administração nos ratos foram mais diversificadas que nos camundongos (Figura 18), nesses animais foram também incluídas as vias por microinjeção, microinfusão, intranasal e por via oral específico com o fármaco contido na dieta do animal. Assim como nos camundongos, as vias mais utilizadas nos ratos foram a intraperitoneal e oral (Figura 18a). Nesses animais, a administração de duas e três vezes ao dia foram mais comuns na via intraperitoneal comparado ao camundongos, mas ainda a frequência de uma vez ao dia é o regime mais aplicado.

De forma geral, a duração do tratamento foi mais variada quando administrado o fármaco apenas uma vez no dia (Figura 18b). Nesses animais, a mediana da duração do tratamento para cada via de administração se mantivera igual ou abaixo de 30 dias, na via intraperitoneal a mediana foi de 1 dia, e na oral 8 dias.

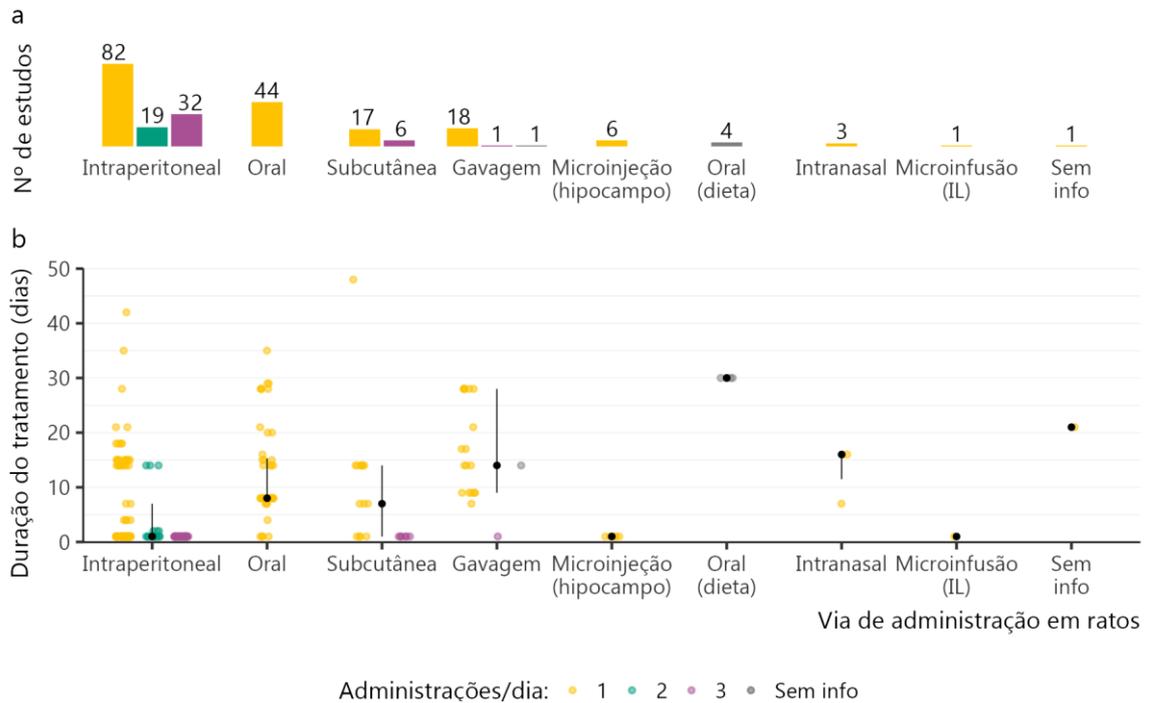


Figura 18 - Administração dos antidepressivos nos ratos: via, frequência e duração. No painel a) o número de estudos com ratos ($k = 235$) estão distribuídos por via de administração (eixo x) e subdivididos pelo número de administração por dia (cores). No painel b) os estudos ($k = 233$ de 235) também estão distribuídos pela duração do tratamento no eixo y, onde cada ponto representa um estudo. O ponto preto sobre os pontos coloridos representa a mediana e a linha atravessa na vertical o intervalo interquartil.

3.2.2.4 Sobre o desfecho

Quanto as características do teste do nado forçado, foram avaliados o protocolo do teste aplicado (Figura 19), o método de análise do desfecho (Figura 20) e as dimensões da cuba e profundidade e temperatura da água (Figura 21), descritas a seguir.

Na análise do protocolo do teste do nado forçado e método de análise do desfecho foi utilizado o nível de publicações, mas com distinção entre os métodos, ou seja, se a publicação utilizou mais de um método esses foram quantificados. O protocolo mais aplicado para os camundongos (53 de 121 publicações) foi a sessão única com duração de 6 minutos (teste) com análise dos quatro minutos finais (Figura 19a), o segundo mais frequente foi o teste de 6 minutos também, com análise de todo o tempo da sessão, outros protocolos foram aplicados em menos sessões, incluindo métodos que aplicaram uma sessão de exposição sem ser analisada (pré-teste) antes do teste, e um total de 13 protocolos foram aplicados em apenas uma publicação. O protocolo usado na maioria das publicações (59 de 83 publicações) com ratos foi o de pré-teste

com duração de 15 minutos seguido de um teste de cinco minutos no dia seguinte (Figura 19b), e um total de 11 protocolos foram aplicados em apenas uma publicação.

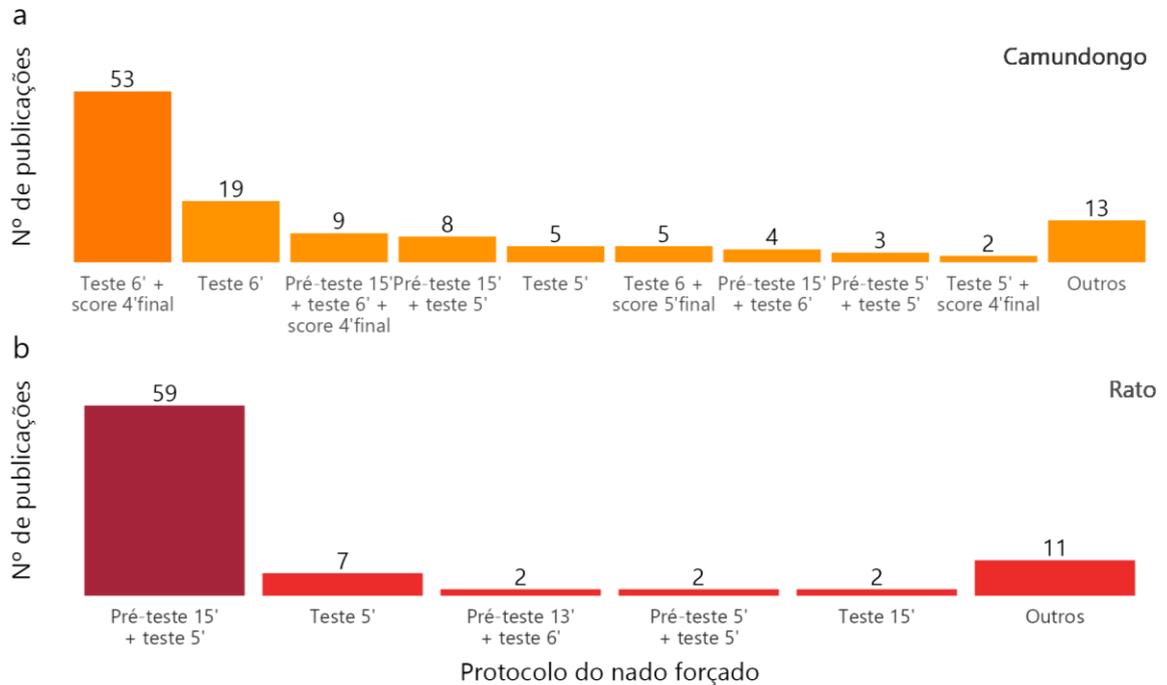


Figura 19 - Protocolos do teste do nado forçado aplicados nos roedores. Frequência dos protocolos do teste do nado forçado nas publicações da amostra, sendo painel a) camundongos ($k = 121$ de 119) e painel b) ratos ($k = 83$ de 82). Acima das barras está presente a contagem de publicações que aplicaram cada protocolo. Cor destacada para o método mais frequente. Métodos aplicados em apenas uma publicação foram compilados na categoria “Outros”.

A maioria das publicações (71 de 119) que utilizaram camundongos não relataram o método de análise de desfecho (Figura 20a), ou o relato contido na publicação não permitiu uma categorização precisa, a exemplo: “*The total duration of immobility in seconds were recorded during the 5 mins test.*”.

Das publicações que relataram método, o mais usado foi o de videoanálise das sessões previamente gravadas, mas a maioria não detalhou se a análise fora manual ou automatizada. Quando a análise foi feita no momento do teste, de forma manual, destacou-se o uso de cronômetro para tal tarefa.

A maioria das publicações que utilizaram ratos reportaram os métodos utilizados para analisar o desfecho (46 de 82) (Figura 20b), assim como para os camundongos, o modo de análise mais usado foi o de videoanálise, com destaque a análise de 5 em 5 segundos. Já a análise manual de forma simultânea ao acontecimento do teste foi pouquíssimo aplicada, e das publicações categorizadas como “Sem info”, algumas delas relataram sobre o método de uma

forma pouco precisa, mostrados nos trechos a seguir: "The total duration of immobility was recorded by an observer who was unaware of the treatment.", "Immobility time of the rats was recorded in each 5 s during the test session.", "Scoring was done every 60 seconds for 6 min using a stop watch kit" e "Time sampling technique was used to rate the predominant behavior over a 60-s interval...was scored during the first 2 min of the test".

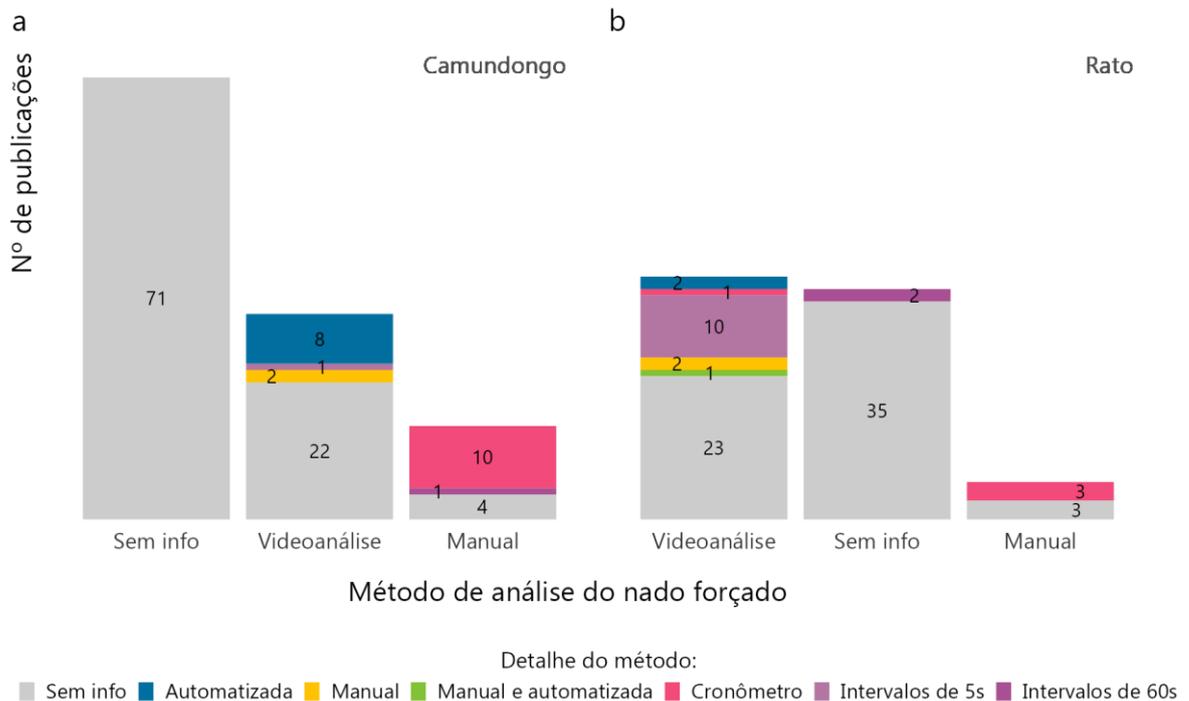


Figura 20 - Métodos de análise do teste do nado forçado aplicados nos roedores. Frequência dos métodos de análise do teste do nado forçado nas publicações da amostra, sendo painel a) camundongos ($k = 119$ de 119) e painel b) ratos ($k = 82$ de 82). Nas barras está presente a contagem de publicações que aplicaram cada modo específico dentro do método. As cores são referentes a detalhes do método aplicado, em cinza está a porção de publicações que não detalharam o procedimento.

Sobre a dimensão dos cilindros utilizados no teste do nado forçado, de forma geral o tamanho do aparato foi proporcional ao tamanho do roedor (Figura 21a), tanto a mediana do diâmetro quanto da altura do cilindro foram maiores quando usados em teste com ratos (diâmetro: 45 (40-50) cm, altura: 20 (18-24) cm) comparados a quando usados com camundongos (diâmetro: 12 (10-16) cm, altura: 25 (24-25) cm), ainda que tenha uma região comum no gráfico de dispersão onde os pontos (publicações) de camundongos e ratos se sobrepõem, mostrando que dependendo da publicação, o tamanho do aparato usado para camundongo pode ser maior que alguns usados em ratos.

A faixa de temperatura da água usada no cilindro de teste foi mais ampla para os camundongos que para os ratos (Figura 21b), mas a mediana e intervalo interquartil se igualou

entre as espécies em 25 (24-25) °C. Na Figura 23c está representada a profundidade da água utilizada no teste, e observamos que a diferença de tamanho do aparato entre as espécies também está presente na profundidade da água, sendo maior para os ratos mesmo nos trabalhos publicados nos primeiros anos da amostra. Além disso, percebe-se para ambas as espécies, um aumento na profundidade da água ao decorrer dos anos.

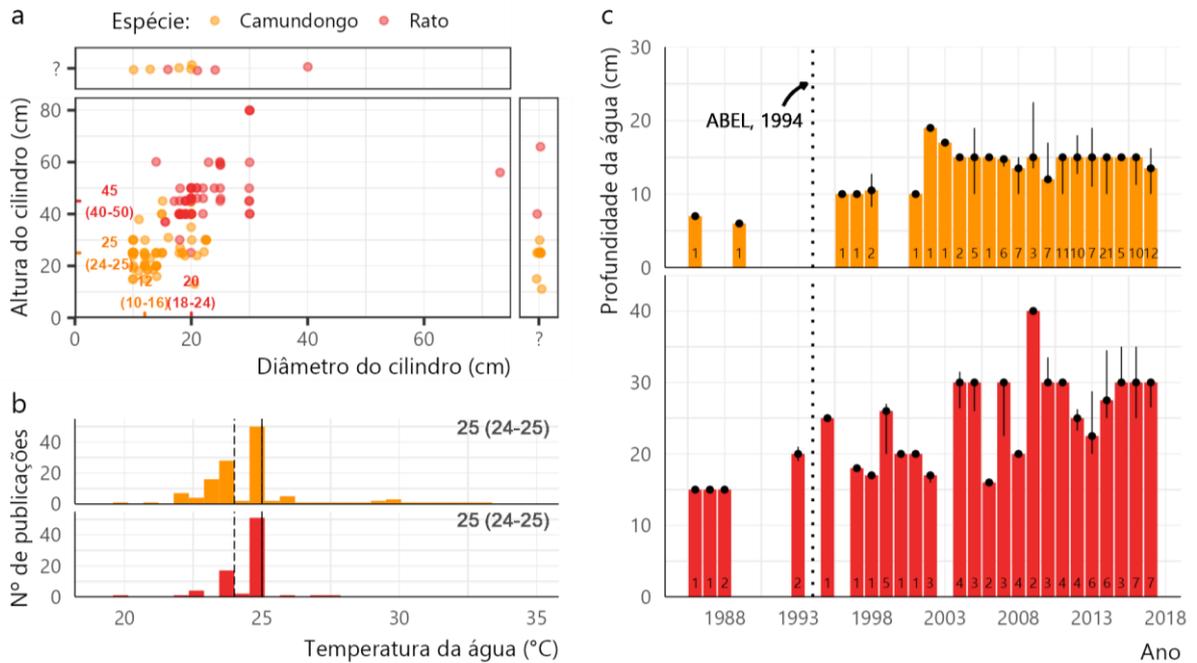


Figura 21 - Medidas do aparato e água utilizados no teste do nado forçado. No painel a) é apresentado um gráfico de dispersão com as variáveis altura e diâmetro do cilindro utilizado no teste do nado forçado (camundongo, $k = 116$ de 120 e rato, $k = 77$ de 84). Porção com o “?” estão os valores das publicações que só relataram uma das variáveis (apenas diâmetro: camundongo, $k = 5$ e rato, $k = 4$; apenas altura: camundongo, $k = 13$ e rato, $k = 2$; ambas as variáveis: camundongos, $k = 98$ e rato, $k = 71$; nenhuma variável: camundongos, $k = 4$ e rato, $k = 7$). Próximo aos eixos ($y =$ altura, $x =$ diâmetro) estão os valores da mediana (intervalo interquartil) para cada espécie, de acordo com a cor: alaranjado = camundongo e vermelho = rato. No painel b) se encontra a distribuição da temperatura da água usada no nado forçado, para camundongos (painel superior, $k = 132$ de 138) e ratos (painel inferior, $k = 79$ de 83). No canto superior direito dos gráficos no painel b) se encontra a mediana (intervalo interquartil), as linhas verticais da cor preta sobre os histogramas também indicam o valor da mediana, e as tracejadas o intervalo interquartil. No painel c) está profundidade da água na cuba do nado forçado, distribuída por ano de publicação (eixo x), os círculos pretos indicam a mediana e as linhas verticais o intervalo interquartil, dentro das barras-está o tamanho amostral (número de publicações, k), e a linha vertical tracejada indica o ano da publicação de ABEL, 1994.

3.2.3 Discussão sobre a descrição da amostra

A confiabilidade obtida entre os observadores na extração dos dados foi satisfatória, e esse procedimento permitiu destacar erros que foram posteriormente corrigidos e tornaram os dados mais confiáveis para as análises posteriores. Como esperado, a variabilidade nos protocolos experimentais aplicados nas publicações incluídas na amostra é imensa. O que é compreensível, visto que grande parte das publicações são de caráter exploratório (DIRNAGL, 2020), então variações no protocolo permitem a exploração de variáveis de interesse e novas percepções sobre o assunto estudado. Mas no geral, algumas características se destacam como as mais frequentes, nos revelando tendências dentro da literatura. Outras variáveis, nos revelam a falta de um relato completo nas publicações, fazendo com que muitas delas tenham a categoria “Sem info”. Ademais, por ter sido feita uma amostragem da biblioteca geral, os dados apresentados nesse trabalho possuem um erro amostral, inerente a uma amostra, mesmo que o sorteio de cada publicação incluída tenha sido de forma aleatória e independente.

A confiabilidade entre os revisores foi quase perfeito para as três categorias de dados extraídos das publicações (características, quantitativa e qualidade). Onde a categoria qualidade apresentou a menor confiabilidade e concordância entre os observadores. Isso pode ser atribuído a dificuldade de interpretação dos relatos presentes na publicação, e também da subjetividade atrelada a essa categoria, enquanto as outras são mais objetivas. Porém, diferente do processo de seleção, que foi realizado de forma pareada e independente, na extração dos dados, o processo foi realizado através da conferência das informações previamente tabuladas pelo primeiro revisor, o que implica num possível viés de confirmação nesta etapa, pois a informação já disponível pode influenciar o segundo revisor no julgamento se a informação está correta ou não. Além disso, a extração dos dados quantitativos das figuras com a régua digital insere uma imprecisão nesses dados, devido à pequenas variações geradas pelo processo manual, que poderia ser evitada com o uso de *softwares* mais precisos (KADIC et al., 2016).

Os resultados sobre as características da publicação mostram no tempo, um aumento no número de artigos publicados com o escopo do presente trabalho desde a padronização do teste do nado forçado por Porsolt em 1977. Este aumento é esperado porque se pode constatar um aumento generalizado de publicações na literatura no mesmo período. Também se observou que a nacionalidade do primeiro autor das publicações nos primeiros anos se concentrava na América do Norte e Europa, se estendendo a todos os continentes com o tempo. Inclusive, os países com maiores número de publicações atualmente, são os países asiáticos e populosos

como a Índia, China e Japão. Com os critérios de elegibilidade pré-estabelecidos, foi possível evitar um viés de linguagem, através da inclusão de publicações com os idiomas persa e mandarim.

A espécie mais utilizada na amostra foi camundongo, mas nem sempre eles eram a maioria, até o início dos anos 2000 os ratos predominavam. O motivo para essa mudança pode ser explicado com algumas diferenças entre as espécies. Enquanto o tamanho dos ratos pode ser uma vantagem em frente a procedimentos cirúrgicos, como implantação de cânulas no cérebro, os camundongos, além dos modelos geneticamente modificados terem sido fortemente desenvolvidos antes, esses são menores e por consequência demandam um espaço menor e geram menos custos (BRYDA, 2013), podendo colaborar com uma maior escolha desses animais nessa área.

Com os dados, percebemos uma grande preferência por uso de animais machos desde os primeiros anos aos últimos incluídos na amostra. Mas mais recentemente, conseguimos ver também uma transformação na literatura ao incluir fêmeas e animais de ambos os sexos, acompanhando uma propensão na neurociência em reduzindo o viés de sexo (WILL et al., 2017). Essa inclusão é bastante positiva quando pensamos, por exemplo, na incidência de depressão na área clínica, que é mais diagnosticada e leva a sintomas mais severos em mulheres (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Portanto, utilizar organismo com uma maior semelhança com a população que potencialmente fará uso desses fármacos parece lógico, e aumenta a validade externa dos achados (BART VAN DER WORP et al., 2010). Essa conduta vem sendo estimulada também por agências financiadoras, como a NIH, que publicou diretrizes de financiamento de pesquisa onde os pesquisadores deverão, em seus projetos, levar em consideração as diferenças sexuais, utilizando ambos os sexos em testes (COLLINS; TABAK, 2014). A quantidade de animais que não tiveram seu sexo relatado no artigo é a minoria, mas gera uma preocupação sobre falta de relato de informações básicas da população utilizada.

A mediana da idade dos animais foi bem similar entre os sexos para os camundongos, apenas os animais sem informação sobre o sexo que apresentaram uma idade bem maior. Para os ratos, as poucas fêmeas utilizadas, no geral, eram mais velhas que os machos. E quanto ao peso, tanto os camundongos quanto os ratos, apresentaram uma grande variação, mas a mediana entre os sexos foi similar. A linhagem de camundongo mais utilizada na amostra foi *Swiss*, enquanto para ratos, a mais frequente foi *Wistar*. O protocolo para indução de modelos animais foi a variável que menos apresentou uma tendência, com poucas publicações aplicando cada um dos mais variados protocolos, mas podemos destacar o CUMs como o utilizado. Nesse

modelo, os animais são expostos a diferentes fontes de estresse alternadas (e.g.: privação alimentar, inclinação e lotação da caixa de moradia, ruído, natação forçada, reversão do ciclo de luz, etc.) por várias semanas, que também podem apresentar uma variação nas fontes de estresse aplicadas e duração do protocolo (STANFORD, 2020), implicando em mais uma fonte de variabilidade.

Nos biotérios onde os animais eram condicionados, o ciclo de luz mais aplicado foi o de “12/12 normal”, com a luz do biotério ligada durante o dia e desligada a noite. E o segundo regime de luz mais frequente foi o “12/12”, sem relato adicional do horário o qual a luz permanecia ligada. Acreditamos que o ciclo de luz “12/12” seja igual ao “12/12 normal”, mas por falta de detalhes no relato, esses permaneceram como categorias separadas nas análises. Pelo comportamento dos animais serem afetados pelo ciclo de luz, esse é um fator importante quando trabalhamos com análise comportamental, uma vez que os roedores são mais ativos durante o ciclo escuro (JENNINGS et al., 1998) e os testes costumam ser aplicados no ciclo claro (do experimentador e do animal), mas apenas 10 das publicações relataram aplicar um ciclo de luz “12/12 inverso”.

Poucas publicações mantiveram a temperatura e a umidade do biotério fora da faixa recomendada (temperatura: 20-24 °C, umidade: 45-65%) (HOME OFFICE, 2014), mas 26,5 % não relataram a temperatura e 62,5 % não relataram a umidade. Apenas algumas publicações forneceram informações suficientes para analisar o espaço em que os animais eram condicionados. Mas com base nos dados gerados, é possível verificar que os ratos possuíam um volume de caixa superior aos camundongos, e quando corrigido pelo peso dos animais, é evidenciado que os ratos tinham menos espaço por peso corpóreo, ficando mais restritos durante o condicionamento, o que especulamos afetar o bem-estar desses animais. A área de chão por camundongos apresentada pelos estudos é superior a recomendada, porém, para ratos a área é inferior a recomendada (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Edition, 2011). Já fora visto em camundongos, que a quantidade do número de animais por caixa de moradia e não a restrição de espaço pode diminuir a quantidade de água e comida ingerida pelos animais, mas parece ter pouco efeito nos níveis de glicocorticoides e no comportamento dos animais no campo aberto (BAILOO et al., 2018).

Mesmo com os ISRSs surgindo nos anos 70 (PEREIRA; HIROAKI-SATO, 2018), nessa amostra, sua utilização apareceu no início dos anos 2000. Antes disso, os estudos utilizavam majoritariamente TCAs, que continuaram predominando na maioria dos anos até 2017. O

descompasso temporal pode ser explicado pela falta de padronização do uso do teste de nado forçado para avaliar ISRSs antes de Detke, Rickels e Lucki (1995) em ratos. Enquanto na clínica os ISRSs são a primeira escolha devido a uma maior segurança (LIEBERMAN, 2003), nos estudos exploratórios, os TCAs ainda são os preferidos, principalmente a imipramina, tanto em estudos com camundongos quanto ratos. E o segundo fármaco mais testado para ambas as espécies é a fluoxetina, representando os ISRSs. No geral, a mediana da dose administrada foi similar entre a maioria dos fármacos, independente da classe. Mas o escitalopram se destaca com a menor e a fluvoxamina a maior dose para os camundongos, e a clomipramina como a menor e curiosamente o escitalopram como a maior dose para os ratos. Alguns estudos que trataram os roedores com doses altas, estudaram também a toxicidade dos compostos e/ou construíram curvas de dose-resposta, e outros não justificaram a escolha, mas administraram por via oral.

Quando os compostos eram administrados em camundongos por via oral e gavagem, observamos de forma qualitativa que a duração dos tratamentos era mais longa, e quando administrado por via intraperitoneal a maioria avaliou o efeito agudo dos compostos. Em ratos, esse padrão se repetiu, mas é possível ver uma maior representação de administração tripla por via intraperitoneal, imitando um estado subcrônico, o que permite uma concentração elevada do fármaco no animal e longa penetração no cérebro (CRYAN; VALENTINO; LUCKI, 2005; SLATTERY; CRYAN, 2012). Nos ratos também aparecem outras vias de administração, como microinjeção, intranasal e microinfusão, que foram representadas com poucos estudos. Esse dado evidencia que administrações alternativas, principalmente localizadas em regiões específicas do cérebro, tendem a ser mais aplicadas aos ratos, provavelmente por esses serem maiores, e assim facilita o procedimento. Com as simulações de busca “microinjection AND brain AND mice” e “microinjection AND brain AND “rat” na base bibliográfica Pubmed, é possível verificar uma recuperação de quase 8x mais estudos para os ratos.

Os resultados das propriedades relacionadas ao teste do nado forçado também apresentam grande variação entre as publicações. Os estudos que usaram camundongos apresentaram uma variedade maior nos protocolos do teste do nado forçado que os ratos. O mais usado, como esperado e descrito por Porsolt; Bertin; Jalfre (1978), foi a sessão de teste com duração de 6 minutos e medida dos comportamentos nos quatro finais, mas a grande frequência de pré-testes antes dos testes nesses animais foi algo inesperado. E para os ratos, também como já se esperava, o mais aplicado foi o pré-teste de 15 minutos com um teste de 5 minutos 24 horas depois (PORSOLT; BERTIN; JALFRE, 1978). Sobre os métodos de análises

dos comportamentos no teste, o que mais se destacou foi a falta de informação no relato do procedimento, principalmente para as publicações com camundongos. A maioria das publicações com camundongos não relatou como a análise do comportamento foi realizada, se manual ou por análise de vídeo. Para os ratos, a categoria “Sem info” foi a segunda mais frequente. E quando realizada por vídeoanálise em ambas as espécies, a maioria também não detalhou sobre como foi feita. Nessa porção da metodologia de várias publicações, referenciavam outra publicação para descrever como havia sido realizada a análise, mas ao seguir buscando essas informações de citação em citação, muitas vezes nenhum autor havia realmente descrito.

Enquanto a temperatura da água usada no nado forçado foi pouco variada e bastante similar para as espécies, de acordo com a utilizada por Porsolt; as dimensões do cilindro variaram bastante entre as publicações, mas a mediana se manteve proporcional de acordo com o tamanho dos roedores, menores cilindros para os camundongos e maiores para os ratos. Os resultados sobre a profundidade da água nos revelam um aumento dessa variável com o tempo, para camundongos de forma mais estável, e para ratos mais variável conforme o ano. Especulamos que essa mudança seja reflexo das publicações de Abel em 1994 e Detke e Lucki em 1996. Ambas publicações avaliaram a influência da profundidade da água no comportamento dos roedores. No trabalho de Abel (1994) verificou-se que o aumento da profundidade da água na sessão de teste diminuía o tempo de imobilidade dos ratos, mas não apresentou alteração nos níveis de corticosterona em relação aos animais expostos a uma profundidade de água menor, mostrando a influência dessa variável no comportamento, mas não no estresse gerado pelo teste. Detke e Lucki (1996) observaram uma vantagem no aumento da profundidade da água ao evidenciar o efeito de ISRSs e IRNs através da medida de comportamentos ativos (nado e escalada). Desde então, é recomendada uma profundidade da água o suficiente para o animal não conseguir alcançar o fundo do cilindro com a cauda e se apoiar (SLATTERY; CRYAN, 2012).

3.2.4 Sobre as qualidades

A análise da qualidade das publicações foi realizada através de duas ferramentas de risco de viés, ROB SYRCLE e CAMARADES adaptada, a primeira avalia a qualidade interna e a segunda avalia o relato de informações relacionadas a qualidade externa e condutas na execução e publicação dos trabalhos.

3.2.4.1 *Qualidade interna (ROB SYRCLE)*

Para 6 das 10 perguntas da ferramenta ROB SYRCLE, a maioria das publicações apresentaram risco de viés incerto (Figura 22), tais perguntas são referentes a condutas de cegamento (após alocação, durante tratamento e na avaliação do desfecho) e randomização (alocação do tratamento, acondicionamento e na avaliação do desfecho). Nas outras 4 perguntas, referentes a: similaridade entre grupos, justificativa de dados incompletos, seleção de desfecho e outros possíveis riscos, a maioria das publicações apresentaram um risco de viés baixo. Poucas publicações relataram explicitamente que não aplicaram condutas para redução dos riscos de vieses. Nenhuma publicação relatou não ter selecionado de forma aleatória os animais para acessar o desfecho e avaliado o desfecho de forma cega. Todas as publicações incluídas apresentaram um risco de viés geral incerto.

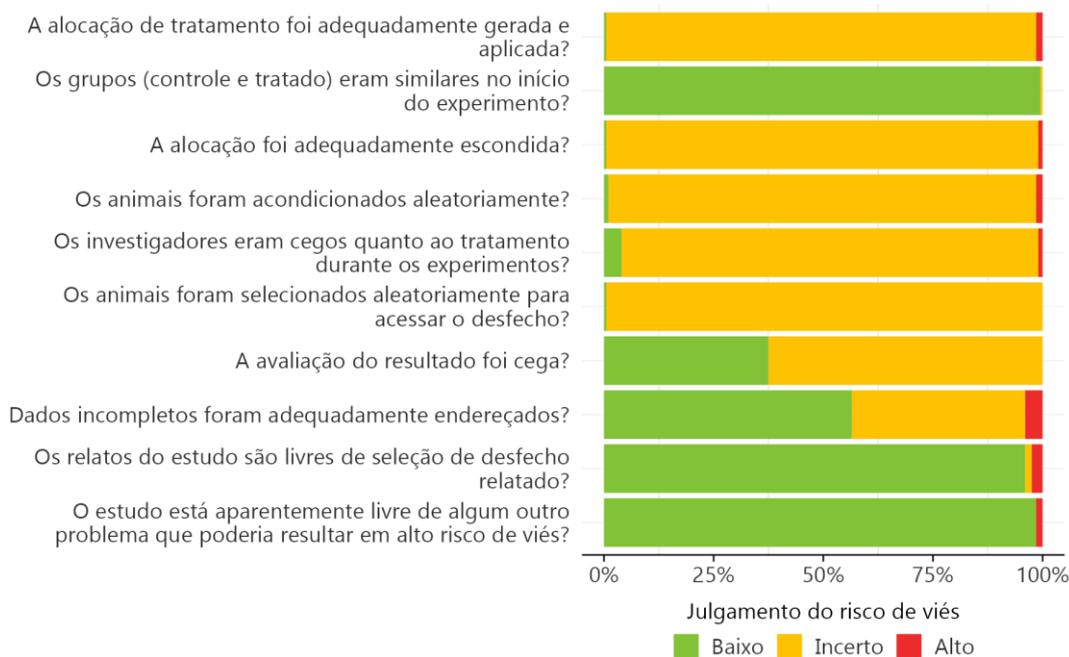


Figura 22 - Julgamento do risco de viés através da ferramenta ROB SYRCLE. A figura mostra no eixo y as 10 perguntas usadas para avaliar o risco de viés nas publicações. Para cada pergunta, o resultado é expresso em percentual de publicação que atende cada nível de risco: baixo, incerto e alto.

3.2.4.2 Qualidade externa e condutas (CAMARADES adaptado)

A ferramenta CAMARADES adaptada permitiu gerar resultados menos incertos, pelos tópicos serem mais objetivos (Figura 23). No tópico “Estudo seguiu algum guia”, das 68 publicações (34 %) as quais um “Sim” foi atribuído, 3 delas utilizaram o ARRIVE *guidelines* e 65 guias para uso de animais de laboratório. A maioria das publicações relataram estar em conformidade com regulamentos de bem-estar animal, mas nem a metade declararam possíveis conflitos de interesse. A maioria relatou três a cinco condições de acondicionamento nos biotérios ou demonstraram preocupação com o bem-estar dos animais, algumas (26,5 %) relataram menos de três condições, e a minoria (6,5 %) não relataram nada.

A grande maioria das publicações relataram a espécie, idade ou peso, e sexo dos animais utilizados nos estudos. Menos de 40 % relataram o fenótipo de interesse. Quarenta e sete e meio por cento relataram qual protocolo do nado forçado e método de análise foi utilizado para acessar o desfecho, mas a maioria (52 %) relatou apenas o protocolo. E por fim, apenas dois trabalhos relataram ter realizado o cálculo amostral, mas não detalharam o cálculo realizado ou como fora realizado: “*The sample sizes were determined based on power analysis and common practice in behavioral, neurochemical (~10 animals per group) and in situ hybridization studies*

(~5 animals per group).” e “The minimum number of animals required to obtain consistent data were employed.”.

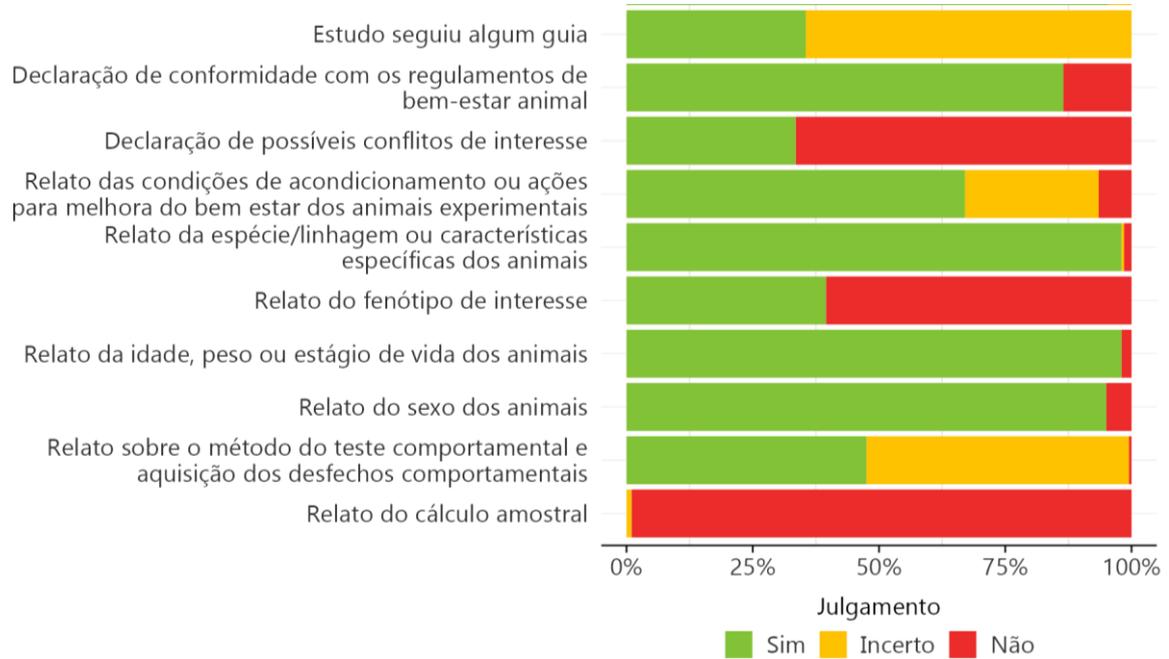


Figura 23 - Julgamento do risco de viés através da ferramenta CAMARADES. A figura mostra no eixo y os 11 tópicos usados para avaliar o risco de viés nas publicações. Para cada tópico, o resultado é expresso em percentual de publicação que atende cada nível de risco: baixo, incerto e alto.

3.2.5 Discussão sobre as validades interna e externa dos estudos

A análise de qualidade foi dividida em dois grandes grupos: aquela que avalia a qualidade interna (ROB SYRCLE), ou seja, o quanto os resultados de um estudo podem ser atribuídos ao efeito de uma intervenção e não a outros fatores, como vieses não controlados; e a que avalia condutas e validade externa (CAMARADES adaptado), podendo ser definida como a extensão em que os resultados de um estudo são válidos quando aplicados a outras condições (DIRNAGL; BANNACH-BROWN; MCCANN, 2021). Na análise da qualidade interna, os vieses do tipo seleção, desempenho e de detecção para a amostra foram pouco informativos no quesito julgamento, mas bastante evidente quanto à falta de informação sobre a qualidade interna nas publicações incluídas. Como resultado disso, grande parte das perguntas de sinalização apresentaram como julgamento do risco de viés das publicações “incerto”. O que leva à reflexão sobre se, os autores não realizaram o procedimento e não relataram a conduta, ou realizaram e simplesmente não reportaram. Isso foi discutido em uma mesa redonda intitulada como “*Systematic reviews in the laboratory animal domain*” (SWANKHUISEN; SMIT, 2014, p.15), e segundo o que foi registrado, os participantes discordaram sobre se, quando não relatavam cegamento e randomização, significava que os procedimentos não foram realizados. Também segundo os registros, especialistas em revisão sistemática relataram que ao contatar os autores de tais artigos, o cegamento e randomização quase nunca haviam sido realizados. No presente trabalho não realizamos essa abordagem para questionar os autores, com isso, a dúvida permanece.

Nos estudos com animais, a inequação metodológica e a falta de relato já são condutas conhecidas (BAHADORAN et al., 2020; RITSKES-HOITINGA et al., 2014). Kilkenny et al. (2009) avaliaram estudos que usaram animais de laboratório na área biomédica e que foram conduzidos nos Estados Unidos e Reino Unido. Como resultado, observaram que: apenas 7 % dos estudos com camundongos e 20 % dos estudos em ratos relataram ter feito alocações dos animais nos grupos de forma aleatória; e 4% dos estudos em camundongos e 7,6 % dos estudos em ratos relataram cegamento. O relato desse tipo de informações se faz bastante importante não só para mensuramos a qualidade interna desses estudos e por consequência a qualidade embutida nos resultados de uma meta-análise, mas também porque esses fatores podem confundir o efeito do composto ou superestimá-lo. Como constatado por Macleod et al. (2008), estudos que não relataram ter realizado randomização e ocultado o tratamento apresentaram maior tamanho de efeito comparados aos que relataram. Hirst et al. (2014) viram que a não

randomização também elevou o tamanho de efeito em áreas diversas, enquanto ocultar o tratamento e cegamento não. Quando ignoraram a direção da diferença entre os estudos que aplicaram randomização, cegamento e ocultaram o tratamento *versus* os que não aplicaram, observaram que essas condutas parecem reduzir o tamanho de efeito (HIRST et al., 2014).

A quantidade de “incerto” na pergunta 6 da ROB SYRCLE *tool*, sobre a seleção aleatória dos animais para acessar desfecho, pode ser justificada pelo padrão de, nos experimentos ser comum usar todos os animais dos grupos para acesso do desfecho comportamental, enquanto para acesso de desfechos histológicos, por exemplo, serem selecionados alguns animais de cada grupo, então nesse cenário, essa questão seria mais bem aproveitada. A dominância do julgamento “Incerto” no risco de viés da qualidade interna já foi observada em outras revisões com estudos em animais (BOLZAN, 2020; HESEN et al., 2017; LEENAARS et al., 2019), e o presente resultado expõe esse mesmo problema na literatura incluindo estudos que usam o teste do nado forçado para avaliar efeito de antidepressivos em roedores.

Suspeitamos que guias de relato, como o ARRIVE *guidelines* (PERCIE DU SERT et al., 2020), ou guias de planejamento, como o PREPARE (SMITH et al., 2018), teria um impacto ao diminuir essa falta de informações, e também aumentar a qualidade dos artigos publicados. Porém, como observado nos resultados sobre a qualidade externa e condutas, apenas três publicações relataram ter utilizado um guia de relato, impossibilitando uma investigação nesse sentido. Estudos anteriores já observaram que a adoção de guias como o ARRIVE pelas revistas científicas não garante a adesão dos artigos publicados por elas (HAIR; MACLEOD; SENA, 2019). Existe também a expectativa que o pré-registro de projetos e protocolos seria uma conduta que pode elevar a qualidade dos artigos publicados (SPANAGEL, 2022). Neste sentido, o planejamento cuidadoso do estudo a ser conduzido pode evitar práticas de que afetam a qualidade interna (DIRNAGL, 2020; DIRNAGL; BANNACH-BROWN; MCCANN, 2021), como o *p-hacking* (coleta de dados e reanálises até resultados estatisticamente não-significantes se tornem significantes) e *HARKing* (hipotetizar depois de saber os resultados). Além disso, se espera que o pré-registro possa evitar a supressão de resultados negativos da literatura, ou ao menos possibilitar estimar a taxa de estudos pré-registrados que não foram publicados. O registro de estudos primários em animais pode ser realizado em sites como “[preclinicaltrials](#)” e “[animalstudyregistry](#)”, ou até mesmo [OSF](#).

Os resultados de alguns tópicos avaliados pelo *checklist* CAMARADES refletem o quanto as publicações relatam características pertinentes da população utilizada. Ter ciência

desses dados é importante quando se pensa na validade externa, e a possibilidade de reproduzir os achados seguindo as mesmas condições relatadas; generalizá-los para outras condições; e traduzi-los para condições clínicas (SPANAGEL, 2022). Ao mesmo tempo que a padronização das características da população e condições de acondicionamento aumentam a validade interna dos achados, ela também diminui a validade externa. Autores vem sugerindo uma incorporação da heterogeneidade ao diversificar esses fatores de forma sistemática, para alcançar uma maior reprodutibilidade dos achados (DIRNAGL; BANNACH-BROWN; MCCANN, 2021; SUMAN; LINO DE OLIVEIRA, 2022).

Outro dado importante, se dá sobre o relato do cálculo amostral, o qual quase todas as publicações incluídas na amostra não discorreram sobre. A não realização do cálculo amostral pode levar a consequência de estudos com grupos contendo número insuficiente de animais e baixo poder (IOANNIDIS, 2018), comum em estudos exploratórios (DIRNAGL, 2020). Como consequência disso, não só a quantidade de resultados falsos negativos aumenta, como também a probabilidade de um resultado que apresentou significância estatística ser um falso positivo (SPANAGEL, 2022), gerando uma distorção no efeito quando apenas resultados positivos e principalmente estatisticamente significantes são publicados (BART VAN DER WORP et al., 2010). Além disso, estudos com baixo poder podem gerar um desperdício no uso de animais (BART VAN DER WORP et al., 2010), indo em direção contrária a um dos pilares sobre o uso ético dos animais dado pelos princípios dos 3Rs (do inglês: *Replacement, Reduction e Refinement*) (RUSSEL; BURCH, 1960).

3.3 META-ANÁLISE

3.3.1 Tamanho de efeito global

A estimativa de efeito global, incluindo os 561 estudos, apresentou um resultado favorável ao tratamento com antidepressivo comparado ao controle, com um tamanho de efeito muito grande e significativo (Hedges $g = 1,66$; IC 95% [1,53; 1,79]; $Z = 24,79$, $p < 0,0001$, $k = 561$) (ver gráfico em floresta, [OSF](#)). O resultado apresentou uma alta inconsistência ($I^2 = 81,47\%$), a heterogeneidade entre os estudos foi considerada significativa (Q ($df = 560$) = 2587,56; $p < 0,0001$) e apresentou um τ^2 de 1,80. O intervalo de predição foi de -0,98 a 4,30, o que significa que resultados futuros podem ser obtidos numa ampla faixa de valores, de positivos (favoráveis ao tratamento) a negativos (favoráveis ao veículo).

3.3.2 Análise de *outliers* e casos influentes

Na Figura 24, é possível visualizar em destaque os estudos que foram apontados como *outliers* (*rstudent*), casos influentes sobre o tamanho de efeito (*dffits*, *cook.d*), casos influentes sobre a precisão do modelo (*cov.r*), casos influentes sobre a heterogeneidade (*tau2.del*, *QE.del*) e com grande peso sobre o modelo (*hat*, *weight*). A função diagnosticou um total de 33 estudos como outlier e influentes, sendo aproximadamente 5,88 % da amostra total.

Devido a grande quantidade de estudos incluídos na amostra, ocorreu uma sobreposição dos estudos em destaque na Figura 24, por isso, listamos os estudos considerados *outliers* e casos influentes a seguir: JAFARI et al., 2013, KARIMI et al., 2007 (1), PAMULAPARTHI et al., 2016 (1), PAMULAPARTHI et al., 2016 (2), PAMULAPARTHI et al., 2016 (3), TAIWE et al., 2016, WATTANATHORN et al., 2008 (2), WATTANATHORN et al., 2018 (3), BENMANSOUR et al., 2016 (2), BHATT et al., 2014, CHEN et al., 2012, ELKHAYAT et al., 2016 (1), ELKHAYAT et al., 2016 (2), KAWASHIMA et al., 1986 (6), KULKARNI et al., 2008 (1), KURHE et al., 2014, MAHESH et al., 2012 (6), MAHESH et al., 2012 (7), MAHESH et al., 2012 (8), MAHMOUDI et al., 2014, NAKAGAWA, Y. et al., 1998 (3), NAKAGAWA, Y. et al., 1998 (6), NOLDNER et al., 2002 (1), NOLDNER et al., 2002 (2), NOLDNER et al., 2002 (3), NOLDNER et al., 2002 (4), NOLDNER et al., 2002 (5), PAWAR et al., 2009 (1), PAWAR et al., 2009 (2), RANE et al., 2014, SAH et al., 2011 (2), ZOMKOWSKI et al., 2002 (13), FERREIRA MELLO et al., 2013 (1).

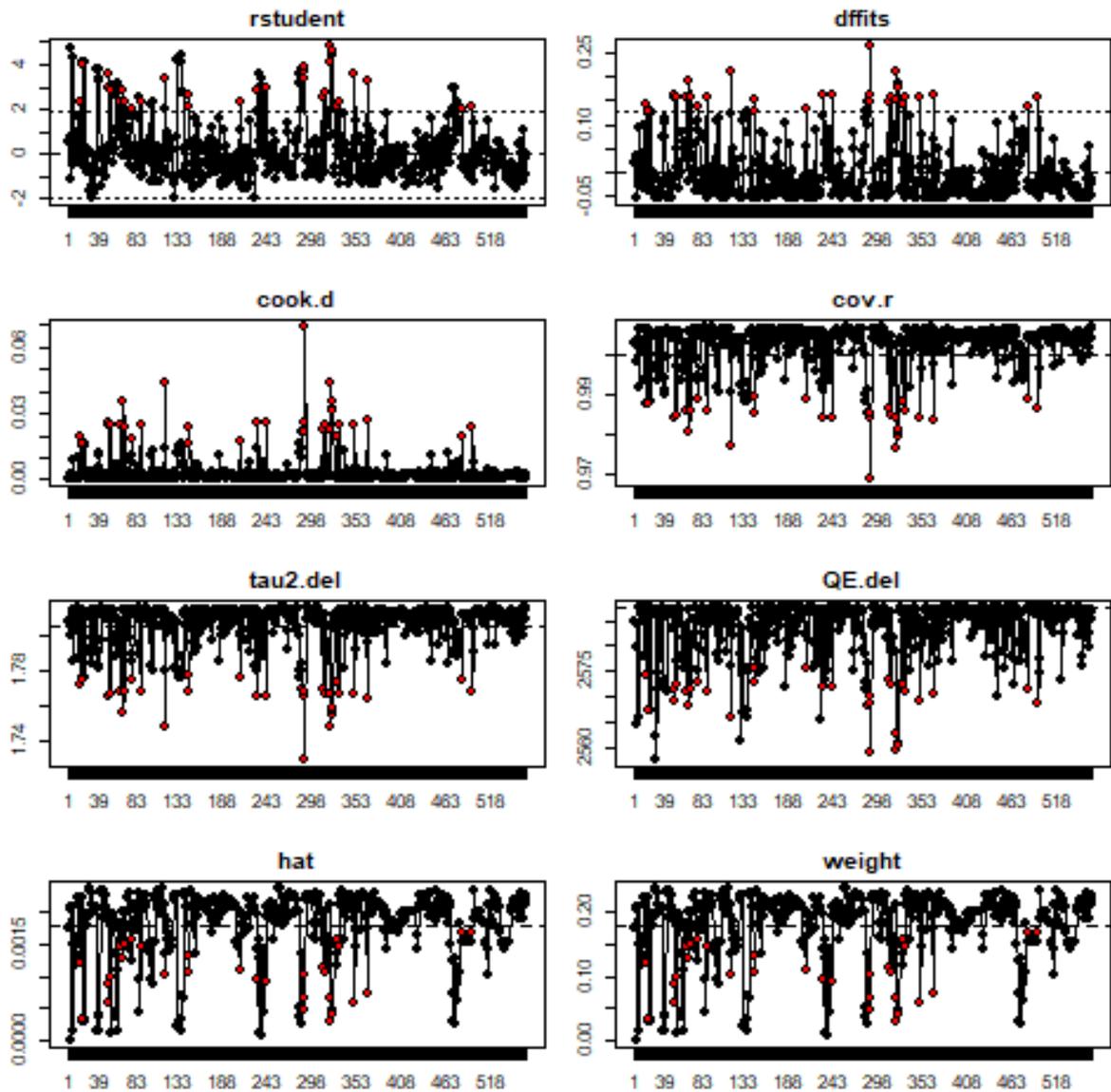


Figura 24 - Diagnóstico de *outliers* e casos influentes. Os gráficos mostram diferentes índices para identificar estudos *outliers* e casos influentes, na sequência: resíduos padronizados externamente (*rstudent*), valores DFFITS (*dffits*), “Cook’s distances” (*cook.d*), razões de covariância (*cov.r*), estimativa “leave-one-out” da heterogeneidade (*tau2.del*), estimativa “leave-one-out” do teste de heterogeneidade (*QE.del*), valores *hat* (*hat*) e peso do estudo no modelo (*weight*). No eixo y de cada gráfico se encontra o valor do índice e no eixo x identifica cada estudo através de números. Os círculos vermelhos são aqueles estudos apontados como possível *outlier* e influente.

Todos os estudos diagnosticados, influenciam as estimativas do modelo de forma a aumentar o tamanho de efeito e heterogeneidade. O estudo que provocou uma maior alteração nas estimativas quando retirado no *leave-one-out* foi o MAHMOUDI et al., 2014. Com a sua exclusão, o tamanho de efeito se alterou de 1,66 [1,53; 1,79] para 1,64 [1,51; 1,77], o valor de *Z* de 24,79 para 24,92, a inconsistência de 81,47 % para 80,84 %, e o valor de τ^2 de 1,80 para

1,98. Mas, nessa condição, tanto a estatística referente ao tamanho de efeito quanto a heterogeneidade se mantiveram significantes.

Ao analisar cada estudo apontado como *outlier* e caso influente, nenhuma característica dos estudos se sobressaiu como presente unicamente nesses estudos. Na verdade, as características que se repetiram entre esses estudos, foram: Pré-teste no protocolo do nado forçado em camundongo, profundidade da água pequena no nado forçado e uma pontuação quatro de qualidade (ROB SYRCLE). Mas essas também estão presentes em outros estudos da amostra que não foram diagnosticados na análise de sensibilidade. Por isso, não foi encontrada razão alguma que justificaria a exclusão desses estudos da amostra.

3.3.3 Análise de viés de publicação

A simetria do gráfico em funil foi aferida com duas medidas de precisão no eixo y (ordenadas), o desvio padrão e o inverso da raiz quadrada do tamanho amostral (Figura 25). No gráfico com o erro padrão (Figura 25, painel superior), é possível observar um aumento do tamanho de efeito conforme o erro padrão se eleva (em direção a base da pirâmide), e esse aumento é assimétrico em direção ao lado direito, onde favorece o tratamento com antidepressivos (resultado positivo). Já no gráfico que utilizou o inverso da raiz quadrada do tamanho amostral (Figura 25, painel inferior), é possível observar uma distribuição dos tamanhos de efeito em volta do tamanho de efeito do modelo (linha tracejada vertical) na ampla faixa do parâmetro (eixo y), onde o tamanho amostral é maior na porção superior do gráfico e menor na porção inferior do gráfico, com isso, podemos perceber também que os tamanhos de efeito mais extremos, à direita, estão presentes nos estudos que possuem um tamanho amostral menor.

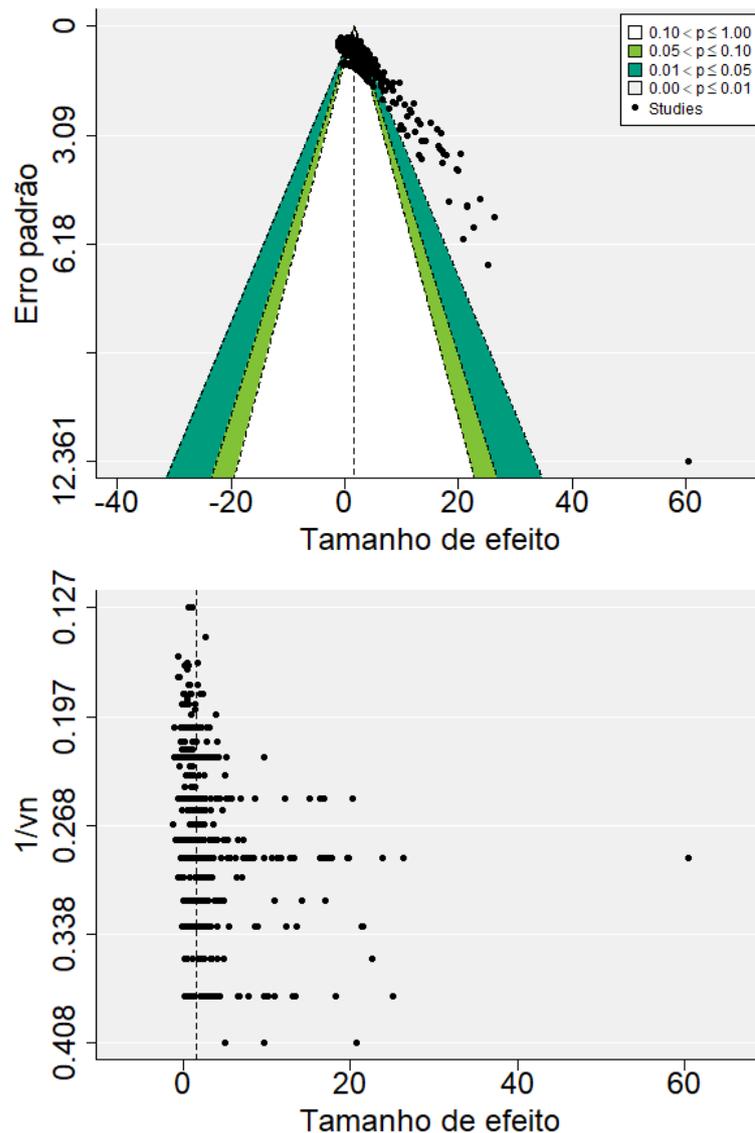


Figura 25 - Gráficos em funil. Os gráficos mostram os tamanhos de efeitos observados no eixo x em relação ao erro padrão (painel superior) ou inverso da raiz quadrada do tamanho amostral (painel inferior) no eixo y. Cada círculo preto representa um estudo. A linha vertical indica o tamanho de efeito global gerado pelo modelo de efeitos aleatórios. No painel superior as cores representam faixas de valor de p onde os estudos se encontram.

A assimetria dos funis fora testada com a “*Egger’s regression*” ou regressão de Egger, para descartar a subjetividade da aferição visual. Com o erro padrão como medida de precisão, o resultado indicou efeito de estudos pequenos estatisticamente significativo ($Z = 32,58$; $p < 0,0001$; intercepto = $-1,38$; IC95% [$-1,58$; $-1,18$]), e quando usado o inverso da raiz do tamanho amostral o resultado também indicou efeito de estudos pequenos e significância estatística no teste ($Z = 6,77$; $p < 0,0001$; intercepto = $-0,67$; IC95% [$-1,35$; $0,014$]).

A técnica de “*Trim and fill*” estimou um total de 104 estudos faltantes no lado esquerdo dos gráficos (Figura 26), e o teste de hipótese indicou de forma estatisticamente significativa a

ausência de estudos na amostra no lado esquerdo do gráfico ($p < 0.0001$). Com os estudos faltantes adicionados ao modelo, o tamanho de efeito foi considerado grande, em vez de “muito grande” como no modelo não ajustado, e permaneceu significativo (Hedges $g = 1,15$; IC 95% [0,92; 1,38]; $Z = 9,69$; $p < 0,0001$; $k = 665$). O resultado apresentou uma inconsistência maior que o modelo não ajustado ($I^2 = 94,47\%$), a heterogeneidade entre os estudos também foi considerada significativa ($Q (df = 664) = 4023,18$; $p < 0,0001$) e apresentou um τ^2 de 8,0, superior ao do modelo não ajustado.

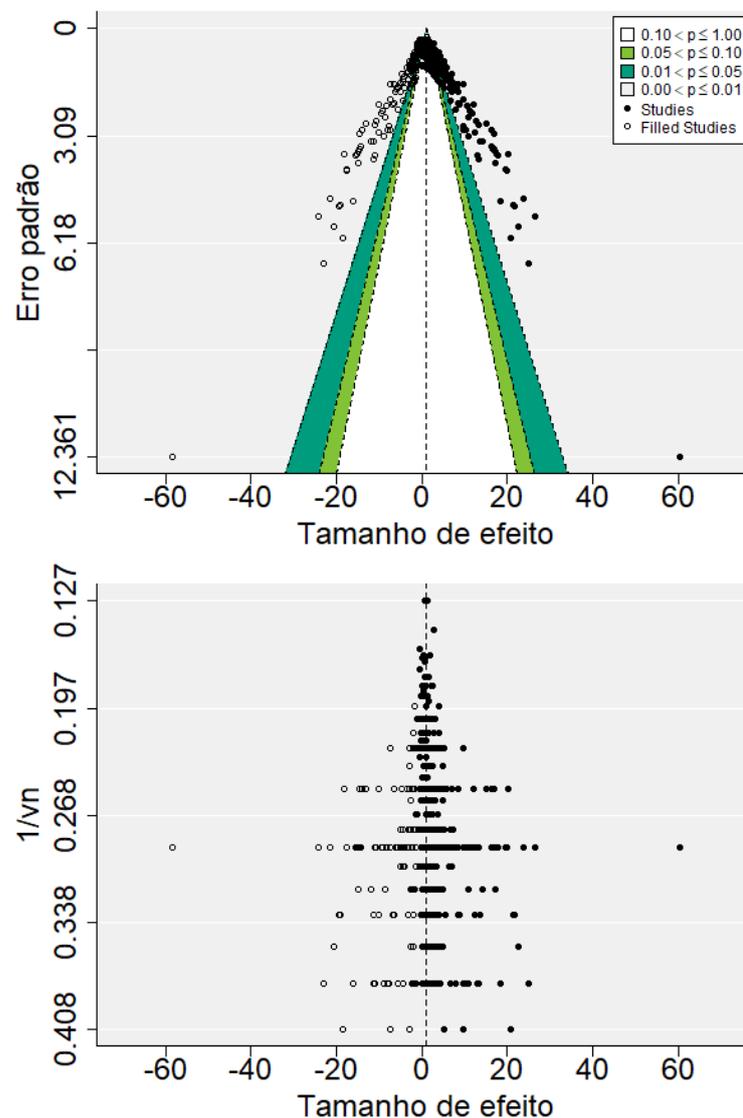


Figura 26 - Gráficos de funil com estudos faltantes. Os gráficos mostram os tamanhos de efeitos observados no eixo x em relação ao erro padrão (painel superior) ou inverso da raiz quadrada do tamanho amostral (painel inferior) no eixo y. Cada círculo preto representa um estudo presente na amostra, e os círculos vazios represam os estudos teóricos faltantes. A linha vertical indica o tamanho de efeito global gerado pelo modelo de efeitos aleatórios. No painel superior as cores representam faixas de valor de p onde os estudos se encontram.

O tamanho de efeito global do modelo ajustado por “*Weight-Function model*” também foi menor que o tamanho de efeito não ajustado, mas permaneceu estatisticamente significativo (Hedges $g = 1,37$; IC 95% [1,17; 1,58]; $Z = 13,11$; $p = < 0,0001$; $k = 561$), a heterogeneidade entre os estudos foi considerada significativa ($Q (df = 560) = 2587,56$; $p < 0,0001$) e apresentou um τ^2 de 1,75, inferior ao do modelo não ajustado. Com apenas os estudos contendo os valores de p acima de 0,05, na faixa não considerada estatisticamente significativa, o tamanho de efeito global estimado apresentou o menor valor dentre todos (Hedges $g = 0,60$; IC 95% [0,44; 0,77]; $Z = 7,11$; $p = < 0,0001$; $k = 209$). O “*Likelihood Ratio Test*” ou teste de razão de verossimilhança foi estatisticamente significativo ($\chi^2 (df = 1) = 13,16$; $p = 0,00028$), ou seja, o valor de p obtido foi menor que o nível de significância estatística ($\alpha = 0,10$) para o teste.

3.3.3.1 *Análise de viés de publicação por espécie*

Quando aferida a simetria do gráfico em funil separando por espécie (Figura 27, painel superior), é possível observar a assimetria em direção ao lado direito em ambas as espécies, onde favorece o tratamento com antidepressivos (resultado positivo). Já no gráfico que utilizou o inverso da raiz quadrada do tamanho amostral (Figura 27, painel inferior), é possível observar que os estudos com camundongo se distribuem mais na faixa do parâmetro (eixo y) que os estudos com rato. O resultado de “*Egger’s regression*” indicou efeito de estudos pequenos estatisticamente significativo para ambas espécies utilizando ambos os parâmetros: Camundongo (erro padrão, $Z = 24,24$; $p < 0,0001$; intercepto = -1,22; IC95% [-1,47; -0,96]) e ($1/\sqrt{n}$, $Z = 5,83$; $p < 0,0001$; intercepto = -0,72; IC95% [-1,60; 0,15]); Ratos (erro padrão, $Z = 18,66$; $p < 0,0001$; intercepto = -1,69; IC95% [-2,02; -1,35]) e ($1/\sqrt{n}$, $Z = 3,46$; $p < 0,0001$; intercepto = -0,52; IC95% [-1,63; 0,60]).

No modelo não ajustado contendo apenas os estudos que usaram camundongos, o resultado apresentou um tamanho de efeito muito grande, estatisticamente significativo, e alta inconsistência (Hedges $g = 1,84$; IC 95% [1,66; 2,03]; $Z = 19,59$; $p = < 0,0001$; $k = 326$, $I^2 = 82,88\%$, $Q (df = 325) = 1571,69$; $p < 0,0001$, $\tau^2 = 2,07$). Quando adicionados os 66 estudos faltantes estimados com a técnica de “*Trim and fill*” ($p < 0,0001$) (Figura 27, gráficos à esquerda), o tamanho de efeito ajustado continuou na faixa considerada muito grande, estatisticamente significativo, e a inconsistência alta (Hedges $g = 1,27$; IC 95% [0,91; 1,64]; $Z = 6,79$; $p = < 0,0001$; $k = 390$; $I^2 = 95,99\%$; $Q (df = 389) = 2438,64$; $p < 0,0001$; $\tau^2 = 11,87$).

No modelo não ajustado contendo apenas os estudos que usaram ratos, o resultado apresentou um tamanho de efeito muito grande, estatisticamente significativo, e alta inconsistência (Hedges $g = 1,44$; IC 95% [1,25; 1,62]; $Z = 15,17$; $p = < 0,0001$; $k = 235$; $I^2 = 79,72\%$; $Q(df = 234) = 1000,44$; $p < 0,0001$; $\tau^2 = 1,53$). Quando adicionados os 43 estudos faltantes estimados com a técnica de “*Trim and fill*” ($p < 0,0001$) (Figura 27, gráficos à direita), o tamanho de efeito ajustado passou a ser considerado grande, estatisticamente significativo, e a inconsistência alta (Hedges $g = 0,96$; IC 95% [0,67; 1,25]; $Z = 6,51$; $p < 0,0001$; $k = 278$; $I^2 = 92,10\%$; $Q(df = 277) = 1595,87$; $p < 0,0001$; $\tau^2 = 5,11$).

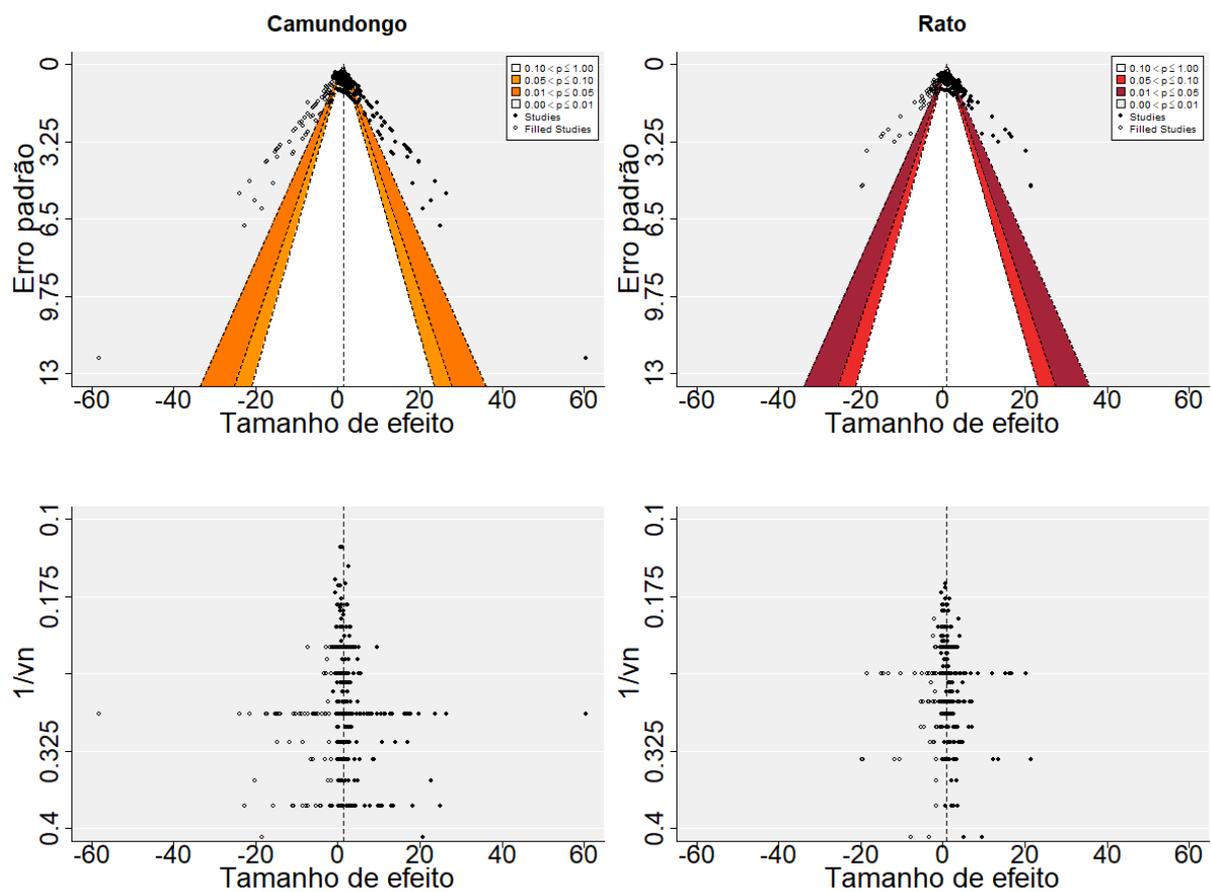


Figura 27 - Gráficos de funil por espécie com estudos faltantes. Os gráficos mostram os tamanhos de efeitos observados no eixo x em relação ao erro padrão (painel superior) ou inverso da raiz quadrada do tamanho amostral (painel inferior) no eixo y. À esquerda estão os estudos que usaram camundongos e à direita, ratos. Cada círculo preto representa um estudo presente na amostra, e os círculos vazios represam os estudos teóricos faltantes. A linha vertical indica o tamanho de efeito global gerado pelo modelo de efeitos aleatórios. No painel superior as cores representam faixas de valor de p onde os estudos se encontram.

Para o subgrupo com apenas camundongos, o tamanho de efeito global do modelo ajustado por “*Weight-Function model*” foi menor que o tamanho de efeito não ajustado, mas permaneceu estatisticamente significativo (Hedges $g = 1,39$; IC 95% [1,10; 1,67]; $Z = 9,59$; $p =$

$< 0,0001$; $k = 326$), a heterogeneidade entre os estudos foi considerada significativa (Q ($df = 325$) = 1571,69; $p < 0,0001$) e apresentou um τ^2 de 1,99, inferior ao do modelo não ajustado. O “*Likelihood Ratio Test*” foi estatisticamente significativo (χ^2 ($df = 1$) = 17,98; $p < 0,0001$).

Para o subgrupo com apenas ratos, o tamanho de efeito global do modelo ajustado por “*Weight-Function model*” também foi menor que o tamanho de efeito não ajustado, mas permaneceu estatisticamente significativo (Hedges $g = 1,36$; IC 95% [1,06; 1,66]; $Z = 8,89$; $p < 0,0001$; $k = 235$), a heterogeneidade entre os estudos foi considerada significativa (Q ($df = 234$) = 1000,44; $p < 0,0001$) e apresentou um τ^2 de 1,50, superior ao do modelo não ajustado. Mas nesse subgrupo, o “*Likelihood Ratio Test*” não apresentou significância estatística (χ^2 ($df = 1$) = 0,46; $p = 0,50$).

3.3.4 Análise de subgrupos

A apresentação dos resultados desse capítulo está dividida em dois grandes grupos de acordo com a espécie, com subgrupos analisados de acordo com a categoria as quais as variáveis pertencem: população (Figura 28 e Figura 29), intervenção (Figura 30 e Figura 31) e desfecho (Figura 32 e Figura 33). Por serem recortes específicos dentro da amostra, os resultados da análise de subgrupos devem ser interpretados com cautela, uma vez que na maioria das análises, o número de estudos incluídos é inferior ao estipulado *a priori* no cálculo da amostragem ($k = 200$), visando um poder estatístico de pelo menos 80%.

Os antidepressivos diminuíram o tempo de imobilidade no teste do nado forçado para ambas as espécies, com um tamanho de efeito grande e significativo, e alta inconsistência (Figura 28 e Figura 29). Os resultados se mostraram a favor do tratamento com antidepressivo independente do sexo, experiência de estresse e ciclo de luz de cada espécie. Para todos os sexos, os tamanhos de efeitos foram significantes e de grandes a enormes em ambas as espécies, com alta inconsistência, exceto pelas camundongas, que apresentaram uma inconsistência baixa. Os tamanhos de efeitos globais para cada subgrupo de linhagem se mostraram bem variados para ambas as espécies, mas a maioria apresentou significância estatística (camundongos: 12/13, ratos: 4/7), favorecendo o tratamento com antidepressivos (ver Figura 28 e Figura 29, intervalo de confiança não inclui zero), mas todas essas análises incluíram um número de artigo menor que o estipulado para alcançar um poder de 80 %. Ainda, muito dos

subgrupos referentes a população apresentaram uma inconsistência superior a estipulada quando realizado o cálculo de poder.

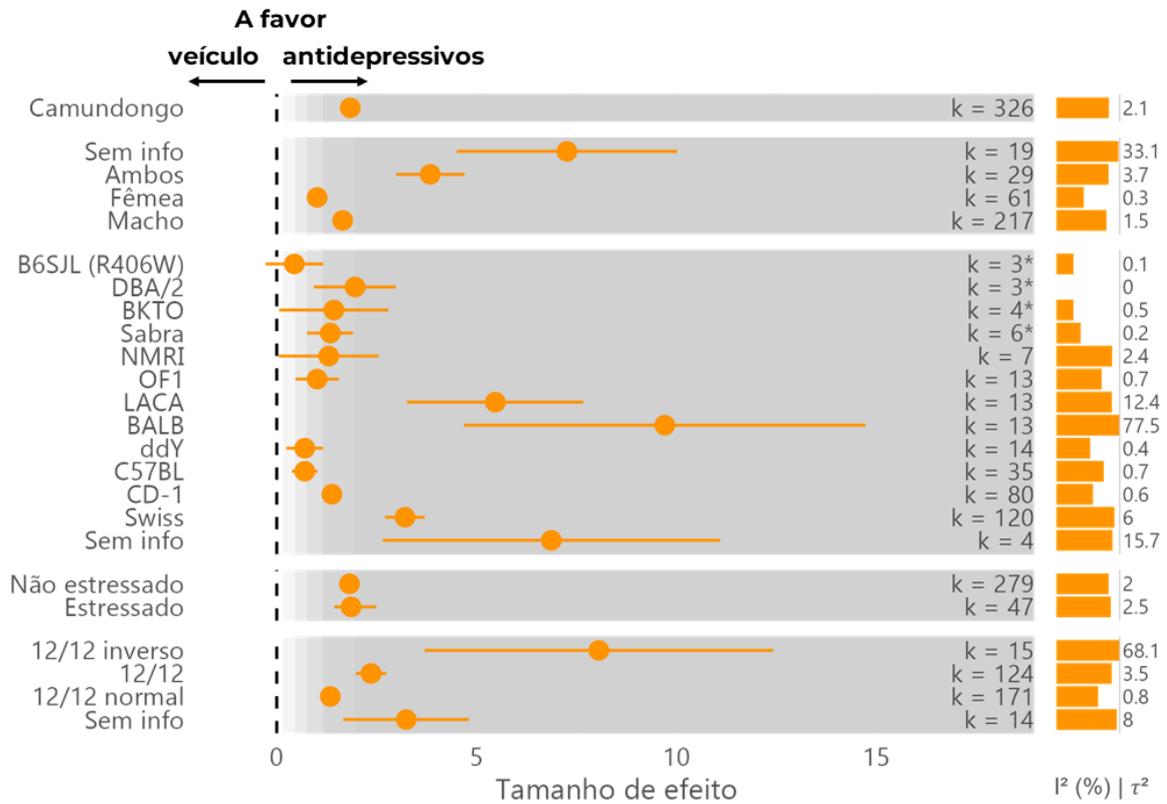


Figura 28 - Análise de subgrupos por característica da população (camundongos). Subgrupos estão separados por (eixo y): espécie, sexo, linhagem, experiência de estresse e ciclo de luz. Os círculos representam a estimativa de tamanho de efeito com respectivos intervalos de confiança (linha horizontal). Quando presente no lado direito da linha tracejada favorece o tratamento com antidepressivos, e no lado esquerdo favorece o tratamento com veículo. Os tons de cinza são equivalente a magnetude de tamanho de efeito. Sem info = Dado não informado no artigo; k = quantidade de estudos incluídos no subgrupo; * = Estudos de uma mesma publicação I² = percentual de inconsistência; τ^2 = variância.

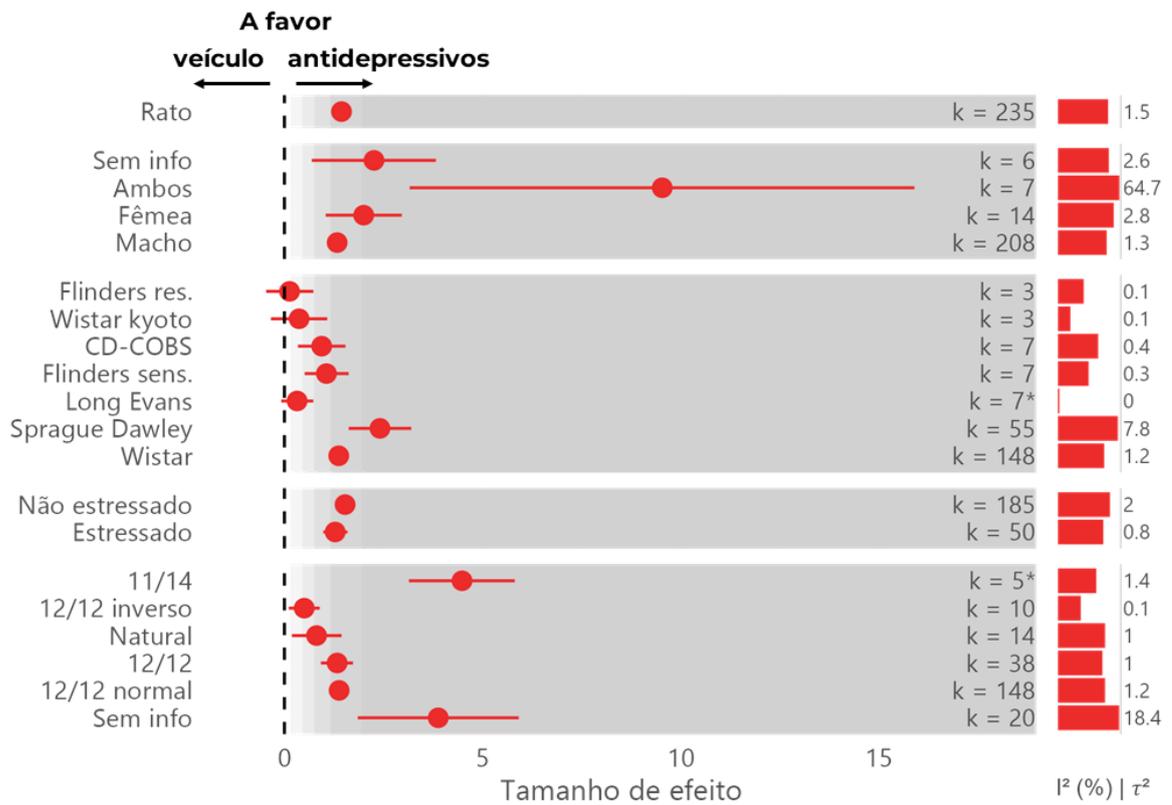


Figura 29 - Análise de subgrupos por característica da população (ratos). Subgrupos estão separados por (eixo y): espécie, sexo, linhagem, experiência de estresse e ciclo de luz. Os círculos representam a estimativa de tamanho de efeito com respectivos intervalos de confiança (linha horizontal). Quando presente no lado direito da linha tracejada favorece o tratamento com antidepressivos, e no lado esquerdo favorece o tratamento com veículo. Os tons de cinza são equivalente a magnetude de tamanho de efeito. Sem info = Dado não informado no artigo; k = quantidade de estudos incluídos no subgrupo; * = Estudos de uma mesma publicação I² = percentual de inconsistência; τ² = variância.

Na análise de subgrupos por característica da intervenção, apenas o tratamento em camundongos por via intraperitoneal alcançou um poder 80% (Figura 30). Quando agrupado por classe de antidepressivo, todos os resultados favoreceram o tratamento com antidepressivo de forma significativa, por exceção do tratamento de ratos com tetracíclicos (TeCA) (Figura 31). Quando analisado os antidepressivos individualmente, as magnitudes dos efeitos se mostraram bastante variadas, a maioria apresentou significância estatística a favor do tratamento com os fármacos, mas grande parte tem poucos estudos incluídos na análise. Apenas o tratamento de ratos com amoxapina (TeCA) que teve um resultado favorável ao veículo, mas inconclusivo. Na análise agrupada por via de administração, todos resultados se mostraram favoráveis ao tratamento com antidepressivos, apenas a via subcutânea nos camundongos e oral por dieta nos ratos que foram inconclusivas.

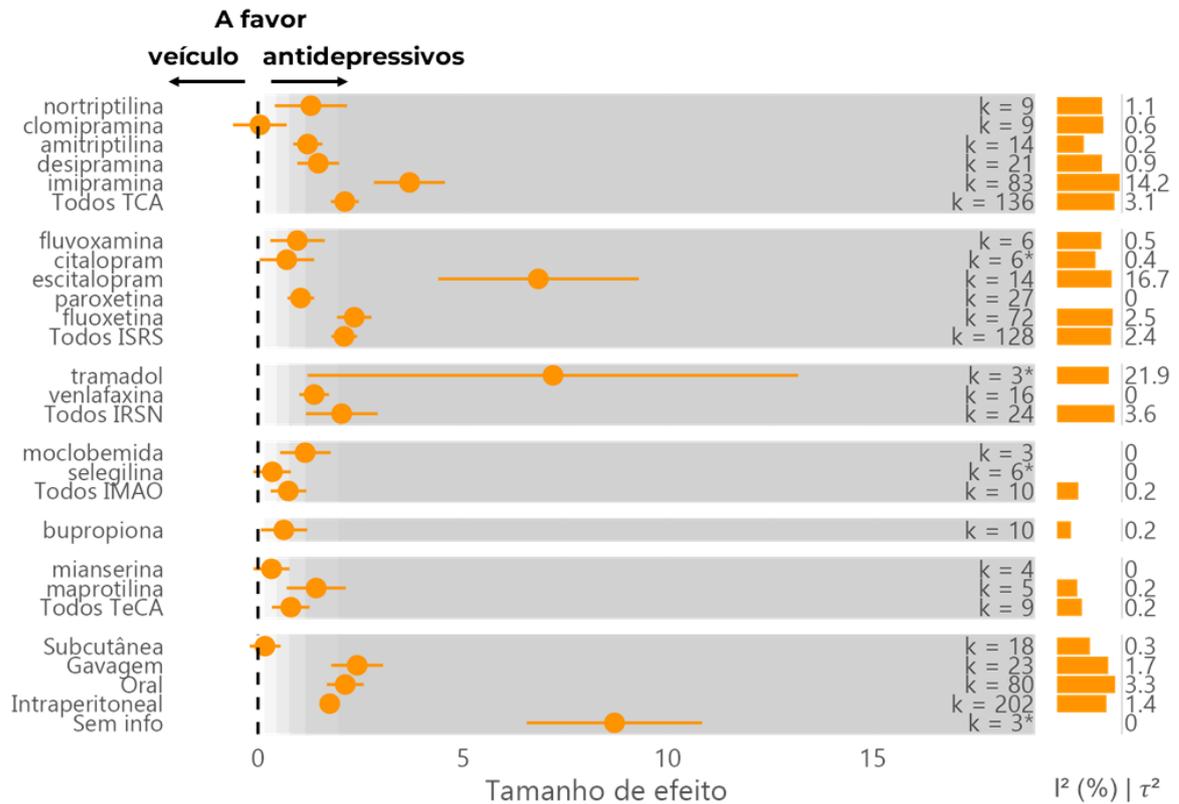


Figura 30 - Análise de subgrupos por característica da intervenção (camundongos). Subgrupos estão separados por (eixo y): compostos e classe de antidepressivo, e via de administração. Os círculos representam a estimativa de tamanho de efeito com respectivos intervalos de confiança (linha horizontal). Quando presente no lado direito da linha tracejada favorece o tratamento com antidepressivos, e no lado esquerdo favorece o tratamento com veículo. Os tons de cinza são equivalente a magnetude de tamanho de efeito. Sem info = Dado não informado no artigo; k = quantidade de estudos incluídos no subgrupo; * = Estudos de uma mesma publicação I² = percentual de inconsistência; τ² = variância.

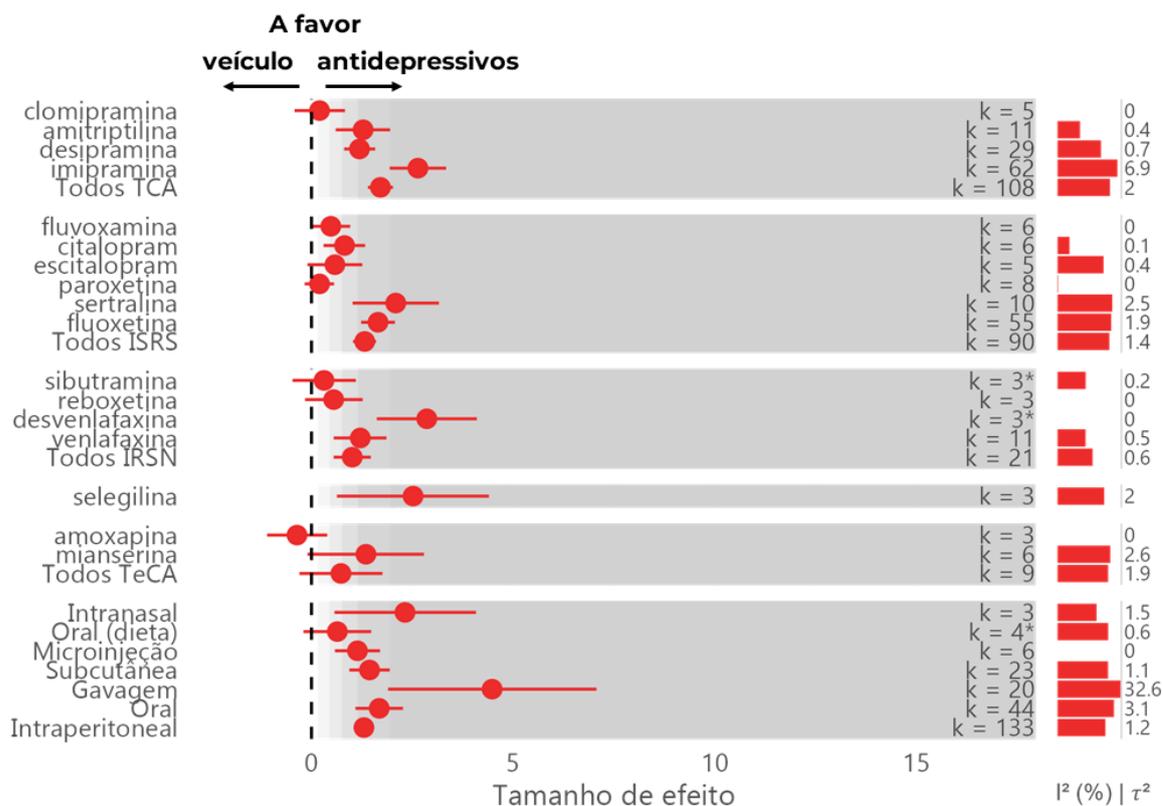


Figura 31 - Análise de subgrupos por característica da intervenção (ratos). Subgrupos estão separados por (eixo y): compostos e classe de antidepressivo, e via de administração. Os círculos representam a estimativa de tamanho de efeito com respectivos intervalos de confiança (linha horizontal). Quando presente no lado direito da linha tracejada favorece o tratamento com antidepressivos, e no lado esquerdo favorece o tratamento com veículo. Os tons de cinza são equivalente a magnetude de tamanho de efeito. Sem info = Dado não informado no artigo; k = quantidade de estudos incluídos no subgrupo; * = Estudos de uma mesma publicação I² = percentual de inconsistência; τ² = variância.

As estimativas de efeito global para os diferentes protocolos do teste do nado forçado apresentaram grande variação entre si, chegando a um Hedges g de 14,45 (IC 95% [8,21; 20,69]) para os estudos que aplicaram um protocolo com pré-teste de 5 minutos com um teste de 5 minutos em camundongos (Figura 32), mas esse resultado também está composto da maior inconsistência dentre os subgrupos. Outra estimativa de efeito global exorbitante foi o protocolo aplicado em ratos com um pré-teste de duração desconhecida e um teste de 6 minutos contabilizando os 4 finais (Hedges g = 15,68; IC 95% [11,29; 20,07]), a inconsistência entre os estudos foi “muito baixa”, mas esses pertenciam a mesma publicação (Figura 33).

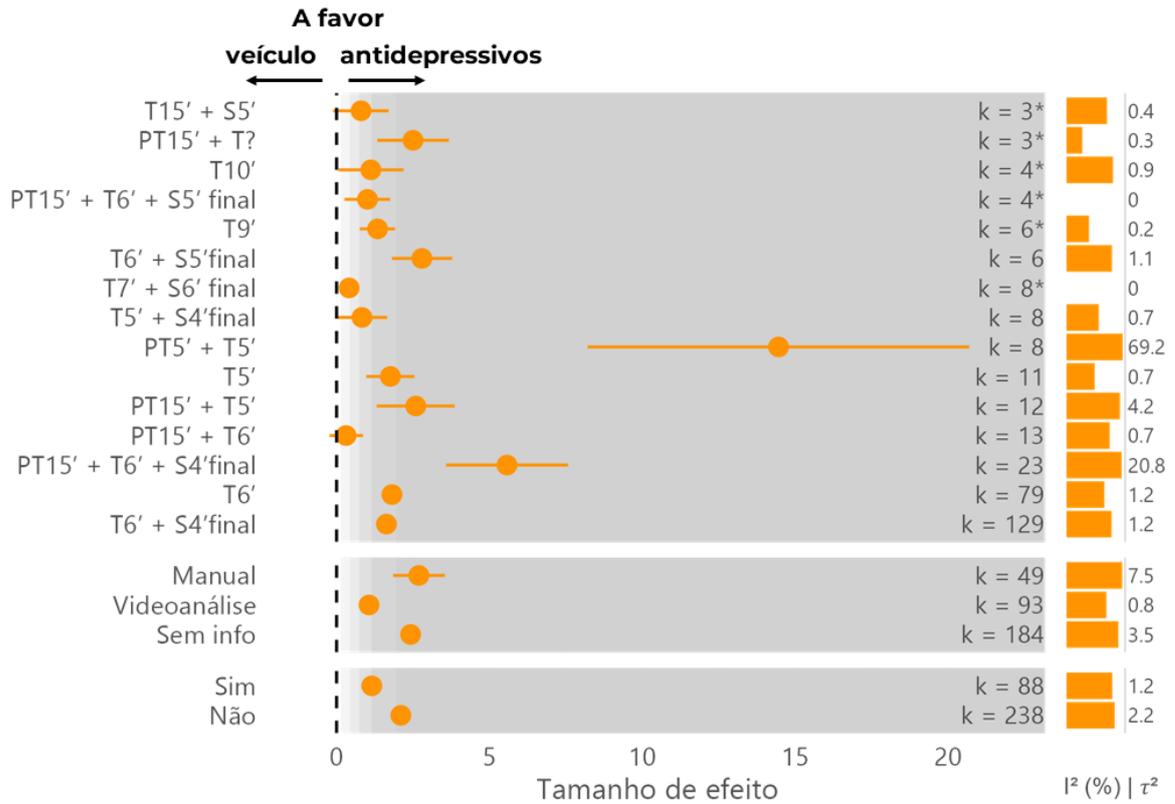


Figura 32 - Análise de subgrupos por característica do desfecho (camundongos). Subgrupos estão separados por (eixo y): protocolo do teste do nado forçado, método de análise e outro teste antes do nado forçado. Os círculos representam a estimativa de tamanho de efeito com respectivos intervalos de confiança (linha horizontal). Quando presente no lado direito da linha tracejada favorece o tratamento com antidepressivos, e no lado esquerdo favorece o tratamento com veículo. Os tons de cinza são equivalente a magnitude de tamanho de efeito. Sem info Dado não informado no artigo; k = quantidade de estudos incluídos no subgrupo; * = Estudos de uma mesma publicação I² = percentual de inconsistência; τ² = variância.

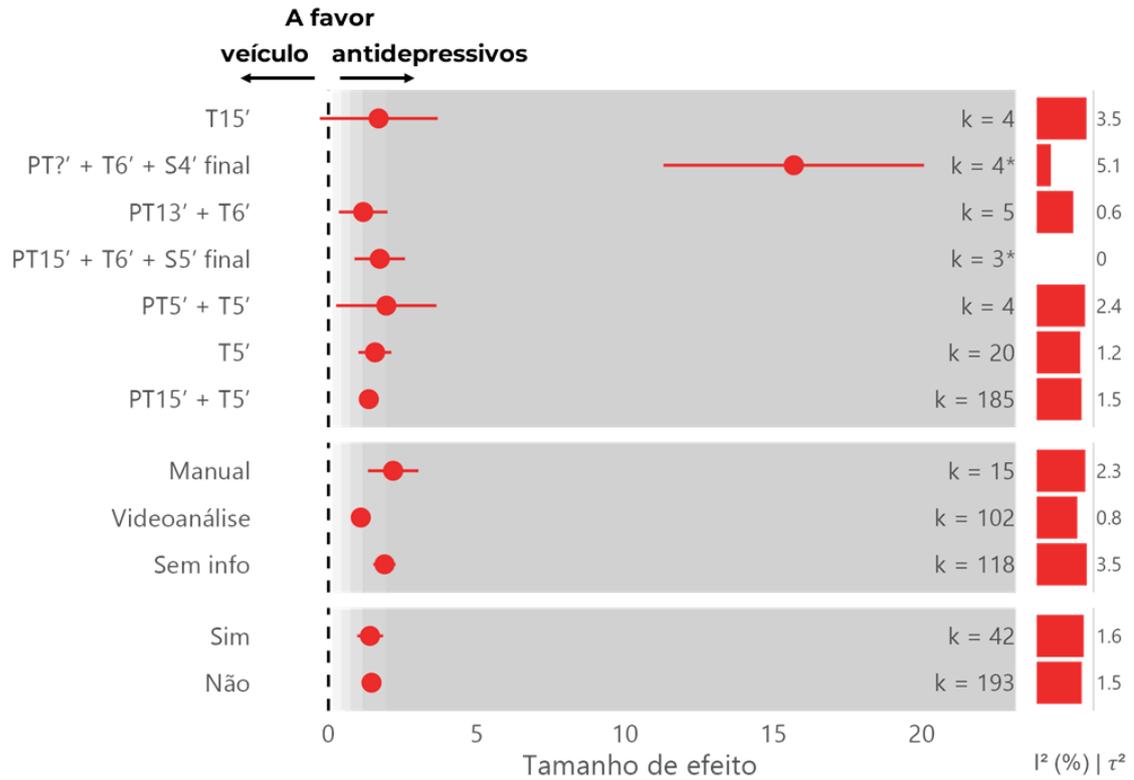


Figura 33 - Análise de subgrupos por característica do desfecho (ratos). Subgrupos estão separados por (eixo y): protocolo do teste do nado forçado, método de análise e outro teste antes do nado forçado. Os círculos representam a estimativa de tamanho de efeito com respectivos intervalos de confiança (linha horizontal). Quando presente no lado direito da linha tracejada favorece o tratamento com antidepressivos, e no lado esquerdo favorece o tratamento com veículo. Os tons de cinza são equivalente a magnetude de tamanho de efeito. Sem info = Dado não informado no artigo; k = quantidade de estudos incluídos no subgrupo; * = Estudos de uma mesma publicação I² = percentual de inconsistência; τ² = variância.

3.3.5 Análise de moderadores por meta-regressão

A análise da influência das variáveis numéricas contínuas sobre o efeito dos antidepressivos em roedores submetidos ao teste do nado forçado, foi conduzida através de meta-regressão, onde a variável de interesse é o moderador a ser analisado. Os moderadores avaliados foram: peso e idade (população), dose (intervenção), profundidade da água (desfecho), e qualidade e ano de publicação (publicação).

Para os camundongos, a idade foi um moderador que parece ter influenciado o tamanho de efeito ($Q (df = 1) = 6,26; p < 0,01$). O coeficiente de regressão da idade (-0,003) indica uma relação negativa entre as variáveis, onde com o aumento na idade dos animais o tamanho de efeito diminui (Figura 34, painel superior esquerdo). A inconsistência contabilizada pelo moderador foi de 4,67 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 70,14 % (I^2), considerada estatisticamente significativa ($Q (df = 143) = 560,74; p < 0,0001$). Para os ratos, a influência da idade sobre o tamanho de efeito foi inconclusiva ($Q (df = 1) = 0,03; p = 0,86$; coeficiente de regressão da idade = 0,0003) (Figura 34, painel superior direito). A inconsistência contabilizada pelo moderador idade para os ratos foi de 0,0 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 78,66 % (I^2), considerada estatisticamente significativa ($Q (df = 76) = 292,09; p < 0,0001$).

Quanto a influência do peso sobre o tamanho de efeito, para os camundongos, o coeficiente de regressão (0,06) indica uma relação positiva entre o peso e tamanho de efeito ($Q (df = 1) = 6,72 p = 0,01$), assim, quanto maior o peso, maior a diferença no tempo de imobilidade no teste do nado forçado entre os animais controles e os tratados (Figura 34, painel inferior esquerdo). A inconsistência contabilizada pelo moderador foi de 0,20 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 82,45% (I^2), considerada estatisticamente significativa ($Q (df = 228) = 1044,03; p < 0,0001$). Para os ratos, o coeficiente de regressão (-0,0009) indica uma relação negativa e inconclusiva entre o peso e tamanho de efeito ($Q (df = 1) = 0,25; p = 0,61$) (Figura 34, painel inferior direito). A inconsistência contabilizada pelo moderador peso para os ratos foi de 0,00 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 79,71% (I^2), considerada estatisticamente significativa ($Q (df = 199) = 854,88; p < 0,0001$).

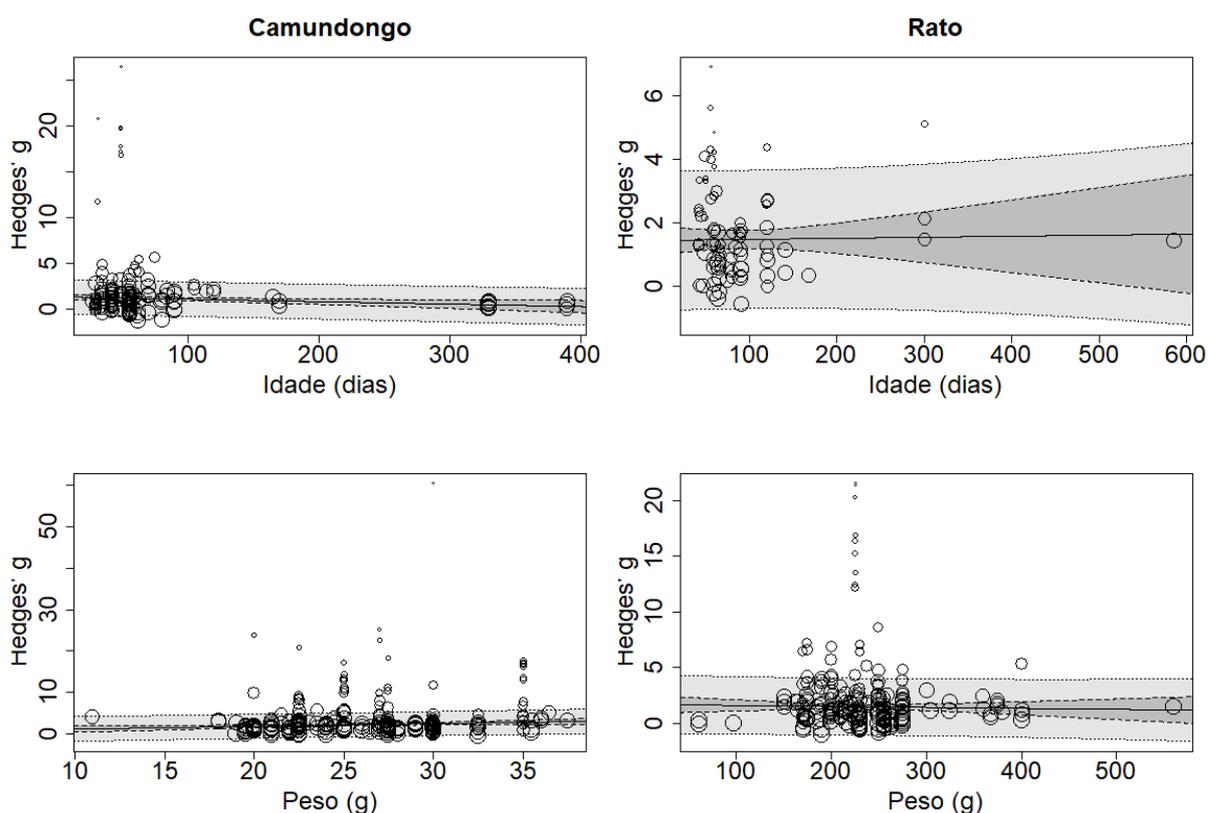


Figura 34 - Meta-regressão com moderadores da população. A figura mostra gráficos de dispersão (esquerda = camundongo, direita = rato) dos valores de moderadores (eixo x, painel superior = idade (dias), painel inferior = peso (g)) em modelo de meta-regressão em relação aos tamanhos de efeitos (eixo y). A linha preta na horizontal representa a regressão (relação entre moderador e tamanho de efeito), a sombra cinza escuro delimitada com tracejado representa o intervalo de confiança, e a sombra cinza clara delimitada com pontilhado representa o intervalo de predição. Cada círculo é um estudo e a área é determinada pela da raiz quadrada do peso no modelo.

Para os camundongos, a influência da dose do antidepressivo sobre o tamanho de efeito apresentou um resultado inconclusivo ($Q (df = 1) = 1,60; p = 0,21$; coeficiente de regressão da dose = 0,0076) (Figura 35, painel esquerdo). A inconsistência contabilizada pelo moderador foi de 0,00 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 81,46 % (I^2), considerada estatisticamente significativa ($Q (df = 309) = 1474,19; p < 0,0001$). Para os ratos, a influência da dose do antidepressivo sobre o tamanho de efeito foi significativa ($Q (df = 1) = 10,71; p = 0,001$; coeficiente de regressão da dose = 0,029) com uma relação positiva entre as variáveis (Figura 35, painel direito). A inconsistência contabilizada pelo moderador dose para os ratos foi de 2,78 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 80,29 % (I^2), considerada estatisticamente significativa ($Q (df = 226) = 976,81; p < 0,0001$).

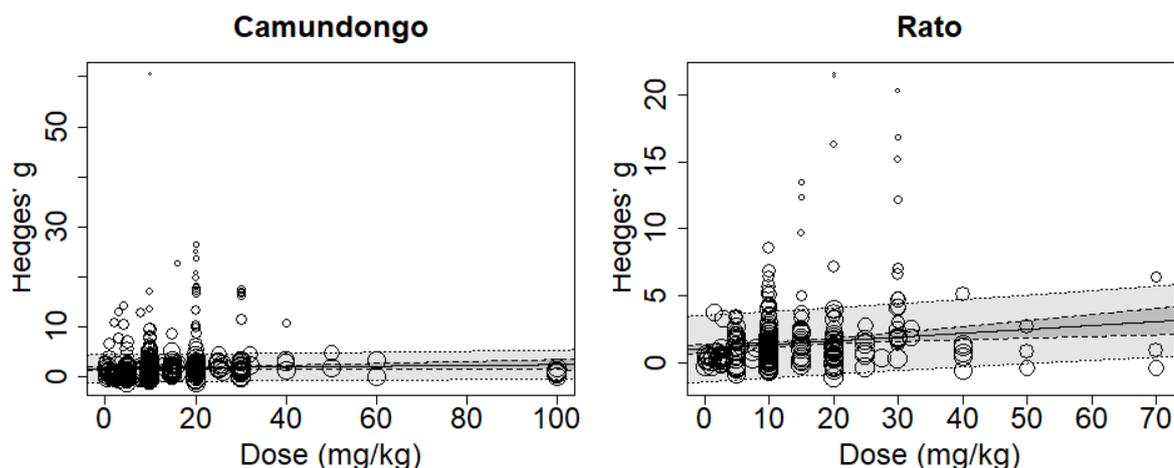


Figura 35 - Meta-regressão com moderador da intervenção (dose). A figura mostra gráficos de dispersão (esquerda = camundongo, direita = rato) dos valores de moderadores (eixo x, dose (mg/kg)) em modelo de meta-regressão em relação aos tamanhos de efeitos (eixo y). A linha preta na horizontal representa a regressão (relação entre moderador e tamanho de efeito), a sombra cinza escuro delimitada com tracejado representa o intervalo de confiança, e a sombra cinza clara delimitada com pontilhado representa o intervalo de predição. Cada círculo é um estudo e a área é determinada pela da raiz quadrada do peso no modelo.

A influência da profundidade da água usada no teste do nado forçado sobre o tamanho de efeito apresentou um resultado inconclusivo para os camundongos (Q (df = 1) = 0,81; p = 0,37; coeficiente de regressão da profundidade da água = -0,01) (Figura 36, painel esquerdo). A inconsistência contabilizada pelo moderador foi de 0,08 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 83,32 % (I^2), considerada estatisticamente significativa (Q (df = 318) = 1548,32; p < 0,0001). Para os ratos, a influência profundidade da água também não foi significativa (Q (df = 1) = 0,82; p = 0,36; coeficiente de regressão da profundidade da água = - 0,01) (Figura 36, painel direito). A inconsistência contabilizada pelo moderador profundidade da água para os ratos foi de 0,00 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 80,30 % (I^2), considerada estatisticamente significativa (Q (df = 222) = 955,96; p < 0,0001).

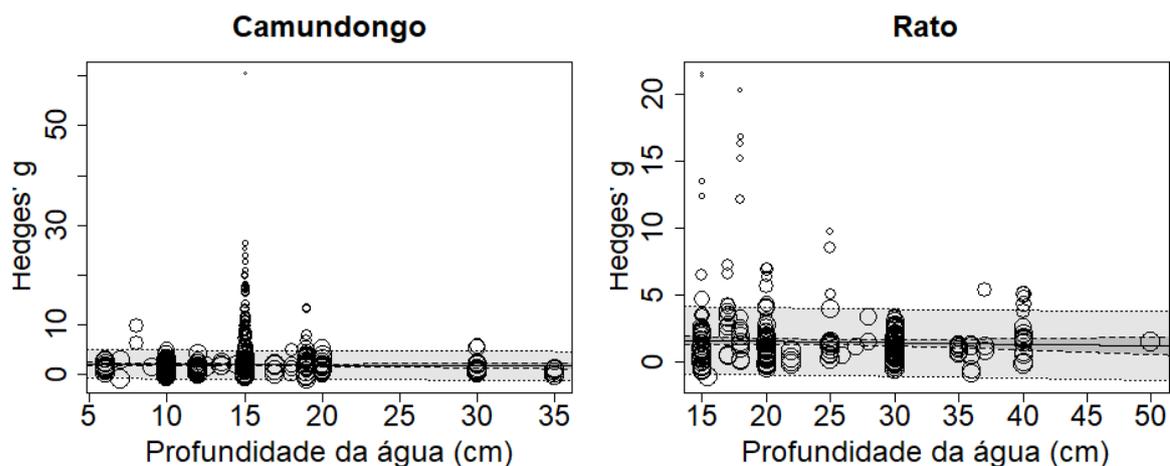


Figura 36 - Meta-regressão com moderador do desfecho (profundidade da água). A figura mostra gráficos de dispersão (esquerda = camundongo, direita = rato) dos valores de moderadores (eixo x, profundidade da água (cm)) em modelo de meta-regressão em relação aos tamanhos de efeitos (eixo y). A linha preta na horizontal representa a regressão (relação entre moderador e tamanho de efeito), a sombra cinza escuro delimitada com tracejado representa o intervalo de confiança, e a sombra cinza clara delimitada com pontilhado representa o intervalo de predição. Cada círculo é um estudo e a área é determinada pela da raiz quadrada do peso no modelo.

Para os camundongos, o ano de publicação apresentou um resultado inconclusivo quanto a influência sobre o tamanho de efeito (Q ($df = 1$) = 3,23; $p = 0,07$; coeficiente de regressão do ano = 0,03) (Figura 37, painel superior esquerdo). A inconsistência contabilizada pelo moderador foi de 0,82% (R^2) e a inconsistência residual foi de 82,72 % (I^2), considerada estatisticamente significativa (Q ($df = 324$) = 1566,04; $p < 0,0001$). Para os ratos, a influência do ano de publicação sobre o tamanho de efeito também foi inconclusiva (Q ($df = 1$) = 1,53; $p = 0,22$; coeficiente de regressão do ano = -0.03) (Figura 37, painel superior direito). A inconsistência contabilizada pelo moderador ano para os ratos foi de 0,00 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 79,71 % (I^2), considerada estatisticamente significativa (Q ($df = 233$) = 998,81; $p < 0,0001$).

Por fim, a qualidade das publicações apresentou influência sobre o tamanho de efeito para ambas as espécies. Para os camundongos, a qualidade e tamanho de efeito apresentaram uma relação inversa e estatisticamente significativa (Q ($df = 1$) = 3,87; $p = 0,049$; coeficiente de regressão da qualidade = -0,21) (Figura 37, painel inferior esquerdo). Mas a inconsistência contabilizada pelo moderador foi de 0,00% (R^2) e a inconsistência residual foi de 83,16% (I^2), considerada estatisticamente significativa (Q ($df = 324$) = 1570,94; $p < 0,0001$). Para os ratos, a influência da qualidade sobre o tamanho de efeito também foi estatisticamente significativa, mas a relação foi positiva (Q ($df = 1$) = 12,04; $p = 0,0005$; coeficiente de regressão da qualidade = 0,27) (Figura 37, painel inferior direito). A inconsistência contabilizada pelo moderador

qualidade para os ratos foi de 8,26 % (R^2) e a inconsistência residual foi de 78,25 % (I^2), considerada estatisticamente significativa (Q ($df = 233$) = 966,41; $p < 0,0001$).

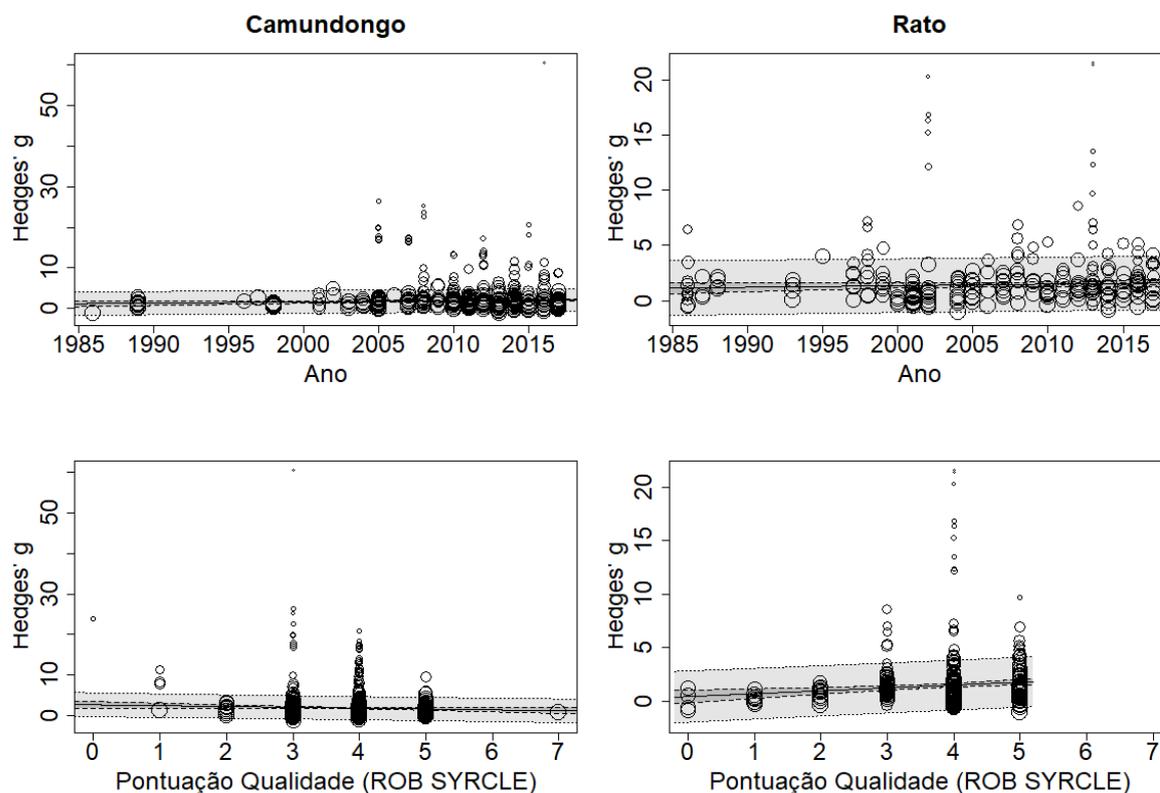


Figura 37 - Meta-regressão com moderadores da publicação. A figura mostra gráficos de dispersão (esquerda = camundongo, direita = rato) dos valores de moderadores (eixo x, painel superior = ano de publicação, painel inferior = pontuação de qualidade (ROB SYRCLE)) em modelo de meta-regressão em relação aos tamanhos de efeitos (eixo y). A linha preta na horizontal representa a regressão (relação entre moderador e tamanho de efeito), a sombra cinza escuro delimitada com tracejado representa o intervalo de confiança, e a sombra cinza clara delimitada com pontilhado representa o intervalo de predição. Cada círculo é um estudo e a área é determinada pela da raiz quadrada do peso no modelo.

3.3.6 Discussão sobre a meta-análise

Os resultados revelam um efeito favorável aos antidepressivos no tratamento de roedores submetidos no nado forçado, ou seja, o tratamento com antidepressivos reduz o tempo gasto pelos roedores em imobilidade quando comparados com os animais controles tratados com veículo. O efeito global estimado no modelo é considerado “muito grande” (SAWILOWSKY, 2009), mas esse está sujeito a inflações resultantes da qualidade interna dos estudos (incerta), efeito de estudos pequenos e viés de publicação, e também pode diferir de acordo com as características experimentais dos estudos, que serão aprofundadas adiante.

Com os dados obtidos, foi possível alcançar o poder estatístico calculado *a priori* para o tamanho de efeito moderado. Na presente amostra, alcançou-se o número mínimo de estudos incluídos e tamanho amostral dos grupos presentes nos estudos, e a heterogeneidade global foi inferior a estipulada. Demonstrando a vantagem de uma conduta conservadora ao calcular o tamanho amostral, garantindo um poder adequado na análise.

A análise de sensibilidade (*outliers* e casos influentes) foi conduzida duas vezes. Na primeira, a conferência dos estudos diagnosticados possibilitou a localização de um erro na escala do gráfico tabulada para os estudos da publicação KAWASHIMA et al., 1986. Os dados foram corrigidos, e tanto o modelo da meta-análise quanto o diagnóstico de *outliers* e casos influentes foram gerados novamente com os dados corretos, apresentados nesse documento. Esse caso confirma a importância da análise de sensibilidade para localizar possíveis erros no momento da tabulação dos dados (VIECHTBAUER; CHEUNG, 2010).

Quando construído o gráfico em funil para investigar assimetria e um possível efeito de estudos pequenos, optou-se por usar também o inverso da raiz quadrada do tamanho amostral no eixo y, temendo uma possível distorção do gráfico com uso do desvio padrão (ZWETSLOOT et al., 2017). O resultado, para ambos os parâmetros, revela uma assimetria do funil favorecendo o tratamento com antidepressivos, com uma estimativa de um pouco mais de uma centena de estudos teóricos ausentes a favorecer o tratamento com veículo. Quando o modelo foi ajustado com a inserção desses estudos teóricos ausentes, o tamanho de efeito diminuiu, deixando de ser considerado como “muito grande” e passando a ser considerado “grande”. Também, o modelo ajustado apresentou uma inconsistência superior ao modelo não ajustado, pois nele é incorporado tamanhos de efeitos mais discrepantes para alcançar a simetria do funil.

Esses achados revelam um possível efeito de estudos pequenos dentro dessa amostra, onde apenas estudos pequenos favoráveis a teoria é publicada e os não favoráveis, que são tão prováveis quanto de serem obtidos, são suprimidos (LIN; CHU, 2018), inflando o tamanho de efeito global estimado. Quando separado por espécie, os resultados continuaram apontando um efeito de estudos pequenos para camundongos e ratos. Esse achado diferiu do presente em um estudo preliminar conduzido por RAMOS-HRYB et al. (2018), que utilizou uma amostra menor dessa mesma biblioteca, incluindo apenas camundongos tratados com imipramina.

O resultado do “*Weight-function model*” indica que o modelo ajustado da meta-análise é mais compatível com os dados do que o não ajustado. Nele, os pesos dos estudos foram redistribuídos de forma que os resultados com valores de p maiores que o nível de significância estatística ($\alpha = 0,05$) fossem o dobro daqueles com valores de p menor que o nível de significância estatística. Portanto, o viés de publicação pode ser sim uma preocupação nessa amostra. Mas, quando analisado separadamente por espécies, os resultados expuseram que esse viés de publicação parece estar presente no subgrupo de estudos que utilizaram camundongos, mas não no subgrupo que usaram ratos, mesmo com modelo ajustado apresentando uma estimativa diminuída para ambas as espécies.

Especulamos que o viés de publicação na literatura com camundongos possa estar presente devido a maior facilidade com que é trabalhar com esses animais em relação a demanda de espaço, que é menor, e também pelo menor custos (BRYDA, 2013), propiciando assim um descarte de achados negativos. A predominância de resultados positivos na amostra também pode ser explicada com o objetivo dos estudos primários incluídos. Durante a extração dos dados das publicações, observou-se que alguns estudos (não quantificados) tinham como foco testar o efeito antidepressivo de compostos naturais, por exemplo, e usavam os compostos antidepressivos como controle positivo.

Mesmo com a estratificação dos estudos, ainda, a inconsistência entre os resultados dentro do modelo foi alta para a maioria dos subgrupos, que se refere a variabilidade presente no tamanho de efeito verdadeiro e não devido a erro amostral. Mas a heterogeneidade se apresentou menor que a global para a maioria dos subgrupos, por exceção de alguns subgrupos que a heterogeneidade foi maior, acompanhados de tamanhos de efeitos exorbitantes. Essas diferenças de inconsistência e heterogeneidade entre subgrupos parecem estar mais relacionadas com o recorte da literatura em que a característica em si (e.g. gavagem em ratos) está presente do que com o fator analisado (e.g. via de administração em ratos).

É interessante ter isso em mente ao determinar as características experimentais ao planejar um experimento, em vez de se perguntar quais fatores são os mais importantes, fazer a escolha consciente de qual característica (nível) dentro de cada variável é mais adequada para responder à pergunta e verificar se essa apresenta um efeito favorável ao tratamento com antidepressivo, usando o tamanho de efeito esperado para cálculo amostral. Por exemplo, para a escolha da linhagem de camundongo: tanto *Swiss* quanto CD-1 apresentam resultados favoráveis ao tratamento com antidepressivos, onde só diferente na magnitude do efeito, e ambas com um bom número de estudos incluídos na análise, o que leva a uma maior confiabilidade na escolha dessas linhagens. Embora com os resultados apresentados não tenha sido possível testar estatisticamente a diferença entre os tamanhos de efeitos dos subgrupos, ao checarmos a sobreposição dos intervalos de confiança dos subgrupos, é possível especular que os subgrupos referentes ao desfecho (teste do nado forçado) apresentem uma estimativa de efeito similar entre si, enquanto para os fatores da população e intervenção são mais variadas, onde as características podem ter uma influência maior sobre o efeito.

Com os resultados da meta-análise estratificada de acordo com as características da população, o efeito favorecendo o tratamento com compostos antidepressivos se mantém para a maioria dos subgrupos (características), divergindo em magnitude de “médio” a “enorme”. Os resultados com a magnitude de “muito pequeno” a “pequeno” foram todos inconclusivos. Os subgrupos que apresentaram esse resultado foram: camundongos da linhagem B6SJL (R406W), ratos *Long Evans*, *Wistar kyoto*, e *Flinders* resistentes; todos com menos de 10 estudos incluídos e alguns aninhados na mesma publicação.

Para as características da intervenção, apenas o tratamento de ratos com amoxapina apresentou resultado favorável ao veículo, mas inconclusivo. Todos os outros resultados foram favoráveis a intervenção com antidepressivos, com a magnitude de efeito variando de “médio” a “enorme”. O efeito do tratamento de camundongos só apresentou resultados inconclusivos para os compostos: clomipramina (TCA), selegina (IMAO) e mianserina (TeCA). O efeito do tratamento de ratos também apresentou resultado inconclusivo para a clomipramina (TCA), paroxetina (ISRS), escitalopram (ISRS), reboxetina (IRSN), sibutramina (IRSN), e miansera e amoxapina, ambos pertencentes a classe TeCA. Todos os resultados inconclusivos dos compostos eram subgrupos com menos de 10 estudos incluídos e alguns aninhados na mesma publicação. Sobre a via de administração, todos os resultados também se mostraram favoráveis aos antidepressivos, mas para a via subcutânea em camundongos e oral (por dieta, estudos aninhados) em ratos, os resultados foram inconclusivos.

Para as características do desfecho, todos os resultados foram favoráveis ao tratamento com antidepressivo. Dos protocolos do teste do nado forçado aplicados nos camundongos, apenas se mostraram inconclusivos o com um pré-teste de 15 minutos e teste de 6 minutos com mensuração comportamental dos quatro minutos finais, e o teste de 15 minutos com mensuração comportamental dos últimos cinco minutos. Dos protocolos aplicados nos ratos, apenas o teste com duração de 15 minutos apresentou um resultado inconclusivo. Quanto aos métodos de análise, por vídeo análise, manual ou sem a informação, todos apresentaram resultados favoráveis a intervenção com antidepressivos também. Independente da exposição dos animais a outro teste comportamental antes do teste do nado forçado, os resultados se mostraram favoráveis a intervenção com compostos antidepressivos.

A análise de subgrupo ficou limitada a interpretação qualitativa dos resultados, através da direção do efeito e magnitude (RICHARDSON; GARNER; DONEGAN, 2019). Além disso, deve-se ter em mente que a quantidade de estudos incluídos nas análises difere de subgrupo a subgrupo, e raros os subgrupos que obtiveram um mínimo de 200 estudos para alcançar o poder estatístico calculado *a priori* com cenário o estipulado. Por outro lado, os tamanhos amostrais dos grupos presentes nos estudos foram superiores ao estipulado, e também a grande maioria dos subgrupos apresentaram uma heterogeneidade inferior a estipulada.

Porém, a análise quantitativa dos subgrupos, ou seja, a comparação entre eles não foi conduzida pelos motivos: Quando calculado um poder para comparar dois subgrupos com 200 estudos no total, tamanho amostral dos grupos de 14 animais, heterogeneidade (inconsistência) de 90 % e uma diferença de 0,50 entre os tamanhos de efeitos, o poder estatístico alcançado seria de aproximadamente apenas 54 % para o modelo de efeitos aleatórios. E quando a quantidade de estudos por subgrupo difere, o poder estatístico é superestimado (GRIFFIN, 2021). Por ter de fazer comparações entre todos os subgrupos, mesmo ajustando o valor do alfa de acordo com o número de comparações, aumentaria a incidência erro do tipo I (falso positivo), uma vez que o poder estatístico seria muito baixo.

No geral, os moderadores analisados parecem influenciar pouco o tamanho de efeito, ou seja, modificar a magnitude da diferença entre o tempo de imobilidade performedo pelos animais controles e os tratados com os compostos antidepressivos. Dependendo do moderador, os resultados apontaram influência pra uma ou outra espécie, não necessariamente nas duas. O fator idade dos camundongos parece ter uma relação inversa com o tamanho de efeito, fazendo com que o tamanho de efeito seja menor com o aumento da idade. Curiosamente, o peso desses animais apontou ter uma relação positiva com o tamanho de efeito, ou seja, quando maior o

peso, maior o tamanho de efeito. Para os ratos, a influência da idade não foi conclusiva, mas ao contrário dos camundongos, quanto maior o peso desses animais, menor o tamanho de efeito. A dose só apresentou influência nos resultados dos ratos, com uma relação positiva. A influência discreta da dose sobre o efeito nos ratos e o resultado inconclusivo para os camundongos, pode ter se dado devido a diversidade de fármacos incluídos na mesma análise, com potências variadas. Meta-regressões separadas por composto antidepressivo poderiam ter apresentado resultados diferentes, de acordo com o composto analisado (KARA; STUKALIN; EINAT, 2018). Quando Kara, Stukalin & Einat (2018) eliminaram o fator de variabilidade “laboratório”, a relação de dose e resposta (tempo de imobilidade) ficou aparente para alguns compostos.

Contrariando o esperado, a profundidade da água usada no teste do nado forçado não apresentou resultados conclusivos quanto a sua influência sobre o tamanho de efeito, que esperava ser positiva. O ano de publicação também não apresentou resultados conclusivos. Já a qualidade, parece ter influência em sentidos opostos para cada espécie, nos camundongos o aumento da qualidade diminui o tamanho de efeito, e surpreendentemente, nos ratos, o aumento da qualidade aumenta o tamanho de efeito. A taxa com que os moderadores idade, peso e dose influenciam o tamanho de efeito é bem baixa comparado ao moderador qualidade, que a cada um ponto de qualidade pode diminuir em 0,21 o tamanho de efeito em camundongos e aumentar em 0,27 o tamanho de efeito nos ratos. O resultado da influência da qualidade interna sobre o tamanho de efeito harmoniza com a hipótese inicial apenas para os camundongos, mas não nos estudos com ratos. Esse efeito pode apresentar um impacto direto sobre a magnitude de efeito medido nessa literatura, pois, se a qualidade interna, que não foi possível medir precisamente por falta de informação, de fato for baixa, o tamanho de efeito medido em camundongos estará inflado e em ratos reduzido, devido à vieses não controlados. Mas a explicação para essa divergência precisa ser explorada.

A diminuição do tamanho de efeito com o aumento da qualidade da publicação já havia sido observada em uma amostra de 11 publicações, incluindo 17 estudos e 259 camundongos tratados com imipramina e testados no nado forçado (RAMOS-HRYB et al., 2018), nesse estudo, a qualidade foi analisada com um extenso *checklist*. Os resultados do presente trabalho corroboram esse achado e amplia para uma amostra incluindo diversos compostos antidepressivos. Resultados similares foram obtidos em outras áreas, como por MACLEOD et al. (2005), mas a maioria dos itens incluídos no *checklist* de qualidade do trabalho eram distintos das perguntas incluídas no ROB SYRCLE *tool*.

O fato de as publicações não relatarem informações suficiente sobre a qualidade interna, gera uma limitação sobre a pontuação das publicações por nível de qualidade, uma vez que a falta de informação fez com que elas apresentassem uma pontuação similar entre si, e nenhuma pontuação mais extrema de pouca qualidade (próximo a -10) ou bastante qualidade (próximo a 10). Outro fato que favorece uma pontuação similar entre os estudos e acúmulo desses em um nível intermediário de qualidade, está sobre três perguntas do ROB SYRCLE *tool* “Os grupos eram similares no início do experimento?”, “Os relatos do estudo são livres de seleção de desfecho relatado?” e “O estudos está aparentemente livre de algum outro problema que poderia resultar em alto risco de viés?”, pois há uma dificuldade de achar indícios de que essas perguntas não tenham sido contempladas positivamente, favorecendo um baixo de risco de viés para elas.

Além da incerteza sobre a qualidade dos estudos incluídos na revisão sistemática e meta-análise, a falta de informações sobre a conduta metodológica também limita a investigação sobre a influência individual desses fatores sobre o efeito, que provavelmente diferem entre si (MACLEOD et al., 2008). Os resultados do presente estudo estão sujeitos a distorções geradas por vieses embutidos nos estudos primários, mas que não foi possível quantificar com precisão devido a pobreza de relato sobre a qualidade interna desses estudos. Conclusões otimistas em relação a eficácia de compostos provenientes de estudos com animais, os quais apresentam falhas metodológicas e baixa qualidade interna e externa, pode levar a falhas ao traduzir esses achados para ambientes clínicos (BART VAN DER WORP et al., 2010). Portanto, o reconhecimento das falhas do passado, para a melhora das condutas atuais, parece um bom presságio.

Os dados desse trabalho estão disponíveis na forma crua e tratada junto aos *scripts* no [github](#), o que possibilita a exploração desses por quem desejar. Inclusive para obter estimativas de efeito com subgrupos de acordo com as características de interesse, para auxiliar em futuros cálculos amostrais, planejamento de experimentos ou até mesmo novas descobertas.

4 CONCLUSÃO

A literatura do teste do nado forçado em roedores apresenta características bastante heterogêneas da população, intervenção e desfecho. A falta de relato sobre condutas que afetam a qualidade interna e externa é uma realidade nesses estudos. Os antidepressivos têm um efeito muito grande sobre a redução do tempo de imobilidade de roedores de laboratório no teste do nado forçado. Esse efeito varia de acordo com as características da população, intervenção e desfecho. A qualidade dos estudos parece influenciar o tamanho de efeito. Em camundongos, uma maior qualidade está relacionada a um menor tamanho de efeito. Em ratos, uma maior qualidade está relacionada a um maior tamanho de efeito. A estimativa meta-analítica está sujeita a uma inflação devido ao efeito de estudos pequenos e viés de publicação, principalmente na literatura com camundongos.

Perspectivas

Com o presente trabalho exploramos uma porção dessa imensa biblioteca de publicações revelando seu potencial. Embora, essa biblioteca precise ser atualizada através de buscas nas bases bibliográficas com o período de publicação a partir de 2018 até os dias atuais (2022) já é possível obter um número mínimo de estudos por subgrupos para obter um poder estatístico desejável nas análises, e principalmente, permitir a comparação entre eles, além de responder outras perguntas. Mas para isso, precisaria ser conduzida uma extração de dados massiva, viável com a força humana e/ou de máquina. A primeira, seria através da colaboração de vários revisores, onde plataformas como SyRF (<https://syrf.org.uk/>, BAHOR et al., 2021) facilitariam os processos, e cada revisor conduziria a extração de uma porção dos estudos. A segunda, seria através do uso de aprendizado de máquina para agilizar alguns processos de uma revisão sistemática, que no cenário desse projeto, poderia ser através da categorização das publicações de acordo com características importantes da população, intervenção e desfecho, e também do reconhecimento de padrões no texto para atribuir os julgamentos de qualidade (WANG et al., 2021), o que é desafiador no contexto de estudos em animais devido a variabilidade nos relatos.

REFERÊNCIAS

ABEL, Ernest L. Behavioral and physiological effects of different water depths in the forced swim test. **Physiology and Behavior**, [S. l.], v. 56, n. 2, p. 411–414, 1994. DOI: 10.1016/0031-9384(94)90215-1.

ARMARIO, Antonio; GAVALDÀ, Amadeu; MARTÍ, Joaquín. Comparison of the behavioural and endocrine response to forced swimming stress in five inbred strains of rats. **Pergamon Psychoneuroendocrinology**, [S. l.], v. 20, n. 8, p. 879–890, 1995.

ASSIS, Lara C.; REZIN, Gislaine T.; COMIM, Clarissa M.; VALVASSORI, Samira S.; JEREMIAS, Isabela C.; ZUGNO, Alexandra I.; QUEVEDO, João; STRECK, Emilio L. Effect of acute administration of ketamine and imipramine on Creatine kinase activity in the brain of rats. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 247–252, 2009. DOI: 10.1590/S1516-44462009000300010.

BAHADORAN, Zahra; MIRMIRAN, Parvin; KASHFI, Khosrow; GHASEMI, Asghar. Importance of Systematic Reviews and Meta-Analyses of Animal Studies: Challenges for Animal-To-Human Translation. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, [S. l.], v. 59, n. 5, p. 469–477, 2020. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000139.

BAHOR, Zsanett et al. Development and uptake of an online systematic review platform: The early years of the CAMARADES Systematic Review Facility (SyRF). **BMJ Open Science**, [S. l.], v. 5, n. 1, 2021. DOI: 10.1136/bmjos-2020-100103.

BAILOO, Jeremy D.; MURPHY, Eimear; VARHOLICK, Justin A.; NOVAK, Janja; PALME, Rupert; WÜRBEL, Hanno. Evaluation of the effects of space allowance on measures of animal welfare in laboratory mice. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, n. 1, 2018. DOI: 10.1038/s41598-017-18493-6.

BART VAN DER WORP, H.; HOWELLS, David W.; SENA, Emily S.; PORRITT, Michelle J.; REWELL, Sarah; O'COLLINS, Victoria; MACLEOD, Malcolm R. Can animal models of disease reliably inform human studies? **PLoS Medicine**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 1–8, 2010. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000245.

BELLEAU, Emily L.; TREADWAY, Michael T.; PIZZAGALLI, Diego A. The Impact of Stress and Major Depressive Disorder on Hippocampal and Medial Prefrontal Cortex Morphology. **Biol Psychiatry**, [S. l.], v. 85, n. 6, p. 443–453, 2019. DOI: 10.1016/j.biopsych.2018.09.031.

BELZUNG, Catherine; LEMOINE, Maël. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. **Biology of Mood & Anxiety Disorders**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 9, 2011. DOI: 10.1186/2045-5380-1-9.

BLOKLAND, Arjan et al. The use of a test battery assessing affective behavior in rats: Order effects. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 228, n. 1, p. 16–21, 2012. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.11.042.

BOGDANOVA, Olena V; KANEKAR, Shami; D'ANCI, Kristen E.; RENSHAW, Perry F. Factors influencing behavior in the forced swim test. **Physiology and Behavior**, [S. l.], v. 118, p. 227–239, 2013. DOI: 10.1016/j.physbeh.2013.05.012.Factors.

BOLDRINI, M. et al. Hippocampal angiogenesis and progenitor cell proliferation are increased with antidepressant use in major depression. **Biological Psychiatry**, v. 72, n. 7, p. 562–571, 1 out. 2012.

BOLZAN, Juliana Aparecida. **Teoria neurogênica dos efeitos dos antidepressivos sobre o comportamento: revisão sistemática e meta-análise**. 2020. Dissertação - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

BORENSTEIN, Michael. Software for Publication Bias. **Publication Bias in Meta-Analysis: Prevention, Assessment and Adjustments**, [S. l.], p. 193–220, 2006. DOI: 10.1002/0470870168.ch11.

BRYDA, Elizabeth C. The Mighty Mouse: The Impact of Rodents on Advances in Biomedical Research. **Missouri Medicine**, Jefferson City, v. 110, n. 3, p. 207–211, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3987984/>. Acesso em: 15 maio. 2022.

CAIRNCROSS, K. D.; COX, B.; FORSTER, Christine; WREN, Allison F. A new model for the detection of antidepressant drugs: Olfactory bulbectomy in the rat compared with existing models. **Journal of Pharmacological Methods**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 131–143, 1978. DOI: 10.1016/0160-5402(78)90018-9.

CARVALHO, A. F. et al. Bias in emerging biomarkers for bipolar disorder. **Psychological Medicine**, [S. l.], v. 46, n. 11, p. 2287–2297, 2016. DOI: 10.1017/S0033291716000957.

CASAROTTO, Plinio C. et al. Antidepressant drugs act by directly binding to TRKB neurotrophin receptors. **Cell**, [S. l.], v. 184, n. 5, p. 1299–1313.e19, 2021. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.034.

CASTAGNE, V.; PORSOLT, R. D.; MOSER, P. Use of latency to immobility improves detection of antidepressant-like activity in the behavioral despair test in the mouse. **Eur J Pharmacol**, [S. l.], v. 616, n. 1–3, p. 128–133, 2009. DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.06.018.

CHAIMANI, Anna; CALDWELL, Deborah M.; LI, Tianjing; HIGGINS, Julian PT; SALANTI, Georgia. Undertaking network meta-analyses. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**, [S. l.], p. 285–320, 2019. DOI: 10.1002/9781119536604.ch11.

COHEN, Jacob. A Coefficient of Agreement for Nominal Scales. **Educational and Psychological Measurement**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 37–46, 1960. DOI: 10.1177/001316446002000104. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/001316446002000104>.

COLLINS, F. S.; TABAK, L. A. NIH plans to enhance reproducibility. **Nature**, [S. l.], v. 505, n. 7485, p. 612, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4058759/>. Acesso em: 28 abr. 2019.

CRYAN, J. F.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neurosci Biobehav Rev**, [S. l.], v. 29, n. 4–5, p. 547–569, 2005. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2005.03.008.

CUSACK, Bernadette; NELSON, Albert; RICHELSON, Elliott. Binding of antipsychotic drugs to human brain receptors focus on newer generation compounds. **Psychopharmacology (1994)**, [S. l.], v. 114, p. 559–565, 1994.

DERSIMONIAN, Rebecca; LAIRD, Nan. Meta-analysis in clinical trials. **Controlled Clinical Trials**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 177–188, 1986. DOI: 10.1016/0197-2456(86)90046-2.

DETKE, M. J.; JOHNSON, J.; LUCKI, I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. **Exp Clin Psychopharmacol**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 107–112, 1997.

DETKE, M. J.; LUCKI, I. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. **Behav Brain Res**, [S. l.], v. 73, n. 1–2, p. 43–46, 1996.

DETKE, M. J.; RICKELS, M.; LUCKI, I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. **Psychopharmacology (Berl)**, [S. l.], v. 121, n. 1, p. 66–72, 1995.

DEVANE, C. Lindsay; GROTHE, Dale R.; SMITH, Sherry L. Pharmacology of antidepressants: Focus on nefazodone. **Journal of Clinical Psychiatry**, [S. l.], v. 63, n. SUPPL. 1, p. 10–17, 2002.

DIRNAGL, Ulrich. Resolving the Tension Between Exploration and Confirmation in Preclinical Biomedical Research. *In: Good Research Practice in Non-Clinical Pharmacology and Biomedicine*. [s.l.: s.n.]. v. 257p. 71–79. Disponível em: <http://www.springer.com/series/164>.

DIRNAGL, Ulrich; BANNACH-BROWN, Alexandra; MCCANN, Sarah. External validity in translational biomedicine: understanding the conditions enabling the cause to have an effect. **EMBO Molecular Medicine**, [S. l.], 2021. DOI: 10.15252/emmm.202114334.

DO PRADO, Camila Sant’Helena. **Antidepressivos testados no nado forçado: Um banco de referências para revisões sistemáticas**. 2021. Florianópolis, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/228335>. Acesso em: 9 mar. 2022.

DUMAN, Ronald S.; LI, Nanxin. A neurotrophic hypothesis of depression: Role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 367, n. 1601, p. 2475–2484, 2012. DOI: 10.1098/rstb.2011.0357.

DUVAL, Sue; TWEEDIE, Richard. Trim and Fill: A Simple Funnel-Plot-Based Method. **Biometrics**, [S. l.], v. 56, n. June, p. 455–463, 2000.

EDMONDSON, Dale E.; BINDA, Claudia. Monoamine oxidases. **Subcellular Biochemistry**, [S. l.], v. 87, p. 117–139, 2018. DOI: 10.1007/978-981-10-7757-9_5.

FANGMANN, Peter; ASSION, Hans Jörg; JUCKEL, Georg; GONZÁLEZ, Cecilio Álamo; LÓPEZ-MUÑOZ, Francisco. Half a century of antidepressant drugs: On the clinical introduction of monoamine oxidase inhibitors, tricyclics, and tetracyclics. Part II: Tricyclics and tetracyclics. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 1–4, 2008. DOI: 10.1097/jcp.0b013e3181627b60.

FIŠAR, Zdeněk. Drugs related to monoamine oxidase activity. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 69, p. 112–124, 2016. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2016.02.012.

FISHBAIN, David A.; CUTLER, Robert; ROSOMOFF, Hubert; ROSOMOFF, Renee R. Evidence-Based Data From Animal and Human Experimental Studies on Pain Relief With Antidepressants: A Structured Review. **Pain Medicine**, [S. l.], v. 1, n. 4, p. 310–316, 2000. DOI: 1526-2375/00/\$15.00/310.

GAMER, Matthias; LEMON, Jim; SINGH, Ian Fellows Puspendra. **irr: Various Coefficients of Interrater Reliability and Agreement**. , 2019. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=irr>. Acesso em: 17 jan. 2022.

GOURLEY, S. L.; KIRALY, D. D.; HOWELL, J. L.; OLAUSSON, P.; TAYLOR, J. R. Acute hippocampal brain-derived neurotrophic factor restores motivational and forced swim performance after corticosterone. **Biol Psychiatry**, [S. l.], v. 64, n. 10, p. 884–890, 2008. DOI: 10.1016/j.biopsych.2008.06.016.

GRIFFIN, Jason W. Calculating statistical power for meta-analysis using metapower. **The Quantitative Methods for Psychology**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 24–39, 2021. DOI: 10.20982/tqmp.17.1.p024.

GRIFFIN, JW. **metapower: an R package for computing meta-analytic statistical power**. , 2020.

Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th Edition. 8. ed. Washington, D.C: National Academies Press, 2011. Disponível em: www.nap.edu.

HAIR, Kaitlyn; MACLEOD, Malcolm R.; SENA, Emily S. A randomised controlled trial of an Intervention to Improve Compliance with the ARRIVE guidelines (IICARus). **Research Integrity and Peer Review**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 12, 2019. DOI: 10.1186/s41073-019-0069-3. Disponível em: <https://researchintegrityjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41073-019-0069-3>.

HAMZA, Tasnim; FURUKAWA, Toshi A.; ORSINI, Nicola; CIPRIANI, Andrea; IGLESIAS, Cynthia P.; SALANTI, Georgia. **A dose-effect network meta-analysis model with application in antidepressants using restricted cubic splines**. [s.l.: s.n.]. DOI: <https://doi.org/10.1177/09622802211070256> Focus to learn more.

HAN, Seung Hye et al. A checklist is associated with increased quality of reporting preclinical biomedical research: A systematic review. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 12, n. 9, p. 1–14, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0183591.

HEDGES, Larry V.; OLKIN, Ingram. *Statistical Methods for Meta-Analysis*. **Academic Press**, [S. l.], 1985. DOI: 10.2307/1164953.

HESEN, Nienke A.; RIKSEN, Niels P.; AALDERS, Bart; RITSKES-HOITINGA, Merel; MESSAOUDI, Saloua El; WEVER, Kimberley E. A systematic review and meta-analysis of the protective effects of metformin in experimental myocardial infarction. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 12, n. 8, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0183664.

HIGGINS, Julian P. T.; THOMPSON, Simon G.; DEEKS, Jonathan J.; ALTMAN, Douglas G. Measuring inconsistency in meta-analyses. **British Medical Journal**, [S. l.], v. 327, n. 7414, p. 557–560, 2003. DOI: 10.1136/bmj.327.7414.557.

HIRST, Jennifer A.; HOWICK, Jeremy; ARONSON, Jeffrey K.; ROBERTS, Nia; PERERA, Rafael; KOSHIARIS, Constantinos; HENEGHAN, Carl. The need for randomization in animal trials: An overview of systematic reviews. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 9, n. 6, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0098856.

HOME OFFICE. **Mice, rats, gerbils, hamsters and guinea pigs. In: Code of Practice for the Housing and Care of Animals Bred, Supplied or Used for Scientific Purposes**. [s.l.: s.n.].

HOOIJMANS, Carlijn R.; ROVERS, Maroeska M.; DE VRIES, Rob B. M.; LEENAARS, Marlies; RITSKES-HOITINGA, Merel; LANGENDAM, Miranda W. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC Medical Research Methodology**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 1–9, 2014. DOI: 10.1186/1471-2288-14-43.

IOANNIDIS, John P. A. Why most published research findings are false. *In: Getting to Good: Research Integrity in the Biomedical Sciences*. [s.l.] : Springer International Publishing, 2018. p. 2–8. DOI: 10.1371/journal.pmed.0020124.

JENNINGS, M. et al. Refining rodent husbandry: the mouse: Report of the Rodent Refinement Working Party. **Laboratory Animals**, [S. l.], v. 32, n. 2, p. 233–259, 1998.

KADIC, Antonia Jelacic; VUCIC, Katarina; DOSENOVIC, Svjetlana; SAPUNAR, Damir; PULJAK, Livia. Extracting data from figures with software was faster, with higher interrater reliability than manual extraction. **Journal of Clinical Epidemiology**, [S. l.], v. 74, p. 119–123, 2016. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2016.01.002.

KARA, N. Z.; STUKALIN, Y.; EINAT, H. Revisiting the validity of the mouse forced swim test: Systematic review and meta-analysis of the effects of prototypic antidepressants. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [S. l.], v. 84, n. April 2017, p. 1–11, 2018. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2017.11.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.11.003>.

KATZ, R. J.; ROTH, K. A.; CARROLL, B. J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 247–251, 1981. DOI: 10.1016/0149-7634(81)90005-1.

KILKENNY, Carol; PARSONS, Nick; KADYSZEWSKI, Ed; FESTING, Michael F. W.; CUTHILL, Innes C.; FRY, Derek; HUTTON, Jane; ALTMAN, Douglas G. Survey of the

Quality of Experimental Design, Statistical Analysis and Reporting of Research Using Animals. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 4, n. 11, 2009. DOI: 10.1371/journal.pone.0007824.

KORNHUBER, J.; RETZ, W.; RIEDERER, P. Slow accumulation of psychotropic substances in the human brain. Relationship to therapeutic latency of neuroleptic and antidepressant drugs? **Journal of Neural Transmission, Supplement**, [S. l.], n. 46, p. 315–323, 1995.

KOSSMEIER, Michael; TRAN, Ulrich S.; VORACEK, Martin. Visual Inference for the Funnel Plot in Meta-Analysis. **Zeitschrift für Psychologie / Journal of Psychology**, [S. l.], v. 227, n. 1, p. 83–89, 2019. DOI: 10.1027/2151-2604/a000358.

KOTTNER, Jan; AUDIGÉ, Laurent; BRORSON, Stig; DONNER, Allan; GAJEWSKI, Byron J.; HRÓBJARTSSON, Asbjörn; ROBERTS, Chris; SHOUKRI, Mohamed; STREINER, David L. Guidelines for reporting reliability and agreement studies (GRRAS) were proposed. **Journal of Clinical Epidemiology**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 96–106, 2011. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2010.03.002.

KUHN, R. Treatment of Depressive States With an Iminodibenzyl Derivative (G 22355). **Schweiz Med Wochenschr**, [S. l.], v. 87, n. 35–36, p. 1135–40, 1957.

LANDIS, J. Richard; KOCH, Gary G. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. **Biometrics**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 159–174, 1977. Disponível em: <https://about.jstor.org/terms>.

LEENAARS, Marlies; HOOIJMANS, Carlijn R.; VAN VEGGEL, Nieky; TER RIET, Gerben; LEEFLANG, Mariska; HOOFT, Lotty; VAN DER WILT, Gert Jan; TILLEMA, Alice; RITSKES-HOITINGA, Merel. A step-by-step guide to systematically identify all relevant animal studies. **Laboratory Animals**, [S. l.], v. 46, n. 1, p. 24–31, 2012. DOI: 10.1258/la.2011.011087.

LIEBERMAN, Joseph a. History of the Use of Antidepressants in Primary Care. **The Journal of Clinical Psychiatry**, [S. l.], v. 5, n. suppl 7, p. 6–10, 2003.

LIEF, Harold I. Bupropion Treatment of Depression to Assist Smoking Cessation. **Am J Psychiatry**, [S. l.], v. 153, n. 3, p. 442, 1996.

LIN, Lifeng; CHU, Haitao. Quantifying Publication Bias in Meta-Analysis. **Biometrics**, [S. l.], v. 74, n. 3, p. 785–794, 2018. DOI: doi:10.1111/biom.12817.

LOMARTIRE, Riccardo. **rel: Reliability Coefficients**. , 2020. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=rel>. Acesso em: 17 jan. 2022.

LUCKI, I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. **Behavioural Pharmacology**, [S. l.], v. 8, n. 6–7, p. 523–532, 1997. DOI: 10.1097/00008877-199711000-00010.

LÜDECKE, Daniel. **esc: Effect Size Computation for Meta Analysis (Version 0.5.1)**. , 2019. DOI: 10.5281/zenodo.1249218.

MACLEOD, Malcolm R.; O'COLLINS, Tori; HORKY, Laura L.; HOWELLS, David W.; DONNAN, Geoffrey A. Systematic review and metaanalysis of the efficacy of FK506 in experimental stroke. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, [*S. l.*], v. 25, n. 6, p. 713–721, 2005. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600064.

MACLEOD, Malcolm R.; O'COLLINS, Tori; HOWELLS, David W.; DONNAN, Geoffrey A. Pooling of animal experimental data reveals influence of study design and publication bias. **Stroke**, [*S. l.*], v. 35, n. 5, p. 1203–1208, 2004. DOI: 10.1161/01.STR.0000125719.25853.20.

MACLEOD, Malcolm R.; VAN DER WORP, H. Bart; SENA, Emily S.; HOWELLS, David W.; DIRNAGL, Ulrich; DONNAN, Geoffrey A. Evidence for the efficacy of NXY-059 in experimental focal cerebral ischaemia is confounded by study quality. **Stroke**, [*S. l.*], v. 39, n. 10, p. 2824–2829, 2008. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.515957.

MAIER, Steven F. Learned helplessness and animal models of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [*S. l.*], v. 8, n. 3, p. 435–446, 1984. DOI: 10.1016/S0278-5846(84)80032-9.

MAOZ, Hagai. Failure of first SSRI for depression - What is the next step? **Israel Journal of Psychiatry and Related Sciences**, [*S. l.*], v. 44, n. 4, p. 327–329, 2007.

MAVRIDIS, Dimitris; SALANTI, Georgia. Exploring and accounting for publication bias in mental health: A brief overview of methods. **Evidence-Based Mental Health**, [*S. l.*], v. 17, n. 1, p. 11–15, 2014. DOI: 10.1136/eb-2013-101700.

MCCANN, Sarah K.; IRVINE, Cadi; MEAD, Gillian E.; SENA, Emily S.; CURRIE, Gillian L.; EGAN, Kieren E.; MACLEOD, Malcolm R.; HOWELLS, David W. Efficacy of antidepressants in animal models of ischemic stroke: A systematic review and meta-analysis. **Stroke**, [*S. l.*], v. 45, n. 10, p. 3055–3063, 2014. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.006304.

MCHUGH, Mary L. Interrater reliability: the kappa statistic. **Biochem Med (Zagreb)**, [*S. l.*], v. 22, n. 3, p. 278–282, 2012.

MCSHANE, Blakeley B.; BÖCKENHOLT, Ulf; HANSEN, Karsten T. Adjusting for Publication Bias in Meta-Analysis: An Evaluation of Selection Methods and Some Cautionary Notes. **Perspectives on Psychological Science**, [*S. l.*], v. 11, n. 5, p. 730–749, 2016. DOI: 10.1177/1745691616662243.

METHLEY, Abigail M.; CAMPBELL, Stephen; CHEW-GRAHAM, Carolyn; MCNALLY, Rosalind; CHERAGHI-SOHI, Sudeh. PICO, PICOS and SPIDER: A comparison study of specificity and sensitivity in three search tools for qualitative systematic reviews. **BMC Health Services Research**, [*S. l.*], v. 14, n. 1, 2014. DOI: 10.1186/s12913-014-0579-0.

MEZADRI, T. J.; BATISTA, G. M.; PORTES, A. C.; MARINO-NETO, J.; LINO-DE-OLIVEIRA, C. Repeated rat-forced swim test: Reducing the number of animals to evaluate gradual effects of antidepressants. **Journal of Neuroscience Methods**, [*S. l.*], v. 195, n. 2, p. 200–205, 2011. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2010.12.015.

MILLAN, Mark J. Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application.

Pharmacology and Therapeutics, [*S. l.*], v. 110, n. 2, p. 135–370, 2006. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.11.006.

MOHER, David; LIBERATI, Alessandro; TETZLAFF, Jennifer; ALTMAN, Douglas G. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. **BMJ (Online)**, [*S. l.*], v. 339, n. 7716, p. 332–336, 2009. DOI: 10.1136/bmj.b2535.

MUKA, Taulant; GLISIC, Marija; MILIC, Jelena; VERHOOG, Sanne; BOHLIUS, Julia; BRAMER, Wichor; CHOWDHURY, Rajiv; FRANCO, Oscar H. A 24-step guide on how to design, conduct, and successfully publish a systematic review and meta-analysis in medical research. **European Journal of Epidemiology**, [*S. l.*], v. 35, n. 1, p. 49–60, 2020. DOI: 10.1007/s10654-019-00576-5.

MURAD, M. Hassan; ASI, Noor; ALSAWAS, Mouaz; ALAHDAB, Fares. New evidence pyramid. **Evidence-Based Medicine**, [*S. l.*], v. 21, n. 4, p. 125–127, 2016. DOI: 10.1136/ebmed-2016-110401.

NAKAGAWA, Shinichi; CUTHILL, Innes C. Effect size, confidence interval and statistical significance: A practical guide for biologists. **Biological Reviews**, [*S. l.*], v. 82, n. 4, p. 591–605, 2007. DOI: 10.1111/j.1469-185X.2007.00027.x.

NESTLER, Eric J.; GOULD, Elizabeth; MANJI, Hussein. Preclinical models: Status of basic research in depression. **Biological Psychiatry**, [*S. l.*], v. 52, n. 6, p. 503–528, 2002. DOI: 10.1016/S0006-3223(02)01405-1.

NEUPANE, Binod; RICHER, Danielle; BONNER, Ashley Joel; KIBRET, Taddele; BEYENE, Joseph. Network meta-analysis using R: A review of currently available automated packages. **PLoS ONE**, [*S. l.*], v. 9, n. 12, p. 1–17, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0115065.

NIKOLAKOPOULOU, Adriani; HIGGINS, Julian P. T.; PAPAKONSTANTINO, Theodoros; CHAIMANI, Anna; GIOVANE, Cinzia Del; EGGER, Matthias; SALANTI, Georgia. Cinema: An approach for assessing confidence in the results of a network meta-analysis. **PLoS Medicine**, [*S. l.*], v. 17, n. 4, p. 1–19, 2020. DOI: 10.1371/JOURNAL.PMED.1003082.

NUR, Selin; ADAMS, Clive E.; BRAILSFORD, David F. Using built-in functions of Adobe Acrobat Pro DC to help the selection process in systematic reviews of randomised trials. **Systematic Reviews**, [*S. l.*], v. 5, n. 1, 2016. DOI: 10.1186/s13643-016-0207-7.

OBATA, Hideaki. Analgesic mechanisms of antidepressants for neuropathic pain. **International Journal of Molecular Sciences**, [*S. l.*], v. 18, n. 11, 2017. DOI: 10.3390/ijms18112483.

OVERSTREET, David H.; FRIEDMAN, Elliot; MATHÉ, Aleksander A.; YADID, Gal. The Flinders Sensitive Line rat: A selectively bred putative animal model of depression. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [*S. l.*], v. 29, n. 4–5, p. 739–759, 2005. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2005.03.015.

PAGE, Matthew J. et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. **The BMJ**, [*S. l.*], v. 372, 2021. DOI: 10.1136/bmj.n71.

PEDDER, Hugo; VESTERINEN, Hanna M.; MACLEOD, Malcolm R.; WARDLAW, Joanna M. Systematic review and meta-analysis of interventions tested in animal models of lacunar stroke. **Stroke**, [S. l.], v. 45, n. 2, p. 563–570, 2014. DOI: 10.1161/STROKEAHA.113.003128.

PERCIE DU SERT, Nathalie et al. The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research. **BMJ Open Science**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. e100115, 2020. DOI: 10.1136/bmjos-2020-100115.

PEREIRA, Vitor Silva; HIROAKI-SATO, Vinícius Antonio. A brief history of antidepressant drug development: From tricyclics to beyond ketamine. **Acta Neuropsychiatrica**, [S. l.], v. 30, n. 6, p. 307–322, 2018. DOI: 10.1017/neu.2017.39.

PETIT-DEMOULIERE, Benoit; CHENU, Franck; BOURIN, Michel. Forced swimming test in mice: A review of antidepressant activity. **Psychopharmacology**, [S. l.], v. 177, n. 3, p. 245–255, 2005. DOI: 10.1007/s00213-004-2048-7.

PLETSCHER, A. The discovery of antidepressants: A winding path. **Experientia**, [S. l.], v. 47, n. 1, p. 4–8, 1991. DOI: 10.1007/BF02041242.

PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch Int Pharmacodyn Ther**, [S. l.], v. 229, n. 2, p. 327–336, 1977.

PORSOLT, Roger D.; ANTON, Guy; BLAVET, Nadine; JALFRE, Maurice. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 47, n. 4, p. 379–391, 1978. DOI: 10.1016/0014-2999(78)90118-8.

PORSOLT, Roger D.; BERTIN, Anne; JALFRE, Maurice. “BEHAVIOURAL DESPAIR” IN RATS AND MICE: STRAIN DIFFERENCES AND THE EFFECTS OF IMIPRAMINE. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 51, p. 291–294, 1978.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing., , 2021.

RAMOS-HRYB, A. B.; BAHOR, Z.; MCCANN, S.; SENA, E.; MACLEOD, M. R.; LINO DE OLIVEIRA, C. Protocol for a systematic review and meta-analysis of data from preclinical studies employing forced swimming test: An update. **BMJ Case Reports**, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 1–6, 2019. DOI: 10.1136/bmjos-2017-000043.

RAMOS-HRYB, Ana B.; HARRIS, Cari; AIGHEWI, Omorose; LINO-DE-OLIVEIRA, Cilene. How would publication bias distort the estimated effect size of prototypic antidepressants in the forced swim test? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [S. l.], v. 92, n. January, p. 192–194, 2018. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2018.05.025.

RICHARDSON, Marty; GARNER, Paul; DONEGAN, Sarah. Interpretation of subgroup analyses in systematic reviews: A tutorial. **Clinical Epidemiology and Global Health**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 192–198, 2019. DOI: 10.1016/j.cegh.2018.05.005.

RITSKES-HOITINGA, Merel; LEENAARS, Marlies; AVEY, Marc; ROVERS, Maroeska; SCHOLTEN, Rob. Systematic Reviews of Preclinical Animal Studies can Make Significant

Contributions to Health Care and More Transparent Translational Medicine. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, [S. l.], p. 1–3, 2014. DOI: 10.1002/14651858.ed000078.

ROBERTSON, S. D.; MATTHIES, H. J.; GALLI, A. A closer look at amphetamine induced reverse transport and trafficking of the dopamine and norepinephrine transporters S. **Molecular Neurobiology**, [S. l.], v. 39, n. 2, p. 73–80, 2009. DOI: 10.1007/s12035-009-8053-4.

ROBINSON, Emma. Psychopharmacology: From serendipitous discoveries to rationale design, but what next? **Brain and Neuroscience Advances**, [S. l.], v. 2, p. 1–11, 2018. DOI: 10.1177/2398212818812629.

RSTUDIO TEAM. **RStudio: Integrated Development Environment for R**. Boston, MA, 2021. Disponível em: <http://www.rstudio.com/>. Acesso em: 17 jan. 2022.

RÜCKER, Gerta; KRAHN, Ulrike; KÖNIG, Jochem; EFTHIMIOU, Orestis; PAPAKONSTANTINOOU, Theodoros; SHWARZER, Guido. **netmeta: Network Meta-Analysis using Frequentist Methods**. , 2021.

RÜCKER, Gerta; SCHWARZER, Guido. Ranking treatments in frequentist network meta-analysis works without resampling methods. **BMC Medical Research Methodology**, [S. l.], v. 15, n. 1, 2015. DOI: 10.1186/s12874-015-0060-8.

RUSSEL, W. M.; BURCH, R. L. The Principles of Humane Experimental Technique. **The Medical Journal of Australia**, [S. l.], p. 500, 1960. Disponível em: <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1960.tb73127.x>. Acesso em: 26 maio. 2022.

RUTTER, John J.; CHRISANA, Gundlah; AUERBACH, Sidney B. Increase in extracellular serotonin produced by uptake inhibitors is enhanced after chronic treatment with fluoxetine. **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 171, p. 183–186, 1994.

SANTARELLI, L. et al. Requirement of Hippocampal Neurogenesis for the Behavioral Effects of Antidepressants. **Science**, v. 301, p. 805–809, 2003.

SAWILOWSKY, Shlomo S. New Effect Size Rules of Thumb. **Journal of Modern Applied Statistical Methods**, [S. l.], v. 8, n. 2, 2009. DOI: 10.22237/jmasm/1257035100.

SCHERER, Roberta W.; SALDANHA, Ian J. How should systematic reviewers handle conference abstracts? A view from the trenches. **Systematic Reviews**, [S. l.], v. 8, n. 1, 2019. DOI: 10.1186/s13643-019-1188-0.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American journal of psychiatry**, [S. l.], v. 122, n. 5, p. 509–522, 1965. DOI: 10.1176/ajp.122.5.509.

SCHILDKRAUT, J. J.; KETY, S. S. Biogenic Amines and Emotion Pharmacological studies suggest a relationship between brain biogenic amines and affective state. **Science**, [S. l.], v. 156, n. 3771, p. 21–30, 1967.

SCHNEIDER, Joanne; PATTERSON, Mary; JIMENEZ, Xavier F. Beyond depression: Other uses for tricyclic antidepressants. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, [S. l.], v. 86, n. 12, p. 807–814, 2019. DOI: 10.3949/ccjm.86a.19005.

SEN, S.; DUMAN, R.; SANACORA, G. Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor, Depression, and Antidepressant Medications: Meta-Analyses and Implications. **Biological Psychiatry**, v. 64, n. 6, p. 527–532, 15 set. 2008.

SENA, Emily S.; CURRIE, Gillian L.; MCCANN, Sarah K.; MACLEOD, Malcolm R.; HOWELLS, David W. Systematic reviews and meta-analysis of preclinical studies: Why perform them and how to appraise them critically. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, [S. l.], v. 34, n. 5, p. 737–742, 2014. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.28.

SINYOR, Mark; SCHAFFER, Ayal; LEVITT, Anthony J. Why antidepressant clinical trials fail: the role of expectations. **Clinical Investigation**, [S. l.], v. 1, n. 9, p. 1207–1209, 2011. DOI: 10.4155/cli.11.109.

SKÅNLAND, Sigrid S.; CIEŚLAR-POBUDA, Artur. Off-label uses of drugs for depression. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 865, n. July, p. 172732, 2019. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172732. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172732>.

SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nat Protoc**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 1009–1014, 2012. DOI: 10.1038/nprot.2012.044.

SLATTERY, D. A.; HUDSON, A. L.; NUTT, D. J. Invited review: The evolution of antidepressant mechanisms. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 1–21, 2004. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2004.00195.x.

SMITH, Adrian J.; CLUTTON, R. Eddie; LILLEY, Elliot; HANSEN, Kristine E. Aa; BRATTELID, Trond. PREPARE: guidelines for planning animal research and testing. **Laboratory Animals**, [S. l.], v. 52, n. 2, p. 135–141, 2018. DOI: 10.1177/0023677217724823.

SPANAGEL, Rainer. Ten Points to Improve Reproducibility and Translation of Animal Research. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [S. l.], v. 16, 2022. DOI: 10.3389/fnbeh.2022.869511. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnbeh.2022.869511/full>.

SPINELI, Loukia M.; PANDIS, Nikolaos. Publication bias: Graphical and statistical methods. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, [S. l.], v. 159, n. 2, p. 248–251, 2021. DOI: 10.1016/j.ajodo.2020.11.005.

STANFORD, S. Clare. Some Reasons Why Preclinical Studies of Psychiatric Disorders Fail to Translate: What Can Be Rescued from the Misunderstanding and Misuse of Animal “Models”? **Alternatives to laboratory animals: ATLA**, [S. l.], v. 48, n. 3, p. 106–115, 2020. DOI: 10.1177/0261192920939876.

SUMAN, Patrick Remus; LINO DE OLIVEIRA, Cilene. Systematic heterogenisation to improve reproducibility in animal studies. **PLOS Biology**, [S. l.], v. 20, n. 5, p. e3001629, 2022.

DOI: 10.1371/journal.pbio.3001629.
<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pbio.3001629>.

Disponível

em:

TANRIVER-AYDER, Ezgi; FAES, Christel; VAN DE CASTEELE, Tom; MCCANN, Sarah K.; MACLEOD, Malcolm R. Comparison of commonly used methods in random effects meta-analysis: Application to preclinical data in drug discovery research. **BMJ Open Science**, [S. l.], v. 5, n. 1, 2021. DOI: 10.1136/bmjos-2020-100074.

TONIN, Fernanda S.; ROTTA, Inajara; MENDES, Antonio M.; PONTAROLO, Roberto. Network meta-analysis : a technique to gather evidence from direct and indirect comparisons1. Tonin FS, Rotta I, Mendes AM, Pontarolo R. Network meta-analysis : a technique to gather evidence from direct and indirect comparisons. 2017;15(1):1–11. **Pharmacy Practice**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1–11, 2017.

TURNER, Erick H.; MATTHEWS, Annette M.; EFTIHIA LINARDATOS, B. S.; TELL, Robert A.; ROSENTHAL, Robert. Selective publication of antidepressant trials and its influence on apparent efficacy. **The new engl and journal o f medicine Special**, [S. l.], v. 358, n. 3, p. 252–60, 2008.

VALENTINE, Jeffrey C.; PIGOTT, Therese D.; ROTHSTEIN, Hannah R. How many studies do you need? A primer on statistical power for meta-analysis. **Journal of Educational and Behavioral Statistics**, [S. l.], v. 35, n. 2, p. 215–247, 2010. DOI: 10.3102/1076998609346961.

VÁZQUEZ, Delia M.; LÓPEZ, Juan F.; VAN HOERS, Helga; WATSON, Stanley J.; LEVINE, Seymour. Maternal deprivation regulates serotonin 1A and 2A receptors in the infant rat. **Brain Research**, [S. l.], v. 855, n. 1, p. 76–82, 2000. DOI: 10.1016/S0006-8993(99)02307-0.

VESTERINEN, H. M.; SENA, E. S.; EGAN, K. J.; HIRST, T. C.; CHUROLOV, L.; CURRIE, G. L.; ANTONIC, A.; HOWELLS, D. W.; MACLEOD, M. R. Meta-analysis of data from animal studies: A practical guide. **Journal of Neuroscience Methods**, [S. l.], v. 221, p. 92–102, 2014. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2013.09.010.

VEVEA, Jack L.; HEDGES, Larry V. A GENERAL LINEAR MODEL FOR ESTIMATING EFFECT SIZE IN THE PRESENCE OF PUBLICATION BIAS. **PSYCHOMETRIKA**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 419–435, 1995.

VIECHTBAUER, Wolfgang. Conducting meta-analyses in R with the metafor. **Journal of Statistical Software**, [S. l.], v. 36, n. 3, p. 1–48, 2010. DOI: 10.18637/jss.v036.i03.

VIECHTBAUER, Wolfgang; CHEUNG, Mike W. L. Outlier and influence diagnostics for meta-analysis. **Research Synthesis Methods**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 112–125, 2010. DOI: 10.1002/jrsm.11.

VOS, T. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **The Lancet**, [S. l.], v. 388, n. 10053, p. 1545–1602, 2016. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31678-6.

WAFFENSCHMIDT, Siw; KNELANGEN, Marco; SIEBEN, Wiebke; BÜHN, Stefanie; PIEPER, Dawid. Single screening versus conventional double screening for study selection in

systematic reviews: A methodological systematic review. **BMC Medical Research Methodology**, [S. l.], v. 19, n. 1, 2019. DOI: 10.1186/s12874-019-0782-0.

WALDINGER, Marcel D.; ZWINDERMAN, Aeilko H.; OLIVIER, Berend. Antidepressants and ejaculation: A double-blind, randomized, fixed-dose study with mirtazapine and paroxetine. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, [S. l.], v. 23, n. 5, p. 467–470, 2003. DOI: 10.1097/01.jcp.0000088904.24613.e4.

WANG, Qianying; LIAO, Jing; LAPATA, Mirella; MACLEOD, Malcolm. **Risk of Bias Assessment in Preclinical Literature using Natural Language Processing**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1101/2021.06.04.447092. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2021.06.04.447092>.

WICKHAM, Hadley; FRAÇOIS, Romain; HENRY, Lionel; MÜLLER, Kirill. **dplyr: A Grammar of Data Manipulation. R package version.** , 2021. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>. Acesso em: 17 jan. 2022.

WILL, Tyler R. et al. Problems and progress regarding sex bias and omission in neuroscience research. **eNeuro**, [S. l.], v. 4, n. 6, 2017. DOI: 10.1523/ENEURO.0278-17.2017.

WILLNER, Paul. The validity of animal models of depression. **Psychopharmacology**, [S. l.], v. 83, n. 1, p. 1–16, 1984. DOI: 10.1007/BF00427414.

WILLNER, Paul; MITCHELL, Paul J. **Animal Models of Depression : A Diathesis / Stress Approach**. [s.l.: s.n.]. DOI: <https://doi.org/10.1002/0470854871.chxviii1>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates**. Geneva: World Health Organization.

ZANOVELI, Janaina M.; POBBE, Roger L. H.; DE BORTOLI, Valquiria C.; CARVALHO, Milene C.; BRANDO, Marcus L.; ZANGROSSI, Helio. Facilitation of 5-HT1A-mediated neurotransmission in dorsal periaqueductal grey matter accounts for the panicolytic-like effect of chronic fluoxetine. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, [S. l.], v. 13, n. 8, p. 1079–1088, 2010. DOI: 10.1017/S146114570999099X.

ZELLER, E. A. .; BARSKY, J. .; BERMAN, E. R. AMINE OXIDASES XI. INHIBITION OF MONOAMINE I-ISONICOTINYL-2-ISOPROPYLHYDRAZINE. **J Biol Chem** **1955;214:**, [S. l.], v. 2014, n. 1, p. 267–274, 1955.

ZWETSLOOT, Peter Paul; VAN DER NAALD, Mira; SENA, Emily S.; HOWELLS, David W.; INTHOUT, Joanna; DE GROOT, Joris A. H.; CHAMULEAU, Steven A. J.; MACLEOD, Malcolm R.; WEVER, Kimberley E. Standardized mean differences cause funnel plot distortion in publication bias assessments. **eLife**, [S. l.], v. 6, p. 1–20, 2017. DOI: 10.7554/eLife.24260.

APÊNDICE A – META-ANÁLISE EM REDE

1 METODOLOGIA

1.1 Meta-análise em rede

Para comparar a eficácia de diferentes antidepressivos e ranqueá-los, foi realizada uma meta-análise em rede. A meta-análise em rede permite a inclusão de evidência diretas e indiretas, através de um comparador em comum, animais tratados com veículo por exemplo. Para isso, espera-se que na rede tenha pelo menos um estudo com mais de dois braços para fechar um *loop* (RÜCKER et al., 2021), e que as condições sejam homogêneas suficientes para aumentar a transitividade (balanceamento de características metodológicas e populacional entre diferentes comparações) e validade das evidências indiretas (CHAIMANI et al., 2019). Para isso, serão realizadas duas meta-análises em redes, uma para os estudos com camundongos e outra com ratos. Os estudos incluídos serão baseados nas características mais frequentes da população e do desfecho, para eliminar os modificadores de efeitos conhecidos e aumentar a transitividade. Quando um estudo com mais de dois braços apresentar mais de uma dose para o mesmo composto, apenas a maior dose será mantida. A transitividade será testada para cada *loop* fechado a partir da medida de coerência entre as evidências diretas e indiretas (NEUPANE et al., 2014) com o método “back-calculation” (RÜCKER et al., 2021).

Por incluir evidências diretas e indiretas, a meta-análise em rede possibilita a obtenção de estimativas mais precisas entre cada par de intervenção se comparadas à evidência direta ou indireta sozinhas (CHAIMANI et al., 2019). As comparações entre as intervenções serão apresentadas em uma tabela contendo as evidências diretas no triângulo superior, e estimativas do modelo (incluindo evidência direta e indireta) no triângulo inferior. O tamanho de efeito será dado pela diferença entre as médias padronizadas, estimada com o modelo de efeito aleatório (heterogeneidade esperada), e será apresentado junto ao intervalo de confiança de 95%. No triângulo superior, os resultados positivos favorecem a linha, e no triângulo inferior, resultados positivos favorecem a coluna (RÜCKER et al., 2021). E principalmente, a aplicação dessa técnica possibilitará o ranqueamento das intervenções através do método de P-score, ordenando-as pela probabilidade de apresentarem uma maior eficácia (RÜCKER; SCHWARZER, 2015).

A meta-análise em rede frequentista (NEUPANE et al., 2014) foi conduzida a partir do pacote *netmeta* (RÜCKER et al., 2021) do *software* R (R CORE TEAM, 2021). Os códigos das análises assim como os arquivos com dados podem ser encontrados no [github](#) e no repositório do projeto na plataforma [OSF](#).

1.2 Ferramenta CINeMA

Para avaliar a confiabilidade dos resultados da meta-análise em rede, foi utilizada a ferramenta CINeMA (disponível online: <https://cinema.ispm.unibe.ch/>) (NIKOLAKOPOULOU et al., 2020). Essa ferramenta considera 6 domínios: 1- viés dentro do estudo (risco de viés ROB SYRCLE); 2- viés de publicação (se possivelmente existe um viés de publicação no conjunto de estudos); 3 – *indirectness* (irrelevância do estudo para a pergunta de pesquisa); 4 – imprecisão (quanto a imprecisão pode levar a outras conclusões); 5 – heterogeneidade (quanto a heterogeneidade pode levar a outras conclusões); e 6 – inconsistência (manifestação estatística de intransitividade). Cada domínio foi julgado em três níveis possíveis: baixa preocupação (BP), incerteza sobre a preocupação (IP), grande preocupação (GP). Para os três primeiros domínios, precisou adicionar as informações para cada estudo. Para o viés dentro do estudo, considerou o risco de viés mais frequente dentro das 10 perguntas de sinalização, se houvesse empate, o julgamento mais conservador era considerado, por exemplo, se o estudo apresenta 5 “Sim/Baixo risco de viés” e 5 “Incerto/Risco de viés incerto”, considerasse como “Risco de viés incerto”. Para o viés de publicação, fez-se a atribuição de acordo com os resultados. Para o *indirectness*, considerou que todos os estudos apresentavam características metodológicas relevantes, então foi atribuído um *indirectness* baixo para todos. O tamanho de efeito julgado como importante para avaliar a imprecisão e heterogeneidade foi de 0,5. Ao final, julgou-se a confiança para cada comparação (Baixa = £, Moderada = ¥ e Alta = ¢), de acordo com a frequência de preocupação para os domínios.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos incluídos nas meta-análises em rede foram baseados nas características mais frequentes da população e do desfecho, para eliminar os modificadores de efeitos conhecidos e aumentar a transitividade. As características dos estudos incluídos na meta-análise de rede em camundongos foram: machos, *Swiss*, não estressados, acondicionados em ciclo

“12/12 normal”, submetidos ao protocolo do nado forçado com um teste de 6 minutos e análise dos 4 minutos finais. As características dos estudos na meta-análise de rede em ratos foram: machos, *Wistar*, não estressados, acondicionados em ciclo “12/12 normal”, submetidos ao protocolo do nado forçado com um pré-teste de 15 minutos e teste de 5 minutos.

2.1 Meta-análise em rede para camundongos

Foram incluídos na rede um total de 11 estudos contendo 13 comparações pareadas e 252 animais. A rede gerada (Figura 1) inclui 5 compostos antidepressivos e veículo, e 5 *designs* diferentes: veículo *vs.* nortriptilina, veículo *vs.* imipramina, veículo *vs.* fluoxetina, veículo *vs.* citalopram e um *loop* fechado (amitriptilina *vs.* veículo *vs.* imipramina).

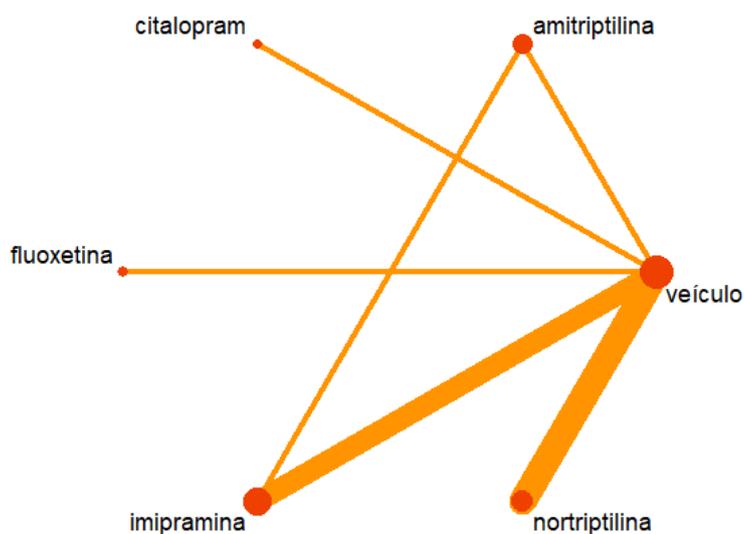


Figura 1 – Meta-análise em rede das comparações elegíveis para eficácia em camundongos. A espessura das linhas (arestas) é proporcional ao número de comparações diretas entre cada par de tratamento. O tamanho dos círculos (nós) é proporcional ao número de animais tratados (tamanho da amostra).

Os resultados apresentaram significância para a heterogeneidade ($Q(df = 6) = 30,68; p < 0,0001$) (dentro dos *designs*). Os resultados foram heterogêneos para a comparação veículo *vs.* imipramina ($Q(df = 2) = 21,91; p < 0,0001$) mas não para veículo *vs.* nortriptilina ($Q(df = 4) = 8,77; p = 0,07$). Também apresentou inconsistência ($Q(df = 1) = 11,90; p = 0,0006$) (entre *designs* para veículo *vs.* imipramina), mas o teste *full design-by-treatment* não foi significativo ($Q(df = 1) = 2,37; p = 0,12$).

Segundo o ranking gerado pelo método p-score (Figura 2), a imipramina fica na primeira colocação como o composto mais eficaz, seguido da amitriptilina, nortriptilina, fluoxetina e citalopram. Também, a imipramina foi o único composto a apresentar um resultado estatisticamente significativo. A amitriptilina, nortriptilina e fluoxetina também apresentaram resultados favoráveis a essas intervenções, mas o intervalo de confiança incluiu o valor de ausência de efeito, tornando-os inconclusivos. O citalopram foi o único composto que apresentou um resultado favorável ao tratamento com veículo, também inconclusivo.

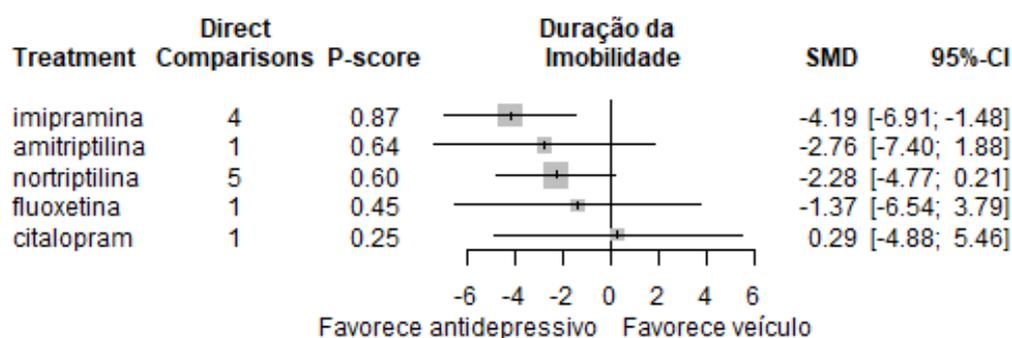


Figura 2 – Gráfico em floresta da meta-análise em rede para camundongos. Apresenta todos os compostos incluídos por ordem da probabilidade de eficácia (P-score, mais eficaz na parte superior). Estimativa de efeito negativa favorece o tratamento com antidepressivo (à esquerda), estimativa de efeito positiva favorece o tratamento com veículo (à direita). Treatment = Tratamento; Direct Comparisons = Número de comparações diretas; SMD = diferença entre as médias padronizada; 95%-CI = Intervalo de confiança em 95%.

Apenas a comparação entre imipramina e veículo apresentou resultado estatisticamente significativo, tanto na evidência direta quanto pelo modelo -4,19 (-6,91; -1,48). Nenhuma outra comparação apresentou significância estatística, seja entre veículo e composto, ou composto e composto (Tabela 1). A maioria das comparações apresentaram uma confiança moderada.

Tabela 1 – Comparações entre os possíveis tratamentos em camundongos.

imipramina	0.17 (-4.95; 5.28)	.	.	.	-4.19 (-6.91; -1.48)
-1.43 [¥] (-6.07; 3.20)	amitriptilina	.	.	.	-1.16 (-6.28; 3.97)
-1.91 [¥] (-5.59; 1.78)	-0.48 [¥] (-5.74; 4.79)	nortriptilina	.	.	-2.28 (-4.77; 0.21)
-2.82 [¥] (-8.65; 3.02)	-1.39 [¥] (-8.33; 5.56)	-0.91 [¥] (-6.65; 4.83)	fluoxetina	.	-1.37 (-6.54; 3.79)
-4.48 [£] (-10.32; 1.36)	-3.05 [¥] (-9.99; 3.90)	-2.57 [¥] (-8.31; 3.16)	-1.66 [¥] (-8.97; 5.65)	citalopram	0.29 (-4.88; 5.46)
-4.19[¥] (-6.91; -1.48)	-2.76 [¥] (-7.40; 1.88)	-2.28 [¥] (-4.77; 0.21)	-1.37 [¥] (-6.54; 3.79)	0.29 [¥] (-4.88; 5.46)	veículo

Legenda: Compostos estão ordenados pela eficácia. Os dados estão apresentados em diferença entre as médias padronizadas e intervalo de confiança em 95%. No triângulo superior estão apresentadas as evidências diretas, e resultados negativos favorecem o tratamento da linha. No triângulo inferior, estão apresentadas as estimativas geradas pelo modelo, e resultados negativos favorecem o tratamento da coluna. Resultados estatisticamente significantes estão destacados. Confiança: £ = Baixa; ¥ = Moderada; ¢ = Alta.

Não foi encontrada incoerência entre as evidências diretas e indiretas (Figura 3). Para a comparação amitriptilina vs. imipramina, a estimativa direta foi de -0,16 e a indireta - 8,75 (Diferença: -8,91, $Z = -1,44$, $p = 0,15$). E para a comparação amitriptilina vs. veículo, a estimativa direta foi de -1,16 e a indireta -10,05 (Diferença: 8,89, $Z = 1,44$, $p = 0,15$). As outras comparações de composto tiveram o tamanho de efeito estimado apenas com evidência direta (Figura 3) ou indireta (não apresentada).

No quadro 1 estão apresentadas o nível de confiança sobre cada comparação. A confiança é moderada para a maioria das comparações, apenas a comparação entre citalopram vs. imipramina que foi julgada como baixa.

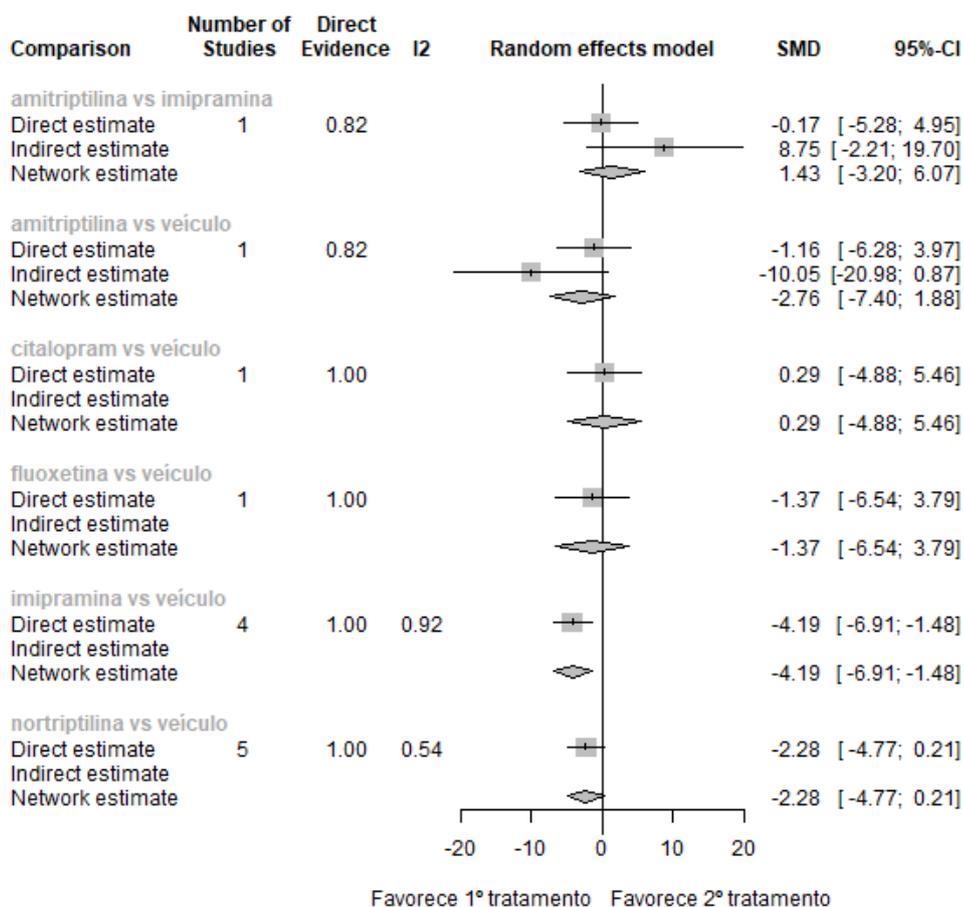


Figura 3 – Gráfico em floresta com evidências diretas e indiretas (camundongos). O gráfico apresenta todas as comparações que possuem evidência direta. Também apresenta as estimativas das evidências indiretas para aquelas comparações que foi usada a evidência indireta para gerar sua a estimativa dentro do modelo. Os losangos representam as estimativas geradas pelo modelo. Estimativa de efeito positiva (à direita) favorece o tratamento com o segundo tratamento (depois do “vs”), estimativa de efeito negativa (à esquerda) favorece o tratamento com o primeiro tratamento (antes do “vs”). Comparison = Comparação; Number of Studies = Número de estudos; Direct Evidence = Percentual da estimativa provinda da evidência direta; I² = incosistência; SMD = diferença entre as médias padronizada; 95%-CI = Intervalo de confiança em 95%.

Quadro 1 – CINeMA: Confiança nas estimativas para camundongos

Comparação	k	ROB	VP	Ind	Imp	Heterog	Inc	Confiança
amitr:imip	1	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amitr:vei	1	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
cital:vei	1	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
flux:vei	1	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
imip:vei	4	IP	GP	BP	BP	GP	BP	Moderada
nort:vei	5	IP	GP	BP	BP	GP	BP	Moderada
amitr:cital	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amitr:flux	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amitr:nort	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
cital:flux	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
cital:imip	0	IP	GP	BP	IP	IP	BP	Baixa
cital:nort	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
flux:imip	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
flux:nort	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
imip:nort	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada

Legenda: k = número de evidências diretas (estudos); ROB = qualidade interna; VP = preocupação sobre viés de publicação; Ind = *indirectness*; Imp = Imprecisão; Heterog = heterogeneidade; Inc = Incoerência; BP = baixa preocupação; IP = incerteza sobre a preocupação; GP = grande preocupação.

2.2 Meta-análise em rede para ratos

Foram incluídos na rede um total de 55 estudos contendo 64 comparações pareadas e 807 animais. A rede gerada (Figura 4) inclui 9 compostos antidepressivos e veículo, e 10 *designs* diferentes: veículo *vs.* mianserina, veículo *vs.* imipramina, veículo *vs.* fluvoxamina, veículo *vs.* fluoxetina, veículo *vs.* desipramina, veículo *vs.* clomipramina, veículo *vs.* citalopram, veículo *vs.* amoxapina, veículo *vs.* amitriptilina um *loop* fechado (amitriptilina *vs.* veículo *vs.* imipramina *versus* desipramina *vs.* clomipramina).

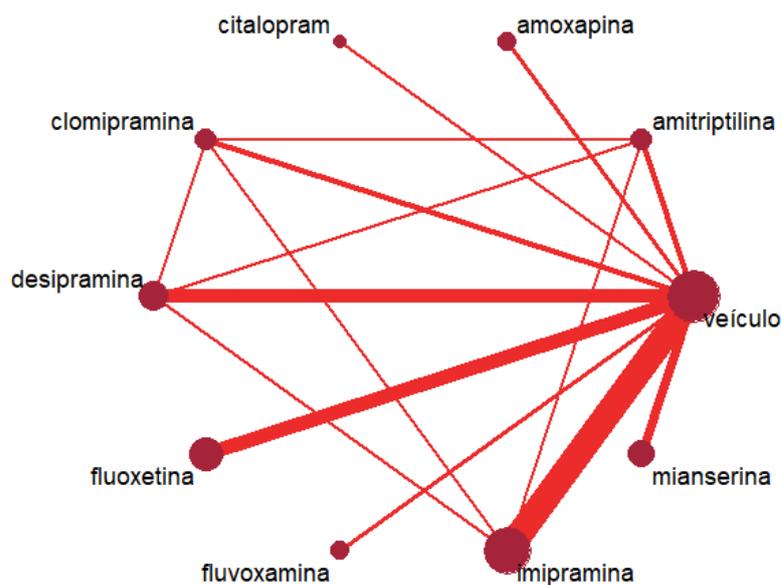


Figura 4 - Meta-análise em rede das comparações elegíveis para eficácia em camundongos. A espessura das linhas (arestas) é proporcional ao número de comparações diretas entre cada par de tratamento. O tamanho dos círculos (nós) é proporcional ao número de animais tratados (tamanho da amostra).

Os resultados apresentaram significância estatística para a heterogeneidade ($Q(df = 45) = 120,98; p < 0,0001$) (dentro dos *designs*). Os resultados foram heterogêneos para a comparação entre: veículo vs. fluoxetina ($Q(df = 9) = 29,88; p = 0,0005$), veículo vs. imipramina ($Q(df = 15) = 41,34; p = 0,0003$) e veículo vs. mianserina ($Q(df = 5) = 24,74; p = 0,0002$). E apresentou significância estatística para inconsistência ($Q(df = 4) = 10,06; p = 0,04$) (entre *designs* para o loop amitriptilina vs. veículo vs. imipramina vs. desipramina vs. clomipramina), mas o teste *full design-by-treatment* não foi significativo ($Q(df = 4) = 6,48; p = 0,17$).

Segundo o ranking gerado pelo método p-score (Figura 5), a imipramina fica na primeira colocação como o composto mais eficaz, seguido da desipramina, fluoxetina, mianserina e amitriptilina. O citalopram, fluvoxamina e clomipramina apresentaram também resultados favoráveis, mas inconclusivos. A amoxapina apresentou resultado favorável ao tratamento com veículo, mas também inconclusivo.

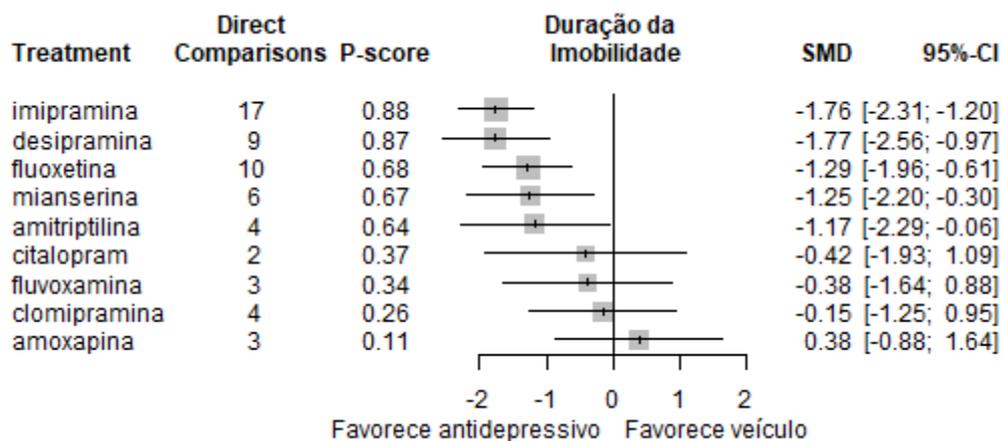


Figura 5 - Gráfico em floresta da meta-análise em rede para ratos. Apresenta todos os compostos incluídos por ordem da probabilidade de eficácia (P-score, mais eficaz na parte superior). Estimativa de efeito negativa favorece o tratamento com antidepressivo (à esquerda), estimativa de efeito positiva favorece o tratamento com veículo (à direita). Treatment = Tratamento; Direct Comparisons = Número de comparações diretas; SMD = diferença entre as médias padronizada; 95%-CI = Intervalo de confiança em 95%.

As comparações entre o veículo e os compostos imipramina, desipramina, fluoxetina, mianserina e amitriptilina foram todas estatisticamente significantes e favoráveis ao tratamento com os antidepressivos. Todos esses compostos apresentaram resultados conclusivos nas evidências diretas (Tabela 2, triângulo superior). Os resultados se mostraram estatisticamente significantes e favoráveis a imipramina e desipramina quando comparadas com clomipramina (Tabela 2). E também os resultados se mostraram estatisticamente significantes e favoráveis para imipramina, desipramina, fluoxetina e mianserina quando comparado com amoxapina. A maioria das comparações apresentaram uma confiança moderada.

Tabela 2 - Comparações entre os possíveis tratamentos em ratos.

imipramina	-0.00 (-2.63; 2.63)	.	.	-3.07 (-5.97; -0.17)	.	.	-4.98 (-8.29; -1.68)	-1.77 (-2.33; -1.21)	.
0.01 [¥] (-0.94; 0.96)	desipramina	.	.	-3.07 (-5.97; -0.17)	.	.	-4.98 (-8.29; -1.68)	-1.79 (-2.61; -0.98)	.
-0.47 [£] (-1.34; 0.40)	-0.48 [¥] (-1.52; 0.56)	fluoxetina	-1.29 (-1.96; -0.61)	.
-0.51 [¥] (-1.61; 0.59)	-0.52 [¥] (-1.76; 0.72)	-0.04 [¥] (-1.20; 1.13)	mianserina	-1.25 (-2.20; -0.30)	.
-0.58 [¥] (-1.81; 0.65)	-0.59 [¥] (-1.93; 0.75)	-0.11 [¥] (-1.41; 1.19)	-0.08 [¥] (-1.54; 1.39)	amitriptilina	.	.	-1.91 (-4.65; 0.83)	-1.42 (-2.58; -0.26)	.
-1.34 [£] (-2.94; 0.27)	-1.34 [¥] (-3.05; 0.36)	-0.86 [¥] (-2.52; 0.79)	-0.83 [¥] (-2.61; 0.96)	-0.75 [¥] (-2.63; 1.12)	citalopram	.	.	-0.42 (-1.93; 1.09)	.
-1.38 [¥] (-2.76; 0.00)	-1.39 [£] (-2.88; 0.11)	-0.91 [¥] (-2.33; 0.52)	-0.87 [¥] (-2.45; 0.71)	-0.79 [¥] (-2.48; 0.89)	-0.04 [¥] (-2.01; 1.93)	fluvoxamina	.	-0.38 (-1.64; 0.88)	.
-1.61[£] (-2.84; -0.38)	-1.62[£] (-2.97; -0.27)	-1.14 [£] (-2.43; 0.16)	-1.10 [£] (-2.56; 0.36)	-1.02 [£] (-2.53; 0.48)	-0.27 [¥] (-2.14; 1.60)	-0.23 [¥] (-1.91; 1.45)	clomipramina	-0.28 (-1.41; 0.84)	.
-1.76[¥] (-2.31; -1.20)	-1.77[¥] (-2.56; -0.97)	-1.29[¥] (-1.96; -0.61)	-1.25[¥] (-2.20; -0.30)	-1.17[£] (-2.29; -0.06)	-0.42 [¥] (-1.93; 1.09)	-0.38 [¥] (-1.64; 0.88)	-0.15 [¥] (-1.25; 0.95)	veículo	-0.38 (-1.64; 0.88)
-2.14[¥] (-3.52; -0.76)	-2.15[¥] (-3.64; -0.66)	-1.67[¥] (-3.10; -0.24)	-1.63[¥] (-3.21; -0.05)	-1.56 [£] (-3.24; 0.13)	-0.80 [¥] (-2.77; 1.16)	-0.76 [¥] (-2.55; 1.02)	-0.53 [¥] (-2.21; 1.14)	-0.38 [¥] (-1.64; 0.88)	amoxapina

Legenda: Compostos estão ordenados pela eficácia. Os dados estão apresentados em diferença entre as médias padronizadas e intervalo de confiança em 95%. No triângulo superior estão apresentadas as evidências diretas, e resultados negativos favorecem o tratamento da linha. No triângulo inferior, estão apresentadas as estimativas geradas pelo modelo, e resultados negativos favorecem o tratamento da coluna. Resultados estatisticamente significantes estão destacados. Confiança: £ = Baixa; ¥ = Moderada; ¢ = Alta.

A maioria dos resultados da separação de evidências diretas e indiretas usando o método “back-calculation” foram coerentes: amitriptilina vs. clomipramina (Diferença: 0,38; $Z = 0,19$; $p = 0,85$), amitriptilina vs. desipramina (Diferença: 3,15; $Z = 1,89$; $p = 0,06$), amitriptilina vs. imipramina (Diferença: 3,03; $Z = 1,85$; $p = 0,06$), amitriptilina vs. veículo (Diferença: -2,99; $Z = -1,45$; $p = 0,15$), clomipramina vs. veículo (Diferença: -3,82; $Z = -1,24$; $p = 0,21$), desipramina vs. imipramina (Diferença: 0,01; $Z = 0,01$; $p = 0,99$), desipramina vs. veículo (Diferença: -0,54; $Z = -0,28$; $p = 0,78$), e imipramina vs. veículo (Diferença: -0,52; $Z = -0,27$; $p = 0,79$). Apenas duas comparações apresentaram incoerência entre a evidência direta e indireta: clomipramina vs. desipramina (Diferença: 4,04; $Z = 2,19$; $p = 0,03$), clomipramina vs. imipramina (Diferença: 3,92; $Z = 2,16$; $p = 0,03$). As outras comparações de composto tiveram o tamanho de efeito estimado apenas com evidência direta (Figura 6) ou indireta (não apresentada).

No quadro 2 estão apresentadas o nível de confiança sobre cada comparação. A confiança é moderada para a maioria das comparações, apenas para 9 comparação que foi julgada como baixa. A julgamento de confiança para as comparações da meta-análise de rede em ratos foi realizada de forma manual em vez do uso do site, pois no site acusava inconsistência na variância do estudo com mais de dois braços, e pedia para usar o argumento `tol.multarm()` do pacote `netmeta()` para relaxar a suposição de consistência para estudo multi-arm. O ajuste não foi possível de ser realizado por não ter acesso ao código por trás do site. Para fazer o julgamento da imprecisão e heterogeneidade de forma manual, foi obtido os dados das estimativas, intervalo de confiança e predição para cada comparação através da função `netsplit()` do pacote `netmeta()`. A partir dos dados gerou-se o gráfico em floresta com o pacote `ggplot2()`, para então avaliar os parâmetros de acordo com a explicação contida na publicação NIKOLAKOPOULOU et al. (2020).

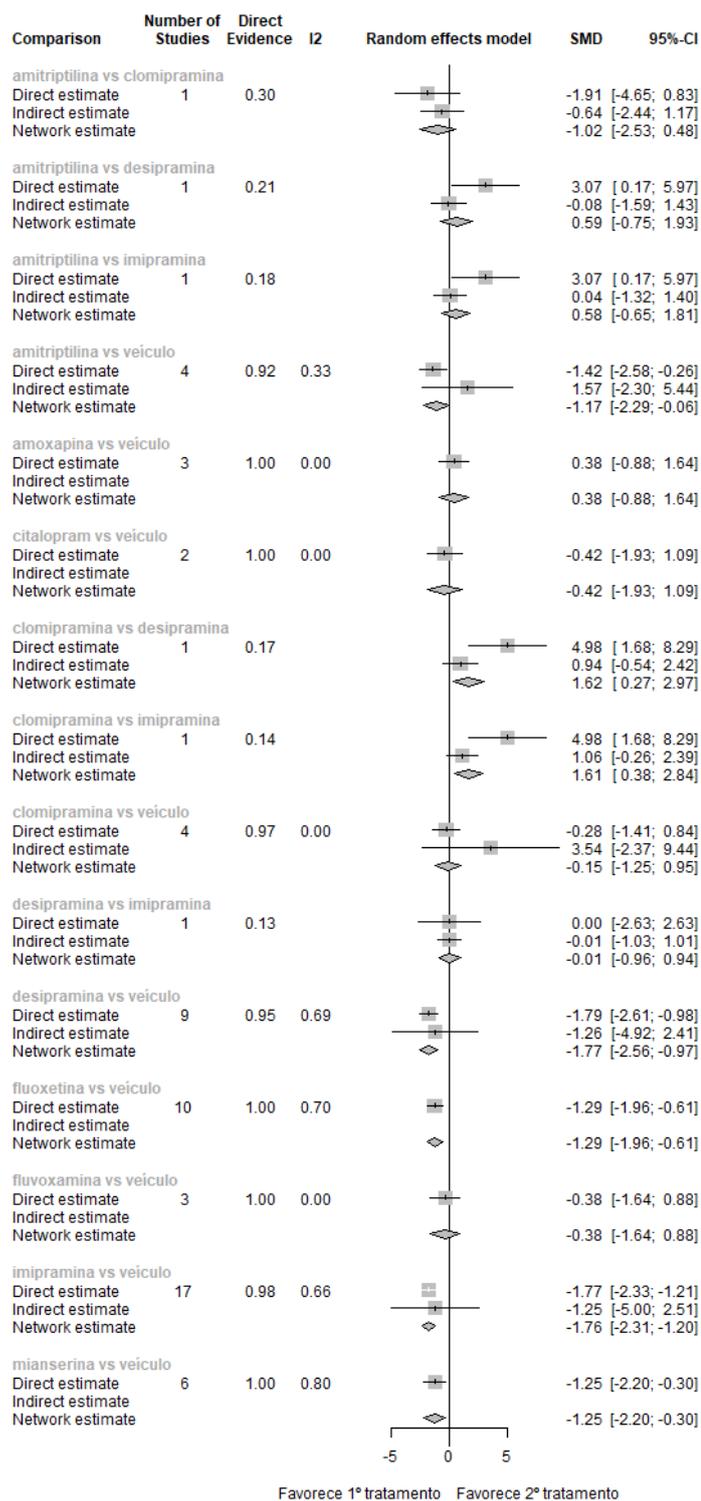


Figura 6 – Gráfico em floresta com evidências diretas e indiretas (ratos). O gráfico apresenta todas as comparações que possuem evidência direta. Também apresenta as estimativas das evidências indiretas para aquelas comparações que foi usada a evidência indireta para gerar sua a estimativa dentro do modelo. Os losangos representam as estimativas geradas pelo modelo. Estimativa de efeito positiva (à direita) favorece o tratamento com o segundo tratamento (depois do “vs”), estimativa de efeito negativa (à esquerda) favorece o tratamento com o primeiro tratamento (antes do “vs”). Comparison = Comparação; Number of Studies = Número de estudos; Direct Evidence = Percentual da estimativa provinda da evidência direta; I² = inconsistência; SMD = diferença entre as médias padronizada; 95%-CI = Intervalo de confiança em 95%.

Quadro 2 – CINeMA: Confiança nas estimativas para ratos

Comparação	k	ROB	VP	Ind	Imp	Heterog	Inc	Confiança
amitr:clom	1	IP	GP	BP	IP	IP	BP	Baixa
amitr:desip	1	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amitr:imip	1	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amitr:vei	4	IP	GP	BP	IP	GP	BP	Baixa
amox:vei	3	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
cital:vei	2	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
clom:desip	1	IP	GP	BP	BP	GP	GP	Baixa
clom:imip	1	IP	GP	BP	BP	GP	GP	Baixa
clom:vei	4	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
desip:imip	1	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
desip:vei	9	IP	GP	BP	BP	IP	BP	Moderada
flux:vei	10	IP	GP	BP	BP	GP	BP	Moderada
fluv:vei	3	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
imip:vei	17	IP	GP	BP	BP	IP	BP	Moderada
mian:vei	6	IP	GP	BP	BP	GP	BP	Moderada
amitr:amox	0	IP	GP	BP	IP	IP	BP	Baixa
amitr:cital	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amitr:flux	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amitr:fluv	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amitr:mian	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amox:cital	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amox:clom	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amox:desip	0	IP	GP	BP	BP	IP	BP	Moderada
amox:flux	0	IP	GP	BP	BP	GP	BP	Moderada
amox:fluv	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
amox:imip	0	IP	GP	BP	BP	IP	BP	Moderada
amox:mian	0	IP	GP	BP	IP	GP	BP	Moderada
cital:clom	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
cital:desip	0	IP	GP	BP	IP	BP	BP	Moderada
cital:flux	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
cital:fluv	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
cital:imip	0	IP	GP	BP	IP	IP	BP	Baixa
cital:mian	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
clom:flux	0	IP	GP	BP	IP	IP	BP	Baixa
clom:fluv	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
clom:mian	0	IP	GP	BP	IP	IP	BP	Baixa
desip:flux	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
desip:fluv	0	IP	GP	BP	IP	IP	BP	Baixa
desip:mian	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada
flux:fluv	0	IP	GP	BP	GP	BP	BP	Moderada

Legenda: k = número de evidências diretas (estudos); ROB = qualidade interna; VP = preocupação sobre viés de publicação; Ind = *indirectness*; Imp = Imprecisão; Heterog = heterogeneidade; Inc = Incoerência; BP = baixa preocupação; IP = incerteza sobre a preocupação; GP = grande preocupação.

Com a condução de uma meta-análise em rede foi possível fazer um ranqueamento dos compostos antidepressivos de acordo com a probabilidade de eficácia. Para os camundongos, o composto antidepressivo com maior probabilidade de ser o mais eficaz foi a imipramina, seguido da amitriptilina, nortriptilina, fluoxetina e citalopram. Para os ratos, o composto antidepressivo com maior probabilidade de ser o mais eficaz também foi a imipramina, seguido da desipramina, mianserina, fluoxetina, amitriptilina, citalopram, fluvoxamina, clomipramina, e por último a amoxapina, que apresentou uma menor probabilidade de ser mais eficaz que o veículo. Todas estimativas apresentaram um intervalo de confiança muito extenso, refletindo a heterogeneidade. Tanto os camundongos quanto para os ratos apresentaram heterogeneidade dentro de alguns *designs*. Foi detectada incoerência entre as evidências direta e indiretas das comparações entre clomipramina vs. desipramina e clomipramina vs. imipramina na meta-análise em rede dos ratos, que reflete de forma estatística uma intransitividade. Além disso, as estimativas também são limitadas pela confiança que foi de baixa a moderada, poucos estudos incluídos, e o fato de ter sido agrupadas várias doses para os compostos, em vez de cada dose do composto como um tratamento separado (HAMZA et al., 2021).

REFERÊNCIAS

- CHAIMANI, Anna; CALDWELL, Deborah M.; LI, Tianjing; HIGGINS, Julian PT; SALANTI, Georgia. Undertaking network meta-analyses. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**, [S. l.], p. 285–320, 2019. DOI: 10.1002/9781119536604.ch11.
- HAMZA, Tasnim; FURUKAWA, Toshi A.; ORSINI, Nicola; CIPRIANI, Andrea; IGLESIAS, Cynthia P.; SALANTI, Georgia. A dose–effect network meta-analysis model with application in antidepressants using restricted cubic splines. **Statistical Methods in Medical Research**, [S. l.], p. 1–12, 2022. DOI: 10.1177/09622802211070256.
- NEUPANE, Binod; RICHER, Danielle; BONNER, Ashley Joel; KIBRET, Taddele; BEYENE, Joseph. Network meta-analysis using R: A review of currently available automated packages. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 9, n. 12, p. 1–17, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0115065
- NIKOLAKOPOULOU, Adriani; HIGGINS, Julian P. T.; PAPAKONSTANTINOU, Theodoros; CHAIMANI, Anna; GIOVANE, Cinzia Del; EGGER, Matthias; SALANTI, Georgia. Cinema: An approach for assessing confidence in the results of a network meta-analysis. **PLoS Medicine**, [S. l.], v. 17, n. 4, p. 1–19, 2020. DOI: 10.1371/JOURNAL.PMED.1003082.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing., 2021.

RÜCKER, Gerta; KRAHN, Ulrike; KÖNIG, Jochem; EFTHIMIOU, Orestis; PAPAKONSTANTINOU, Theodoros; SHWARZER, Guido. **netmeta: Network Meta-Analysis using Frequentist Methods**, 2021.

RÜCKER, Gerta; SCHWARZER, Guido. Ranking treatments in frequentist network meta-analysis works without resampling methods. **BMC Medical Research Methodology**, [S. l.], v. 15, n. 1, 2015. DOI: 10.1186/s12874-015-0060-8.

**APÊNDICE B – PUBLICAÇÕES INCLUÍDAS NA REVISÃO SISTEMÁTICA E
META-ANÁLISE**

AGA-MIZRACHI, S.; CYMERBLIT-SABBA, A.; GURMAN, O.; BALAN, A. *et al.* Methylphenidate and desipramine combined treatment improves PTSD symptomatology in a rat model. **Translational Psychiatry**, 4, n. 9, 2014. Article.

AHMED, A.; LAHKAR, M. Effect of nimesulide in reversing reserpine induced depression in mice. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 7, n. 1, p. 336-339, 2016. Article.

AKANMU, M. A.; OLOWOOKERE, T. A.; ATUNWA, S. A.; IBRAHIM, B. O. *et al.* Neuropharmacological effects of Nigerian honey in mice. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, 8, n. 3, p. 230-249, 2011. Article.

AL-SAMHARI, M. M.; AL-RASHEED, N. M.; AL-REJAIE, S.; AL-RASHEED, N. M. *et al.* Possible involvement of the JAK/STAT signaling pathway in N-acetylcysteine-mediated antidepressant-like effects. **Exp Biol Med (Maywood)**, 241, n. 5, p. 509-518, Mar 2016.

ARMARIO, A.; GAVALDA, A.; MARTI, O. Forced swimming test in rats: effect of desipramine administration and the period of exposure to the test on struggling behavior, swimming, immobility and defecation rate. **Eur J Pharmacol**, 158, n. 3, p. 207-212, Dec 13 1988.

ASSIS, L. C.; REZIN, G. T.; COMIM, C. M.; VALVASSORI, S. S. *et al.* Effect of acute administration of ketamine and imipramine on creatine kinase activity in the brain of rats. **Rev Bras Psiquiatr**, 31, n. 3, p. 247-252, Sep 2009.

BENMANSOUR, S.; ARROYO, L. D.; FRAZER, A. Comparison of the Antidepressant-Like Effects of Estradiol and That of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors in Middle-Aged Ovariectomized Rats. **Front Aging Neurosci**, 8, p. 311, 2016.

BERROCOSO, E.; ROJAS-CORRALES, M. O.; MICO, J. A. Non-selective opioid receptor antagonism of the antidepressant-like effect of venlafaxine in the forced swimming test in mice. **Neurosci Lett**, 363, n. 1, p. 25-28, Jun 03 2004.

BERSUDSKY, Y.; SHALDUBINA, A.; AGAM, G.; BERRY, G. T. *et al.* Homozygote inositol transporter knockout mice show a lithium-like phenotype. **Bipolar Disord**, 10, n. 4, p. 453-459, Jun 2008.

BHANDWALKAR, M. J.; AVACHAT, A. M. Thermoreversible nasal in situ gel of venlafaxine hydrochloride: formulation, characterization, and pharmacodynamic evaluation. **AAPS PharmSciTech**, 14, n. 1, p. 101-110, Mar 2013.

BHATT, S.; RADHAKRISHNAN, M.; JINDAL, A.; DEVADOSS, T. *et al.* Neuropharmacological evaluation of a novel 5-HT₃ receptor antagonist (6g) on chronic unpredictable mild stress-induced changes in behavioural and brain oxidative stress parameters in mice. **Indian J Pharmacol**, 46, n. 2, p. 191-196, Mar-Apr 2014.

BIANCHI, M.; BAULIEU, E. E. 3beta-Methoxy-pregnenolone (MAP4343) as an innovative therapeutic approach for depressive disorders. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 109, n. 5, p. 1713-1718, Jan 31 2012.

BJORNEBEKK, A.; MATHE, A. A.; BRENE, S. The antidepressant effects of running and escitalopram are associated with levels of hippocampal NPY and Y1 receptor but not cell proliferation in a rat model of depression. **Hippocampus**, 20, n. 7, p. 820-828, Jul 2010.

BOONLERT, W.; BENYA-APHIKUL, H.; UMKA WELBAT, J.; RODSIRI, R. Ginseng Extract G115 Attenuates Ethanol-Induced Depression in Mice by Increasing Brain BDNF Levels. **Nutrients**, 9, n. 9, Aug 24 2017.

BORSINI, F.; LECCI, A.; MANCINELLI, A.; D'ARANNO, V. *et al.* Stimulation of dopamine D-2 but not D-1 receptors reduces immobility time of rats in the forced swimming test: implication for antidepressant activity. **Eur J Pharmacol**, 148, n. 3, p. 301-307, Apr 13 1988.

BUGA, A. M.; CIOBANU, O.; BADESCU, G. M.; BOGDAN, C. *et al.* Up-regulation of serotonin receptor 2B mRNA and protein in the peri-infarcted area of aged rats and stroke patients. **Oncotarget**, 7, n. 14, p. 17415-17430, Apr 05 2016.

BUKHARI, I. A.; DAR, A. Behavioral profile of *Hypericum perforatum* (St. John's Wort) extract. A comparison with standard antidepressants in animal models of depression. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, 17, n. 8, p. 1082-1089, Apr 2013.

CAI, L.; LI, R.; TANG, W. J.; MENG, G. *et al.* Antidepressant-like effect of geniposide on chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats by regulating the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. **Eur Neuropsychopharmacol**, 25, n. 8, p. 1332-1341, Aug 2015.

CALDARONE, B. J.; KARTHIGEYAN, K.; HARRIST, A.; HUNSBERGER, J. G. *et al.* Sex differences in response to oral amitriptyline in three animal models of depression in C57BL/6J mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 170, n. 1, p. 94-101, Oct 2003.

CAMPOS, M. M.; FERNANDES, E. S.; FERREIRA, J.; SANTOS, A. R. *et al.* Antidepressant-like effects of *Trichilia catigua* (Catuaba) extract: evidence for dopaminergic-mediated mechanisms. **Psychopharmacology (Berl)**, 182, n. 1, p. 45-53, Oct 2005.

CANNIZZARO, G.; FLUGY, A.; CANNIZZARO, C.; GAGLIANO, M. *et al.* Effects of desipramine and alprazolam in the forced swim test in rats after long-lasting termination of chronic exposure to picrotoxin and pentylentetrazol. **Eur Neuropsychopharmacol**, 3, n. 4, p. 477-484, Dec 1993.

CASTRO, J. E.; VAREA, E.; MARQUEZ, C.; CORDERO, M. I. *et al.* Role of the amygdala in antidepressant effects on hippocampal cell proliferation and survival and on depression-like behavior in the rat. **PLoS One**, 5, n. 1, p. e8618, Jan 08 2010.

CHAVIARAS, S.; MAK, P.; RALPH, D.; KRISHNAN, L. *et al.* Assessing the antidepressant-like effects of carbetocin, an oxytocin agonist, using a modification of the forced swimming test. **Psychopharmacology (Berl)**, 210, n. 1, p. 35-43, May 2010.

CHEN, Y.; KONG, L. D.; XIA, X.; KUNG, H. F. *et al.* Behavioral and biochemical studies of total furocoumarins from seeds of *Psoralea corylifolia* in the forced swimming test in mice. **J Ethnopharmacol**, 96, n. 3, p. 451-459, Jan 15 2005.

CHEN, Y.; WANG, H.; ZHANG, R.; WANG, H. *et al.* Microinjection of sanguinarine into the ventrolateral orbital cortex inhibits Mkp-1 and exerts an antidepressant-like effect in rats. **Neurosci Lett**, 506, n. 2, p. 327-331, Jan 11 2012.

CHOI, J. E.; PARK, D. M.; CHUN, E.; CHOI, J. J. *et al.* Control of stress-induced depressive disorders by So-ochim-tang-gamibang, a Korean herbal medicine. **J Ethnopharmacol**, 196, p. 141-150, Jan 20 2017.

COSTA, C. A.; CURY, T. C.; CASSETTARI, B. O.; TAKAHIRA, R. K. *et al.* Citrus aurantium L. essential oil exhibits anxiolytic-like activity mediated by 5-HT(1A)-receptors and reduces cholesterol after repeated oral treatment. **BMC Complement Altern Med**, 13, p. 42, Feb 23 2013.

CRUZ, S. L.; SOBERANES-CHAVEZ, P.; PAEZ-MARTINEZ, N.; LOPEZ-RUBALCAVA, C. Toluene has antidepressant-like actions in two animal models used for the screening of antidepressant drugs. **Psychopharmacology (Berl)**, 204, n. 2, p. 279-286, Jun 2009.

DA ROCHA, J. T.; GAI, B. M.; PINTON, S.; SAMPAIO, T. B. *et al.* Effects of diphenyl diselenide on depressive-like behavior in ovariectomized mice submitted to subchronic stress: Involvement of the serotonergic system. **Psychopharmacology**, 222, n. 4, p. 709-719, 2012. Article.

D'AQUILA, P. S.; PANIN, F.; SERRA, G. Long-term imipramine withdrawal induces a depressive-like behaviour in the forced swimming test. **Eur J Pharmacol**, 492, n. 1, p. 61-63, May 10 2004.

DE BUNDEL, D.; FEMENIA, T.; DUPONT, C. M.; KONRADSSON-GEUKEN, A. *et al.* Hippocampal and prefrontal dopamine D1/5 receptor involvement in the memory-enhancing effect of reboxetine. **Int J Neuropsychopharmacol**, 16, n. 9, p. 2041-2051, Oct 2013.

DE JONG, T. R.; SNAPHAAN, L. J.; PATTIJ, T.; VEENING, J. G. *et al.* Effects of chronic treatment with fluvoxamine and paroxetine during adolescence on serotonin-related behavior in adult male rats. **Eur Neuropsychopharmacol**, 16, n. 1, p. 39-48, Jan 2006.

DE MOURA, J. C.; NOROES, M. M.; RACHETTI VDE, P.; SOARES, B. L. *et al.* The blockade of transient receptor potential ankirin 1 (TRPA1) signalling mediates antidepressant- and anxiolytic-like actions in mice. **Br J Pharmacol**, 171, n. 18, p. 4289-4299, Sep 2014.

DECOLLOGNE, S.; TOMAS, A.; LECERF, C.; ADAMOWICZ, E. *et al.* NMDA receptor complex blockade by oral administration of magnesium: comparison with MK-801. **Pharmacol Biochem Behav**, 58, n. 1, p. 261-268, Sep 1997.

DEVI, K.; REDDY, P. V. Role of emotionality on inter and intrasrain variations in imipramine response. a comparative study in Balb/c and Swiss mice. **Indian J Physiol Pharmacol**, 49, n. 4, p. 449-454, Oct-Dec 2005.

DHAMIJA, I.; PARLE, M.; KUMAR, S. Antidepressant and anxiolytic effects of *Garcinia indica* fruit rind via monoaminergic pathway. **3 Biotech**, 7, n. 2, p. 131, Jun 2017.

DIAZ, J. A.; VEGA, S.; EXPOSITO, M. A.; SANCHEZ MATEO, C. C. *et al.* Synthesis and antidepressant evaluation of new hetero[2,1]benzothiazepine derivatives. **Arch Pharm (Weinheim)**, 329, n. 7, p. 352-360, Jul 1996.

DING, X. F.; LI, Y. H.; CHEN, J. X.; SUN, L. J. *et al.* Involvement of the glutamate/glutamine cycle and glutamate transporter GLT-1 in antidepressant-like effects of Xiao Yao san on chronically stressed mice. **BMC Complement Altern Med**, 17, n. 1, p. 326, Jun 19 2017.

DUARTE, F. S.; CODECO MARTINS, P. R.; ROMEIRO, G. A.; MONTEIRO DE LIMA, T. C. Antidepressant-like profile of action of two 4-amine derivatives of 10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d] cycloheptane in mice evaluated in the forced swimming test. **Bioorg Med Chem**, 15, n. 4, p. 1645-1650, Feb 15 2007.

DURASAMI, R.; SRINIVASAN, D.; RAMASAMY, S. Antidepressant and anxiolytic activities of bio flavonoid-gossypin. **Pharmacologyonline**, 2, p. 683-693, 2008. Article.

EGASHIRA, N.; IWASAKI, K.; TAKASHIMA, A.; WATANABE, T. *et al.* Altered depression-related behavior and neurochemical changes in serotonergic neurons in mutant R406W human tau transgenic mice. **Brain Res**, 1059, n. 1, p. 7-12, Oct 12 2005.

ELKHAYAT, E. S.; ALORAINY, M. S.; EL-ASHMAWY, I. M.; FAT'HI, S. Potential Antidepressant Constituents of *Nigella sativa* Seeds. **Pharmacogn Mag**, 12, n. Suppl 1, p. S27-31, Jan 2016.

ESPEJO, E. F.; MINANO, F. J. Prefrontocortical dopamine depletion induces antidepressant-like effects in rats and alters the profile of desipramine during Porsolt's test. **Neuroscience**, 88, n. 2, p. 609-615, Jan 1999.

ESTRADA-CAMARENA, E.; FERNANDEZ-GUASTI, A.; LOPEZ-RUBALCAVA, C. Interaction between estrogens and antidepressants in the forced swimming test in rats. **Psychopharmacology (Berl)**, 173, n. 1-2, p. 139-145, Apr 2004.

FALCON, E.; MAIER, K.; ROBINSON, S. A.; HILL-SMITH, T. E. *et al.* Effects of buprenorphine on behavioral tests for antidepressant and anxiolytic drugs in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 232, n. 5, p. 907-915, Mar 2015.

FATTAHIAN, E.; HAJHASHEMI, V.; RABBANI, M.; MINAIYAN, M. *et al.* Anti-inflammatory effect of amitriptyline on ulcerative colitis in normal and reserpine-induced depressed rats. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, 15, p. 125-137, 2016. Article.

FENG, Y.; YOU, Z.; YAN, S.; HE, G. *et al.* Antidepressant-like effects of salvianolic acid B in the mouse forced swim and tail suspension tests. **Life Sci**, 90, n. 25-26, p. 1010-1014, Jun 27 2012.

FERREIRA MELLO, B. S.; MONTE, A. S.; MCINTYRE, R. S.; SOCZYNSKA, J. K. *et al.* Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. **Journal of Psychiatric Research**, 47, n. 10, p. 1521-1529, 2013. Article.

FILHO, C. B.; DEL FABBRO, L.; DE GOMES, M. G.; GOES, A. T. *et al.* Kappa-opioid receptors mediate the antidepressant-like activity of hesperidin in the mouse forced swimming test. **Eur J Pharmacol**, 698, n. 1-3, p. 286-291, Jan 05 2013.

FIORINO, F.; MAGLI, E.; KĘDZIERSKA, E.; CIANO, A. *et al.* New 5-HT_{1A}, 5HT_{2A} and 5HT_{2C} receptor ligands containing a picolinic nucleus: Synthesis, in vitro and in vivo pharmacological evaluation. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 25, n. 20, p. 5820-5837, 2017. Article.

FORTUNATO, J. J.; REUS, G. Z.; KIRSCH, T. R.; STRINGARI, R. B. *et al.* Acute harmine administration induces antidepressant-like effects and increases BDNF levels in the rat hippocampus. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 33, n. 8, p. 1425-1430, Nov 13 2009.

FU, J.; LIU, Y.; WANG, Q.; ZHAO, J. [Effect of Shuganjiayu capsules on neuronal apoptosis in hippocampal CA3 area and the expression of caspase-3 in the brain of rat depression model]. **Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban**, 37, n. 12, p. 1198-1204, Dec 2012.

GALEOTTI, N.; GHELARDINI, C. Antidepressant phenotype by inhibiting the phospholipase C β (1)-protein kinase C γ pathway in the forced swim test. **Neuropharmacology**, 60, n. 6, p. 937-943, May 2011.

GASULL-CAMÓS, J.; ARRÉS-GATIUS, M. T.; ARTIGAS, F.; CASTAÑÉ, A. Glial GLT-1 blockade in infralimbic cortex as a new strategy to evoke rapid antidepressant-like effects in rats. **Translational Psychiatry**, 7, n. 2, 2017. Article.

GLICK, S. D.; HASKEW, R. E.; MAISONNEUVE, I. M.; CARLSON, J. N. *et al.* Enantioselective behavioral effects of sibutramine metabolites. **Eur J Pharmacol**, 397, n. 1, p. 93-102, May 26 2000.

GOBSHTIS, N.; BEN-SHABAT, S.; FRIDE, E. Antidepressant-induced undesirable weight gain: prevention with rimonabant without interference with behavioral effectiveness. **Eur J Pharmacol**, 554, n. 2-3, p. 155-163, Jan 12 2007.

GU, X.; ZHOU, Y.; WU, X.; WANG, F. *et al.* Antidepressant-like effects of auraptinol in mice. **Sci Rep**, 4, p. 4433, Mar 24 2014.

GUPTA, D.; DEVADOSS, T.; BHATT, S.; GAUTAM, B. *et al.* Anti-depressant-like activity of a novel serotonin type-3 (5-HT₃) receptor antagonist in rodent models of depression. **Indian J Exp Biol**, 49, n. 8, p. 619-626, Aug 2011.

GUPTA, D.; RADHAKRISHNAN, M.; KURHE, Y. 5HT₃ receptor antagonist (ondansetron) reverses depressive behavior evoked by chronic unpredictable stress in mice: modulation of hypothalamic-pituitary-adrenocortical and brain serotonergic system. **Pharmacol Biochem Behav**, 124, p. 129-136, Sep 2014.

GUPTA, V. H.; WANKHEDE, S. S.; GUNJAL, M. A.; JUVEKAR, A. R. Antidepressant like effect of couroupita guianensis Aubl. flowers in animal model of depression. **International Journal of Toxicological and Pharmacological Research**, 4, n. 2, p. 12-16, 2012. Article.

HAJ-MIRZAIAN, A.; OSTADHADI, S.; KORDJAZY, N.; DEHPOUR, A. R. *et al.* Opioid/NMDA receptors blockade reverses the depressant-like behavior of foot shock stress in the mouse forced swimming test. **Eur J Pharmacol**, 735, p. 26-31, Jul 15 2014.

HAN, M.; MA, X.; JIN, Y.; ZHOU, W. *et al.* Synthesis and structure-activity relationship of novel cinnamamide derivatives as antidepressant agents. **Bioorg Med Chem Lett**, 24, n. 22, p. 5284-5287, Nov 15 2014.

HANSEN, F.; DE OLIVEIRA, D. L.; AMARAL, F. U. T.; GUEDES, F. S. *et al.* Effects of chronic administration of tryptophan with or without concomitant fluoxetine in depression-related and anxiety-like behaviors on adult rat. **Neuroscience Letters**, 499, n. 2, p. 59-63, 2011. Article.

HARATI, E.; SADEGHIPOUR ROODSARI, H. R.; SEIFI, B.; KAMALINEJAD, M. *et al.* The effect of oral matricaria chamomilla extract and selenium on postpartum depression and plasma oxidant-antioxidant system in mice. **Tehran University Medical Journal**, 71, n. 10, p. 625-634, 2014. Article.

HEALY, D. G.; HARKIN, A.; CRYAN, J. F.; KELLY, J. P. *et al.* Metyrapone displays antidepressant-like properties in preclinical paradigms. **Psychopharmacology (Berl)**, 145, n. 3, p. 303-308, Aug 1999.

HIROAKI-SATO, V. A.; SALES, A. J.; BIOJONE, C.; JOCA, S. R. Hippocampal nNOS inhibition induces an antidepressant-like effect: involvement of 5HT1A receptors. **Behav Pharmacol**, 25, n. 3, p. 187-196, Jun 2014.

HIROSE, W.; KATO, Y.; NATSUTANI, I.; TAKATA, M. *et al.* Synthesis and optimization of 4,5,6,7-tetrahydrooxazolo[4,5-c]pyridines as potent and orally-active metabotropic glutamate receptor 5 negative allosteric modulators. **Bioorg Med Chem Lett**, 27, n. 18, p. 4331-4335, Sep 15 2017.

INTA, D.; VOGT, M. A.; LIMA-OJEDA, J. M.; PFEIFFER, N. *et al.* Lack of long-term behavioral alterations after early postnatal treatment with tropisetron: Implications for developmental psychobiology. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 99, n. 1, p. 35-41, 2011. Article.

ISHOLA, I. O.; AGBAJE, E. O.; AKINLEYE, M. O.; IBEH, C. O. *et al.* Antidepressant-like effect of the hydroethanolic leaf extract of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Mull. Arg. (Euphorbiaceae) in mice: involvement of monoaminergic system. **J Ethnopharmacol**, 158 Pt A, p. 364-372, Dec 02 2014.

ITO, N.; NAGAI, T.; YABE, T.; NUNOME, S. *et al.* Antidepressant-like activity of a Kampo (Japanese herbal) medicine, Koso-san (Xiang-Su-San), and its mode of action via the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Phytomedicine**, 13, n. 9-10, p. 658-667, Nov 2006.

JAFARI, F.; KHOSRAVI, M.; ABEDI NAJAFI, A.; SAHRAEI, H. *et al.* Assessment of the antidepressant effect of *Rosa Canina* L. petal extracts in mice by forced swimming stress model. **Physiology and Pharmacology**, 17, n. 2, p. 231-239, 2013. Article.

JI, W. W.; LI, R. P.; LI, M.; WANG, S. Y. *et al.* Antidepressant-like effect of essential oil of *Perilla frutescens* in a chronic, unpredictable, mild stress-induced depression model mice. **Chin J Nat Med**, 12, n. 10, p. 753-759, Oct 2014.

JI, W. W.; WANG, S. Y.; MA, Z. Q.; LI, R. P. *et al.* Effects of perillaldehyde on alternations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacol Biochem Behav**, 116, p. 1-8, Jan 2014.

JIANG, B.; XIONG, Z.; YANG, J.; WANG, W. *et al.* Antidepressant-like effects of ginsenoside Rg1 are due to activation of the BDNF signalling pathway and neurogenesis in the hippocampus. **Br J Pharmacol**, 166, n. 6, p. 1872-1887, Jul 2012.

KAJTA, M.; WNUK, A.; RZEMIENIEC, J.; LITWA, E. *et al.* Depressive-like effect of prenatal exposure to DDT involves global DNA hypomethylation and impairment of GPER1/ESR1 protein levels but not ESR2 and AHR/ARNT signaling. **J Steroid Biochem Mol Biol**, 171, p. 94-109, Jul 2017.

KAN, H.; MING, L.; LI, C.; KAN, H. *et al.* Antidepressant effect of bioactive compounds from *Paecilomyces tenuipes* in mice and rats. **Neural Regeneration Research**, 5, n. 20, p. 1568-1572, 2010. Article.

KARANGES, E.; LI, K. M.; MOTBEY, C.; CALLAGHAN, P. D. *et al.* Differential behavioural and neurochemical outcomes from chronic paroxetine treatment in adolescent and adult rats: a model of adverse antidepressant effects in human adolescents? **Int J Neuropsychopharmacol**, 14, n. 4, p. 491-504, May 2011.

KARIMI, G.; SARADEGHI KEISARI, M. Evaluation of antidepressant effect of ethanolic and aqueous extracts of *Silybum marianum* L. seed in mice. **Journal of Medicinal Plants**, 6, n. 24, p. 38-43, 2007. Article.

KASSAI, F.; SCHLUMBERGER, C.; KEDVES, R.; PIETRASZEK, M. *et al.* Effect of 5-HT5A antagonists in animal models of schizophrenia, anxiety and depression. **Behav Pharmacol**, 23, n. 4, p. 397-406, Aug 2012.

KAWAHARA, R.; SOEDA, F.; KAWAURA, K.; HONDA, S. *et al.* Effect of tipegidine with novel antidepressant-like action on c-fos-like protein expression in rat brain. **Brain Res**, 1513, p. 135-142, Jun 04 2013.

KAWASHIMA, K.; ARAKI, H.; AIHARA, H. Effect of chronic administration of antidepressants on duration of immobility in rats forced to swim. **Jpn J Pharmacol**, 40, n. 2, p. 199-204, Feb 1986.

KHANAM, R.; NAJFI, H.; AKHTAR, M.; VOHORA, D. Evaluation of venlafaxine on glucose homeostasis and oxidative stress in diabetic mice. **Human and Experimental Toxicology**, 31, n. 12, p. 1244-1250, 2012. Article.

KHULBE, A.; PANDEY, S.; SAH, S. P. Antidepressant-like action of the hydromethanolic flower extract of *Tagetes erecta* L. in mice and its possible mechanism of action. **Indian J Pharmacol**, 45, n. 4, p. 386-390, Jul-Aug 2013.

KIM, E. J.; KIM, W. R.; CHI, S. E.; LEE, K. H. *et al.* Repetitive transcranial magnetic stimulation protects hippocampal plasticity in an animal model of depression. **Neurosci Lett**, 405, n. 1-2, p. 79-83, Sep 11 2006.

KIM, H. Y.; JEONG, H. J.; KIM, H. M. Antidepressant-like effect of Ikwitang involves modulation of monoaminergic systems. **Mol Med Rep**, 13, n. 3, p. 2815-2820, Mar 2016.

KIM, J. W.; AHN, H. S.; BAIK, J. H.; YOON, B. J. Administration of clomipramine to neonatal mice alters stress response behavior and serotonergic gene expressions in adult mice. **Journal of Psychopharmacology**, 27, n. 2, p. 171-180, 2013. Article.

KITAMURA, Y.; FUJITANI, Y.; KITAGAWA, K.; MIYAZAKI, T. *et al.* Effects of imipramine and bupropion on the duration of immobility of ACTH-treated rats in the forced swim test: involvement of the expression of 5-HT_{2A} receptor mRNA. **Biol Pharm Bull**, 31, n. 2, p. 246-249, Feb 2008.

KOKKINIDIS, L.; ZACHARKO, R. M.; ANISMAN, H. Amphetamine withdrawal: a behavioral evaluation. **Life Sci**, 38, n. 17, p. 1617-1623, Apr 28 1986.

KOKRAS, N.; ANTONIOU, K.; MIKAIL, H. G.; KAFETZOPOULOS, V. *et al.* Forced swim test: What about females? **Neuropharmacology**, 99, p. 408-421, Dec 2015.

KULKARNI, S. K.; BHUTANI, M. K.; BISHNOI, M. Antidepressant activity of curcumin: involvement of serotonin and dopamine system. **Psychopharmacology (Berl)**, 201, n. 3, p. 435-442, Dec 2008.

KURHE, Y.; MAHESH, R.; DEVADOSS, T.; GUPTA, D. Antidepressant-like effect of a novel 5-HT₃ receptor antagonist N-(benzo[d] thiazol-2-yl)-3-ethoxyquinoxalin-2-carboxamide 6k using rodents behavioral battery tests. **J Pharmacol Pharmacother**, 5, n. 3, p. 197-202, Jul 2014.

KUSHWAH, N.; JAIN, V.; DEEP, S.; PRASAD, D. *et al.* Neuroprotective Role of Intermittent Hypobaric Hypoxia in Unpredictable Chronic Mild Stress Induced Depression in Rats. **PLoS One**, 11, n. 2, p. e0149309, 2016.

KUSMIDER, M.; SOLICH, J.; PALACH, P.; DZIEDZICKA-WASYLEWSKA, M. Effect of citalopram in the modified forced swim test in rats. **Pharmacol Rep**, 59, n. 6, p. 785-788, Nov-Dec 2007.

LAGOS, P.; URBANAVICIUS, J.; SCORZA, M. C.; MIRABALLES, R. *et al.* Depressive-like profile induced by MCH microinjections into the dorsal raphe nucleus evaluated in the forced swim test. **Behav Brain Res**, 218, n. 2, p. 259-266, Apr 15 2011.

LAHMAME, A.; DEL ARCO, C.; PAZOS, A.; YRITIA, M. *et al.* Are Wistar-Kyoto rats a genetic animal model of depression resistant to antidepressants? **Eur J Pharmacol**, 337, n. 2-3, p. 115-123, Oct 22 1997.

LAMBERTI, C.; IPPONI, A.; BARTOLINI, A.; SCHUNACK, W. *et al.* Antidepressant-like effects of endogenous histamine and of two histamine H₁ receptor agonists in the mouse forced swim test. **Br J Pharmacol**, 123, n. 7, p. 1331-1336, Apr 1998.

LAPMANEE, S.; CHAROENPHANDHU, J.; CHAROENPHANDHU, N. Beneficial effects of fluoxetine, reboxetine, venlafaxine, and voluntary running exercise in stressed male rats with anxiety- and depression-like behaviors. **Behav Brain Res**, 250, p. 316-325, Aug 01 2013.

LEE, S.; KIM, D. H.; LEE, C. H.; JUNG, J. W. *et al.* Antidepressant-like activity of the aqueous extract of *Allium macrostemon* in mice. **J Ethnopharmacol**, 131, n. 2, p. 386-395, Sep 15 2010.

LENART, L.; HODREA, J.; HOSSZU, A.; KOSZEGI, S. *et al.* The role of sigma-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor in the development of diabetes and comorbid depression in streptozotocin-induced diabetic rats. **Psychopharmacology**, 233, n. 7, p. 1269-1278, 2016. Article.

LI, S.; WANG, C.; LI, W.; KOIKE, K. *et al.* Antidepressant-like effects of piperine and its derivative, antiepilepsirine. **J Asian Nat Prod Res**, 9, n. 3-5, p. 421-430, Apr-Aug 2007.

LI, Y.; SANCHEZ, C.; GULINELLO, M. Distinct Antidepressant-Like and Cognitive Effects of Antidepressants with Different Mechanisms of Action in Middle-Aged Female Mice. **Int J Neuropsychopharmacol**, 20, n. 6, p. 510-515, Jun 01 2017.

LI, Y.; YAN, J.; ZHU, X.; ZHU, Y. *et al.* Dilated Virchow-Robin spaces in the hippocampus impact behaviors and effects of anti-depressant treatment in model of depressed rats. **J Affect Disord**, 219, p. 17-24, Sep 2017.

LIANG, Y.; SHAW, A. M.; BOULES, M.; BRIODY, S. *et al.* Antidepressant-like pharmacological profile of a novel triple reuptake inhibitor, (1S,2S)-3-(methylamino)-2-(naphthalen-2-yl)-1-phenylpropan-1-ol (PRC200-SS). **J Pharmacol Exp Ther**, 327, n. 2, p. 573-583, Nov 2008.

LIN, P. Y.; CHANG, A. Y.; LIN, T. K. Simvastatin treatment exerts antidepressant-like effect in rats exposed to chronic mild stress. **Pharmacol Biochem Behav**, 124, p. 174-179, Sep 2014.

LIU, F. G.; HU, W. F.; WANG, J. L.; WANG, P. *et al.* Z-Guggulsterone Produces Antidepressant-Like Effects in Mice through Activation of the BDNF Signaling Pathway. **Int J Neuropsychopharmacol**, 20, n. 6, p. 485-497, Jun 01 2017.

LU, Y.; WANG, C.; XUE, Z.; LI, C. *et al.* PI3K/AKT/mTOR signaling-mediated neuropeptide VGF in the hippocampus of mice is involved in the rapid onset antidepressant-like effects of GLYX-13. **Int J Neuropsychopharmacol**, 18, n. 5, Dec 25 2014.

MAHESH, R.; BHATT, S.; DEVADOSS, T.; JINDAL, A. *et al.* Antidepressant Potential of 5-HT₃ Receptor Antagonist, N-n-propyl-3-ethoxyquinoxaline-2-carboxamide (6n). **J Young Pharm**, 4, n. 4, p. 235-244, Oct 2012.

MAHMOUDI, M.; EBRAHIMZADEH, M. A.; DOOSHAN, A.; ARIMI, A. *et al.* Antidepressant activities of *Sambucus ebulus* and *Sambucus nigra*. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, 18, n. 22, p. 3350-3353, Nov 2014.

MAKINO, M.; KITANO, Y.; HIROHASHI, M.; TAKASUNA, K. Enhancement of immobility in mouse forced swimming test by treatment with human interferon. **Eur J Pharmacol**, 356, n. 1, p. 1-7, Aug 28 1998.

MALLICK, N.; KHAN, R. A. Behavioral effects of Citrus paradisi in rats. **Metab Brain Dis**, 31, n. 2, p. 329-335, Apr 2016.

MANCINELLI, A.; D'ARANNO, V.; BORSINI, F.; MELI, A. Lack of relationship between effect of desipramine on forced swimming test and brain levels of desipramine or its demethylated metabolite in rats. **Psychopharmacology (Berl)**, 92, n. 4, p. 441-443, 1987.

MAO, Q. Q.; HUANG, Z.; ZHONG, X. M.; XIAN, Y. F. *et al.* Piperine reverses chronic unpredictable mild stress-induced behavioral and biochemical alterations in rats. **Cell Mol Neurobiol**, 34, n. 3, p. 403-408, Apr 2014.

MARROCCO, J.; REYNAERT, M. L.; GATTA, E.; GABRIEL, C. *et al.* The effects of antidepressant treatment in prenatally stressed rats support the glutamatergic hypothesis of stress-related disorders. **Journal of Neuroscience**, 34, n. 6, p. 2015-2024, 2014. Article.

MARTISOVA, E.; SOLAS, M.; HORRILLO, I.; ORTEGA, J. E. *et al.* Long lasting effects of early-life stress on glutamatergic/GABAergic circuitry in the rat hippocampus. **Neuropharmacology**, 62, n. 5-6, p. 1944-1953, Apr 2012.

MINEUR, Y. S.; EIBL, C.; YOUNG, G.; KOICHEVAR, C. *et al.* Cytisine-based nicotinic partial agonists as novel antidepressant compounds. **J Pharmacol Exp Ther**, 329, n. 1, p. 377-386, Apr 2009.

MISHRA, S.; JENA, M.; PAL, A. Evaluation of antidepressant activity of Eclipta alba using animal models. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, 6, n. SUPPL.3, p. 118-120, 2013. Article.

MOLINA-HERNANDEZ, M.; TELLEZ-ALCANTARA, N. P.; OLIVERA-LOPEZ, J. I.; JARAMILLO, M. T. The folic acid combined with 17-beta estradiol produces antidepressant-like actions in ovariectomized rats forced to swim. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 35, n. 1, p. 60-66, Jan 15 2011.

MOMBEREAU, C.; KAUPMANN, K.; FROESTL, W.; SANSIG, G. *et al.* Genetic and pharmacological evidence of a role for GABA(B) receptors in the modulation of anxiety- and antidepressant-like behavior. **Neuropsychopharmacology**, 29, n. 6, p. 1050-1062, Jun 2004.

MORLEY-FLETCHER, S.; DARNAUDERY, M.; MOCAER, E.; FROGER, N. *et al.* Chronic treatment with imipramine reverses immobility behaviour, hippocampal corticosteroid receptors and cortical 5-HT(1A) receptor mRNA in prenatally stressed rats. **Neuropharmacology**, 47, n. 6, p. 841-847, Nov 2004.

MOZDZEN, E.; WASIK, A.; ROMANSKA, I.; MICHALUK, J. *et al.* Antidepressant-like effect of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline and its methyl derivative in animal models of depression. **Pharmacol Rep**, 69, n. 3, p. 566-574, Jun 2017.

MUSAZZI, L.; MALLEI, A.; TARDITO, D.; GRUBER, S. H. M. *et al.* Early-life stress and antidepressant treatment involve synaptic signaling and Erk kinases in a gene-environment model of depression. **Journal of Psychiatric Research**, 44, n. 8, p. 511-520, 2010. Article.

NAGASAWA, M.; OTSUKA, T.; YASUO, S.; FURUSE, M. Chronic imipramine treatment differentially alters the brain and plasma amino acid metabolism in Wistar and Wistar Kyoto rats. **Eur J Pharmacol**, 762, p. 127-135, Sep 05 2015.

NAKAGAWA, Y.; ISHIMA, T.; TAKASHIMA, T. The 5-HT₃ receptor agonist attenuates the action of antidepressants in the forced swim test in rats. **Brain Res**, 786, n. 1-2, p. 189-193, Mar 09 1998.

NGOUPAYE, G. T.; BUM, E. N.; TAIWE, G. S.; MOTO, F. C. *et al.* Antidepressant properties of aqueous macerate from *Gladiolus dalenii* corms. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, 11, n. 1, p. 53-61, 2014.

NGOUPAYE, G. T.; NGO BUM, E.; DANIELS, W. M. U. Antidepressant-like effects of the aqueous macerate of the bulb of *Gladiolus dalenii* Van Geel (Iridaceae) in a rat model of epilepsy-associated depression. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 13, 2013. Article.

NISHIOKA, Y.; OYAGI, A.; TSURUMA, K.; SHIMAZAWA, M. *et al.* The antianxiety-like effect of astaxanthin extracted from *Paracoccus carotinifaciens*. **Biofactors**, 37, n. 1, p. 25-30, Jan-Feb 2011.

NOLDNER, M.; SCHOTZ, K. Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. **Planta Med**, 68, n. 7, p. 577-580, Jul 2002.

O'NEILL, M. F.; OSBORNE, D. J.; WOODHOUSE, S. M.; CONWAY, M. W. Selective imidazoline I₂ ligands do not show antidepressant-like activity in the forced swim test in mice. **J Psychopharmacol**, 15, n. 1, p. 18-22, Mar 2001.

OVERSTREET, D. H.; KEENEY, A.; HOGG, S. Antidepressant effects of citalopram and CRF receptor antagonist CP-154,526 in a rat model of depression. **European Journal of Pharmacology**, 492, n. 2-3, p. 195-201, 2004. Article.

PAI, N. R.; DUBHASHI, D. S.; PUSALKAR, D. Substituted 3, 4-dihydro-1H-quinolin-2-one derivatives as potential antidepressant, sedative and anti-Parkinson agents. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, 5, n. 2, p. 124-131, 2010. Article.

PAMULAPARTHI, A.; PRATHAP, V. R.; BANALA, M.; NANNA, R. S. Experimental evaluation of antidepressant and antianxiety activities of aqueous leaf extracts of *Senna alata* (L.) Roxb. using in vitro animal models. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**, 8, n. 4, p. 60-63, 2016. Article.

PAWAR, G. R.; AGRAWAL, R. P.; PHADNIS, P.; PALIWAL, A. *et al.* Evaluation of antidepressant like property of amisulpride per se and its comparison with fluoxetine and olanzapine using forced swimming test in albino mice. **Acta Pol Pharm**, 66, n. 3, p. 327-331, May-Jun 2009.

PESARICO, A. P.; SARTORI, G.; BRUNING, C. A.; MANTOVANI, A. C. *et al.* A novel isoquinoline compound abolishes chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behavior in mice. **Behav Brain Res**, 307, p. 73-83, Jul 01 2016.

PING, F.; SHANG, J.; ZHOU, J.; ZHANG, H. *et al.* 5-HT(1A) receptor and apoptosis contribute to interferon-alpha-induced "depressive-like" behavior in mice. **Neurosci Lett**, 514, n. 2, p. 173-178, Apr 18 2012.

PINHO-RIBEIRO, F. A.; BORGHI, S. M.; STAURENGO-FERRARI, L.; FILGUEIRAS, G. B. *et al.* Bosentan, a mixed endothelin receptor antagonist, induces antidepressant-like activity in mice. **Neurosci Lett**, 560, p. 57-61, Feb 07 2014.

PINTO, S. A.; BOHLAND, E.; COELHO CDE, P.; MORGULIS, M. S. *et al.* An animal model for the study of Chamomilla in stress and depression: pilot study. **Homeopathy**, 97, n. 3, p. 141-144, Jul 2008.

PIOTROWSKA, A.; MLYNIEC, K.; SIWEK, A.; DYBALA, M. *et al.* Antidepressant-like effect of chromium chloride in the mouse forced swim test: involvement of glutamatergic and serotonergic receptors. **Pharmacol Rep**, 60, n. 6, p. 991-995, Nov-Dec 2008.

PRZEGALINSKI, E.; TATARCZYNSKA, E.; KLODZINSKA, A.; CHOJNACKA-WOJCIK, E. Tolerance to anxiolytic- and antidepressant-like effects of a partial agonist of glycineB receptors. **Pharmacol Biochem Behav**, 64, n. 3, p. 461-466, Nov 1999.

PYTKA, K.; GAWLIK, K.; PAWLICA-GOSIEWSKA, D.; WITALIS, J. *et al.* HBK-14 and HBK-15 with antidepressant-like and/or memory-enhancing properties increase serotonin levels in the hippocampus after chronic treatment in mice. **Metab Brain Dis**, 32, n. 2, p. 547-556, Apr 2017.

PYTKA, K.; WALCZAK, M.; KIJ, A.; RAPACZ, A. *et al.* The antidepressant-like activity of 6-methoxy-2-[4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl]-9H-xanthen-9-one involves serotonergic 5-HT(1A) and 5-HT(2A/C) receptors activation. **Eur J Pharmacol**, 764, p. 537-546, Oct 05 2015.

PYTKA, K.; ZMUDZKA, E.; LUSTYK, K.; RAPACZ, A. *et al.* The antidepressant- and anxiolytic-like activities of new xanthone derivative with piperazine moiety in behavioral tests in mice. **Indian J Pharmacol**, 48, n. 3, p. 286-291, May-Jun 2016.

QIU, Z. K.; ZHANG, G. H.; ZHONG, D. S.; HE, J. L. *et al.* Puerarin ameliorated the behavioral deficits induced by chronic stress in rats. **Sci Rep**, 7, n. 1, p. 6266, Jul 24 2017.

RAHMAN, M. S.; JAHAN, N.; RAHMAN, S. M. A.; RASHID, M. A. Analgesic and antidepressant activities of Brassica rapa subspecies chinensis (L.) Hanelt on Swiss-albino mice model. **Bangladesh Medical Research Council Bulletin**, 41, n. 3, p. 114-120, 2015. Article.

RANA, D. G.; GALANI, V. J. Dopamine mediated antidepressant effect of Mucuna pruriens seeds in various experimental models of depression. **Ayu**, 35, n. 1, p. 90-97, Jan 2014.

RANE, R. A.; NAPAHD, S.; BANGALORE, P. K.; SAHU, N. U. *et al.* Synthesis and evaluation of novel marine bromopyrrole alkaloid-based derivatives as potential antidepressant agents. **Chem Biol Drug Des**, 84, n. 5, p. 593-602, Nov 2014.

REIS EDE, M.; SCHREINER NETO, F. W.; CATTANI, V. B.; PEROZA, L. R. *et al.* Antidepressant-like effect of *Ilex paraguariensis* in rats. **Biomed Res Int**, 2014, p. 958209, 2014.

RENY-PALASSE, V.; CONSTANS, M.; RIPS, R. Potentiation by TRH of the effect of antidepressants in the forced-swimming test, involvement of dopaminergic and opioid systems. **Br J Pharmacol**, 97, n. 1, p. 197-205, May 1989.

REUS, G. Z.; MATIAS, B. I.; MACIEL, A. L.; ABELAIRA, H. M. *et al.* Mechanism of synergistic action on behavior, oxidative stress and inflammation following co-treatment with ketamine and different antidepressant classes. **Pharmacol Rep**, May 06 2017.

ROCHA, B. A.; FLEISCHER, R.; SCHAEFFER, J. M.; ROHRER, S. P. *et al.* 17 Beta-estradiol-induced antidepressant-like effect in the forced swim test is absent in estrogen receptor-beta knockout (BERKO) mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 179, n. 3, p. 637-643, May 2005.

ROY, S. K.; MAZUMDER, U. K.; ISLAM, A. Pharmacological evaluation of *Enhydra fluctuans* aerial parts for central nervous system depressant activity. **Pharmacologyonline**, 1, p. 632-643, 2011. Article.

SAH, S. P.; MATHELA, C. S.; CHOPRA, K. Antidepressant effect of *Valeriana wallichii* patchouli alcohol chemotype in mice: Behavioural and biochemical evidence. **J Ethnopharmacol**, 135, n. 1, p. 197-200, Apr 26 2011.

SAKAKIBARA, H.; ISHIDA, K.; GRUNDMANN, O.; NAKAJIMA, J. *et al.* Antidepressant effect of extracts from *Ginkgo biloba* leaves in behavioral models. **Biol Pharm Bull**, 29, n. 8, p. 1767-1770, Aug 2006.

SALARI, A. A.; FATEHI-GHAREHLAR, L.; MOTAYAGHENI, N.; HOMBERG, J. R. Fluoxetine normalizes the effects of prenatal maternal stress on depression- and anxiety-like behaviors in mouse dams and male offspring. **Behav Brain Res**, 311, p. 354-367, Sep 15 2016.

SALEH, L. A.; HAMZA, M.; EL GAYAR, N. H.; ABD EL-SAMAD, A. A. *et al.* Ibuprofen suppresses depressive like behavior induced by BCG inoculation in mice: role of nitric oxide and prostaglandin. **Pharmacol Biochem Behav**, 125, p. 29-39, Oct 2014.

SANMUKHANI, J.; ANOVADIYA, A.; TRIPATHI, C. B. Evaluation of antidepressant like activity of curcumin and its combination with fluoxetine and imipramine: an acute and chronic study. **Acta Pol Pharm**, 68, n. 5, p. 769-775, Sep-Oct 2011.

SASHIDHARA, K. V.; KUMAR, A.; CHATTERJEE, M.; RAO, K. B. *et al.* Discovery and synthesis of novel 3-phenylcoumarin derivatives as antidepressant agents. **Bioorg Med Chem Lett**, 21, n. 7, p. 1937-1941, Apr 01 2011.

SHALAM, M.; SHANTAKUMAR, S.; NARASU, M. Pharmacological and biochemical evidence for the antidepressant effect of the herbal preparation Trans-01. **Indian Journal of Pharmacology**, 39, n. 5, p. 231-234, 2007. Article.

SHAW, A. M.; BOULES, M.; ZHANG, Y.; WILLIAMS, K. *et al.* Antidepressant-like effects of novel triple reuptake inhibitors, PRC025 and PRC050. **Eur J Pharmacol**, 555, n. 1, p. 30-36, Jan 19 2007.

SHIEH, C. H.; HONG, C. J.; HUANG, Y. H.; TSAI, S. J. Potential antidepressant properties of cysteamine on hippocampal BDNF levels and behavioral despair in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 32, n. 6, p. 1590-1594, Aug 01 2008.

SHIMAZU, S.; MINAMI, A.; KUSUMOTO, H.; YONEDA, F. Antidepressant-like effects of selegiline in the forced swim test. **Eur Neuropsychopharmacol**, 15, n. 5, p. 563-571, Oct 2005.

SHUTO, K.; SAITO, T.; BEPPU, Y.; ISHIDA, Y. Effects of OM-853, a novel indolonaphthyridine derivative, on behavioral responses in the forced swim test in rats. **Jpn J Pharmacol**, 62, n. 1, p. 99-102, May 1993.

SINGH, D.; RASHID, M.; HALLAN, S. S.; MEHRA, N. K. *et al.* Pharmacological evaluation of nasal delivery of selegiline hydrochloride-loaded thiolated chitosan nanoparticles for the treatment of depression. **Artif Cells Nanomed Biotechnol**, 44, n. 3, p. 865-877, May 2016.

SIRISHA, G.; USHA, N. S.; SANTHAMMA, B. Study of antidepressant activity of chronic administration of tramadol and when it is co-administered with fluoxetine in low doses in Swiss albino mice using despair swim test. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 6, n. 5, p. 2185-2190, 2015. Article.

SU, J.; HATO-YAMADA, N.; ARAKI, H.; YOSHIMURA, H. Test-retest paradigm of the forced swimming test in female mice is not valid for predicting antidepressant-like activity: participation of acetylcholine and sigma-1 receptors. **J Pharmacol Sci**, 123, n. 3, p. 246-255, 2013.

SUGIMOTO, Y.; FURUTANI, S.; NISHIMURA, K.; ITOH, A. *et al.* Antidepressant-like effects of neferine in the forced swimming test involve the serotonin_{1A} (5-HT_{1A}) receptor in mice. **Eur J Pharmacol**, 634, n. 1-3, p. 62-67, May 25 2010.

SUGIMOTO, Y.; YAMAMOTO, M.; TAGAWA, N.; KOBAYASHI, Y. *et al.* Differences between mice strains in response to paroxetine in the forced swimming test: involvement of serotonergic or noradrenergic systems. **Eur J Pharmacol**, 672, n. 1-3, p. 121-125, Dec 15 2011.

SUN, X. Y.; HE, X. J.; PAN, C. Y.; LIU, Y. P. *et al.* Synthesis and study of the antidepressant activity of novel 4,5-dihydro-7-Alkoxy(phenoxy)-tetrazolo[1,5-A]quinoline derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, 21, n. 11, p. 3692-3698, 2012. Article.

SUTAR, R. C.; KASTURE, S. B.; KALAICHELVAN, V. K. Evaluation of antidepressant activity of leaf extracts of *holoptelea integrifolia* (Roxb) plant in experimental animals. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 6, n. 6, p. 250-253, 2014. Article.

TAIWE, G. S.; TCHOYA, T. B.; MENANGA, J. R.; DABOLE, B. *et al.* Anticonvulsant activity of an active fraction extracted from *Crinum jagus* L. (Amaryllidaceae), and its possible effects on fully kindled seizures, depression-like behaviour and oxidative stress in experimental rodent models. **Journal of Ethnopharmacology**, 194, p. 421-433, 2016. Article.

TAKAMORI, K.; YOSHIDA, S.; OKUYAMA, S. Availability of learned helplessness test as a model of depression compared to a forced swimming test in rats. **Pharmacology**, 63, n. 3, p. 147-153, 2001.

TAKECHI, K.; SUEMARU, K.; KAWASAKI, H.; ARAKI, H. Regulatory role of the dopamine and norepinephrine transporters in pentylenetetrazol-kindled mice: association with effect of antidepressants. **Eur J Pharmacol**, 673, n. 1-3, p. 33-39, Dec 30 2011.

TATARCZYNSKA, E.; KLODZINSKA, A.; CHOJNACKA-WOJCIK, E. Effects of combined administration of 5-HT_{1A} and/or 5-HT_{1B} receptor antagonists and paroxetine or fluoxetine in the forced swimming test in rats. **Pol J Pharmacol**, 54, n. 6, p. 615-623, Nov-Dec 2002.

TONG, G. F.; QIN, N.; SUN, L. W. Development and evaluation of Desvenlafaxine loaded PLGA-chitosan nanoparticles for brain delivery. **Saudi Pharm J**, 25, n. 6, p. 844-851, Sep 2017.

VALECHA, R.; DHINGRA, D. Behavioral and Biochemical Evidences for Antidepressant-Like Activity of *Celastrus Paniculatus* Seed Oil in Mice. **Basic Clin Neurosci**, 7, n. 1, p. 49-56, Jan 2016.

VAZHAYIL, B. K.; RAJAGOPAL, S. S.; THANGAVELU, T.; SWAMINATHAN, G. *et al.* Neuroprotective effect of *Clerodendrum serratum* Linn. leaves extract against acute restraint stress-induced depressive-like behavioral symptoms in adult mice. **Indian J Pharmacol**, 49, n. 1, p. 34-41, Jan-Feb 2017.

VAZQUEZ-PALACIOS, G.; BONILLA-JAIME, H.; VELAZQUEZ-MOCTEZUMA, J. Antidepressant-like effects of the acute and chronic administration of nicotine in the rat forced swimming test and its interaction with fluoxetine [correction of flouxetine]. **Pharmacol Biochem Behav**, 78, n. 1, p. 165-169, May 2004.

VAZQUEZ-PALACIOS, G.; BONILLA-JAIME, H.; VELAZQUEZ-MOCTEZUMA, J. Antidepressant effects of nicotine and fluoxetine in an animal model of depression induced by neonatal treatment with clomipramine. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 29, n. 1, p. 39-46, Jan 2005.

VENEROSI, A.; RICCERI, L.; RUNGI, A.; SANGHEZ, V. *et al.* Gestational exposure to the organophosphate chlorpyrifos alters social-emotional behaviour and impairs responsiveness to the serotonin transporter inhibitor fluvoxamine in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 208, n. 1, p. 99-107, Jan 2010.

VERGONI, A. V.; FORGIONE, A.; BERTOLINI, A. Chronic administration of l-sulpiride at non-neuroleptic doses reduces the duration of immobility in experimental models of "depression-like" behavior. **Psychopharmacology (Berl)**, 121, n. 2, p. 279-281, Sep 1995.

VERGURA, R.; BALBONI, G.; SPAGNOLO, B.; GAVIOLI, E. *et al.* Anxiolytic- and antidepressant-like activities of H-Dmt-Tic-NH-CH(CH₂-COOH)-Bid (UFP-512), a novel selective delta opioid receptor agonist. **Peptides**, 29, n. 1, p. 93-103, Jan 2008.

VIJAYAPANDI, P.; HARISANKAR, S.; NANCY, J. Depression-like effect of telmisartan in mice forced swim test: Involvement of brain monoaminergic system. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, 7, n. 2, p. 87-95, 2012. Article.

VIOLLE, N.; ROZAN, P.; DEMAIS, H.; NYVALL COLLEN, P. *et al.* Evaluation of the antidepressant- and anxiolytic-like effects of a hydrophilic extract from the green seaweed *Ulva* sp. in rats. **Nutr Neurosci**, p. 1-9, Jan 19 2017.

VOLLE, J. N.; FILIPPINI, D.; KRAWCZY, B.; KALOYANOV, N. *et al.* Drug discovery: phosphinolactone, in vivo bioisostere of the lactol group. **Org Biomol Chem**, 8, n. 6, p. 1438-1444, Mar 21 2010.

WANG, J.; QIAO, J.; ZHANG, Y.; WANG, H. *et al.* Desvenlafaxine prevents white matter injury and improves the decreased phosphorylation of the rate-limiting enzyme of cholesterol synthesis in a chronic mouse model of depression. **J Neurochem**, 131, n. 2, p. 229-238, Oct 2014.

WATANABE, S.; SUEMARU, K.; INOUE, N.; IMAI, K. *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of drug interaction following oral administration of imipramine and sodium alginate in rats. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, 378, n. 1, p. 85-91, Jul 2008.

WATTANATHORN, J.; CHONPATHOMPIKUNLERT, P.; MUCHIMAPURA, S.; PRIPREM, A. *et al.* Piperine, the potential functional food for mood and cognitive disorders. **Food and Chemical Toxicology**, 46, n. 9, p. 3106-3110, 2008. Article.

WESOLOWSKA, A.; NIKIFORUK, A.; STACHOWICZ, K. Potential anxiolytic and antidepressant effects of the selective 5-HT₇ receptor antagonist SB 269970 after intrahippocampal administration to rats. **Eur J Pharmacol**, 553, n. 1-3, p. 185-190, Dec 28 2006.

WROBEL, A.; RECHBERGER, E.; RECHBERGER, T. The influence of duloxetine on detrusor overactivity in rats with depression induced by 13-cis-retinoic acid. **Int Urogynecol J**, Jul 31 2017.

YAN, T.; WU, B.; LIAO, Z. Z.; LIU, B. *et al.* Brain-derived Neurotrophic Factor Signaling Mediates the Antidepressant-like Effect of the Total Flavonoids of *Alpiniae Oxyphyllae Fructus* in Chronic Unpredictable Mild Stress Mice. **Phytother Res**, 30, n. 9, p. 1493-1502, Sep 2016.

YI, L. T.; LI, J. M.; LI, Y. C.; PAN, Y. *et al.* Antidepressant-like behavioral and neurochemical effects of the citrus-associated chemical apigenin. **Life Sci**, 82, n. 13-14, p. 741-751, Mar 26 2008.

YI, L. T.; LI, J.; LIU, B. B.; LI, C. F. Screening of the antidepressant-like effect of the traditional Chinese medicinal formula Si-Ni-San and their possible mechanism of action in mice. **Pharmacognosy Res**, 5, n. 1, p. 36-42, Jan 2013.

YU, L. F.; BREK EATON, J.; ZHANG, H. K.; SABATH, E. *et al.* The potent and selective $\alpha_4\beta_2/\alpha_6$ -nicotinic acetylcholine receptor partial agonist 2-[5-[5-((S)Azetidin-2-ylmethoxy)-3-pyridinyl]-3-isoxazolyl]ethanol demonstrates antidepressive-like behavior in animal models and a favorable ADME-tox profile. **Pharmacol Res Perspect**, 2, n. 2, p. e00026, Apr 2014.

ZAJDEL, P.; SUBRA, G.; BOJARSKI, A. J.; DUSZYNSKA, B. *et al.* Novel class of arylpiperazines containing N-acylated amino acids: their synthesis, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} receptor affinity, and in vivo pharmacological evaluation. **Bioorg Med Chem**, 15, n. 8, p. 2907-2919, Apr 15 2007.

ZANOLI, P.; RIVASI, M.; BARALDI, C.; BARALDI, M. Pharmacological activity of hyperforin acetate in rats. **Behav Pharmacol**, 13, n. 8, p. 645-651, Dec 2002.

ZANOS, P.; PIANTADOSI, S. C.; WU, H. Q.; PRIBUT, H. J. *et al.* The Prodrug 4-Chlorokynurenine Causes Ketamine-Like Antidepressant Effects, but Not Side Effects, by NMDA/GlycineB-Site Inhibition. **J Pharmacol Exp Ther**, 355, n. 1, p. 76-85, Oct 2015.

ZHANG, L. M.; WANG, H. L.; ZHAO, N.; CHEN, H. X. *et al.* Involvement of nitric oxide (NO) signaling pathway in the antidepressant action of the total flavonoids extracted from Xiaobuxin-Tang. **Neurosci Lett**, 575, p. 31-36, Jul 11 2014.

ZHE, Q.; SULEI, W.; WEIWEI, T.; HONGYAN, L. *et al.* Effects of Jiaotaiwan on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Metab Brain Dis**, 32, n. 2, p. 415-426, Apr 2017.

ZHU, W. L.; SHI, H. S.; WEI, Y. M.; WANG, S. J. *et al.* Green tea polyphenols produce antidepressant-like effects in adult mice. **Pharmacol Res**, 65, n. 1, p. 74-80, Jan 2012.

ZOMKOWSKI, A. D.; ENGEL, D.; GABILAN, N. H.; RODRIGUES, A. L. Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in the antidepressant-like effects of escitalopram in the forced swimming test. **Eur Neuropsychopharmacol**, 20, n. 11, p. 793-801, Nov 2010.

ZOMKOWSKI, A. D.; HAMMES, L.; LIN, J.; CALIXTO, J. B. *et al.* Agmatine produces antidepressant-like effects in two models of depression in mice. **Neuroreport**, 13, n. 4, p. 387-391, Mar 25 2002.