

Universidade Católica de Pelotas

Marta de Oliveira Gazal

**Avaliação dos Níveis Séricos de BDNF em Mulheres na
Depressão Pós-parto**

Pelotas, RS

2009

Marta de Oliveira Gazal

**Avaliação dos Níveis séricos de BDNF em mulheres na
Depressão Pós-parto**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento da Universidade Católica de Pelotas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde e Comportamento.

Orientador: Prof.Dr.Jean Pierre Oses

Pelotas, RS

2009

**Avaliação dos Níveis séricos de BDNF em mulheres na
Depressão Pós-parto**

BANCA EXAMINADORA

Presidente e Orientador Prof. Dr. Jean Pierre Oses

1º Examinador Prof. Dr. Ricardo Azevedo Silva

2º Examinador Prof. Dr. Giordano Viola

Pelotas, 11 de dezembro de 2009.

Agradecimentos,

Ao professor Jean Oses pela disposição de ensinar, apoiar e estimular, pelo exemplo de competência e humanidade; pela confiança e principalmente pela amizade que tenho certeza que está apenas começando.

Em especial aos meus pais por terem apoiado todas as minhas decisões.

Aos meus colegas de pesquisa e mestrado. Agradeço a Karen e a Luciana pelo apoio, amizade e pela constante vontade ajudar.

A todos os bolsistas que participaram ativamente de todos os passos do estudo, especialmente Luís, Pedro, Carol, Larissa, Priscila, Lian, Juliano e o nosso condutor seu Mauro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento da UCPel.

Ao Professores Luís Portela e Diogo Souza do Departamento de Bioquímica da UFRGS por toda ajuda e colaboração neste trabalho.

PROJETO DE PESQUISA

**Avaliação dos Níveis séricos de BDNF em mulheres na
Depressão Pós-parto**

Projeto de pesquisa elaborado para o
Mestrado em Saúde e Comportamento da
UCPEL, sob a orientação do Prof. Dr.
Jean Pierre Oses.

Universidade Católica de Pelotas
Pelotas, Setembro de 2008

Sumário:

I. Identificação	8
1.1 Título.....	8
1.2 Mestranda.....	8
1.3 Orientador.....	8
1.4 Instituição.....	8
1.5 Linha de pesquisa.....	8
1.6 Data.....	8
II. Delimitação do Problema	9
2.1 Introdução.....	9
2.2 Objetivos.....	11
2.3 Hipóteses.....	11
III. Revisão de Literatura	12
3.1 Estratégias de busca.....	12
VI. Revisão de literatura	14
V. Métodos	19
5.1 Delineamento.....	19
5.2 Amostra.....	19
5.2.1 Cálculo da amostra.....	19
5.3 Instrumentos.....	22
5.4 Definições das variáveis.....	22
5.5 Pessoal envolvido.....	22
5.6 Estudo-piloto.....	23
5.7 Logística.....	23
5.8 Controles de Qualidade.....	26
5.9 Processamento e análise dos dados.....	26
5.10 Divulgações dos Resultados.....	27
5.11 Considerações éticas.....	28
5.12 Cronograma.....	29
5.13 Orçamento.....	30
VI. Referências	31

VII. Anexos.....	34
ANEXO A – Inventário de depressão de Beck (BDI).....	34
ANEXO B – Consentimento Livre e Esclarecido.....	37
ANEXO C – Encaminhamentos.....	38
ANEXO D – Questionário Coleta de Sangue	39
ANEXO E – Consentimento Coleta de Sangue.....	42

I. IDENTIFICAÇÃO

1.1. Título: Avaliação dos Níveis séricos de BDNF EM mulheres na Depressão Pós-parto.

1.2. Mestranda: Marta de Oliveira Gazal

1.3. Orientador: Prof. Dr. Jean Pierre Oses

1.4. Instituição: Mestrado em Saúde e Comportamento - Universidade Católica de Pelotas (UCPel).

1.5. Linha de Pesquisa: Doenças Neuropsiquiátricas e Marcadores Cerebrais.

1.6. Data: Setembro de 2008.

II. DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA

2.1 Introdução:

O BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) é um fator neurotrófico que parece estar envolvido na fisiopatologia de muitos transtornos psiquiátricos, incluindo depressão ¹.

O pós-parto é um período de risco psiquiátrico aumentado no ciclo de vida da mulher. A depressão pós-parto pode se manifestar com intensidade variável, tornando-se um fator que dificulta o estabelecimento de um vínculo afetivo seguro entre mãe e filho, podendo interferir nas futuras relações interpessoais estabelecidas pela criança.

Fatores neurotróficos, ou neurotrofinas são famílias de proteínas, nas quais são capazes de promover o desenvolvimento, modulação e sobrevivência dos neurônios no sistema nervoso central (SNC) e periférico. Estes fatores são secretados pelos tecidos e vão atuar de diversas maneiras tais como na modulação sináptica, na apoptose, na diferenciação celular, dentre outras. O BDNF é crítico no desenvolvimento e modulação do SNC ². As diversas funções das neurotrofinas são mediadas via duas classes de receptores: o Trk (cinase do receptor tropomiosina), da família dos RTKs (receptor da tirosina cinase), e o p75NTR (receptor da neurotrofina p75). Os subtipos dos receptores Trk ligam-se a neurotrofinas maduras com diferentes especificidades. O TrkB preferencialmente liga-se ao BDNF e ao NT4 (neurotrofina-4). O p75NTR liga-se a todas neurotrofinas maduras com baixa afinidade. O p75NTR também pode interagir com outros receptores, incluindo os receptores Trks ³.

Para a mulher, o ciclo gravídico-puerperal é considerado período de risco para o psiquismo devido à intensidade da experiência vivida ⁴. A prevalência deste transtorno pode variar de acordo com os critérios utilizados para o diagnóstico, como o período de início dos sintomas e o método utilizado para a avaliação. Uma meta-análise estimou uma prevalência de

13% de depressão pós-parto (DPP) em mulheres ⁵. Recentemente, Moraes et al. (2006) e Pinheiro et al. (2006) encontraram prevalência de DPP de 19,1% em mulheres na cidade de Pelotas/RS ^{6,7}.

A partir da primeira semana após o parto 80% das mulheres apresentam um estado de tristeza materna (*baby blues*), podendo vir a ser confundido com a depressão. O quadro é benigno e regride por si só por volta do primeiro mês. Os sintomas mais freqüentes são: irritabilidade, mudanças bruscas de humor, indisposição, tristeza, insegurança, baixa auto-estima, sensação de incapacidade de cuidar do bebê, entre outros ⁸.

Recentemente, o envolvimento do BDNF, tem sido foco de interesse na pesquisa relacionada com a regulação dos transtornos de humor e depressão. Interessantemente, diversos estudos caso-controle têm encontrado níveis séricos de BDNF diminuídos em pacientes deprimidos. Nos casos em que a depressão é induzida por alterações nos níveis de BDNF, os sintomas desaparecem após o final do tratamento ou com o uso de antidepressivos ^{1,9,10}.

A descoberta de novos marcadores pode não só auxiliar no diagnóstico, monitoramento, como também na escolha do tratamento a ser seguido, bem como no desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da depressão. Existem fortes evidências do envolvimento do BDNF na fisiopatologia da depressão, como esses achados envolveram exclusivamente amostras clínicas oriundas de sistema terciário, o fato de utilizarmos uma amostra comunitária aumenta a representatividade dos achados, e é relevante ao entendimento da neurobiologia e conseqüentemente abre caminho à pesquisa de novas abordagens no tratamento da DPP. Sendo assim o presente estudo pretende utilizar medidas mais sofisticadas para o diagnóstico e intervenção no tratamento da DPP, relacionando essa patologia com a concentração sérica de BDNF.

2.2 Objetivos:

Geral:

- Avaliar a concentração sérica de BDNF entre mulheres que desenvolveram depressão e que não desenvolveram no período pós-parto.

Específicos:

- Comparar os níveis séricos de BDNF encontrados entre mães que desenvolveram a DPP e as que não desenvolveram;
- Buscar uma correlação dos níveis séricos de BDNF com o grau de depressão, buscando utilizar este marcador biológico como uma possível ferramenta desta desordem.

2.3 Hipóteses:

- Níveis menores de BDNF podem estar correlacionados com a DPP; se esta hipótese se confirmar o BDNF poderá ser utilizado como um possível marcador biológico para diagnóstico e acompanhamento do paciente com DPP.
- Níveis de BDNF nas mães que apresentaram sintomas depressivos no período pré-parto e continuaram no pós-parto é menor do que nas mães que apresentam somente estes sintomas no período pós-parto.

III. Estratégias de busca:DESCRITORES:

BDNF

Postpartum Depression

Mother Depression

Depression

PUBMED:

Descritor: BDNF and Postpartum Depression

Total artigos: 5

Selecionados: 5

Descritor: BDNF and Mother Depression

Total artigos: 6

Selecionados: 5

Descritor: BDNF and Depression

Total artigos: 517

Selecionados: 25

SCIELO:

Descritor: BDNF and Postpartum Depression

Total artigos: 0

Descritor: BDNF and Mother Depression

Total artigos: 0

Descritor: Depressão Materna

Total artigos: 20

Selecionados: 3

GOOGLE ACADÊMICO:

Descritor: BDNF and Postpartum Depression entre 2003-2008

Total artigos: 350

Selecionados: 6

Descritor: BDNF and Mother Depression entre 2005-2008

Total artigos: 827

Selecionados: 11

Para enriquecer a busca, foram analisadas as referências dos artigos selecionados.

VI. REVISÃO DE LITERATURA

Atualmente, sabe-se que existem fatores psicológicos, genéticos e ambientais que podem favorecer o surgimento da DPP. Algumas mulheres possuem uma sensibilidade particular a alterações hormonais, começando no início da menarca (primeira menstruação), o que aumenta sua vulnerabilidade aos estressores psicológicos, ambientais e fisiológicos durante a vida ⁸. Em mulheres suscetíveis, esses estressores desencadeiam a alteração de um estado já vulnerável para a manifestação de um transtorno do humor especificamente feminino em momentos de altas flutuações hormonais, tais como na gestação ¹¹.

O BDNF é o mediador chave da plasticidade neuronal, que regula a composição sináptica, liberação e excitabilidade neurotransmissora no sistema nervoso em adultos ¹². A plasticidade neural refere-se à capacidade que o SNC possui em modificar algumas das suas propriedades morfológicas e funcionais em resposta as alterações de vários fatores, tais como: influência do meio ambiente, o estado emocional, o nível cognitivo, entre outros, que interferem direta ou indiretamente na plasticidade do SNC e, conseqüentemente, na reabilitação do paciente neurológico ¹³.

O estresse e a depressão têm sido amplamente documentados por produzirem reduções na expressão das neurotrofinas em modelos animais e em estudos clínicos ¹⁶⁻²¹. As conseqüências de uma *downregularion* do suporte neurotrófico estão relacionadas com a atrofia, degeneração e perda da liberação de neurotransmissores excitatórios ^{22,23}. A diminuição do suporte neurotrófico em determinadas regiões cerebrais positivas durante o estresse e a depressão também são consistentes com os achados, com os sistemas dopaminérgicos, noradrenérgicos e serotoninérgicos, sendo estes sistemas intimamente relacionados à depressão ²⁴.

Diversos estudos têm demonstrado diminuição dos níveis séricos de BDNF em pacientes com depressão, e um significativo aumento dos níveis séricos de BDNF após o tratamento com antidepressivos ^{14,15}.

Um estudo caso-controle realizado na Turquia, com vinte mulheres deprimidas e vinte mulheres não deprimidas, com idade entre 17 e 45 anos, demonstrou níveis séricos de BDNF menores em pacientes com depressão em relação ao grupo controle. Além disso, observou-se um aumento dos níveis de BDNF após o tratamento com o antidepressivo citalopram. O diagnóstico da depressão foi realizado através da escala de Hamilton e do DSM IV (SCID). Embora o estudo apresente uma pequena amostra e escassez de estudos comparativos, os resultados sugerem que o BDNF pode estar relacionado com a depressão ⁹.

Um estudo Italiano com quarenta e três pacientes sem medicação (27 do sexo feminino, 16 do sexo masculino) com diagnóstico de depressão maior e 35 pacientes saudáveis (18 do sexo feminino, 17 do sexo masculino). Os níveis de BDNF no soro e no plasma foram significativamente diminuídos nos pacientes deprimidos em comparação com o grupo controle. Uma vez que as fontes extracerebrais BDNF podem ser liberadas por constituintes do sangue, este estudo também mostra que o aumento na liberação do BDNF não é devido a uma mudança no BDNF sanguíneo, e sim provavelmente a mudanças observadas nos mecanismo de liberação de BDNF de outras fontes, provavelmente cerebrais ¹⁵.

Na Universidade de Rostock na Alemanha, um estudo caso-controle envolvendo 40 mulheres não grávidas e 40 mulheres grávidas no período perinatal. Um dos critérios de exclusão deste estudo foi o histórico de doenças depressivas, uma vez que é observado uma diminuição dos níveis dessa neurotrofina em pacientes deprimidos. Este estudo demonstrou que os níveis de BDNF foram acentuadamente menores antes e após o parto, podendo refletir riscos para o desenvolvimento de desordens do humor ¹⁰.

Na Universidade de Medicina de Chang Gung foram investigadas as relações entre as concentrações séricas de BDNF em indivíduos depressivos e os efeitos de antidepressivos sobre os níveis séricos dessa neurotrofina. Fizeram parte do estudo um total de 218 participantes, incluindo 111 pacientes com depressão maior (91 mulheres) e 107 controles saudáveis (65 mulheres). Os níveis séricos de BDNF foram medidos utilizando a técnica de ELISA, e os diagnósticos psiquiátricos foram feitos de acordo com critérios do DSM-IV e escala Hamilton. Os níveis de BDNF foram significativamente menores nas mulheres deprimidas, quando comparado ao grupo controle. Entretanto, esta diminuição não foi observada em homens deprimidos. Adicionalmente, as alterações dos níveis séricos foram significativamente maiores em 79 deprimidos que tomaram antidepressivos durante um período de quatro semanas, especialmente em 61 mulheres. Estes resultados sugerem que a concentração sérica de BDNF desempenha um papel importante na mulher depressiva e que o tratamento com antidepressivo aumenta significativamente os níveis de BDNF ¹.

A busca de marcadores bioquímicos periféricos de doenças psiquiátricas é tema de intensa pesquisa nas neurociências básicas e clínicas contemporâneas. Existem vários estudos que demonstram a importância de identificar novos marcadores biológicos para auxiliar no diagnóstico da depressão. Devido à simplicidade do teste e os resultados altamente consistentes da diminuição dos níveis séricos de BDNF em pacientes com depressão, torna-se relevante avaliar os níveis desta citocina na DPP. Uma vez que existem alguns estudos relacionando os níveis de BDNF, principalmente com a depressão maior. Há poucos estudos buscando relacionar os níveis desta neurotrofina com a DPP, uma enfermidade que aflige aproximadamente 20% das mulheres no período pós-gestacional, sendo um tema de grande importância de saúde pública.

Quadro 1 - Seleção dos estudos sobre o tema.

Autor, ano e país	População estudada	Instrumentos utilizados	Metodologia	Resultados encontrados	Limitações
Aydemir, C. et al. 2006 Turquia Progress In Neuro- Psychopharmacology & Biological Psychiatry.	Vinte mulheres deprimidas e 20 mulheres não deprimidas entre 17 e 45 anos.	As mulheres foram avaliadas DSM IV (SCID) e Escala de Hamilton (HDRS). O BDNF foi dosado pelo método de ELISA.	Estudo caso-controle. O objetivo do estudo era quantificar os níveis de BDNF em mulheres depressivas pré e pós- tratamento com citalopram.	Os níveis de BDNF foram significativamente menores nos pacientes deprimidos do que no grupo controle. O tratamento com o citalopram aumentou os níveis de BDNF para os valores próximos dos encontrados no grupo controle. Os resultados sugerem que um baixo nível de BDNF é uma característica importante na depressão. O efeito de um antidepressivo (citalopram) foi capaz de aumentar os níveis de BDNF, e aumentar o escore do HDRS.	Tamanho pequeno da amostra. Escassez de estudos comparativos.
Lommatzsch M. et.al. 2005 Alemanha Psychoneuroendocrin ology.	Quarenta grávidas e quarenta não grávidas (grupo controle), entre 20 e 40 anos.	O diagnóstico para depressão foi avaliado através do Edimburgo Postnatal Depression Scale (EPDS) como critério de exclusão do estudo. O BDNF foi dosado pelo método de ELISA.	Estudo caso-controle. O objetivo do estudo foi avaliar a concentração sérica de BDNF em mulheres no período perinatal.	Demonstrou que mudanças nos níveis de BDNF parece ser um fenômeno específico da gestação e do pós-parto. Não houve associação dos níveis de BDNF com outros marcadores deste estudo (5-HT, cortisol, DHEAS, progesterona e β -estradiol) Este fenômeno pode refletir um risco aumentado para o desenvolvimento de perturbações do humor no período perinatal.	Muitas especulações para tamanho amostral pequeno e poucos parâmetros analisados.

Quadro 2- Seleção dos estudos sobre o tema (Revisão)

Autor e ano	Estudos incluídos	Participantes	Desenho	Resultados	Limitações
<p>Sen, S; Duman, R. and Sanacora, G 2008 Biological Psychiatry</p>	<p>Onze metanálises que verificaram a concentração sérica de BDNF entre deprimidos e não deprimidos (n= 748) 8 estudos comparando os níveis de BDNF comparando o pré e pós tratamento em pacientes deprimidos (n= 220).</p>	<p>Envolveu pacientes deprimidos e não deprimidos.</p>	<p>Metanálise</p>	<p>A metanálise revelou fortes indícios que os níveis de BDNF foram mais baixos nos indivíduos com depressão maior quando comparados com o controle. Após o tratamento com antidepressivos foram encontrados níveis significativamente superiores de BDNF, quando comparados com indivíduos deprimidos.</p>	
<p>Kozisek, M; Middlemas, D; Bylund, D. 2008 Pharmacology & Therapeutics</p>	<p>Revisão da literatura de estudos sobre o papel do BDNF e seu receptor (TrkB) no tratamento da depressão com diferentes antidepressivos.</p>	<p>Envolveram pacientes deprimidos e não deprimidos, modelos animais.</p>	<p>Revisão</p>	<p>Demonstra resultados de diversos estudos clínicos e básicos onde evidenciam diminuições dos níveis de BDNF. Além disso, demonstra que os tratamentos com antidepressivos foram capazes de reverter ou bloquear esta diminuição. Achados clínicos sugerem que eventos precoces ocorridos na infância e o estresse na vida adulta produzem alterações neurodegenerativas, que eventualmente podem causar quebra no processamento da informação na rede neural que regula o humor.</p>	

V. MÉTODOS

5.1. Delineamento:

Será realizado um estudo transversal aninhado a uma coorte. Este projeto faz parte de uma pesquisa maior intitulada “Coorte Perinatal com famílias atendidas pelo SUS residentes na zona urbana de Pelotas-RS.”

5.2 Amostra:

A amostra deste estudo será constituída por 335 mulheres que realizaram o acompanhamento pré-natal pelo Sistema Único de Saúde, da cidade de Pelotas/ RS, e tiverem os seus bebês entre março de 2008 e março de 2009.

Para detecção da amostra são realizadas buscas semanais no cadastro do Programa SIS-Pré-Natal na Secretaria Municipal da Saúde de Pelotas e em três postos que não fazem parte do programa.

As amostras do sangue serão coletadas entre 9:00 e 12:00 horas através de uma punção venosa na fossa cúbica (dobra do cotovelo) com material descartável (agulha descartável do tipo *vacutainer* 25X8 mm), por acadêmicos treinados.

A captação de pacientes, a avaliação, diagnóstico psicológicos e as dosagens de BDNF, serão realizadas no Centro de Ciências da Vida e da Saúde da UCPel.

Critérios de inclusão:

- Realizar acompanhamento pré-natal pelo programa SIS pré-natal da Secretaria Municipal da Saúde da cidade de Pelotas-RS
- Residir na zona urbana de Pelotas;
- Ser capaz de assinar o termo de Consentimento livre e esclarecido previamente.

Critérios de exclusão:

- Não residir na zona urbana da cidade de Pelotas;
- Ser incapaz de compreender o termo de consentimento ou os objetivos do estudo.
- Ter menos de 18 anos de idade.

5.2.1 Cálculo da amostra

Para calcular o tamanho amostral foi utilizado o teste t de Student tendo como hipótese alternativa (bidirecional) que a média de BDNF é diferente entre indivíduos com depressão quando comparados a indivíduos não deprimidos. Um estudo com 40 mulheres não grávidas e 40 mulheres grávidas foi utilizado para obter o valor de referência da média dos níveis de BDNF para o cálculo do tamanho amostral. Para valor de referência utilizou-se a coleta feita na oitava semana pós-parto, onde os níveis séricos foram de 3,7 ng/ mL (0,5 – 38,5)¹⁰, esperando encontrar 30% de alteração nos níveis de BDNF dos indivíduos com diagnóstico da DPP. A magnitude padronizada de efeito calculada foi de 0,83 por grupo. Para garantir um rigor no teste da hipótese, foi utilizado um nível de confiança de 99%, e um poder de 90%. Sendo assim, o número mínimo necessário por grupo será de 49 indivíduos, considerando mais 30% para possíveis perdas ou recusas, será considerado um N amostral de 64 mulheres em cada grupo. A saber, 64 mulheres com DPP e 64 mulheres saudáveis, totalizando 128 mulheres.

Como citado anteriormente, Moraes et al.⁶ encontrou prevalência de DPP de 19,15% em mulheres na cidade de Pelotas/RS. Para garantir que incluiremos 64 mulheres com depressão serão necessárias 335 mães captadas.

5.3 Instrumentos:

Os instrumentos utilizados serão: um questionário composto por variáveis referentes a condições econômicas, escolaridade, dados sobre a saúde e parto e o Inventário de depressão de Beck (BDI). Para as análises de BDNF será utilizada a técnica de ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*).

Inventário de Depressão de Beck (BDI) consiste em uma escala de 21 itens para avaliar a presença e a intensidade de sintomas depressivos. Na correção desta escala, será considerada depressão leve o escore entre 12 e 19 pontos, como depressão moderada de 20 a 35 pontos e com depressão grave 36 ou mais pontos conforme os estudos de Cunha *et al.*

Os níveis de BDNF serão medidos através de kits comerciais pelo método de ELISA (*R&D Systems, DuoSet ELISA Development Systems, Minneapolis, EUA*) específico para humanos de acordo com as instruções do fabricante em um leitor de microplacas SpectraMax 190 (*Molecular Devices, MDS Analytical Technologies Inc., Toronto, Canadá*). Uma descrição breve da técnica: o anticorpo de captura será diluído em uma concentração final de 2 µg/ µL em tampão fosfato salino (PBS), e 100 µL do anticorpo de captura será imediatamente alíquotado em cada poço da placa de 96 poços. Logo após a placa será selada e encubada durante a noite inteira à temperatura ambiente. Na manhã seguinte, os poços serão lavados (três vezes) com 400 µL de PBS contendo *Tween-20* (PBS-T) 0,05%. Seguido das lavagens, 300 µL de albumina fetal bovina 1% será adicionado em cada poço para fazer o revestimento do poço, para prevenir possíveis reações cruzadas. A placa será incubada por 2 horas à temperatura ambiente, e ao fim desse tempo, passará pelo mesmo processo de lavagem descrito anteriormente. A fim de garantir uma distribuição homogênea das amostras na microplaca, as amostras serão distribuídas randomicamente na microplaca. Os padrões de BDNF e as amostras serão adicionados em um

volume de 100 μL , incubados à temperatura ambiente por 2 horas, e então novamente será lavado com PBS-T. Após esse procedimento, será adicionado 100 μL de anticorpo de detecção (25 ng/ μL) em cada poço. A placa será novamente incubada por 2 horas à temperatura ambiente, e após será feita uma lavagem com PBS-T. Em seguida, será acrescentada 100 μL estreptovidina conjugada a uma *horseradish-peroxidase* em cada poço, e incubada por 20 minutos à temperatura ambiente, e após será feita uma última lavagem com PBS-T. Após esta última lavagem, será adicionado 100 μL de solução substrato (R & B systems) em cada poço, e a placa será incubada por 20 minutos à temperatura ambiente. A reação será finalizada adicionando 50 μL de ácido sulfúrico 2 N. A leitura das amostras serão feitas em um leitor de microplacas em um absorvância de 450 nm.

5.4 Definições das variáveis:

Variável dependente:

- Dosagens séricas de BDNF

Variável independente:

- Grau de depressão materna
- Condições sócio-demográficas
- Qualidade de vida

5.5 Pessoal envolvido

A equipe é composta por 5 mestrandas, 1 “batedor” e sete bolsistas de Iniciação científica dos cursos de Psicologia e Medicina da UCPel. Estes acadêmicos foram treinados e participam de

uma reunião semanal com a equipe técnica para esclarecimento de dúvidas e controle do trabalho de campo. Os aplicadores são “cegos” quanto aos objetivos do estudo.

Para coleta do sangue a equipe será composta por três coletadores voluntários e seis bolsistas de iniciação científica dos cursos de Farmácia e Enfermagem da UCPel treinados para execução dessa tarefa.

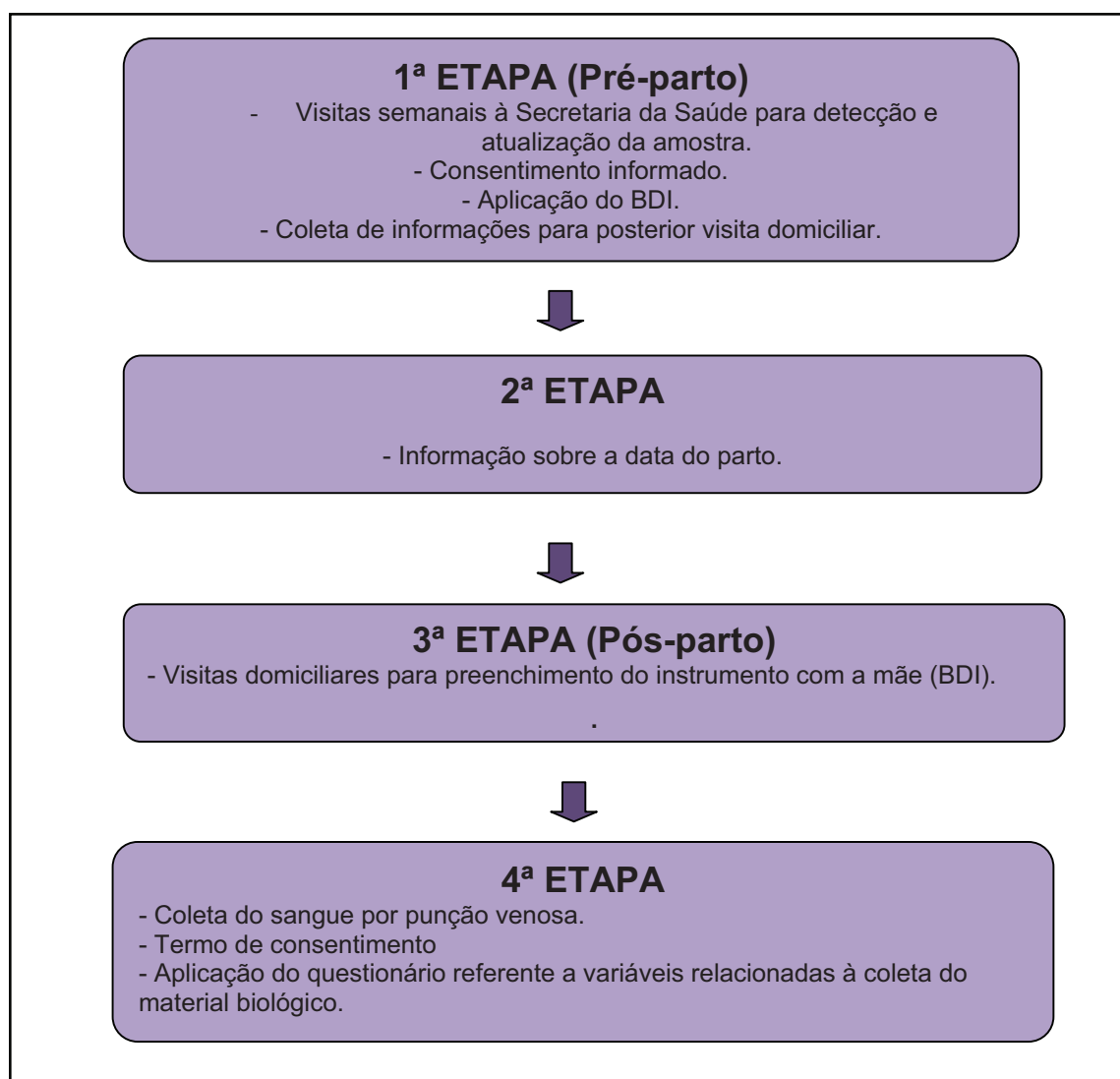
5.6 Estudo-piloto:

Os questionários da mãe com escala de depressão serão aplicados em 50 mulheres não incluídas no estudo, para testar o entendimento das questões e a logística da coleta de dados, a fim de minimizar as perdas. O piloto da coleta de material biológico será realizado no laboratório da instituição para que as famílias não sejam expostas a riscos ou forneçam sangue desnecessariamente.

5.7 Logística:

A coleta de dados é realizada em quatro momentos distintos, como podemos observar no fluxograma abaixo:

Figura 1 - Fluxograma da coleta de dados.



Após a captação da amostra, já descrita no item 5.2, é repassada uma lista com os nomes e endereços das mulheres para um auxiliar de pesquisa fazer uma visita domiciliar com o objetivo de localizar e confirmar os dados destas gestantes. Com essa identificação, uma ficha com os dados das gestantes é encaminhada para os entrevistadores, para uma posterior visita em que será aplicado o instrumento para detectar sintomas depressivos nas gestantes.

Uma previsão dos nascimentos é feita de acordo com a idade gestacional e a data da captação. No mês em que a criança deveria nascer, entramos em contato com a mãe, pai ou outro

membro da família para obter a data exata do parto. Nos casos em que não conseguimos contato telefônico com a família, a data de nascimento é verificada no cadastro do Sistema de Informações de Nascidos Vivos (SINASC) da Secretaria Municipal de Saúde da cidade de Pelotas.

Na 3ª etapa, serão realizadas visitas domiciliares no período de 30 a 60 dias após o parto para o rastreamento de sintomas depressivos. Posteriormente essas mães serão contatadas por um dos coletadores da pesquisa, para receberem esclarecimentos sobre a coleta do material biológico e neste momento é que será agendada a data da visita ao laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário São Francisco de Paula.

A 4ª fase do estudo será a coleta, medidas e armazenamento do material biológico.

Entre 60 a 90 dias após o parto; os genitores comparecerão ao laboratório com o objetivo de retirar o sangue. Também será respondido um questionário sobre o uso de drogas, qualidade de vida e qualidade de sono na noite anterior à coleta. As amostras de soro serão coletadas entre 9:00 e 12:00 através de uma punção venosa na fossa cúbita (dobra do cotovelo) com material descartável (agulha descartável do tipo *vacutainer* (25X8 mm), por profissional treinado. Será colhido, em tubos *vacutainer* não contendo anticoagulante, aproximadamente 5,0 ml de sangue venoso. Os tubos serão armazenados em gelo até o término das coletas.

Ao encerramento do turno de coletas, as amostras de sangue identificadas apenas por números serão processadas e armazenadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário São Francisco de Paula - UCPel. Para armazenamento adequado, o sangue será centrifugado durante 15 minutos a 4.500 rpm. O soro resultante dessa separação será estocado em freezer (-20 °C) para posterior análise de BDNF.

5.8 Controles de Qualidade:

O controle de qualidade da terceira e da quarta fase está sendo implementado, será sorteado em torno de 20% das mulheres entrevistadas e o coordenador do projeto entrará em contato por telefone para verificar se realmente ocorreu à visita do entrevistador.

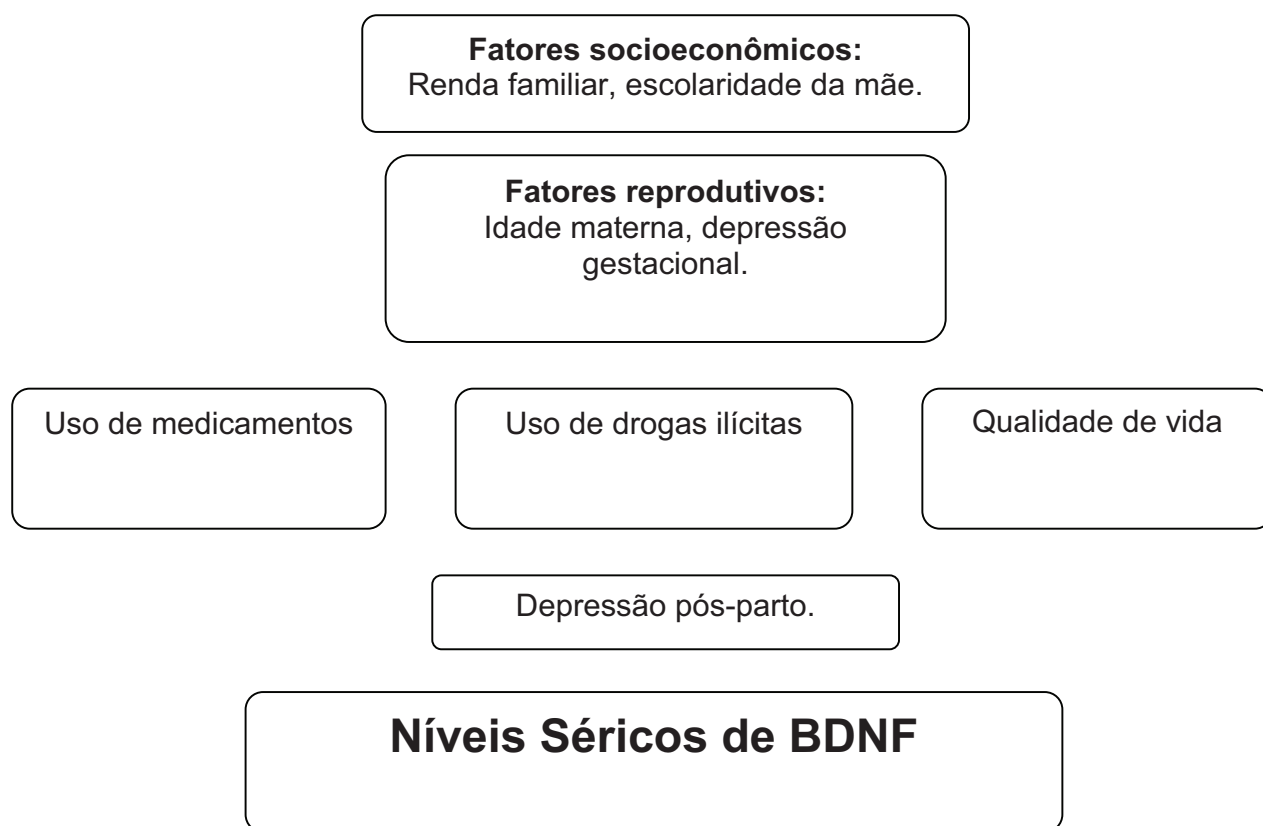
5.9 Processamento e análise dos dados:

Os questionários já estão sendo codificados e digitados concomitantemente por outra equipe. Está sendo realizada dupla digitação dos dados no programa Epi Info 6 para posterior análise dos dados no pacote estatístico SPSS 10.0 for Windows.

Todos os valores serão apresentados em média \pm desvio padrão. Será realizada uma análise univariada, para conhecermos as características das mulheres incluídas neste estudo. Na análise bivariada será utilizado o teste t para comparação entre as médias dos níveis séricos de BDNF em mulheres deprimidas e não deprimidas, para tal associação será considerado $P \leq 0,05$, poder 80% e intervalo de confiança de 95%.

Se necessário será feita uma análise multivariada por regressão linear considerando os possíveis fatores de confusão apresentados na Figura 2.

Figura 2- Proposta inicial de modelo teórico de análise



5.10 Divulgações dos Resultados:

Os resultados do estudo serão divulgados à comunidade científica através da produção de artigos sobre o tema, às autoridades de saúde da cidade através de relatórios descritivos, à população participante e comunidade em geral através da publicação dos resultados em meios de comunicação de massa.

5.11 Considerações éticas:

Este projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética da UCPel, vinculado ao estudo denominado “Níveis de citocinas séricas na depressão pós-parto: avaliação de famílias atendidas pelo SUS em Pelotas-RS ”, que recebeu parecer favorável e encaminhado ao CONEPE.

Neste protocolo de pesquisa são respeitados todos os princípios éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Saúde na Resolução Nº 196 de 10 de Outubro de 1996. As mulheres receberão informações sobre os objetivos da pesquisa e assinarão um “Consentimento livre e esclarecido” (ANEXO B e E).

Será assegurado o direito a confidencialidade dos dados e o cuidado na utilização das informações nos trabalhos escritos, de modo que os participantes não possam ser identificados.

As intervenções realizadas trazem benefícios às mulheres, pois são avaliadas e, quando necessário, encaminhadas para atendimento imediato. As mães que apresentarem sintomas depressivos, em qualquer fase do estudo, receberão encaminhamento (ANEXO C) para atendimento psiquiátrico no Campus II da Saúde da UCPel.

5.13 Orçamento:

Tipo	Descrição	Preço (R\$)	Quantidade	Preço Total (R\$)
Consumo	Kit para dosagem de BDNF humano	3.800,00	1	3.800,00
Consumo	Material para coleta (tubos, seringas, agulhas. Luvas, microtubos, etc.)	2.000,00		2.000,00
Permanente	Micropipeta	350,00	6	2.100,00
Permanente	Centrífuga Clínica de Bancada	800,00	1	800,00
Permanente	Freezer	1.200,00	1	1.200,00
Total				9.900,00

IV. REFERÊNCIAS

1. SEN S, DUMAN R, SANACORA G. SERUM BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR, DEPRESSION, AND ANTIDEPRESSANT MEDICATIONS: META-ANALYSES AND IMPLICATIONS. *BIOL PSYCHIATRY*. 2008;64:527-532.
2. LIPSKY RH, MARINI AM. BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR IN NEURONAL SURVIVAL AND BEHAVIOR-RELATED PLASTICITY. *ANN N Y ACAD SCI*. 2007;1122:130-143.
3. HENNIGAN A, O'CALLAGHAN RM, KELLY AM. NEUROTROPHINS AND THEIR RECEPTORS: ROLES IN PLASTICITY, NEURODEGENERATION AND NEUROPROTECTION. *BIOCHEM SOC TRANS*. 2007;35:424-427.
4. ZINGA D, PHILLIPS SD, BORN L. [POSTPARTUM DEPRESSION: WE KNOW THE RISKS, CAN IT BE PREVENTED?]. *REV BRAS PSIQUIATR*. 2005;27 SUPPL 2:S56-64.
5. CUIJPERS P, BRANNMARK JG, VAN STRATEN A. PSYCHOLOGICAL TREATMENT OF POSTPARTUM DEPRESSION: A META-ANALYSIS. *J CLIN PSYCHOL*. 2008;64:103-118.
6. MORAES IGDS, PINHEIRO RT, SILVA RAD, HORTA BL, SOUSA PLR, FARIA AD. PREVALÊNCIA DA DEPRESSÃO PÓS-PARTO E FATORES ASSOCIADOS. *REVISTA DE SAÚDE PÚBLICA*. 2006;40:65-70.
7. PINHEIRO RT, MAGALHAES PV, HORTA BL, PINHEIRO KA, DA SILVA RA, PINTO RH. IS PATERNAL POSTPARTUM DEPRESSION ASSOCIATED WITH MATERNAL POSTPARTUM DEPRESSION? POPULATION-BASED STUDY IN BRAZIL. *ACTA PSYCHIATR SCAND*. 2006;113:230-232.
8. STEINER M, DUNN E, BORN L. HORMONES AND MOOD: FROM MENARCHE TO MENOPAUSE AND BEYOND. *J AFFECT DISORD*. 2003;74:67-83.
9. AYDEMIR C, YALCIN ES, AKSARAY S, ET AL. BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF) CHANGES IN THE SERUM OF DEPRESSED WOMEN. *PROG NEUROPSYCHOPHARMACOL BIOL PSYCHIATRY*. 2006;30:1256-1260.

10. LOMMATZSCH M, HORNYCH K, ZINGLER C, SCHUFF-WERNER P, HOPPNER J, VIRCHOW JC. MATERNAL SERUM CONCENTRATIONS OF BDNF AND DEPRESSION IN THE PERINATAL PERIOD. *PSYCHONEUROENDOCRINOLOGY*. 2006;31:388-394.
11. NUMAN M. MATERNAL BEHAVIORS: CENTRAL INTEGRATION OR INDEPENDENT PARALLEL CIRCUITS? THEORETICAL COMMENT ON POPESKI AND WOODSIDE (2004). *BEHAV NEUROSCI*. 2004;118:1469-1472.
12. HUANG TL, LEE CT, LIU YL. SERUM BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR LEVELS IN PATIENTS WITH MAJOR DEPRESSION: EFFECTS OF ANTIDEPRESSANTS. *J PSYCHIATR RES*. 2008;42:521-525.
13. DE OLIVEIRA CEN, SALINA ME, ANNUNCIATO NF. FATORES AMBIENTAIS QUE INFLUENCIAM A PLASTICIDADE DO SNC. *ACTA FISIÁTRICA*. 2001;8:6-13.
14. KAREGE F, PERRET G, BONDOLFI G, SCHWALD M, BERTSCHY G, AUBRY JM. DECREASED SERUM BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR LEVELS IN MAJOR DEPRESSED PATIENTS. *PSYCHIATRY RES*. 2002;109:143-148.
15. SHIMIZU E, HASHIMOTO K, OKAMURA N, ET AL. ALTERATIONS OF SERUM LEVELS OF BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF) IN DEPRESSED PATIENTS WITH OR WITHOUT ANTIDEPRESSANTS. *BIOL PSYCHIATRY*. 2003;54:70-75.
16. ANGELUCCI F, ALOE L, JIMENEZ-VASQUEZ P, MATHE AA. ELECTROCONVULSIVE STIMULI ALTER NERVE GROWTH FACTOR BUT NOT BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR CONCENTRATIONS IN BRAINS OF A RAT MODEL OF DEPRESSION. *NEUROPEPTIDES*. 2003;37:51-56.
17. LU VB, BALLANYI K, COLMERS WF, SMITH PA. NEURON TYPE-SPECIFIC EFFECTS OF BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR IN RAT SUPERFICIAL DORSAL HORN AND THEIR RELEVANCE TO 'CENTRAL SENSITIZATION'. *J PHYSIOL*. 2007;584:543-563.
18. OTSUKI K, UCHIDA S, WATANUKI T, ET AL. ALTERED EXPRESSION OF NEUROTROPHIC FACTORS IN PATIENTS WITH MAJOR DEPRESSION. *J PSYCHIATR RES*. 2008.

19. PASCO JA, JACKA FN, WILLIAMS LJ, ET AL. LEPTIN IN DEPRESSED WOMEN: CROSS-SECTIONAL AND LONGITUDINAL DATA FROM AN EPIDEMIOLOGIC STUDY. *J AFFECT DISORD*. 2008;107:221-225.
20. PIZARRO JM, LUMLEY LA, MEDINA W, ET AL. ACUTE SOCIAL DEFEAT REDUCES NEUROTROPHIN EXPRESSION IN BRAIN CORTICAL AND SUBCORTICAL AREAS IN MICE. *BRAIN RES*. 2004;1025:10-20.
21. SCHARFMAN HE, MACLUSKY NJ. ESTROGEN AND BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF) IN HIPPOCAMPUS: COMPLEXITY OF STEROID HORMONE-GROWTH FACTOR INTERACTIONS IN THE ADULT CNS. *FRONT NEUROENDOCRINOL*. 2006;27:415-435.
22. JOVANOVIC JN, CZERNIK AJ, FIENBERG AA, GREENGARD P, SIHRA TS. SYNAPSINS AS MEDIATORS OF BDNF-ENHANCED NEUROTRANSMITTER RELEASE. *NAT NEUROSCI*. 2000;3:323-329.
23. RIOS M, LAMBE EK, LIU R, ET AL. SEVERE DEFICITS IN 5-HT_{2A} -MEDIATED NEUROTRANSMISSION IN BDNF CONDITIONAL MUTANT MICE. *J NEUROBIOL*. 2006;66:408-420.
24. JURIC DM, MIKLIC S, CARMAN-KRZAN M. MONOAMINERGIC NEURONAL ACTIVITY UP-REGULATES BDNF SYNTHESIS IN CULTURED NEONATAL RAT ASTROCYTES. *BRAIN RES*. 2006;1108:54-62.
25. MACHADO-VIEIRA R, DIETRICH MO, LEKE R, ET AL. DECREASED PLASMA BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR LEVELS IN UNMEDICATED BIPOLAR PATIENTS DURING MANIC EPISODE. *BIOL PSYCHIATRY*. 2007;61:142-144.

VII. ANEXOS

ANEXO A - Inventário de Depressão de Beck (BDI)

- ❖ Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler com cuidado cada grupo, faz um círculo em torno do número (0, 1, 2 ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreve melhor a maneira que tu tens te sentido na **última semana, incluindo hoje.**
01. (0) Não me sinto triste.
(1) Eu me sinto triste
(2) Estou triste o tempo todo e não consigo sair disto.
(3) Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.
02. (0) Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.
(1) Eu me sinto desanimado quanto ao futuro.
(2) Acho que nada tenho a esperar.
(3) Acho o futuro sem esperança e tenho impressão de que as coisas não podem melhorar.
03. (0) Não me sinto um fracasso.
(1) Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.
(2) Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos.
(3) Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.
04. (0) Tenho tanto prazer em tudo como antes.
(1) Não sinto mais prazer nas coisas como antes.
(2) Não encontro um prazer real em mais nada.
(3) Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.
05. (0) Não me sinto especialmente culpado.
(1) Eu me sinto culpado grande parte do tempo.
(2) Eu me sinto culpado na maior parte do tempo.
(3) Eu me sinto sempre culpado.
06. (0) Não acho que esteja sendo punido.
(1) Acho que posso ser punido.
(2) Creio que vou ser punido.
(3) Acho que estou sendo punido.
07. (0) Não me sinto decepcionado comigo.
(1) Estou decepcionado comigo mesmo.
(2) Estou enojado de mim.
(3) Eu me odeio.
08. (0) Não me sinto de qualquer modo pior que os outros.

- (1) Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros.
 - (2) Eu me culpo sempre por minhas falhas.
 - (3) Eu me culpo por tudo de mal que acontece.
09. (0) Não tenho quaisquer idéias de me matar.
- (1) Tenho idéias de me matar, mas não as executaria.
 - (2) Gostaria de me matar.
 - (3) Eu me mataria se tivesse oportunidade.
10. (0) Não choro mais que o habitual.
- (1) Choro mais agora do que costumava.
 - (2) Agora, choro o tempo todo.
 - (3) Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo, mesmo que queira.
11. (0) Não sou mais irritado agora do que já fui.
- (1) Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava.
 - (2) Agora, me sinto irritado o tempo todo.
 - (3) Não me irrito mais por coisas que costumavam me irritar.
12. (0) Não perdi o interesse pelas outras pessoas.
- (1) Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar.
 - (2) Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas.
 - (3) Perdi todo o interesse pelas outras pessoas.
13. (0) Tomo decisões tão bem quanto antes.
- (1) Adio as tomadas de decisões mais do que costumava.
 - (2) Tenho mais dificuldades de tomar decisões do que antes.
 - (3) Absolutamente não consigo mais tomar decisões.
14. (0) Não acho que de qualquer modo pareço pior do que antes.
- (1) Estou preocupado em estar parecendo velho ou sem atrativo.
 - (2) Acho que há mudanças permanentes na minha aparência, que me fazem parecer sem atrativo.
 - (3) Acredito que pareço feio.
15. (0) Posso trabalhar tão bem quanto antes.
- (1) É preciso algum esforço extra para fazer alguma coisa.
 - (2) Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa.
 - (3) Não consigo mais fazer qualquer trabalho.
16. (0) Consigo dormir tão bem quanto antes.
- (1) Não durmo tão bem como costumava.
 - (2) Acordo 1 a 2 horas mais cedo que o habitualmente e acho difícil voltar a dormir.
 - (3) Acordo várias horas mais cedo que costumava e não consigo voltar a dormir.
17. (0) Não fico mais cansado que o habitual.
- (1) Fico cansado mais facilmente do que costumava.

- (2) Fico cansado em fazer qualquer coisa.
- (3) Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.

18. (0) O meu apetite não está pior do que o habitual.
- (1) Meu apetite não é tão bom como costumava ser.
 - (2) Meu apetite é muito pior agora.
 - (3) Absolutamente não tenho mais apetite.

19. (0) Não tenho perdido muito peso se é que perdi algum recentemente.
- (1) Perdi mais do que 2 quilos e meio.
 - (2) Perdi mais do que 5 quilos.
 - (3) Perdi mais do que 7 quilos.

Eu estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: () Sim () Não

20. (0) Não estou mais preocupado com minha saúde do que o habitual.
- (1) Estou preocupado com problemas físicos, tais como dores, indisposição do estômago ou constipação.
 - (2) Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa.
 - (3) Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.

21. (0) Não notei nenhuma mudança no meu interesse por sexo.
- (1) Estou menos interessado por sexo do que costumava.
 - (2) Estou muito menos interessado por sexo agora.
 - (3) Perdi completamente o interesse por sexo.

ANEXO B– Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS MESTRADO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO

CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES DA PESQUISA SOBRE ASPECTOS PSICOLÓGICOS DA GESTAÇÃO, PUERPÉRIO E DESENVOLVIMENTO INFANTIL.

A pesquisa que estamos lhe convidando a participar tem como objetivo medir os sintomas depressivos, ansiosos e fatores que possam estar associados aos mesmos em gestantes e puérperas, ainda se propõe a avaliar os níveis de bem-estar; auto-estima e qualidade de vida.

Se você aceitar fazer parte deste estudo, terá que responder a um questionário que será aplicado por nossas pesquisadoras. A senhora será procurada por nossa equipe, novamente, entre 30 a 90 dias após o parto e quando seu bebê estiver com 12 meses de idade; sendo que nesta ocasião o desenvolvimento da criança também será avaliado.

Os dados fornecidos por você durante a aplicação dos questionários serão utilizados posteriormente para análise e produção científica, entretanto, a equipe envolvida na pesquisa garante que a sua identidade permanecerá em sigilo, tendo em vista a manutenção de sua privacidade e a de sua família.

É importante assinalar que esta pesquisa não apresenta risco significativo ao seu estado de saúde, nem do seu bebê, mas permitirá a identificação de sinais para alguns problemas de ordem psicológica. Se os instrumentos aplicados detectarem sintomas depressivos e ansiosos elevados, você será encaminhada para atendimento psiquiátrico no Ambulatório do Campus II da Saúde da UCPel. Caso seja identificado algum atraso no desenvolvimento do seu filho, aos 12 meses, ele será encaminhado para atendimento na Clínica Psicológica da UCPel. Em caso de constatação de abuso ou dependência de bebidas alcoólicas ou outras substâncias, será encaminhada para atendimento no devido local da rede pública de saúde.

Você é livre para abandonar o estudo em qualquer momento e sem maiores prejuízos ou danos.

Em caso de dúvidas sobre o estudo, maiores informações poderão ser obtidas com os psicólogos coordenadores do projeto, através dos números (053)8118-2197 ou (053) 8113-2049, ou no Mestrado em Saúde e Comportamento (2128-8404).

Declaração da Cliente:

Eu, _____, declaro que após tomar conhecimento destas informações, aceito participar da presente pesquisa. Além disso, declaro ter recebido uma cópia deste consentimento e que uma cópia assinada por mim será mantida pela equipe da pesquisa.

Declaração de Responsabilidade do Investigador:

Eu, _____, declaro ter explicado sobre a natureza deste estudo, assim como também me coloquei a disposição da cliente para esclarecer as suas dúvidas. A cliente compreendeu a explicação e deu seu consentimento.

Investigador responsável: _____

Data: ___/___/_____

Fase do estudo: _____

ANEXO C – Encaminhamentos

ESTUDO SOBRE SAÚDE E COMPORTAMENTO DE MULHERES NO
PERÍODO PRÉ E PÓS-PARTO.

ENCAMINHAMENTO AO PSQUIATRA

Pelotas, ___ de _____ de 200 ___.

Eu, _____, declaro ter recebido informações sobre o meu risco de vida, e por isso fui encaminhada para atendimento psiquiátrico no Campus II da Saúde (antigo hospital Olivé Leite), localizado na Av. Fernando Osório, nº 1586.

Horários de atendimento: Terças e quintas-feiras, das 15 às 16 horas.

Assinatura da paciente

Assinatura da pesquisadora

ESTUDO SOBRE SAÚDE E COMPORTAMENTO DE MULHERES NO
PERÍODO PRÉ E PÓS-PARTO.

ENCAMINHAMENTO

Pelotas, ___ de _____ de 200 ___.

Eu, _____, declaro ter recebido informações sobre um indicativo de atraso no desenvolvimento do (a) _____, e por este motivo fui encaminhada para avaliação na Clínica Psicológica da UCPel, localizada na rua Almirante Barroso, nº 1202.

Horários de atendimento: Segunda a sexta-feira das 8:30 às 11:30 e das 13:30 às 18 horas.

Assinatura da mãe ou responsável

Assinatura da pesquisadora

ANEXO D – Questionário Coleta de Sangue

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
MESTRADO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO

Quest. _____	(1) Pai (2) Mãe	Data de aplicação: __/__/__	Horário coleta 1 __: __ min
Nome: _____		Horário coleta 2 __: __ min	
Endereço: _____		Bairro: _____	
Telefone para contato: _____		Celular: _____	

Altura: __, __ cm Peso: _____ kg

altura __, __
peso _____

1) Agora vamos falar sobre o que você fez, no último mês, para se divertir ou distrair:

LER OPÇÕES

Leu algum jornal?	(0) Não	(1) Sim
Leu alguma revista?	(0) Não	(1) Sim
Assistiu algum filme na televisão?	(0) Não	(1) Sim
Assistiu noticiário na televisão?	(0) Não	(1) Sim
Foi ao cinema?	(0) Não	(1) Sim
Foi a algum jogo?	(0) Não	(1) Sim
Foi a algum bingo?	(0) Não	(1) Sim
Foi a uma festa?	(0) Não	(1) Sim
Foi passear?	(0) Não	(1) Sim
Jogou cartas?	(0) Não	(1) Sim
Viajou para outra cidade?	(0) Não	(1) Sim
Fez outra coisa? Qual? _____		

jornal __
revista __
filme __
noticia __
cinema __
jogo __
bingo __
festa __
passear __
carta __
viajar __
outativ __

2) Você usou algum remédio no último mês? (0) Não (pule para questão 4)
(1) Sim, quantos remédios? __ __ remédio/mês

remed __
qtreme __ __

3) Quais medicações? Que dose? Qual a frequência?

Medicação 1: _____	dose: _____	freq __ __ dias
Medicação 2: _____	dose: _____	freq __ __ dias
Medicação 3: _____	dose: _____	freq __ __ dias
Medicação 4: _____	dose: _____	freq __ __ dias

med1 __ __
med2 __ __
med3 __ __
med4 __ __

4) Você bebeu no ultimo mês?

(0) Não - PULE PARA QUESTÃO 7 (1) Sim, quantos dias faz? __ __ dias

bebeu __
qtdias __ __

5) Qual a bebida alcoólica que você usa ou usou com mais frequência no último mês?

(1) Cerveja / Chope (2) Vinhos (3) Cachaça / Pinga (4) Uísque / Vodka / Conhaque
(5) Outras _____ (8) NSA

qbebid __

6) No último mês, quantos dias você bebeu? Número __ __ de dias

diasbeb __ __

7) Você costuma beber café, chimarrão, chá, achocolatados ou coca-cola (pepsi)?

(0) Não (1) Sim

cafein __

8) Você costuma consumir chocolate?

(0) Não (1) Sim

choc __

9) SE SIM: Que quantidade você consome dessas bebidas em um dia e chocolate em uma semana, sendo um dia/semana normal?

a) café _____

b) chimarrão _____

c) achocolatado _____

d) coca-cola / pepsi _____

e) chocolate _____

dcafe __ __

dchima __ __

dachoc __ __

dcoca __ __

d choc __ __

→ As seguintes perguntas são referentes a noite anterior:

10) Você acordou alguma vez na noite anterior?

(1) Sim

(2) Não

acordn __

SE SIM: Quantas vezes você acordou na noite anterior? _____

11) Você consumiu algum tipo de bebida alcoólica na noite anterior?

(0) Não - mulheres pula para 14/ Homens agradeça a participação

(1) Sim

qtacord __ __

consbeb __

12) Qual a bebida alcoólica que você consumiu na noite anterior?

(1) Cerveja / Chope (2) Vinhos (3) Cachaça / Pinga (4) Uísque / Vodka / Conhaque

(5) Outras _____ (8) NSA

qbeb __

13) Qual a quantidade de bebida que você consumiu? _____

qtbeb __ __

→ As seguintes perguntas só devem ser respondidas se você for do sexo feminino, pois as mesmas são referentes à amamentação:

14) Seu bebê está mamando? (1) Sim (2) Não

SE NÃO: Até que idade ele mamou? __ __ dias

maman __

idmamo __ __

→ Se a resposta for NÃO AGRADEÇA A PARTICIPAÇÃO.

15) SE SIM: Até que idade pretende continuar amamentando? __ __ meses:

16) Além do leite materno ele recebe outros líquidos, como água ou chá, ou outros alimentos?

(1) Outro leite

(5) Outro leite + frutas ou papas

(2) Água, chá ou sucos

(6) Outros líquidos + frutas ou papas

(3) Frutas ou papas

(7) Outro: _____

(4) Outro leite + outros

(8) NSA

idpret __ __

outralim __

17) Porque você introduziu estes outros alimentos? _____

18) Até que idade seu bebê mamou só no peito? __ __ __ dias

NA TUA OPINIÃO, DESCREVA AS CARACTERÍSTICAS DO ENTREVISTADO/A?

ppiduz __ __

a) Cor da pele na parte interior do antebraço

(1) branca (2) mulata (3) preta ou negra

b) Tipo de cabelo

(1) liso (2) ondulado (3) crespo ou encaracolado (4) muito crespo

c) Cor do cabelo

(1) loiro (2) marrom ou castanho (3) preto (4) vermelho

d) Cor dos olhos

(1) azul (2) verde (3) castanho (4) preto

e) Formato do nariz

(1) arrebitado (ponta empinada) (2) largo (ponta depressiva) (3) reto (plano)

f) Formato do lábio

(1) fino (2) médio (3) espesso

CLASSIFICAÇÃO: (1) derivado de europeu (2) derivado de africano (3) derivado de oriental

impeit _ _ _

corpele _

tipocabel _

corcabel _

corolhos _

formnariz _

formlábio _

raça _

ANEXO E – Termo e Consentimento Livre Esclarecido

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
MESTRADO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO

AVALIAÇÃO DE FAMÍLIAS NO PERÍODO PÓS-PARTO: MARCADORES BIOQUÍMICOS, MOLECULARES E ASPECTOS PSICOLÓGICOS NA DEPRESSÃO PÓS-PARTO

Antes de sua participação neste estudo, é preciso esclarecer alguns detalhes importantes, para que possíveis dúvidas sejam resolvidas. Em caso de qualquer outra dúvida quanto à pesquisa ou sobre os seus direitos, você poderá contatar com Dr. Jean Pierre Oses responsável pelo estudo ou telefone (53) 9156-8075 ou o Dr. Ricardo Tavares Pinheiro, pelo telefone (53) 2128-8404.

Qual o objetivo desta pesquisa?

O objetivo do nosso estudo é entender um pouco mais como diferenças nos níveis de marcadores de injúria cerebral, assim como, variações genéticas naturais que podem influenciar sobre a presença de sintomas depressivos nas famílias com o nascimento de um dos filhos.

Como serão feitas estas análises?

Com o uso de agulhas e seringas descartáveis será coletada de você uma amostra de sangue (quantidade aproximada de uma colher de sopa). Esta coleta será feita por um indivíduo treinado. Após isto, o sangue será examinado para determinar variações genéticas e dosar diferentes marcadores neuroquímicos. As amostras serão identificadas por números diferentes daqueles utilizados pelo Hospital. Ao final desse trabalho todos os resultados que possam vincular seu nome as amostras de DNA serão inutilizados, de forma que estas amostras possam eventualmente ser utilizadas em futuras pesquisas sobre o mesmo assunto.

Quais os riscos em participar?

Poderá haver formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no braço em função da coleta de sangue. Além deste, não há qualquer outro risco para a paciente em participar deste projeto.

O que a paciente ganha com este estudo?

Este estudo poderá trazer vários benefícios, mesmo que em longo prazo. Poderemos saber se diferentes variantes dos genes podem aumentar a predisposição ao desenvolvimento de sintomas depressivos com o nascimento dos filhos. Podendo prever quem são as pessoas que apresentam maior predisposição e medidas para diminuir estes sintomas podem ser feitas. Por fim, a sua participação ajudará

no desenvolvimento de novos conhecimentos, que poderão eventualmente beneficiar você e/ou outras famílias.

Quais são os seus direitos?

Os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados deste estudo poderão ser usados para fins científicos, mas você não será identificada por nome.

Sua participação no estudo é voluntária, de forma que, caso você decida não participar, isto não afetará no tratamento normal que você tem direito. Você tem liberdade para abandonar esta pesquisa a qualquer momento.

Eu,(paciente) fui informado dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada. Recebi informação a respeito do tratamento recebido e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão se assim eu o desejar. O Dr. Jean Pierre Oses e o Dr. Ricardo Tavares Pinheiro (pesquisadores responsáveis) certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais, bem como o meu tratamento não será modificado em razão desta pesquisa e terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa, face a estas informações.

Número do estudo: _____ Cód. de ident. do indivíduo: _____

Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

Data: ____/____/____

Nome do Paciente

Assinatura do Paciente

Nome do Pesquisador

Assinatura do Pesquisador

Este formulário foi lido para _____ (nome do paciente) em ____/____/____ (data) pelo _____ (nome do pesquisador) enquanto eu estava presente.

Brain-derived neurotrophic factor in women with postpartum depression

Marta Gazal¹, Luis Souza Motta¹, Carolina David Wiener¹, Juliano Costa Fernandes¹, Francini Lacerda¹, Lian da Costa Abrão¹, Karen Jansen¹, Luciana Quevedo¹, Márcia Giovenardi³, Daniel Pra¹, Diogo Onofre Souza², Ricardo Tavares Pinheiro¹, Luis Valmor Portela², Jean Pierre Oses^{1,*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde & Comportamento, Centro de Ciências da Vida e da Saúde, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, Brasil.

² Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

³ Departamento de Ciências Fisiológicas. Laboratório de Fisiologia. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil.

Number of text pages: 12

Number of figures and tables: 2

*Corresponding Author:

Jean Pierre Oses (jean.pierre.oses@gmail.com)

Programa de Pós-Graduação em Saúde & Comportamento, Centro de Ciências da Vida e da Saúde, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, Brasil.

Rua Almirante Barroso, 1202

96010-280

Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Phone: +55 53 2128 8404 FAX: +55 53 2128 8229

ABSTRACT

BACKGROUND: Postpartum depression (PPD) is the most common psychiatric complication observed in women after birth. Some women have a particular sensitivity to hormonal changes, starting in early menarche, which increases their vulnerability to psychological stressing agents that are triggered by environment and physiological factors during life. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels have been associated to different neuropsychiatric conditions and BDN has been considered as a candidate marker for such disfunctions. The goal of this study was to compare the levels of BDNF between mothers with PPD and control mothers as well as to seek for associations between BDNF levels and the severity of PPD.

METHODS: This is a case-control study including 36 mothers with PPD and 36 control mothers. PPD was defined according to the Beck Depression Inventory (BDI). Serum BDNF was assayed with the sandwich ELISA method.

RESULTS: Serum levels of BDNF were significantly lower in women with PPD than in control mothers ($p = 0.026$). No significant correlation between BDI score and serum BDNF levels was observed ($r = 0.16, p = 0.09$).

CONCLUSIONS: Our study suggests that low BDNF levels are associated with PPD, although not with PPD severity. This result point out to the potential usage of BDNF in the screening of PPD, which could promote early treatment and, therefore, reduce the burden to the PPD women and to the health system.

KEY WORDS: Postpartum Depression, BDNF, Biological Markers, Serum, Mood Disorder, Neurotrophic Factors.

INTRODUCTION

Postpartum depression (PPD) is the most common psychiatric complication observed in women after childbirth or delivery. PPD is characterized by loss of interest and a prolonged period of emotional disturbance [1]. PPD is of great relevance to public health, affecting 15-20% of women in postpartum period [1, 2]. PPD affects the functionality of the mothers, and may be associated with tragic responses, such as maternal suicide and infanticide [3].

It is known that there are psychological, genetic and environmental factors that may encourage the emergence of the PPD. Some women have a particular sensitivity to hormonal changes, starting in early menarche, increasing their vulnerability to psychological stressing agents that can be triggered by environmental and physiological factors during lifetime [4]. In susceptible women, these stressing agents trigger the modification of an already vulnerable state for the expression of a mood disorder, specially women in periods of high hormonal fluctuations, such as childbirth time [5].

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a key mediator of neuroplasticity, which regulates synaptic composition, neurotransmitter release and excitability in nervous system [6]. BDNF also regulates the expression of phenotypic markers of cellular function, including neurotransmitter synthetic enzymes and neuropeptides [7]. A role for BDNF in the action of antidepressant treatments is supported by several lines of evidence [8, 9]. There is evidence that a deficiency in BDNF levels plays a critical role in the pathophysiology of depression, possibly including PPD [10].

Nowadays, the involvement of neurotrophic factors in neuropsychiatric conditions, in particular for a role of BDNF, has been the focus of interest in research related to the regulation of bipolar disorders and depression [11-13]. These studies lead to the formulation of the hypothesis that lower levels of BDNF, predispose to depression, while an increase produces an

antidepressant action. However, several recent observations, along with those obtained in basic studies on the role of neurotrophic factors in the development of the adult brain, suggesting these trophic factors might act as tool-dependent changes in neural networks that govern the aspects of mood. Interestingly, several case-control studies have shown decreased serum levels of BDNF in depressed patients, which can be normalized by the treatment with antidepressants [9].

Serum levels of BDNF are lower in women than in men, and change substantially during the menstrual cycle [14]. Conversely, a change between the levels of BDNF in the postpartum period was not yet shown. The aim of this study was to evaluate the levels of BDNF in mothers with PPD and seek a possible correlation of serum BDNF with PPD.

METHODS

This is a case-control nested in a cohort study with pregnant women (18 to 46 years old) that were recruited from the Brazilian National System of Public Health (SIS – Pre-Natal) between 2006 and 2008. Women living in the urban area, not taken any kind of antidepressant and fully capable of understanding and answering the questionnaire were included in the study. The study protocol was approved by the ethics committee of the Universidade Católica de Pelotas and all subjects provided written informed consent to take part in the study.

A total of 72 women were enrolled in the study, including 36 mother with DPP and 36 matched control women. PPD and control women were matched by age (years) and weeks after delivery. All participant women responded the Beck Depression Inventory (BDI) and had peripheral venous blood withdrawn between 45 to 90 days after delivery (10 ml into a free-anticoagulant vacuum tube).

The blood was immediately centrifuged at 4000 x *g* for 10 min, and serum was kept frozen at –80 °C until assayed. BDNF serum levels were measured with sandwich-ELISA, using a commercial kit, in accordance with the manufacturer's protocol (DuoSet ELISA Development, R&D Systems, Inc., USA). Briefly, the serum samples (diluted 1:2 in diluent buffer) and reference curve standards (ranging from 23 to 1500 pg/mL) were incubated in 96-well microplates coated with mouse anti-human BDNF for 2 h at room temperature. Plates were then washed three times with wash buffer, biotinylated mouse anti-human BDNF (detection antibody – 4.5 µg/mL) was added, and plates were incubated for 2 h at room temperature. After washing, a third incubation with streptavidin conjugated to horseradish-peroxidase (diluted 1:200) was carried out for 20 minutes at room temperature. After 20 minutes, the plates were washed and incubated for additional 20 minutes with substrate solution (R&D Systems, Inc., USA) and stopped with 2 N H₂SO₄ (R&D Systems, Inc., USA). The amount of BDNF was then determined

with SpectraMax 190 (Molecular Devices) (absorbance set in 450 nm). The standard curve demonstrated a direct relationship between optical density (OD) and BDNF concentration.

Statistical analysis was performed using GraphPad Prim 5.0 for Windows. Most of the BDNF values were fitted in a standard distribution curve and were, therefore, subjected to nonparametric analyses. All values are presented as mean \pm standard deviation (SD). For the comparisons between the groups, Wilcoxon *t*-test was used. Spearman correlation coefficient was used to analyze the correlation between BDNF and BDI scores. *p*-values ≤ 0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

As shown in Table 1, mothers with PPD or control mothers were similar regarding age, delivery mode, baby gender and baby birth weight. PPD mothers had BDI score of 27.06 ± 16.04 (mean \pm SD), while control mothers presented values of 3.33 ± 3.35 . Mean serum BDNF were significantly lower in PPD mother (1.8 ± 1.3 ng/mL) than controls (2.50 ± 1.30 ng/mL) ($p = 0.02$) (Figure 1). Serum BDNF levels did not correlate with age ($p = 0.35$) in either PPD women, control women or both groups combined. A non significant correlation between BDI score and serum BDNF levels was observed in PPD mothers ($r = 0.16$, $p = 0.09$, data not shown).

DISCUSSION

BDNF is a key mediator of neuronal plasticity, which regulates the composition of synaptic neurotransmitter release and excitability in the nervous system in adults [6]. In our study, we observed that mothers with PPD showed significantly lower levels of BDNF than non-depressed mothers during early postpartum.

Stress and depression have been widely documented to reduce the expression of neurotrophins in both animal and clinical studies [15]. The consequences of a downregulation in neurotrophic support have been related to neural atrophy, degeneration and loss of excitatory neurotransmitter. The decrease in neurotrophic support in certain brain regions that response to stress and depression is also consistent with our findings. Several studies lead to the hypothesis that lower levels of BDNF predispose to depression, while an increase in BDNF has an antidepressant action [11, 13, 16]. Moreover, several recent observations obtained with the basic studies on the role of BDNF in the development of the adult brain, suggests that there are tool-dependent changes in neural networks that regulate some aspects of humor [6, 10]. The knowledge of the physiological changes related to facilitating the PPD can assist in better understanding of this disorder, as well as in predicting high-risk groups.

There are extracerebral sources of BDNF as in blood. For instance, large amounts of BDNF are stored in human platelets, as reflected by high serum levels of BDNF [14]. Notwithstanding, serum BDNF levels is closely related to BDNF concentrations in the central nervous system (CNS) [16] and BDNF is not synthesized within the platelets or their precursors. Some evidences suggest platelet BDNF is obtained from external sources and BDNF and that BDNF is possible released after particular stimulus. Indeed, there is suggestion that platelets might act as a transport system for BDNF within the human body [17]. Since in our study, we did not observe a correlation between PPD severity, as measured by BDI score, and BDNF levels, it

seems the source of BDNF seen in serum might be unrelated to blood itself and possibly related to the release of BDNF from other sources, as probably the brain [18].

For women, pregnancy and the postpartum period are considered a risk period for the psyche, due to a high intensity of experiences and BDNF might decrease in postpartum for PPD women [10]. During delivery there is a large discharge of cortisol, and there is evidence that cortisol can modulate the expression and release of BDNF [13]. Lommatzsch et al., 2005 observed altered levels of BDNF in the perinatal period and suggests that these levels are altered due to the discharge of these hormones [14]. In other hand, several studies suggest that the symptoms observed in the postpartum period do not refer solely to a unipolar depression, but indicative of a bipolar mood [19, 20]. A recent study showed that bipolar patients in manic episode showed significant correlation with the severity of the disease [12]. We cannot rule out that decreased BDNF levels may reflect only the unipolar depressive episode, but a bipolar depression. However, further studies are needed to confirm this hypothesis.

Identifying peripheral biomarkers helpful with diagnosis or monitoring treatment process of human diseases remains a goal of many clinicians, especially in treating neuropsychiatric disorders. Serum levels of BDNF were significantly lower in women who developed PPD when compared with the control. Early detection of mothers who are likely to develop PPD may be expected to have an important role in the pathology treatment, which may reduce adverse consequences. However, the relevance of these finding needs to be better established.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported with grants from CNPq, CAPES, FAPERGS, and the FINEP research grant “Rede Instituto Brasileiro de Neurociência (IBN-Net)” # 01.06.0842-00, and by the Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Excitotoxicidade e Neuroproteção (INCT-EN) grant from MCT, Brasil.

REFERENCES

1. Moraes, I.G., et al., [*Prevalence of postpartum depression and associated factors*]. Rev Saude Publica, 2006. **40**(1): p. 65-70.
2. Cuijpers, P., J.G. Brannmark, and A. van Straten, *Psychological treatment of postpartum depression: a meta-analysis*. J Clin Psychol, 2008. **64**(1): p. 103-18.
3. Wisner, K.L., C. Chambers, and D.K. Sit, *Postpartum depression: a major public health problem*. Jama, 2006. **296**(21): p. 2616-8.
4. Steiner, M., E. Dunn, and L. Born, *Hormones and mood: from menarche to menopause and beyond*. J Affect Disord, 2003. **74**(1): p. 67-83.
5. Numan, M., *Maternal behaviors: central integration or independent parallel circuits? Theoretical comment on Popeski and Woodside (2004)*. Behav Neurosci, 2004. **118**(6): p. 1469-72.
6. Huang, E.J. and L.F. Reichardt, *Neurotrophins: roles in neuronal development and function*. Annu Rev Neurosci, 2001. **24**: p. 677-736.
7. Duman, R.S. and V.A. Vaidya, *Molecular and cellular actions of chronic electroconvulsive seizures*. J Ect, 1998. **14**(3): p. 181-93.
8. Chen, B., et al., *Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication*. Biol Psychiatry, 2001. **50**(4): p. 260-5.
9. Sen, S., R. Duman, and G. Sanacora, *Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications*. Biol Psychiatry, 2008. **64**(6): p. 527-32.
10. Lommatzsch, M., et al., *Maternal serum concentrations of BDNF and depression in the perinatal period*. Psychoneuroendocrinology, 2006. **31**(3): p. 388-94.

11. Autry, A.E., et al., *Gender-specific impact of brain-derived neurotrophic factor signaling on stress-induced depression-like behavior*. Biol Psychiatry, 2009. **66**(1): p. 84-90.
12. Machado-Vieira, R., et al., *Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode*. Biol Psychiatry, 2007. **61**(2): p. 142-4.
13. Cavus, I. and R.S. Duman, *Influence of estradiol, stress, and 5-HT_{2A} agonist treatment on brain-derived neurotrophic factor expression in female rats*. Biol Psychiatry, 2003. **54**(1): p. 59-69.
14. Lommatzsch, M., et al., *Brain-derived neurotrophic factor in platelets and airflow limitation in asthma*. Am J Respir Crit Care Med, 2005. **171**(2): p. 115-20.
15. Angelucci, F., et al., *Electroconvulsive stimuli alter nerve growth factor but not brain-derived neurotrophic factor concentrations in brains of a rat model of depression*. Neuropeptides, 2003. **37**(1): p. 51-6.
16. Karege, F., et al., *Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients*. Psychiatry Res, 2002. **109**(2): p. 143-8.
17. Fujimura, H., et al., *Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation*. Thromb Haemost, 2002. **87**(4): p. 728-34.
18. Karege, F., et al., *Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity*. Biol Psychiatry, 2005. **57**(9): p. 1068-72.
19. Heron, J., N. Craddock, and I. Jones, *Postnatal euphoria: are 'the highs' an indicator of bipolarity?* Bipolar Disord, 2005. **7**(2): p. 103-10.
20. Heron, J., et al., *A longitudinal study of hypomania and depression symptoms in pregnancy and the postpartum period*. Bipolar Disord, 2009. **11**(4): p. 410-7.

TABLE 1: Clinical characteristics of PPD and control women.

Variables	Control n=36	PPD n=36	P-value
Delivery (percent)			
Vaginal	26 (72.2%)	21 (58.3%)	0.54
Caesarian	10 (27.8%)	15 (40.7%)	
Baby Gender (percent)			
Male	13 (36.1%)	20 (55.6%)	0.28
Female	23 (63.9%)	16 (44.4%)	
Maternal age (years)			
(mean \pm SD)	25.40 \pm 5.61	25.40 \pm 6.04	0.50
Weeks after delivery			
(mean \pm SD)	13.92 \pm 4.98	15.20 \pm 4.75	0.27
Birth Weigth (g)			
(mean \pm SD)	3269.20 \pm 502.90	3115.80 \pm 743.10	0.14
BDI Score			
(mean \pm SD)	3.33 \pm 3.35	27.06 \pm 16.04	\leq 0.001**
BDNF- ng/mL			
(mean \pm SD)	2.50 \pm 1.30	1.80 \pm 1.30	0.02*

* p -value \leq 0.05; ** \leq 0.001

FIGURE LEGEND

Figure 1. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels (pg/ml) in healthy (open bar) and post-partum depressive (PPD) mothers (filled bar). Serum BDNF decreased significantly in PPD group compared to control group (* $p < 0.05$).

FIGURE 1

