

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Desenvolvimento Tecnológico - CDTEC
Curso de Graduação em Biotecnologia



Trabalho de Conclusão de Curso

Efeito do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol no comportamento tipo-depressivo induzido pelo lipopolissacarídeo em camundongos

Angela Maria Casaril

Pelotas, 2015

Angela Maria Casaril

Efeito do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol no comportamento tipo-depressivo induzido pelo lipopolissacarídeo em camundongos

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucielli Savegnago

Pelotas, 2015

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia – UFPel

C335e Casaril, Angela Maria
Efeito do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol no comportamento tipo-depressivo induzido pelo lipopolissacarídeo em camundongos / Angela Maria Casaril. – 76f. : il. – Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biotecnologia). Universidade Federal de Pelotas. Centro de Desenvolvimento Tecnológico. Pelotas, 2015. – Orientadora Lucielli Savegnago.

1.Biotecnologia. 2.Composto orgânico de selênio.
3.Depressão. 4.Estresse oxidativo. 5.Neuroinflamação.
I.Savegnago, Lucielli. II.Título.

CDD: 661.895

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Azedir e Eliana, e ao meu irmão, Moisés.*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, Azedir e Eliana, por todo amor, apoio, empenho e sacrifícios. Vocês são o alicerce da minha caminhada até aqui, e meus maiores exemplos de determinação e humildade. Agradeço ao meu irmão Moisés, meu orgulho e exemplo de força de vontade, por todos os conselhos e incentivos. Agradeço à minha cunhada Jozaine, pelo companheirismo e conhecimentos de inglês. E aos meus sobrinhos Anthony e Victor, por serem uma fonte inesgotável de alegria.

À professora, orientadora e amiga Lucielli Savegnago pela oportunidade de trabalharmos juntas por tanto tempo, pelos ensinamentos, incentivos, amizade, disponibilidade e confiança. Obrigada por contribuir de forma tão significativa na minha formação pessoal e profissional.

Aos colegas do GPN, atuais e antigos, pelas inúmeras colaborações nas atividades do laboratório, pela amizade, companheirismo e incentivo, e por proporcionarem um ambiente de trabalho agradável e divertido.

Às minhas excelentes professoras de laboratório, Débora e Lucimar, por todo o aprendizado, paciência, incentivo e amizade.

Ao Laboratório de Síntese Orgânica Limpa da UFPel, pela parceria e comprometimento com a síntese dos compostos.

Aos grandes amigos que Xaxim, Pelotas e Liverpool colocaram em minha vida, pelos incontáveis momentos e aventuras que compartilhamos.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Núcleo de Biotecnologia do CDTec, por oferecer um curso de graduação de alto nível.

Aos demais colegas e funcionários do Núcleo de Biotecnologia, pela boa convivência e aprendizado.

Ao Biotério Central da UFPel, pelo comprometimento em fornecer os animais.

Ao CNPq e à UFPel, pela concessão das bolsas de Iniciação Científica.

Muito obrigada!

Tenha coragem, vá em frente. Determinação, coragem e auto confiança são fatores decisivos para o sucesso. Não importa quais sejam os obstáculos e as dificuldades, se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.

Dalai Lama

Resumo

CASARIL, Angela Maria. **Efeito do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol no comportamento tipo-depressivo induzido pelo lipopolissacarídeo em camundongos.** 2015. 76f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A depressão maior é uma desordem mental recorrente e incapacitante cuja patofisiologia não está completamente elucidada, mas estudos recentes indicam que essa doença pode estar envolvida com o aumento do estresse oxidativo e neuroinflamação. O tratamento atual para a depressão apresenta baixa eficiência e efeitos adversos, por isso se faz necessário a busca por novas moléculas com ação antidepressiva e baixa toxicidade. Nesse contexto, os compostos orgânicos de selênio e os indóis tem recebido bastante atenção por apresentarem diversas propriedades farmacológicas. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito tipo-antidepressivo do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol (CFSeMI) no modelo de depressão induzido pela administração de lipopolissacarídeo (LPS). Para isso, camundongos receberam veículo (óleo de canola) ou CFSeMI, após 30 minutos receberam salina 0,9% ou LPS, e 24 h após essa administração, todos os animais foram submetidos ao teste do campo aberto (TCA), teste de suspensão da cauda (TSC) e teste do nado forçado (TNF). Após o TNF, os animais foram eutanasiados para remoção do córtex e hipocampo. Os hemisférios direitos dessas estruturas cerebrais foram utilizados para análise da expressão da interleucina 1 beta (IL-1 β) através da reação em cadeia da polimerase em tempo real via transcriptase reversa (qRT-PCR) e os hemisférios esquerdos foram utilizados para quantificação de espécies reativas (ER) e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A fim de verificar se o composto apresenta segurança no uso, os camundongos receberam o CFSeMI na dose de 200 mg/Kg e, após 72 h, os animais foram eutanasiados para coleta de sangue, fígado, rim e cérebro para análise de biomarcadores de toxicidade, como a atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e δ -aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D), e os níveis de creatinina. Observou-se que a administração das duas doses de CFSeMI preveniu o comportamento tipo-depressivo induzido por LPS por reduzir o tempo de imobilidade no TSC e TNF, sem alterar parâmetros no TCA. Além disso, o pré-tratamento com as duas doses de CFSeMI preveniu a neuroinflamação por reduzir a expressão da IL-1 β no córtex e hipocampus dos animais, prevenindo também o estresse oxidativo induzido por LPS através da redução da formação de espécies reativas e TBARS em ambas as estruturas cerebrais. O CFSeMI na dose de 200 mg/Kg (v.o) não alterou nenhum biomarcador de toxicidade, indicando a possível ausência de efeito neuro, hepato e nefrotóxico em camundongos. Em conclusão, observa-se que o tratamento com CFSeMI protege contra o comportamento tipo-depressivo, neuroinflamação e estresse oxidativo induzido por LPS, sem apresentar efeito tóxico. Os resultados sugerem que o CFSeMI pode ser um possível candidato para o tratamento da depressão maior e outras desordens associadas com o estresse oxidativo e a neuroinflamação.

Palavras-chave: composto orgânico de selênio; depressão; estresse oxidativo; neuroinflamação.

Abstract

CASARIL, Angela Maria. **Effect of 3-(4-chlorophenilselenil)-1-methyl-1H-indole in the depressive-like behaviour induced by lipopolysaccharide in mice.** 2015. 76f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The major depression is a recurrent and incapacitating mental illness, which does not have the pathophysiology fully elucidated, but recent studies suggest that this disorder can be related with increased oxidative stress and neuroinflammation. The current treatment for depression shows low efficiency and adverse effects, and because of this, it is imperative to search for new molecules with antidepressant activity and low toxicity. In this context, organoselenium compounds and indoles have gained attention due to the wide range of pharmacological properties. Hence, the present study investigated the antidepressant-like effect of 3-(4-chlorophenilselenil)-1-methyl-1H-indole (CFSeMI) in the animal model of depression induced by administration of lipopolysaccharide (LPS). In order to do this, mice received vehicle (canola oil) or CFSeMI, after 30 minutes they received saline 0.9% or LPS, and 24 h after this administration, all mice were submitted to the open field test (OFT), tail suspension test (TST) and forced swimming test (FST). After the FST, the animals were euthanized to dissection of cortex and hippocampus. The right hemispheres of these brain structures were used to analyse the expression of interleukin 1 beta (IL-1 β) through the quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR), and the left hemispheres were used to evaluate the generation of reactive species and thiobarbituric acid reactive species (TBARS). In order to verify the safety of the compound, mice received CFSeMI at a dose of 200 mg/Kg (p.o) and, after 72 h, the animals were euthanized to collection of blood, kidney, liver and brain to determine toxic biomarkers, such as the activity of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALA-D), and creatinine levels. It was observed that the administration of CFSeMI at both doses prevented the depressive-like behaviour induced by LPS, through the decreased of immobility time in the TST and FST, without change any parameters at OFT. Moreover, the pre-treatment with both doses of CFSeMI prevented neuroinflammation by reducing the IL-1 β expression in the cortex and hippocampus of mice, also preventing the oxidative stress induced by LPS through reduction in the generation of reactive species and TBARS, in both brain structures. The CFSeMI at 200 mg/Kg did not modify any parameter of toxicity, indicating the possible absence of neuro, hepato and nephrotoxic effect in mice. In summary, the treatment with CFSeMI protects against the depressive-like behaviour, neuroinflammation and oxidative stress induced by LPS, without any sign of toxicity. Taking together, the data suggests that CFSeMI can be a promising candidate to treat major depression and other disorders associated with oxidative stress and neuroinflammation.

Key word: organoselenium compound; depression; oxidative stress; neuroinflammation

Lista de Figuras

Figura 1	Neurotransmissores e neurotransmissão monoaminérgica..	6
Figura 2	Principais atividades reguladas pelos neurotransmissores serotonina e noradrenalina.....	7
Figura 3	Vias de comunicação entre o sistema periférico e o sistema nervoso central durante uma condição de infecção causada pela administração de lipopolissacarídeo.....	10
Figura 4	Principais espécies reativas e enzimas antioxidantes presentes no ambiente celular.....	15
Figura 5	Envolvimento do selênio na inflamação e estresse oxidativo.....	21
Figura 6	Estrutura de alguns compostos orgânicos de selênio com propriedades farmacológicas.....	22
Figura 7	Estrutura do indol e moléculas relacionadas.....	24
Figura 8	Estrutura química do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol (CFSeMI).....	25
Figura 9	Diagrama esquemático do protocolo experimental utilizado no estudo.....	26
Figura 10	Representação do ensaio do teste de suspensão da cauda em camundongos. (A) Situação de imobilidade e (B) mobilidade.....	28
Figura 11	Representação do ensaio do teste do nado forçado em camundongos. (A) Situação de imobilidade e (B) mobilidade.....	29
Figura 12	Ensaio espectrofluorimétrico de quantificação de espécies reativas de oxigênio (ERO).....	30
Figura 13	Representação da peroxidação lipídica causada pelas espécies reativas de oxigênio.....	31
Figura 14	Efeito do pré-tratamento com CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o.) em camundongos desafiados com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/kg, i.p.) nos parâmetros comportamentais de (A) cruzamentos e (B) levantadas no teste do campo aberto.....	34

Figura 15	Tempo de imobilidade (segundos) no teste de suspensão da cauda (A) e teste do nado forçado (B) de animais pré-tratados com CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o.) e desafiados com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/Kg, i.p.).....	35
Figura 16	Quantificação das espécies reativas formadas no córtex (A) e hipocampo (B) dos camundongos pré-tratados com CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o.) e posteriormente desafiados com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/Kg, i.p.).....	36
Figura 17	Níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico no córtex (A) e hipocampo (B) de camundongos pré-tratados com CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o) antes do desafio com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/kg, i.p.).....	37
Figura 18	Expressão gênica da interleucina 1 beta no córtex (A) e hipocampo (B) de camundongos pré-tratados com o CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o.) antes do desafio com lipopolissacarídeo (LPS 0,83 mg/Kg, i.p.).....	38
Figura 19	Envolvimento do lipopolissacarídeo (LPS), citocinas, espécies reativas de oxigênio (ERO) e selênio (Se) na patofisiologia da depressão.....	44

Lista de Tabelas

Tabela 1	Principais estratégias farmacológicas utilizadas no tratamento da depressão maior que influenciam o sistema monoaminérgico.....	18
Tabela 2	Primers utilizados no estudo.....	32
Tabela 3	Efeito da administração oral do CFSeMI (200 mg/Kg) em parâmetros bioquímicos de camundongos.....	39

Lista de Abreviaturas e Siglas

5-HT	Serotonina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
BH ₄	Tetrahydrobiopterina
CAT	Catalase
cDNA	DNA complementar
CFS _{SeMI}	3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol
δ-ALA-D	Delta-aminolevulinato desidratase
DA	Dopamina
DCFH	Diclorofluoresceína
DCFH-DA	2,7-diclorodihidrofluoresceína-diacetato
ELISA	Ensaio de imunoabsorção ligado a enzima
ER	Espécies reativas
GABA	Ácido gama amino butírico
GPx	Glutaciona peroxidase
GR	Glutaciona redutase
GSH	Glutaciona reduzida
GSSG	Glutaciona oxidada
IDO	Indoleamina-2,3-dioxigenase
IFN-α	Interferon alfa
IFN-γ	Interferon gama
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IMAO	Inibidores da monoamina oxidase
ISRN	Inibidores seletivos da recaptção da serotonina
ISRS	Inibidores seletivos da receptção da serotonina
JNK	c-Jun N-terminal quinase
LPS	Lipopolissacarídeo

MAO	Monoamina oxidase
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
MDA	Malondialdeído
mg/Kg	Miligramas por kilograma
mRNA	RNA mensageiro
NA	Noradrenalina
NADPH-oxidase	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase
NF-κB	Fator de transcrição nuclear kappa B
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PCR	Reação em cadeia da polimerase
qRT-PCR	Reação em cadeia da polimerase em tempo real via transcriptase reversa
SDS	Dodecil sulfato de sódio
Sec	Selenocisteína
SeIP	Selenoproteína P
SERT	Transportador de serotonina
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TLR4	Receptor transmembrana do tipo Toll 4
TNF	Teste do nado forçado
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
tRNA	RNA transportador
TRxR	Tiorredoxina redutase
TSC	Teste de suspensão da cauda
VMAT	Transportadores vesiculares de monoaminas

Sumário

1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	4
2.1. Objetivo Geral.....	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
3. Revisão Bibliográfica.....	5
3.1. Depressão maior.....	5
3.2. Hipótese monoaminérgica.....	6
3.3. Hipótese inflamatória.....	8
3.3.1. Lipopolissacarídeo (LPS)	12
3.4. Hipótese do estresse oxidativo.....	14
3.5. Tratamentos disponíveis.....	17
3.6. Selênio (Se)	19
3.6.1. Compostos orgânicos de selênio.....	22
3.7. Indol.....	23
4. Materiais e Métodos.....	25
4.1. Compostos.....	25
4.2. Animais.....	25
4.3. Protocolo experimental.....	25
4.4. Análises comportamentais.....	27
4.4.1. Teste do campo aberto (TCA)	27
4.4.2. Teste de suspensão da cauda (TSC)	27
4.4.3. Teste do nado forçado.....	28
4.5. Análises bioquímicas.....	29
4.5.1. Quantificação de espécies reativas.....	29
4.5.2. Ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	30
4.5.3. Avaliação da expressão da interleucina 1 beta pela reação em cadeia da polimerase em tempo real via transcriptase reversa (qRT-PCR)...	31
4.6. Determinação dos parâmetros de toxicidade aguda.....	32
4.7. Análise estatística.....	33
5. Resultados.....	34
5.1. Análises comportamentais.....	34

5.1.1. Teste do campo aberto (TCA)	34
5.1.2. Teste de suspensão da cauda (TSC) e teste do nado forçado (TNF)...	34
5.2. Análises bioquímicas.....	35
5.2.1. Quantificação das espécies reativas.....	35
5.2.2. Ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	36
5.2.3. Avaliação da expressão da interleucina 1 beta pela reação em cadeia da polimerase em tempo real via transcriptase reversa (qRT-PCR)...	37
5.2.4. Determinação dos parâmetros de toxicidade aguda.....	38
6. Discussão.....	40
7. Conclusões e Perspectivas	47
Referências Bibliográficas	48

1. Introdução

A desordem de depressão maior é uma das doenças psiquiátricas mais comuns ao redor do mundo, sendo a principal responsável pela incapacitação dos indivíduos, desencadeando um impacto social bastante negativo (EBMEIER et al., 2006; SLAVICH E IRWIN, 2014). Apesar da relevância dessa doença, pouco se sabe a respeito da patofisiologia da depressão. Diversas linhas de pesquisa têm indicado que a depressão maior está relacionada com a redução da concentração dos neurotransmissores monoaminérgicos na fenda sináptica, com a ativação de uma resposta imune e ocorrência do estresse oxidativo (MAES, 1999; LEONARD E MAES, 2012; MAES et al., 2011a, 2011b).

A depleção das monoaminas na fenda sináptica é a teoria mais aceita para justificar as alterações encontradas em pacientes depressivos, sugerindo que a depressão pode ser tratada com moléculas que aumentem a concentração desses neurotransmissores na fenda (ELHWUEGI, 2004). Apesar disso, sabe-se que apenas a teoria das monoaminas não é suficiente para explicar todas as modificações apresentadas por pacientes depressivos (BELMAKER E AGAM, 2008). Nesse sentido, acredita-se que o início e a progressão da desordem depressiva necessitem da ativação das vias de inflamação e do estresse oxidativo e nitrosativo, o que os torna um alvo de estudo bastante promissor (MAES, 2008b).

Diversos modelos experimentais suportam o envolvimento das vias oxidativas e inflamatórias na depressão. A administração sistêmica de lipopolissacarídeo (LPS), por exemplo, induz a formação de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 1 beta (IL-1 β), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6). Essas citocinas podem aumentar a produção de espécies reativas (ER) que, juntamente com a neuroinflamação, causam alterações neuroquímicas e comportamentais (CHUNG et al., 2010; BASSI et al., 2012; BIESMANS et al., 2013; LAWSON et al., 2013). Diante disso, estudos já mostraram que a administração de compostos antioxidantes e/ou anti-inflamatórios também apresentam efeito antidepressivo em modelos animais (BERG et al., 2004; BERK et al., 2008; LI et al., 2015).

Apesar da relevância socioeconômica da depressão maior, os medicamentos atuais para essa doença apresentam baixa eficácia, uma vez que demoram de 6 a 8 semanas para exercer efeitos clínicos significativos, e apenas 30 – 45% dos pacientes tratados com os antidepressivos clássicos conseguem remissão completa da doença (CARVALHO et al., 2009; UHER et al., 2011). Diante da falta de um tratamento eficiente para a depressão, é de grande importância a busca por novas moléculas com ação antidepressiva, que consigam restaurar as alterações neuroquímicas dos pacientes depressivos.

Nesse sentido, os compostos orgânicos de selênio têm recebido bastante atenção por apresentarem diversas propriedades farmacológicas, como a ação antioxidante, antidepressiva e neuroprotetora (WEI et al., 2014; BROD et al., 2015; MARTINEZ et al., 2015). O interesse por esses compostos vem do fato de que o selênio (Se) está envolvido com diversas funções biológicas, sendo encontrado por exemplo no sítio ativo da enzima antioxidante glutatona peroxidase (GPx) (FLOHÉ E GUNZLER, 1984; MERTENS et al., 2015). Além disso, foi reportado que pacientes depressivos apresentam uma redução nos níveis plasmáticos de Se, conseqüentemente apresentando prejuízo no sistema de defesa antioxidante (CONNER et al., 2014).

Diante do potencial terapêutico das moléculas orgânicas contendo selênio, diversos estudos têm evidenciado o efeito antidepressivo desses compostos, uma vez que eles são capazes de modular o sistema monoaminérgico e opióide. Diversos estudos tem demonstrado que o efeito tipo-antidepressivo desses compostos pode ser avaliado através de ensaios comportamentais como o teste de suspensão da cauda (TSC) e teste do nado forçado (TNF) (BRUNING et al., 2011; ABELAIRA et al., 2013; BROD et al., 2015). Por outro lado, o envolvimento dos sistemas antioxidante e imune no efeito antidepressivo de compostos orgânicos de selênio pode ser elucidado através de análises bioquímicas e análise de expressão genica em diferentes tecidos.

Além do Se, outra característica interessante de moléculas bioativas é a presença da porção indol. Estudos apontam que essa é a estrutura heterocíclica mais abundante na natureza que apresenta ação farmacológica (KAUSHIK et al., 2013). Dentre os efeitos biológicos dos indóis, destaca-se a ação antioxidante,

neuroprotetora e anti-inflamatória (GUERRA et al., 2011; LOPEZ-IGLESIAS et al., 2014).

Sendo assim, torna-se evidente a importância de estudar novas moléculas bioativas contendo Se e indol em sua estrutura, para contribuir com a descoberta de novos fármacos mais eficientes para o tratamento da depressão maior. Além disso, é de grande interesse que esses fármacos sejam capazes de modular as vias oxidativas e inflamatórias envolvidas com essa desordem, sem causar efeitos tóxicos no organismo.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho foi investigar o efeito do CFSeMI no comportamento tipo-depressivo, neuroinflamação e estresse oxidativo induzido por LPS em camundongos, bem como avaliar a toxicidade do composto a fim de identificar se há segurança no seu uso.

2.2. Objetivos Específicos

- Verificar se o CFSeMI administrado pela via oral protege contra o efeito tipo-depressivo induzido pelo LPS em camundongos.
- Avaliar se o efeito tipo-antidepressivo do CFSeMI não é causado por alterações psicoestimulantes nos camundongos.
- Investigar se o tratamento com o CFSeMI protege contra o estresse oxidativo induzido por LPS no córtex e hipocampo dos camundongos.
- Avaliar se a administração oral de CFSeMI protege contra a neuroinflamação induzida pela administração intraperitoneal de LPS.
- Investigar a toxicidade aguda do CFSeMI administrado em uma única dose.

3. Revisão da literatura

3.1. Depressão maior

A depressão maior é uma desordem mental complexa, heterogênea, multifatorial e crônica que afeta aproximadamente 350 milhões de pessoas ao redor do mundo (KESSLER E BROMET, 2013; CZÉH et al., 2015). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2011), essa doença era a quarta causa mais comum de incapacidade nos anos 2000, sendo que atualmente, estima-se que a depressão será a segunda maior contribuinte para o ônus mundial de doenças no ano de 2030, acarretando em prejuízos sociais e econômicos (NAKAJIMA et al., 2010; KIM et al., 2015).

De acordo com o Manual Estatístico e Diagnóstico de Transtornos Mentais (DSM-V), a depressão maior caracteriza-se pela presença de manifestações (isoladas ou recorrentes) de humor deprimido (tristeza, choro) e/ou perda do interesse por atividades cotidianas por mais de 2 semanas (APA, 2013). Adicionalmente, o paciente apresenta pelo menos outros cinco sintomas (que prejudicam significativamente as habilidades sociais) que incluem: alterações no peso (ganho ou perda não intencional); insônia ou sono excessivo; fadiga e perda de energia; redução na capacidade psicomotora; indecisão e redução na concentração e memória; sentimento excessivo de culpa; e pensamentos recorrentes de suicídio (WHO, 2011; APA, 2013).

Apesar do reconhecimento dos impactos socioeconômicos causados pela depressão maior e o crescente número de investigações a respeito da patofisiologia dessa doença, pouco se sabe sobre os mecanismos neurobiológicos envolvidos na depressão. Essa falta de conhecimento consolidado ocorre devido a heterogeneidade da doença, e principalmente devido ao fato de que observações patológicas no cérebro ainda são bastante difíceis, quando comparadas à outros órgãos (KRISHNAN et al., 2008). Apesar disso, inúmeras evidências sugerem que a depressão está envolvida com a redução na atividade monoaminérgica (hipótese monoaminérgica), estímulo das vias inflamatórias (hipótese neuroinflamatória) e danos oxidativos (hipótese do estresse oxidativo).

3.2. Hipótese monoaminérgica

Após o reconhecimento da depressão maior como uma desordem bioquímica, a teoria monoaminérgica se tornou a principal explicação para as alterações presentes nessa doença. Descrita inicialmente por SCHILDKRAUT (1965) e COPPEN (1967), essa hipótese postula que os sintomas depressivos ocorrem devido à redução na concentração dos neurotransmissores monoaminérgicos serotonina (5-HT) e noradrenalina (NA) na fenda sináptica (Figura 1) e que portanto, a depressão pode ser tratada com moléculas que aumentam a concentração desses neurotransmissores na fenda sináptica (DELGADO, 2000).

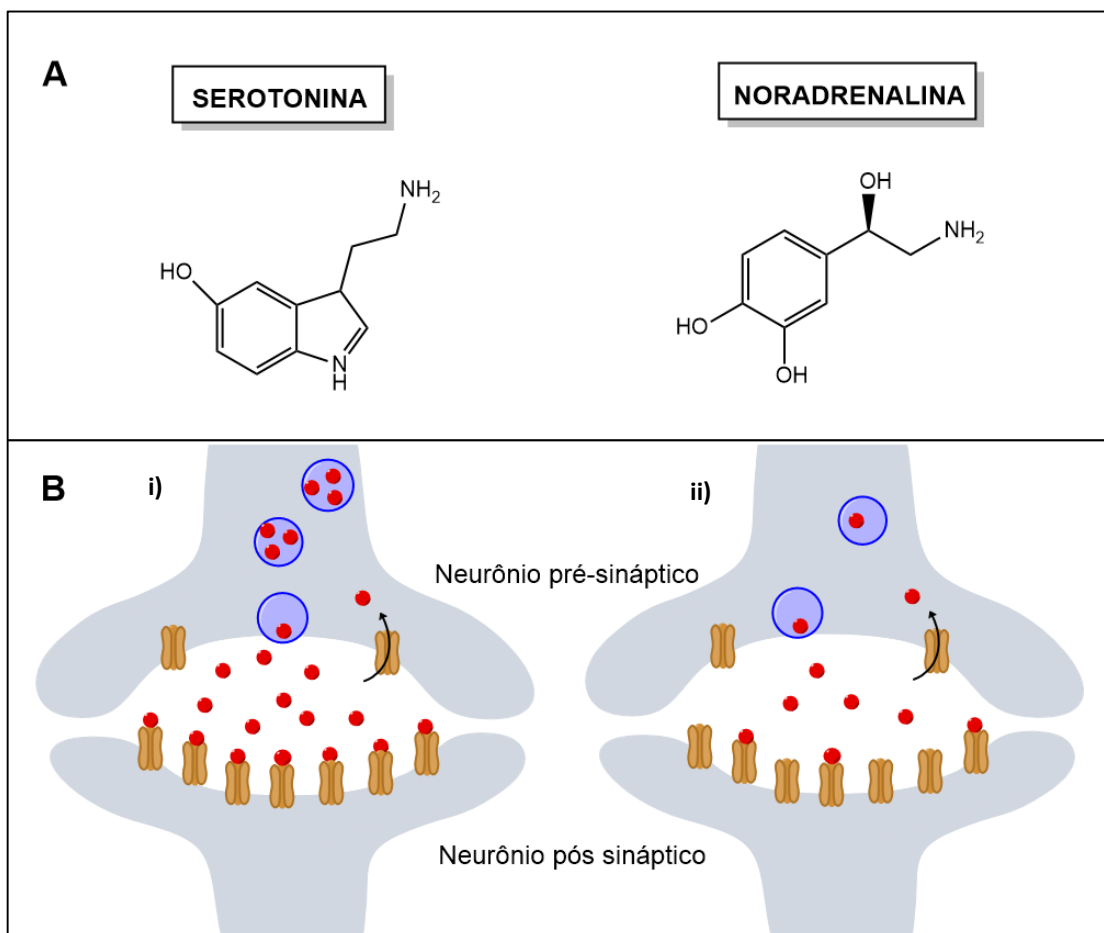


Figura 1. Neurotransmissores e neurotransmissão monoaminérgica. (A) Estrutura dos dois principais neurotransmissores monoaminérgicos envolvidos com a depressão maior. (B) Sinapse em neurônios monoaminérgicos: **i)** Em um indivíduo saudável, os neurotransmissores (vermelho) são liberados do neurônio pré-sináptico para a fenda sináptica, aonde interagem com seus respectivos receptores no neurônio pós-sináptico. **ii)** Em indivíduos depressivos, ocorre a redução na disponibilidade dos neurotransmissores na fenda sináptica, promovendo o humor depressivo. Fonte: Própria.

Anos mais tarde, sugeriu-se o envolvimento da dopamina (DA) na depressão maior a partir de observações de que pacientes com a doença de Parkinson frequentemente apresentam depressão; e de que a reserpina, a qual reduz a disponibilidade de 5-HT, NA e DA (através do bloqueio dos transportadores vesiculares de monoaminas - VMAT), induz um estado hipoativo em animais (BELMAKER E AGAM, 2008; NADAL-VICENS et al., 2009). Além disso, níveis reduzidos no neurotransmissor inibitório GABA (ácido gama-aminobutírico) foram encontrados no plasma, fluido cérebro-espinhal e neurônios no córtex pré frontal de pacientes com depressão maior (HAMON E BLIER, 2013).

Particularmente, os circuitos neurais da NA e da 5-HT se originam internamente no cérebro e se espalham para quase todo o órgão, sugerindo que esses sistemas são capazes de modular diversas áreas relacionadas ao pensamento, comportamento e sentimentos (BELMAKER E AGAM, 2008). O sistema noradrenérgico regula as respostas ao estresse, vigilância e motivação, enquanto que o sistema serotoninérgico modula principalmente o apetite, memória e cognição (Figura 2) (NADAL-VICENS et al., 2009).

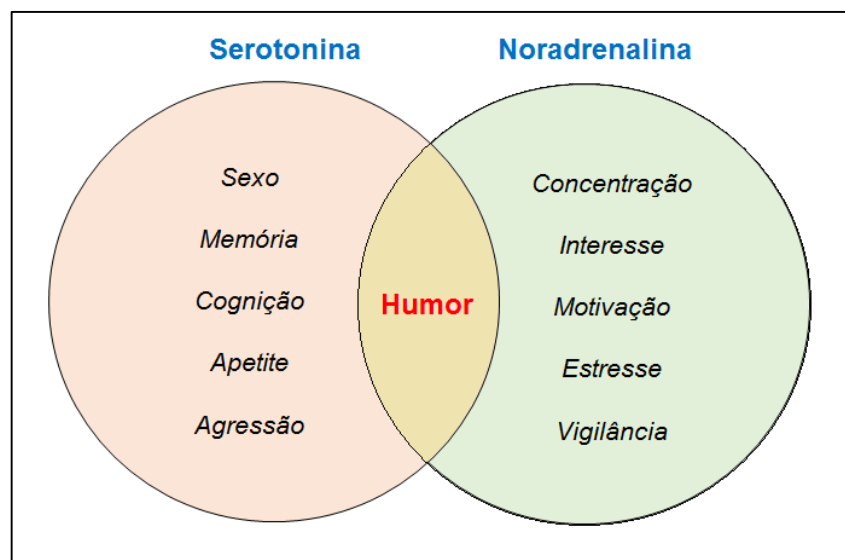


Figura 2. Principais atividades reguladas pelos neurotransmissores serotonina e noradrenalina.

Apesar da hipótese monoaminérgica ser a mais bem elucidada, sabe-se que a depressão maior não é causada apenas pela depleção das monoaminas. As principais limitações dessa teoria estão envolvidas com o fato de que apenas 70% dos pacientes respondem aos tratamentos com fármacos que modulam a neurotransmissão das

monoaminas, sugerindo que 30% dos casos não estão envolvidos com os mecanismos monoaminérgicos (BELMAKER E AGAM, 2008). Além disso, os mecanismos de ação dos antidepressivos promovem os efeitos farmacológicos (celulares e moleculares) quase imediatamente, entretanto, a remissão dos sintomas depressivos clínicos só é observada após 3 semanas ou mais de tratamento contínuo (NADAL-VICENS et al., 2009). Por fim, sabe-se que moléculas como a tianeptina, que aumentam a recaptação da 5-HT, também exercem efeito antidepressivo (HINDMARCH, 2002), contrariando os princípios dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS).

3.3. Hipótese inflamatória

Levando-se em consideração as restrições da hipótese monoaminérgica e a heterogeneidade da depressão maior, diversas linhas de pesquisa tem evidenciado que o sistema imune também influencia no desenvolvimento e manutenção da depressão maior (MAES 2008b; MAES 2011b; DHAL et al., 2014; PAN et al., 2014; YOUNG et al., 2014; GROSSE et al., 2015; HUANG E LING, 2015). De acordo com o modelo proposto por MAES (1999) a depressão pode ser considerada uma desordem psiconeuroimunológica em que o aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias pela ativação do sistema imune periférico é a responsável pelas alterações neuroquímicas, comportamentais e neuroendócrinas encontradas em pacientes depressivos (SCHIEPERS et al., 2005).

As citocinas são um grupo heterogêneo de proteínas de 6 a 70 kDa que são produzidas por células imunocompetentes (principalmente macrófagos, linfócitos, micróglia e astrócitos) com a finalidade de regular as respostas imunes, reparar tecidos danificados e restaurar a homeostase (WOODROFE, 1995; NATHAN, 2002; HAROON et al., 2012; KIM et al., 2015).

Apesar das particularidades, as citocinas podem ser divididas em pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. As principais citocinas pró-inflamatórias são a interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), interferon gama (IFN- γ) e fator de

necrose tumoral alfa (TNF- α), enquanto que as anti-inflamatórias são a interleucina-4 (IL-4) e interleucina-10 (IL-10) (COMMINS et al., 2010).

Os níveis desses mediadores moleculares são normalmente mantidos em condições fisiológicas, mas tendem a aumentar mais de 100 vezes (através da ativação de células gliais) quando o microambiente do sistema nervoso central é submetido a traumas, infecções ou danos teciduais (PITOSSI et al., 1997; LEE et al., 2002; SHENG et al., 2011). Entretanto, o aumento desses mediadores inflamatórios não implica direta e inicialmente no dano tecidual neuronal, já que o principal objetivo das citocinas é de restaurar a integridade do sistema nervoso central (KIM et al., 2015).

Considerando essa ativação periférica, o cérebro não pode mais ser considerado um órgão isolado das células imune circulantes, sugerindo-se que há comunicação entre o sistema imune periférico e o sistema nervoso central através da barreira cérebro sangue (SCHIEPERS et al., 2005). Devido ao seu relativo alto peso molecular, as citocinas não atravessam facilmente a barreira cérebro-sangue (HAROON et al., 2012). Assim, elas são capazes de chegar no sistema nervoso central por meio de diferentes mecanismos (Figura 3): a) através dos órgãos circumventriculares, que possuem a barreira cérebro-sangue permeável devido a presença de capilares fenestrados; b) através da ativação de nervos cranianos sensoriais/aférentes em contato com a barreira cérebro-sangue intacta; c) através de proteínas transportadoras presentes na barreira cérebro-sangue; d) através da produção de citocinas pelas células endoteliais que constituem a barreira cérebro-sangue, caracterizando esse mecanismo como a principal fonte de citocinas centrais. (QUAN et al., 1998; VITKOVIC et al., 2000; ROMEO et al., 2001; SCHILTZ E SAWCHENKO, 2002; BANKS, 2006; VERMA et al., 2006; SERUGA et al., 2008; KIM et al., 2015). Assim que as citocinas alcançam o cérebro, ocorre o estímulo das células gliais (astrócitos e microglia) e dos neurônios, os quais também passam a produzir citocinas, sendo a microglia a principal região produtora de citocinas (MILLER et al., 2009).

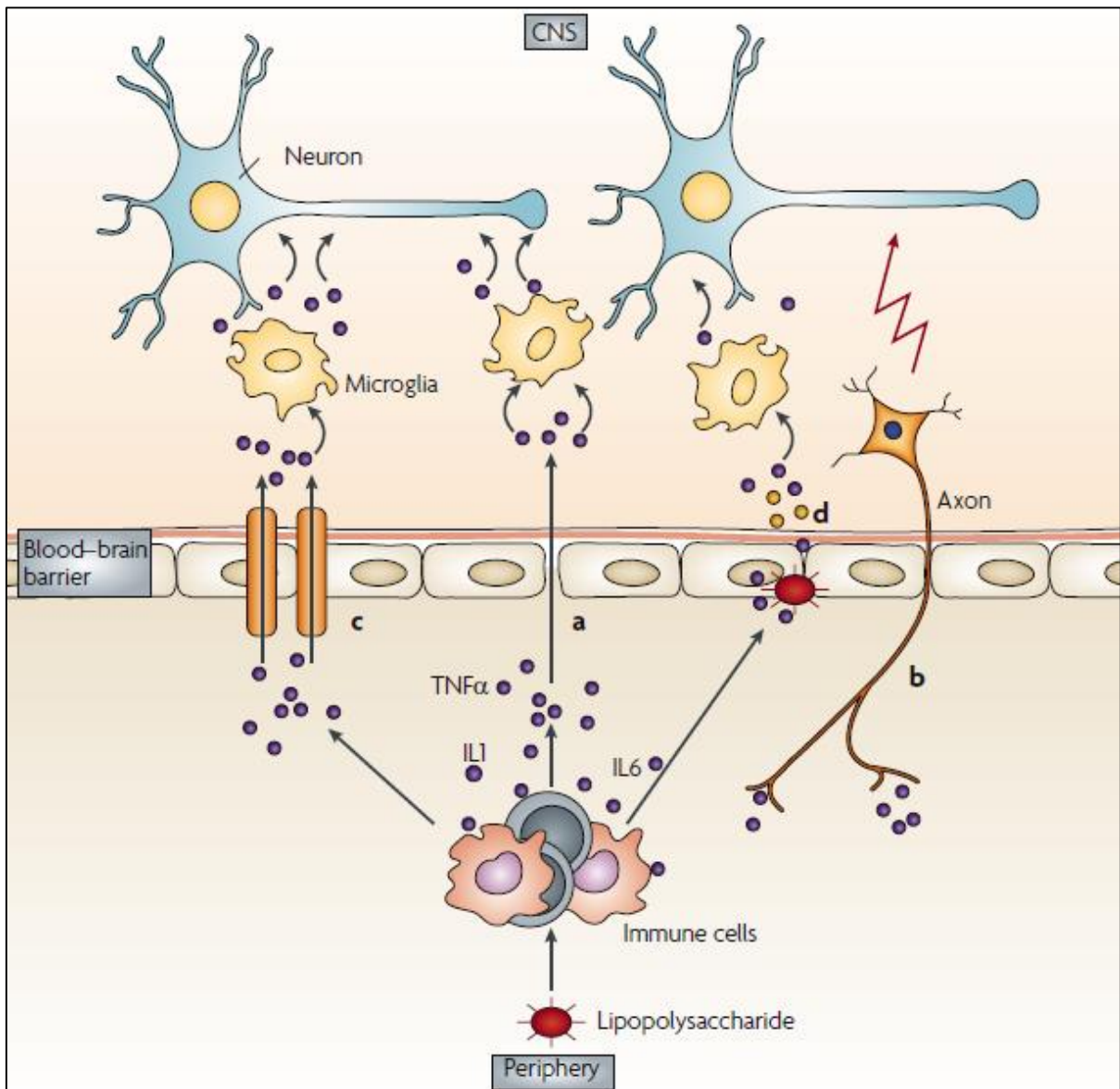


Figura 3. Vias de comunicação entre o sistema periférico e o sistema nervoso central durante uma condição de infecção causada pela administração de lipopolissacarídeo. (a) órgão circunventriculares, (b) nervos cranianos sensoriais/aférentes, (c) transportadores, (d) células endoteliais. Fonte: SERUGA et al. (2008). IL1: interleucina 1; IL6: interleucina 6; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; CNS: sistema nervoso central.

A relação entre a produção de citocinas e as alterações comportamentais e neurofisiológicas encontradas em pacientes depressivos ocorre, principalmente, através de alterações no metabolismo das monoaminas (HAROON et al., 2012). Diversos estudos em humanos e modelos animais reportaram que a administração aguda ou crônica de citocinas é capaz de alterar significativamente os sistemas

dopaminérgico, noradrenérgico, serotoninérgico e glutamatérgico (ANISMAN et al., 2008; MILLER et al., 2009).

Sabe-se que as principais citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IFN- γ) são capazes de ativar a enzima indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO) através da via das proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAPK) e do fator de transcrição nuclear NF kappa B (NF- κ B), por exemplo (PEMBETON et al., 1997). Essa enzima é expressa em neurônios, microglia, astrócitos, macrófagos e células dendríticas, sendo responsável pelo metabolismo do triptofano (aminoácido precursor da 5-HT) a quinurenina (GUILLERMIN et al., 2005; HAROON et al., 2012). Assim, a ativação da IDO reduz a disponibilidade do triptofano no sistema nervoso central, prejudicando a neurotransmissão serotoninérgica.

HAROON (2012) também reportou outra cascata de sinalização capaz de influenciar o metabolismo das monoaminas: a ativação da MAPK p38 pelas citocinas pró-inflamatórias. Essa ativação aumenta a expressão do transportador de 5-HT (SERT) e de DA, os quais tem a função de recaptar os neurotransmissores da fenda sináptica, reduzindo sua disponibilidade. Vale destacar que o modelo animal de administração de LPS promove o aumento da atividade do SERT, evidenciado pelo aumento no tempo de imobilidade no TSC e TNF, o qual é reduzido com o uso de um antagonista da p38 (ZHU et al., 2010).

Além disso, é importante destacar a função da tetrahydrobiopterina (BH₄) no sistema nervoso central. A BH₄ é um cofator enzimático para a tirosina hidroxilase e triptofano hidroxilase, as quais são enzimas envolvidas na síntese da DA/NA e 5HT, respectivamente (NEURAUTER et al., 2008). Esse cofator é bastante sensível à oxidação, e estudos tem demonstrado que o INF- α e a IL-6 reduzem a concentração de BH₄ no sistema nervoso central, reduzindo a disponibilidade das monoaminas em estruturas cerebrais importantes (KITAGAMI et al., 2003; LI et al., 2003; NEURAUTER et al., 2008).

Depois de SMITH (1991) ter postulado que a inflamação causada pela ativação dos macrófagos tem um papel fundamental na patofisiologia da depressão, diversos estudos clínicos e em modelos animais tem sido realizados para confirmar essa associação (KIM E MAES, 2003; ANISMAN et al., 2009; KUBERA et al., 2011). As

meta análises recentes tem demonstrado que citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β , TNF- α e IL-6 estão aumentadas em pacientes depressivos (no soro, plasma, sistema nervoso central e circulação periférica) quando comparados à pacientes saudáveis (MILLER et al., 2009; DOWLATI et al., 2010; AZAR E MERCER, 2013). Além disso, fármacos antidepressivos apresentam efeito anti-inflamatório em pacientes depressivos e modelos animais de depressão (MAES, 1999; KUBERA et al., 2000), ao passo que drogas anti-inflamatórias que bloqueiam a produção de citocinas pró-inflamatórias (através da inibição enzimática da cicloxigenase-2, por exemplo) possuem efeito antidepressivo (MULLER et al., 2009). Entretanto, algumas evidências indicaram que os níveis de IL-1 β no fluído cérebro espinhal não são alterados em pacientes com depressão maior (BRAMBILLA E MAGGIONI, 1998; DOWLATI et al., 2010; KAGAYA et al., 2001; MARTINEZ et al., 2012).

Embora a hipótese inflamatória na desordem depressiva seja bastante aceita, os resultados encontrados em pacientes depressivos ainda são controversos (PAN et al., 2014). Nesse sentido, é de grande importância que se estabeleça modelos animais adequados para estudar os mecanismos imunológicos envolvidos nessa doença, bem como para avaliar a ação de moléculas antidepressivas e/ou anti-inflamatórias. Um dos modelos já validados para elucidar as alterações fisiológicas e comportamentais relacionadas à ativação do sistema imune seguida pela depressão, é a administração do LPS (ENGELAND et al., 2003; DE LA GARZA, 2005; SONG E WANG, 2011).

3.3.1. Lipopolissacarídeo (LPS)

O LPS, caracterizado como uma endotoxina, é o principal componente da membrana externa de bactérias Gram-negativas. Além do envolvimento com a sepse e com o choque térmico (REN et al., 2016), o LPS é conhecido por aumentar significativamente a expressão do RNA mensageiro (mRNA) de citocinas pró-inflamatórias no cérebro, como o TNF- α , IL-1 β e IL-6 (VAN DAM et al., 1992; DANTZER et al., 2008; JANGRA et al., 2014; JUSTO et al., 2015). O aumento das citocinas periféricas induzido pelo LPS é capaz de estimular a síntese de citocinas no sistema nervoso central através da passagem dessas proteínas pela barreira cérebro-sangue caracterizando a neuroinflamação derivada da inflamação sistêmica (QUIN et

al., 2007). O elevado nível circulante de LPS e citocinas pró-inflamatórias é capaz de prejudicar o aprendizado e a memória em animais, provavelmente devido ao aumento do metabolismo dos neurotransmissores DA, 5-HT e NA, que estão envolvidos na regulação do humor, memória, aprendizado e sono (MOHANKUMAR et al., 1991; SHINTANI et al., 1993; SERUGA et al., 2008).

O aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias pelo LPS ocorre através da sua interação com o receptor transmembrana do tipo Toll 4 (TLR4), consequentemente ativando as vias intracelulares do NF- κ B e MAPK, que também aumentam a formação de ER (HOSHINO et al., 1999). Interessantemente, a ativação dos TLR4 está envolvida com várias desordens psiquiátricas, como a depressão maior, autismo, esquizofrenia e desordem bipolar (MAES et al., 2008a; ENSTROM et al., 2010; MCKERNAN et al., 2011; HUNG et al., 2014). No sistema nervoso central os TLRs se encontram nas células da micróglia localizadas nos órgãos circunventriculares e nos plexos coroides, respondendo a padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) através do aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias (QUAN et al., 1998; DANTZER et al., 2008).

Diversos estudos têm indicado que a administração sistêmica (aguda ou crônica) de LPS induz alterações comportamentais semelhantes àsquelas encontradas na depressão maior, como a anedonia, redução na atividade locomotora e exploratória, letargia, ansiedade e perda de peso (MILLER et al., 2009; IWATA et al., 2013). Esse comportamento tipo-depressivo induzido por LPS se manifesta 24 h após a administração da endotoxina, e pode ser avaliado através do aumento no tempo de imobilidade no TSC e TNF (CUSTÓDIO et al., 2013; OHGI et al., 2013; ZHU et al., 2015).

Nesse sentido, o uso de moléculas antidepressivas e/ou anti-inflamatórias pode ser capaz de reduzir as alterações neurobiológicas causadas pelo LPS (WANG et al., 2014; ZHU et al., 2015). Na verdade, diversos antidepressivos clássicos possuem efeitos anti-inflamatórios, como a venlafaxina (inibidor da receptação da 5-HT e NA), a paroxetina e a sertralina (inibidores seletivos da receptação da 5-HT) (KUBERA et al., 2001; HORIKAWA et al., 2010). Além disso, vale destacar que os fármacos fluoxetina (inibidor seletivo da receptação da 5-HT), paroxetina, venlafaxina e

duloxetina (inibidor da receptação de 5-HT e NA) são capazes de reduzir os níveis de TNF- α e aumentar os níveis de IL-10 no soro de camundongos tratados com 0.5 mg/Kg de LPS (OHGI et al., 2013).

Além da neuroinflamação, a administração de LPS também contribui com o desenvolvimento do estresse oxidativo. Segundo o estudo *in vitro* de SWARNAKAR et al. (2009), o LPS nas doses de 1, 25 e 50 μ g foi capaz de aumentar os níveis de malondialdeído (MDA) no córtex, hipocampo, estriado e mesencéfalo de ratos, ao passo que diminuiu os níveis de glutathiona reduzida (GSH) no córtex, estriado e mesencéfalo dos animais. Similarmente, a administração intraperitoneal de LPS na dose de 0,83 mg/Kg aumentou os níveis de MDA no córtex e hipocampus dos camundongos, também reduzindo os níveis de GSH (SULAKHYIA et al., 2014).

3.4. Hipótese do estresse oxidativo

O estresse oxidativo é caracterizado como uma condição de desequilíbrio em que há produção excessiva de ER de oxigênio e nitrogênio, juntamente com a redução nas defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1995).

Os compostos antioxidantes são classificados como moléculas (presentes em baixas concentrações) capazes de prevenir a oxidação de diferentes substratos, como proteínas, lipídios e DNA (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1995). Essa oxidação ocorre pela ação das ER, formadas principalmente na cadeia transportadora de elétrons mitocondrial através da redução parcial do oxigênio molecular (PANDYA et al., 2013). Posteriormente, o oxigênio parcialmente reduzido passa por diversas reações que levam a formação de outras ER, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), e radical hidroxil (OH) (Figura 4).

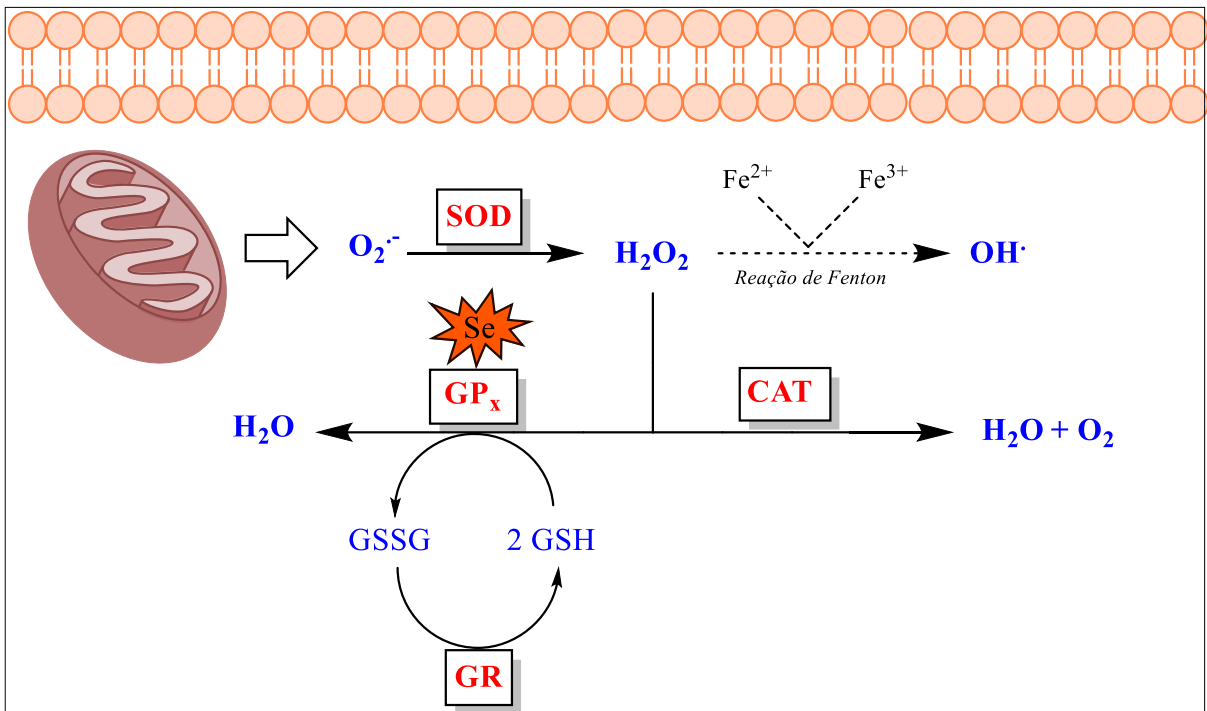


Figura 4. Principais espécies reativas e enzimas antioxidantes presentes no ambiente celular. A primeira espécie reativa (ER) formada na cadeia transportadora de elétrons é o radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$). A superóxido dismutase (SOD) é responsável por dismutar esse radical formando peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 não é um radical livre, mas sim uma espécie reativa capaz de participar da reação de Fenton e formar o radical hidroxil (OH^{\cdot}), o mais danoso às biomoléculas. A decomposição de peróxido ocorre pela ação da catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx). A conversão da glutatona oxidada (GSSG) novamente à glutatona reduzida (GSH) ocorre pela ação da glutatona redutase (GR). Vale destacar que a enzima GPx apresenta um átomo de selênio (Se) no seu sítio ativo. Fonte: Própria.

Para evitar os efeitos deletérios causados pelo excesso de ER, nosso organismo conta com a ação de defesas antioxidantes. As defesas enzimáticas são, principalmente, a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx) (MAES et al., 2011b). Os antioxidantes enzimáticos incluem o tripeptídeo GSH, vitamina E (α -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), flavonoides e micronutrientes, como o zinco (Zn) e o selênio (Se) (MAES et al., 2011b; MOYLAN et al., 2014; KIM et al., 2015). Embora as ER sejam conhecidas pelos seus efeitos danosos, vale destacar que elas apresentam diversas atividades fisiológicas, como a sinalização celular, defesa da célula contra infecções, reações de detoxificação e apoptose (ROSSI E ZATTI, 1980; JOHNSON et al., 1996; GHOSH et al., 1997; MAES et al., 2011b).

O cérebro é particularmente vulnerável aos danos causados pelo estresse oxidativo devido à alta concentração de lipídios, alta utilização de oxigênio (e consequentemente maior produção de ER) e reduzidos mecanismos de defesa antioxidante (PANDYA et al., 2013). Essa vulnerabilidade justifica o envolvimento do estresse oxidativo com desordens neurodegenerativas, como o Parkinson e o Alzheimer, e a depressão maior (MAES et al., 2011b).

Considerando-se que a mitocôndria é a principal organela envolvida com a produção de ER, o DNA mitocondrial é especialmente vulnerável ao estresse oxidativo (KIM et al., 2015). A mitocôndria injuriada pelo estresse oxidativo produz mais espécies reativas em resposta a esse dano, formando um ciclo vicioso entre produção de ER e o dano celular, mediado principalmente pela peroxidação lipídica (KOWALTOWSKI E VERCESI, 1999). Nesse processo, as ER levam a peroxidação dos lipídeos na membrana mitocondrial, formando produtos tóxicos como o MDA e o 4-hidroxinonenal, que por sua vez prejudicam a fluidez da membrana (KELLER et al., 1997). A alteração na permeabilidade da membrana desregula o balanço iônico e promove o aumento no influxo de cálcio, ocasionando a morte celular neuronal (KEATIN, 2008; KIM et al., 2015). Além disso, o MDA contribui com a degeneração por reduzir as concentrações mitocondriais de GSH e SOD, aumentar a formação de ER, inibir os complexos I, II e V da cadeia transportadora de elétrons, alterar o metabolismo dopaminérgico e reduzir o reparo de DNA (FENG et al., 2006; LONG et al., 2006; REES et al., 2007; LONG et al., 2009; MAES et al., 2011b).

Diversos estudos têm sugerido uma forte correlação entre a produção de ER e o estresse oxidativo na patofisiologia da depressão maior. Tanto na depressão clínica quanto em modelos animais, é possível observar o aumento na formação de ER, além da formação de TBARS, como o MDA, o qual é um marcador de peroxidação lipídica (MAES et al., 2010; KUBERA et al., 2011). Foram relatados altos níveis de MDA no soro de pacientes depressivos quando comparados à indivíduos saudáveis, sendo que o tratamento com antidepressivos (como a fluoxetina) foi capaz de reduzir esses níveis (KHANZODE, et al., 2003; OZCAN et al., 2004; GALECKI et al., 2009).

É importante destacar que a produção excessiva de ER, a neuroinflamação e o decréscimo nas defesas antioxidantes estão mutuamente relacionados em

pacientes com depressão (KUBERA et al., 2011; MAES et al., 2012). MOYLAN (2014) reportou diversos mecanismos envolvidos nessa interação: macrófagos ativados produzem grandes quantidades de ER e citocinas pró-inflamatórias. A formação das citocinas, como a IL-1 β , TNF- α e IFN- γ , levam a translocação do NF- κ B do citoplasma para o núcleo, estimulando a produção de citocinas no sistema nervoso central. Além disso, essas citocinas estimulam a produção de ER ($O_2^{\cdot-}$) através do complexo da NADPH oxidase. Similarmente, em casos em que há depleção de GSH, a transcrição dessas citocinas pró-inflamatórias é aumentada (HADDAD, 2000). Vale destacar que o NF- κ B o principal fator que modula vias de estresse oxidativo e inflamação (BRASIER, 2006).

3.5. Tratamentos disponíveis

É evidente que a heterogeneidade e o pouco conhecimento a respeito da etiologia da depressão dificultam o estabelecimento de tratamentos eficientes. Apesar disso, os antidepressivos que influenciam a neurotransmissão monoaminérgica ainda são a primeira linha de tratamento utilizada.

Os medicamentos antidepressivos representam 20% das vendas de fármacos que modulam o sistema nervoso central (KRISHNAN E NESTLER, 2008). Embora diversos antidepressivos estejam disponíveis no mercado para tratar a depressão, a demora para exercer o efeito farmacológico e as baixas taxas de remissão tem incentivado a busca por moléculas mais eficientes (KOHLENER et al., 2015). Cerca de 65% dos pacientes depressivos não respondem às primeiras linhas de tratamento disponíveis, e 15% não apresentam remissão da doença mesmo depois de serem utilizadas diferentes estratégias medicamentosas (MURPH et al., 2012; HAMON E BLIER, 2013).

Baseado nas estratégias para aumentar a concentração dos neurotransmissores monoaminérgicos na fenda sináptica, as principais classes de fármacos antidepressivos utilizados são (Tabela 1): (i) os inibidores seletivos da receptação da 5-HT (ISRS); (ii) antidepressivos atípicos; (iii) inibidores da receptação da 5-HT e NA (ISRN); (iv) inibidores seletivos da receptação da NA; (v)

antidepressivos tricíclicos e (vi) inibidores da monoaminas oxidase (IMAOs) (FAVA E KENDLER, 2000).

Tabela 1. Principais estratégias farmacológicas utilizadas no tratamento da depressão maior que influenciam o sistema monoaminérgico.

Fármacos antidepressivos	Mecanismo de ação	Exemplos
Inibidores seletivos da receptação da 5-HT (ISRS)	Inibição da receptação pré-sináptica da serotonina através do bloqueio dos transportadores, ocasionando o aumento da concentração de 5-HT na área somatodendrítica dos neurônios serotoninérgicos	Citalopran, Fluoxetina, Sertralina, Paroxetina
Antidepressivos atípicos	Aumento na concentração das monoaminas através de efeitos farmacológicos variados, incluindo modulação dopaminérgica	Trazodona, Bupropiona, Nefazodona
Inibidores da receptação da 5-HT e NA (ISRN)	Inibição da receptação da serotonina e noradrenalina por bloqueio de transportadores	Venlafaxina, Duloxetina
Inibidores seletivos da receptação da NA	Inibição dos transportadores de noradrenalina	Reboxetina
Antidepressivos tricíclicos	Inibição da receptação das monoaminas 5-HT e NA nos terminais adrenérgicos e serotoninérgicos	Imipramina, Desimipramina, Doxepina, Clomipramina
Inibidores da monoaminas oxidase (IMAOs)	Aumentam a disponibilidade de NA, 5-HT, DA por reduzirem seu metabolismo através da inibição das monoaminas oxidases intracelulares	Moclobemida, Selegilina, Tranilcipromina

Fonte: Adaptado de JARRETT E RUSH (1994); FAVA E ROSEMBAUM (1995); FAVA E KENDLER (2000); BATEMAN (2011) e ATTARD (2012).

Vale destacar que os antidepressivos tendem a exercer parte do seu efeito farmacológico através da modulação das vias oxidativas e inflamatórias envolvidas com a depressão: o efeito anti-inflamatório dos antidepressivos ocorre pois eles reduzem a produção de TNF- α , IL-12 e IFN γ , ao passo que aumentam a produção de IL-10 (MAES et al., 2012).

Assim, considerando essa constante busca por moléculas mais eficientes, é importante destacar que o selênio e compostos contendo selênio apresentam propriedades neuroprotetoras interessantes (SANMARTIN et al., 2011).

3.6. Selênio (Se)

O selênio (Se) é um micronutriente essencial, obtido na dieta, que pode ser encontrado em castanhas, salmão, atum, carne e cereais (SANMARTÍN et al., 2011). O Se é incorporado em 25 selenoproteínas humanas na forma de selenocisteína (Sec), a qual é codificada pelo códon UGA (HATFIELD E GLADYSHEV, 2002; KRYUKOV et al., 2003; KUDVA et al., 2015). A exata função biológica das selenoproteínas ainda não está completamente elucidada, mas sabe-se que essas proteínas são essenciais para a vida, uma vez que modelos animais transgênicos com deleção no gene que codifica o tRNA necessário para a síntese da Sec resulta em morte embrionária (BOSL et al., 1997; REEVES E HOFFMANN, 2009). Além disso, o metabolismo do Se é diferente no cérebro: em condições de deficiência de Se, o cérebro armazena o micronutriente de uma maneira melhor do que os outros órgãos, sugerindo que o Se exerce funções de grande importância no sistema nervoso central (FINLEY E PENLAND, 1998; BENTON E COOK, 1991; MLYNIEC et al., 2015). Por outro lado, não há nenhuma evidência concreta de que o Se está envolvido com funções fisiológicas chave em fungos e plantas, o que o torna bastante complexo e intrigante na biologia humana (NOGUEIRA E ROCHA, 2011).

Atualmente é bem estabelecido que o Se é imprescindível para a manutenção do estado fisiológico em humanos (RAYMAN et al., 2000). Isso pode ser exemplificado pela doença de Keshan, uma cardiomiopatia endêmica na China que ocorre devido a

deficiência do Se na alimentação da população, a qual pode ser completamente prevenida através suplementação com esse micronutriente (ZHOU et al., 2003).

Embora a deficiência de Se em humanos seja rara, evidências indicam que alterações nas concentrações de Se no organismo podem influenciar diversos mecanismos biológicos, como a resposta imune, neurodegeneração, câncer e doenças cardiovasculares (GROMADZINSKA et al., 2008; HOFFMANN E BERRY, 2008; ROMAN et al., 2014). Nesse sentido, recomenda-se a ingestão diária de aproximadamente 45 µg de Se para adultos, para que as funções biológicas do organismo sejam adequadamente desempenhadas, respeitando o limite de ingestão de 400 µg/dia para evitar a selenose (IOM, 2000; CHRISTENSEN et al., 2015).

Apesar das variadas funções, diversas selenoproteínas são classificadas como agentes antioxidantes, cuja função é atenuar o dano celular causado pelas ER (SANMARTÍN et al., 2011). Dentre essas proteínas, pode-se citar a GPx, a tioredoxina redutase (TRx) e a selenoproteína P (SeIP), as quais tem sido amplamente estudadas devido suas funções na regulação do estado redox da célula (SANMARTÍN et al., 2011; KUDVA et al., 2015).

O envolvimento do estresse oxidativo com diversas desordens neuropsiquiátricas (como o Alzheimer e a depressão maior) já é bem estabelecido. Sabe-se que a SeIP é essencial para a sobrevivência e função neuronal, seja por agir como um antioxidante direto (prevenindo o estresse oxidativo), ou fornecendo Se para a síntese de outras enzimas antioxidantes, como a GPx e TrxR (BELLINGER et al., 2008; SANMARTÍN et al., 2011). Além disso, a suplementação com Se é capaz de melhorar o humor negativo e os sintomas depressivos em pacientes adultos jovens (CONNER et al., 2015). Assim, juntamente com as evidências de que os níveis de SeIP encontram-se reduzidos em condições inflamatórias (como a sepse), e que a atividade da GPx é menor em pacientes depressivos, pode-se sugerir a interação entre depressão, Se, estresse oxidativo e inflamação (Figura 5) (REEVES E HOFMMANN, 2009; MAES et al., 2011b; MERTENS et al., 2015).

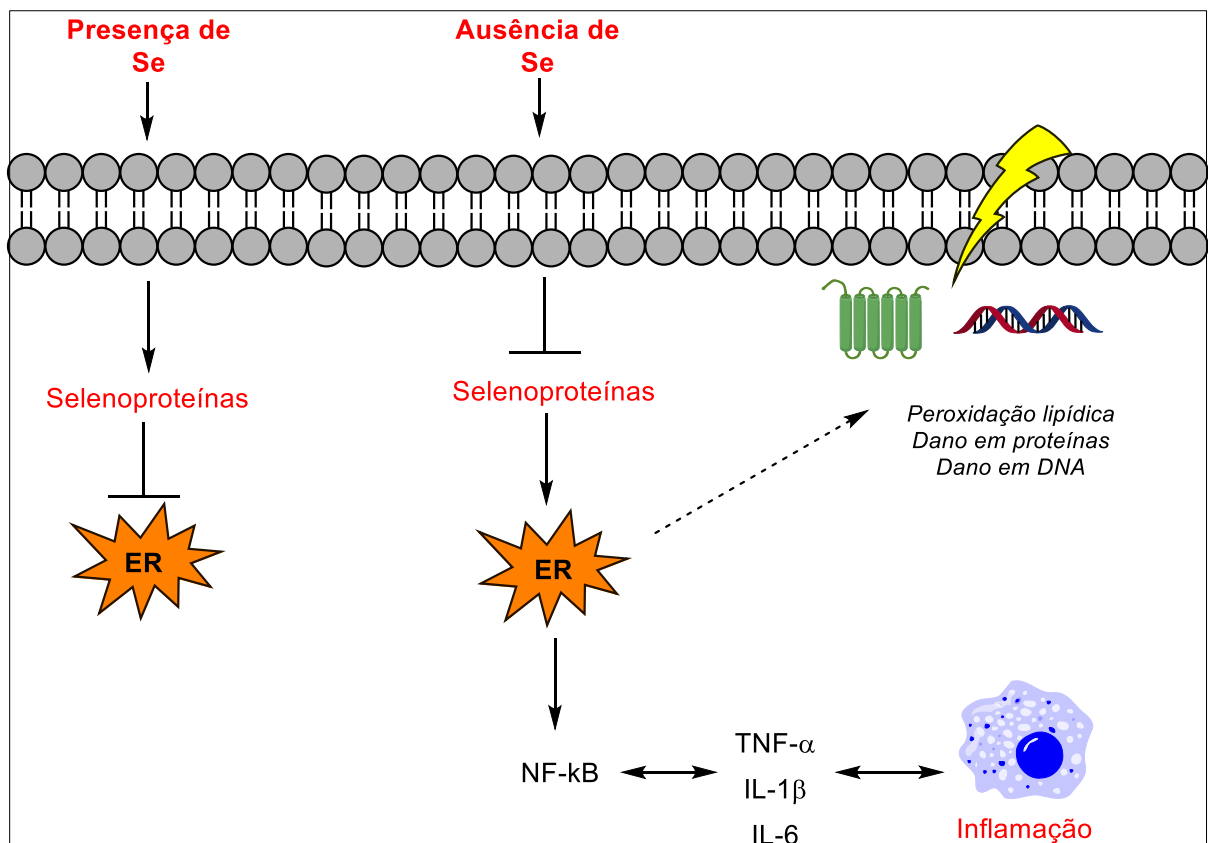


Figura 5. Envolvimento do selênio (Se) na inflamação e estresse oxidativo. (A) O consumo de Se mantém os estados fisiológicos das células através da formação de selenoproteínas com atividade antioxidante que inibem a formação de espécies reativas (ER). (B) A deficiência de Se leva ao aumento na produção de ER (pela redução na atividade das selenoproteínas antioxidantes) e consequente ativação do fator de transcrição nuclear NF-κB. Essa ativação estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e a interleucina 1 beta (IL-1β) que induzem a inflamação. Além disso, as ER causam danos em membranas, proteínas e DNA. Fonte: Própria.

3.6.1. Compostos orgânicos de selênio

Sabendo-se da importância biológica do Se, diversos grupos de pesquisa têm desenvolvido compostos orgânicos contendo Se na tentativa de contribuir com o tratamento de diversas patologias. Dentre os efeitos farmacológicos apresentados por compostos orgânicos de selênio (Figura 6), vale destacar as atividades antioxidante, anti-inflamatória, antidepressiva e neuroprotetora (BORTOLATTO et al., 2013; CHAGAS et al., 2014; WEI et al., 2014; IBRAHIM et al., 2015; BROD et al., 2016).

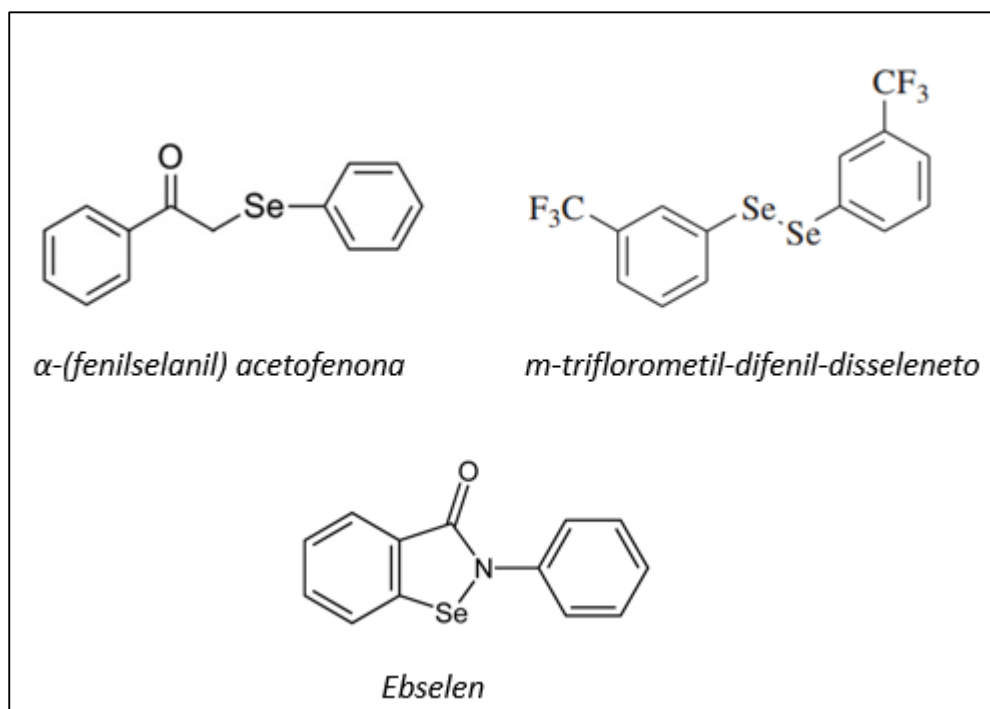


Figura 6. Estrutura de alguns compostos orgânicos de selênio com propriedades farmacológicas.

Na verdade, o grande potencial antioxidante dos compostos orgânicos de Se torna-os bastante atrativos para o desenvolvimento de novas estratégias farmacológicas, já que o estresse oxidativo está fortemente relacionado com diversas desordens psiquiátricas, incluindo a depressão maior. Além disso, moléculas contendo Se tendem a possuir características mais nucleofílicas do que antioxidantes clássicos, impulsionando a síntese e avaliação de novos compostos orgânicos de Se em diferentes modelos experimentais (NOGUEIRA et al., 2004; NOGUEIRA E ROCHA, 2011).

GERZSON et al. (2012) demonstrou que, além do efeito antioxidante *in vitro*, o composto α -(fenilselano) acetofenona possui atividade antidepressiva no TSC e TNF, através da modulação seletiva do sistema serotoninérgico. Adicionalmente, o tratamento agudo e crônico com o composto não causa genotoxicidade em leucócitos de camundongos submetido ao ensaio cometa (CASARIL et al., 2015).

O sistema serotoninérgico, juntamente com o opióide, também está relacionado com o efeito antidepressivo do m-triflorometil-difenil-disseleneto ($m\text{-CF}_3\text{-PhSe}$)₂, o qual também é um inibidor seletivo da monoaminas oxidase A (BRUNING et al., 2011).

Por outro lado, o composto ebselen exerce atividade antidepressiva através do envolvimento com o sistema dopaminérgico e noradrenérgico (POSSER et al., 2009).

As ER e o estresse oxidativo também estão relacionados com desordens inflamatórias ou doenças em que a ativação do sistema imune é um fator etiológico. Portanto, compostos orgânicos de Se com atividade antioxidante e anti-inflamatória representam uma interessante estratégia terapêutica para o tratamento de patologias relacionadas ao sistema imune (NOGUEIRA et al., 2004). O ebselen, por exemplo, possui um perfil farmacológico bastante interessante pois esse composto é capaz de inibir a produção do O_2^- e NO; confere proteção contra o TNF- α através da regulação do NF- κ B e IL-10; e modula a via da c-Jun N-terminal quinase (JNK) em células de Kupfer ativadas com LPS, suprimindo a produção de NO e TNF- α (WANG et al., 1992; TIEGS et al., 1998; SHIMOHASHI et al., 2000).

3.7. Indol

Além dos compostos orgânicos de Se, outra classe de moléculas com propriedades biológicas interessantes são os indóis. Acredita-se que essas são as estruturas heterocíclicas mais abundantes na natureza com ação farmacológica, sendo encontradas por exemplo na estrutura do aminoácido triptofano, do hormônio melatonina e do neurotransmissor 5-HT (Figura 7) (KAUSHIK et al., 2013).

As moléculas contendo a porção indol tem sido empregadas como agentes terapêuticos em diversas desordens neurodegenerativas e inflamatórias, além de apresentarem ação antioxidante, antitumoral e antiproliferativa (GUERRA et al., 2011; KARAASLAN et al., 2013; KLEIN et al., 2014; LOPEZ-IGLESIAS et al., 2014; SHAVETA, 2014; SPALLAROSSA et al., 2015).

Estudos recentes reportaram que o indol-3-carbinol (I3C) (Figura 7) possui efeito anti-inflamatório por inibir a produção de NO e TNF- α em macrófagos estimulados com LPS (TSAI et al., 2010). Similarmente, a molécula sintética HMPH (Figura 7) reduziu a liberação de TNF- α induzido por LPS em macrófagos de camundongos e em células sanguíneas mononucleares periféricas de humanos (MISRA et al., 2015).

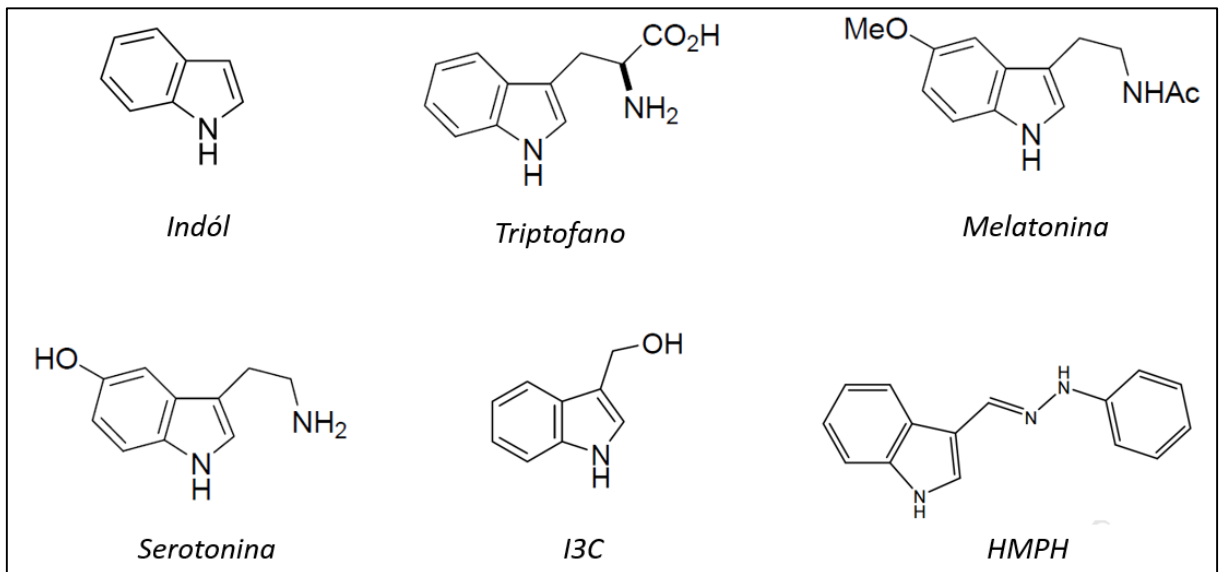


Figura 7. Estrutura do indol e moléculas relacionadas.

Nesse sentido, a síntese de compostos contendo Se e indóis em sua estrutura é uma área de pesquisa bastante interessante, já que a combinação de duas ou mais porções bioativas em uma única molécula é uma estratégia relevante para o desenvolvimento de novos compostos com atividade farmacológica promissora (MARTINEZ et al., 2015).

4. Metodologia

4.1. Compostos

O LPS de *Escherichia coli*, sorotipo 0127:B8 foi obtido da Sigma-Aldrich., St Louis USA, e o CFSeMI (Figura 8) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas. Todos os demais químicos utilizados são de grau analítico.

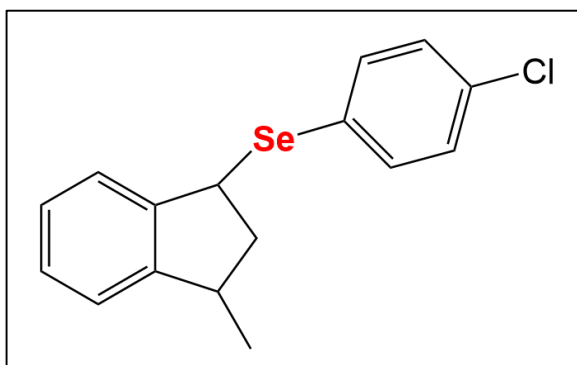


Figura 8. Estrutura química do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol (CFSeMI).

4.2. Animais

Os experimentos foram realizados em camundongos Swiss machos, pesando de 25 - 30g obtidos do Biotério Central da UFPel. Foram mantidos 6 animais por grupo em condições ambientais padrão (22 ± 1 °C e ciclo claro/escuro de 12 h) com livre acesso a água e comida. Todos os procedimentos foram realizados entre as 08:00 e 18:00 h, de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA/UFPel), número 7034-2015.

4.3. Protocolo experimental

Os camundongos foram aleatoriamente divididos em seis grupos experimentais para análises comportamentais. Os tratamentos subsequentes foram (Figura 9):

Grupo 1: Animais tratados com veículo (óleo de canola, v.o) do CFSeMI 30 min antes da administração de salina (0,9%, i.p).

Grupo 2: Animais tratados com veículo (óleo de canola, v.o) do CFSeMI, 30 min antes do desafio com LPS (0,83 mg/Kg, i.p).

Grupo 3: Animais tratados com CFSeMI (20 mg/Kg, v.o) 30 min antes da administração de salina (0,9%, i.p).

Grupo 4: Animais tratados com CFSeMI (50 mg/Kg, v.o) 30 min antes da administração de salina (0,9%, i.p).

Grupo 5: Animais tratados com CFSeMI (20 mg/Kg, v.o) 30 min antes do desafio com LPS (0,83 mg/Kg, i.p).

Grupo 6: Animais tratados com CFSeMI (50 mg/Kg, v.o) 30 min antes do desafio com LPS (0,83 mg/Kg, i.p).

Na sequência, 24 h após o tratamento com LPS ou salina, os animais foram submetidos ao TCA, TSC e TNF, respectivamente.

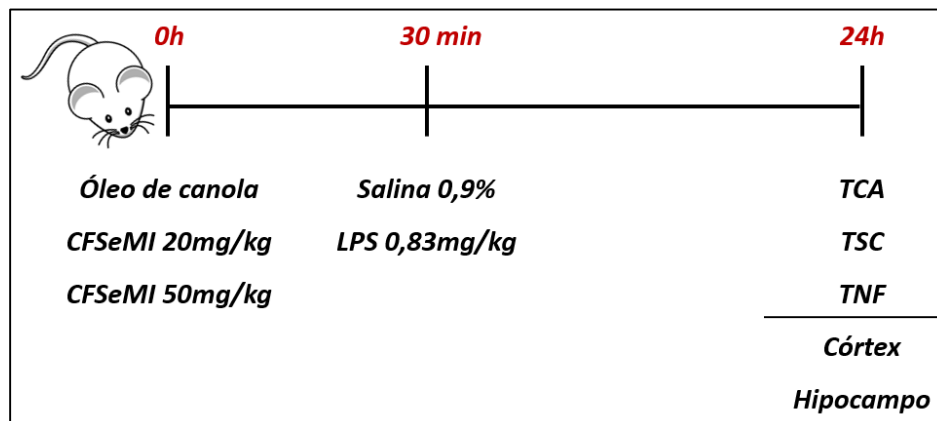


Figura 9. Diagrama esquemático do protocolo experimental utilizado no estudo. LPS, lipopolissacarídeo; TCA, teste do campo aberto; TSC, teste de suspensão da cauda; TNF, teste do nado forçado.

Para as determinações bioquímicas, diferentes animais foram igualmente divididos nos seis grupos experimentais. A estratégia de utilizar diferentes animais evita que os ensaios comportamentais alterem os padrões neuroquímicos dos

animais, aumentando a confiabilidade dos resultados (BOSSU et al., 2012). Para isso, após 24 h da administração de LPS ou salina, os camundongos foram eutanasiados para dissecação do córtex e hipocampo. Os hemisférios direitos foram utilizados para quantificar a expressão da IL-1 β , enquanto que os hemisférios esquerdos foram utilizados para as análises neuroquímicas relacionadas ao estresse oxidativo.

Para a determinação da toxicidade aguda, diferentes animais foram divididos em dois grupos de 5 animais cada, sendo que o primeiro grupo recebeu somente o veículo, e o segundo grupo recebeu uma única dose do CFS_{MI} (200 mg/Kg, v.o). Após 72 h, os animais foram eutanasiados para coleta de sangue por punção cardíaca (para determinação da atividade das enzimas AST, ALT e níveis de creatinina) e remoção do cérebro total, fígado e rins (para análise da atividade enzimática da δ -ALA-D).

4.4. Análises comportamentais

4.4.1. Teste do campo aberto (TCA)

O TCA (WALSH E CUMMINS 1976) foi realizado antes das outras avaliações de comportamento. Esse teste é usado para mensurar alterações comportamentais em roedores expostos a novos ambientes e é usado para confirmar que o efeito antidepressivo utilizado não ocorre devido a uma estimulação geral da atividade motora (SANTOS et al., 2011). Os camundongos foram individualmente colocados no centro de uma caixa (30 x 30 x 15 cm) dividida em nove quadrantes de áreas iguais, e observados por 6 min para reportar sua atividade locomotora (através do número de quadrantes cruzados) e exploratória (expressa pelo número de vezes que o animal levantou).

4.4.2. Teste de suspensão da cauda (TSC)

O TSC (Figura 10) foi conduzido de acordo com o método descrito por STERU et al. (1985). Cada camundongo foi individualmente suspenso no topo de uma mesa à 50 cm do chão por uma fita adesiva colocada a aproximadamente 1 cm do topo da

cauda. Após 2 min de adaptação, o tempo de imobilidade de cada camundongo, definido como a ausência do comportamento de tentativa de fuga, foi cronometrado durante 4 min (RODRIGUES et al., 2002; MANTOVANI et al., 2003).

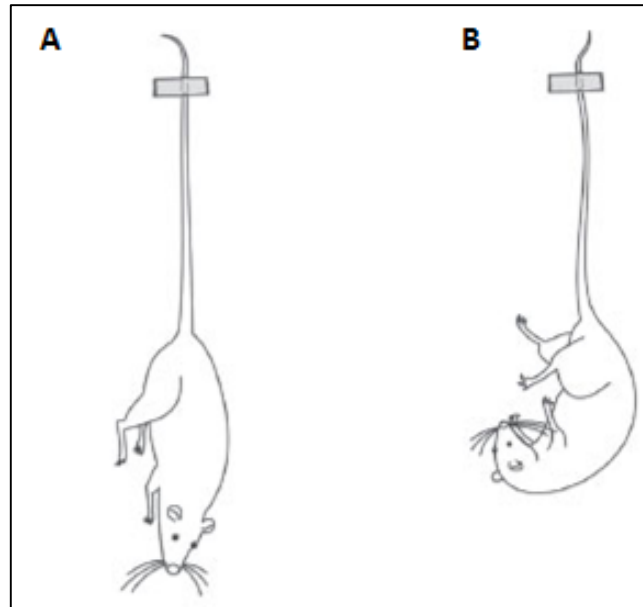


Figura 10. Representação do ensaio do teste de suspensão da cauda em camundongos. (A) Situação de imobilidade e (B) mobilidade. Fonte: Adaptado de ABELAIRA et al., 2013.

4.4.3. Teste do nado forçado (TNF)

O TNF (Figura 11) foi realizado para avaliar o comportamento de desespero dos roedores (PORSOLT et al., 1977). Os camundongos foram individualmente colocados em um cilindro (15 cm de diâmetro, 25 cm de altura) contendo 20 cm de água mantida a 25 ± 1 °C. A água do cilindro foi trocada ao final de cada sessão de nado. Após habituação de 2 min, o tempo de imobilidade (em segundos) dos animais foi observado durante 4 min. Os camundongos foram considerados imóveis quando cessaram todos os movimentos de nado, mergulho e escalada, realizando apenas movimentos necessários para manter sua cabeça ou nariz acima da água. Nesse estudo, dois observadores treinados, cegos aos tratamentos dos grupos, avaliaram o comportamento dos animais.

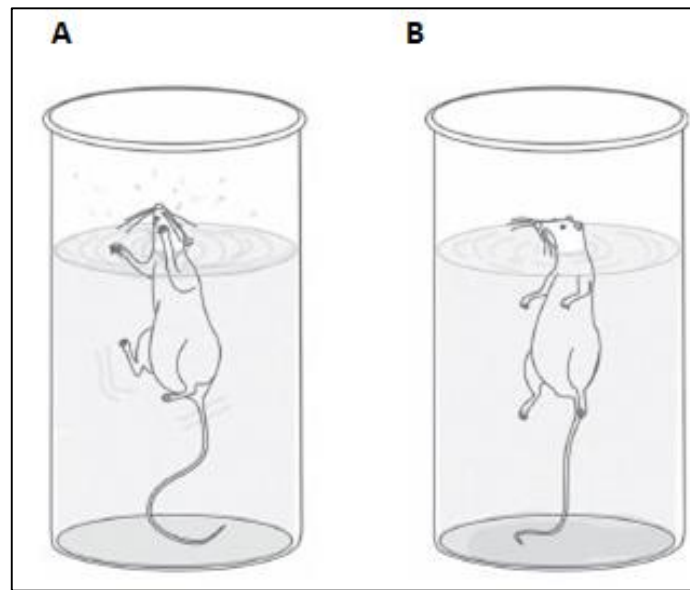


Figura 11. Representação do ensaio do teste do nado forçado em camundongos. (A) Situação de mobilidade e (B) imobilidade. Fonte: Adaptado de ABELAIRA et al., 2013

4.5. Análises bioquímicas

Os animais foram eutanasiados 24 h após a administração de LPS. Os cérebros foram rapidamente removidos, e o hipocampo e o córtex pré-frontal foram separados para as análises. Os hemisférios direitos foram imersos em 500 μ L de Trizol, armazenados a -80 °C, e utilizados para o ensaio de qRT-PCR. Os hemisférios esquerdos foram homogeneizados em tampão Tris-HCl (50 mM, pH 7,4), os quais foram posteriormente submetidos às análises bioquímicas.

4.5.1. Quantificação de espécies reativas (ER)

A quantificação das ER formadas no hemisfério esquerdo do córtex e hipocampo dos camundongos submetidos ao tratamento foi realizada de acordo com o método de LOETCHUTINAT et al. (2005). Brevemente, 10 μ L de DCHF-DA (2,7-diclorodihidrofluoresceína-diacetato) 1 mM foi incubado juntamente com 10 μ L de tecido e 2990 μ L de tampão Tris-HCl 10 mM pH 7,4. A oxidação da DCHF-DA à forma fluorescente diclorofluoresceína (DCF) é medida para a detecção de ER intracelulares

(Figura 12). A intensidade da fluorescência é medida com emissão de 520 nm e excitação de 480 nm e os resultados são expressos como unidades de fluorescência.

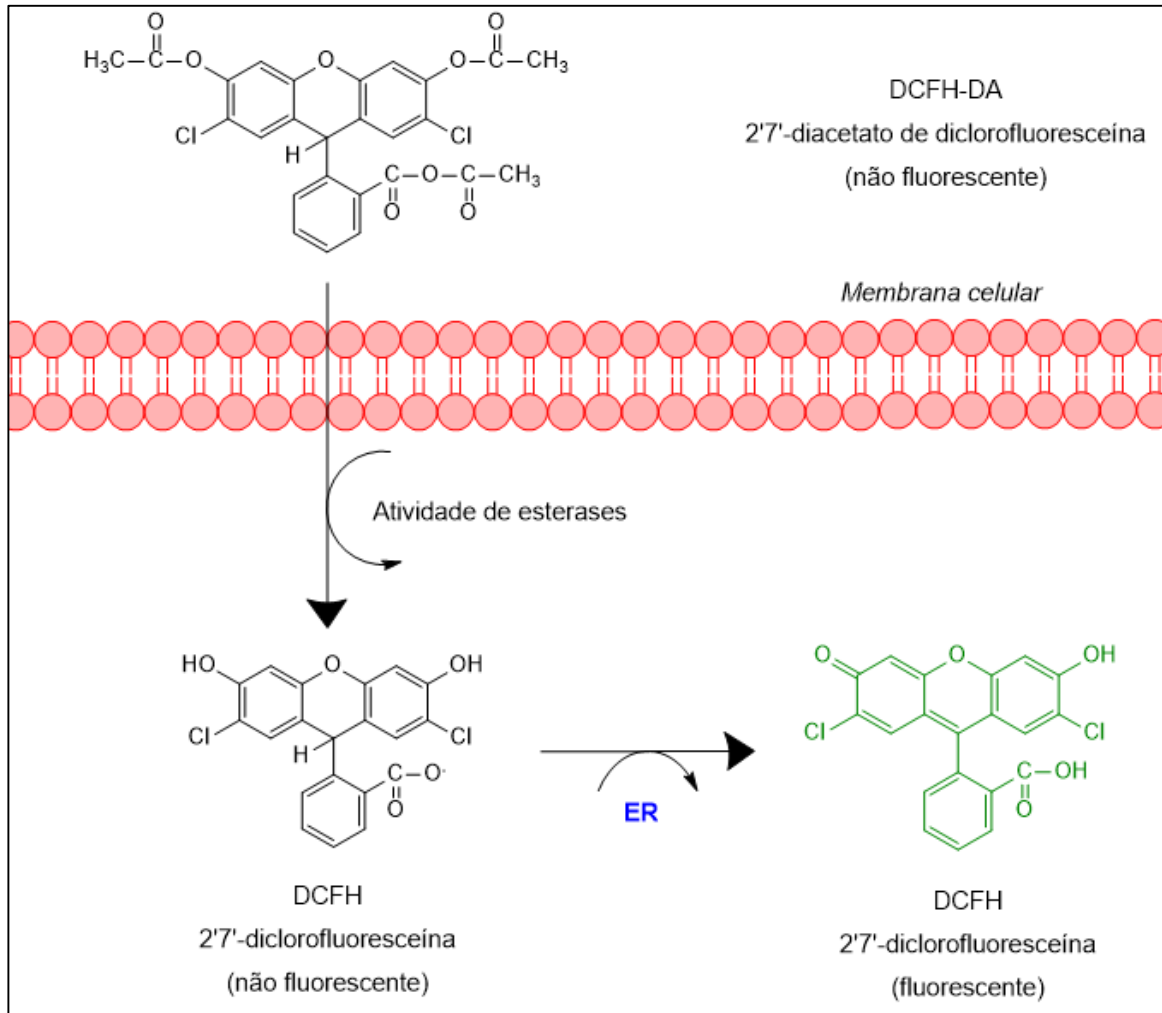


Figura 12. Ensaio espectrofluorimétrico de quantificação de espécies reativas (ER). DCFH-DA: 2',7'-diacetato de diclorofluoresceína; DCFH: 2',7'-diclorofluoresceína.

4.5.2. Ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A peroxidação lipídica no córtex e hipocampo dos camundongos foi avaliada através da quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com OHKAWA et al., (1979) com algumas modificações. Uma alíquota de 10 μ L de hipocampo e 20 μ L de córtex do homogenato foi incubada com 8,1% de SDS (dodecil sulfato de sódio), 0,8% de ácido tiobarbitúrico (TBA) e ácido acético/HCl (pH 3,4) a 95 °C por duas horas. A formação de MDA complexado com o TBA foi utilizada

como um biomarcador de peroxidação lipídica (Figura 13). A absorbância das amostras foi mensurada a 532 nm, e os resultados foram expressos em nmolMDA/gTecido.

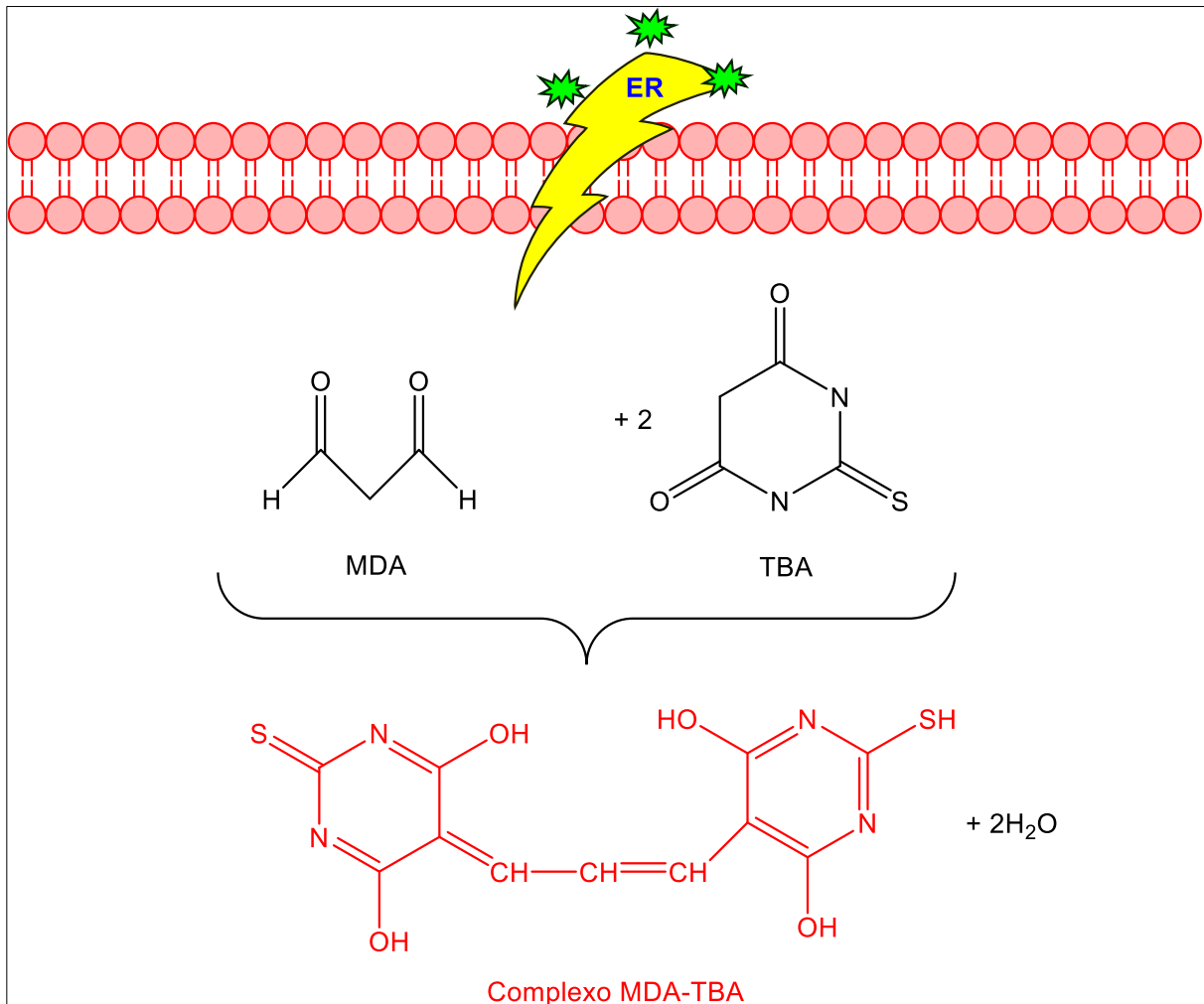


Figura 13. Representação do princípio do método do ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O dano nas membranas causado pelas espécies reativas (ER) produz malondialdeído (MDA), que ao se complexar com o ácido tiobarbitúrico (TBA) forma um cromóforo rosa que pode ser medido espectrofotometricamente como um biomarcador da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e peroxidação das membranas. Fonte: Própria.

4.5.3. Avaliação da expressão da interleucina 1 beta pela reação em cadeia da polimerase em tempo real via transcriptase reversa (qRT-PCR)

O perfil de expressão genica da IL-1 β no córtex e hipocampo dos camundongos submetidos ao tratamento com CFSeMI e LPS foi analisado através de qRT-PCR.

Brevemente, amostras de RNA do hemisfério direito do córtex e hipocampo dos animais foram obtidas utilizando reagente Trizol (Invitrogen™, Carlsbad, USA) seguidas pelo tratamento com DNase com kit DNA-free® (Ambion™, USA) de acordo com o protocolo do fabricante e posterior quantificação do mRNA. A síntese da primeira fita de cDNA foi realizada com 2µg RNA usando o kit High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems™, UK) de acordo com o protocolo do fabricante.

O qRT-PCR foi realizado com 1 µL de cDNA em sistema de tempo real (Analytik Jena, AG, Alemanha), utilizando uma mistura UltraSYBR (COWIN Bioscience Co., Pequim, China) e normalizado com GAPDH. As reações de PCR foram realizadas Stratagene Mx3005P. Após adição dos primers (Tabela 2) e das amostras de RNA, os ciclos de qRT-PCR foram: desnaturação inicial a 95 °C durante 10 min, seguido de 40 ciclos a 95 °C durante 10 s, 58 °C durante 30 s. No final da reação de PCR, uma curva de fusão foi obtida mantendo a 95 °C durante 15 s, arrefecida a 60 °C durante 1 min, e, em seguida, aquecendo lentamente, a 0,5°C/s até 95°C para garantir a amplificação de um único produto. A expressão relativa dos genes de interesse foi calculada e expressa como $2^{-\Delta\Delta CT}$, no qual $2^{-\Delta\Delta CT} = [(CT \text{ do gene alvo} - CT \text{ do controle interno}) \text{ da amostra teste} - (CT \text{ do gene alvo} - CT \text{ do controle interno}) \text{ da amostra controle}]$.

Tabela 2. Primers utilizados no estudo.

Gene	Sequência 5'- 3'
GAPDH	S- AGGTCGGTGTGAACGGATTTG A-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
IL-1β	S-CTGTGTCTTTCCCGTGGACC A-CAGCTCATATGGGTCCGACA

4.6. Determinação dos biomarcadores de toxicidade aguda

Depois de 72 h da administração oral de CFSeMI (200 mg/Kg), os camundongos foram anestesiados para a coleta de sangue por punção cardíaca e posteriormente eutanasiados para remoção do cérebro total, fígado e rim.

O sangue foi coletado diretamente em um tubo contendo heparina sódica e foi centrifugado a 2000 g por 10 min para obtenção do plasma. Por serem consideradas biomarcadores de dano hepático, as enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram quantificadas no plasma dos camundongos através de um kit comercial (LABTEST, Diagnostica, S.A., Brasil) e de acordo com o método de REITMAN E FRANKEL (1957), sendo os resultados expressos em U/L. A determinação dos níveis de creatinina, um biomarcador de dano renal, foi realizada através de um kit comercial (LABTEST, Diagnostica, S.A., Brasil) e os resultados foram expressos em mg/dL.

A enzima δ -ALA-D é um marcador sensível de toxicidade de compostos orgânicos de Se (NOGUEIRA E ROCHA, 2011). A atividade da δ -ALA-D cerebral, hepática e renal foi avaliada de acordo com o método de SASSA (1982) através da quantificação da formação do produto (porfobilinogênio), com algumas modificações. A adição de 2,5 mM do ácido- δ -aminolevulínico indica o início da reação, que foi incubada por 3 h a 37 °C. O produto da reação foi determinado usando o reagente modificado de Ehrlich e medido espectrofotometricamente a 555 nm.

4.7. Análise estatística

Os resultados foram analisados por Análise de Variância ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls, através do software GraphPad Prism 5.0. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão e considerados significativos quando $p < 0,05$.

5. Resultados

5.1. Análises comportamentais

5.1.1. Teste do campo aberto (TCA)

De acordo com a Figura 14, os camundongos submetidos ao pré-tratamento com o CFSeMI seguido de LPS não apresentaram nenhuma alteração locomotora (A) ou exploratória (B) no ensaio do TCA quando comparados ao grupo controle. Similarmente, os demais grupos experimentais não alteraram os parâmetros de locomoção dos animais.

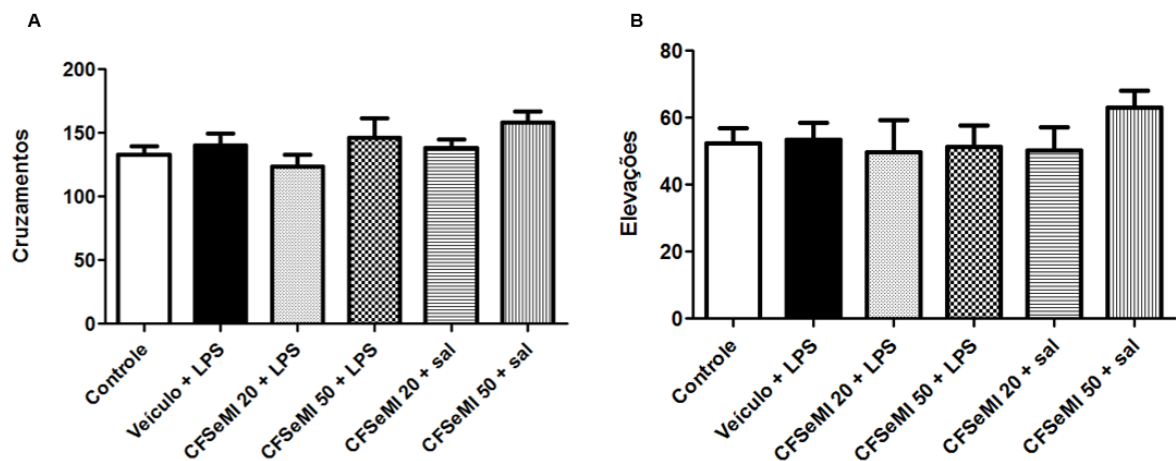


Figura 14. Efeito do pré-tratamento com CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o.) em camundongos desafiados com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/kg, i.p.) nos parâmetros comportamentais de (A) cruzamentos e (B) elevações no teste do campo aberto. Sal: salina. Resultados são expressos como média \pm desvio padrão. As análises foram feitas por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls.

5.1.2. Teste da suspensão da cauda (TSC) e teste do nado forçado (TNF)

A administração de LPS (0,83 mg/kg, i.p) aumentou significativamente o tempo de imobilidade nos camundongos submetido ao TSC (A) e TNF (B) (Figura 15). Esse aumento foi prevenido pela administração oral de CFSeMI (25 e 50 mg/Kg), indicando o efeito antidepressivo do composto. Por outro lado, a administração do composto sem o desafio com LPS não causou nenhuma alteração no tempo de imobilidade no TSC e TNF.

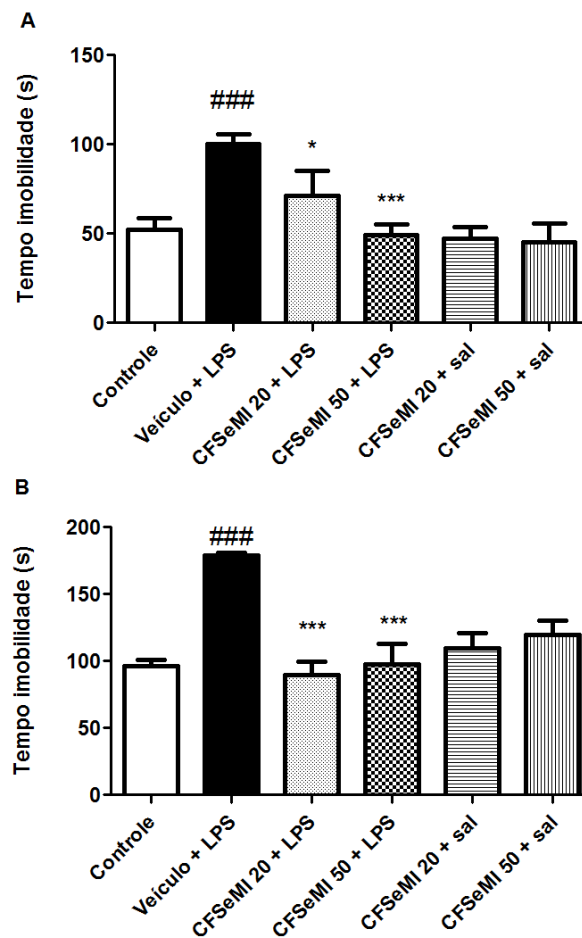


Figura 15. Efeito do pré-tratamento com CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o.) em camundongos desafiados com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/kg, i.p.) no tempo de imobilidade avaliado no teste de suspensão da cauda (A) e teste do nado forçado (B). Sal: salina. Resultados são expressos como média \pm desvio padrão. As análises foram feitas por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls. (###) $p < 0,001$ quando comparado ao controle. (*) $p < 0,05$ e (***) $p < 0,001$ quando comparado ao veículo + LPS.

5.2. Análises bioquímicas

5.2.1. Quantificação das espécies reativas (ER)

Conforme pode-se observar na Figura 16, o desafio com LPS aumentou a produção de ER tanto no córtex (A) quanto no hipocampo (B) dos camundongos. O pré-tratamento com CFSeMI nas doses de 20 e 50 mg/Kg foi capaz de prevenir a indução na formação de ERO pela endotoxina. Entretanto, a administração do composto sozinho não influenciou a formação de ER, mantendo valores similares ao controle.

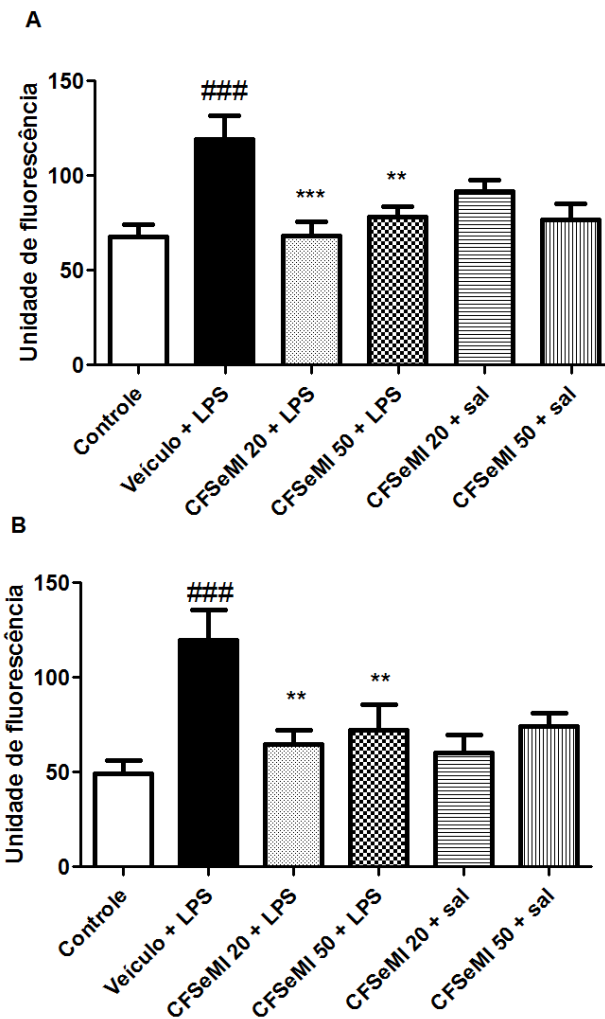


Figura 16. Quantificação das espécies reativas formadas no córtex (A) e hipocampo (B) dos camundongos pré-tratados com CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o.) e posteriormente desafiados com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/Kg, i.p). Sal: salina. Resultados são expressos como média \pm desvio padrão. As análises foram feitas por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls. (###) $p < 0,001$ quando comparado ao controle. (**) $p < 0,01$ quando comparado ao veículo + LPS.

5.2.2. Ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A avaliação da peroxidação lipídica através do TBARS (Figura 17) demonstrou que a administração intraperitoneal de LPS aumentou significativamente a oxidação de lipídeos tanto no córtex (A) quanto no hipocampo (B) dos camundongos. O pré-tratamento com CFSeMI, na dose de 20 e 50 mg/Kg, foi capaz de prevenir esse dano nas duas estruturas cerebrais. A administração do composto em camundongos não desafiados não alterou os valores de peroxidação lipídica.

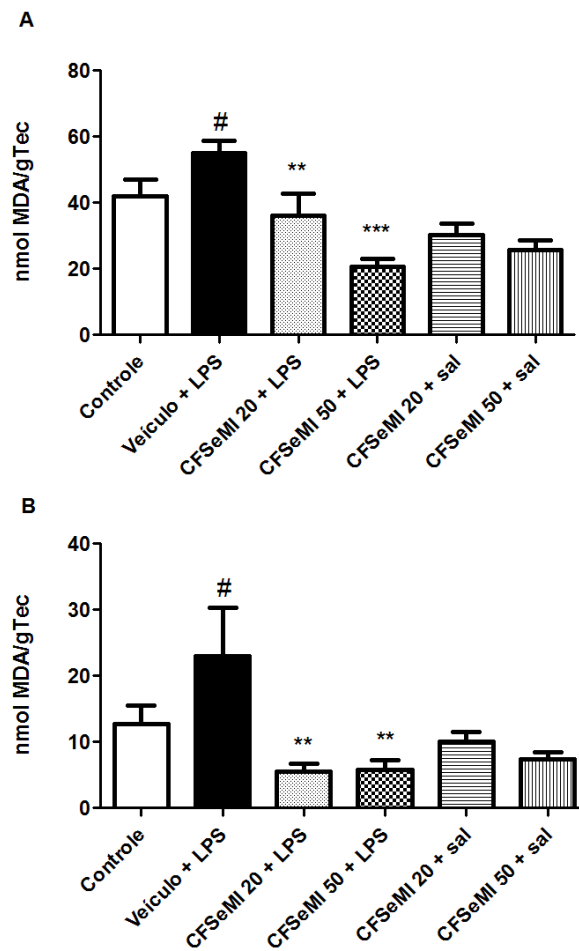


Figura 17. Níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico no córtex (A) e hipocampo (B) de camundongos pré-tratados com CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o) antes do desafio com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/kg, i.p.). Sal: salina. Resultados são expressos como média \pm desvio padrão. As análises foram feitas por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls. (#) $p < 0,05$ quando comparado ao controle. (**) $p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$ quando comparado ao veículo + LPS.

5.2.3. Avaliação da expressão da interleucina 1 beta pela reação em cadeia da polimerase em tempo real via transcriptase reversa (qRT-PCR)

Os níveis de expressão da IL-1 β no córtex (A) e hipocampo (B) dos camundongos avaliados por qRT-PCR estão demonstrados na Figura 18. Pode-se notar que a administração intraperitoneal de LPS aumentou a expressão da IL-1 β nas duas estruturas cerebrais, quando comparados ao grupo controle. O pré-tratamento com CFSeMI nas doses de 20 e 50 mg/Kg conseguiu prevenir o aumento da

expressão tanto no córtex quanto no hipocampo. Por outro lado, a administração apenas do composto não alterou a expressão da interleucina.

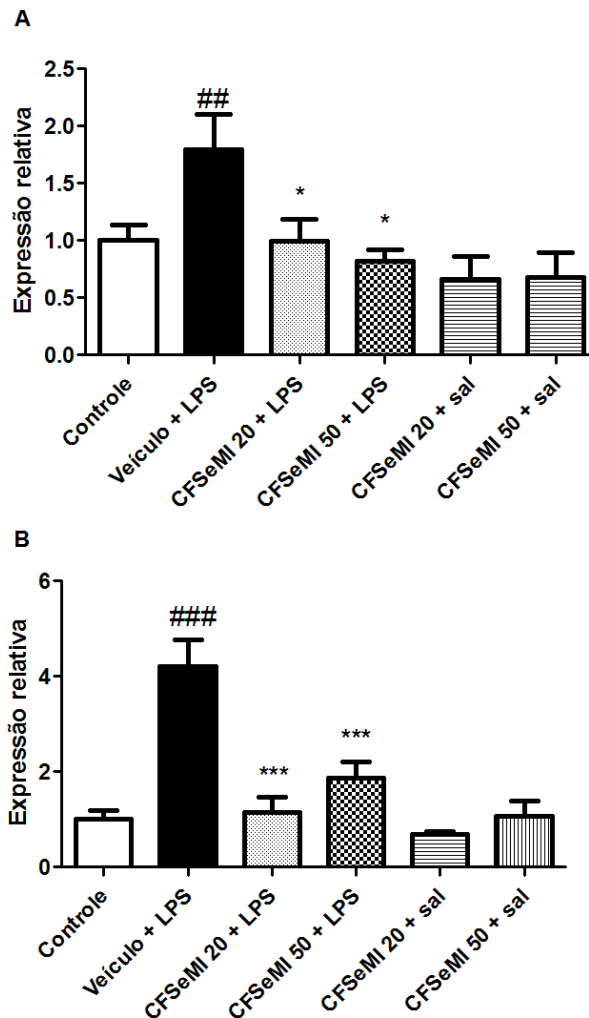


Figura 18. Expressão gênica da interleucina 1 beta no córtex (A) e hipocampo (B) de camundongos pré-tratados com o CFSeMI (20 e 50 mg/Kg, v.o.) antes do desafio com lipopolissacarídeo (LPS 0,83 mg/Kg, i.p.). Sal: salina. Resultados são expressos como média \pm desvio padrão. As análises foram feitas por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls. (##) $p < 0,01$ e (###) $p < 0,001$ quando comparado ao controle. (*) $p < 0,05$ e (***) $p < 0,001$ quando comparado ao veículo + LPS.

5.2.4. Determinação dos biomarcadores de toxicidade aguda

De acordo com a Tabela 3, podemos observar que a administração oral de CFSeMI na dose de 200 mg/Kg não alterou nenhum parâmetro de toxicidade hepática, renal e cerebral, quando comparado ao grupo controle.

Tabela 3. Efeito da administração oral do CFSeMI (200 mg/Kg) em parâmetros bioquímicos de camundongos.

		Grupos	
		Controle	200 mg/kg
AST		75,00 ± 15,03	54,40 ± 3,36
ALT		64,40 ± 7,36	72,75 ± 12,04
Creatinina		1,37 ± 0,53	0,52 ± 0,29
	Cérebro	0,42 ± 0,04	0,51 ± 0,05
δ-ALA-D	Fígado	4,33 ± 1,62	4,80 ± 0,76
	Rim	1,56 ± 0,56	1,60 ± 0,50

A atividade da ALT e AST foram expressas em U/L. O nível de creatinina foi expresso em mg/dL. A atividade da δ-ALA-D foi expressa em nmolPBG/mg/protein/h. Os dados são reportados como média ± desvio padrão. As análises foram feitas por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls.

6. Discussão

A depressão maior é uma desordem neuropsiquiátrica comum e recorrente, associada com altos índices de incapacidade e mortalidade (GUO et al., 2014). O estabelecimento dessa doença depende de interações complexas entre fatores biológicos, sociais e psicológicos (SULAKHIYA et al., 2014). Além disso, diversas linhas de pesquisa têm evidenciado que a depressão maior está associada com a ativação de uma resposta imune (mediada por citocinas pró-inflamatórias) e presença de estresse oxidativo (MAES et al., 2008a; MAES, 2008b; MAES, 2011a).

As alterações imunológicas e oxidativas causadas pela administração sistêmica do LPS contribuem para a consolidação desse modelo animal de depressão maior. Estudos já demonstraram que essa endotoxina causa alterações comportamentais similares aquelas encontradas em pacientes com depressão maior, como a anedonia, distúrbios de sono e alterações neuroendócrinas (SULAKHIYA et al., 2014). Assim, o comportamento depressivo de camundongos tratados com LPS pode ser mensurado através do aumento do tempo de imobilidade no TSC e TNF, o qual pode ser reduzido com a administração de compostos antidepressivos (YIRMIYA, 1996; GARATE et al., 2013; JIANG, et al., 2013; MELLO et al., 2013; OHGI et al., 2013; SULAKHIYA et al., 2014; LI et al., 2015).

Nesse sentido, os resultados desse projeto estão de acordo com trabalhos prévios, uma vez que se demonstrou que 24 h após a administração intraperitoneal de LPS, os camundongos apresentam aumento no tempo de imobilidade no TSC e TNF. Além disso, os resultados indicaram que a administração oral do CFSeMI nas doses de 20 e 50 mg/Kg reduziu o comportamento tipo-depressivo causado pela administração do LPS, evidenciando o efeito tipo-antidepressivo desse composto orgânico de Se. Vale destacar que as duas doses de CFSeMI juntamente com o LPS não causaram nenhuma alteração psicomotora nos animais, uma vez que não se observou diferença nos parâmetros avaliados no TCA. A administração de 20 e 50 mg/Kg de CFSeMI, sem a indução da depressão, não alterou nenhum parâmetros psicomotores, e também não apresentou efeito tipo-antidepressivo. Esse efeito tipo-antidepressivo do CFSeMI pode estar relacionado ao fato de que sua estrutura é semelhante a estrutura do neurotransmissor 5-HT, e portanto, a modulação do

sistema serotoninérgico pode ser um dos possíveis mecanismos de ação do composto (KAUSHIK et al., 2013).

Além das alterações comportamentais, estudos já comprovaram que a administração sistêmica de LPS também é capaz de ativar a produção de citocinas pró-inflamatórias (pela via do NF- κ B), reduzir o status antioxidante e aumentar a produção de ER (QIN et al., 2007; LEONARD E MAES, 2012). Quando em excesso, as ER podem causar danos em biomoléculas, como as proteínas, lipídeos e DNA (LEONARD E MAES, 2012). Além disso, sabe-se que as ER (principalmente o H₂O₂) são capazes de ativar o NF- κ B através da fosforilação do resíduo Tyr42 no complexo proteico IKK ou da fosforilação dos resíduos de serina 32 e 36 na proteína I κ B α (GLOIRE et al., 2006). Uma vez ativado, o NF- κ B estimula a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , IL-6 e o TNF- α (McKAY E CIDLOWSKI, 1999). Essas proteínas inflamatórias, através de um mecanismo de feedback positivo, também estimulam a ativação do NF- κ B, aumentando ainda mais o envolvimento do sistema imune na depressão maior (LAWRENCE, 2009).

Diversos estudos realizados em humanos e em modelos animais reportaram que a ocorrência da depressão maior é caracterizada por um aumento na produção de ER juntamente com a redução das defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas (MAES et al., 2011b). Esse desequilíbrio no estado redox das células pode causar alterações estruturais que levam a injúria celular através de danos em lipídios, proteínas e DNA (LEE et al., 2013; MOYLANET et al., 2013).

O excesso das ER em condição de estresse oxidativo é encontrado em diversas desordens psiquiátricas, como a depressão maior, esquizofrenia e ansiedade (NG et al., 2008). No caso da depressão, há uma incidência maior no aumento dos níveis de H₂O₂ e NO \cdot , e estudos recentes indicaram que pacientes depressivos tem um aumento significativo nos níveis plasmáticos de peróxido (MAES et al., 2010, 2011b). Considerando esse aumento das ER, o ensaio de quantificação das ER com o uso da DCFH-DA é um dos métodos mais validados para detectar H₂O₂, NO \cdot e OH \cdot intracelular. A DCFH-DA é inicialmente hidrolisada a DCFH, que por sua vez é oxidada formando a versão fluorescente da diclorofluoresceína, que pode ser medida espectrofluorimetricamente (KALYANARAMAN et al., 2012). Através desse ensaio, o presente estudo evidenciou que a administração do LPS aumentou a produção de ER

no córtex e no hipocampo dos camundongos. O pré-tratamento com o CFSeMI foi capaz de atenuar esse aumento, evidenciando que o composto apresenta efeito antioxidante por reduzir a formação das espécies reativas e conseqüentemente o estresse oxidativo. Similarmente, JANGRA et al. (2014) relatou que a redução no perfil antioxidante no córtex e hipocampo de camundongos 24 h após tratamento com o LPS foi significativamente melhorada com a administração de magniferina (40 mg/Kg) por duas semanas.

Alterações oxidativas e inflamatórias causadas pelo LPS também foram observadas no presente trabalho, uma vez que a administração dessa endotoxina aumentou a produção de ER e citocinas pró-inflamatórias no córtex e hipocampo dos animais. O tratamento com CFSeMI, nas doses de 20 e 50 mg/Kg, preveniu o aumento nos níveis desses biomarcadores induzido pelo LPS. Por outro lado, a administração apenas do composto, sem indução da depressão, não influenciou na produção de ER e IL-1 β .

As primeiras indicações de que a depressão está relacionada com um aumento no dano oxidativo em lipídeos foi fundamentada em dados indicando a redução na concentração de ácidos graxos ômega-3 em pacientes depressivos, uma vez que os ácidos graxos poliinsaturados são bastante vulneráveis a peroxidação lipídica (EDWARDS et al., 1998). Considerando que o cérebro é um órgão com alta densidade de lipídios, a presença da oxidação de lipídeos pode ser identificada através da quantificação de biomarcadores, como o MDA.

O MDA é um aldeído reativo que inibe os processos de reparo de DNA por excisão de base (assumindo características mutagênicas por levar danos ao DNA) e prejudica a função mitocondrial por aumentar a produção de ERO, inibindo os processos respiratórios e reduzindo o potencial de membrana mitocondrial (MOYLAN et al., 2012). O MDA é encontrado em altas concentrações em pacientes depressivos, quando comparado a pacientes saudáveis, sendo que esses níveis são maiores em pacientes que possuem um histórico de episódios recorrentes de depressão, quando comparados aos indivíduos sofrendo o primeiro episódio (KHANZODE et al., 2003; OZCAN et al., 2004; GALECKI et al., 2009; KOTAN et al., 2011; STEFANESCU E CIOBICA, 2012). Por outro lado, o tratamento com antidepressivos (fluoxetina e

citalopram) é capaz de reduzir os níveis de MDA em pacientes depressivos, chegando a valores similares a pacientes saudáveis (LOPRESTI et al., 2014).

O ensaio das TBARS é um método bastante utilizado para quantificar MDA em diversos substratos (MAES et al., 2011b). SULAKHAYIA et al. (2014) e MELLO et al. (2013) reportaram o aumento nos níveis de TBARS em estruturas cerebrais de camundongos desafiados com LPS, sendo que esses níveis foram reduzidos com a administração de compostos com efeito antidepressivo. Similarmente, em humanos, a concentração de TBARS é maior em pacientes depressivos, quando comparados a voluntários saudáveis (GALECKI et al., 2007). Considerando a relevância da peroxidação lipídica na depressão, o presente trabalho demonstrou que a administração intraperitoneal de LPS (0,83 mg/Kg) aumentou a peroxidação lipídica e a formação de ER no córtex e hipocampo de camundongos. Em contrapartida, o pré-tratamento dos animais com o CFSeMI nas doses de 20 e 50 mg/Kg preveniu essas alterações bioquímicas nas estruturas cerebrais, evidenciando a redução do estresse oxidativo no efeito tipo-antidepressivo do composto.

Além de aumentar a produção de ER, sabe-se que o LPS também aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias através da interação com TLR-4, contribuindo com o desenvolvimento de uma condição tipo-depressiva (LEONARD E MAES, 2012). A administração oral do composto orgânico de Se CFSeMI nas doses de 20 e 50 mg/kg foi capaz de prevenir o aumento na expressão do mRNA da IL-1 β no córtex e hipocampo de camundongos tratados com LPS. De fato, a associação entre citocinas pró-inflamatórias, LPS e comportamento depressivo já foi demonstrada em estudos com humanos e roedores (FELGER E LOTRICH, 2013; MOYLAN et al., 2014). A administração sistêmica de LPS pode induzir a expressão do mRNA de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , em diferentes estruturas cerebrais de roedores (LAYE et al., 1994; QUAN et al., 1999). Além disso, ensaios de imunoabsorção ligado a enzima (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) identificaram elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias no córtex e hipocampo de roedores tratados com LPS, enquanto que a administração de antidepressivos foi capaz de reduzir esses níveis (JANGRA et al., 2014; LI et al., 2015). Adicionalmente, níveis elevados de TNF- α , IL-1 β e IL-6 são encontrados no fluido cérebro-espinhal e sangue de pacientes diagnosticados com depressão maior (HOWREN et al., 2009; DOWLATI et al., 2010).

Nesse sentido, sabe-se que antidepressivos possuem propriedades anti-inflamatórias por reduzirem produção dessas citocinas pró-inflamatórias e aumentarem as citocinas anti-inflamatórias (SONG E WANG, 2011). Assim, os resultados do presente trabalho estão de acordo com estudos prévios, em que a administração de moléculas antidepressivas reduz a produção de citocinas pró-inflamatórias.

O aumento dos níveis circulantes de LPS contribui com a ativação de uma resposta imune que é capaz de causar alterações neuroprogressivas, como a redução na neuroplasticidade, neurogênese e aumento na neurodegeneração (LEONARD E MAES, 2012; MOYLAN et al., 2013). Além disso, as vias inflamatórias estão envolvidas com a redução da disponibilidade de neurotransmissores importantes na depressão maior (MOYLAN et al., 2014). O estabelecimento da inflamação e consequente aumento na produção de ERO leva a oxidação da BH₄, um cofator enzimático necessário para a síntese de triptofano, DA e NA (SPERNER-UNTERWEGER et al., 2014).

O córtex pré-frontal participa ativamente de mecanismos neurais envolvidos com a adaptação ao estresse e patologias (McKLVEEN et al., 2013). A expressão do mRNA da IL-1 β é significativamente maior no córtex pré-frontal de pacientes depressivos e com tendência suicida, do que indivíduos saudáveis (PANDEY et al., 2012). Além disso, o nível elevado de IL-1 β no hipocampo está associado com o início da depressão maior (GOSHEN et al., 2008). Entretanto, o mecanismo pelo qual o estresse psicológico induz a expressão da IL-1 β ainda não está elucidado.

A partir dessas observações, pode-se estabelecer uma relação entre o LPS, citocinas pró-inflamatórias, estresse oxidativo, Se e depressão maior (Figura 19). A administração sistêmica de LPS aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias (provavelmente pela ativação do NF- κ B) e ERO. Através de mecanismos de feedback positivo, essas vias se mantêm ativas, produzindo ainda mais ERO. Além disso, a redução nos níveis de selênio no organismo também contribuem com o aumento na produção de ER. Essas ER, por sua vez, causam danos à biomoléculas (proteínas, lipídeos e DNA) contribuindo com o estabelecimento de alterações psiconeuroimunológicas encontradas na depressão maior.

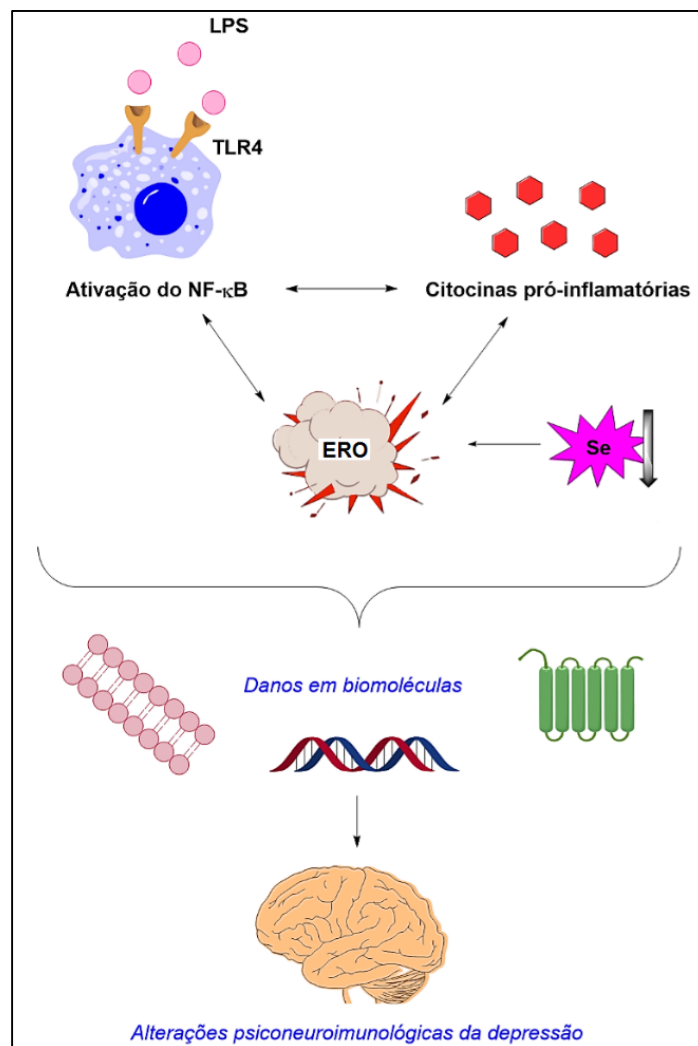


Figura 19. Envolvimento do lipopolissacarídeo (LPS), citocinas, espécies reativas (ER) e selênio (Se) na patofisiologia da depressão. TLR4: Receptor do tipo Toll 4; NF-κB: Fator de transcrição nuclear kappa B. Fonte: Própria.

Na verdade, diversos compostos orgânicos de Se são conhecidos por apresentarem atividade antioxidante, antidepressiva e anti-inflamatória (BORTOLATTO et al., 2013; CHAGAS et al., 2014; IBRAHIM et al., 2015; BROD et al., 2016). O ebselen e o disseleneto de difenila, por exemplo, podem mimetizar a atividade da enzima antioxidante GPx, além de apresentarem efeito antidepressivo (NOGUEIRA E ROCHA, 2011; MANCINI et al., 2014). O grande número de funções biológicas desempenhadas pelos compostos contendo Se pode ser justificado pelo fato de que esse micronutriente é de fundamental importância para o funcionamento

normal do organismo, constituindo diversas selenoproteínas envolvidas no sistema de defesa antioxidante (REEVES E HOFFMANN, 2009; CONNER et al., 2014).

Apesar do potencial biológico, os compostos orgânicos de Se podem apresentar efeito tóxico através da oxidação de grupos tióis (NOGUEIRA et al., 2004). A enzima sulfidrilica δ -ALA-D é responsável pela síntese do heme, e sua inibição tem sido proposta como um indicador de toxicidade de compostos orgânicos de selênio (NOGUEIRA E ROCHA, 2011). Nesse sentido, os resultados do presente trabalho indicam que o CFSeMI na dose de 200 mg/Kg não apresenta efeito tóxico por meio desse mecanismo, uma vez que não se observou alteração na atividade da δ -ALA-D no cérebro, rins e fígado dos camundongos. Similarmente, os dados apresentados não indicam alteração na atividade das enzimas AST e ALT e nos níveis de creatinina, sugerindo que o CFSeMI na dose de 200 mg/Kg não é nefro ou hepatotóxico em camundongos. Esses resultados estão de acordo com estudos prévios, em que a administração de altas doses de disseleneto de difenila ou disseleneto de bis(4-metilbeznoil) não afetaram a atividade plasmática das transaminases e nem os níveis de creatinina em roedores (MEOTTI et al., 2003; DONATO et al., 2015). Além disso, a administração de CFSeMI nas doses de 20 e 50 mg/Kg (sem desafio com LPS) não aumentou os níveis de TBARS e a formação de ER no córtex e hipocampo dos animais, evidenciado mais uma vez a segurança na administração do composto nas doses testadas.

Assim, o presente trabalho demonstrou que o efeito tipo-antidepressivo do CFSeMI nas doses de 20 e 50 mg/Kg se deve, pelo menos em parte, à modulação das vias oxidativas e do sistema imune no córtex e hipocampo de camundongos tratados com LPS, sem a presença de efeitos tóxicos aos animais. Entretanto, mais estudos são necessários para confirmar o envolvimento desses sistemas no efeito antidepressivo do composto.

7. Conclusões e perspectivas

A partir do que foi exposto, o presente trabalho sugere que o pré-tratamento com CFSeMI nas doses de 20 e 50 mg/Kg confere proteção contra o comportamento tipo-depressivo induzido pela administração intraperitoneal de LPS em camundongos, sem apresentar efeito neuro, hepato e nefrotóxico. Acredita-se que o efeito antidepressivo do CFSeMI seja mediado, em parte, pela redução da expressão da citocina pró-inflamatória IL-1 β e do estresse oxidativo no córtex e hipocampo dos animais. Assim, os resultados sugerem que o CFSeMI pode ser uma alternativa terapêutica para o tratamento da depressão maior e outras condições patológicas que estejam associadas ao estresse oxidativo e a neuroinflamação. Além disso, até o presente momento, acredita-se que este é o primeiro trabalho relatando o efeito tipo-antidepressivo de um composto orgânico de selênio no modelo animal de depressão maior induzido pela administração intraperitoneal de LPS.

Considerando os resultados promissores obtidos no presente trabalho, os estudos com o CFSeMI serão continuados a fim de:

- Confirmar o envolvimento da modulação das vias oxidativas no efeito tipo-antidepressivo do composto, através da avaliação da atividade e expressão das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx.
- Confirmar a redução da neuroinflamação no efeito tipo-antidepressivo do CFSeMI através da análise da expressão gênica (qRT-PCR) de outras citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6).
- Investigar a participação do NF- κ B e MAPK na redução da expressão da IL-1 β no córtex e hipocampo de camundongos.
- Investigar se o composto apresenta efeito tipo-antidepressivo pelo envolvimento com os sistemas monoaminérgicos.

Referências bibliográficas

- ABELAIRA, H. M.; RÉUS, G. Z.; QUEVEDO, J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 35, p.112-120, 2013.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual. 5^a ed. Arlington, VA, 1132 USA: **American Psychiatric Association**; 2013.
- ANISMAN, H. Cascading effects of stressors and inflammatory immune system activation: implications for major depressive disorder. **J. Psychiatry Neurosci.**, v. 34, p. 4-20, 2009.
- ANISMAN, H.; MERALI, Z.; HAYLEY, S. Neurotransmitter, peptide and cytokine processes in relation to depressive disorder: comorbidity between depression and neurodegenerative disorders. **Prog. Neurobiol.** v. 85, p. 1–74, 2008.
- ATTARD, A. Treatment strategies and psychopharmacology: Antidepressants. **Medicine.**, v. 40:12, p. 681-683, 2012.
- AZAR, R.; MERCER, D. Mild depressive symptoms are associated with elevated C-reactive protein and proinflammatory cytokine levels during early to midgestation: a prospective pilot study. **J. Women's Health**, v. 22, p. 385–389, 2013.
- BANKS, W. A. The blood–brain barrier in psychoneuroimmunology. **Neurol. Clin.**, v. 24, p. 413–419, 2006.
- BASSI, G. S.; KANASHIRO, A.; SANTIN, F. M.; DE SOUZA, G. E.; NOBRE, M. J.; COIMBRA, N. C. Lipopolysaccharide-induced sickness behaviour evaluated in different models of anxiety and innate fear in rats. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.**, v.110, p.359–369, 2012.
- BATEMAN, D. N. Specific substances: Antidepressants. **Medicine.**, v. 40:2, p. 100-102, 2011.
- BELLINGER, F. P.; HE, Q. P.; BELLINGER, M. T.; LIN, Y.; RAMAN, A. V.; WHITE, L. R.; BERRY, M. J. Association of selenoprotein P with Alzheimer's pathology in human cortex. **J. Alzheimers Dis.**, v. 15, p. 465-472, 2008
- BENTON, D.; COOK, R. The impact of selenium supplementation on mood. **Biol. Psychiatry**, v. 29, p. 1092–1098, 1991.
- BERG, B. M.; GODBOUT, J. P.; KELLEY, K. W.; JOHNSON, R. W. Alpha-tocopherol attenuates lipopolysaccharide-induced sickness behaviour in mice. **Brain Behav. Immun.**, v. 18, p. 149–157, 2004.
- BERK, M.; COPOLOV, D. L.; DEAN, O.; LU, K.; JEAVONS, S.; SCHAPKAITZ, I.; ANDERSON-HUNT, M.; BUSH, A. I. N-acetyl cysteine for depressive symptoms in bipolar disorder — a double-blind randomized placebo-controlled trial. **Biol. Psychiatry**, v. 64, p. 468–475, 2008.
- BIESMANS, S.; MEERT, T. F.; BOUWKNECHT, J. A.; ACTON, P. D.; DAVOODI, N.; DE HAES, P.; KUIJLAARS, J.; LANGLOIS, X.; MATTHEWS, L. J.; VER DONCK, L. Systemic immune activation leads to neuroinflammation and sickness behaviour in mice. **Mediat. Inflamm.**, 2013.
- BORTOLATTO, C. F.; CHAGAS, P. M.; WILHELM, E. A.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W. 2,2'-Dithienyl diselenide, an organoselenium compound, elicits antioxidante action and inhibits monoamine oxidase activity in vitro. **J. Enzyme Inhib. Med. Chem.**, v. 28, p. 677-684, 2013.
- BOSL, M. R.; TAKAKU, K.; OSHIMA, M.; NISHIMURA, S.; TAKETO, M. M. Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the mouse selenocysteine tRNA gene (Trsp). **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 94, p. 5531–5534, 1997.

- BOSSU, P.; CUTULI, D.; PALLADINO, I.; CAPORALI, P.; ANGELUCCI, F.; LARICCHIUTA, D. GELFO, F.; BARTOLO, P. CALTAGIRONE, C.; PETROSIN, L. A single intraperitoneal injection of endotoxin in rats induces long lasting modifications in behavior and brain protein levels of TNF- α and IL-18. **J. Neuroinflammation.**, v. 9, p. 1-12, 2012.
- BRAMBILLA, F.; MAGGIONI, M. Blood levels of cytokines in elderly patients with major depressive disorder. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 97, p. 309–313, 1998.
- BRASIER, A. R. The NF-kappaB regulatory network. **Cardiovasc. Toxicol.**, v. 6, p. 111–130, 2006.
- BROD, L. M. P.; FRONZA, M. G.; VARGAS, J. P.; LUDTKE, D. S.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A.; SAVEGNAGO, L. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of (octylseleno)-xylofuranoside in the mouse tail suspension test. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 65, p. 201-207, 2016.
- BRUNING, C. A.; SOUZA, A. C. G.; GAI, B. M.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W. Antidepressant-like effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in the mouse forced swimming test involves opioid and serotonergic systems. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 658, p.145–149, 2011.
- CARVALHO, A. F.; MACHADO, J. R.; CAVALCANTE, J. L Augmentation strategies for treatment-resistant depression. **Curr. Opin. Psychiatry**, v. 22, p. 7-12, 2009
- CASARIL, A. M.; MARTINEZ, D. M.; RICORDI, V. G.; ALVES, D.; LENARDÃO, E. J.; SCHULTZE, E.; COLLARES, T.; SEIXAS, F. K.; SAVEGNAGO, L. Evaluation of the toxicity of α -(phenylselenanyl) acetophenone in mice. **Reg. Toxicol. Pharmacol. Article in press**, 2015.
- CASTRÉN, E. Is mood chemistry? **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 6, p. 241-246, 2005.
- CHAGAS, P. M.; ROSA, S. G.; SARI, M. H.; OLIVEIRA, C. E.; CANTO, R. F.; DA LUZ, S. C.; BRAGA, A. L.; NOGUEIRA, C. W. Evaluation of the pharmacological properties of salicylic acid-derivative organoselenium: 2-hydroxy-5-selenocyanatobenzoic acid as an anti-inflammatory and antinociceptive compound. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 118, p. 87-95, 2014
- CHRISTENSEN, K.; WERNER, M.; MALECKI, K. Serum selenium and lipid levels: Associations observed in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2011–2012. **Environm. Res.**, v. 140, p. 76-84, 2015.
- CHUNG, E. S.; CHUNG, Y. C.; BOK, E.; BAIK, H. H.; PARK, E. S.; PARK, J-Y.; YOON, S.H.; JIN, B. K. FLuoxetine prevents LPS-induced degeneration of nigral dopaminergic neurons by inhibit microglia-mediate oxidative stress. **Brain Res.**, v. 1363, p. 143-150, 2010.
- COMMINS, S. P.; BORISH, L.; STEINKE, J. W. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. **J. Allergy Clin. Immunol.** v. 125, p. S53-72, 2010.
- CONNER, T. S.; RICHARDSON, A. C.; MILLE, J. C. Optimal Serum Selenium Concentrations Are Associated with Lower Depressive Symptoms and Negative Mood among Young Adults. **J. Nutr.**, v. 45 p. 59-65, 2015.
- COPPEN, A. The biochemistry of affective disorders. **Br. J. Psychiatry.**, v. 113, p. 1237–1264, 1967.
- CUSTÓDIO, C. S.; MELLO, B. S.; CORDEIRO, R. C.; ARAUJO, F. Y.; CHAVES, J. H.; VASNSONCELOS, S. M.; NOBRE, H. V.; de SOUSA, F. C.; VALE, M. L.; CARVALHO, A. F.; MACÊDO, D. S. Time course of the effect of lipopolysaccharide on prepulse inhibition and brain nitrite content in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 9, p. 31-38, 2013.

- CZÉH, B.; FUCHS, E.; WIBORG, O.; SIMON, M. Animal models of major depression and their clinical implications. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, *Article in press*; 2015.
- DAHL, J.; ORMSTAD, H.; AASS, H. C. D.; MALT, U. F.; BENDZ, L. T.; SANDVIK, L.; BRUNDIN, L.; ANDREASSEN, O. A. The plasma levels of various cytokines are increased during ongoing depression and are reduced to normal levels after recovery. **Psychoneuropharmacol.**, v. 45, p. 77-86, 2014.
- DANTZER, R.; O'CONNOR, J. C.; FREUND, G. G.; JOHNSON, R.W.; KELLEY, K.W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nature Rev. Neurosc.**, v. 9, p. 46-57, 2008.
- DE LA GARZA, R. Endotoxin- or pro-inflammatory cytokine-induced sickness behavior as an animal model of depression: focus on anhedonia. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 29, p. 761-70, 2005.
- DELGADO, P. L. Depression: the case for a monoamine deficiency. **J. Clin. Psychiatry.**, v. 6, p. 7-11, 2000.
- DONATO, F.; PAVIN, N. F.; GOES, A. T. R.; SOUZA, L. C.; SOARES, L. C.; RODRIGUES, O. E. D.; JESSE, C. R.; SAVEGNAGO, L. Antinociceptive and anti-hyperalgesic effects of bis(4-methylbenzoyl) diselenide in mice: Evidence for the mechanism of action. **Pharm. Biol.**, v. 53, p. 395-403, 2015.
- DOWLATI, Y.; HERRMANN, N.; SWARDFAGER, W.; LIU, H.; SHAM, L.; REIM, E. K.; LANCTOT, K.L. A meta-analysis of cytokines in major depression. **Biol. Psychiatry.**, v. 67, p. 446-457, 2010.
- EBMIER, K. P.; DONAGHEY, C.; STEELE, J. C. Recent developments and current controversies in depression. **Lancet**, v. 367, p. 153-167, 2006.
- EDWARDS, R.; PEET, M.; SHAY, J.; HORROBIN, D. Omega-3polyunsaturated fatty acid levels in the diet and in red blood cell membranes of depressed patients. **J. Affect. Disord.**, v. 48, p. 149-155, 1998.
- ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. **Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 28, p. 435-451, 2004.
- ENGELAND, C. G.; KAVALIERS, M.; OSSENKOPP, K. P. Sex differences in the effects of muramyl dipeptide and lipopolysaccharide on locomotor activity and the development of behavioral tolerance in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 74, p. 433-47, 2003.
- ENSTROM, A. M.; ONORE, C. E.; VAN DE WATER, J. A.; ASHWOOD, P. Differential monocyte responses to TLR ligands in children with autism spectrum disorders. **Brain Behav. Immun.**, v. 24, p. 64-71, 2010.
- FAVA, M. E KENDLER, K. Major depressive disorder. **Neuron.**, v. 28, p. 335-341, 2000.
- FAVA, M. E ROSENBAUM, J. F. Pharmacotherapy and somatic therapies. Em: Handbook of depression, E. E. Beckham e W. R. Leber, eds. (New York: Guilford Publications), pp. 280-301, 1995.
- FELGER, J. C.; LOTRICH, F. E. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutical implications. **Neuroscience**, v. 246, p. 199-229, 2013.
- FENG, Z.; HU, W.; MARNETT, L. J.; TANG, M. S. Malondialdehyde, a major endogenous lipid peroxidation product, sensitizes human cells to UV- and BPDE-induced killing and mutagenesis through inhibition of nucleotide excision repair. **Mutat. Res.**, v. 601, p. 125-136, 2006.

- FINLEY, J. W.; PENLAND, J. G. Adequacy or deprivation of dietary selenium in healthy men: clinical and psychological findings. **J. Trace Elem. Exp. Med.**, v. 11, p. 11–27, 1998.
- FLOHÉ, L.; GUNZLER, W.A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol.**, v. 105, p. 114-121, 1984.
- GALECKI, P.; SZEMRAJ, J.; BIENKIEWICZ, M.; FLORKOWSKI, A.; GALECKA, E. Lipid peroxidation and antioxidant protection in patients during acute depressive episodes and in remission after fluoxetine treatment. **Pharmacol. Rep.**, v. 61, p. 436–447, 2009.
- GARATE, I.; GARCIA-BUENO, B.; MADRIGAL, J. L.; CASO, J. R.; ALOU, L.; GOMEZ-LUS, M. L.; MICÓ, J. A.; LEZA, J. C. Stress-induced neuroinflammation: role of the Toll-like receptor-4 pathway. **Biol. Psychiatry**, v. 73, p. 32–43, 2013.
- GERZSON, M. F. B.; VICTORIA, F. N.; RADATZ, C. S.; GOMES, M. G.; BOEIRA, S. P.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; JESSE, C. R.; SAVEGNAGO, L. *In vitro* antioxidant activity and *in vivo* antidepressant-like effect of α -(phenylselanyl) acetophenone in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 102, p. 21-29, 2012.
- GHOSH, M. K.; MUKHOPADHYAY, M.; CHATTERJEE, I. B. NADPH-initiated cytochrome P450-dependent free iron-independent microsomal lipid peroxidation: specific prevention by ascorbic acid. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 166, p. 35–44, 1997.
- GLOIRE, G.; LEGRAND-POELS, S.; PIETTE, J. NF- κ B activation by reactive oxygen species: fifteen years later. **Biochem. Pharmacol.**, v. 72, p. 1493-1505, 2006.
- GOSHEN, I.; KREISEL, T.; BEN-MENACHEM-ZIDON, O.; LICHT, T.; WEIDENFELD, J.; BEN-HUR, T.; YIRMIYA, R. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. **Mol. Psychiatry**, v. 13, p. 717–728, 2008.
- GROMADZINSKA, J.; RESZKA, E.; BRUZELIUS, K.; WASOWICZ, W.; AKESSON, B. Selenium and cancer: biomarkers of selenium status and molecular action of selenium supplements. **Eur. J. Nutr.**, v. 47, p. 29–50, 2008.
- GROSSE, L.; CARVALHO, L.; WIKHUIJS, A. J. M.; BELLINGRATH, S.; RULAND, T.; AMBRÉE, O.; ALFERINK, J.; EHRING, T.; DREXHAGE, H. A.; AROLT, V. Clinical characteristics of inflammation-associated depression: monocyte gene expression is age-related in major depressive disorder. **Brain Behav. Immun.**, v. 44, p. 48-56, 2015.
- GUERRA, A. S.; MALTA, D. J.; LARANJEIRA, L. P.; MAIA, M. B.; COLAÇO, N. C.; LIMA, M. C.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; GONÇALVES-SILVA, T. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of indole-imidazolidine derivatives. **Int. Immunopharmacol.**, v. 11, p. 1816-1822, 2011.
- GUILLEMIN, G. J.; SMYTHE, G.; TAKIKAWA, O.; BREW, B. J. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and production of quinolinic acid by human microglia, astrocytes, and neurons. **Glia**, v. 49, p.15–23, 2005.
- GUO, J.; LIN, P.; ZHAO, X.; ZHANG, J.; WEI, X.; WANG, Q.; WANG, C. Etazolate abrogates the lipopolysaccharide (LPS)-induced downregulation of the cAMP/pCREB/BDNF signalling, neuroinflammatory response and depressive-like behaviour in mice. **Neurosc.**, v. 263, p. 1-14, 2014.
- HADDAD, J.J. Glutathione depletion is associated with augmenting a proinflammatory signal: evidence for an antioxidant/pro-oxidant mechanism regulating cytokines in the alveolar epithelium. **Cytokines Cell. Mol. Ther.**, v. 6, p. 177–187, 2000.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biol. Med.**, v. 18, p. 125-126, 1995.

- HAMON, M.; BLIER, P. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 45, p. 54-63, 2013.
- HAROON, E.; RAISON, C. L.; MILLER, A. H. Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behaviour. **Neuropsychopharmacol.**, v. 37, p. 137-162, 2012.
- HATFIELD, D.L.; GLADYSHEV, V. N. How selenium has altered our understanding of the genetic code. **Mol. Cell Biol.**, v. 22, p. 3565–3576, 2002.
- HINDMARCH, I. Beyond the monoamine hypothesis: mechanisms, molecules and methods. **Eur. Psychiatry.**, v. 3, p. 294-299, 2002.
- HOFFMANN, P. R.; BERRY, M. J. The influence of selenium on immune responses. **Mol. Nutr. Food Res.** V. 52, P. 1273–1280, 2008.
- HORIKAWA, H.; KATO T. A.; MIZOGUCHI, Y.; MONJI, A.; SEKI, Y.; OHKURI, T.; GOTOH, L.; YONAHARA, M; UEDA, T.; HASHIOKA S.; KANBA, S. Inhibitory effects of SSRIs on IFN- γ induced microglial activation through the regulation of intracellular calcium. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v.34, p. 1306-1316, 2010.
- HOSHINO, K.; TAKEUCHI, O.; KAWAI, T.; SANJO, H.; OGAWA, T.; TAKEDA, Y.; TAKEDA, K.; AKIRA, S. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the LPS gene product. **J. Immunol.**, v. 162, p. 3749–3752, 1999.
- HOWREN, M. B.; LAMKIN, D. M.; SULS, J. Associations of depression with C-reactive protein IL-1, and IL-6: a meta-analysis, **Psychosom. Med.**, v. 71, p. 171–186, 2009.
- HUANG, T-L. E LIN, C-C. Chapter seven: advances in biomarkers of major depressive disorder. Em: **Advances in Clinical Chemistry**. 2015, p. 177-204.
- IBRAHIM, M.; MUHAMMAD, N.; NAEEM, M.; DEOBALD, A. M.; KAMDEM, J. P.; ROCHA, J. B. In vitro evaluation of glutathione peroxidase (GPx)-like activity and antioxidant properties of an organoselenium compound. **Toxicol. In vitro.**, v. 29, p. 947-952, 2015.
- IOM. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes: Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. A report of the Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and Interpretation and Uses of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. National Academy of Sciences, National Academy Press, Washington DC, 2000.
- IWATA, M.; OTA, K. T.; DUMAN, R. S. The inflammasome: Pathways linking psychological stress, depression, and systemic illnesses. **Brain Behav. Immun.**, v. 31, p. 105-114, 2013.
- JANGRA A.; LUKHI, M. M.; SULAKHIYA, K.; BARUAH, C.; LAHKAR, M. Protective effect of magniferin against lipopolysaccharide-induced depressive and anxiety-like behaviour in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 740, p.337-345, 2014.
- JARRETT, R. B.; E RUSH, R. J. Short-term psychotherapy of depressive disorders: current status and future directions. **Psychiatry. Interpers. Biol. Proc.**, v. 57, p. 115–132, 1994.
- JIANG, H.; WANG, Z.; WANG, Y.; XIE, K.; ZHANG, Q.; LUAN, Q.; CHEN, W.; LIU, D. Antidepressant-like effects of curcumin in chronic mild stress of rats: Involvement of its anti-inflammatory action. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 47, p. 33–39, 2013.

- JOHNSON, T. M.; YU, Z. X.; FERRANS, V. J.; LOWENSTEIN, R. A.; FINKEL, T. Reactive oxygen species are downstream mediators of p53-dependent apoptosis. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 21, p. 11848-11852, 1996.
- JUSTO, O. R.; SIMIONI, P. U.; GABRIEL, D. L.; TAMASHIRO, W. M. S. C.; ROSA, P. T. V. R.; MORAES, A. M. Evaluation of in vitro anti-inflammatory effects of crude ginger and Rosemary in vitextracts obtained through supercritical CO₂ extraction on macrophage and tumor cell line: the influence of vehicle type. **BMC Complement Altern. Med.**, v. 15, p. 2-15, 2015.
- KAGAYA, A.; KUGAYA, A.; TAKEBAYASHI, M.; FUKUE-SAEKI, M.; SAEKI, T.; YAMAWAKI, S.; UCHITOMI, Y. Plasma concentrations of interleukin-1beta, interleukin-6, soluble interleukin-2 receptor and tumor necrosis factor alpha of depressed patients in Japan. **Neuropsychobiology**, v. 43, p. 59–62, 2001.
- KALYARNARAMAN, B.; DARLEY-USMAR, V.; DAVIES, K. J. A.; DENNERY, P. A.; FORMAN, H. J.; GRISHAM, M. B.; MANN, G. E.; MOORE, K.; ROBERTS, J.; ISCHIROPOULOS, H. Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: challenges and limitations. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 52, p. 1-6, 2012.
- KARAASLAN, C.; KADRI, H.; COBAN, T.; SUZEN, S.; WESTWELL, A. D. Synthesis and antioxidant properties of substituted 2-phenyl-1*H*-indoles. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 23, p. 2671-2674, 2013.
- KAUSHIK, N. K.; KAUSHIK, N.; ATTRI, P.; KUMAR, N.; KIM, C. H.; VERMA, A. K.; CHOI, E. H. Biomedical importance of indoles. **Molecules.**, v. 18, p. 6620-6662, 2013.
- KEATING, D.J. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, regulation of exocytosis and their relevance to neurodegenerative diseases. **J Neurochem.**, v. 104, p. 298–305, 2008.
- KELLER, J. N.; MARK, R. J.; BRUCE, A.J.; BLANC, E.; ROTHSTEIN, J. D.; UCHIDA, K.; WAEG, G.; MATTSO, M. P. 4-Hydroxynonenal, an aldehydic product of membrane lipid peroxidation, impairs glutamate transport and mitochondrial function in synaptosomes. **Neuroscience**, v. 80, p. 685–696, 1997.
- KESSLER, R. C.; BROMET, E. J. The epidemiology of depression across cultures. **Annu. Rev. Public Health.**, v. 34, p. 119-138, 2013.
- KHANZODE, S. D.; DAKHALE, G. N.; KHANZODE, S. S.; SAOJI, A.; PALASODKAR, R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. **Redox Rep.**, v. 8, p. 365-370, 2003.
- KIM, Y-K.; MAES, M. The role of the cytokine network in psychological stress. **Acta Neuropsychiatr.**, v. 15, p. 148–155, 2003.
- KIM, Y-K.; NA, K-S.; MYINT, A-M.; LEONARD, B.E. The role of pro-inflammatory cytokines in neuroinflammation, neurogenesis and the neuroendocrine system in major depression. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, Article in press; 2015.
- KITAGAMI, T.; YAMADA, K.; MIURA, H.; HASHIMOTO, R.; NABESHIMA, T.; OHTA, T. Mechanism of systemically injected interferon-alpha impeding monoamine biosynthesis in rats: role of nitric oxide as a signal crossing the blood–brain barrier. **Brain Res.**, v. 978, p. 104–114, 2003.
- KLEIN Jr, L. C.; PASSOS, C. S.; MORAES, A. P.; WAKUI, V. G.; KONRATH, E. L.; NURISSO, A.; CARRUPT, P. A.; OLIVEIRA, C. M.; KATO, L.; HENRIQUES, A. T. Indole alkaloids and semisynthetic indole derivatives as multifunctional scaffolds aiming the inhibition of enzymes related to neurodegenerative diseases--a focus on Psychotria L. Genus. **Curr. Top Med. Chem.**, v. 14, p. 1056-1075, 2014.

- KOHLER, T.; CIERPINSKY, K.; KRONENBERG, G.; ADLI, M. The serotonergic system in the neurobiology of depression: Relevance for novel antidepressants. **J. Psychopharmacol.**, *Article in press.*, doi: 10.1177/0269881115609072, 2015.
- KOTAN, V. O.; SARANDOL, E.; KIRHAN, E.; OZKAYA, G.; KIRLI, S. Effects of long-term antidepressant treatment on oxidative status in major depressive disorder: a 24-week follow-up study. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 35, p. 1284–1290, 2011.
- KOWALTOWSKI, A. J.; VERCESI, A. E. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 26, p. 463-471, 1999.
- KRISHNAN, V.; NESTLER, E. J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, v. 455, p. 894 – 902, 2008.
- KRYUKOV, G. V.; CASTELLANO, S.; NOVOSELOV, S. V.; LOBANOV, A. V.; ZEHTAB, O.; GUIGO, R.; GLADYSHEV, V. N. Characterization of mammalian selenoproteomes. **Science**, v. 300, p. 1439–1443, 2003.
- KUBERA M.; LIN A. H.; KENIS, G.; BOSMANS, E.; van BOCKSTAELE, D.; MAES, M. Anti-inflammatory effects of antidepressants through suppression of the interferon-gamma/interleukin-10 production. **J. Clin. Psychopharmacol.**, v. 21, p. 199-206, 2001.
- KUBERA, M.; OBUCHOWICZ, E.; GOEHLER, L.; BRZESZCZ, J.; MAES, M. In animal models, psychosocial stress-induced (neuro)inflammation, apoptosis and reduced neurogenesis are associated to the onset of depression. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 35, p. 744–759, 2011.
- KUBERA, M.; SIMBIRTSEV, A.; MATHISON, R.; MAES, M. Effects of repeated fluoxetine and citalopram administration to C57BL/6 mice. **Psychiatry Res.**, v. 96, p. 255–266, 2000.
- KUDVA, A. K.; SHAY, A. E.; PRABHU, K. S. Selenium and inflammatory bowel disease. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 309, p. G71–G77, 2015.
- LAWRENCE, T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation. **Cold Spring Harb. Perspect. Biol.**, v. 1, p. 1-10, 2009.
- LAWSON, M. A.; PARROTT, J. M.; MCCUSKER, R. H.; DANTZER, R.; KELLEY, K. W.; O'CONNOR, J. C. Intracerebroventricular administration of lipopolysaccharide induces indoleamine-2,3-dioxygenase dependent depression-like behaviors. **J. Neuroinflamm.**, v. 10, p.87, 2013.
- LAYE, S.; PARNET, P.; GOUJON, E.; DANTZER, R. Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine transcripts in the brain and pituitary of mice. **Brain Res. Mol. Brain Res.**, v. 27, p. 157–162, 1994.
- LEE, S. Y.; LEE, S. J.; HAN, C.; PATKAR, A. A.; MASAND, P. S.; PAE, C. U. Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: targets for novel antidepressants. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 46, p. 224–235, 2013.
- LEE, Y. B.; NAGAI, A.; KIM, S. U. Cytokines, chemokines, and cytokine receptors in human microglia. **J. Neurosci. Res.**, v. 69, p. 94–103, 2002.
- LEONARD, B.; MAES, M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. **Neurosci. Behav. Rev.**, v. 36, p. 764-785, 2012.
- LI, R.; ZHAO, D.; QU, R.; FU, Q.; MA, S. The effects of apigenin on lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice. **Neurosci. Lett.**, v. 594, p. 17-22, 2015.

- LI, W.; KNOWLTON, D.; WOODWARD, W. R.; HABECKER, B. A. Regulation of noradrenergic function by inflammatory cytokines and depolarization. **J. Neurochem.** 86: 774–783, 2003.
- LOETCHUTINAT, C.; KOTHAN, S.; DECHSUPA, S.; MEESUNGNOEN, J.; JAYGERIN, J.-P.; MANKHETKORN, S. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2',7'-dichlorofluorescein diacetate assay. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 72, p. 323-331, 2005.
- LONG, J.; LIU, C.; SUN, L.; GAO, H.; LIU, J. Neuronal mitochondrial toxicity of malondialdehyde: inhibitory effects on respiratory function and enzyme activities in rat brain mitochondria. **Neurochem. Res.**, v. 34, p. 786–94, 2009.
- LONG, J.; WANG, X.; GAO, H.; LIU, Z.; LIU, C.; MIAO, M.; LIU, J. Malonaldehyde acts as a mitochondrial toxin: Inhibitory effects on respiratory function and enzyme activities in isolated rat liver mitochondria. **Life Sci.**, v. 79, p. 1466–1472, 2006.
- LÓPEZ-IGLESIAS; PÉREZ, J. A.; MORALES-GARCIA, S.; ALONSO-GIL, A.; PÉREZ-CASTILLO, A.; ROMERO, M. G.; LÓPEZ, M.; VILLARROYA, S.; CONDE, M. I. New melatonin-N,N-dibenzyl(N-methyl)amine hybrids: potent neurogenic agents with antioxidant, cholinergic, and neuroprotective properties as innovative drugs for Alzheimer's disease. **J. Med. Chem.**, v. 57, p. 3773-3785, 2014.
- LOPRESTI, A.; MAKER, G.; HOOD, S.; DRUMMOND, P. D. A review of peripheral biomarkers in major depression: The potential of inflammatory and oxidative stress biomarkers. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 48, p. 102-111, 2014.
- MAES, M. Depression is an inflammatory disease, but cell-mediated immune activation is the key component of depression. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatr.**, v. 35, p. 664–675, 2011a.
- MAES, M. Major depression and activation of the inflammatory response system. In: DANTZER, R.; WOLLMAN, E. E.; YIRMIYA, R. **Cytokines, Stress and Depression.** 1999, p. 25– 46, 1999.
- MAES, M. The cytokine hypothesis of depression: inflammation, oxidative and nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. **Neuro. Endocrinol. Lett.**, v. 29, p. 287–291, 2008b.
- MAES, M.; FISAR, Z.; MEDINA, M.; SCAPAGNINI, G.; NOWAK, G.; BERK, M. New drug targets in depression: inflammatory, cell-mediated immune, oxidative and nitrosative stress, mitochondrial, antioxidant, and neuroprogressive pathways. And new drug candidates—Nrf2 activators and GSK-3 inhibitors. **Inflammopharmacol.**, v. 20, p. 127-150, 2012.
- MAES, M.; GALECKI, P.; CHANG, Y. S.; BERK, M. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro) degenerative processes in the illness. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v.35, p. 676–692, 2011b.
- MAES, M.; KUBERA, M.; LEUNIS, J. C. The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. **Neuroendocrinol. Lett.**, v. 29, p. 117–124, 2008a.
- MAES, M.; MIHAYLOVA, I.; KUBERA, M.; UYTTERHOEVEN, M.; VRYDAGS, N.; BOSMANS, E. Lower whole blood glutathione peroxidase (GPX) activity in depression, but not in myalgic encephalomyelitis / chronic fatigue syndrome: another pathway that

- may be associated with coronary artery disease and neuroprogression in depression. **Neuro Endocrinol. Lett.**, v. 32, p. 133-140, 2010.
- MANCINI, G.; STRALIOTTO, R.; ROCHA, J. B.; BEM, A. F. Diphenyl diselenide improves the antioxidant response via activation of the Nrf-2 pathway in macrophage cells. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 75, p. 1-S40, 2014.
- MANTOVANI, M.; PÉRTILE, R.; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. S.; RODRIGUES, A. L. S. Melatonin exerts an antidepressant-like effect in the tail suspension test in mice: evidence for involvement of N-methyl-D-aspartate receptors and the L-arginine–nitric oxide pathway. **Neurosci. Lett.**, v. 34, p. 1-4, 2003.
- MARTINEZ, D.M.; BARCELLOS, A.M.; CASARIL, A.M.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; SCHIESSER, C.H.; CALLAGHAN, K.L.; LENARDÃO, E.J. Twice acting antioxidants: synthesis and antioxidant properties of selenium and sulphur-containing zingerone derivatives. **Tetrahedron Lett.**, v.56, p.2243-2246, 2015.
- MARTINEZ, J. M.; GARAKANI, A.; YEHUDA, R.; GORMAN, J. M. Proinflammatory and “resiliency” proteins in the CSF of patients with major depression. **Depress. Anxiety** v. 29, p. 32–38, 2012.
- McKAY, L.; CIDLOWSKI, J. A. Molecular Control of Immune/Inflammatory Responses: Interactions Between Nuclear Factor- κ B and Steroid Receptor-Signaling Pathways. **Endoc. Rev.**, v. 20, p. 435-459, 1999.
- MCKERNAN, D. P.; DENNISON, U.; GASZNER, G.; CRYAN, J. F.; DINAN, T. G. Enhanced peripheral toll-like receptor responses in psychosis: further evidence of a proinflammatory phenotype. **Transl. Psychiatry.**, 1, e36, 2011.
- MCKLVEEN, J. M.; MYERS, B.; FLAK, J. N.; BUNDZIKOVA, J.; SOLOMON, M. B.; SEROOGY, K. B. HERMAN, J. P. Role of prefrontal cortex glucocorticoid receptors in stress and emotion. **Biol. Psychiatry.**, v. 74, p. 672-679, 2013.
- MELLO, B. S.; MONTE, A. S.; MCINTYRE, R. S.; SOCYNSKA, J. K.; CUSTODIO, C. S.; CORDEIRO, R. C.; CHAVES, J. H.; VASCONCELOS, S. M. M.; NOBRE JUNIOR, H. V.; SOUSA, F. C. F.; HYPHANTIS, T. N.; CARVALHO, A. F.; MACÊDO, D. S. Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. **J. Psychiatr. Res.**, v. 47, p. 1521–1529, 2013.
- MEOTTI, F. C.; BORGES, V. C.; ZENI G.; ROCHA, J. B.; NOGUEIRA, C. W. Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and ebselen for rats and mice. **Toxicol. Lett.**, v. 143, p. 9–16, 2003.
- MERTENS, K.; LOWES, D. A.; WEBSTER, N. R.; TALIB, J.; HALL, L.; DAVIES, M. J.; BEATTIE, J. H.; GALLEY, H.F. Low zinc and selenium concentrations in sepsis are associated with oxidative damage and inflammation. **Brit. J. Anesth.**, v. 144, p. 990-999, 2015.
- MILLER, A. H.; MALETIC, V.; RAISON, C. Inflammation and its discontents: The role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biol. Psychiatry.**, v. 65, p. 732-741, 2009.
- MISRA, C. S.; CHETHAN, G. H.; JITTA, S. R.; GOURISHETTI, K.; DARAM, P.; SINGH, M. P.; AKHILA, H. S.; NAYAK, Y.; UNNIKRISHNAN, M. K. Biological activity of a small molecule indole analog, 1-[(1H-indol-3-yl)methylene]-2-phenylhydrazine (HMPH), in chronic inflammation. **Chem. Biol. Interact.**, doi: 10.1016/j.cbi.2015.10.024, 2015.
- MŁYNIĘC, K.; GAWEŁ, M.; DOBOSZEWSKA, U.; STAROWICZ, G.; PYTKA, K.; DAVIES, C. L.; BUDZISZEWSKA, B. Essential elements in depression and anxiety. Part II. **Pharmacol. Rep.**, v. 35, p. 187-194, 2015.

- MOHANKUMAR, P. S.; THYAGARAJAN, S.; QUADRI, S. K. Interleukin-1 stimulates the release of dopamine and dihydroxyphenylacetic acid from the hypothalamus *in vivo*. **Life Sci.**, v. 48, p. 925–930, 1991.
- MOYLAN, S.; BERK, M.; DEAN, O. M.; SAMUNI, Y.; WILLIAMNS, L. J.; O'NEIL, A.; HAYLEY, A. C.; PASCO, J.; ANDERSON, G.; JACKA, F.; MAES, M. Oxidative and nitrosative stress in depression: Why so much stress? **Neurosc. Biobehav. Rev.**, v. 45, p. 46–62, 2014.
- MOYLAN, S.; MAES, M.; WRAY, N. R.; BERK, M. The neuroprogressive nature of major depressive disorder: pathways to disease evolution and resistance, and therapeutic implications. **Mol. Psychiatry**, v. 18, p. 595–606, 2013.
- MÜLLER, N.; MYINT, A. M.; SCHWARZ, M. J. The impact of neuroimmune dysregulation on neuroprotection and neurotoxicity in psychiatric disorders-relation to drug treatment. **Dialogues Clin. Neurosci.**, v. 11, p. 319–332, 2009.
- MURPHY, L. B.; SACKS, J. J.; BRADY, T. J.; HOOTMAN, J. M.; CHAPMAN, D. P. Anxiety and depression among US adults with arthritis: prevalence and correlates. **Arthritis Care Res.**, v. 67, p. 968-976, 2012.
- NADAL-VICENS, M.; CHYUNG, J. H.; TURNER, T. J. Farmacologia da neurotransmissão serotoninérgica e adrenérgica central. Em: GOLAN, D. E. **Princípios de Farmacologia.**, p. 186-202, 2009.
- NAKAJIMA, S.; SUZUKI, T.; WATANABE, K.; KASHIMA, H.; UCHIDA, H. Accelerating response to antidepressant treatment in depression: A review and clinical suggestions. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 34, p.259-264, 2010.
- NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 846–852, 2002.
- NEURAUTER, G.; SCHROCKSNADEL, K.; SCHOLL-BURGI, S.; SPERNER-UNTERWEGER, B.; SCHUBERT, C.; LEDOCHOWSKI, M.; FUCHS, D. Chronic immune stimulation correlates with reduced phenylalanine turnover. **Curr. Drug Metab.**, v. 9, p.622–627, 2008.
- NG, F.; BERK, M.; DEAN, O.; BUSH, A. I. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. **Int. J. Neuropsychopharmacol.**, v. 11, p. 851-876, 2008.
- NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. Toxicology and pharmacology of selenium: emphasis on synthetic organoselenium compounds. **Arch. Toxicol.**, v. 85, p. 1313-1359, 2011.
- NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. **Chem. Rev.**, v. 104, p. 6255-6285, 2004.
- OHGI, Y.; FUTAMURA, T.; KIKUCHI, T.; HASHIMOTO, K. Effects of antidepressants on alternations in sérum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacol. Biochem. Behavior.**, v. 103, p. 853-859, 2013.
- OZCAN, M. E.; GULEC, M.; OZEROL, E.; POLAT, R.; AKYOL, O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. **Int. Clin. Psychopharmacol.**, v. 19, p. 89–95, 2004.
- PAN, Y.; CHEN, X-Y.; ZHANG, Q-Y.; KONG, L-D. Microglial NLRP3 inflammasome activation mediates IL-1 β -related inflammation in prefrontal cortex of depressive rats. **Brain Behav. Immun.**, v. 41, p. 90-100, 2014.
- PANDEY, G. N.; RIZAVI, H. S.; REN, X.; FAREED, J.; HOPPENSTEADT, D.; ROBERTS, R. C.; CONLEY, R. R.; DWIVEDI, Y. Proinflammatory cytokines in the prefrontal cortex of teenage suicide victims. **J. Psychiatry Res.**, v. 46, p. 57-63, 2012.

- PANDYA, C. D.; HOWELL, K. R.; PILLAI, A. Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 46, p. 214-233, 2013.
- PEMBERTON, L.A.; KERR, S. J.; SMYTHE, G.; BREW, B. J. Quinolinic acid production by macrophages stimulated with IFN-gamma, TNF-alpha, and IFN-alpha. **J. Interferon. Cytokine Res.**, v. 17, p. 589–595, 1997.
- PITOSI, F.; DEL REY, A.; KABIERSCH, A.; BESEDOVSKY, H. Induction of cytokine transcripts in the central nervous system and pituitary following peripheral administration of endotoxin to mice. **J. Neurosci. Res.**, v. 48, p. 287–298, 1997.
- PORSOLT, R. D.; LEPICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature.**, v. 2, p. 266-270, 1977.
- POSSER, T.; KASTER, M.P.; BARAUNA, S. C.; ROCHA, J. B. T.; RODRIGUES, A. L. S.; LEAL, R. B. Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 602, p. 85–91, 2009.
- QIN, L.; WU, X.; BLOCK, M.L.; LIU, Y.; BREESE, G. R.; HONG, J. S.; KNAP, D. J.; CREWS, F. T. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. **Glia**, v. 55, p. 453–462, 2007.
- QUAN, N.; STERN, E. L.; WHITESIDE, M. B.; HERKENHAM, M. Induction of pro-inflammatory cytokine mRNAs in the brain after peripheral injection of subseptic doses of lipopolysaccharide in the rat. **J. Neuroimmunol.**, v. 93, p. 72–80, 1999.
- QUAN, N.; WHITESIDE, M.; HERKENHAM, M. Time course and localization patterns of interleukin-1 β messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide. **Neuroscience**, v. 83, p. 281–293, 1998.
- RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, v. 356, p. 233–241, 2000.
- REES, J. N.; FLORANG, V. R.; ANDERSON, D. G.; DOORN, J. A. Lipid peroxidation products inhibit dopamine catabolism yielding aberrant levels of a reactive intermediate. **Chem. Res. Toxicol.**, v. 20, p. 1536–42, 2007.
- REEVES, M. A.; HOFFMANN, P. R. The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 66, p. 2457–2478, 2009.
- REITMAN, S.; FRANKEL, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic pyruvic transaminases. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 28, p. 56-63, 1957.
- REN, J-D.; WU, X-B.; JIANG, R.; HAO, D-P.; LIU, Y. Molecular hydrogen inhibits lipopolysaccharide-triggered NLRP3 inflammasome activation in macrophages by targeting the mitochondrial reactive oxygen species. **Biochim. Biophysica Acta.**, v. 1836, p. 50-55, 2016.
- RODRIGUES, A. L. S.; DA SILVA, G.L.; MATEUSSI, A. S.; FERNANDES, E.S.; MIGUEL, O. G.; YUNES, R. A. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of the hydroalcoholic extract of *Siphocampylus verticillatus*. **Life Sci.**, v. 70, p. 1347-1358, 2002.
- ROMAN, M.; JITARU, P.; BARBANTE, C. Selenium biochemistry and its role for human health. **Metallomics**, v. 6, p. 25–54, 2014.
- ROMEO, H. E.; TIO, D. L.; RAHMAN, S. U.; CHIAPPELLI, F.; TAYLOR, A. N. The glossopharyngeal nerve as a novel pathway in immune-to-brain communication: relevance to neuroimmune surveillance of the oral cavity. **J. Neuroimmunol.**, v. 115, p. 91–100, 2001.

- ROSSI, F.; ZATTI, M. Biochemical aspects of phagocytosis in polymorphonuclear leucocytes NADH and NADPH oxidation by the granules of resting and phagocytizing cells. **Experientia**, v. 20, p. 21–7, 1980.
- SANMARTIN, C.; PLANO, D.; FONT, M.; PALOP, J. A. Selenium and Clinical Trials: New Therapeutic Evidence for Multiple Diseases. **Curr. Med. Chem.**, v. 18, p. 4635-4650, 2011.
- SANTOSH, P.; VENUGOPL, R.; NILAKASH, A. S.; KUNJBIHARI, S.; MANGALA, L. Anti- depressant activity of methanolic extract of Passiflora foetida leaves in mice. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci.**, v. 3, p. 112–115, 2011.
- SASSA, S. Delta aminolevulinic acid dehydratase assay. **Enzyme**, v. 28, p. 133–145, 1982.
- SCHIEPERS, O. J G.; WICHERS, M. C.; MAES, M. Cytokines and major depression. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 29, p. 201-217, 2005.
- SCHILDKRAUT, J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **Am. J. Psychiatry.**, v. 122, p. 509– 522, 1965.
- SCHILTZ, J. C.; SAWCHENKO, P. E. Distinct brain vascular cell types manifest inducible cyclooxygenase expression as a function of the strength and nature of immune insults. **J. Neurosci.**, v. 22, p. 5606–5618, 2002.
- SERUGA, B.; ZHANG, H.; BERNSTEIN, L. J.; TANNOCK, I. F. Cytokines and their relationship to the symptoms and outcome of cancer. **Nature Cancer Rev.**, p. 887-899, 2008.
- SHAVETA, P. SINGH, Structural optimization of indole based compounds for highly promising anti-cancer activities: Structure activity relationship studies and identification of lead molecules. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 74, p. 440-450, 2014.
- SHENG, W.; ZONG, Y.; MOHAMMAD, A.; AJIT, D.; CUI, J.; HAN, D.; HAMILTON, J. L.; SIMONYI, A.; SIN, A. Y.; GU, Z.; HONG, J-S.; WEISMAN, G. A.; SUN, G. Y. Pro-inflammatory cytokines and lipopolysaccharide induce changes in cell morphology, and upregulation of ERK1/2, iNOS and sPLA-IIA expression in astrocytes and microglia. **J. Neuroinflammation**, v. 8, p. 1-15, 2011.
- SHIMOHASHI, N.; NAKAMUTA, M.; UCHIMURA, K.; SUGIMOTO, R.; IWAMOTO, H.; ENJOJI, M.; NAWATA, H. Selenoorganic compound, ebselen, inhibits nitric oxide and tumor necrosis factor- α production by the modulation of jun-N-terminal kinase and the NF-kappaB signaling pathway in rat Kupffer cells. **J. Cell Biochem.**, v. 78, p. 595-606, 2000.
- SHINTANI, F.; KANBA, S.; NAKAKI, T.; NIBUYA, M.; KINOSHITA, N.; SUZUKI, E.; YAGI, G.; KATO, R.; ASAI, M. Interleukin-1 β augments release of norepinephrine, dopamine, and serotonin in the rat anterior hypothalamus. **J. Neurosci.**, v. 13, p. 3574–3581, 1993.
- SLAVICH, G. M.; IRWIN, M. R. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. **Psychol. Bull.**, v. 140, p. 774-815, 2014.
- SMITH, R.S. The macrophage theory of depression. **Med. Hypotheses**, v. 35, p. 298–306, 1991.
- SONG, C.; WANG, H. Cytokines mediated inflammation and decreased neurogenesis in animal models of depression. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatr.**, v. 35, p. 76-768, 2011.
- SPALLAROSSA, A.; CANEVA, C.; CAVIGLIA, M.; ALFEI, S.; BUTINI, S.; CAMPANI, G.; GEMMA, S.; BRINDISI, M.; ZISTERER, D. M.; BRIGHT, S. A.; WILLIAMS, C. D.; CRESPIAN, E.; MAGA, G.; SANNA, G.; DELOGU, I.; COLLU, G.; LODDO, R.

- Unconventional Knoevenagel-type indoles: Synthesis and cell-based studies for the identification of pro-apoptotic agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 102, p. 648-660, 2015.
- SPERNER-UNTERWEGER, B.; KOHL, C.; FUCHS, D. Immune changes and neurotransmitters: possible interactions in depression? **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v. 48, p. 268–276, 2014.
- STEFANESCU, C.; CIOBICA, A. The relevance of oxidative stress status in first episode and recurrent depression. **J. Affect. Disord.**, v. 143, p. 34–38, 2012.
- SULAKHIYA, K.; KUMAR, P.; JANGRA, A.; DWIVEDI, S.; HAZARIKA, N.; BARUAH, C.; LAHKAR, M. Honokiol abrogates lipopolysaccharide-induced depressive like behaviour by impeding neuroinflammation and oxido-nitrosative stress in mice. **Europ. J. Pharmacol.**, v. 744, p. 124-131, 2014.
- TIEGS, G.; KRUSTERS, S.; KUNSTLE, G.; HENTZE, H.; KIEMER, A. K.; WENDEL, A. Ebselen protects mice against T cell-dependent, TNF-mediated apoptotic liver injury. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 287, p. 1098-1004, 1998.
- TSAI, J. T.; LIU, H. C.; CHEN, Y. H. Suppression of inflammatory mediators by cruciferous vegetable-derived indole-3-carbinol and phenylethyl isothiocyanate in lipopolysaccharide activated macrophages. **Mediat. Inflamm**, ID. 293642, 2010.
- UHER, R.; MORS, O.; RIETSCHER, M.; RAJEWSKA-RAGER, A.; PETROVIĆ, A.; ZOBEL, A.; HEINGSBERG, N.; MENDLEWICZ, J.; AITCHISON, K.J.; FARMER, A.; MCGUFFIN, P. Early and delayed onset of response to antidepressants in individual trajectories of change during treatment of major depression: a secondary analysis of data from the genome-based therapeutic drugs for depression (GENDEP) study. **The J. Clin. Psych.**, v. 72, p. 1478-1484, 2011.
- VAN DAM, A. M.; BROUNS, M.; LOUISSE, S.; BERKENBOSCH, F. Appearance of interleukin-1 in macrophages and in ramified microglia in the brain of endotoxin-treated rats: a pathway for the induction of non-specific symptoms of sickness? **Brain Res.**, v. 588, p. 291-296, 1992.
- VERMA, S.; NAKAOKE, R.; DOHGU, S.; BANKS, W. A. Release of cytokines by brain endothelial cells: a polarized response to lipopolysaccharide. **Brain Behav. Immun.**, v. 20, p. 449–455, 2006.
- VITKOVIC, L.; KONSMAN, J. P.; BOCKAERT, J.; DANTZER, R.; HOMBURGER, V.; JACQUE, C. Cytokine signals propagate through the brain. **Mol. Psychiatry**, v. 5, p. 604–615, 2000.
- WALSH, R.N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: a critical review. **Psychol. Bull.**, v. 83, p. 482-504, 1976.
- WANG, J. F.; KOMAROV, P.; SIES, H.; GROOT, H. **Hepatology**, v. 15, p. 1112-1116, 1992.
- WANG, Z.; ZHANG, Q.; YUAN, L.; WANG, S.; LIU, L.; YANG, X.; LI, G.; LIU, D. The effects of curcumin on depressive-like behaviour in mice after lipopolysaccharide administration. **Behav. Brain Res.**, v. 274, p. 282-290, 2014.
- WEI, L.; ZHANG, Y.; YANG, C.; WANG, Q.; ZHUANG, Z.; SUN, Z. Neuroprotective effects of ebselen in traumatic brain injury model: involvement of nitric oxide and p38 mitogen-activated protein kinase signalling pathway. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 41, p. 134-138, 2014.
- WHO Report by the secretariat. Global burden of mental disorders and the need for a 1690 comprehensive, coordinated response from health and social sectors at the country 1691 level. Executive board EB 130/9; (130th session, Provisional agenda item 6.2), 2011.

- WOODROOFE, M. N. Cytokine production in the central nervous system. **Neurology**, v.45, p. S6–S10, 1995.
- YIRMIYA, R. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. **Brain Res.**, v. 711, p. 163–174, 1996.
- YOUNG, J. J.; BRUNO, D.; POMAR, N. A review of the relationship between proinflammatory cytokines and major depressive disorder. **J. Affective Disord.**, v. 169, p. 15-20, 2014.
- ZHOU, B. F.; STAMLER, J.; DENNIS, B.; MOAG-STAHLEBERG, A.; OKUDA, N.; ROBERTSON, C.; ZHAO, L.; CHAN, Q.; ELLIOTT, P. Nutrient intakes of middle-aged men and women in China, Japan, United Kingdom, and United States in the late 1990s: the INTERMAP study. **J. Hum. Hypertens.**, v. 17, p. 623–630, 2003.
- ZHU, C. B.; LINDLER, K. M.; OWENS, A. W.; DAWS, L. C.; BLAKELY, R. D.; HEWLETT, W. A. Interleukin-1 receptor activation by systemic lipopolysaccharide induces behavioral despair linked to MAPK regulation of CNS serotonin transporters.
- ZHU, L.; WEI, T.; GAO, J.; CHANG, X.; HE, H.; MIAO, M.; YAN, T. Salidroside attenuates lipopolysaccharide (LPS) induced serum cytokines and depressive-like behaviour in mice. **Neurosci. Lett.**, v. 606, p. 1-6, 2015.