

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



Trabalho de Conclusão de Curso

***Avaliação da atividade tipo-antidepressiva do 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina no modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo***

***Micaela Domingues***

Pelotas, 2016

***Micaela Domingues***

***Avaliação da atividade tipo-antidepressiva do 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina no modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo***

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<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lucielli Savegnago

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

D671a Domingues, Micaela

Avaliação da atividade tipo-antidepressiva do 3-((-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina no modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo / Micaela Domingues ; Lucielli Savegnago, orientadora. — Pelotas, 2016.

76 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) — Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Depressão maior. 2. Lipopolissacarídeo. 3. Selenilimidazopiridina. I. Savegnago, Lucielli, orient. II. Título.

CDD : 616.8527

Micaela Domingues

***Avaliação da atividade tipo-antidepressiva do 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina no modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo***

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 11 de novembro de 2016

Banca examinadora:

Prof<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lucielli Savegnago (Orientadora)  
Doutora em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria

.....

Prof<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fabiana Kömmling Seixas  
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

.....

Doutora Lucimar Pinto Brod  
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

.....

Doutora Karine Benigni  
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

.....

***Dedico este trabalho aos meus pais,  
Francisco e Neide, e a minha irmã, Marcela.***

## **Agradecimentos**

Agradeço aos meus pais por todo suporte, confiança e por serem os principais motivadores para que eu pudesse correr atrás dos meus sonhos. Mãe, seu cuidado e dedicação foi que deram, em alguns momentos, a esperança para seguir. Pai a sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada.

A minha irmã por sempre estar ao meu lado dando apoio, conselhos e amor. Celia muito obrigada por muitas vezes abrir mão do seu futuro e oportunidades para ajudar a me formar, nunca vou me esquecer de nada disso!

Aos meus tios Cassia e Abelar, por terem me acolhido em sua residência por 4 anos para que eu pudesse estudar. Tia muito obrigada por todo carinho e por ter sido minha segunda mãe. Tio obrigada por toda força que o senhor sempre me passou, o senhor e meu pai são os maiores exemplos de determinação e luta!

Agradeço à minha orientadora, Lucielli, por ter me recebido de braços abertos em seu laboratório, por toda paciência, e por ser uma excelente professora e profissional, a qual me espelho muito. Obrigada por me ajudar a crescer profissionalmente e como pessoa.

Aos meus colegas da quarta e sexta turma de biotecnologia por toda amizade e companheirismo.

Agradeço ao GPN, por ter me proporcionado todo aprendizado e grandes amizades que vou levar para a vida inteira, esse trabalho não seria possível se não tivesse pessoas tão agradáveis e amáveis como vocês.

Um agradecimento especial a minha grande amiga Angela Casaril, por todos anos de amizade, por toda parceria de madrugadas de estudo, café ponto com, sanatas, por ter sido uma incrível orientadora de estágio, por cada palavra de conforto e por sempre me acalmar quando estou ansiosa. Obrigada Angel pela a tua amizade, pelo carinho e por toda sua ajuda.

Aos meus amigos Rafaela, Lucas, Rômulo, Camila, Nati, Larissa e Raquel que fizeram os anos longe de casa serem muito mais fáceis.

Aos amigos do CSF, pela ótima companhia, amizade e ensinamentos.

Agradeço ao coordenador do curso, professor Luciano, por todo auxílio e dedicação.

Agradeço aos professores do curso de biotecnologia, por todo ensinamento, por toda paciência e dedicação.

Agradeço aos funcionários da UFPEL e especialmente aos da biotecnologia por sempre nos ajudar quando precisamos e por manter o ambiente sempre agradável.

Agradeço as agências de fomento CAPES, CNPq e FAPERGs, pelo apoio a pesquisa.

E finalmente agradeço a Deus, por proporcionar estes agradecimentos à todos que tornaram minha vida mais afetuosa, além de ter me dado uma família maravilhosa e grandes amigos.

***Muito obrigada!***

Se não escalar as montanhas, nunca  
poderá desfrutar das paisagens.



### **Resumo**

DOMINGUES, Micaela. ***Avaliação da atividade tipo-antidepressiva do 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina no modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo*** 2016. 75 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A depressão maior (DM) é uma doença neuropsiquiátrica de alta prevalência. Os mecanismos associados à sua patogênese não estão completamente elucidados, mas acredita-se que a ocorrência da doença está centrada ao declínio das monoaminas na fenda sináptica, neuroinflamação, ao desequilíbrio do sistema redox das células e redução de neurotrofinas. Apesar da sua relevância, os medicamentos disponíveis atualmente para o tratamento da DM, apresentam baixas taxas de remissão e inúmeros efeitos adversos. Diante disto, os compostos orgânicos de selênio se destacam por apresentarem propriedades antioxidante, anti-inflamatórias, neuroprotetoras e antidepressivas. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi verificar o possível efeito e mecanismo do 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina (MSeFIPi) no modelo de depressão induzido pela administração de lipopolissacarídeo (LPS) (0,83 mg/Kg, administrado pela via intraperitoneal (i.p)) em camundongos. Para isso, o MSeFIPi foi administrado 30 minutos antes do desafio com LPS ou salina, e 24h após essa última administração, os camundongos foram submetidos aos ensaios comportamentais do campo aberto (TCA) e nado forçado (TNF). As avaliações bioquímicas foram realizadas com diferentes animais submetidos aos mesmos tratamentos. Após 24 horas da administração de LPS ou salina, os camundongos foram eutanasiados para a remoção de córtex e hipocampo, sendo os hemisférios direito utilizados para análises da expressão gênica, e esquerdo para avaliação do estresse oxidativo. A investigação da expressão das citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), foi realizada através da reação em cadeia da polimerase em tempo real via transcriptase reversa (qRT-PCR). A peroxidação lipídica foi avaliada através do ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e os níveis de espécies reativas formadas foi investigada pelo ensaio da quantificação das espécies reativas. Os dados demonstraram que o pré-tratamento com MSeFIPi (20 e 50 mg/Kg) preveniu comportamento tipo-depressivo induzido por LPS e não alterou os parâmetros locomotores e exploratórios avaliados no TCA. Além disso, o pré-tratamento com o composto nas duas doses preveniu o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias no hipocampo dos camundongos pós desafio com LPS, por reduzir a expressão de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  e também preveniu o aumento da formação das espécies reativas, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico no córtex e hipocampo. Observou-se que o MSeFIPi nas doses testadas protegeu contra a redução os níveis de BDNF no córtex e hipocampo dos animais desafiados com LPS. Essas observações sugerem que o MSeFIPi apresenta efeito tipo – antidepressivo através da sua capacidade de modular do sistema inflamatório, do seu efeito antioxidante e regulação da expressão do BDNF.

**Palavras-chave:** Depressão Maior, Lipopolissacarídeo, Selenilimidazopiridinas.

### **Abstract**

DOMINGUES, Micaela. ***Evaluation of antidepressant-like effect of 3 - ((4-methoxyphenyl) selenyl) -2 -phenylimidazo [1,2-a) pyridine in the animal model of depression induced by lipopolysaccharide.*** 2016. 75 p. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Major depression is a neuropsychiatric disease of high prevalence. The mechanisms associated with the pathogenesis are not fully understood but it is believed that the occurrence of the disease focuses the decline of monoamines in the synaptic cleft, neuroinflammation, the imbalance in the redox system cells and neurotrophins reduction. The currently available drugs for MD treatment, have low rates of remission and numerous side effects. The organoselenium compounds stand out due to their antioxidant, anti-inflammatory, neuroprotective and antidepressant effects. Hence, the aim of this study was to investigate the possible effect and mechanism of 3 - ((4-methoxyphenyl) selenyl) -2 -phenylimidazo [1,2-a) pyridine (MSeFIPi) (20 and 50 mg / kg, administered by oral route (p.o) in the animal model of depression induced by administration of lipopolysaccharide (LPS) (0.83 mg/Kg, administered intraperitoneally (i.p)). In order to this, the MSeFIPi (20 and 50 mg / kg) or canola oil was administered 30 min prior LPS challenge (0.83 mg / kg) or saline, 24 after this the mice were submitted to the open field test (OPT) and forced swimming test (FST). The biochemical evaluations were performed with different animals subjected to the same treatments. 24 hours after administration of LPS or saline treated mice were euthanized and cortex and hippocampus were removed. The right hemisphere was used for gene expression analysis and left hemisphere was used for oxidative stress evaluation. The investigation of the expression of proinflammatory cytokines interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor alfa (TNF- $\alpha$ ) and neurotrophin brain-derived neurotrophic factor (BDNF) was performed by quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Lipid peroxidation was assessed by the test of thiobarbituric acid reactive species (TBARS) and the levels of reactive species formed was investigated by testing the quantification of reactive species. The data showed that pretreatment with MSeFIPi (20 and 50 mg / kg) prevented depressive-like behavior induced by LPS and did not alter locomotor and exploratory parameters evaluated by OFT. Furthermore, pre-treatment with the compound in both doses prevented the increase in levels of proinflammatory cytokines in the hippocampus of mice after LPS challenge by reducing IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  expression and also prevented the increase of the formation reactive species, thiobarbituric acid reactive species in the cortex and hippocampus. It was observed that the doses tested MSeFIPi protected against reducing levels of BDNF in cortex and hippocampus of mice challenged with LPS. These observations suggest that MSeFIPi antidepressant-like effects through its capacity of modulation of inflammatory, antioxidant effect and BDNF expression regulation.

**Keywords:** major depression, lipopolysaccharide, selanylimidazopyridines.

## ***Lista de Figuras***

Figura 1	Neurotransmissão monoaminérgica. Serotonina-5-HT, noradrenalina-NE, dopamina-DA.....	9
Figura 2	Representação esquemática da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e defesas antioxidantes.....	14
Figura 3	Representação dos danos ocasionados em decorrência do estresse oxidativo.....	16
Figura 4	Mecanismos do sistema inflamatório no sistema nervoso central na patogênese da depressão maior.....	21
Figura 5	Transdução de sinais mediados pelo lipopolissacarídeo.....	23
Figura 6	Representação gráfica das estruturas química de compostos orgânicos de selênio.....	26
Figura 7	Núcleo imidazopiridinico.....	28
Figura 8	Estrutura química do Zolpidem.....	29
Figura 9	Estrutura química do 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina.....	31
Figura 10	Delineamento experimental.....	32
Figura 11	Representação gráfica do ensaio do teste do nado forçado em camundongos.....	33
Figura 12	Representação gráfica do teste do campo aberto.....	34
Figura 13	Ensaio da quantificação das espécies reativas. ....	36
Figura 14	Efeito do MSeFIPi (20-50 mg/Kg) em camundongos desafiados com LPS (0,83 mg/Kg), no tempo de imobilidade avaliado no TNF.....	38
Figura 15	Efeito do pré-tratamento com MSeFIPi (20 e 50 mg/Kg, i.g.) 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.....	39
Figura 16	Efeito do MSeFIPi nos níveis de peroxidação lipídica no (A) córtex e (B) hipocampo de camundongos desafiados com LPS ou Salina.....	40

Figura 17	Quantificação das espécies reativas formadas no córtex e hipocampo de camundongos pré-tratados com MSeFIPi e LPS.....	41
Figura 18	Efeito do pré-tratamento com MSeFIPi (20 – 50 mg/Kg) após desafio com LPS sobre os níveis de citocinas pró-inflamatórias .....	42
Figura 19	Efeito do pré-tratamento com MSeFIPi (20 – 50 mg/Kg) após desafio com LPS sobre os níveis de fator neurotrófico..	43

### ***Lista de Tabelas***

Tabela 1	Principais critérios de diagnóstico de depressão maior.....	5
Tabela 2	Classificação de antidepressivos.....	10
Tabela 3	Grupos experimentais.....	32
Tabela 4	Primers utilizados no estudo.....	37

### ***Lista de Abreviaturas e Siglas***

5-HT	Serotonina
5-HTT	Transportadores de serotonina
ADT	Antidepressivos tricíclicos
AMPA	Ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico
AP-1	Proteína ligadora 1
BH <sub>4</sub>	Tetrahidrobiopterina
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CAT	Catalase
cDNA	DNA complementar
CD14	Cluster de diferenciação 14
cNOS	Óxido nítrico sintase constitutiva
COX-2	Ciclooxigenase – 2
CTE	Cadeia transportadora de elétrons
MSeFIPi	3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2- <i>a</i> ]piridina
DA	Dopamina
DAT	Transportadores de dopamina
DCFH	Diclorofluoresceína
DCFH-DA	2,7-diclorodihidrofluoresceína-diacetato
EAAT	Transportador de aminoácido excitatório
ER	Espécies reativas
EO/N	Estresse oxidativo e nitrosativo
ERK	Quinases reguladas por sinal extracelular
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
Glu	Glutamato
GPx	Glutaciona peroxidase
GR	Glutaciona redutase
GSH	Glutaciona reduzida
GSSG	Glutaciona oxidada
IDO	Indoleamina-2,3-dioxigenase
IFN- $\alpha$	Interferon alfa
IFN- $\gamma$	Interferon gama

IL-1	Interleucina 1
IL-1 $\alpha$	Interleucina 1 alfa
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IMAO	Inibidores da monoamina oxidase
ISRN	Inibidores seletivos da recaptação da noradrenalina
ISRS	Inibidores seletivos da receptação da serotonina
JNK	c-Jun N-terminal quinase
LBP	Proteína ligadora de lipopolissacarídeo
LPS	Lipopolissacarídeo
MAO	Monoamina oxidase
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
MDA	Malondialdeído
mg/Kg	Miligramas por kilograma
mRNA	RNA mensageiro
NADPH-oxidase	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase
NAS	N-acetilserotonina
NE	Noradrenalina
NF- $\kappa$ B	Fator de transcrição nuclear kappa B
NMDA	N-metil-D-Aspartato
NMDAR	Receptor N-metil-D-Aspartato
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PGE2	Prostaglandina E2
qRT-PCR	Reação em cadeia da polimerase em tempo real via transcriptase reversa
QUIN	Ácido quinolinico
SDS	Dodecil sulfato de sódio
Se	Selênio
SeCys	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
TLR4	Receptor transmembrana do tipo Toll 4
TNF	Teste do nado forçado
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
tRNA	RNA transportador
TRx	Tiorredoxina redutase
TRYCAT	Catabolitos de triptofano
TSC	Teste de suspensão da cauda
VMAT	Transportadores vesiculares de monoaminas
OMS	Organização Mundial da Saúde
XO	Xantina-oxidase



## **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 (DM).....	5
3.2. Mecanismos associados na neuroprogressão da DM.....	6
3.2.1. Envolvimento das alterações estruturais na DM.....	6
3.2.2. Teoria monoaminérgica .....	7
3.2.2.1. Tratamentos disponíveis .....	10
3.2.3. Teoria neurotrófica da depressão.....	11
3.2.4. Teoria do estresse oxidativo.....	12
3.2.5. Teoria da neuroinflamação.....	17
3.3. Lipopolissacarídeo.....	21
3.4. Selênio (Se).....	24
3.5. Compostos orgânicos de selênio.....	26
3.6. Imidazopiridinas.....	28
3.7. Ensaio comportamentais.....	29
3.7.1. Teste do campo aberto (TCA).....	29
3.7.2. Teste do nado forçado (TNF).....	30
4. Metodologia.....	31
4.1. Reagentes.....	31
4.2. Animais.....	31
4.3. Protocolo experimental.....	31
4.4. Ensaio comportamentais.....	33
4.4.1. Teste do nado forçado (TNF).....	33
4.4.2. Teste do campo aberto (TCA).....	34
4.5. Análises bioquímica.....	34
4.5.1. Avaliação da peroxidação lipídica.....	34
4.5.2. Quantificação das espécies reativas.....	35

4.5.3. Avaliação da expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ e do BDNF pela qRT-PCR.....	36
5. Resultados.....	37
5.1. Ensaio comportamentais.....	37
5.1.1. Teste do nado forçado (TNF).....	37
5.1.2. Teste do campo aberto (TCA).....	38
5.2. Análises bioquímicas.....	39
5.2.1. Avaliação da peroxidação lipídica.....	39
5.2.2. Quantificação das espécies reativas.....	40
5.2.3. Avaliação da expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ e do BDNF pela qRT-PCR.....	41
6. Discussão.....	44
7. Conclusões e perspectivas.....	49
Referências.....	50

## **1. Introdução**

A depressão maior (DM) é uma desordem heterogênea, complexa e a quarta maior causa de incapacidade em todo o mundo (EBMEIER et al., 2006; SLAVICH E IRWIN, 2014; RÉUS et al., 2016). A patogênese da DM, não está restrita a um único mecanismo, mas sim associada com diversos sistemas que culminam com o desencadeamento da doença (MILLER E RAISON, 2016). Entretanto, esses mecanismos não estão bem elucidados. Nesse sentido, algumas teorias foram postuladas com a finalidade de compreender a possível causa da doença. Dentre essas, pode-se citar a teoria monoaminérgica, que é caracterizada pelo declínio dos neurotransmissores serotonina, noradrenalina e dopamina na fenda sináptica. Vale destacar ainda, que grande parte dos antidepressivos disponíveis atuam modulando o sistema monoaminérgico, o que torna esta teoria uma das mais bem aceitas. Apesar disso, ainda há divergências que limitam estudos focados apenas nesta hipótese. Assim, visando a compreensão da patogênese da DM, foram descritas outras teorias, como por exemplo a do estresse oxidativo, a teoria da neuroinflamação e a teoria das neurotrofinas (MAES, 2008; SARANDOL et al, 2007; SLYEPCHENKO et. al, 2016).

Os tratamentos disponíveis para a depressão não são completamente eficientes, uma vez que apenas 70% dos pacientes apresentam remissão da doença (MORENO et al. 1993; CARVALHO et al., 2009; UHER et al., 2011; WANG et al., 2016). Além disso, esses fármacos são acompanhados por inúmeros efeitos adversos, o que muitas vezes compromete a aceitação e utilização dos mesmos pelos pacientes (WANG et al., 2016). Tendo em vista essa problemática, nos últimos anos houve uma crescente busca de novas moléculas que apresentam atividade antidepressiva com característica multialvo, isto é, capazes de modular mais do que um sistema. Nesse contexto, os compostos orgânicos contendo selênio em sua estrutura química se destacam, uma vez que essas moléculas demonstram uma amplitude de propriedades biológicas. Dentre as funções biológicas, é bastante explorado na literatura as propriedades anti-inflamatória, antioxidante e antidepressiva (TIEGS et al., 1998; BORTOLATTO et al., 2013; BROD et al., 2016).

Diversos grupos de pesquisa têm-se aprofundado na compreensão do efeito antidepressivo desses compostos. DONATO et al (2013), por exemplo, reportaram que o efeito tipo-antidepressivo de compostos orgânicos de selênio pode ser atribuído

a sua capacidade de modular o sistema noradrenérgico e dopaminérgico. Além disso, CASARIL (2015), explorou outras vias de sinalização, evidenciando que o efeito tipo-antidepressivo dessas moléculas pode ser também associado à modulação do sistema neuroinflamatório e antioxidante.

O selênio (Se) que compõe essas moléculas é um micronutriente essencial a dieta dos mamíferos (ROMAN et. al., 2014). O seu baixo consumo está associado ao declínio cognitivo, alterações de humor, doenças neurodegenerativas e maiores riscos de desenvolvimento de depressão (CARDOSO et al., 2015; ELLWANGER et al., 2016). Por outro lado, uma dieta rica nesse micronutriente leva a uma melhora nos sintomas depressivos.

A importância do Se é atribuída a sua presença em diversas enzimas antioxidantes, como a glutathiona peroxidase (GPx), tioredoxina redutase (TRx) e selenoproteína P (SeIP) (SANMARTÍN et al., 2011; KUDVA et al., 2015). O Se é encontrado no organismo na forma de selenocisteína (SeCys) que é incorporado em selenoproteínas por um RNA transportador (RNAt) especial através do códon UGA (STEINBRENNER E SIES, 2013; ROMAN et. al., 2014; CARDOSO et al., 2015). A sua disponibilidade no organismo favorece o funcionamento de enzimas antioxidantes, e, portanto, a manutenção do sistema redox (KUDVA et al., 2015). Devido a essas características, o Se e compostos orgânicos de Se se tornam interessantes alvos de estudos como possíveis fármacos para o tratamento da DM.

Além dos compostos orgânicos de Se, outra classe de moléculas com propriedades biológicas interessantes são as imidazopiridinas. Essas moléculas têm sido empregadas como hipnóticos, no tratamento de insônia, e também no tratamento da doença de Alzheimer (PAREKH et al., 2013; DYMINSKA, 2015; QIAN et al., 2016). Além dessas propriedades, as imidazopiridinas são potentes anti-inflamatórios e antioxidantes (DYMINSKA, 2015; QIAN et al., 2016).

Diante disto, com a finalidade de compreender os mecanismos de ação de novas moléculas e descobrir novos antidepressivos, o lipopolissacarídeo (LPS) vem sendo utilizado como modelo de indução da depressão (LI et al. 2015; SLYEPCHENKO et al., 2015). Diversos estudos apontam que a administração sistêmica de LPS induz alterações comportamentais e neuroquímicas em modelos animais, similares aquelas encontradas em pacientes com DM (BASSI et al., 2012; BIESMANS et al., 2013; LAWSON et al., 2013).

O LPS aumenta a expressão de citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), conduzindo a neuroinflamação (FELGER E LOTRICH, 2013). Nessa condição, ocorre o aumento da produção de espécies reativas (ER) e redução das defesas antioxidantes, levando então ao dano oxidativo de biomoléculas e morte neuronal (SCHNEIDERS et al. 2015). Acredita-se ainda que o LPS reduz os níveis de fatores neurotróficos, com destaque ao fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), neurotrofina chave para a neuroplasticidade cerebral. Desta maneira, sabendo-se que a associação desses eventos está intimamente envolvida com a patogênese da DM (TOMAZ et al. 2014), é de grande interesse a busca de novas moléculas que tenham efeito anti-inflamatório, antioxidante e que reestabeleçam os níveis de BDNF para garantir a atividade antidepressiva.

Sendo assim, tendo em vista as propriedades biológicas dos compostos orgânicos de Se e das imidazopiridinas, a combinação de ambas estruturas pode ser uma estratégia relevante para o desenvolvimento de um fármaco mais promissor para o tratamento da depressão.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo Geral**

O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade tipo-antidepressiva do 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-*a*]piridina (MSeFIPi) no comportamento tipo-depressivo e seus mecanismos de ação.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Avaliar o envolvimento do MSeFIPi na modulação do sistema imune-inflamatório;
- Avaliar o efeito protetor do MSeFIPi no estresse oxidativo;
- Investigar se o MSeFIPi regula a expressão de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF).

### **3. Revisão Bibliográfica**

#### **3.1. Depressão Maior**

A depressão maior (DM) é um distúrbio neuropsiquiátrico, caracterizado pela incapacidade e perda da produtividade (YOUNG et al., 2016), sendo descrita como um transtorno do humor com diversos sintomas. O quadro sintomatológico, estabelecido pelo V Manual Estatístico e Diagnóstico de Transtornos Mentais (DSM-V), envolve humor deprimido ou perda de interesse pelas atividades rotineiras por mais do que duas semanas. Adicionalmente, são atribuídos como critérios de diagnóstico da DM sintomas como, fadiga, perda de energia, insônia ou sono excessivo, alterações psicomotoras (agitação ou retardação), sentimento de culpa, problemas de concentração, baixa autoestima, tendências suicidas, bem como distúrbios autonômicos (APA, 2013).

Os transtornos de humor estão entre as formas mais prevalentes de doenças psiquiátricas em todo o mundo. De acordo com a organização mundial da saúde (OMS), 15 % da população mundial é atingida pela depressão em pelo menos um momento da vida. Acredita-se que em 2030 o número de casos irá aumentar em torno de 9,8%. Dados mais atuais referentes a epidemiologia da DM declaram que a doença afeta quase 7% da população mundial – isto é, cerca de 400 milhões de pessoas, independentemente da idade, podendo até mesmo levar a morte (WHO, 2011).

A severidade da doença pode ser variada, que vai desde sintomas leves até mesmo aos mais severos. A relação destes sintomas está representada na Tabela 1, na qual pode-se determinar: a depressão leve, engloba um dos sintomas representados pela coluna A juntamente com um ou dois dos sintomas da coluna B; a depressão em grau moderado, integra um dos sintomas da coluna A em conjunto com dois ou três sintomas da coluna B; e por fim, a depressão em grau mais elevado - a depressão severa - envolve todos os sintomas da coluna A com mais de três sintomas da coluna B (APA, 2013).

Tabela 1. Principais critérios de diagnóstico de depressão maior.

A	B
<b><i>Humor deprimido</i></b>	Perda de confiança em si
<b><i>Perda de interesse nas atividades rotineiras</i></b>	Sentimento de culpa
	Pensamentos pessimista
<b><i>Diminuição de energia e atividade</i></b>	Problemas de sono
	Perda de apetite
	Ideias de automutilação

Na maioria dos casos, a DM não tem uma causa identificável, porém, existem fatores de risco que podem desencadear episódios da doença em determinadas pessoas. Apesar de 40% a 50% dos casos de DM apresente um componente genético a complexidade da doença dificulta a compreensão dos genes envolvidos (AKISKAL, 2000). A susceptibilidade a DM também inclui fatores não genéticos, como trauma emocional e estresse (AKISKAL, 2000). Além disso, diversas condições patológicas podem gerar um quadro depressivo. A DM não deve ser vista como uma única doença, mas uma desordem que compreende a associação de inúmeras patologias de causas e patofisiologias distintas (NESTLER et al., 2002).

A DM é considerada sobretudo como um distúrbio centrado em torno da disfunção das vias monoaminérgicas (serotonina, dopamina e noradrenalina) (ELHWUEGI, 2004). No entanto, foi evidenciado nos últimos anos o envolvimento dos sistemas imune-inflamatório (MAES, 1995; MILLER et. al, 2009), estresse oxidativo e nitrosativo (EO/N) e redução das neurotrofinas no estabelecimento da doença (MAES, 2008;. SARANDOL et al, 2007). Nesse contexto, postulou-se que a interação destes sistemas conduz à alterações estruturais e funcionais do cérebro, num processo referido como neuroprogressão associado a DM (MOYLAN et al., 2013).

### **3.2. Mecanismos associados com a neuroprogressão da DM**

#### **3.2.1. Envolvimento das alterações estruturais na DM**

Acredita-se que a progressão da DM leva a conseqüente alterações morfológicas cerebrais (MOYLAN et al., 2013). Observações evidenciaram inúmeras diferenças morfológicas das estruturas cerebrais entre pacientes com e sem DM (PRICE E DREVETS, 2010).



Dentre as regiões mais afetadas na doença, sabe-se que o hipocampo é a principal região implicada com patofisiologia da DM (EYRE E BAUNE, 2012). Alguns pesquisadores sugerem que o hipocampo pode reduzir cerca de 8-19% do seu tamanho total em pacientes com DM (STOCKMEIER et al., 2004; PRICE E DREVETS, 2010). Somando-se a isto, é visto que a diminuição da massa cinzenta, amígdala, córtex pré-frontal, gânglios basais e pituitária também estão intensamente associadas com a DM (FRODL et al., 2008; OAKES et al., 2016). Essas alterações estruturais acarretam em interferências nos neurocircuitos cerebrais, culminando com modificações da transmissão sináptica e por fim com as alterações de humor (PRICE E DREVETS, 2010).

Por outro lado, existem diversas controvérsias em relação as alterações morfo-estruturais no cérebro de pacientes com DM. Alguns estudos apontam que essas mudanças são resultantes de efeitos tóxicos, produzidos durante episódios depressivos. No entanto, há relatos que essas alterações são visíveis apenas em episódios mais graves da doença (MOYLAN et al., 2013).

### **3.2.2. Teoria monoaminérgica**

A depleção dos neurotransmissores monoaminérgicos dopamina (DA), serotonina (5-HT) e noradrenalina (NA) na fenda sináptica, é uma das teorias mais bem aceitas frente a patofisiologia da DM (Figura 1) (SCHILDKRAUT, 1965; COPPEN, 1967). Essa hipótese sugere que o desequilíbrio de monoaminas, especialmente de 5-HT, é o processo central da doença (HIRSCHFELD, 2000). Essa teoria foi evidenciada através da administração de reserpina em modelos animais, que reduziu os níveis das monoaminas na fenda sináptica conduzindo a sintomas que se assemelham aos da DM (BRIGITTA, 2002).

O declínio da concentração monoaminérgica está associado com a disfunção da atividade de proteínas transportadoras (LESCH et al. 1993), auto-receptores e de enzimas envolvidas na síntese e degradação de monoaminas (LEONARD, 2000; MILLER et al. 1996). Devido a isso, os antidepressivos disponíveis atuam modulando esse sistema, através da regulação dessas vias (WANG et al., 2016).

O sistema serotoninérgico está intimamente envolvido no estabelecimento, estágio e progressão da DM ,uma vez que, a 5-HT atua como um fator neurotrófico e promove o estímulo da neurogênese (DJAVADIAN, 2004; SLYEPCHENKO et al,

2016). Desta maneira, o declínio desse neurotransmissor pode contribuir com a redução da neurogênese e subsequente neuroprogressão. A 5-HT também apresenta atividade antioxidante (HUETHER e SCHUFF-WERNER, 1996) e anti-inflamatória (KUBERA et al., 2000; KUBERA et al., 2005), e dessa forma atua prevenindo danos advindos de processos inflamatórios e do estresse oxidativo (EO).

A 5-HT é oriunda do aminoácido essencial triptofano, e sua síntese é catalisada pela enzima triptofano hidroxilase, tendo como cofator dessa reação a tetrahydropterina ( $BH_4$ ) (SCHNEIDERS et al., 2015; SLYEPCHENKO et al., 2016). O triptofano, é catabolizado pela enzima indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO) que uma vez em atividade diminui a disponibilidade da 5-HT na fenda sináptica. Sabe-se que as citocinas pró-inflamatórias podem ativar a IDO conduzindo não só a depleção de 5-HT como também a síntese de catabólitos de triptofano (TRYCATs), como a quinurenina, que é convertida em ácido quinurênico e quinolínico (CAPURON E DANTZER, 2003; MAES et al., 2011). Além disso, estudos demonstram que o aumento dos níveis de quinurenina e ácido quinolínico está correlacionado com a diminuição dos níveis de triptofano e sintomas mais severos da DM (RAISON et al., 2010). Interessantemente, a ativação da IDO também implica no decréscimo de moléculas antioxidantes, tais como a melatonina e N-acetilserotonina (NAS) que também são produtos do triptofano (KOTLER et al., 1998; WÖLFLER et al., 1999; ANDERSON et al., 2013; SLYEPCHENKO et al. 2016). Nesse contexto, o aumento da atividade de IDO acarreta na produção de TRYCATs, resultando na redução dos níveis de 5-HT e aumento das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO/N). Similarmente a IDO, a enzima triptofano 2,3-dioxigenase também contribui com a oxidação do triptofano (RAFICE et al., 2009).

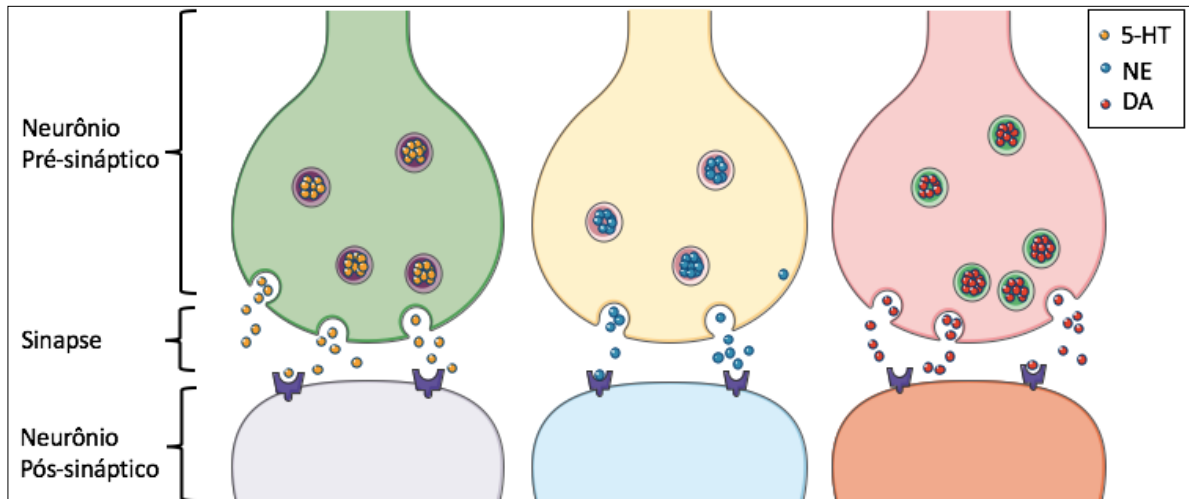


Figura 1. Neurotransmissão monoaminérgica. Serotonina-5-HT, noradrenalina-NE, dopamina-DA. Fonte: Própria.

Além do sistema serotoninérgico, acredita-se que as vias noradrenérgica e dopaminérgica também estejam envolvidas com a neuroprogressão da DM. Estudos *post-mortem* e de imagem funcional revelaram densidade e sensibilidade alterada nos receptores noradrenérgicos em córtex pré-frontal e hipocampo de vítimas depressivas com tendências suicidas (ESCRIBA, 2004; MOYLAN et al., 2013).

Existe uma correlação do sistema noradrenérgico, depressão e neuroinflamação, indicando que o interferon-alfa (IFN- $\alpha$ ) induz a diminuição da densidade axonal de neurônios noradrenérgicos (ISHIKAWA et. al, 2007). Alguns antidepressivos aumentam a regeneração axonal de neurônios noradrenérgicos na região cortical levando a melhora nos sintomas depressivos (ORDWAY, 2003; MOYLAN et al., 2013).

Outros estudos apontam o envolvimento do sistema dopaminérgico com estabelecimento da DM. Essa teoria é enriquecida pela fraca resposta dos pacientes aos antidepressivos que modulam os sistemas noradrenérgico e serotoninérgico, sugerindo o envolvimento de outra via no desencadeamento da DM. Dessa forma, por não atuarem em receptores dopaminérgicos, ocorre uma baixa remissão da doença frente a antidepressivos seletivos de serotonina e noradrenalina (DUNLOP, et al., 2007; ROSENBLAT ET AL., 2016). Além disso, estudos clínicos demonstraram que pacientes depressivos tem uma redução nos níveis de dopamina e seus metabólitos, sugerindo, a possível relação desse neurotransmissor com a DM (BROD et. al., 2016).

Assim, a utilização de medicamentos que agem aumentando a concentração de monoaminas na fenda sináptica contribui com a melhora dos sintomas depressivos.

### 3.2.2.1 Tratamentos disponíveis

As primeiras moléculas antidepressivas foram descobertas no final da década de 50. Isso cooperou com um grande avanço no tratamento e compreensão dos possíveis mecanismos subjacentes da DM (MORENO et al, 1993). A grande maioria dos antidepressivos disponíveis, tem como principal mecanismo, o aumento das monoaminas na fenda sináptica, levando assim a uma melhora no humor.

Inicialmente, haviam disponíveis duas classes de antidepressivos, os tricíclicos (ADTs) e os inibidores da enzima monoaminoxidase (IMAOs). Apesar de sua eficácia, eles apresentam inúmeros efeitos adversos causados pela sua ação farmacológica inespecífica, além de serem potencialmente letais em casos de superdosagem (WANG et al., 2016).

Ao decorrer dos anos, novas classes de antidepressivos foram emergindo, tendo como destaque os inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS); antidepressivos atípicos; inibidores da recaptção da serotonina e noradrenalina (ISRN); (MORENO et. al., 1999). Apesar disso, esses antidepressivos ainda são acompanhados por efeitos indesejáveis, baixas taxas de remissão e geralmente exercem sua função farmacológica de 3-4 semanas após o início do tratamento. Esses fatores muitas vezes incentivam o abandono dos tratamentos pelos pacientes.

Tabela 2 - Classificação dos antidepressivos

<p><b><i>Inibidores da monoaminas oxidase (IMAOs)</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b><i>Não seletivos e irreversíveis</i></b> Fenelzina Iproniazida</li> <li>• <b><i>Seletivos e irreversíveis</i></b> Clorgilina (MAO-A)</li> <li>• <b><i>Seletivos e Reversíveis</i></b> Moclobemida</li> </ul>
<p><b><i>Inibidores não seletivos de recaptura de monoaminas (ADTs)</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b><i>Inibição mista de recaptura de 5-HT/NE</i></b> Imipramina</li> </ul>

Desipramina
<b><i>Inibidores seletivos de recaptura de serotonina (ISRS)</i></b>
Fluoxetina
Sertralina
<b><i>Inibidores seletivos de recaptura de 5-HT/NE (ISRSN)</i></b>
Venlafaxina
Duloxetina
<b><i>Antidepressivos atípicos</i></b>
Trazodona
Bupropiona
Nefazodona

Fonte: Adaptado de MORENO et al. (1993) e ATTARD (2012).

Apesar dos avanços na farmacologia dos antidepressivos, apenas 60-70% dos pacientes com DM se beneficiam com o tratamento, sendo que 30% a 40% falham na resposta a primeira terapia, partindo para outra classe de antidepressivos ou até mesmo para outros tipos de tratamentos (MORENO et al. 1993).

Vale destacar, que além de modular o sistema monoaminérgico, algumas classes de antidepressivos também contribui com neurogênese e sobrevivência celular, através da indução do BDNF. Além do mais, evidências sugerem que alguns antidepressivos, como por exemplo a fluoxetina, apresentam atividade antioxidante e anti-inflamatória (ZHU et al., 2015). Assim, acredita-se que a resistência aos tratamentos disponíveis está associada principalmente a heterogeneidade da DM o que impossibilita a ação eficaz dos antidepressivos (HODES et al., 2014).

Nessa perspectiva, devido à crescente necessidade de busca de fármacos mais eficientes para o tratamento de DM e que apresentem menores efeitos tóxicos, os compostos orgânicos de Se somado as imidazopiridinas são de fato uma promissora opção.

### **3.2.3. Teoria neurotrófica da depressão**

Os fatores neurotróficos são reguladores da sinaptogenese, neurogênese e plasticidade das redes neuronais. Especificamente, a plasticidade neuronal refere-se a capacidade do sistema nervoso central (SNC) em responder e se adaptar ao novo

ambiente e engloba uma série de mecanismos funcionais que podem levar a remodelação neuronal, formação de novas sinapses e origem de novos neurônios. A falha em tais mecanismos pode aumentar a susceptibilidade ao desenvolvimento de patologias, como por exemplo a DM (SLYEPCHENKO et al., 2016).

A neurogênese, processo de geração de novos neurônios, no cérebro adulto está restrita a duas regiões: na zona sub-ventricular (SVZ) e zona sub-granulares (SGZ) do giro dentado do hipocampo. Sabe-se ainda que, agentes estressores podem alterar os processos de neurogênese (SLYEPCHENKO et al., 2016). Neste cenário, a neuroinflamação tem grande contribuição nas alterações de parâmetros funcionais e químicos do hipocampo, contribuindo com a redução da expressão de neurotrofinas, afetando a neurogênese. Estudos demonstraram anteriormente que a administração intraperitoneal de LPS diminui a sobrevivência e diferenciação de novos neurônios (MCNALLY et al., 2008).

O BDNF é a neurotrofina mais abundante no SNC e SNP. Estudos em modelos animais demonstraram que o estresse diário e citocinas pró-inflamatórias reduzem a expressão dessa neurotrofina, e que esta redução pode ser impedida por tratamento com drogas antidepressivas (MCNALLY et al., 2008).

A função do BDNF é mediada através da sua ligação ao receptor de alta afinidade tropomiosina quinase B (TrkB), que por sua vez, desencadeia ativação de cascatas de sinalização promovendo o aumento da sobrevivência neuronal e formação de novas redes sinápticas (TOMAZ et al., 2014). Evidências apontam que pacientes depressivos apresentam baixa expressão de TrkB, sugerindo o envolvimento da via do BDNF no estabelecimento da DM, enquanto que tratamentos com antidepressivos promove o aumento da expressão de BDNF e seu receptor TrkB. O controle dessa via pode influenciar positivamente na melhora do humor deprimido (TOMAZ et al., 2014).

#### **3.2.4. Teoria do estresse oxidativo**

A produção de ER é parte fundamental do metabolismo aeróbico (BARREIROS E DAVID, 2006). Acredita-se que sob condições normais, elas estejam envolvidas na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intracelular e biossíntese (VISIOLI et al., 2000). Entretanto, quando há alguma disfunção biológica, o excesso dessas substâncias apresenta efeitos deletérios ao

organismo. Isso contribui com o desencadeamento de várias patologias, tais como artrite, choque hemorrágico, doenças cardiovasculares e doenças neuropsiquiátricas, como a DM (VAVÁKOVÁ et, al. 2015).

O estresse oxidativo (EO) resulta de um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidante e antioxidante, onde há predomínio do pró-oxidante (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1995). O dano oxidativo em biomoléculas, pode ser ocasionado por radicais livres como radical ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hidroxil ( $OH^{\cdot}$ ) ou moléculas não radicalares, como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). No entanto, esses danos podem ser prevenidos por substâncias antioxidantes enzimáticas e/ou não enzimáticas (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1995).

Antioxidante é qualquer molécula que, quando presente em baixa concentração em relação ao substrato oxidável, possui a capacidade de regenerar o substrato ou prevenir significativamente a oxidação do mesmo (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1995). As defesas antioxidantes podem ser enzimáticas, destacando-se a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e GPx; e não enzimáticas, como a glutatona, ubiquinona, ácido ascórbico, vitamina E e Se (Figura 2) (FINKEL E HOLBROOK, 2000).

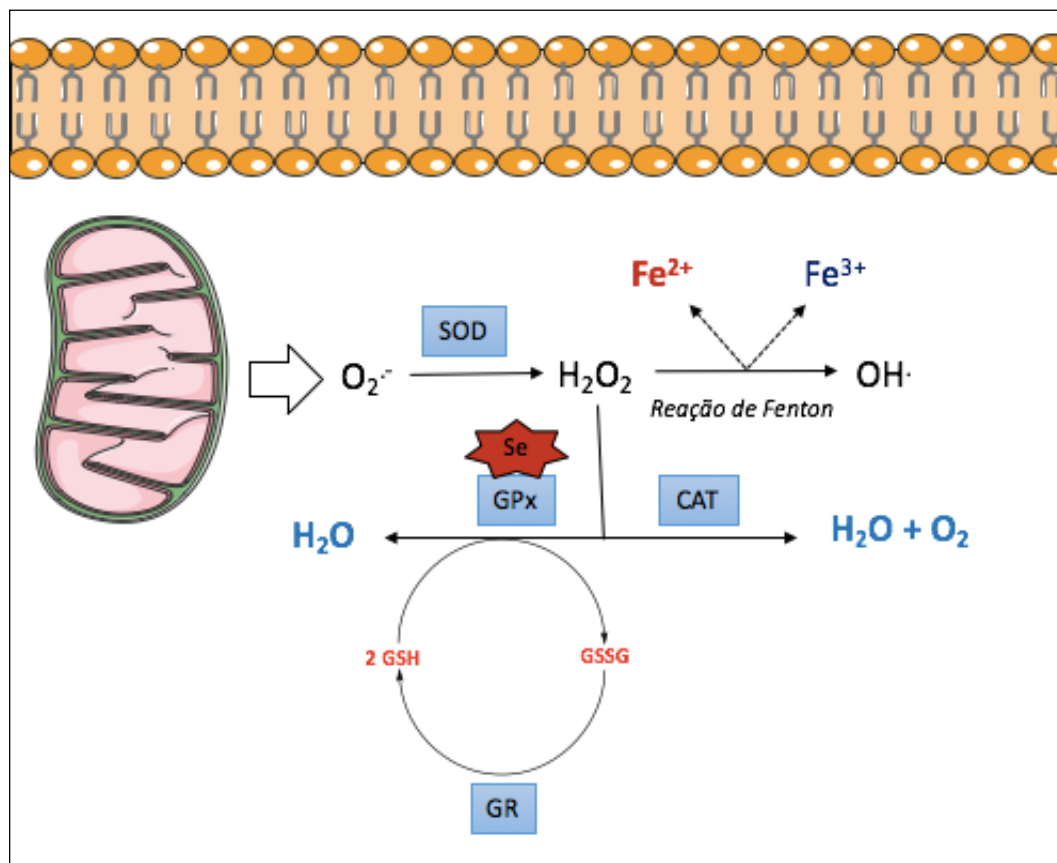


Figura 2. Representação esquemática da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e defesas antioxidantes. Adaptado de Casaril (2015). Radical ânion superóxido ( $O_2^-$ ), superóxido dismutase (SOD), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), íon ferroso ( $Fe^{2+}$ ), íon férrico ( $Fe^{3+}$ ), radical hidroxil ( $OH^-$ ), molécula de água ( $H_2O$ ), glutaciona peroxidase (GPx), selênio (Se), catalase (CAT), oxigênio ( $O_2$ ), glutaciona (GSH), glutaciona oxidada (GSSG), glutaciona redutase (GR).

Embora a produção de ER ocorra em diversas organelas celulares, a mitocôndria é a principal fonte de síntese dessas substâncias (PANDYA et al., 2013). Essa característica está condicionada com a alta demanda energética da mitocôndria, uma vez que a cadeia transportadora de elétrons (CTE) está na sua membrana interna. A nível fisiológico normal, as ER formadas são combatidas pelas defesas antioxidantes presentes nas células. A primeira ER formada a partir da redução parcial do oxigênio molecular é o  $O_2^-$  que é reduzido a  $H_2O_2$  pela enzima SOD. Os principais complexos responsáveis pela produção de  $O_2^-$  são o I e III. O  $H_2O_2$  é uma ER não-radicalar que por si só não reage com biomoléculas. No entanto, essa espécie se dissolve facilmente pelas membranas celulares reagindo com metais de transição (principalmente ferro) pela reação de Fenton. A partir dessa reação ocorre a formação do  $OH^-$ , o radical livre mais danoso ao organismo. A fim de prevenir danos ocasionados por essa ER, o organismo conta com dois sistemas de defesas principais: a enzima CAT, que converte o  $H_2O_2$  a água e oxigênio; e a enzima GPx, uma selenoproteína, que reduz o  $H_2O_2$  a uma molécula de água a partir da oxidação da glutaciona (Figura 3). A glutaciona oxidada é reduzida pela enzima glutaciona redutase, para posterior reutilização (PANDYA et al., 2013).

Sob a condição de EO, as biomoléculas tornam-se alvos das ER (Figura 3). Considerando a importância da mitocôndria no EO, o DNA mitocondrial é oxidado culminando com o aumento da permeabilidade da membrana dessa organela (LEONARD E MAES, 2012). O extravasamento de componentes da mitocôndria tais como, DNA mitocondrial oxidado, citocromo c e até mesmo as ER, resulta no aumento da peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, ativação da via das proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK), fator nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) e consequente aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias e finalmente morte celular.

Além de produtos oriundos da oxidação de DNA mitocondrial, sabe-se que os produtos da peroxidação lipídica, especialmente o malondialdeído (MDA), diminuem os níveis de antioxidantes acarretando ainda mais com os danos celulares (LONG et al., 2009), particularmente em células da glia (PAPADOPOULOS et al., 1997). Além



disso, estudos demonstraram que o MDA apresenta grande influência na disfunção mitocondrial, pela sua capacidade de inibir os complexos I, II e V da CTE. O complexo IV da CTE também conhecida como citocromo c oxidase, é responsável pela reação de redução de oxigênio molecular a molécula de água. Assim, disfunção nesse complexo pode interferir no funcionamento normal da CTE e aumentar da produção de ER. Estudos apontam que pacientes com DM apresentam uma diminuição na atividade do complexo IV da CTE. (GARDNER et al., 2003; SHAO et al., 2008; GARDNER et al., 2011).

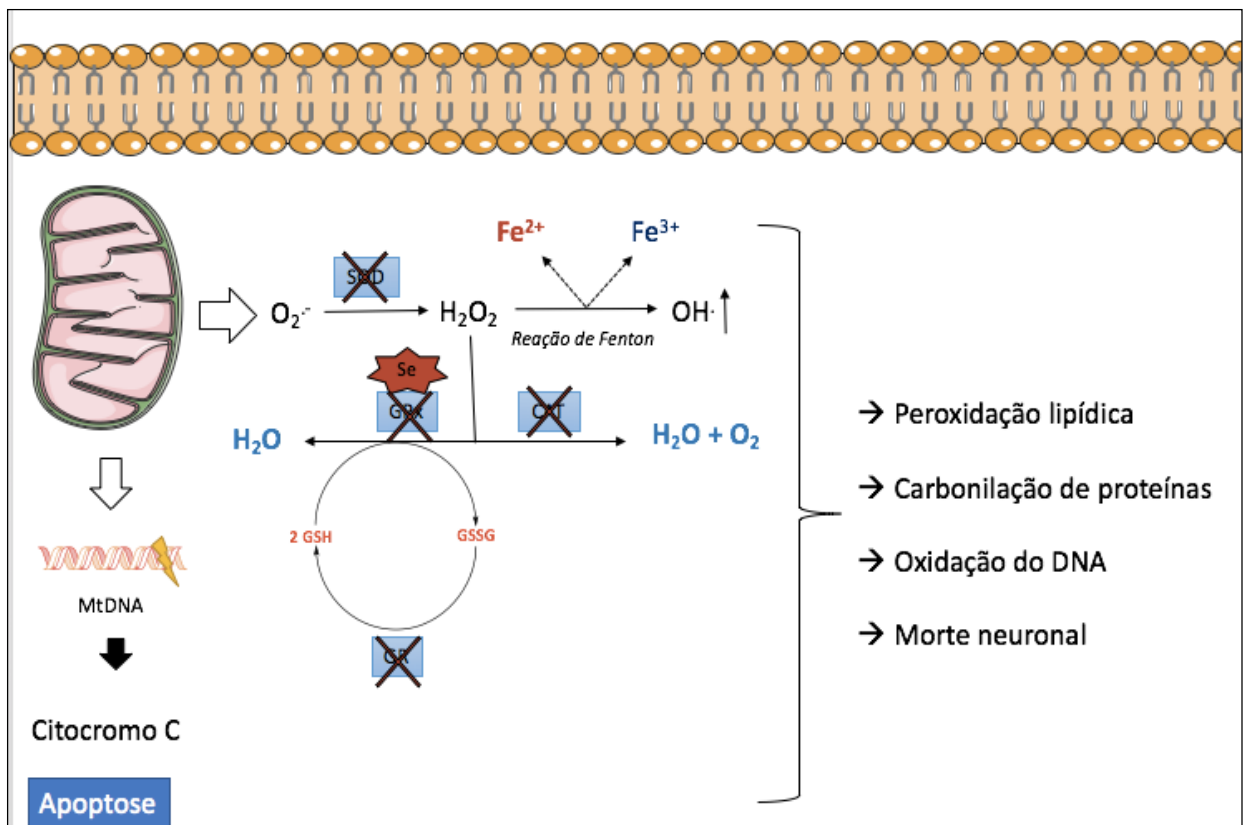


Figura 3. Representação dos danos ocasionados em decorrência do estresse oxidativo. DNA mitocondrial (MtDNA), superóxido dismutase (SOD), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxil ( $OH^\cdot$ ), ânion superóxido ( $O_2^\cdot$ ), molécula de água ( $H_2O$ ), molécula de oxigênio ( $O_2$ ), selênio (Se), íon férrico ( $Fe^{3+}$ ), íon ferroso ( $Fe^{2+}$ ). Fonte: Própria.

O SNC demanda de alta necessidade energética para o seu funcionamento. Cerca de 20% do oxigênio do organismo é direcionado para o cérebro. Considerando-se que o cérebro apresenta altas concentrações de lipídeos, oxigênio e metais de transição (principalmente o ferro), o mesmo apresenta alta vulnerabilidade aos danos oxidativos (PANDYA et al., 2013). Entretanto, essa vulnerabilidade pode ser prevenida pelo sistema de defesa antioxidante que é proeminente no SNC.

O EO está intimamente associado com a neuroprogressão da DM. Estudos apontam que as ER em condição de EO levam a danos em lipídeos, proteínas e DNA (KIM et al., 2015). Relatos apontam que a oxidação de biomoléculas leva a formação de neoepítomos, os quais são reconhecidos pelo sistema imunológico, corroborando com o desencadeamento de respostas autoimunes secundárias (MOYLAN et al., 2013; SLYEPCHENKO et al., 2016). Além disso, as ER oxidam a tetrahydrobiopterina ( $BH_4$ ), que é o cofator enzimático da tirosina e triptofano hidroxilase que participa na síntese de monoaminas, levando a redução desses neurotransmissores na fenda sináptica (CUNNINGTON E CHANNON, 2010; FELGER E LOTRICH, 2013).

Vale destacar que a ativação do sistema imune-inflamatório na DM, está associado com o aumento da produção de ER. As citocinas pró-inflamatórias induzem a expressão da enzima óxido nítrico sintase (iNOS), aumentando assim a produção de óxido nítrico (ON). O aumento acentuado na produção de ON na DM pode causar a hipernitrosilação de proteínas e resultar em moléculas imunogênicas, induzindo respostas auto-imunes (MAES, 2008; MOYLAN et al., 2013). Em condições fisiológicas normais, o ON é sintetizado a partir da L-arginina através da enzima óxido nítrico sintase constitutiva e endotelial (cNOS, eNOS) (PISOSCHI et al., 2015).

É importante ressaltar que as ER também são mediadores chave para ativação do sistema neuroinflamatório. Através da via do  $NF\kappa B$ , as ER levam o aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, ativação da iNOS, dano em biomoléculas e morte de neurônios (FELGER E LOTRICH, 2013; MOYLAN et al., 2013; SLYEPCHENKO et al., 2016).

Foi relatado anteriormente, o aumento dos níveis de enzimas envolvidas na produção de ER em pacientes deprimidos (SCAPAGNINI et al., 2012). Dentre essas, destacam-se a xantina-oxidase (XO) e MAO, cujo derivados levam a superprodução de ER e aumento da expressão de NADPH oxidase (NOx). Assim como, na ativação de iNOS, a indução de NOx também está condicionada aos processos inflamatórios. A indução da inflamação contribui com a ativação NOx na microglia que atua sinergicamente com a iNOS na produção de peroxinitrito, resultando na morte neuronal. Sabe-se que as citocinas pró-inflamatórias  $IL-1\beta$ ,  $TNF-\alpha$  e  $IFN-\gamma$  induzem a ativação da NOx que produz o  $O_2\cdot^-$ . Esse radical reage com o ON oriundo da iNOS formando o peroxinitrito. Assim como o  $OH\cdot^-$ , o peroxinitrito é um potente oxidante com alta reatividade biológica (MORRIS E BERK, 2015). Similarmente a iNOS, a

expressão de NOx é regulada pelo fator de transcrição NF $\kappa$ B (GAŁECKI, 2012), que é ativado pelas ER e estímulos inflamatórios. Esse ciclo vicioso corrobora fortemente com a patofisiologia da DM e a gravidade da doença pode ser atribuída a intensidade da associação desses fatores.

### **3.2.5. Teoria da neuroinflamação**

A patogênese da DM também foi associada com a ativação do sistema imunológico (BRITES E FERNANDES, 2015), uma vez que, pacientes com DM possuem altos níveis de citocinas pró-inflamatórias no plasma sanguíneo e no fluido cérebro-espinhal (MAES et al., 2011; WON et al., 2016).

As citocinas são mediadores químicos da resposta imunológica e são secretados principalmente por células do sistema imune (SCHIEPERS; WICHERS; MAES, 2005). Essas moléculas são agrupadas de acordo a similaridade funcional, podendo ser, pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias. As principais citocinas pró-inflamatórias são interleucina 1 – alfa e beta (IL-1  $\alpha$  e  $\beta$ ), interferon gama (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral- alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6) (ANDERSON et al., 2013) e geralmente conduzem a febre, inflamação e dano tecidual (XIE et al., 1992). Em contrapartida, as citocinas anti-inflamatórias são IL-4, IL-10 e IL-14 geralmente apresentam efeitos opostos aos das pró-inflamatórias (KRONFOL E REMICK, 2000). Embora as definições de citocinas pró ou anti-inflamatórias estejam bem estabelecidas, o grupamento das mesmas é relativamente arbitrário e não descrevem a ampla funcionalidade associada a essas moléculas (DINARELLO, 2000).

Na DM, sintomas vegetativos tais como retardação psicomotora, fadiga, perda de apetite e peso, estão correlacionados com os sinais da inflamação (MAES, 1993; MAES et al., 1993). Esse padrão de comportamento é bastante comum naqueles com comportamento doentio (do inglês: **“sickness behavior”**) que é uma resposta adaptativa à inflamação aguda (MAES et al., 2012). Estudos demonstraram anteriormente que a citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$  pode levar ao comportamento doentio em resposta a alguns patógenos específicos (DANTZER, 2009). É visto que a integridade da barreira cérebro sangue pode ser afetada por essa resposta, contribuindo desta forma com a neuroinflamação (WAISMAN et al., 2015).

Embora o cérebro seja considerado um órgão imune privilegiado, as citocinas pró-inflamatórias periféricas podem alcançar o SNC através da barreira cérebro-

sangue (SCHIEPERS et al., 2005). Devido ao seu alto peso molecular, as citocinas não atravessam facilmente essa barreira sob condições fisiológicas (HAROON et al., 2012). Dessa maneira, elas conseguem alcançar o SNC por diferentes mecanismos: por meio da ativação de nervos aferentes em contato com a barreira cérebro-sangue intacta; através dos órgãos circunventriculares, que possuem a barreira cérebro-sangue permeável devido a presença de capilares fenestrados; através da ligação de patógenos ao receptor tipo-Toll presente em células microgliais residentes do plexo coroide; através de proteínas transportadoras presentes na barreira cérebro-sangue e por meio da produção de citocinas pelas células endoteliais que constituem a barreira cérebro-sangue, sendo este último a principal fonte de citocinas (WATKINS et al., 1995; DANTZER et al., 1999; SCHIEPERS et al., 2005; SERUGA et al., 2008; KIM et al., 2015; SLYEPCHENKO et al., 2016).

Vale destacar que algumas citocinas pró-inflamatórias também podem causar danos na barreira cérebro sangue, como por exemplo o TNF-  $\alpha$ . Alguns estudos apontam que a integridade da barreira pode ser afetada por condições patológicas como por exemplo a DM, resultando no acesso de várias células imunocompetentes e citocinas no SNC. Apesar de alcançarem a barreira cérebro sangue, essas citocinas se ligam aos seus receptores nas células endoteliais cerebral, assim induzem a ativação de segundos mensageiros, como o ON e prostaglandinas. Esses segundos mensageiros por sua vez, conduzem a produção de mais citocinas pró-inflamatórias no SNC (WATKINS et al., 1995; MERRILL E MURPHY, 1997; MAIER E WATKINS, 1998).

Além da infiltração e sinalização indireta do sistema periférico, as citocinas e seus receptores também são produzidas constitutivamente no SNC. Assim como as células imunocompetentes, os astrócitos, micróglia e até mesmo neurônios podem liberar essas moléculas (FREIDIN et al., 1992).

Apesar de seus efeitos deletérios, as citocinas IL-1, IL- 6, TNF-  $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , produzidas no SNC sob condições normais, contribuem com o desenvolvimento neuronal, plasticidade, sinaptogênese e reparo tecidual (ALOISI et al., 1995; MUNOZ-FERNANDEZ E FRESNO, 1998; BEATTIE et al., 2002). Em contraste, a expressão desses mediadores pelas células gliais, pode ser disparado por algum estímulo antigênico local, periférico e até mesmo por algum dano cerebral (CSERR E KNOPF, 1992).

A correlação da DM com a neuroinflamação é bem estabelecida, uma vez que

a administração de citocinas pró-inflamatórias em animais e humanos induz sintomas tipo-depressivos. Foi reportado por HORIKAWA e colaboradores (2003) que a DM é bastante comum em pacientes com hepatite C sob tratamento com interferon-alfa (IFN- $\alpha$ ). Os níveis de IL-6 e TNF- $\alpha$  que aumentam após administração de IFN- $\alpha$  estão significativamente associados com a severidade da doença (CAPURON, 2002). Juntamente a isso, as citocinas também ativam o eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA), sistema que está intimamente associado com a patofisiologia da DM, devido à capacidade desses mediadores de estimular o hormônio liberador de corticotropina (HLC) e o hormônio adrenocorticotrópico (HA) (WON JEON et al., 2016).

Em geral, a neuroprogressão da DM está associada com a interligação de todos esses sistemas. Quando as citocinas pró-inflamatórias periféricas alcançam o SNC, elas aumentam a produção de mediadores inflamatórios locais, ativando a COX-2, a iNOS e o NF- $\kappa$ B, aumentando a produção de prostaglandina, ON, ER e citocinas, tanto pelas células endoteliais, como pelos macrófagos perivasculares e micróglia (FELGER E LOTRICH, 2013; WON JEON et al., 2016).

Através da geração das ER, as citocinas contribuem para a redução da BH<sub>4</sub>, cofator necessário para a síntese das monoaminas, que é altamente sensível ao EO (MILLER E RAISON, 2016). Além disso, as citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , através da via das MAPK pela indução de p38, podem diminuir a expressão dos transportadores vesiculares das monoaminas (o VMAT2) e aumentar a expressão de transportadores de membrana de serotonina e dopamina, o 5-HTT e DAT. Esses fatores corroboram com redução da concentração das monoaminas na fenda sináptica (FELGER E LOTRICH, 2013; MILLER E RAISON, 2016; WON JEON et al., 2016). Além disso, as citocinas pró-inflamatórias diminuem a expressão do BDNF, prejudicando a neurogênese e a plasticidade neuronal (ROSENBLAT et al., 2015).

Através das vias de sinalização da MAPK e NF- $\kappa$ B, as citocinas pró-inflamatórias ativam a enzima IDO. Essa ativação contribui com a metabolização do triptofano, precursor do 5-HT, à quinureinina reduzindo os níveis dos neurotransmissores 5-HT na fenda sináptica. Essa quinureinina é novamente metabolizada formando o um composto neurotóxico, o ácido quinolínico (QUIN). Níveis aumentados de QUIN foi encontrado em micróglia no córtex de vítimas do suicídio que sofriam de DM. O QUIN é um agonista dos receptores de glutamato N-metil D-Aspartato (NMDA) e ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico

(AMPA). Considerando-se que o glutamato é um neurotransmissor excitatório, essa ação agonista aumenta a excitotoxicidade nos neurônios. É importante salientar, que o excesso de citocinas, ER e QUIN também reduz a expressão dos transportadores de glutamato (EAAT) nos astrócitos, e conseqüentemente isso diminui a recaptação desse neurotransmissor aumentando a sua disponibilidade na fenda sináptica (FELGER E LOTRICH, 2013; MILLER e RAISON, 2015; WON JEON et al., 2016). Além de aumentar a excitotoxicidade, a ligação do glutamato aos receptores NMDA também diminui a produção de BDNF, reduzindo a sobrevivência neuronal (Figura 4) (HARDINGHAM et al., 2002; FELGER E LOTRICH, 2013).

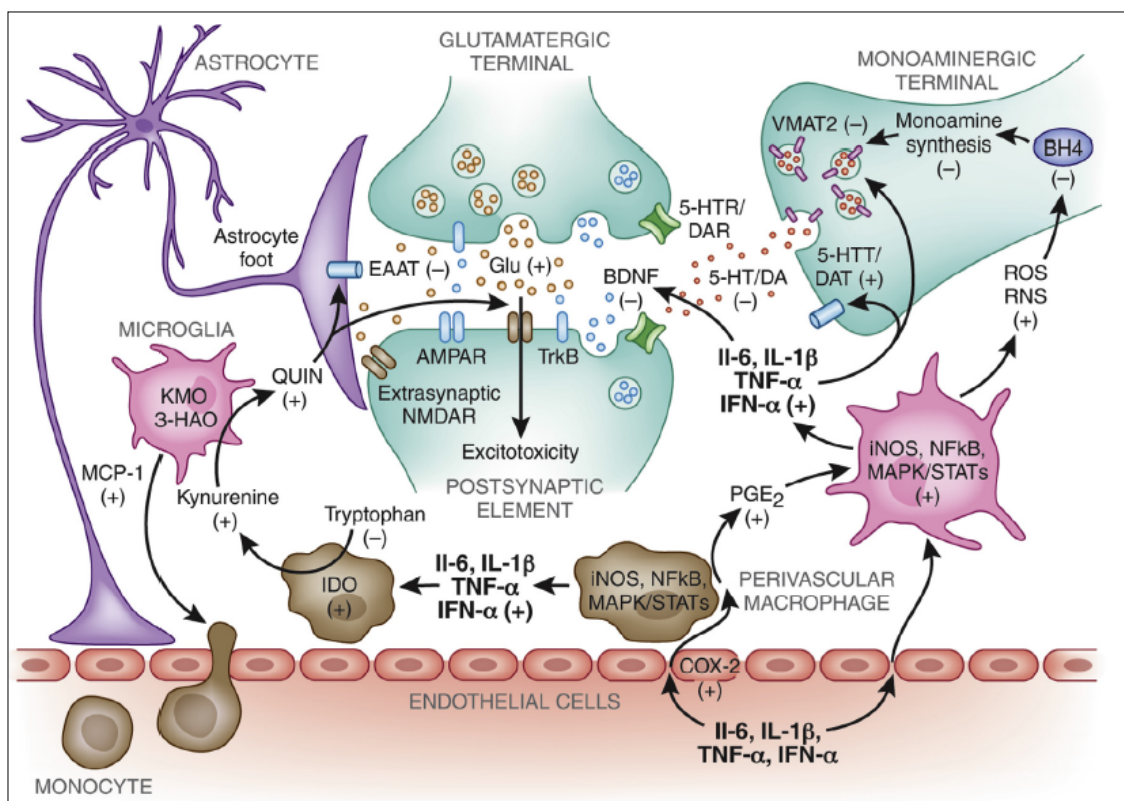


Figura 4. Mecanismos do sistema inflamatório no sistema nervoso central na patogênese da depressão maior (FONTE: FELGER e LOTRICH, 2013).

Tendo em vista que o estabelecimento da DM está correlacionada com todos esses mecanismos, essas evidências podem ser compreendidas por estudos com modelos animais de depressão induzido por lipopolissacarídeo. Devido a sua capacidade de evocar sintomas tipo-depressivo em roedores e por ser o modelo amplamente aceito para investigar a relação entre a neuroinflamação, EO, fatores neurotróficos e comportamento tipo-depressivo (MELLO et al., 2013).

### 3.3. *Lipopolissacarídeo*

O lipopolissacarídeo (LPS) é uma endotoxina e o principal componente da membrana externa de bactérias Gram negativas (GUHA E MACKMAN, 2001). O LPS pode levar a inflamação, sepse, choque séptico e até mesmo a morte. Essa endotoxina é constituída por três subunidades principais: a porção polissacarídica, o antígeno O (que varia de acordo o sorotipo de bactérias); núcleo, que liga o a porção lipídica ao antígeno O; e o lipídeo A que confere a sua imunogenicidade (GUHA E MACKMAN, 2001).

A resposta imune inata é ativada através da ligação de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) aos receptores de reconhecimento de padrões (RRP) presentes na membrana de células imunocompetentes (BRYANT et al., 2010). O LPS, um PAMP, induz a resposta imune inata pela sua ligação aos receptores tipo-toll 4 presente na superfícies de macrófagos, monócitos, micróglia e recentemente descoberto em astrócitos e neurônios (BRYANT et al., 2010; KUBERA et al., 2013).

A ativação das células por LPS promove a secreção de um amplo espectro de mediadores endógenos, tais como, as citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , IL- 6, TNF- $\alpha$ , fator inibitório de migração de macrófagos (FIM), fator estimulante de colônia, PGE2, tromboxano, leucotrienos e ER. Além disso o LPS pode causar ativação do sistema complemento, tanto pela via clássica quanto a via alternativa e lectina ( ZHU et al., 2015; ZHANG et al., 2016).

De acordo com ALEXANDER E RIETSCHHEL (2001), a ativação mediada pelo LPS ocorre da seguinte maneira: 1) reconhecimento do LPS pela proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LBP), que tem por função agregar especificamente essa endotoxina, em seguida; 2) ligação do LPS para o receptor CD14, essa proteína aumenta a sensibilidade das células ao LPS, reduzindo a concentração de LPS suficiente para induzir a resposta imune; e finalmente 3) transferência do LPS aos receptores tipo-Toll 4 e sua proteína acessória MD2, que por sua vez, conduz a uma rápida e coordenada ativação de várias vias de sinalização intracelulares. Dentre essas vias destacam-se a cascata das MAPK e do NF- $\kappa$ B. A transdução de sinal mediada pela endotoxina leva a ativação de variedades de fatores de transcrição, como por exemplo, NF- $\kappa$ B (p50) e proteína ativadora -1 (AP-1) (c-Fos/c-Jun). Esses fatores, regulam a indução de genes que codificam inúmeros mediadores

inflamatórios (Figura 5)(GUHA E MACKMAN, 2001; ALEXANDER E RIETSCHEL, 2001).

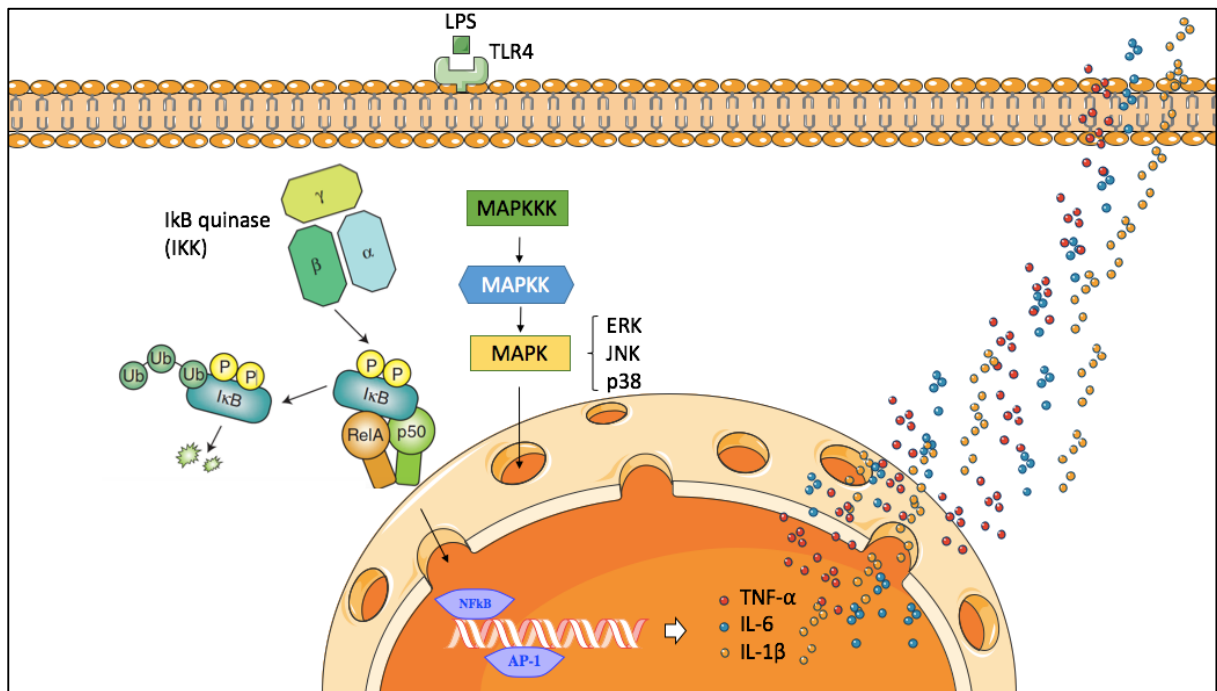


Figura 5. Transdução de sinal mediada por LPS. A endotoxina se liga ao receptor tipo-Toll ativando a cascata de sinalização do NF-κB e MAPK. Quando o LPS se liga aos receptores TLR4, a enzima IκB quinase ( $\gamma\beta\alpha$ ) é ativada e fosforila a porção IκB do complexo IκB/RelA/p50. A subunidade IκB fosforilada sofrerá ubiquitinação e então degradação proteossomal, já a porção RelA/p50 (NF-κB) livre será translocada para o núcleo aonde se ligará na sequencia promotora especifica conduzindo a transcrição de citocinas pró-inflamatórias. A ativação do TLR4 pelo LPS, também ativa a via da MAPK. Proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK); proteína quinase quinase ativada por mitógenos (MAPKK); proteína quinase quinase quinase ativada por mitógenos (MAPKKK); LPS (lipopolissacarídeo). Fonte: própria.

Diante disso, o LPS tem se destacado em estudos de DM, por ser capaz de induzir alterações comportamentais, neuroquímicas e neuroinflamatória similares aquelas vistas em pacientes com DM (O'CONNOR et al., 2009).

Foi evidenciado que tanto a administração sistêmica quanto a administração intracerebral de LPS, leva aos sintomas tipo-depressivos, elevação dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, aumento dos marcadores do dano oxidativo em modelos animais e ainda redução da expressão de BDNF (PAINSIPP et al., 2011; TOMAZ et al., 2014; CASARIL et al., 2015). Além disso, de acordo O'CONNOR e colaboradores (2009), a atividade daIDO é aumentada 24 horas após a administração sistêmica de LPS em camundongos, uma vez que esse aumento é correspondente ao



comportamento tipo-depressivo no TNF e TSC. Além de comprometer a neurotransmissão serotoninérgica, evidências sugerem que a administração sistêmica de LPS aumenta a degradação da DA e NA implicando na redução da neurotransmissão dessas monoaminas (FELGER E LOTRICH, 2013).

Em geral, o LPS induz o comportamento tipo-depressivo em roedores, por aumentar a expressão de citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , EO, os níveis de MDA (produto da peroxidação lipídica) e aumentar a atividade de IDO (O'CONNOR et al., 2009; CASARIL et al., 2015; WU et al., 2016).

O comportamento tipo-depressivo induzido pela administração de LPS, como a hipoatividade no TNF e TST, pode ser prevenido por antidepressivos que possuem atividade anti-inflamatória (YIRMIYA, 1996; OHGI et al., 2013). Além do mais, alguns estudos revelaram que o déficit comportamental observado nesse modelo, também está associado com o aumento da expressão de iNOS no hipocampo e outras regiões cerebrais (TOMAZ et al., 2014; NDONGSON et al., 2015; JIANG et al., 2016).

Essas observações conferem evidências de que a prevenção de distúrbios inflamatórios e proteção antioxidante, pode ser uma alternativa promissora para o tratamento da DM.

### **3.4. Selênio**

O Se é um micronutriente essencial, que pode ser encontrado em diversos alimentos como, atum, castanhas, salmão e cereais. O Se faz parte do aminoácido SeCys que está incorporado em 25 selenoproteínas humanas, as quais são codificadas pelo códon UGA. Dentre essas proteínas, vale destacar GPx, a TRx e a SeIP, as quais têm sido amplamente estudadas devido suas funções na regulação do sistema redox da célula (SANMARTÍN et al., 2011; FERGUSON et al., 2012; KUDVA et al., 2015).

Em relação a importância biológica das selenoproteínas, pode-se citar suas propriedades de transporte de Se conferido pela SeIP, capacidade antioxidante promovida pela GPx e atividade anti-inflamatória fornecida pelas SeIP entre outras (NOGUEIRA E ROCHA, 2011; FERGUSON et al., 2012; KUDVA et al., 2015). Embora apresentem inúmeras funções, a grande maioria das selenoproteínas são classificadas como agentes antioxidantes, cuja função é diminuir ou limitar o dano celular causado pelas ER (SANMARTÍN et al., 2011).

A biossíntese de selenoproteínas, ocorre de maneira bastante especial e depende da disponibilidade de Se. Os baixos níveis desse elemento, inviabilizam a síntese dessas proteínas pelas células, sendo este o efeito adverso em relação a baixa ingestão de Se (KUDVA et al., 2015). Por ser essencial a saúde humana, a deficiência de Se pode estar associada com diversas doenças do SNC, uma vez que a atividade antioxidante de selenoproteínas é de grande importância para a prevenção do dano oxidativo (BÉLANGER et al., 2011). Nessa perspectiva, é recomendado ingestão diária de aproximadamente 55 µg de Se para adultos, não ultrapassando o limite de ingestão de 400 µg/dia (IOM, 2000; CHRISTENSEN et al., 2015).

O principal fornecedor fisiológico de Se ao cérebro é a SelP (BURK e HILL, 2009). Foi observado em camundongos knock-out para SelP uma diminuição em níveis cerebrais de Se e redução na atividade enzimática das selenoenzimas (GPx, TrxR) (BURK e HILL, 2009).

Apesar da sua importância para o funcionamento de enzimas antioxidantes, as quantidades totais de Se são relativamente baixas no cérebro em relação a outros órgãos. No entanto, em condições de deficiência desse elemento, o cérebro o armazena melhor do que os demais tecidos, sugerindo a grande importância do Se no SNC (PROHASKA E GANTHER, 1976). Em uma análise da distribuição geral de Se no cérebro, foi visto que cerca de 20% do total desse elemento é incorporado na enzima GPx (PROHASKA E GANTHER, 1976). Além disso, foi evidenciado que nas regiões com maior concentração de massa cinzenta, os níveis de Se são mais elevados (PROHASKA E GANTHER, 1976).

Embora o cérebro represente apenas 2% da massa corporal total, o seu metabolismo conta com aproximadamente 20% do oxigênio e 25% de glicose consumida pelo corpo. Considerando sua alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados, sua alta atividade metabólica, o tecido torna-se mais vulnerável a peroxidação lipídica. Essa vulnerabilidade ao EO pode advir da deficiência de enzimas antioxidantes, contribuindo com desencadeamento de inúmeras doenças neuropsiquiátricas (WANG E MICHAELIS, 2010). Nesse sentido uma dieta rica em Se auxilia na manutenção dessas defesas no SNC, reduzindo os riscos de doenças neurológicas (CARDOSO et al., 2015). Adicionalmente a isso, foi evidenciado que baixo consumo de Se está associado com humor deprimido, ansiedade e declínio cognitivo. Portanto, a suplementação de Se leva a uma melhora no humor e estado depressivo (NOGUEIRA E ROCHA, 2011).

Tendo isso em vista essas promissoras atividades biológicas do Se, as pesquisas sobre compostos orgânicos contendo Se em sua estrutura se torna cada vez mais proeminente na comunidade científica.

### 3.5. Compostos orgânicos de Se

A atribuição de compostos orgânicos de Se para o estudo de terapias de inúmeras patologias vem crescendo nos últimos anos. Partindo do conhecimento das funções biológicas do Se e dos benefícios desse elemento, inúmeros grupos de pesquisas utilizam essa justificativa para a busca de fármacos mais promissores.

Atualmente, existe uma gama de investigações sobre as propriedades de compostos orgânicos de Se. Essas evidências apontam que esses compostos apresentam efeito antioxidante, anti-inflamatório, antidepressivo, neuroprotetor e antinociceptivo (Figura 6)(SOUSA et al., 2016; BROD et al., 2016; REIS et al., 2017).

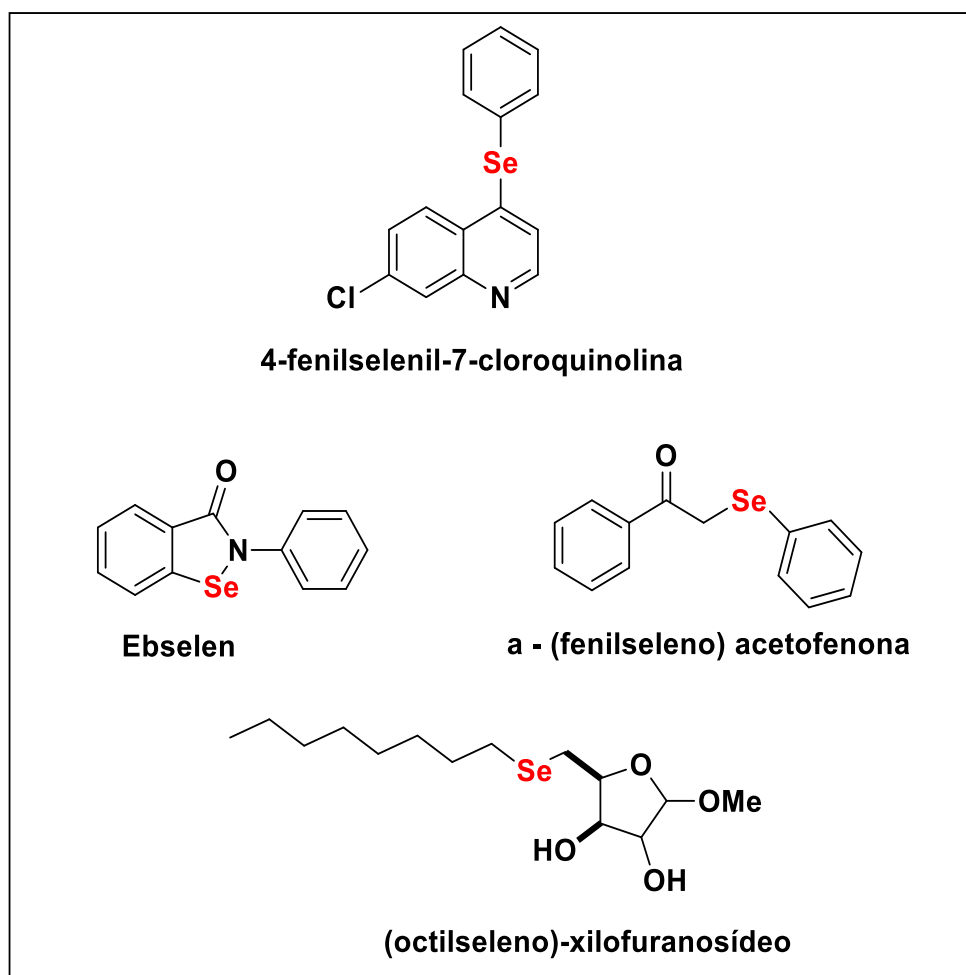


Figura 6. Representação gráfica das estruturas química de compostos orgânicos de selênio.

Em geral, baseando-se em curvas de dose, os compostos orgânicos de Se exercem o seu efeito farmacológico 30 minutos após a sua administração (GERSON et al., 2012; DONATO et al., 2015). Por causa disso, grande parte dos protocolos de avaliação do efeito desses compostos realizam as análises 30 minutos após a sua administração.

A função biológica de compostos orgânicos de Se é bastante ampla, essas moléculas são capazes de controlar o ciclo redox intracelular por mimetizar os efeitos antioxidantes ou ainda por complementar as defesas celulares contra agentes oxidantes (NOGUEIRA E ROCHA, 2011). Em relação ao efeito anti-inflamatório dos compostos orgânicos de Se, observações sugerem que essas moléculas reduzem os níveis de citocinas pró-inflamatórias e inibe enzimas que participam do processo inflamatório (NOGUEIRA E ROCHA, 2011; CASARIL et al., 2015). Além do mais, essas moléculas são capazes de modular sistemas de neurotransmissão devido sua capacidade de interação com receptores de neurotransmissores associados com a DM, minimizando os sintomas dessa doença. Outro efeito condicionado a esses compostos, é a capacidade de neuroproteção contra isquemia e morte neuronal já bem descrito por NOGUEIRA E ROCHA (2012).

Recentemente foi investigado o uso do Ebselen, um composto orgânico de Se com diversas propriedades biológicas, para o tratamento de transtorno de bipolaridade. Neste estudo, foi visto que o Ebselen mimetiza o lítio em virtude de sua capacidade de inibição do inositol monofosfatase, enzima envolvida no estabelecimento dessa doença. Além disso, é importante ressaltar que o Ebselen dispõe de propriedades antioxidante, antidepressiva e anti-inflamatória, em decorrência da combinação da estrutura química e Se (NOGUEIRA E ROCHA, 2012; SIGH et al., 2016). Por causa disso, a Universidade de Oxford já está realizando estudos de fase 2 com Ebselen para a desordem bipolar.

REIS et al. (2017) demonstrou o efeito ansiolítico do 4-fenilselenil-7-cloroquinolina, pela modulação do sistema glutamatérgico, inferindo que essa molécula pode ser um interessante substituinte às terapias ansiolíticas convencionais. O efeito do 4-fenilselenil-7-quinolina não está restrito somente ao controle da atividade ansiolítica, como também a multiplicidade de funções dessas moléculas somados a necessidade de busca de tratamentos eficazes para diversas condições patológicas. Dessa forma, o mesmo grupo de pesquisa demonstrou o efeito antinociceptivo e anti-inflamatório dessa molécula (PINZ et al., 2016; REIS et al., 2017)

Outra atribuição funcional aos compostos de Se, é a ação antidepressiva somada a antioxidante do  $\alpha$ -fenilselena-acetofenona, visto que, essa molécula mimetiza a selenoenzima GPx, ao passo que interage com os receptores monoaminérgicos. (COTGREAVE et al., 1992; GERZSON et al., 2012; SOUSA et al., 2015).

Em relação a toxicidade dos compostos orgânicos de Se existem poucos relatos que apontam seus efeitos adversos, entretanto, alguns estudos tentam explicar os efeitos tóxicos dessas moléculas relacionando aos compostos inorgânicos de Se. O Se inorgânico é tóxico aos sistemas biológicos, já que oxidam os tióis de alto e baixo peso molecular acarretando em severas consequências ao organismo. No entanto, grande parte das pesquisas apontam que os compostos orgânicos de Se apresentam baixa ou nenhuma toxicidade em modelos animais podendo extrapolar essa alegação ao organismo humano (GERZSON et al., 2012; CASARIL et al., 2015).

Assim, a partir do que foi exposto, é possível afirmar que os compostos orgânicos de Se são de fato moléculas promissoras para o tratamento de doenças associadas ao EO e patologias envolvidas com o sistema imune-inflamatório, como a DM.

### 3.6. *Imidazopiridinas*

Além dos compostos orgânicos contendo Se, outra classe de moléculas com propriedades biológicas bastante interessantes são as imidazopiridinas. O núcleo imidazopiridinico (Figura 7) é um importante constituinte de vários compostos biologicamente ativos. Sua grande importância se deve ao fato de que essas moléculas estão estruturalmente relacionadas a adenosina, demonstrando possuir atividade biológica de ligante dos receptores de adenosina, agente tumoral e viral (QIAN et al., 2016).

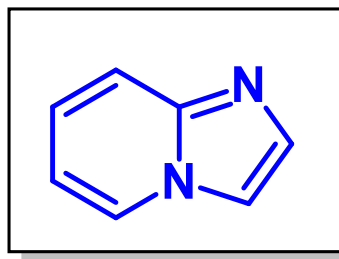


Figura 7. Núcleo imidazopiridinico

Embora os derivados das imidazopiridinas estejam associados a um amplo espectro de atividades farmacológicas, eles também têm demonstrado atividade anti-inflamatória por inibirem a adenosina desaminase, enzima que faz parte do metabolismo das purinas. Através de avaliações pré-clínicas foi demonstrado que o composto X22, também conhecido como Zolpidem (Figura 8), foi capaz de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-6 em macrófagos tratados com LPS, sugerindo-se que essas moléculas são bastante interessantes para o tratamento de patologias inflamatórias (QIAN et al., 2016). Além disso, foi demonstrado a utilização de imidazopiridinas para o tratamento de doenças neurodegenerativas (PAREKH et al., 2013).

Em relação aos fármacos disponíveis atualmente, o Zolpidem é comercializado como tratamento para a insônia.

Visto isso, a união de compostos orgânicos de Se e imidazopiridinas pode implicar na construção de um fármaco mais potente para a terapia de doenças neuropsiquiátricas, com destaque para a DM.

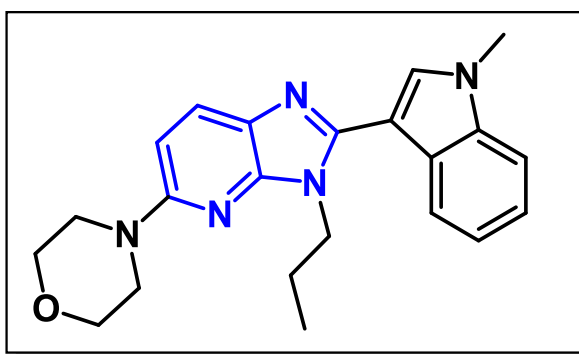


Figura 8. Estrutura química do zolpidem.

### 3.7. *Ensaios comportamentais*

#### 3.7.1. *Teste do campo aberto (TCA)*

O teste do campo aberto foi proposto por WALSH E CUMMINS, 1976. Esse ensaio avalia os possíveis efeitos de toxicodependência do composto, isto é, se o mesmo interfere na atividade locomotora e exploratória dos animais. O ensaio é realizado em uma caixa de madeira (30 x 30 x 15 cm) dividida em nove ou doze quadrantes de áreas iguais. Os animais são colocados no centro do aparato e durante

5 min é observado a atividade locomotora (através do número de quadrantes cruzados) e exploratória (expressa pelo número de elevações).

### **3.7.2. Teste do nado forçado (TNF)**

O teste do nado forçado é um dos modelos animais mais comumente usados para avaliar o comportamento tipo-depressivo. O TNF envolve a contagem do comportamento ativo (natação) ou hipoativo (imobilidade) quando os roedores são forçados a nadar em um cilindro do qual não há escapatória. A redução do comportamento hipoativo é interpretada como um efeito antidepressivo de um determinado tratamento, desde que não aumente a atividade locomotora geral, o que poderia proporcionar um resultado falso positivo no ensaio (PORSOLT et. al., 1977).

## 4. Metodologia

### 4.1. Reagentes

O 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina (MSeFIPi) (Figura 9) foi sintetizado pelo Laboratório de Síntese Orgânica e Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). O lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli*, sorotipo 0127:B8 foi obtido da Sigma-Aldrich (St Louis USA). Todos os demais químicos utilizados são de grau analítico. O MSeFIPi foi diluído em óleo de canola e o LPS em salina.

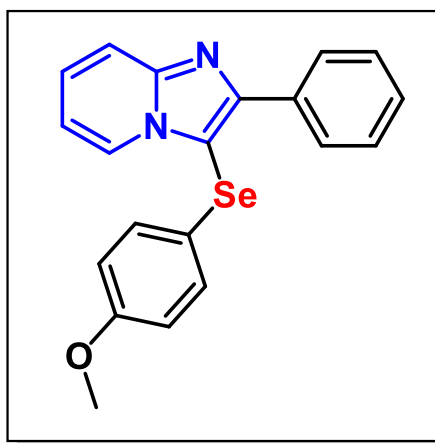


Figura 9. Estrutura química do 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina (MSeFIPi).

### 4.2. Animais

Os experimentos foram conduzidos em camundongos do tipo **Swiss** machos, pesando de 25 - 30g obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Foram mantidos 6 animais por caixa em condições ambientais padrão ( $22 \pm 1$  °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-1870-2016).

### 4.3. Protocolo experimental



Para a realização das análises comportamentais, 36 camundongos foram aleatoriamente divididos em 6 grupos experimentais (n=6):

Tabela 3. Grupos experimentais.

<b>Grupo</b>	<b>1° ADM (i.g.)</b>	<b>2° ADM (i.p.)</b>
Grupo 1	Óleo de canola	Salina
Grupo 2	Óleo de canola	LPS 0,83 mg/Kg
Grupo 3	MSeFIPi 20 mg/Kg	LPS 0,83 mg/Kg
Grupo 4	MSeFIPi 50mg/Kg	LPS 0,83 mg/Kg
Grupo 5	MSeFIPi 20 mg/Kg	Salina
Grupo 6	MSeFIPi 50mg/Kg	Salina

O delineamento do experimento foi ilustrado esquematicamente na figura 10. O composto foi diluído em óleo de canola e preparado no mesmo dia do experimento. As diferentes doses do MSeFIPi (20 e 50 mg/Kg) foram selecionadas com base em trabalhos anteriores (GERSZON et al., 2012; DONATO et al., 2015; CASARIL et al, 2015).

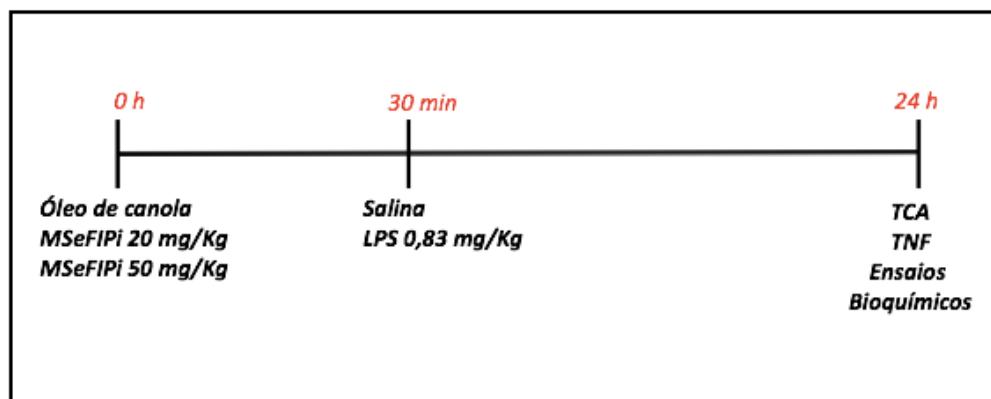


Figura 10. Delineamento experimental; TCA (teste do campo aberto), TNF (teste do nado forçado), LPS (lipopolissacarídeo), MSeFIPi (3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina) (n=6).

O MSeFIPi e o óleo de canola foram administrados pela via intragastrica (i.g.). O LPS (0,83 mg/Kg) e a salina foram injetados pela via intraperitoneal, 30 minutos após a administração do MSeFIPi. Os testes comportamentais foram conduzidos 24 horas após o desafio com LPS ou salina. A dose de LPS (0,83 mg/Kg, i.p.) foi escolhida com base em estudos anteriores que avaliaram os parâmetros

comportamentais e alterações neuroquímicas associadas a DM em camundongos (O'CONNOR et al., 2009).

Todos os testes comportamentais foram realizados durante a parte iluminada do ciclo (08:00-18:00 PM) e sob condições de baixo ruído.

Para as análises neuroquímicas, diferentes animais foram igualmente divididos em 6 grupos. Deste modo, 24 h após o desafio com LPS ou salina, os camundongos foram eutanasiados por deslocamento cervical para dissecação do córtex e hipocampo. Os hemisférios direitos foram utilizados para quantificar a expressão de citocinas pró-inflamatórias, enquanto que os hemisférios esquerdos foram utilizados para as análises neuroquímicas relacionadas ao EO.

#### **4.4. Ensaio comportamentais**

##### **4.4.1. Teste do nado forçado**

O teste do nado forçado (Figura 11) foi realizado de acordo PORSOULT (1977). Nesse teste, os camundongos foram colocados individualmente em um cilindro de acrílico (altura: 25 cm, diâmetro: 15 cm) contendo 20 cm de água mantida a  $25 \pm 1$  °C. A água do cilindro foi trocada ao final de cada sessão de nado. Os camundongos foram considerados imóveis quando flutuaram apenas com movimentos necessários para manter a cabeça acima da água. Cada camundongo foi forçado a nadar durante 6 minutos, sendo os dois primeiros minutos para a ambientação dos animais e o tempo de imobilidade (em segundos) foi cronometrado durante os últimos 4 minutos. Nesse estudo, os observadores treinados, cegos aos tratamentos dos grupos, avaliaram o comportamento dos animais.

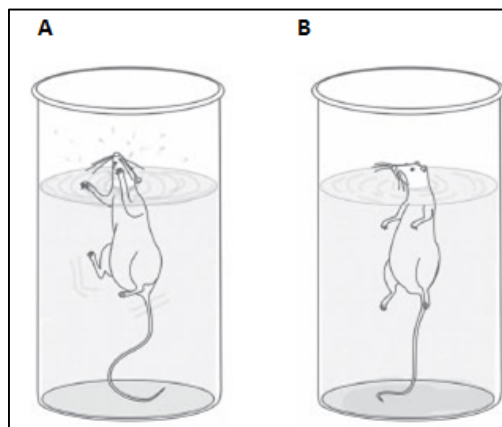


Figura 11. Representação gráfica do ensaio do teste do nado forçado em camundongos. (A) Situação de mobilidade e (B) imobilidade. Fonte: Adaptado de ABELAIRA et al., 2013.

#### **4.4.2. Teste do campo aberto**

O teste do campo aberto (Figura 12) (WALSH E CUMMINS, 1976) é o primeiro ensaio comportamental realizado, 24 horas após administração do LPS ou salina. Esse ensaio permite avaliar os possíveis efeitos de toxicodependência do composto, isto é, se o mesmo interfere na atividade locomotora e exploratória dos animais. Brevemente, os camundongos são colocados no centro de uma caixa de madeira (30 x 30 x 15 cm) dividida em nove quadrantes de áreas iguais, e durante 6 min é observado a atividade locomotora (através do número de quadrantes cruzados) e exploratória (expressa pelo número de elevações).

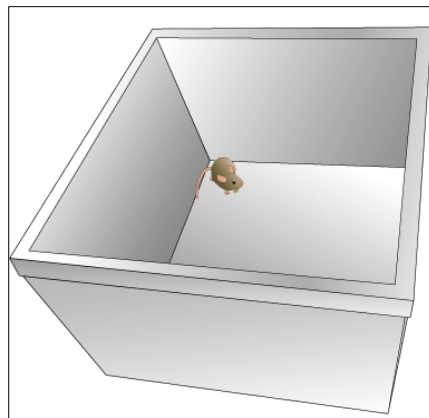


Figura 12. Representação gráfica do teste do campo aberto.

#### **4.5. Análises bioquímicas**

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

##### **4.5.1. Avaliação da peroxidação lipídica**

A peroxidação lipídica nas estruturas cerebrais (córtex e hipocampo) foi avaliada a partir da quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (OHKAWA et al., 1979). Uma alíquota de hipocampo e de córtex do homogenato foi incubada com 8,1% de dodecil sulfato de sódio (SDS), 0,8% de ácido tiobarbitúrico (TBA) e ácido acético/HCl (pH 3,4) a 95 °C por 2 horas. O MDA formado a partir da peroxidação lipídica se complexa ao TBA, levando a formação de coloração rósea detectada a 532 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em nmolMDA/ gTecido.

#### **4.5.2. Quantificação das espécies reativas**

Os níveis de ER formadas no hemisfério esquerdo do córtex e hipocampo dos camundongos foram determinados pelo método espectrofluorimétrico, a partir do ensaio da quantificação das espécies reativas utilizando 2,7-diacetato-diclorodihidrofluoresceína (DA-DCHF) (Figura 13) (LOETCHUTINAT et al. 2005). Nesse ensaio, o DA-DCHF (1 mM) foi incubado juntamente com tecido e tampão Tris-HCl (10 mM pH 7,4). O DA-DCHF se difunde pelas membranas celulares e por ação de esterases intracelulares sofre diacetilação, formando DCHF sensível a oxidação (LOETCHUTINAT et al. 2005). A oxidação da DCHF à forma fluorescente diclorofluoresceína (DCF) é medida para a detecção de ER intracelulares. A intensidade da fluorescência é medida com emissão de 520 nm e excitação de 488 nm em espectrofluorímetro e os resultados são expressos em unidades de fluorescência.

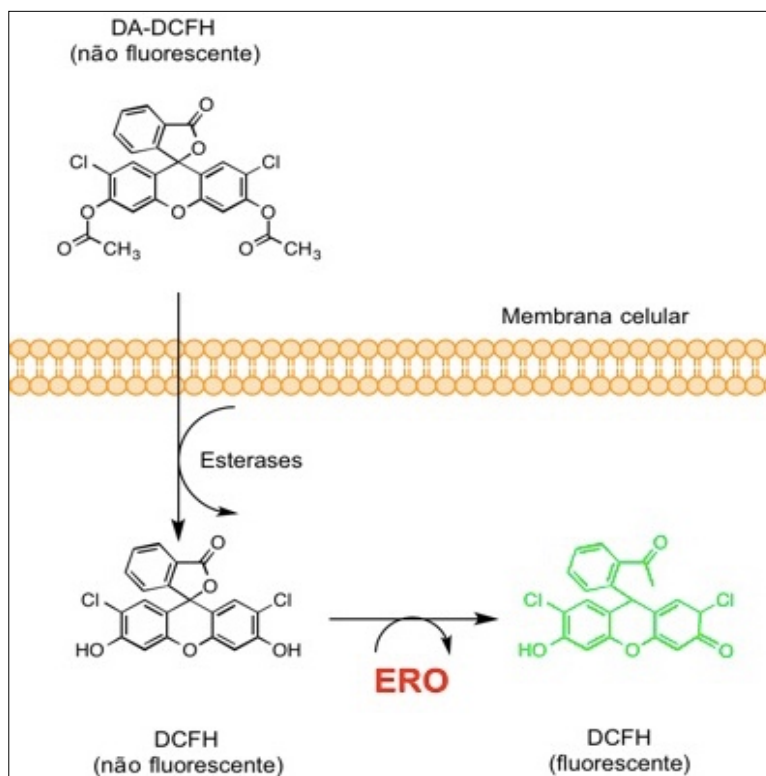


Figura 13. Ensaio da quantificação das espécies reativas. DA-DCFH: 2',7'-diacetato de diclorofluoresceína; DCFH: 2',7'-diclorofluoresceína.

#### 4.5.3. Avaliação da expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ e do BDNF pela qRT-PCR.

A avaliação da expressão gênica da IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e do BDNF no córtex e hipocampo dos camundongos tratados com MSeFIPi e LPS foi feita através de qRT-PCR. Brevemente, para extração do RNA total do córtex e hipocampo dos animais foi utilizado o reagente Trizol (Invitrogen™, Carlsbad, USA) seguidas pelo tratamento com DNase com kit DNA-free® (Ambion™, USA) de acordo com o protocolo do fabricante. A síntese do cDNA foi realizada com 1 $\mu$ g 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  $\mu$ L de cDNA em sistema de tempo real (Analytik Jena, AG, Alemanha) e foi utilizado uma mistura UltraSYBR (COWIN Bioscience Co., Pequim, China). Para a normalização do teste foi utilizado o GAPDH. Logo em seguida à adição dos primers (Tabela 4) e das amostras de cDNA, os ciclos de qRT-PCR foram: desnaturação inicial a 95 °C durante 10 min, seguido de 40 ciclos a 95 °C

durante 10 s, 60 °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 4. Primers utilizados no estudo.

<b>Gene</b>	<b>Sequência 5'- 3'</b>
GAPDH	S- AGGTCGGTGTGAACGGATTTG A-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
BDNF	S-CCATAAGGACGCGGACTTGTAC A-AGACATGTTTGCGGCATCCAGG
TNF- $\alpha$	S-CATCTTCTCAAATTCGAGTGACAA A-TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC
IL-1 $\beta$	S-CTGTGTCTTTCCCGTGGACC A-CAGCTCATATGGGTCCGACA

#### **4.6. 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 7.0. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão e considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

## **5. Resultados**

### **5.1. Ensaio comportamentais**

#### **5.1.1. Teste do nado forçado**

O efeito do MSeFIPi no tempo de imobilidade [F(5, 30 = 12,22,  $p < 0,001$ )] determinado no TNF está exposto na figura 14. A administração sistêmica do LPS

aumentou significativamente o tempo de imobilidade dos camundongos em relação a salina (grupo controle) ( $p < 0,001$ ). O pré-tratamento com MSeFIPi (20 - 50mg/Kg) preveniu o aumento do tempo de imobilidade induzido pelo LPS, sugerindo o efeito tipo antidepressivo do composto. O pré-tratamento com MSeFIPi (20 - 50 mg/Kg) seguido da administração de salina (0,9%) não indicou nenhuma alteração em relação a salina. É importante ressaltar que os grupos pré - tratados com o MSeFIPi (20 - 50 mg/Kg) seguido da administração de salina, não demonstraram alterações significativas no tempo de imobilidade.

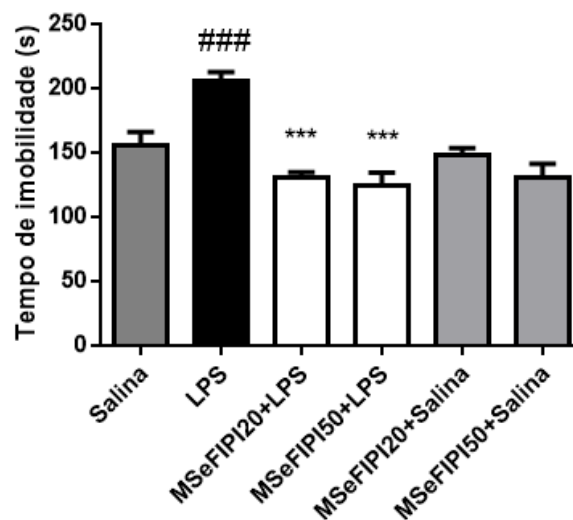


Figura 14. Efeito do MSeFIPi (20-50 mg/Kg) em camundongos desafiados com LPS (0,83 mg/Kg), no tempo de imobilidade avaliado no TNF. Resultados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. (###)  $p < 0,001$  quando comparado a salina (controle). (\*\*\*)  $p < 0,001$  quando comparado ao LPS. (n=6).

### 5.1.2. Teste do campo aberto

Com a finalidade de excluir os possíveis efeitos inibitórios ou excitatórios do LPS e do MSeFIPi, foi realizado o TCA previamente aos demais ensaios comportamentais. A partir disso, pode se verificar que não houve alteração locomotora (A) ou exploratória (B) em nenhum dos tratamentos (Figura 15). Esses resultados, indicam que o LPS e o composto não causam alterações na atividade psicocomotora e exploratória dos animais.

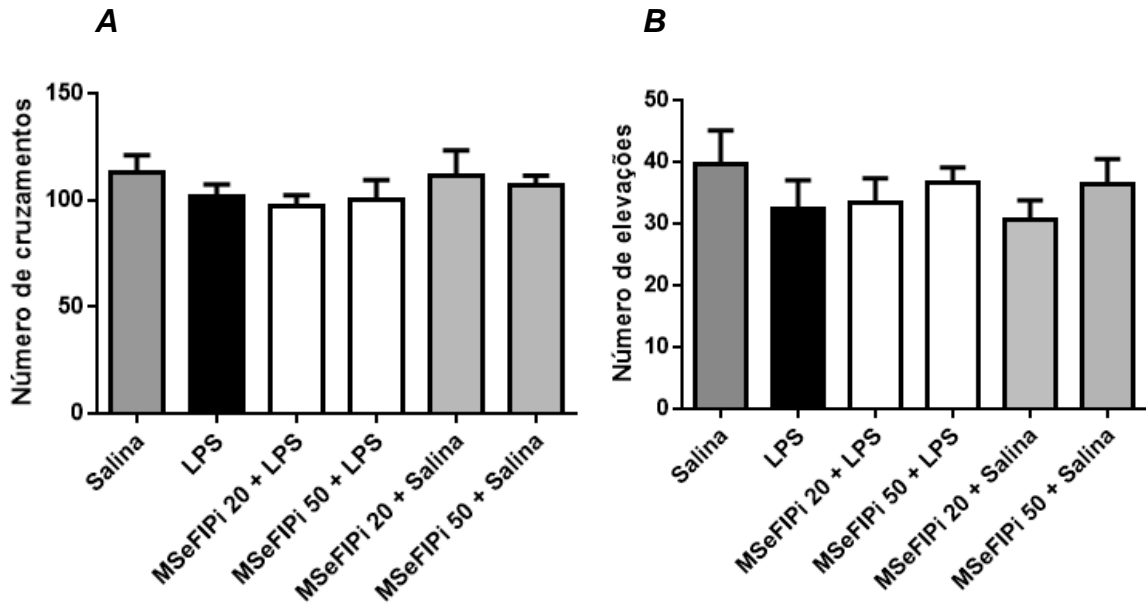


Figura 15. Efeito do pré-tratamento com MSeFIPi (20 e 50 mg/Kg, i.g.) em camundongos desafiados com lipopolissacarídeo (LPS, 0,83 mg/kg, i.p.) nos parâmetros comportamentais de (A) cruzamentos e (B) elevações no teste do campo aberto. Resultados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. (n=6).

## 5.2. Análises bioquímicas

### 5.2.1. Avaliação da peroxidação lipídica

A figura 16 demonstra que 24 horas após o desafio com LPS houve um aumento significativo nos níveis de peroxidação lipídica nas regiões cerebrais avaliadas ( $p < 0,001$ ). O pré-tratamento com MSeFIPi (20 - 50 mg/Kg) preveniu a peroxidação lipídica induzida pelo LPS no córtex [ $F(5, 30) = 35,47$ ,  $p < 0,0001$ ] e hipocampo [ $F(5, 30) = 14,11$ ,  $p < 0,001$ ]. No entanto, a administração do composto sozinho não demonstrou influência na oxidação dos lipídeos, mantendo os valores similares a salina.



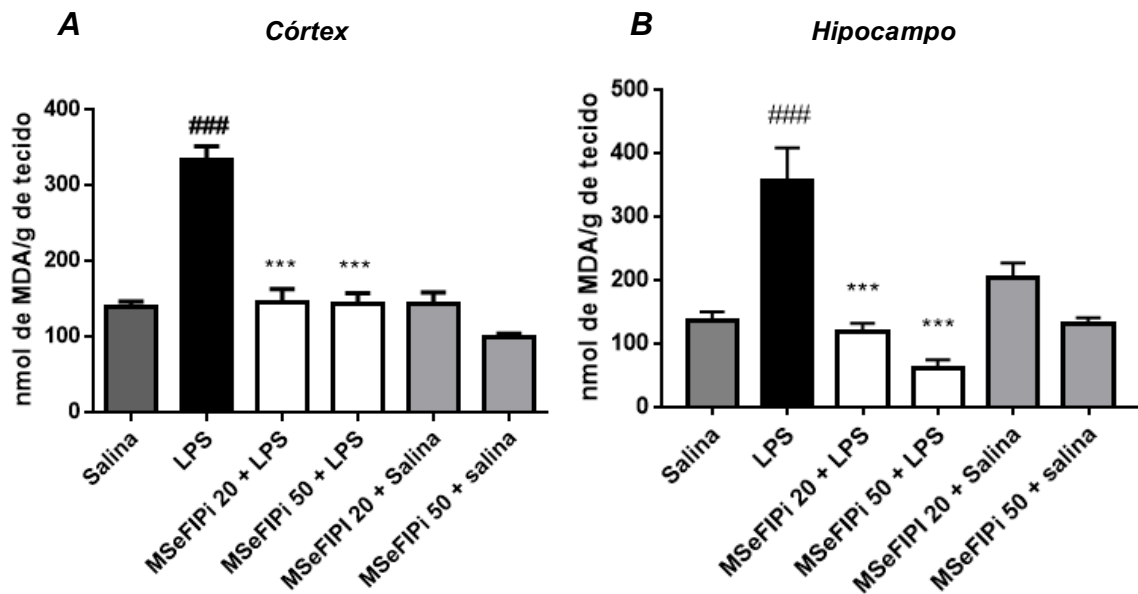


Figura 16. Efeito do MSeFIPi nos n6veis de peroxida77o lip6dica no (A) c6rtex e (B) hipocampo de camundongos desafiados com LPS. Os valores s7o expressos como m6dia  $\pm$  desvio padr7o. (###)  $p < 0,001$  quando comparado a salina (controle). (\*\*\*)  $p < 0,001$  quando comparado ao LPS. (n=6)

### 5.2.2. Quantifica77o das esp6cies reativas

O n6vel de ER formadas no [F(5, 30 = 4,472,  $p < 0,001$ )] c6rtex e hipocampo [F(5, 30 = 6,317,  $p < 0,001$ )] de camundongos foram expressas na figura 17. O desafio com LPS aumentou significativamente a produ77o de ER no c6rtex ( $p < 0,001$ ) e hipocampo ( $p < 0,001$ ) dos camundongos em compara77o 7 salina. O pr6-tratamento com MSeFIPi (20 e 50 mg/Kg) preveniu a indu77o da forma77o de ER pela endotoxina no c6rtex ( $p < 0,001$ ) e no hipocampo ( $p < 0,001$ ). Vale ressaltar que a administra77o do composto seguido do tratamento com salina manteve os valores semelhantes ao controle (salina).

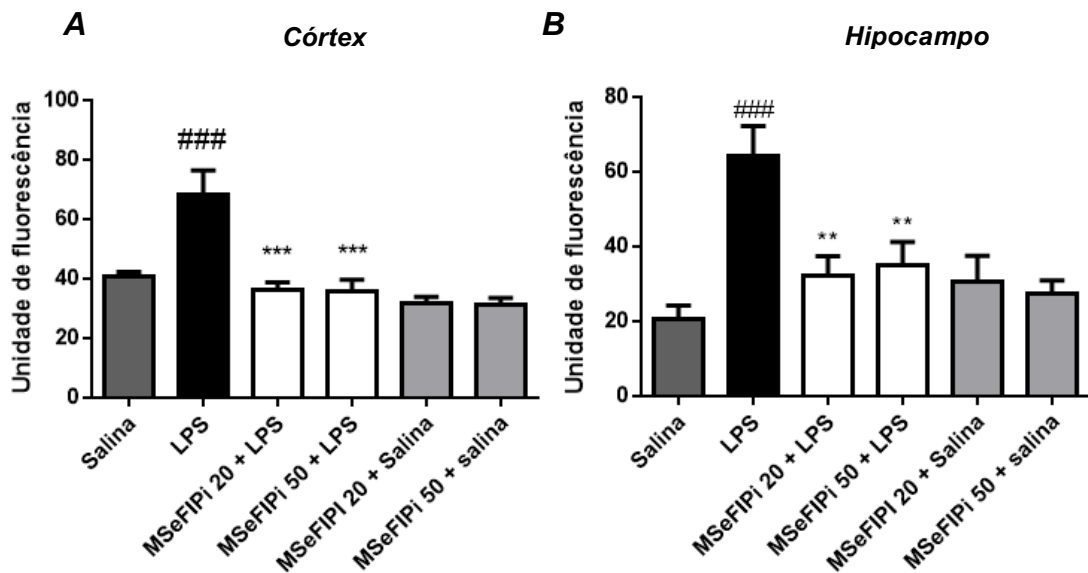


Figura 17. Quantificação das espécies reativas formadas no córtex e hipocampo de camundongos pré-tratados com MSeFIPi e LPS. Os valores são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. (###)  $p < 0,001$  quando comparado a salina (controle). (\*\*\*)  $p < 0,001$  e (\*\*)  $p < 0,01$  quando comparado ao LPS. (n=6).

### 5.2.3. Avaliação da expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ e do BDNF pela qRT-PCR.

Considerando-se que as mudanças comportamentais induzidas por LPS são em decorrência do aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, os níveis de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  foram mensurados (Figura 18).

O LPS aumentou significativamente os níveis dessas citocinas no córtex e no hipocampo quando comparado com o controle ( $p < 0,001$ ). O aumento de IL-1 $\beta$  [F(5, 30 = 26,63,  $p < 0,001$ )] (Figura 18 D) e TNF- $\alpha$  [F(5, 30 = 13,69,  $p < 0,001$ )] (Figura 18 B) foi prevenido pelo pré-tratamento com MSeFIPi (20-50 mg/ Kg) apenas no hipocampo. Vale notar que o composto na maior dose foi capaz de prevenir o aumento da expressão de IL-1 $\beta$  no córtex [F(5, 30 = 11,57,  $p < 0,001$ )] dos animais tratados com MSeFIPi e LPS.

Os níveis de expressão de BDNF também foram avaliados (Figura 19 A e B). O LPS reduziu significativamente os níveis de BDNF em comparação ao controle. O MSeFIPi (20-50 mg/Kg) preveniu significativamente a redução desse fator neurotrófico, tanto no córtex (Figura 19 A) quanto no hipocampo (Figura 19 B).

A administração do composto sozinho não causa nenhuma alteração dos parâmetros neuroquímicos basais.

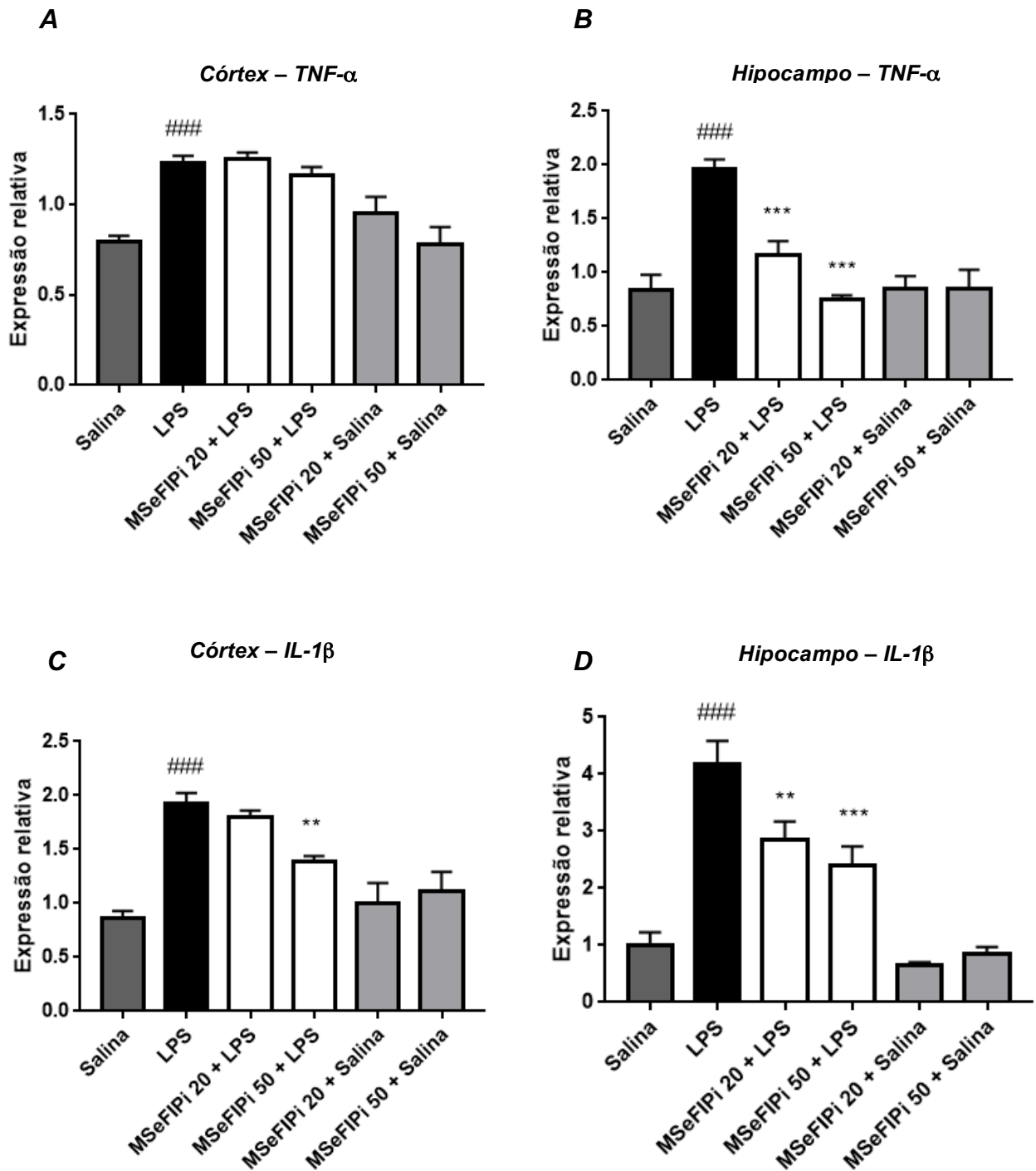


Figura 18. Efeito do pré-tratamento com MSeFIPi (20 – 50 mg/Kg) após desafio com LPS sobre os níveis de citocinas pró-inflamatórias (A) TNF- $\alpha$  no córtex (B) TNF- $\alpha$  no hipocampo (C) IL-1 $\beta$  no córtex, (D) IL-1 $\beta$  no hipocampo. (###)  $p < 0,001$  e (#)  $p < 0,05$  quando comparado a salina (controle). (\*\*\*)  $p < 0,001$ , (\*\*)  $p < 0,01$  e (\*)  $p < 0,05$  quando comparado ao LPS. (n=6).

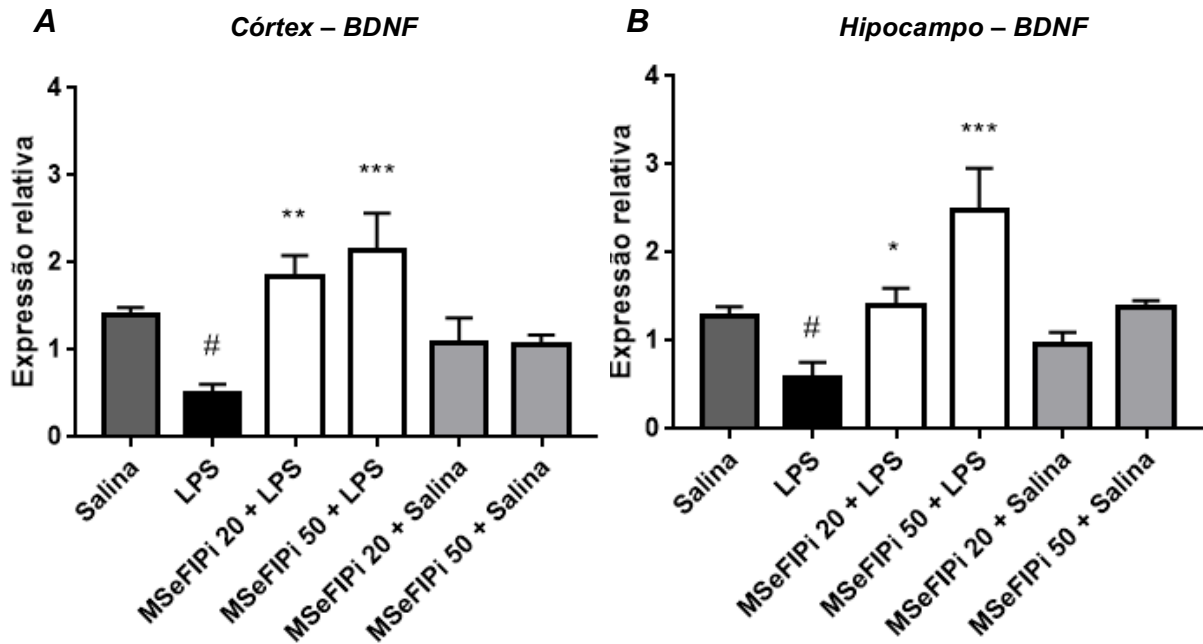


Figura 19. Efeito do pré-tratamento com MSeFIPi (20 – 50 mg/Kg) após desafio com LPS sobre os níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (A) BDNF no córtex e (B) BDNF no hipocampo. Os valores são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. (####)  $p < 0,001$  e (#)  $p < 0,05$  quando comparado a salina (controle). (\*\*\*)  $p < 0,001$ , (\*\*)  $p < 0,01$  e (\*)  $p < 0,05$  quando comparado ao LPS. (n=6).

## 6. *Discussão*

A DM é um transtorno mental caracterizado pelo humor negativo acompanhado pela perda de interesse ou prazer em atividades que costumavam ser agradáveis (MARTIN-SOELCH, 2009). A prevalência da doença é de 8-12% (ANDRADE et al., 2003) e o tempo mais comum para seu início ocorre entre 30 e 40 anos de idade (EATON et al., 1997). Além disso, diversos estudos demonstram evidências de que a DM está ligada à ativação das vias imune-inflamatórias, pelo aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, EO e redução dos fatores neurotróficos (EBMEIER et al., 2006; SLAVICH E IRWIN, 2014; RÉUS et al., 2016).

A administração sistêmica de LPS é um modelo amplamente aceito para investigar a relação entre a neuroinflamação, EO, fatores neurotróficos e comportamento tipo-depressivo (MELLO et al., 2013). Isso decorre do fato de que essa endotoxina induz alterações comportamentais e neuroquímicas semelhantes aquelas vistas em pacientes com DM. É bem estabelecido que 24 horas após o desafio com o LPS, ocorre aumento do tempo de imobilidade no TNF. Essa condição pode ser revertida ou prevenida por meio de tratamentos antidepressivos (YIRMIYA, 1996; OHGI et. al., 2013.). O TNF é um ensaio comportamental bastante utilizado para investigar o comportamento tipo-depressivo nos animais, uma vez que esse teste mimetiza o comportamento de impotência, visto em pacientes depressivos (PORSOLT 1977). Nesse sentido os resultados desse estudo se mantiveram consistentes aos de trabalhos anteriores, uma vez que, evidenciou o aumento significativo do tempo de imobilidade no TNF 24 horas após o desafio com LPS. Esse aumento foi prevenido pelo pré-tratamento com o MSeFIPi nas doses de 20 e 50 mg/Kg, indicando o efeito tipo-antidepressivo do composto no modelo animal de depressão induzido por LPS. Vale ressaltar que o pré-tratamento com o composto sozinho não causou alteração significativa em relação ao grupo controle, indicando que o mesmo apresenta efeito apenas em condição de doença. Além do mais, o MSeFIPi não influencia nos padrões locomotores e exploratório dos camundongos.

Adicionalmente as alterações comportamentais, sabe-se que o LPS induz a ativação no sistema imune-inflamatório. É frequentemente observado em pacientes com DM o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  (DE LA GARZA, 2005). As citocinas pró-inflamatórias no SNC promovem uma série de acontecimentos que culmina com o estado depressivo, visto que esses mediadores

reduzem os níveis de monoaminas na fenda sináptica acarretando nas alterações de humor (O'CONNOR et al., 2009; WU et al., 2016).

Assim, para explorar o possível envolvimento do MSeFIPi na neuroinflamação, foi mensurado os níveis de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  no córtex e hipocampo de camundongos. A partir dos resultados foi descoberto que o MSeFIPi nas doses de 20 e 50 mg/Kg é capaz de prevenir o aumento dos níveis desses mediadores inflamatórios nas regiões hipocampais, e que seu efeito antidepressivo pode estar relacionado com a capacidade do composto em modular a neuroinflamação no hipocampo de camundongos.

Pacientes com DM demonstram uma redução acentuada no tamanho do hipocampo, sugerindo a grande associação dessa região com a doença (EYRE E BAUNE, 2012; SLYEPCHENKO et al., 2016). Sabe-se ainda que os níveis de BDNF são muito mais elevados nessa região quando comparado com as outras estruturas cerebrais, devido a grande importância biológica do hipocampo na manutenção da memória e envolvimento com as emoções. Além do mais, a neurogênese no cérebro adulto está confinada as zonas sub-ventricular (SVZ) e sub-granulares (SGZ) do giro dentado do hipocampo, relacionando a grande importância dessa região às suas características funcionais (SLYEPCHENKO et al., 2016). Desta maneira o hipocampo tem alta capacidade de restauração neuronal, neuroplasticidade e restabelecimento dos níveis neuroquímicos fisiológicos (EYRE E BAUNE, 2012).

Tendo isso em vista, é possível associar o efeito antidepressivo, anti-inflamatório e os níveis elevados de BDNF no hipocampo. As altas concentrações de BDNF no hipocampo são de grande importância para neurogênese. Estudos apontam que a neuroinflamação interfere no processo de geração de novos neurônios, visto que a administração sistêmica de LPS e IL-1 $\beta$ , contribui com a redução de expressão de BDNF (KOHMAN E RHODES, 2012). O presente estudo demonstrou que o MSeFIPi conseguiu prevenir a redução dos níveis de BDNF pós desafio com LPS, talvez pela capacidade de proteção frente ao aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias no hipocampo. Interessantemente, o hipocampo é a região cerebral que tem maior recrutamento de células do sistema imune pós algum tipo de estresse, montando uma resposta específica ao estressor, reduzindo os níveis de citocinas pró-inflamatórias (BRACHMAN et al., 2015). Dessa forma, pode-se sugerir que o composto atua como um imunomodulador, aumentando o recrutamento de células do sistema imune nessa região a fim de minimizar os danos ocasionados pelo LPS, isto

é, prevenindo o aumento dos níveis de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  hipocampal. Logo, o composto impede o aumento de citocinas no hipocampo, que por sua vez resulta no aumento da expressão de BDNF, regenerando os parâmetros neuroquímicos e funcionais, originando novos neurônios e minimizando os sintomas da DM. No entanto, mais estudos devem ser realizados para confirmação dessa hipótese.

Apesar do córtex também estar associado com a DM, sabe-se que os níveis de BDNF não são tão elevados nessa região quanto no hipocampo (EYRE E BAUNE, 2012; SLYEPCHENKO et al., 2016). Mesmo assim o composto nas doses de 20 e 50 mg/Kg foi capaz de prevenir a redução da expressão de BDNF nessa estrutura após a indução com LPS. A administração oral de MSeFIPi demonstrou potencial anti-inflamatório no córtex uma vez que preveniu o aumento na expressão de mRNA da IL-1 $\beta$  na maior dose testada. Por outro lado o composto não foi capaz de prevenir o aumento da expressão de TNF- $\alpha$  no córtex. Logo, o efeito tipo- antidepressivo da molécula, pode ser atribuído a capacidade de modulação do sistema antioxidante, da via do BDNF e pela atividade anti-inflamatória na região hipocampal somados às alterações positivas do composto na região cortical. Considerando-se que o hipocampo é de fato a principal região que implica com a patogênese da DM, pode-se inferir que o efeito tipo antidepressivo do composto esta principalmente relacionado a sua capacidade de restaurar todos os padrões neuroquímicos hipocampais basais, conferidos pelas suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora.

Meta-análises reportam que o EO tem importante papel na neurobiologia da DM, uma vez que o cérebro humano está suscetível aos danos provenientes da oxidação (TOMAZ et al., 2014; CASARIL et al., 2015; LIU, et al., 2015). As células do cérebro são especialmente vulneráveis aos efeitos prejudiciais do EO devido à sua elevada taxa metabólica e a abundância de substratos altamente peroxidáveis (EYRE E BAUNE, 2012). Os altos níveis de biomarcadores de EO como por exemplo o MDA, subproduto da peroxidação lipídica, é encontrado no plasma de pacientes depressivos (PAINSIPP et al., 2011; TOMAZ et al., 2014; CASARIL et al., 2015). Sabe-se que altos níveis desses biomarcadores levam a disfunção mitocondrial que conduz a produção de mais ER. Além de causar injúria celular pelos danos em biomoléculas, o excesso de ER também influencia na depleção de monoaminas na fenda sináptica, através da oxidação da BH<sub>4</sub>, cofator enzimático das enzimas hidroxilases responsáveis pela síntese das monoaminas.

O LPS causa alterações no sistema redox do cérebro, uma vez que, aumenta a produção de ER e conseqüentemente causa dano em biomoléculas. Foi demonstrado anteriormente que o LPS induz a expressão exagerada da enzima iNOS, aumentando assim a produção de ON e disfunção mitocondrial, aumentando a produção de mais ER (LIU, et al., 2015). No presente estudo, o LPS aumentou significativamente a produção de ER no córtex e hipocampo de camundongo, demonstrado através do ensaio da quantificação das espécies reativas pela utilização de DA-DCFH (LOETCHUTINAT et al., 2005). Nesse ensaio, as ER formadas oxidam o DA-DCFA a sua forma fluorescente que é detectada em espectrofluorímetro. Assim, quanto maior os níveis de ER formadas maior a fluorescência emitida. Em contraste, o pré-tratamento com MSeFIPi nas duas doses avaliadas, preveniu essa produção, indicando o perfil antioxidante do composto.

Considerando-se que o LPS aumenta a peroxidação lipídica como consequência do EO, no presente estudo foi mensurado os níveis de MDA, através do ensaio da quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (OHKAWA et al., 1979). Nesse trabalho, foi evidenciado que o LPS aumentou os níveis de TBARS no córtex e hipocampo de camundongos, enquanto que o pré-tratamento com MSeFIPi preveniu esse aumento. Isto sugere que essa molécula além de atenuar a formação das ER, também previne os danos provocados pela condição de EO, como a peroxidação lipídica. Tendo isso em vista pode se afirmar que o composto apresenta atividade antioxidante, sugerindo-se que o efeito tipo-antidepressivo pode ser também devido a essa propriedade.

De uma maneira geral, os compostos orgânicos de selênio são moléculas amplamente estudadas e são conhecidas por disporem de atividade antioxidante, antidepressiva, anti-inflamatória e neuroprotetora (BORTOLATTO et al., 2013; CHAGAS et al., 2014; BROD et al., 2016; REIS, et al., 2017). Essa amplitude de funções biológicas desempenhadas por essas moléculas pode ser atribuída a fundamental importância do micronutriente ao organismo, uma vez que o Se constitui diversas proteínas envolvidas no sistema de defesa antioxidante (NOGUEIRA E ROCHA, 2011; CONNER et al., 2014). Além disso, moléculas contendo o núcleo imidazopiridinico tem recebido bastante atenção devido a suas propriedades anti-inflamatórias, anti-tumorais, anti-parasitarias e podendo ser aplicadas como drogas para tratamento de doenças psiquiátricas. Essa combinação dos compostos contendo



selênio juntamente ao núcleo imidazopiridinico contribui fortemente com as características promissoras do MSeFIPi.

A partir dessas observações, pode-se estabelecer uma relação entre todos esses sistemas. A administração de LPS induz alterações neuroinflamatórias, oxidativas, neurotróficas e comportamentais em camundongos que mimetiza a grande extensão de alterações fisiológicas observados em pacientes com DM. A redução dos níveis de Se no organismo também contribui com a produção de ER. Sob condição de EO o SNC torna-se vulnerável aos danos provenientes das ER, isso contribui com estabelecimento de alterações envolvidas com a doença.

O presente trabalho demonstrou que o efeito tipo-antidepressivo do MSeFIPi nas doses de 20 e 50 mg/Kg pode estar relacionado em parte pela sua capacidade de modular as vias oxidativas, imune-inflamatória e restaurar os níveis de BDNF, alterados pela indução com LPS. Essa propriedade multialvo torna o MSeFIPi um interessante antidepressivo. No entanto, mais estudos são necessários para garantir precisamente a compreensão das bases moleculares da atividade antidepressiva dessa molécula, para então progressão aos estudos clínicos.

## **7. Conclusões e perspectivas**

Os resultados obtidos neste trabalho nos permitem concluir que o pré-tratamento com MSeFIPi (20-50 mg/Kg i.g.) apresenta efeito antidepressivo no modelo animal de depressão induzido por LPS. O composto nas doses testadas não causa alteração na atividade locomotora e exploratória dos animais, o que indica o efeito tipo antidepressivo específico do MSeFIPi neste modelo animal.

Pode-se afirmar que o efeito tipo-antidepressivo do MSeFIPi está associado ao seu perfil antioxidante, uma vez que o mesmo previne a formação de ER e os danos oxidativos advindos do EO; a sua propriedade anti-inflamatória e seu efeito neuroprotetor, devido a sua capacidade de prevenir a redução da expressão de BDNF.

Tendo em vista os resultados promissores obtidos no presente trabalho, os estudos com o MSeFIPi serão continuados com a finalidade de:

- Investigar se o MSeFIPi reduz a produção da citocina pró-inflamatória IL-6;
- Avaliar se o MSeFIPi reduz a expressão de outros mediadores inflamatórios: COX-2; NO<sub>x</sub>, iNOS e NFκB.
- Avaliar a toxicidade do MSeFIPi;
- Investigar os possíveis mecanismos do MSeFIPi no sistema monoaminérgico.

## Referências

- 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.
- ALEXANDER, C.; RIETSCHER, E. T. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *Journal of Endotoxin Research*, v. 7, p.167-202, 2001.
- ALOISI, F.; BORSELLINO, G.; CARE, A.; TESTA, U.; GALLO, P.; RUSSO, G.; PESCHLE, C.; LEVI, G. Cytokine regulation of astrocyte function: in-vitro studies using cells from the human brain. *Int. J. Dev. Neurosci.*, v. 13, p. 265-274, 1995.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual. 5<sup>a</sup> ed. Arlington, VA, 1132 USA: **American Psychiatric Association**; 2013.
- ANDERSON, G., KUBERA, M., DUDA, W., LASOŃ, W., BERK, M., MAES, M. Increased IL-6 trans-signaling in depression: focus on the tryptophan catabolite pathway, melatonin and neuroprogression. *Pharmacological Reports*, v.65, p.1647-1654, 2013.
- ANDRADE, L.; CARAVEO-ANDUAGA, J. J.; BERGLUND, P. The epidemiology of major depressive episodes: results from the International Consortium of Psychiatric Epidemiology (ICPE) *Surveys. Int. J. Methods Psychiatr. Res.*, v. 12, p. 3–21, 2003.
- BAKUNINA, N.; PARIANTE, C. M.; ZUNSZAIN, P. A. Immune mechanisms linked to depression via oxidative stress and neuroprogression. *Immunology*. v. 144, p. 365-375, 2015.
- 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.
- BEATTIE, E. C.; STELLWAGEN, D.; MORISHITA, W.; BRESNAHAN, J. C.; HA, B. K.; VON ZASTROW, M.; BEATTIE, M. S.; MALENKA, R. C. Control of synaptic strength by glial TNF- $\alpha$ . *Science*, v. 295 n. 5563, p. 2282-2285, 2002.
- BELANGER, M.; ALLAMAN, I.; MAGISTRETTI, P.J. Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab.*, v. 14, n. 6, p. 724-738.
- 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.*, v. 2013 p.1-14 2013.
- BORTOLATTO, C. F.; CHAGAS, P. M.; WILHELM, E. A.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W. 2,2'-Dithienyl diselenide, an organoselenium compound, elicits antioxidant action and inhibits monoamine oxidase activity in vitro. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, v. 28, n.4, p. 677-684, 2013.
- 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- $\alpha$  and IL-18. *J. Neuroinflammation.*, v. 9, p. 1-12, 2012.
- BRACHMAN, R. A.; LEHMANN, M. L.; MARIC, D.; HERKENHAM, M. Lymphocytes from chronically stressed mice confer antidepressant-like effects to naive mice. *The Journal of Neurosci.*, v.35, p.1530-1538, 2015.
- BRIGITTA, B. Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. *Dialogues Clin. Neurosci.*, v.4 n. 1 p.7-20, 2002.

- 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.
- BRYANT, C. E. et al. The molecular basis of the host response to lipopolysaccharide. *Nature reviews. Microbiology*, v. 8, n. 1, p. 8–14, 2010
- BURK, R. F.; HILL, K. E. Selenoprotein P – Expression, Functions, and Roles in Mammals Raymond. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1790, n. 11, p. 1441–1447, 2009.
- CAPURON, L.; GUMNICK, J. F.; MUSSELMAN, D. L.; LAWSON, D. H.; REEMSnyder, A.; NEMEROFF, C. B.; MILLER, A. H. Neurobehavioral effects of interferon- alpha in cancer patients: phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology*, v. 26, p. 643-652, 2002.
- CAPURON, L.; DANTZER, R. Cytokines and depression: The need for a new paradigm. *Brain, Behavior, and Immunity*, v.17, p. 119-124, 2003.
- CARDOSO, B. R.; ROBERTS, B. R.; BUSH, A. I.; HARE, D. J. Selenium, selenoproteins and neurodegenerative diseases. *Metallomics*, v.7 p.1213 - 1228, 2015.
- 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  $\alpha$ -(phenylselenanyl) acetophenone in mice. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, v. 73, p. 868-874, 2015.
- CASARIL, A. M. Efeito do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol no comportamento tipo- depressivo induzido pelo lipopolissacarídeo em camundongos. 2015. 76 f. Monografia (Graduação em biotecnologia) – Centro de desenvolvimento tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.
- 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
- CHEN, T.; GUO, Q.; WANG, H.; ZHANG, H.; WANG, C.; ZHANG, P.; MENG, S.; LI, Y.; JI, H.; YAN, T. Effects of esculetin on lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury via regulation of RhoA/Rho Kinase/NF- $\kappa$ B, MyD88 pathways in vivo and in vitro. *Free Radic Res*, v. 49, p. 1459-1468, 2015.
- CHRISTENSEN, K.; WERNER, M. MALECKI, K. Serum selenium and lipid levels: Associations observed in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2011-2012. *Environmental Research*, v. 140, p. 76–84, 2015.
- 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.
- COTGREAVE, I. A.; MOLDEUS, P.; BRATTSAND, R.; HALLBERG, A.; ANDERSSON, C. M.; ENGMAN, L. Alpha-(phenylselenenyl)acetophenone derivatives with glutathione peroxidase-like activity. A comparison with ebselen. *Biochem. Pharmacol.*, v. 43, n. 4, p. 793 – 802, 1992.

- CSERR, H. F.; KNOPF, P. M. Cervical lymphatics, the blood–brain barrier and the immunoreactivity of the brain: a new view. *Immunol. Today*, v. 13, p. 507–512, 1992.
- CUNNINGTON, C.; CHANNON, K. M. Tetrahydrobiopterin: pleiotropic roles in cardiovascular pathophysiology. *Heart (British Cardiac Society)*, v. 96 p. 1872-1877, 2010.
- DANTZER, R.; WOLLMAN, E.; YIRMIYA, R. Cytokines, Stress and Depression. *New York: Kluwer Academic Press*, 1999.
- DANTZER, R. Cytokine, sickness behavior, and depression. *Immunol. Allergy Clin.*, v. 29, p. 247-264, 2009.
- 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.
- DINARELLO, C. A. Proinflammatory cytokines. *Chest Journal* v. 118, p. 503-508, 2000.
- DJAVADIAN, R. L. Serotonin and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of adult mammals. *Acta neurobiologiae experimentalis*, v. 64, p. 189-202, 2004.
- 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.
- DYMIŃSKA, L. Imidazopyridines as a source of biological activity and their pharmacological potentials—Infrared and Raman spectroscopic evidence of their content in pharmaceuticals and plant materials. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.23, p.6087-6099, 2015.
- EATON, W. W.; ANTHONY, J. C.; GALLO, J. 1997. Natural history of Diagnostic Interview Schedule/DSM-IV major depression. The Baltimore Epidemiologic Catchment Area follow-up. *Arch. Gen. Psychiatry*, v.54, p. 993–999, 1997.
- EBMIER, K. P.; DONAGHEY, C.; STEELE, J. C. Recent developments and current controversies in depression. *Lancet*, v. 367, p. 153-167, 2006.
- ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. *Prog. Neuro-psychofarmacol. Biol. Psychiatry.*, v. 28, p. 435-451, 2004.
- ELLWANGER, J. H.; SILVIA I.R. FRANKE, S. I. R.; BORDIN, D. L.; PRÁ, D.; HENRIQUES, J.A.P. Biological functions of selenium and its potential influence on Parkinson's disease. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, p. 0, 2016.
- EYRE, H.; BAUNE, B. T. Neuroplastic changes in depression: a role for the immune system. *Psychoneuroendocrinology* v.37, p. 1397–1416, 2012.
- ESCRIBA, P. V.; OZAITA, A.; GARCIA-SEVILLA, J. A. Increased mRNA expression of alpha2A- adrenoceptors, serotonin receptors and mu-opioid receptors in the brains of suicide victims. *Neuropsychopharmacology*, v. 29 p.1512-1521, 2004.
- FELGER, J. C. LOTRICH, F. E. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutical implications. *Neuroscience*, v. 246, p. 199-229, 2013.
- FERGUSON, L. R.; KARUNASINGHE, N.; ZHU, S.; WANG, A. H. Selenium and its' role in the maintenance of genomic stability. *Mutat Res.*, v. 733, p. 100-110, 2012.
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, v.408 p. 239, 2000.
- FREIDIN, M.; BENNETT, M. V. L.; KESSLER, J. A. Cultured sympathetic neurons synthesize and release the cytokine interleukin-h. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 89, p. 10440–10443, 1992.
- GALECKI, P.; GALECKA, E.; MAES, M.; CHAMIELEC, M.; ORZECZOWSKA, A.; BOBINSKA, K.; LEWINSKI, A.; SZEMRAJ, J. The expression of genes encoding for

- COX-2, MPO, iNOS, and sPLA2-IIA in patients with recurrent depressive disorder. *J Affect Disord* v.138 p.360-366, 2012.
- GAO, J.; HE, H.; JIANG, W.; CHANG, X.; ZHU, L.; LUO, F.; ZHOU, R.; MA, C.; YAN, T. Salidroside ameliorates cognitive impairment in a d-galactose-induced rat model of Alzheimer's disease. *Behav. Brain Res.*, v. 293, p. 27-33, 2015.
- GARDNER, A.; BOLES, R. G. Beyond the serotonin hypothesis: mitochondria, inflammation and neurodegeneration in major depression and affective spectrum disorders. *Progress in Neuro-Psychop. and Biol. Psych.*, v. 35, p. 730-743, 2011.
- GARDNER, A.; JOHANSSON, A.; WIBOM, R.; NENNESMO, I.; VON DÖBELN, U.; HAGENFELDT, L.; HÄLLSTRÖM, T. Alterations of mitochondrial function and correlations with personality traits in selected major depressive disorder patients. *Journal of affective disorders*, v. 76, p. 55- 68, 2003.
- 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  $\alpha$ -(phenylselanyl) acetophenone in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 102, p. 21-29, 2012.
- GUHA, M.; MACKMAN, N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cellular Signalling*, v. 13, n. 2, p. 85–94, 2001.
- 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.
- HARDINGHAM, G. E.; FUKUNAGA, Y.; BADING, H. Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nat. Neurosci.*, v. 5, p.405–414, 2002.
- HAROON, E.; RAISON, C. L.; MILLER, A. H. Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behavior. *Neuropsychopharm.*, v. 37 p.137–162, 2012.
- HORIKAWA, N.; YAMAZAKI, T.; IZUMI, N.; UCHIHARA, M. Incidence and clinical course of major depression in patients with chronic hepatitis type C undergoing interferon-alpha therapy: a prospective study. *Gen Hosp Psychiatry*, v. 25 p. 34-38, 2003.
- HODES, G. E. Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress. *Proc. Natl Acad. Sci.*, v.111, p.16136–16141, 2014.
- HUETHER, G.; SCHUFF-WERNER, P. Platelet serotonin acts as a locally releasable antioxidant. Recent Advances in Tryptophan Research. *Springer*, p. 299-306, 1996.
- IOM - Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carot- enoids. Food and Nutrition Board Whashington, DC: National Academies Press, 2000.
- ISHIKAWA, J.; ISHIKAWA, A.; NAKAMURA, S.; Interferon-alpha reduces the density of monoaminergic axons in the rat brain. *Neuroreport.*, v. 18 p.137-140, 2007.
- JIANG, X. et al. Trans-astaxanthin attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and depressive-like behavior in mice. *Brain research*, v. 1649, p. 30–37, 2016.
- 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.
- KOHMAN, R.A.; E RHODES, J. A. Neurogenesis, inflammation and behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*,v. 27, p. 22-32, 2014.

- KOTLER, M.; RODRÍGUEZ, C.; SÁINZ, R. M.; ANTOLIN, I.; MENÉNDEZ-PELÁEZ, A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. **Journal of pineal research**, v. 24, p. 83-89, 1998.
- KRONFOL, Z.; REMICK, D.G. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. **Cytokines** v.157, 2000.
- KUBERA, M.; KENIS, G.; BOSMANS, E.; SCHARPÉ, S.; MAES, M. Effects of serotonin and serotonergic agonists and antagonists on the production of interferon- $\gamma$  and interleukin-10. **Neuropsychopharmacology** v. 23, p. 89-98, 2000.
- KUBERA, M.; MAES, M.; KENIS, G.; KIM, Y.-K.; LASON, W. Effects of serotonin and serotonergic agonists and antagonists on the production of tumor necrosis factor  $\alpha$  and interleukin-6. **Psychiatry research.**, v.134, p. 251-258, 2005.
- KUBERA, M. et al. A new animal model of (chronic) depression induced by repeated and intermittent lipopolysaccharide administration for 4months. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 31, p. 96–104, 2013.
- 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.
- 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.
- LEONARD, B. E.; Evidence for a biochemical lesion in depression. **J Clin Psychiatry**, v. 61 p. 12–17, 2000.
- 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. **Neurosc. Behav. Rev.**, v. 36, p. 764-785, 2012.
- LESCH, K. P.; WOLOZIN, B. L.; MURPHY, D. L.; REIDERER, P. Primary structure of the human platelet serotonin uptake site: identity with the brain serotonin transporter. **J Neurochem.** v.60 p. 2319–2322, 1993.
- LI, R.; ZHAO, D.; QU, R.; FU, Q.; MA, S. The effects of apigenin on lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice. **Neurosc. Lett.**, v. 594, p. 17-22, 2015.
- LIU, T.; ZHONG, S.; LIAO, X.; CHEN, J.; HE, T.; LAI, S.; JIA, Y. A Meta-Analysis of Oxidative Stress Markers in Depression. **PloS one** v.10, 2015.
- 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.
- MAES, M.; SCHARPE, S.; MELTZER, H. Y.; BOSMANS, E.; SUY, E.; CALABRESE, J.; COSYNS, P. Relationships between interleukin-6 activity, acute phase proteins, and function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in severe depression. **Psychiatry Res.**, v. 49, p. 11-27, 1993.
- MAES, M. A review on the acute phase response in major depression. **Reviews in the neurosciences**, v. 4, p.407-416, 1993.
- MAES, M. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biol. Psychiatry**, v.19, p.11-38, 1995.

- MAES, M. The cytokine hypothesis of depression: inflammation, oxidative & nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. **Neuro endocrine. letters**, v. 29, p. 287-291, 2008.
- MAES, M.; LEONARD, B.; MYINT, A.; KUBERA, M.; VERKERK, R. The new '5-HT' hypothesis of depression: cell-mediated immune activation induces indoleamine 2, 3-dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites (TRYCATs), both of which contribute to the onset of depression. **Progress in neuro-psych. and biology. Psych.**, v. 35, p. 702-721, 2011.
- MAES, M.; BERK, M.; GOEHLER, L.; SONG, C.; ANDERSON, G.; GALECKI, P.; LEONARD, B. Depression and sickness behavior are Janus-faced responses to shared inflammatory pathways. **BMC medicine**, v.10, p.66, 2012.
- MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. Cytokines for psychologists: implications for bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. **Psychol. Rev.**, v. 105 n.1, p. 83–107, 1998.
- 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.
- MCNALLY, L.; BHAGWAGAR, Z.; HANNESTAD, J. Inflammation, glutamate, and glia in depression: a literature review. **CNS Spectr** v. 13, p. 501–510, 2008.
- MARTIN-SOELCH C. Is depression associated with dysfunction of the central reward system? **Biochem Soc Trans.**, v. 37 p. 313–317, 2009.
- MELLO, B.S. Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. **J. Psychiatr. Res.**, v. 47, p. 1521–1529, 2013.
- MERRILL, J.E.; MURPHY, S.P. Inflammatory events at the blood brain barrier: regulation of adhesion molecules, cytokines, and chemokines by reactive nitrogen and oxygen species. **Brain Behav. Immun.**, v. 11, p. 245–263, 1997.
- MILLER, H. L.; DELGADO, P. L.; SALOMON, R. M. Clinical and biochemical effects of catecholamine depletion on antidepressant induced remission of depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 53 p.117–128, 1996.
- MILLER, A. H.; RAISON, C. L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. **Nature**, v.16, p.22-34, 2016.
- MILLER, A.H., MALETIC, V., RAISON, C.L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biological psychiatry**, v. 65, p. 732-741, 2009.
- MORENO, D. H.; MORENO, R. A. Depressões resistentes a Tratamento: proposta de abordagem. **J. Bras. Psiquiatria**, v. 42 p. 415-55, 1993.
- MORRIS, G.; BERK, M. The many roads to mitochondrial dysfunction in neuroimmune and neuropsychiatric disorders. **BMC Medicine**, v. 13 p. 68-92, 2015.
- MOYLAN, S., MAES, M., WRAY, N., BERK, M. The neuroprogressive nature of major depressive disorder: pathways to disease evolution and resistance, and therapeutic implications. **Molecular psychiatry** v.18, p. 595-606, 2013.
- MUNOZ-FERNANDEZ, M.A.; FRESNO, M. The role of tumour necrosis factor, interleukin-6, interferon-g and inducible nitric oxide synthase in the development and pathology of the nervous system. **Prog. Neurobiol.**, v. 56 n. 3, p. 307–340, 1998.
- NDONGSON, D. B. Phosphoinositide 3-kinase gamma controls inflammation-induced myocardial depression via sequential cAMP and iNOS signalling. **Cardiovasc. Res.**, v. 108, p. 243-253, 2015.



- OAKES, P.; LOUKAS, M.; OSKOUIAN, R. J., TUBBS, R. S. The neuroanatomy of depression: a review. **Clin Anat. Article in press** 2016.
- O'CONNOR, J. C.; LAWSON, M. A.; ANDRE, C.; MOREAU, M.; LESTAGE, J.; CASTANON, N.; KELLEY, K. W.; DANTZER, R. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3- dioxygenase activation in mice. **Mol Psychiatry**, v. 14 p. 511–522, 2009.
- OHGI, Y.; FUTAMURA, T.; KIKUCHI, T.; HASHIMOTO, K. Effects of antidepressants on alternations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacol. Biochem. Behavior.**, v. 103, p. 853-859, 2013.
- OHKAWA, H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem.**,v. 95 p. 351–358, 1979.
- ORDWAY, G. A.; SCHENK, J.; STOCKMEIER, C. A.; MAY, W.; KLIMEK, V. Elevated agonist binding to alpha2-adrenoceptors in the locus coeruleus in major depression. **Biol Psychiatry**, v. 53 p.315- 323, 2003.
- PAINSIPP, E. Prolonged depression-like behavior caused by immune challenge: Influence of mouse strain and social environment. **PLoS ONE**, v. 6, e20719, 2011.
- 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.
- PAREKH, K. D.; DASH, R. P.; PANDYA, A. N.; VASU, K. K.; NIVSARKAR, M. Implication of novel bis-imidazopyridines for management of Alzheimer's disease and establishment of its role on protein phosphatase 2A activity in brain. **J Pharm Pharmacol.**, v. 65 p.1785-1795, 2013.
- PAPADOPOULOS, M.; KOUMENIS, I.; YUAN, T.; GIFFARD, R. Increasing vulnerability of astrocytes to oxidative injury with age despite constant antioxidant defenses. **Neuroscience**, v. 82, p. 915-925, 1997.
- PISOSCHI, A. M.; POP. A. European Journal of Medicinal Chemistry The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress : A review. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 97 p. 55-74, 2015.
- PORSOLT, R. D.; LEPICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature.**, v. 2, p. 266-270, 1977.
- PRICE, J. L.; DREVETS, W. C. Neurocircuitry of mood disorders. **Neuropsychopharmacology**, v. 35 p.192-216, 2010.
- PROHASKA, J. R.; GANTHER, H. E. Selenium and Glutathione Peroxidase in Developing Rat Brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 27, n. 6, p. 1379–1387, 1976.
- QIAN, Y.; ZHANG, Y.; ZHONG, P. Inhibition of inflammation and oxidative stress by an imidazopyridine derivative X22 prevents heart injury from obesity. **J Cell Mol Med.**, v. 20 n. 8 p. 1427-1442, 2016.
- RAFICE, S.; CHAUHAN, N.; EFIMOV, I.; BASRAN, J.; RAVEN, E. Oxidation of L-tryptophan in biology: a comparison between tryptophan 2, 3-dioxygenase and indoleamine 2, 3- dioxygenase. **Biochemical Society Transactions**, v. 37, p. 408, 2009.
- RAISON, C. L.; DANTZER, R.; KELLEY, K. W.; LAWSON, M. A.; WOOLWINE, B. J.; VOGT, G.; SPIVEY, J.R.; SAITO, K.; MILLER, A. H. CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN- $\alpha$ : relationship to CNS immune responses and depression. **Molecular psychiatry**, v.15, p. 393-403, 2010.
- RÉUS, G.Z.; TITUS, S. Neurochemical correlation between major depressive disorder and neurodegenerative diseases. **Life Sciences**, v.158, p. 121 - 129, 2016.

- REIS, S. A.; PINZ, M.; DUARTE, L. F.B.; ROEHRS, J. A.; ALVES, D.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A. 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline, a novel multitarget compound with anxiolytic activity: Contribution of the glutamatergic system. *Jour. of Psych. Res.*, v.84, p. 191-199, 2017.
- ROMAN, M.; JITARU, P.; BARBANTE, C. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*, v. 6 p. 25-54, 2014.
- ROSENBLAT, J. D. et al. Beyond Monoamines-Novel Targets for Treatment-Resistant Depression: A Comprehensive Review. *Current neuropharmacology*, v. 13, n. 5, p. 636–55, 2015.
- ROSENBLAT, J. D.; MCINTYRE, R. S.; ALVES, G. S.; FOUNTOULAKIS, K. N.; CARVALHO, A. F. Beyond Monoamines-Novel Targets for Treatment-Resistant Depression: A Comprehensive Review. *Curr Neuropharmacol.*, v.13 n.5 p.636-655, 2016.
- 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.
- 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.
- SCAPAGNINI, G.; DAVINELLI, S.; DRAGO, F.; DE LORENZO, A.; ORIANI, G.; Antioxidants as antidepressants: fact or fiction? *CNS Drugs*, v. 26 p. 477-490, 2012.
- SCHILDKRAUT, J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am. J. Psychiatry.*, v. 122, p. 509– 522, 1965.
- SCHNEIDERS, J.; FUCHS, F.; DAMM, J. The transcription factor nuclear factor interleukin 6 mediates pro- and anti-inflammatory responses during LPS-induced systemic inflammation in mice. *BRAIN, Behav Immun.*,v. 48 p.147-164, 2015.
- SHAO, L.; MARTIN, M. V.; WATSON, S. J.; SCHATZBERG, A.; AKIL, H.; MYERS, R. M.; JONES, E. G.; BUNNEY, W. E.; VAWTER, M. P. Mitochondrial involvement in psychiatric disorders. *Annals of medicine* v. 40, p. 281-295, 2008.
- 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.
- SLYEPCHENKO, A.; MAES, M.; KÖHLER, C. A.; ANDERSON G.; QUEVEDO, J.; ALVES, G. S.; BERK, M.; FERNANDES, B. S.; CARVALHO, A. F. T helper 17 cells may drive neuroprogression in major depressive disorder : proposal of an integrative model. *Neurosci Biobehav Rev.*, v.64 p. 83-100, 2016.
- SOUSA, F. S. S. Avaliação da atividade antinociceptiva da  $\alpha$ -(fenilseleno)acetofenona em camundongos. 2016. 87 f. Dissertação de mestrado (Pós graduação em bioquímica e bioprospecção) – Centro de ciências químicas, farmacêuticas e de alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.
- STEINBRENNER, H.; SIES, H. Selenium homeostasis and antioxidant selenoproteins in brain: Implications for disorders in the central nervous system. *Arch Biochem Biophys.*, v. 536 p.152-157, 2013.
- STOCKMEIER, C. A.; MAHAJAN, G. J.; KONICK, L. C.; OVERHOLSER, J. C.; JURJUS, G. J.; MELTZER, H. Y.; UYLINGS, H. B.; FRIEDMAN, L.; RAJKOWSKA, G. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biol Psych*, v. 56 p. 640-650, 2004.
- 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.

- TOMAZ, Q. V. S.; CORDEIRO, R. C.; COSTA, A. M. N. Antidepressant-like effect of nitric oxide synthase inhibitors and sildenafil against lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice. **Neuroscience**, v.268, p. 236-246, 2014.
- TOMAZ, V. S. Antidepressant-like effect of nitric oxide synthase inhibitors and sildenafil against lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice. **Neuroscience** v. 268, p. 236–246, 2014.
- UHER, R.; MORS, O.; RIETSCHER, M.; RAJEWSKA-RAGER, A.; PETROVIC, A.; ZOBEL, A.; HEINGSBERG, N.; MENDLEWICZ, J.; AITCHISON, K.J.; FARMER, A.; VAVÁKOVÁ, M.; URAČKOVÁ, Z.; TREBATICKÁ, J.; Markers of Oxidative Stress and Neuroprogression in Depression Disorder. **Oxid Med Cell Longev.**, 2015.
- WAISMAN, A.; HAUPTMANN, J.; REGEN, T.; The role of IL-17 in CNS diseases. **Acta neuropathologica**, v.129, p. 625-637, 2015.
- XIE, Q. W.; CHO, H. J.; CALAYCAY, J.; MUMFORD, R. A.; SWIDEREK, K. M.; LEE, T. D.; DING, A.; TROSO, T.; NATHAN, C.; Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. **Science**, v. 256 p. 225-228, 1992.
- 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, S.; HAN, C.; LEE, S.; JUN, T.; PATKAR, A. A.; PRAKASH, S. Second Generation Antipsychotics in the Treatment of Major Depressive Disorder : An Update. **Chonnam Medical Journal**, v. 52 p.159-172, 2016.
- WANG, X.; MICHAELIS, E. K. "Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain," **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 2, p. 12, 2010.
- WATKINS, L. R.; GOEHLER, L. E.; RELTON, J. K.; TARTAGLIA, N.; SILBERT, L.; MARTIN, D.; MAIER, S. F. Blockade of interleukin-1 induced hyperthermia by subdiaphragmatic vagotomy: evidence for vagal mediation of immune-brain communication. **Neurosci Lett.**, v.183 p. 27–31, 1995.
- 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.
- WÖFLER, A.; ABUJA, P. M.; SCHAUENSTEIN, K.; LIEBMANN, P. M.; N-acetylserotonin is a better extra-and intracellular antioxidant than melatonin. **FEBS letters**, v. 449, p. 206-210, 1999.
- WON JEON, S. et al. Neuroinflammation and cytokine abnormality in major depression: Cause or consequence in that illness? **World J Psychiatr J Psychiatr**, v. 6, n. 63, p. 283–293, 2016.
- WU, Y. et al. Metabolomic analysis reveals metabolic disturbances in the prefrontal cortex of the lipopolysaccharide-induced mouse model of depression. **Behavioural Brain Research**, v. 308, p. 115–127, 2016.
- YOUNG, J.J.; SILBER, T.; BRUNO, D.; GALATZER-LEVY, I. R.; POMARA, N.; MARMAR, R. C.; Is there progress? An overview of selecting biomarker candidates for major depressive disorder. **Frontiers in Psychiatry**, v. 7, p. 1–15, 2016.
- YIRMIYA, R. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. **Brain Res.**, v. 711, p. 163–174, 1996.
- ZHANG, Z.-T. et al. Activation of the NLRP3 inflammasome in lipopolysaccharide-induced mouse fatigue and its relevance to chronic fatigue syndrome. **Journal of Neuroinflammation**, v. 13, n. 1, p. 71, 2016.
- ZHU, L. et al. Neuroscience Letters Salidroside attenuates lipopolysaccharide ( LPS )

induced serum cytokines and depressive-like behavior in mice. v. 606, p. 1–6, 2015.