

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

**Trabalho de Conclusão de Curso**



**AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO RELACIONADO AO EFEITO TIPO-  
ANTIDEPRESSIVO E TIPO-ANSIOLÍTICO DO 3-[(4-CLOROFENIL)SELENIL]-1-METIL-1H-  
INDOL EM CAMUNDONGOS**

**Darling de Andrade Lourenço**

**Pelotas, 2019**

**Darling de Andrade Lourenço**

**AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO RELACIONADO AO EFEITO TIPO-  
ANTIDEPRESSIVO E TIPO-ANSIOLÍTICO DO 3-[(4-CLOROFENIL)SELENIL]-1-METIL-1H-  
INDOL EM CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação 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

Coorientadora: Bela. Angela Maria Casaril

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

L892a Lourenço, Darling de Andrade

Avaliação do mecanismo de ação relacionado ao efeito tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico do 3-[-4-clorofenil)selenil]-1-metil-1*H*-indol em camundongos / Darling de Andrade Lourenço ; Lucielli Savegnago, orientadora ; Angela Maria Casaril, coorientadora. — Pelotas, 2019.

92 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) — Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Selênio. 2. Antidepressivo. 3. Ansiolítico. 4. Corticosterona. 5. mTOR. I. Savegnago, Lucielli, orient. II. Casaril, Angela Maria, coorient. III. Título.

CDD : 616.8528

**Darling de Andrade Lourenço**

**AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO RELACIONADO AO EFEITO TIPO-  
ANTIDEPRESSIVO E TIPO-ANSIOLÍTICO DO 3-[(4-CLOROFENIL)SELENIL]-1-METIL-1H-  
INDOL EM CAMUNDONGOS**

**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: 08 de novembro de 2019.**

**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>. Francieli Moro Stefanello  
Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul.**

.....

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

.....

**Dr<sup>ª</sup>. Fernanda Severo Sabedra Sousa (Suplente)  
Doutora em Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas.**

.....

**Pelo apoio incondicional, dedico este trabalho à minha mãe, Nara.**

## **Agradecimentos**

Primeiramente, agradeço a minha mãe, Nara, por todo amor e suporte incondicionais e por todos os sacrifícios em prol dos meus sonhos. Tu és a pessoa mais batalhadora que conheço e meu maior exemplo de força, determinação, amor ao próximo e humildade. Obrigada por me inspirar a ser sempre a melhor de versão de mim mesma que posso ser e por me acalmar em meio aos meus anseios e inseguranças. Todos as metas que busco são para que possamos desfrutá-las juntas no futuro.

Agradeço a minha tia, Aura (para sempre Deia), por sempre me motivar e desejar o melhor para mim. Obrigada ser a parte sentimental e delicada que muitas vezes me faz ver o mundo de forma diferente. Agradeço a minha eterna Vó Nena, por ser o maior dos alicerces em nossas vidas e nos ensinar a ser o que somos hoje. Agradeço ao Pet por ter sido minha fonte inesgotável de alegria e companheirismo por tantos anos. Sou imensamente grata ao João, por toda a compreensão, amor e amizade nos momentos em que mais precisei. Obrigada por todos os conselhos, por acalmar minhas inseguranças e me fazer ver meus potenciais, por sempre acreditar em mim e por sempre ser meu motivador.

Sou imensamente grata a Angela, por ser o maior exemplo de pesquisadora que tive a honra de conhecer e acompanhar. Agradeço por todos os ensinamentos, todo o apoio em todas as horas e por me inspirar a ser sempre melhor. Obrigada por enxergar em mim o que muitas vezes não tive capacidade de ver, por sempre me motivar e por sempre acreditar em mim. Além disso, obrigada por toda a tua dedicação e, principalmente, amizade.

Agradeço à professora e orientadora Lucielli Savegnago pelas oportunidades ofertadas, pelo apoio e pela grande contribuição para minha vida acadêmica. Obrigada a todos os colegas do GPN, atuais e antigos, pelas colaborações, trabalho em equipe, amizade e incentivo. Um obrigado especial à Micaela e à Suely por ser ótimas professoras de laboratório, esplêndidas incentivadoras e amigas para todos os momentos.

Agradeço a todos os amigos que passaram pela minha vida durante a graduação, levando um pouquinho de mim e deixando um pouquinho deles comigo. Um agradecimento muito especial a todos os professores da graduação em Biotecnologia por serem excelentes motivadores quando o cenário não era auspicioso

e, principalmente à professora e coordenadora Priscila, por todo carinho, amizade e resolução de problemas.

Agradeço à Universidade Federal de Pelotas e ao Núcleo de Biotecnologia pelo acolhimento e excelente curso. Aos funcionários da Biotecnologia, em especial à Renata e à Daiane por serem sempre tão solícitas e amigas. Aos laboratórios parceiros, LASOL e GPO, pelas colaborações. Aos funcionários do Biotério Central, pelo profissionalismo e comprometimento. Agradeço à UFPel e ao IPB pela oportunidade de intercâmbio e todos os frutos gerados do mesmo, principalmente as amizades formadas.

Finalmente, gostaria de agradecer às agências de fomento CNPq e FAPERGS por todo auxílio financeiro às pesquisas e concessão de bolsas de Iniciação Científica, tão importantes para a motivação dos alunos

**Muito obrigada!**

*A grande batalha das nossas vidas é a construção do nosso próprio futuro. É viver com dignidade, apesar da nossa natureza imperfeita. É aceitar os outros como iguais, e ao mesmo tempo ter consciência da nossa verdadeira importância, e da capacidade de reger o nosso destino. Somos os donos de nossos caminhos, os únicos responsáveis por nossas vitórias, e pelos nossos fracassos. Ninguém nos controla. Somos livres, e essa é nossa única arma*

*Eduardo Spohr*



## Resumo

LOURENÇO, Darling de Andrade. **Avaliação do mecanismo de ação relacionado ao efeito tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico do 3-[(4-clorofenil)selenil]-1-metil-1*H*-indol em camundongos.** 2019. 92f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2019.

A depressão maior e a ansiedade são as disfunções psiquiátricas com maior prevalência mundial e, frequentemente, ocorrem concomitantemente, caracterizando uma comorbidade. São heterogênicas e multifatoriais e têm sido amplamente relacionadas ao estresse crônico. No entanto, os tratamentos atuais ainda modulam principalmente a neurotransmissão monoaminérgica, o que impulsiona as pesquisas por novas moléculas multialvo. O composto orgânico de selênio 3-[(4-clorofenil)selenil]-1-metil-1*H*-indol (CMI) já demonstrou os efeitos antioxidante, anti-inflamatório, antinociceptivo e tipo-antidepressivo em modelos animais de comportamento tipo-depressivo. Nesse sentido, considerando as propriedades do CMI, o objetivo do presente estudo foi aprofundar o conhecimento sobre o mecanismo de ação do CMI (1 mg/Kg, intragástrica) em reverter o comportamento tipo-depressivo e tipo-ansiolítico induzido pela administração repetida de corticosterona durante 14 dias em camundongos (20 mg/Kg, intragástrica) *Swiss* machos. No 15<sup>o</sup> dia, os camundongos receberam uma única administração de CMI e após 30 minutos os ensaios comportamentais do teste do campo aberto, labirinto em cruz elevado e teste do *splash* foram realizados. Seguidamente, os animais foram eutanasiados para remoção do hipocampo e coleta do sangue para obtenção do plasma para as análises de reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real, ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico e determinação da formação de espécies reativas, respectivamente. O CMI reverteu as alterações comportamentais e bioquímicas induzidas pelo tratamento com corticosterona demonstrando efeito tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico. Além disso, a administração do CMI restaurou os níveis de expressão de mRNA do receptor de glicocorticoide, fator neurotrófico derivado do cérebro, sinaptofisina, glicogênio sintase cinase 3 beta, fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 e indoleamina 2,3-dioxigenase no hipocampo de camundongos estressados. Ademais, o CMI apresentou atividade antioxidante uma vez que diminuiu os níveis de espécies reativas e peroxidação lipídica no plasma de camundongos tratados com corticosterona. Em um grupo diferente, o pré-tratamento com rapamicina (inibidor do alvo mamífero da rapamicina, mTOR) impediu o efeito tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico provocado pelo CMI em camundongos tratados com corticosterona nos ensaios comportamentais. Estes resultados sugerem a habilidade de CMI de reverter as alterações comportamentais e bioquímicas na comorbidade da depressão-ansiedade induzida pela corticosterona, possivelmente pela modulação da via de sinalização do mTOR.

**Palavras-chave:** Selênio. Antidepressivo. Ansiolítico. Corticosterona. mTOR.

## Abstract

LOURENÇO, Darling de Andrade. **Evaluation of the mechanism of action related to the antidepressant- and anxiolytic-like effect of 3-[(4-chlorophenyl)selenyl]-1-methyl-1*H*-indole in mice.** 2019. 92f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2019.

Major depression and anxiety are the most prevalent psychiatric dysfunctions worldwide and often occur concurrently, characterizing comorbidity. They are heterogeneous and multifactorial and have been largely related to chronic stress. However, current treatments still mainly modulate monoaminergic neurotransmission, which prompts the research for new multi-target molecules. The organoselenium compound 3-[(4-chlorophenyl)selenyl]-1-methyl-1*H*-indole (CMI) has already demonstrated the antioxidant, anti-inflammatory, antinociceptive and antidepressant-like effects in animal models of depressive-like behavior. In this regard, considering the properties of the CMI, the present study aimed to deepen the knowledge about the mechanism of action of the CMI (1 mg/kg, intragastric) in reversing the depressive- and anxiogenic-like behavior induced by repeated administration of corticosterone for 14 days in male Swiss mice (20 mg/kg, intragastric). On day 15<sup>th</sup>, the mice received a single administration of CMI and after 30 minutes the behavioral tests of open field test, elevated plus maze and splash test were performed. The mice were then euthanized for hippocampal removal, for real-time quantitative polymerase chain reaction analysis, and blood collection for plasma separation, thiobarbituric acid reactive species assay and determination of reactive species formation. The CMI reversed the behavioral and biochemical alterations induced by corticosterone treatment demonstrating antidepressant- and anxiolytic-like effects. Moreover, the CMI administration restored the expression levels of glucocorticoid receptor, brain-derived neurotrophic factor, synaptophysin, glycogen synthase kinase 3 beta, nuclear factor erythroid 2-related factor 2, and indoleamine 2,3-dioxygenase in the hippocampus of stressed mice. Additionally, CMI presented antioxidant activity once it decreased the levels of reactive species and lipid peroxidation in the plasma of corticosterone-treated mice. In a different cohort, pre-treatment with rapamycin (inhibitor of mammalian target of rapamycin, mTOR) prevented the antidepressant- and anxiolytic-like effect elicited by CMI in corticosterone-treated mice evaluated in the behavioral assays. These findings suggest the CMI ability to reverse behavioral and biochemical alterations in the depression-anxiety comorbidity induced by corticosterone, possibly by modulation of the mTOR signaling pathway.

**Key word:** Organoselenium. Antidepressant. Anxiolytic. Corticosterone. mTOR.

## Lista de Figuras

Figura 1	Estrutura química das principais monoaminas envolvidas na depressão maior.....	23
Figura 2	Neurotransmissão monoaminérgica.....	24
Figura 3	Envolvimento da neuroinflamação na depressão maior.....	28
Figura 4	Via de produção das principais espécies reativas de oxigênio e principais enzimas antioxidantes presentes no ambiente celular e envolvimento do selênio.....	30
Figura 5	Envolvimento do estresse oxidativo na patofisiologia da depressão.....	32
Figura 6	Estrutura química do cortisol e da corticosterona.....	34
Figura 7	Representação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e algumas vias de envolvimento do mesmo na patofisiologia da depressão maior.....	36
Figura 8	Estrutura de alguns compostos orgânicos de selênio estudados no Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN).....	43
Figura 9	Estrutura química do 3-[(4-cloforenil)selenil]-1-metil-1 <i>H</i> -indol) (CMI).....	44

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Principais classes de fármacos utilizadas no tratamento da DM e que agem pelo sistema monoaminérgico.....	38
----------	---	----

## Lista de abreviaturas e siglas

3-HK	3-hidroxiquinurenina
5-HT	serotonina
8-OHdG	8-hidroxi-2'-deoxiguanosina
ACTH	hormônio adrenocorticotrófico
Akt	proteína cinase B
AMPA	ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
ANOVA	análise de variância
ATP	adenosina trifosfato
AU	unidades arbitrárias
BDNF	fator neurotrófico derivado do cérebro
BHE	barreira hematoencefálica
CAMKII	proteína cinase II dependente de cálcio-calmodulina
CAT	catalase
CMI	3-[(4-clorofenil)selenil]-1-metil-1 <i>H</i> -indol
Cort	corticosterona
CPF/PFC	córtex pré-frontal/ <i>prefrontal cortex</i>
CREB	proteína de ligação responsiva ao AMPc
CRF	fator liberador de corticotrofina
DA	dopamina
DART	transportador de dopamina
DCF	diclorofluoresceína
DCHF-DA	diacetato de dicloro-dihidro-fluoresceína
DIOs	iodotironina deiodinases
DM/MDD	depressão maior/ <i>major depressive disorder</i>
DNA	ácido desoxirribonucleico
DRD4	receptor de dopamina
DSM-5	Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5. <sup>a</sup> edição
ER/RS	espécies reativas/ <i>reactive species</i>
ERK 1/2	proteínas cinases reguladas por sinal extracelular 1 e 2
FAD	flavina-adenina-dinucleotídeo

FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA ( <i>U.S. Food and Drug Administration</i> )
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GC	glicocorticoides
GPxs	glutathiona peroxidases
GR	receptor de glicocorticoides
GSK3-β	glicogênio sintase cinase 3 beta
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peróxido de hidrogênio
HO-1	heme-oxigenase 1
HP/HC	hipocampo/ <i>hippocampus</i>
HPA	eixo hipotálamo-pituitária-adrenal
ICV	injeção intracerebroventricular
IDO	indoaleamina 2,3-dioxigenase
IFN- α	interferon alfa
IFNγ	interferon gama
IG	intragástrico
IL-1	interleucina 1
IL-12	interleucina 12
IL-1β	interleucina 1 beta
IL-2	interleucina 2
IL-4	interleucina 4
IMAO	inibidores de monoaminas oxidase
iNOS	óxido nítrico sintase induzível
ISRN	inibidores seletivos da recaptação da noradrenalina
ISRS	inibidores seletivos da recaptação da serotonina
ISRSN	inibidores da recaptação da serotonina e noradrenalina
IκB	inibidor kappa B
KA	ácido quinurênico
LPS	lipopolissacarídeo
MAO	monoamina oxidases
MAPK	proteínas cinases ativadas por mitógenos
MDA	malondialdeído
MR	receptor mineralocorticoide
mRNA	ácido ribonucleico mensageiro

mTOR	alvo mamífero da rapamicina
NA	noradrelina
NFκB	fator de transcrição nuclear kappa B
NMDA	receptor N-metil-D-aspartato
NO	óxido nítrico
Nrf2	fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2
O <sub>2</sub>	oxigênio
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	ânion superóxido
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMPs	padrões moleculares associados a patógenos
PI3K	fosfatidilinositol 3-cinase
PKA	proteína cinase A
PKC	proteína cinase C
QA	ácido quinolínico
qRT-PCR	reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real
RL	radical livre
RNA	ácido ribonucleico
R-NH <sub>2</sub>	grupamento amina
Se	selênio
SeCys	selenocisteína
SelP	selenoproteína P
SERT	transportador de serotonina
SNC/CNS	sistema nervoso central/central nervous system
SOD	superóxido dismutase
SPS2	selenofosfato sintetases 2
TBARS	espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA/OFT	teste do campo aberto/ <i>open field test</i>
TCE/EPM	labirinto em cruz elevada/ <i>elevated plus maze</i>
TEPT	transtorno do estresse pós-traumático
TLR	receptor do tipo Toll
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
TNF	teste do nado forçado
TrkB	receptor de tropomiosina cinase B
TrxRs	tiorredoxina redutases

TSC	teste da suspensão da cauda
YLD	anos vividos com incapacidade ( <i>Years Lived with Incapability</i> )



## Sumário

<b>1. Introdução.....</b>	<b>18</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1. Objetivo geral.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2. Objetivos específicos.....</b>	<b>21</b>
<b>3. Revisão Bibliográfica.....</b>	<b>22</b>
<b>3.1. Depressão Maior.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2. Hipótese Monoaminérgica.....</b>	<b>23</b>
<b>3.3 Hipótese Neuroinflamatória.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4. Hipótese do Estresse Oxidativo.....</b>	<b>28</b>
<b>3.5. Estresse e Depressão.....</b>	<b>32</b>
<b>3.5.1. Hipótese do eixo Hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA).....</b>	<b>33</b>
<b>3.6. Tratamentos para Depressão.....</b>	<b>37</b>
<b>3.7. Selênio.....</b>	<b>39</b>
<b>3.7.1. Compostos orgânicos de selênio.....</b>	<b>41</b>
<b>3.7.2. 3-[(4-cloforenil)selenil]-1-metil-1<i>H</i>-indol.....</b>	<b>43</b>
<b>4. Manuscrito.....</b>	<b>46</b>
<b>5. Conclusões e Perspectivas.....</b>	<b>75</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>76</b>

## 1. Introdução

A depressão maior (DM) é o transtorno neuropsiquiátrico mais comum, uma vez que, dados de 2017 indicam que a mesma atinge 322 milhões de pessoas globalmente. Além disso, a DM é a maior responsável pela incapacidade (7,5%) e a maior contribuinte em mortes por suicídio (800.000 casos/ano) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). A DM é mais comum em mulheres (5,1%) do que em homens (3,6%) e, geralmente pode estar acompanhada de outras disfunções neuropsiquiátricas, como a ansiedade. A preocupação relacionada a DM também envolve o ônus econômico gerado, visto que essa disfunção é responsável pela perda de 7,5% da receita dos países devido aos pacientes incapacitados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Em 2013, a DM era a segunda causa de incapacidade na população brasileira, perdendo apenas para dores nas costas (VOS et al., 2015). Ainda, de acordo com os últimos dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), o Brasil é o segundo país da região das Américas com maior prevalência de depressão, atingido 5,8% da população e, o primeiro com maior prevalência de ansiedade, afetando 9,3% da população (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Apesar da sua relevância, a etiologia da DM não está completamente elucidada, uma vez que é complexa e heterogênea. Sendo assim, ao longo dos anos, diversas teorias têm sido desenvolvidas para tentar explicar a patofisiologia desse transtorno (GALTS et al., 2019). Dentre as teorias, destacam-se as alterações no sistema monoaminérgico, a neuroinflamação, a alteração do balanço redox e as alterações no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA).

A hipótese do sistema monoaminérgico, também conhecida como hipótese das aminas biogênicas, propõe que há uma redução dos neurotransmissores monoaminérgicos (serotonina, noradrenalina e dopamina) na fenda sináptica, resultando em diminuição da neurotransmissão e dano cognitivo, o que pode levar à depressão (BARCHAS; ALTEMUS, 1999; COPPEN, 1967). Por sua vez, a hipótese da neuroinflamação propõe que a comunicação do sistema imune periférico com o sistema nervoso central (SNC) pode propagar a inflamação periférica levando a inflamação central, comunicação essa mediada por citocinas pró-inflamatórias e migração de células imunes com consequente ativação da microglia (JESULOLA; MICALOS; BAGULEY, 2018).

O estresse oxidativo é uma condição em que ocorre um desequilíbrio entre a geração e a eliminação de espécies reativas de oxigênio, como o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (MAES et al., 2011b). Essa condição está presente em pacientes com DM, os quais também apresentam redução na atividade de enzimas antioxidantes (MAES et al., 2011a, 2011b). A hiperatividade do eixo HPA é considerada uma anormalidade do sistema endócrino que contribui para o aparecimento e desenvolvimento da DM (JESULOLA; MICALOS; BAGULEY, 2018). Essa hipótese propõe que a liberação excessiva do fator liberador de corticotrofina (CRF) e consequente hipersecreção de cortisol estão relacionados com os sintomas depressivos (SHER et al., 2013; VREEBURG et al., 2009).

Embora a DM possua caráter multifatorial e heterogêneo, os principais tratamentos com antidepressivos disponíveis abordam a hipótese monoaminérgica em sua maioria. Como reflexo, 40% dos pacientes que fazem uso dessas medicações não possuem melhoras na sintomatologia (INSTITUTE FOR QUALITY AND EFFICIENCY IN HEALTH CARE, 2017), demonstrando que os medicamentos disponíveis não são abrangentes o suficiente para modular as diversas alterações celulares que acometem os pacientes depressivos. Um estudo recente evidenciou a eficácia de 21 dos antidepressivos mais utilizados na clínica, mas ainda assim, vários apresentaram altas taxas de descontinuação do tratamento, o que pode ser relacionada com a demora para o início dos efeitos farmacológicos e a presença de diversos efeitos adversos (CIPRIANI et al., 2018; GARTLEHNER et al., 2017).

Sendo assim, a busca por novas moléculas que possuam atividade antidepressiva e ansiolítica se justifica através da necessidade de abordagens multialvo, que sejam capazes de abranger os casos em que os antidepressivos atuais possuem baixa eficiência. Além disso, a descoberta de moléculas que possuam poucos efeitos adversos também é necessária, visando reduzir as altas taxas de descontinuação.

Nesse cenário, as moléculas orgânicas contendo selênio (Se) vêm ganhando destaque devido às suas propriedades antioxidantes, tipo-antidepressiva, tipo-ansiolítica e entre outras (BAMPI et al., 2019; BIRMANN et al., 2018, 2019; CASARIL et al., 2017b; DOMINGUES et al., 2018, 2019; SOUSA et al., 2018, 2019). O Se é um micronutriente essencial que deveria estar presente na dieta de grupos de todas as idades (IBRAHIM et al., 2019). É incorporado na estrutura de 25 selenoproteínas que desempenham importantes funções biológicas, além de compor

a selenocisteína, hoje considerado o 21<sup>o</sup> aminoácido que compõe diversas enzimas Se-dependentes envolvidas em funções essenciais, como a manutenção do estado redox das células (PAPP et al., 2007; RAYMAN, 2000, 2012)(PAPP et al., 2007; RAYMAN, 2000, 2012).

Nesse sentido, compostos orgânicos contendo selênio têm emergido como promissoras moléculas multialvo com funções biológicas. O 3-[(4-cloforenil)selenil]-1-metil-1*H*-indol (CMI) é uma molécula sintética orgânica que contém Se, cuja síntese e atividade antioxidante *in vitro* foram determinadas por VIEIRA et al. (2015, 2017)(VIEIRA et al., 2015, 2017). Além disso, sua atividade antioxidante *in vivo* bem como prevenção e reversão do comportamento tipo-depressivo em camundongos em modelos de indução de depressão por neuroinflamação também já foram determinadas (CASARIL et al., 2017a, 2017b, 2019a, 2019b).

Com base no exposto acima, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial de reversão do CMI no comportamento tipo-depressivo e tipo-ansiogênico induzidos pela administração de corticosterona em camundongos. O presente trabalho visa aprofundar os conhecimentos a respeito do mecanismo de ação de um novo candidato farmacológico para o combate da depressão e suas comorbidades.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a capacidade do CMI em reverter o comportamento tipo-depressivo e tipo-ansiosogênico induzido pela administração repetida de corticosterona em camundongos *Swiss* machos.

### 2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos delineados para atingir o objetivo geral deste trabalho foram:

- Verificar se uma única administração de CMI pela via oral reverte o efeito tipo-depressivo e tipo-ansiosogênico induzidos pela administração repetida de corticosterona em camundongos;
- Avaliar se o tratamento com CMI reverte os níveis de marcadores de estresse oxidativo no plasma dos animais tratados com corticosterona;
- Avaliar se a administração de CMI modula a expressão de fatores moleculares associados com as alterações induzidas por corticosterona (receptor de glicocorticoide, fator neurotrófico derivado do cérebro, sinaptofisina, glicogênio sintase cinase 3 beta, fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 e indoleamina 2,3-dioxigenase) em hipocampo;
- Investigar, através do uso do antagonista rapamicina, se o mecanismo de ação do CMI é dependente da atividade da proteína alvo mamífero da rapamicina (mTOR).

### 3. Revisão Bibliográfica

#### 3.1 Depressão Maior

A depressão maior (DM) é um transtorno neuropsiquiátrico heterogêneo, multifatorial e complexo (RAGGUETT; TAMURA; MCINTYRE, 2019; WANG et al., 2019). De acordo com a OMS, a DM atinge 322 milhões de pessoas globalmente e possui maior incidência em mulheres do que em homens. A DM também é a principal causa de incapacidade, uma vez que foi responsável por 7,5% de todos os anos vividos com incapacidade (YLD, *Years Lived with Disability*) em 2015, gerando um ônus econômico elevado. Além disso, é a principal doença psiquiátrica responsável pelas mortes por suicídio (800.000 casos/por ano) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

É comum que pacientes apresentem DM e ansiedade simultaneamente, caracterizando uma comorbidade. A ansiedade é a segunda desordem psiquiátrica mais comum, atingindo 264 milhões de pessoas globalmente, o que representa 3,6% da população. Assim como a DM, a ansiedade também atinge mais mulheres do que homens. A região das Américas é altamente afetada por ambas as doenças, visto que Brasil é o segundo país com maior prevalência de DM (5,8% da população) e o país com maior prevalência de ansiedade (9,3% da população) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

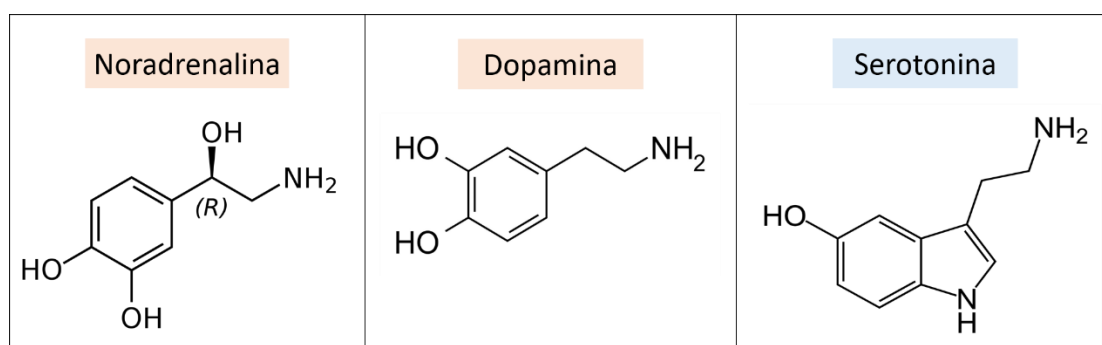
De acordo com o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5.<sup>a</sup> edição (DSM-5, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Fifth Edition*), os sintomas da depressão podem variar de moderado a severo, além de poder ser isolados ou recorrentes. Para diagnosticar a DM, o indivíduo precisa apresentar humor deprimido e/ou perda de interesse por atividades cotidianas por mais de duas semanas acompanhada pela presença de mais cinco sintomas, como: mudanças no apetite (ganho ou perda de peso não relacionado com a dieta); insônia ou sono excessivo; perda de energia ou aumento da fadiga; sentimento de culpa; dificuldade em pensar, concentração ou decidir; pensamentos de morte ou suicídio (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Apesar da importância socioeconômica da DM, a sua etiologia ainda não está completamente elucidada, dando espaço para diversas hipóteses serem criadas. Na

década de 50 foi estabelecida a hipótese da alteração do sistema monoaminérgico como uma possível causa da DM (ZELLER; BARSKY, 1952).

### 3.2 Hipótese Monoaminérgica

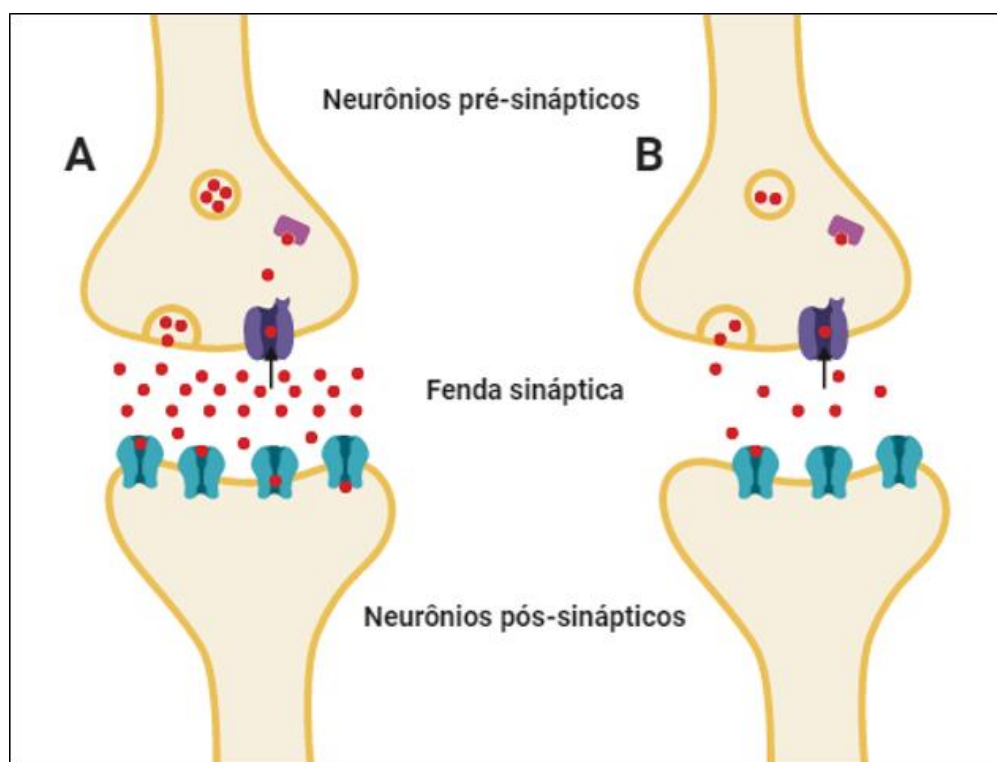
Os neurotransmissores monoaminérgicos são um grupo de moléculas sinalizadoras que contém o grupamento químico amina ( $R-NH_2$ ) em sua estrutura e possuem aminoácidos como seus precursores. Os principais neurotransmissores dessa categoria envolvidos na DM são a dopamina (DA), a noradrenalina (NA) e a serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) (Figura 1) (JESULOLA; MICALOS; BAGULEY, 2018; MERINEY; FANSELOW, 2019). O aminoácido tirosina é o precursor da DA e da NA e, ambos estão envolvidos, de maneira geral, na regulação do movimento, do humor, da atenção e das funções viscerais. Além disso, a DA também modula as funções de recompensa, motivação, memória de trabalho e atenção. Por sua vez, a NA está envolvida em memórias emocionais estimulantes (ATZORI et al., 2016; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2017; DELGADO; MORENA, 2006; GRACE, 2016; MALETIC et al., 2017). A 5-HT é derivada do aminoácido triptofano e está envolvida, principalmente, na regulação do humor, comportamento emocional e sono (BEAR; CONNORS; PARADISO, 2017; DELGADO; MORENA, 2006). gh



**Figura 1.** Estrutura química das principais monoaminas envolvidas na depressão maior. (A) noradrenalina, (B) dopamina, (C) serotonina. Fonte: Elaborada pela autora.

Levando em consideração as funções essenciais das principais monoaminas, a chamada “Hipótese monoaminérgica da DM” propõe que há uma redução na biodisponibilidade desses neurotransmissores (5-HT, NA, DA) na fenda sináptica de indivíduos depressivos (Figura 2), resultando em neurotransmissão reduzida e dano cognitivo, culminando com o desenvolvimento e estabelecimento da depressão

(BARCHAS; ALTEMUS, 1999; COPPEN, 1967). A redução da biodisponibilidade da 5-HT, NA e DA possui algumas origens elucidadas e que são apoiadas pelo mecanismo de ação e efeito dos tratamentos atualmente utilizados com antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da recaptação da serotonina ou noradrenalina (ISRS e ISRN) e inibidores da monoamina oxidase (IMAO), que atuam aumentando a concentração dessas biomoléculas na fenda sináptica (HILLHOUSE; PORTER, 2015).



**Figura 2.** Neurotransmissão monoaminérgica (5-HT, NA e DA). (A) Sinapse em neurônios monoaminérgicos em indivíduos saudáveis. Os neurotransmissores (círculo preenchido em vermelho) são liberados do neurônio pré-sináptico para a fenda sináptica, na qual interagem com seus receptores específicos (receptores azuis) no neurônio pós-sináptico. Alguns são recaptados para o neurônio pré-sináptico através do transportador de neurotransmissores (receptor roxo) e são metabolizados pela enzima monoamina oxidase, como no caso da 5-HT (enzima em roxo), ou catecol-O-metil transferase, no caso da DA e NA. (B) Sinapse em neurônios monoaminérgicos em indivíduos depressivos, simulando a redução da concentração de monoaminas nas vesículas pré-sinápticas e fenda sináptica, bem como redução de número e afinidade de receptores de neurotransmissores no neurônio pós-sináptico e aumento da atividade da monoamina oxidase. Fonte: Elaborada pela autora.

Uma das possibilidades para a redução das monoaminas é o aumento da atividade das enzimas monoamina oxidases (MAO) MAO-A e MAO-B. As enzimas MAO são enzimas mitocondriais dependentes de flavina-adenina-dinucleotídeo (FAD) e realizam a desaminação oxidativa de aminas biogênicas como a 5-HT, NA e DA (YOU DIM; EDMONDSON; TIPTON, 2006). Um fator convergente com essa



possibilidade é que a atividade da MAO encontra-se aumentada em pacientes depressivos (BRIGITTA, 2002; NEMEROFF, 2008). Além disso, (i) a redução na função das proteínas transportadoras de monoaminas que facilitam ou aumentam a recaptação dos neurotransmissores; (ii) mudanças nos receptores de 5-HT, NA e DA, como redução da afinidade e redução do número; (iii) e polimorfismos genéticos em genes específicos, como transportador de dopamina (SLC6A3), transportador de serotonina (SLC6A4) e receptor de dopamina (DRD 4) também estão envolvidos na redução das principais monoaminas no cérebro (BRIGITTA, 2002; LÓPEZ-LEÓN et al., 2005, 2008).

Apesar da hipótese monoaminérgica ser evidenciada através da ação farmacológica dos antidepressivos tricíclicos, inibidores da MAO e inibidores seletivos da recaptação de 5-HT ou NA, esses fármacos exercem resposta terapêutica apenas em 40% dos pacientes e, dentre esses, apenas 30% atingem a remissão. Além disso, os efeitos psicológicos são lentos, podendo levar de três a quatro semanas para serem notados, e apresentam diversos efeitos adversos. Nesse sentido, não é possível afirmar que a DM tem origem apenas na neurotransmissão monoaminérgica (GAYNES et al., 2009; HILLHOUSE; PORTER, 2015; THOMPSON, 2002). Partindo da necessidade de melhor elucidar a patofisiologia da DM, outras hipóteses foram elaboradas na tentativa de explicar outros mecanismos envolvidos na depressão.

### **3.3 Hipótese Neuroinflamatória**

A inflamação é uma resposta adaptativa desencadeada por condições e estímulos nocivos, tais quais infecções e dano tecidual, que visa restaurar a homeostase do organismo (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2017; MAJNO; JORIS, 2004; MEDZHITOV, 2008). A resposta inflamatória consiste em uma ação coordenada de células do sistema imune inato para o local da infecção ou danos (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2017). A mesma tem início com o reconhecimento da infecção/dano através dos macrófagos, que então passam a produzir mediadores inflamatórios, como citocinas e quimiocinas, com a finalidade de atrair outras células do sistema imune, como os fagócitos (principalmente neutrófilos). No processo de eliminação do agente causador, há a produção de espécies reativas como conteúdo tóxico (MEDZHITOV, 2008).

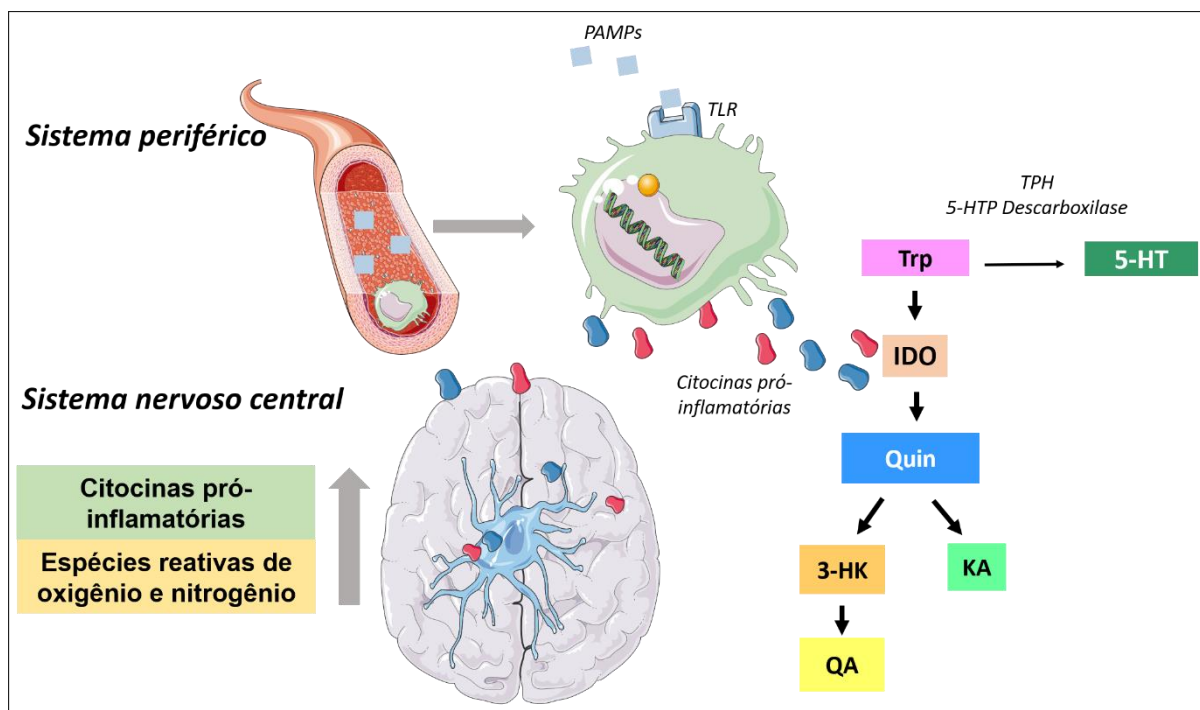
A hipótese que relaciona a ativação do sistema imune periférico e sua posterior transdução de sinais para o SNC começou a ser moldada em 1991, quando Smith (1991) propôs que a produção excessiva de mediadores inflamatórios por macrófagos seria responsável pelos sintomas depressivos. Essa afirmação surgiu através da observação da relação que existe entre doenças onde ocorre a ativação de macrófagos, como artrite reumatoide e doenças coronárias, associadas com a DM (SMITH, 1991). Corroborando com essa hipótese, pacientes com câncer recebendo o tratamento com interleucina 2 (IL-2) e interferon alfa (IFN-  $\alpha$ ) humanos recombinantes demonstraram mudanças neuropsiquiátricas severas, como a DM (DENICOFF et al., 1987; RENAULT et al., 1987).

A fim de elucidar esses mecanismos, diversos estudos comprovaram que tanto a administração de endotoxinas, para estimular a liberação de citocinas, quanto a administração de citocinas exógenas em pacientes saudáveis resultam nos sintomas clássicos da DM (CONNOR; LEONARD, 1998; REICHENBERG et al., 2001; UDINA et al., 2012). Complementando os estudos, o tratamento *in vitro* e *in vivo* com antidepressivos, principalmente os ISRS, resultaram em imunorregulação negativa, reduzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e aumentando a produção de citocinas anti-inflamatórias (CONNOR; LEONARD, 1998; UDINA et al., 2012).

De maneira geral, a sinalização envolvendo a DM induzida por inflamação periférica seguida de inflamação no SNC pode ser observada na Figura 3. Na região periférica, padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, *pathogen-associated molecular patterns*) são reconhecidos através dos receptores do tipo Toll (TLR, *Toll-like receptor*) presentes na membrana de células do sistema imune, principalmente em macrófagos. Após o reconhecimento, uma cascata intracelular é responsável por ativar o fator de transcrição nuclear kappa B (NF $\kappa$ B), aumentando assim a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-  $\alpha$ ) (DANTZER et al., 2008). A transdução do sinal da produção de citocinas periféricas ao SNC pode ser realizada de quatro formas: (i) através dos nervos aferentes, uma vez que as citocinas produzidas no sistema periférico ativam nervos aferentes, como nervo vago (BLUTHÉ et al., 1994; WATKINS et al., 1994), (ii) através dos TLRs presentes em macrófagos residentes nos órgãos circumventriculares e plexo coroide, produzindo citocinas pró-inflamatórias que se difundem através da barreira hematoencefálica (BHE) (QUAN; WHITESIDE; HERKENHAM, 1998), (iii) através de sistemas de transporte de citocinas presentes

na barreira hematoencefálica (BHE) (BANKS, 2009) e, (iv) através de receptores de interleucina 1 (IL-1) localizados em macrófagos perivasculares e células endoteliais da BHE (KONSMAN et al., 2004).

Uma vez no SNC, as citocinas pró-inflamatórias, principalmente o TNF- $\alpha$ , ativam a microglia, que a passa a produzir mais mediadores inflamatórios e espécies reativas de oxigênio (DANTZER et al., 2008). Além disso, as citocinas pró-inflamatórias ativam a enzima indoleamina 2,3 dioxigenase (IDO). Essa enzima é expressa em todos os órgãos, incluindo o cérebro, e é responsável pela metabolização do triptofano. O triptofano, por sua vez, é um aminoácido essencial e precursor da serotonina, logo, baixos níveis de triptofano estão diretamente relacionados com baixos níveis de serotonina (DANTZER et al., 2008; WIRLEITNER et al., 2003). Além disso, a IDO realiza a degradação do triptofano através da via da quinurenina, ou seja, a quinurenina é o produto final da metabolização do triptofano. Esse produto é facilmente translocado através da BHE e uma vez no SNC é metabolizado por macrófagos perivasculares, microglia e astrócitos através de duas vias catabólicas: (i) a que leva a formação de 3-hidroxiquinurenina (3-HK) e ácido quinolínico (QA) ou (ii) a que resulta em ácido quinurênico (KA). Os produtos de ambas as vias geram compostos neuroativos: o 3-HK é responsável por gerar radicais livres (RL) que levam ao estresse oxidativo e à peroxidação lipídica, o QA é um agonista de receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), e o KA é antagonista de NMDA e tem sido especulado como neuroprotetor. Entretanto, é conhecido que a microglia produz preferencialmente QA enquanto que os astrócitos apresentam preferência pela produção de KA. As razões pelas quais ocorrem essas preferências não são conhecidas, porém evidenciam um envolvimento de receptor de glutamato na DM (DANTZER et al., 2008; SCHWARCZ, 2004).



**Figura 3.** Envolvimento da neuroinflamação na depressão maior. Brevemente, os PAMPs presentes na corrente sanguínea são reconhecidos pelos macrófagos através de seus receptores específicos (TLR). A ligação PAMP-TLR ativa uma cascata intracelular que culmina com a translocação do NFκB ao núcleo, dando início a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1β e TNF-α. Essa sinalização química é transduzida ao SNC e reconhecida pelas microglias, que começam a produção de mais citocinas pró-inflamatórias e de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, culminando com a ativação da IDO e, conseqüente redução da biodisponibilidade de triptofano, deslocando o mesmo da rota de produção de 5-HT. A ativação da IDO também leva à produção de compostos neuroativos, influenciando na transmissão glutamatérgica. Com o final da sinalização, o comportamento depressivo pode ser observado nos pacientes. 3-HK: 3-hidroxiquinurerina, 5-HT: serotonina, IDO: indoleamina 2,3-dioxigenase, KA: ácido quinurênico, QA: ácido quinolínico, Quin: quinurenina, TLR: receptor do tipo Toll, TPH: triptofano hidroxilase, Trp: triptofano. Fonte: Elaborada pela autora.

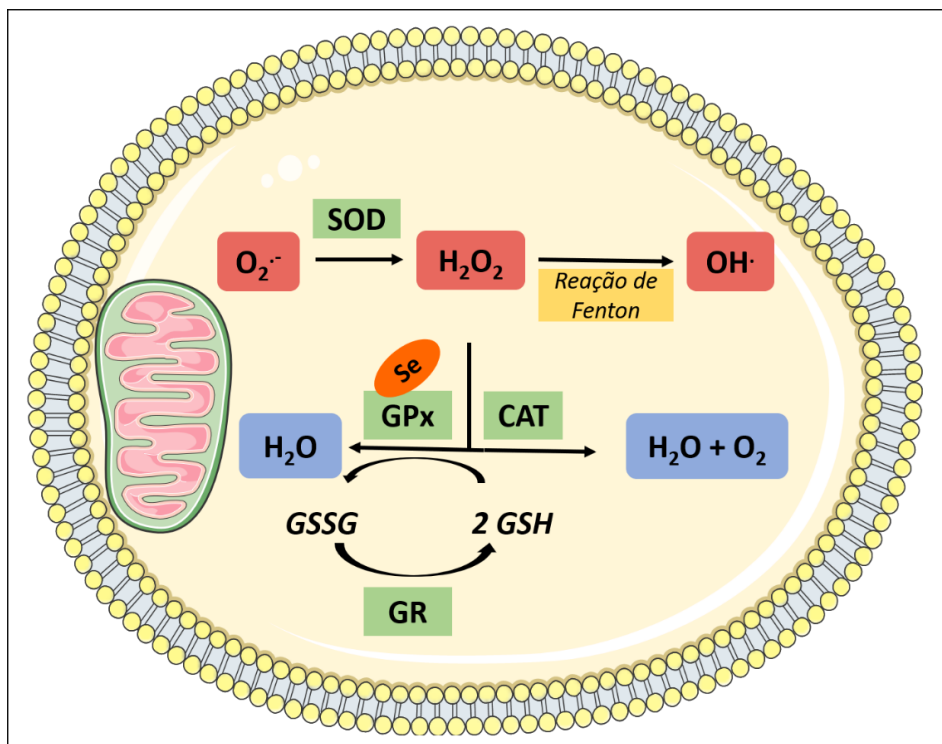
Apesar da neuroinflamação ser uma hipótese bem consolidada na DM, não é possível afirmar se o processo inflamatório é uma causa ou consequência dessa patologia, visto que nem sempre há um contato direto com um patógeno para desencadear a cascata inflamatória (DANTZER et al., 2008, 2011). Similarmente, o estresse oxidativo também é frequentemente encontrado em pacientes depressivos, embora a relação de causalidade ainda não tenha sido estabelecida (MAES et al., 2011b).

### 3.4 Hipótese do Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo é uma condição caracterizada pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas (ER) e a atividade antioxidante dos sistemas biológicos de proteção (PERSSON; POPESCU; CEDAZO-MINGUEZ, 2014). Além disso, essa

condição está associada com diversas patologias cardiovasculares, envelhecimento, câncer e doenças neuropsiquiátricas (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013; MAULIK et al., 2013; TODA, 2011).

Por sua vez, os antioxidantes são moléculas que possuem a capacidade de retardar ou evitar a oxidação das ER quando presentes em baixa concentração em comparação ao substrato oxidável (GODIC et al., 2014; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2016). Dessa forma, os antioxidantes evitam o efeito deletério das ER e mantêm a homeostase celular (NEHA et al., 2019). Os antioxidantes podem ser classificados em naturais ou sintéticos e exógenos e endógenos aos organismos, os quais ainda se dividem em enzimáticos ou não-enzimáticos (AGUILAR; NAVARRO; PÉREZ, 2016). Dentre as defesas antioxidantes enzimáticas é possível citar as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), sendo que a última possui um átomo de Se na forma de selenocisteína no sítio ativo de cada uma das suas quatro subunidades. Isso reforça a importância do Se para as defesas antioxidantes dos organismos. Para as defesas endógenas não-enzimáticas é possível citar o ácido lipóico, bilirrubina, melatonina e glutathione, sendo a última um tripeptídeo formado a partir do glutamato, glicina e cisteína. Já o grupo de antioxidantes naturais exógenos é composto por diversas moléculas, dentre elas os carotenoides, vitaminas A, C e E, flavonoides e diversos compostos fenólicos (NEHA et al., 2019). A relação entre produção das principais ER e sua neutralização pelas defesas antioxidantes pode ser observada na Figura 4.

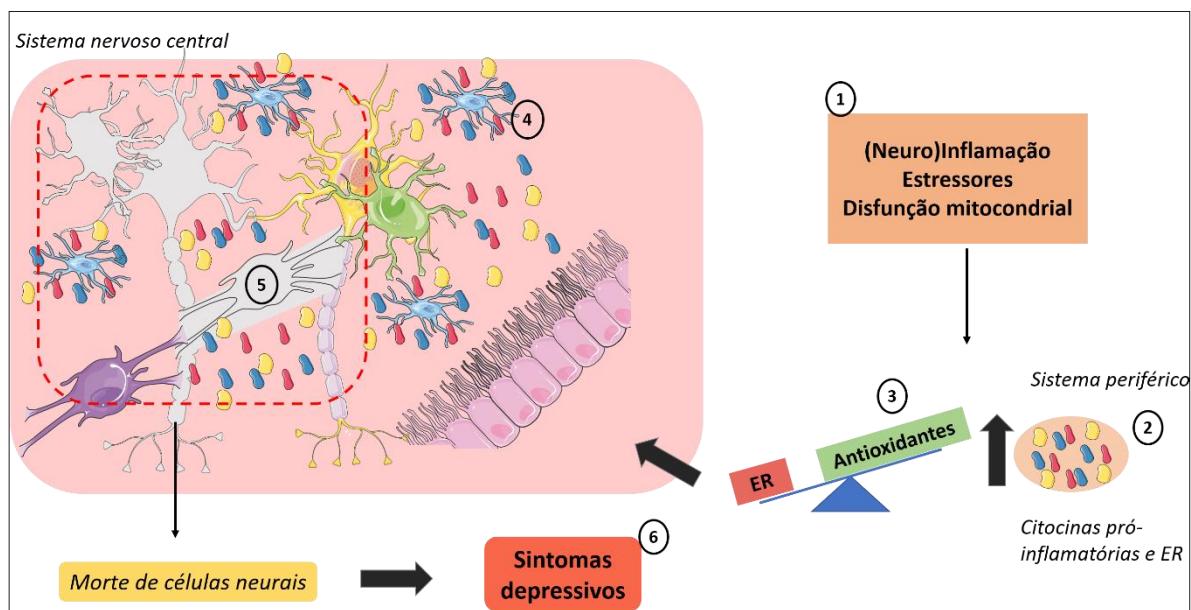


**Figura 4.** Via de produção das principais espécies reativas de oxigênio e principais enzimas antioxidantes presentes no ambiente celular e envolvimento do selênio. No ambiente intracelular, a maior fonte de produção de espécies reativas (ER) é a mitocôndria. Entretanto, nesse mesmo ambiente encontram-se presentes as defesas antioxidantes dos organismos, entre elas, as enzimáticas. Brevemente, o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), um radical livre, é produzido durante a fosforilação oxidativa da mitocôndria e dismutado pela enzima superóxido dismutase (SOD), produzindo peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), uma ER. O  $H_2O_2$  pode participar da reação de Fenton e gerar o radical hidroxil ( $OH^{\cdot}$ ), uma das mais danosas ER, visto que não há defesas antioxidantes para o mesmo. A decomposição do  $H_2O_2$  pode ocorrer por meio da enzima catalase (CAT), formando água e oxigênio, ou por ação da glutatona peroxidase (GPx), através do ciclo de óxido-redução da glutatona. O produto gerado é água. É importante ressaltar que a enzima GPx possui um átomo de selênio (Se) no seu sítio ativo. Fonte: Adaptado de CASARIL (2015).

As ER em geral são altamente reativas e, uma vez livres no ambiente intracelular, podem reagir com todas as macromoléculas que compõem o organismo. Quando reagem com o ácido desoxirribonucleico (DNA), acarretam em danos e mutações, prejudicando o funcionamento da célula (PISOSCHI; POP, 2015). Ao reagir com os lipídeos e carboidratos também são capazes de induzir diversos danos celulares. Em geral, a condição de estresse oxidativo interfere na proliferação celular, acelera a senescência, além de ser capaz de induzir vias apoptóticas, causando a morte celular (PISOSCHI; POP, 2015). O cérebro é particularmente sensível às ações das ER e do estresse oxidativo, uma vez que é altamente lipídico, possui proteção antioxidante reduzida, apresenta alto consumo de oxigênio e alto conteúdo de ferro, além disso, o metabolismo dos neurotransmissores também é responsável por gerar ER (COBLEY; FIORELLO; BAILEY, 2018). A peroxidação lipídica possui potencial

deletério às células já que os ácidos graxos insaturados de membrana são os mais suscetíveis à oxidação. Tendo a membrana danificada, as células perdem a sua homeostase e pode ser fatal (PERSSON; POPESCU; CEDAZO-MINGUEZ, 2014).

Devido a todas as ações deletérias do estresse oxidativo, o mesmo vem sendo correlacionado com o surgimento e progressão de diversas patologias, como o câncer (YOUSRI et al., 2011), doenças cardiovasculares (MEAGHER; RADER, 2001), diabetes (BANDEIRA et al., 2012) e doenças neurodegenerativas e neuropsiquiátricas (FENG; WANG, 2012), como a DM (MAES et al., 2011b; PANDYA; HOWELL; PILLAI, 2013). Reforçando a presença do estresse oxidativo na patologia da DM, diversos estudos têm comprovado a presença de produtos de oxidação em pacientes depressivos, bem como a redução da atividade de enzimas do sistema antioxidante e o aumento da presença de ER (BLACK et al., 2015; MAES et al., 2011a, 2011b). Os marcadores de estresse oxidativo 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) e F2-isoprostanos foram encontrados elevados em pacientes com DM, indicando que essa patologia está associada a danos oxidativos ao DNA e aos lipídeos, respectivamente (BLACK et al., 2015). Além disso, ER, principalmente peróxidos, são encontrados em elevados níveis séricos em pacientes com DM (MAES et al., 2011b). Corroborando com a hipótese de que o estresse oxidativo está presente na DM, seja tanto no surgimento quanto na progressão, os modelos animais utilizados para induzir comportamento tipo-depressivo através da neuroinflamação e do estresse apresentam aumento de ER e peroxidação lipídica (BAMPI et al., 2019; CASARIL et al., 2017b; DOMINGUES et al., 2018; JESULOLA; MICALOS; BAGULEY, 2018; MAES et al., 2011b). Um breve e simples resumo de como ER e o estresse oxidativo estão envolvidos na patologia da DM pode ser observado na Figura 5.



**Figura 5.** Envolvimento do estresse oxidativo na fisiopatologia da depressão. Quando ocorre inflamação e estresse periférico (1), que são transduzidos ao SNC, tanto a nível periférico quanto central ocorre um aumento das ER (2,3). Além disso, as defesas antioxidantes também se encontram reduzidas, corroborando com o estabelecimento do estresse oxidativo. No cérebro, há uma intensa produção de citocinas pró-inflamatórias e ER, principalmente pelas micróglias (4). Isso gera diversos danos a biomoléculas, que culminam com a dificuldade de funcionamento e morte de células neurais (5). Todos esses efeitos fisiológicos acabam por contribuir com os sintomas depressivos (6). Fonte: Elaborada pela autora.

Embora o estresse oxidativo seja uma condição característica da DM e ansiedade, a sua relação causal com essas patologias ainda não foi estabelecida. Nesse sentido, outras hipóteses surgiram na tentativa de elucidar os mecanismos por trás da DM.

### 3.5 Estresse e Depressão

A hipótese que associa a exposição ao estresse com os sintomas depressivos vistos em pacientes também surge na tentativa de esclarecer a fisiopatologia da DM (BOKU et al., 2018). O estresse representa uma condição na qual há uma ameaça à homeostase do organismo. Essa ameaça é representada por um estressor e a resposta do organismo é denominada “resposta ao estresse”. A resposta ao estresse é fundamental na sobrevivência e evoluiu como um processo adaptativo, entretanto, longas e severas respostas ao estresse levam a danos teciduais e ao estabelecimento de doenças (SCHNEIDERMAN; IRONSON; SIEGEL, 2005; SELYE, 1978). Diversos estudos relacionam que o contato com estressores, como eventos negativos e estressantes, durante a infância, adolescência e vida adulta resultam em distúrbios



psicológicos, como o transtorno do estresse pós-traumático (TEPT), sintomas depressivos e ansiosos (FARAVELLI; PALLANTI, 1989; SCHNEIDERMAN; IRONSON; SIEGEL, 2005; SHAW, 2003). Os estressores envolvidos nessas patologias podem ser tanto fatores internos, como danos oxidativos e disfunções endógenas, quanto fatores externos, como estresse físico, emocional, social e infecções (PAVLIDIS; THEODORIDI; TSALAFOUTA, 2015).

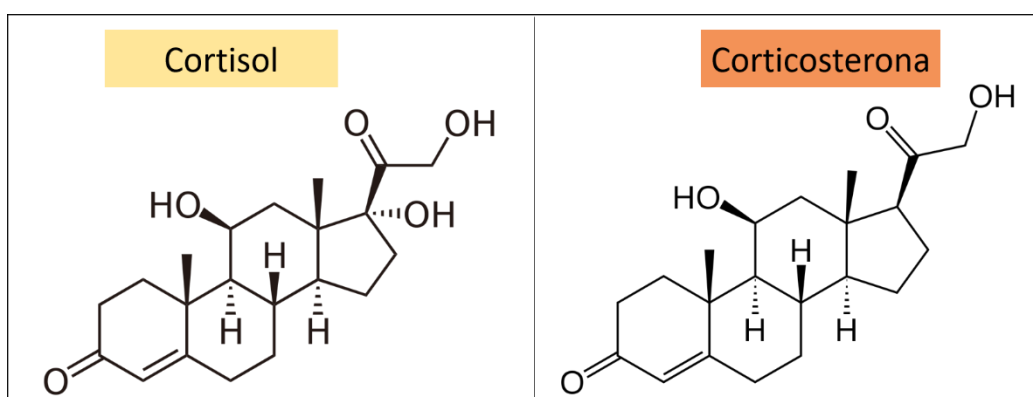
O estresse vem sendo relacionado com a DM tanto por fatores sintomatológicos, como exposto acima, mas também por avaliações bioquímicas. Diversas evidências clínicas associam a exposição ao estresse com alterações nas concentrações séricas de cortisol, bem como com a hiperativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (AXELSON et al., 1993; CARROLL; CURTIS; MENDELS, 1976; FRODL; O'KEANE, 2013; MARIC; ADZIC, 2013; PARIANTE; LIGHTMAN, 2008). A hipercortisolemia é uma das alterações mais frequentes encontradas em pacientes com DM e é uma das causas da redução do volume hipocampal nesses pacientes (AXELSON et al., 1993; DUMAN, 2004; SAPOLSKY et al., 1987; SAPOLSKY; KREY; MCEWEN, 1986). A variação do volume hipocampal afeta diretamente a neurogênese, ou seja, a formação de novos neurônios, corroborando para a sintomatologia observada na DM, como o déficit cognitivo e comprometimento da memória (DUMAN, 2004; VERMETTEN et al., 2003).

Existem diversos modelos animais que mimetizam os sintomas depressivos visto em pacientes com DM e que são bem estabelecidos e confiáveis. Alguns dos mais utilizados em roedores são o estresse por odor do predador (TANAPAT et al., 2001), derrota social (IÑIGUEZ et al., 2014), restrição crônica ou aguda (PHAM et al., 2003), estresse crônico imprevisível e moderado (ALONSO et al., 2004) e administração crônica ou subcrônica de corticosterona exógena (BITTAR et al., 2019; FREITAS et al., 2014; PAZINI et al., 2016; WRÓBEL et al., 2016).

### **3.5.1 Hipótese do eixo Hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA)**

O eixo HPA compõe o principal sistema de controle da resposta ao estresse, que tem início com a secreção do fator liberador de corticotrofina (CRF, *corticotrophin-release factor*) do hipotálamo que, por sua vez, irá ativar a secreção do hormônio adrenocorticotrofina (ACTH, *adrenocorticotrophic hormone*) da glândula pituitária (adenohipófise). Finalmente, o ACTH irá estimular a secreção de glicocorticoides (GC)

na corrente sanguínea, como o cortisol em humanos e a corticosterona em roedores (Figura 6), através da glândula adrenal (BAUMEISTER; LIGHTMAN; PARIANTE, 2014). A hiperatividade do eixo HPA tem sido encontrada em pacientes com DM através dos níveis elevados de cortisol na saliva, plasma e urina, além do aumento em tamanho e atividade das glândulas pituitária e adrenal (NEMEROFF; VALE, 2005). A hiperatividade desse eixo tem sido relacionada com o mal funcionamento dos receptores de glicocorticoides (GR, *glucocorticoid-receptor*), que reduzem a resposta de retroalimentação (*feedback*) negativo que é responsável por inibir a atividade do eixo (PARIANTE; LIGHTMAN, 2008).



**Figura 6.** Estrutura química do cortisol e da corticosterona. Cortisol é o principal hormônio glicocorticoide dos seres humanos enquanto que a corticosterona é seu similar em roedores. Fonte: Elaborada pela autora.

As sinalizações vinculadas ao eixo HPA são mediadas e reguladas pelos receptores de GC, como o GR e o receptor de mineralocorticoides (MR, *mineralocorticoid-receptor*), que são altamente expressos na adenohipófise e no núcleo paraventricular do hipotálamo (DASKALAKIS et al., 2015). Entretanto, o mecanismo de *feedback* negativo do eixo HPA é regulado pelos receptores de GC presentes no hipocampo e córtex pré-frontal. Nesse mecanismo, os GCs circulantes, como cortisol, se ligam a seus receptores (GR ou MR), que então são translocados ao núcleo celular e regulam a sua auto expressão, bem como a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, *brain-derived neurotrophic factor*), CRF e citocinas do sistema imune (GOUJON et al., 1996; MORSINK et al., 2006; PARIANTE, 2006; SCHULKIN; GOLD; MCEWEN, 1998; SCHULTE-HERBRÜGGEN et al., 2006).

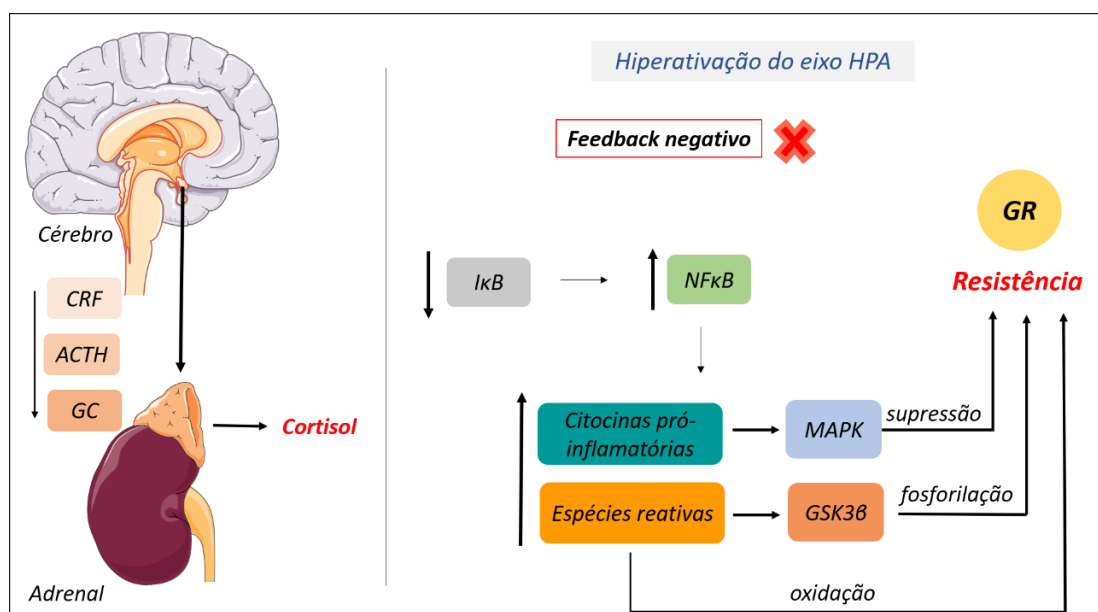
Os MR e GR estão implicados na adaptação ao estresse, enquanto os MR estão envolvidos na avaliação de novas informações, os GR são ativados apenas com o aumento da concentração de GC para a adaptação ao estresse e redistribuição das

fontes de energia, uma vez que possui baixa afinidade por GC endógenos (ATKINSON et al., 2008; BAUMEISTER; LIGHTMAN; PARIANTE, 2014; DE KLOET, 2003). Além disso, os receptores de GC podem ser fosforilados pela enzima glicogênio sintase cinase 3 beta (GSK3- $\beta$ , *glycogen synthase kinase 3 beta*), o que inibe a função de fator de transcrição desses receptores (GALLIHER-BECKLEY et al., 2008). O envolvimento dessa enzima na patofisiologia da depressão tem sido relatado, uma vez que a atividade da mesma se encontra aumentado nos pacientes depressivos (JOPE et al., 2017)

Durante à exposição contínua ao estresse, os níveis de GC se encontram aumentados e o *feedback* negativo é desregulado, mantendo a hiperativação do eixo HPA. Esse efeito é responsável pelos altos níveis de cortisol encontrados em pacientes depressivos (BEATO; HERRLICH; SCHÜTZ, 1995). Isso porque, uma vez ligado a seu GC, os receptores de GC reduzem a sua expressão, reduzindo a disponibilidade de receptores para os GCs circulantes, mantendo níveis elevados de GC tanto no sistema periférico quanto no SNC (JURUENA, 2014). Consoante a isso, a hipercortisolemia possui efeito neurotóxico em diversas estruturas cerebrais, como amígdala e córtex pré-frontal (RAGNARSSON et al., 2017; SANTOS et al., 2017). Especificamente no hipocampo através do receptores de GC, além de reduzir o volume dessa região, conseqüentemente, também é responsável pela redução da neurogênese e sinaptogênese (BOGDAN; HYDE; HARIRI, 2013).

O cortisol é o principal GC endógeno circulante envolvido com as respostas ao estresse (Figura 7). O mesmo é capaz de impedir a fosforilação e degradação e aumentar a expressão do inibidor  $\kappa$ B (I $\kappa$ B), fator inibitório do NF $\kappa$ B, o que inibe a translocação desse fator ao núcleo e, conseqüentemente, a produção de citocinas pró-inflamatórias (DONG et al., 2018). Entretanto, na condição de hiperativação do eixo HPA, há a redução da expressão de I $\kappa$ B, permitindo a translocação do NF $\kappa$ B ao núcleo, o que culmina com o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e óxido nítrico sintase induzível (iNOS), acarretando em processos inflamatórios e oxidativos (MIFSUD; REUL, 2016; SOLOMONOW; TASKER, 2015). Uma vez aumentada a produção de espécies reativas, as mesmas oxidam os receptores de GC, tornando-os resistentes aos seus ligantes. Além disso, o aumento de citocinas pró-inflamatórias também reduz a sensibilidade desses receptores através da via das proteínas cinases ativadas por mitógenos (MAPKs, *mitogen activated protein kinases*) (DE SOUZA et al., 2014). A GSK3- $\beta$ , que se encontra aumentada em

resposta à neuroinflamação e estresse oxidativo, também corrobora com a resistência dos receptores de GC, uma vez que é responsável pela fosforilação dos mesmos em aminoácidos específicos, tornando-os menos sensíveis aos seus ligantes (CASARIL et al., 2019b; GALLIHER-BECKLEY et al., 2008). A resistência dos receptores de GC frente a seus ligantes é crucial para a hiperativação do eixo HPA visto que é responsável por bloquear o *feedback* negativo, reduzindo a síntese desses receptores (MORA et al., 2005b).



**Figura 7.** Representação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e algumas vias de envolvimento do mesmo na fisiopatologia da depressão maior. A produção de cortisol em humanos é mediada pelo eixo HPA, no qual o hipotálamo é estimulado a produzir CRF, que estimula, na adenohipófise (pituitária), a produção de ACTH e, irá estimular a produção de GC, principalmente, o cortisol pelo córtex da adrenal (suprarrenal). A hiperativação do eixo HPA tem como consequência o aumento de cortisol circulante e redução da concentração de IκB e consequente aumento da translocação do NFκB ao núcleo, estimulando a produção de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas que culminarão com a resistência dos receptores GR e inibição do *feedback* negativo do eixo HPA. CRF: fator liberador da corticotrofina; ACTH: hormônio adenocorticotrófico; GC: glicocorticoides; IκB: inibidor κB; NFκB: fator de transcrição nuclear κB; MAPK: proteína cinase ativada por mitógeno; GSK3β: glicogênio sintase cinase 3 β; GR: receptor de glicocorticoides.

Translacionalmente, estudos demonstram que em modelos animais de depressão em roedores há uma superprodução de corticosterona (SANTANA et al., 2015; WANG et al., 2015). Nesse sentido, a administração sub-crônica de corticosterona em roedores é um bom modelo de indução de depressão por alterações no eixo HPA, uma vez que é uma condição similar ao estresse crônico. Além disso, esse modelo apresenta a vantagem de ser homogêneo para todos os animais do experimento (BITTAR et al., 2019; OLESCOWICZ et al., 2018; PAZINI et al., 2016;

WENG et al., 2016; WRÓBEL et al., 2016). A exposição repetida a corticosterona exógena induz mudanças no comportamento afetivo levando a sintomas de comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso através da modulação do eixo HPA, além de causar danos oxidativos a tecidos através da indução da inflamação (DUMAN, 2004; HUANG et al., 2011; YOU et al., 2009).

### 3.6 Tratamentos para Depressão

Embora a DM seja comprovadamente uma disfunção heterogênea, complexa e multifatorial, as principais abordagens terapêuticas envolvem a modulação de neurotransmissores do sistema monoaminérgico. Entretanto, as próprias características da DM dificultam o estabelecimento de novos tratamentos, com abordagens diferentes.

De maneira geral, os principais tratamentos utilizados atualmente na clínica agem por abordagens diferentes no aumento da concentração de monoaminas na fenda sináptica. A utilização desses antidepressivos por pacientes depressivos possui certa eficácia, entretanto, ainda assim 40% desses não apresentam melhoras na sintomatologia devido à complexidade e heterogeneidade da DM (INSTITUTE FOR QUALITY AND EFFICIENCY IN HEALTH CARE, 2017). Entretanto, mesmo pacientes com melhoras nos sintomas apresentam alta taxa de descontinuação do tratamento, que pode estar relacionada com a demora para o início dos efeitos farmacológicos, que varia entre 4 a 6 semanas, e a presença de efeitos adversos como boca seca, sudorese, tontura, náusea e sonolência/insônia (CIPRIANI et al., 2018; FERGUSON, 2001; GARTLEHNER et al., 2017).

As principais classes de antidepressivos utilizados no tratamento da DM são: (i) inibidores seletivos da recaptação de 5-HT (ISRS), (ii) antidepressivos atípicos; (iii) inibidores seletivos da recaptação da NA (ISRN); (iv) inibidores da recaptação da 5-HT e NA; (v) antidepressivos tricíclicos e (vi) inibidores da monoaminas oxidase (IMAOs) (FAVA; KENDLER, 2000). O mecanismo de ação de cada um se encontra resumido na Tabela 1 juntamente com exemplos de princípios ativos utilizados.

**Tabela 1.** Principais classes de fármacos utilizadas no tratamento da DM e que agem pelo sistema monoaminérgico.

<b>Classe de antidepressivo</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Exemplos</b>
Inibidores seletivos da recaptção de 5-HT (ISRS)	Inibe a recaptção pré-sináptica da 5-HT através do bloqueio do transportador de serotonina (SERT), resultando em maior concentração desse neurotransmissor na área somatodendrítica dos neurônios serotoninérgicos <sup>1</sup>	Fluoxetina Paroxetina Sertralina Indalpina
Antidepressivos atípicos	Aumentam a concentração de monoaminas na fenda sináptica através de mecanismos variados e pouco elucidados, atuando na modulação dos sistemas noradrenérgico, dopaminérgico e serotoninérgico <sup>1</sup>	Bupropiona Mirtazapina Trazodona
Inibidores seletivos da recaptção da NA (ISRN)	Inibem a recaptção pré-sináptica de NA através do bloqueio dos transportadores de NA (NAT)	Reboxetina Amedalina
Inibidores da recaptção da 5-HT e NA (ISRSN)	Inibem a recaptção de 5-HT em baixas doses através do bloqueio do SERT e, em altas doses, inibem a recaptção de 5-HT e NA através do bloqueio do SERT e do NAT <sup>1</sup>	Venlafaxina
Antidepressivos tricíclicos	Inibem a recaptção de 5-HT e NA e, em menor quantidade, DA por mecanismos pouco elucidados <sup>2</sup>	Amitriptilina Clomipramina Imipramina Nortriptilina
Inibidores da monoaminas oxidase (IMAOs)	Inibem não seletivamente as enzimas monoamina oxidase A e B (MAO-A e MAO-B), evitando a degradação das monoaminas NA, 5-HT e DA <sup>3</sup>	Isocarboxazida Fenelzina Selegilina Tranilcipromina

<sup>1</sup> FAVA e KENDLER (2000); <sup>2</sup> FEIGHNER (1999); <sup>3</sup> BAKER et al. (1992).

Nos últimos anos, a taxa de aprovação de novas formulações farmacêuticas para tratar a DM é baixa, entretanto, em março de 2019 o *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA aprovou a utilização da escetamina intranasal para DM. A escetamina é um S-enantiômero de cetamina, com maior afinidade pelos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA (POPOVA et al., 2019). Estudos em desordens de humor relacionam anormalidades da neurotransmissão glutamatérgica com a regulação do humor, além disso, a modulação de NMDA têm sido comprovada como uma abordagem terapêutica para a DM (DUMAN et al., 2016; NEWPORT et al., 2015; PRICE; DREVETS, 2002). A cetamina é um anestésico antagonista de receptor NMDA que está envolvido no aumento da liberação de BDNF e no estímulo da sinaptogênese, além disso está relacionado como um potencial tratamento para a DM (KRYSTAL et al., 2002). A escetamina aplicada através de *spray* intranasal apresenta estabelecimento rápido do seu efeito antidepressivo e essa eficácia persiste em paciente com resistência ao tratamento e em paciente em risco iminente para suicídio (CANUSO et al., 2018; DALY et al., 2018; SINGH et al., 2016).

Apesar das principais classes de antidepressivos utilizadas atualmente modularem o sistema de neurotransmissão monoaminérgico, outros efeitos farmacológicos secundários podem ser observados como a modulação das vias oxidativas, inflamatórias e hipercortisolemia. Diversos estudos vêm demonstrando que os antidepressivos reduzem a produção de TNF- $\alpha$ , interleucina 12 (IL-12) e interferon gama (IFN $\gamma$ ), além de reduzirem os níveis de cortisol circulantes em pacientes com DM e submetidos a tratamento medicamentoso (MAES et al., 2012; MANTHEY et al., 2011; PARIANTE et al., 2004). Apesar disso, essas principais classes apresentam muitos efeitos adversos, como alterações do sono, cefaleia e taquicardia, além de ter início lento, o que é responsável pelas altas taxas de desistência do tratamento (CIPRIANI et al., 2018).

### 3.7 Selênio

O selênio (Se) é um micronutriente que possui funções biológicas importantes para a saúde humana. É um semimetal que é incorporado em proteínas na forma de selenocisteína (SeCys), considerado o 21º aminoácido, através de um mecanismo cotranslacional. Em humanos, 25 selenoproteínas já foram identificadas, embora, poucas possuem sua função caracterizada. Entretanto, a maioria das famílias de Se-

proteínas participam das defesas antioxidantes e manutenção do estado redox, como as GPxs e tioredoxinas redutases (TrxRs). Outras funções também já foram descritas, tais quais espermatogênese (mediada pela GPx4), metabolismo dos hormônios tireoideanos (mediada pelas iodotironina deiodinases, DIOs) e biossíntese de Se-proteínas (catalisada pela selenofosfato sintetases 2, SPS2) (ROMAN; JITARU; BARBANTE, 2014). Embora sejam pouco conhecidas as funções biológicas e bioquímicas das Se-proteínas, a deficiência de Se está associada com diversas doenças humanas, como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, regulação do sistema imune, doença de Alzheimer, doença de Parkinson e DM (KÖHRLE; GÄRTNER, 2009; RAYMAN, 2012; SOLOVYEV, 2015).

A principal rota de ingestão de Se é através da dieta e os principais alimentos ricos em Se são castanhas (principalmente castanha do Pará), peixes (como salmão e atum), pães e cereais, carnes vermelhas e ovos. Ainda, é recomendado que humanos façam uma ingestão diária de Se variando entre 50 e 60 µg (RAYMAN, 2008; ROMAN; JITARU; BARBANTE, 2014).

O Se é vital para o funcionamento do SNC e do cérebro, entretanto, o cérebro é pobre desse micronutriente quando comparado a outros tecidos (SOLOVYEV, 2015). Neurônios hipocámpais e corticais possuem expressão da maioria das Se-proteínas (ZHANG et al., 2008). As principais famílias de proteínas contendo Se com grande interesse neurobiológico são a selenoproteína P (SeIP), envolvidas na conformação e degradação de proteínas com má conformação, e GPx, principalmente GPx1 e 4, relacionadas à manutenção do equilíbrio redox (SAVASKAN et al., 2007; SOLOVYEV, 2015; YANG et al., 2000).

O cérebro consome 20% do oxigênio (O<sub>2</sub>) basal total para gerar energia capaz de sustentar a sua atividade de sináptica e de sobrevivência. Entretanto, como subproduto da geração de ATP, RL são produzidos e liberados no microambiente cerebral. Esses subprodutos possuem a função de serem moléculas sinalizadoras no microambiente cerebral, entretanto, quando em quantidade excessiva, como no estresse oxidativo, gera danos prejudiciais que pode acarretar com a neurodegeneração (COBLEY; FIORELLO; BAILEY, 2018). Visto isso e sabendo que esse órgão é extremamente rico em lipídeos insaturados, passíveis de oxidação por RL, e pobre em defesas antioxidantes, considera-se de alta a importância a manutenção das enzimas do sistema antioxidante, principalmente da família GPx, afirmando a importância do Se em humanos (COBLEY; FIORELLO; BAILEY, 2018).



### 3.7.1 Compostos Orgânicos de Selênio

Considerando todos os estudos comprovando o envolvimento do estresse oxidativo em neuropatologias como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson e a DM e, a importância que a ingestão de Se possui em humanos, principalmente na manutenção do equilíbrio redox, diversos novos estudos têm utilizado a abordagem de compostos orgânicos de Se como moléculas para contribuir com o tratamento dessas patologias .

Dentre os compostos orgânicos de Se melhor caracterizados, é possível citar o Ebselen (2-fenil-1,2-benziosselenazol-3(2H)-1). Esse composto possui suas atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticâncer, citoprotetora e estabilizadora de humor confirmadas *in vitro* e *in vivo*. Acredita-se que essas atividades estão relacionadas, principalmente, com sua atividade antioxidante (IMAI et al., 2001; NAKAMURA et al., 2002). Devido as promissoras propriedades desse composto, o mesmo se encontra em pesquisas de fase clínica II para o tratamento do transtorno bipolar, como um adicional ao tratamento de estabilização de humor, visto que apresenta uma atividade similar ao lítio (CLINICALTRIALSGOV, ID: NCT03013400).

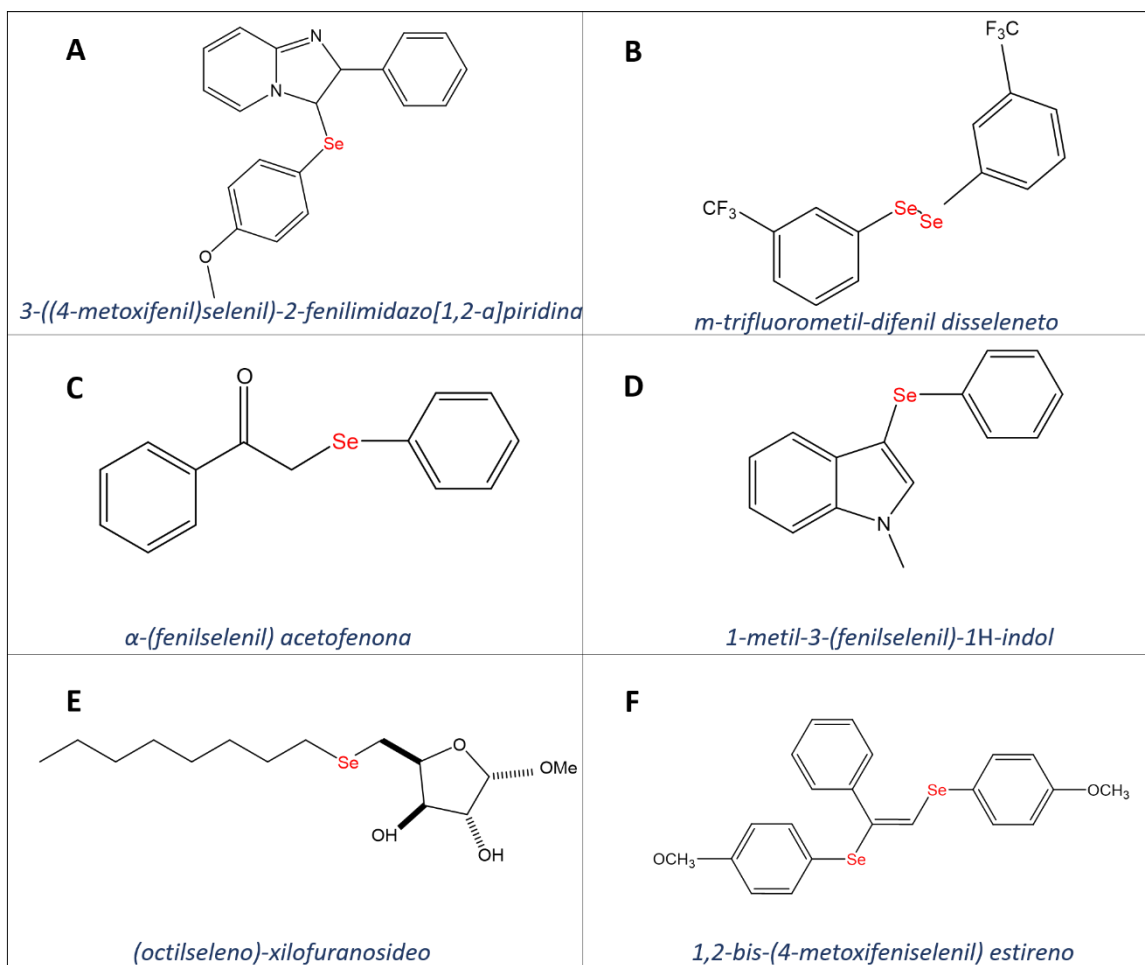
Considerando a importância pela busca de novas moléculas com efeitos promissores para o tratamento de desordens psiquiátricas, o Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) têm reportado consideráveis efeitos de alguns compostos orgânicos contendo selênio.

O 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina (MPI) (Figura 8A) é um composto orgânico de Se que possui atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* em modelos animais de comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso induzidos por neuroinflamação (administração de lipopolissacarídeo (LPS) e estresse agudo de restrição. Além disso, possui atividade tipo-antidepressiva, tipo-ansiolítica, moduladora do sistema neuroinflamatório e moduladora de BDNF nesses mesmos modelos (DOMINGUES et al., 2018, 2019). BRÜNING et al. (2015) demonstrou que o *m*-trifluorometil-difenil disseleneto (Figura 8B) apresentou atividade tipo-antidepressiva e anti-alodínica em modelo animal de comorbidade entre dor crônica e depressão, além de reduzir os níveis circulantes de corticosterona, indicando modulação do eixo HPA.

Ademais, (SOUSA et al., 2018, 2019) demonstrou os efeitos tipo-antidepressivo, tipo-ansiolítico e anti-hiperalgésico do  $\alpha$ -(fenilselenil) acetofenona

(PSAP) (Figura 8C) em modelos animais de díade dor-depressão e neuroinflamação. Corroborando com os resultados dessas pesquisas, BAMPI et al. (2019) mostrou que a administração por sete dias de 1-metil-3-(fenilselenil)-1*H*-indol (MFSeI) (Figura 8D) em modelo animal de comorbidade entre diabetes tipo II e DM é capaz de reverter o comportamento tipo-depressivo, tipo-ansioso e déficit cognitivo, além de reduzir os níveis de ER e de atividade da enzima CAT, que se encontrava aumentada, se mostrando uma molécula promissora.

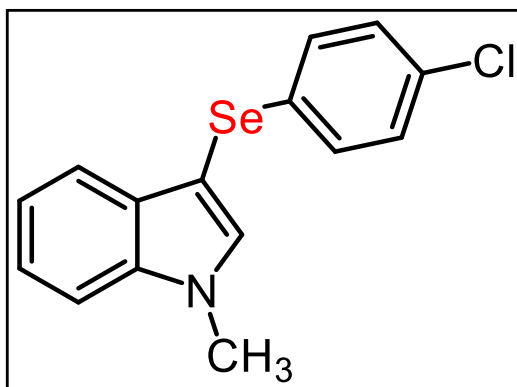
Outrossim, BROD et al. (2016) mostrou que o envolvimento do sistema de neurotransmissão monoaminérgico no efeito tipo-antidepressivo do (octilseleno)-xilofuranosídeo (OSX) (Figura 8E) no teste de suspensão da cauda. Além disso, o efeito tipo-antidepressivo do OSX é dependente da modulação das vias de sinalização da proteína cinase A (PKA), da proteína cinase C (PKC), da proteína cinase II dependente de cálcio-calmodulina (CAMKII) e das proteínas cinases reguladas por sinal extracelular 1 e 2 (ERK 1/2) (BROD et al., 2017). O composto 1,2-bis-(4-metoxifeniselenil) estireno (BMOSE) (Figura 8F) apresenta efeito anti-inflamatório e antinociceptivo também pelo envolvimento do sistema monoaminérgico (ANVERSA et al., 2018).



**Figura 8.** Estrutura de alguns compostos orgânicos de selênio estudados no Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN). (A) 3-((4-metoxifenil)selenil)-2-fenilimidazo[1,2-a]piridina (MPI); (B) *m*-trifluorometil-difenil disseleneto; (C)  $\alpha$ -(fenilselenil) acetofenona (PSAP); (D) 1-metil-3-(fenilselenil)-1H-indol (MFSel); (E) (octilseleno)-xilofuranosideo; (F) 1,2-bis-(4-metoxifeniselenil) estireno (BMOSE). Fonte: Elaborada pela autora.

### 3.7.2 3-[(4-cloforenil)selenil]-1-metil-1H-indol

Além dos compostos mencionados acima, vale destacar a atividade biológica do composto 3-[(4-cloforenil)selenil]-1-metil-1H-indol (CMI). O CMI (Figura 9) foi sintetizado por (VIEIRA et al., 2015), sua atividade antioxidante *in vitro* foi determinada por Vieira et al. (2017), e essa atividade *in vivo* foi determinada por (CASARIL et al., 2017b). Nesse último estudo, a atividade antioxidante foi avaliada através da capacidade do CMI em proteger os camundongos contra o estresse oxidativo induzido pela administração de LPS. O CMI reduziu tanto a produção de ER, quanto os níveis de MDA em córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo (HP) de camundongos. O CMI também é capaz de evitar essas alterações em modelo de estresse agudo de restrição e também reduz a produção de óxido nítrico nesse modelo (CASARIL et al., 2019b).



**Figura 9.** Estrutura química do 3-[(4-cloforenil)selenil]-1-metil-1*H*-indol (CMI).

Além disso, tem-se demonstrado que o CMI também é capaz de modular o sistema neuroimune através da redução da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  e do aumento da expressão da citocina anti-inflamatória interleucina 4 (IL-4) em CPF e HP em modelo animal de comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso (CASARIL et al., 2019b). O CMI também age como um modulador da expressão de BDNF e GR em CPF e HP, aumentando essa expressão que se encontra reduzida nos modelos estudados e, também é capaz de reduzir a expressão de IDO, iNOS e GSK-3 $\beta$  que se encontram aumentadas nesses modelos (CASARIL et al., 2017b, 2019a, 2019b).

Vale destacar também que o CMI é capaz de proteger e reverter o comportamento tipo-depressivo no teste do nado forçado (TNF), teste de suspensão da cauda (TSC) e teste *Splash* nos modelos de indução acima expostos e também em modelo animal de comorbidade entre dor neuropática e DM. O CMI também possui efeito tipo-ansiolítico no teste da cruz elevada (TCE) e efeito antinocicepção nesses modelos animais (BIRMANN et al., 2018, 2019; CASARIL et al., 2017b, 2019b).

As atividades *in vitro* e *in vivo* apresentadas pelo CMI podem estar relacionadas com a sua estrutura química. Essa molécula orgânica de selênio contém em sua estrutura um núcleo indólico e um átomo de Se. O núcleo indólico é uma unidade estrutural vastamente distribuída naturalmente e de ocorrência em muitas moléculas bioativas tanto naturais e quanto sintéticas. Essa unidade está presente em diversos fármacos, suplementos de dieta, intensificadores de sabor, produtos nutracêuticos, agrotóxicos e corantes (KAUSHIK et al., 2013; VIEIRA et al., 2015). O núcleo indólico está presente na estrutura do aminoácido triptofano, precursor da 5-HT, principal monoamina relaciona à DM. Além disso, alguns antidepressivos utilizados na clínica contém o núcleo indólico em sua estrutura, como a amedalina e a indalпина, o que

está relacionado à sua atividade antidepressiva (KAUSHIK et al., 2013). Além desse núcleo, o CMI também possui em sua estrutura um átomo de Se, que apresenta diversas propriedades bioquímicas e funções biológicas já determinadas e previamente expostas.

De acordo com a temática abordada, com a capacidade bioativa dos compostos orgânicos contendo Se e com as promissoras atividades apresentadas pelo CMI, é de grande interesse que pesquisas relacionadas a essa molécula tenham continuidade afim de elucidar seu mecanismo de ação e interações moleculares.

#### 4. Manuscrito

**Manuscrito parcialmente preparado nas normas da revista *Molecular Neurobiology*.**

#### **BDNF-mTOR PATHWAY IS INVOLVED IN THE ANTIDEPRESSANT- AND ANXIOLYTIC-LIKE EFFECT OF A SELENIUM-CONTAINING COMPOUND**

Darling de Andrade Lourenço<sup>1,4</sup>, Angela Maria Casaril<sup>1,4</sup>, Micaela Domingues<sup>1</sup>, Thiago Ângelo Smaniotto<sup>1</sup>, Paloma Taborda Birmann<sup>1</sup>, , Beatriz Vieira<sup>2</sup>, Mariana Souza Sonogo<sup>3</sup>, Fabiana Kömmling Seixas<sup>3</sup>, Tiago Collares<sup>3</sup>, Eder João Lenardão<sup>2</sup>, Lucielli Savegnago<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Technological Development Center, Division of Biotechnology, Neurobiotechnology Research Group, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

<sup>2</sup>Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Laboratory of Clean Organic Synthesis, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

<sup>3</sup>Technological Development Center, Division of Biotechnology, Molecular and Cellular Oncology Research Group and Functional Genomics Laboratory, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

<sup>4</sup>Co-first authors

#### **Acknowledgments**

This study was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). CNPq is also acknowledged for the fellowship to AMC, PTB and TAS.

\*Correspondence:

Dra. Lucielli Savegnago

Neurobiotechnology Research Group, Biotechnology Unit

Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, 96010-900, BR

Tel: +55 53 3275-7350

E-mail: [luciellisavegnago@yahoo.com.br](mailto:luciellisavegnago@yahoo.com.br)

## Abstract

Major depressive disorder is the most prevalent psychiatric disorder and often is accompanied by anxiety disorders. Both disorders are heterogenic and multifactorial and have been widely investigated intrinsic to the chronic stress. However, the current treatment still relies mostly on the monoaminergic neurotransmission, which prompts the research for new multitarget drugs. We have previously demonstrated the antioxidant, anti-inflammatory, antinociceptive, and antidepressant-like effects of the organoselenium compound 3-[(4-chlorophenyl)selenanyl]-1-methyl-1*H*-indole (CMI). Considering these properties of CMI, the aim of the present study was to deepen into the acknowledgment about the molecular mechanism of action of CMI in reverse the depressive- and anxiogenic-like behavior induced by repeated corticosterone administration during 14 days in male Swiss mice. A single administration of CMI (1 mg/kg, i.g.) reversed the behavioral alterations induced by corticosterone in the open field test, splash test, and elevated plus maze. The pre-treatment with rapamycin (inhibitor of the mammalian target of rapamycin, mTOR) prevented the antidepressant- and anxiolytic-like effect elicited by CMI in corticosterone-treated mice. Moreover, the administration of CMI restored the expression levels of glucocorticoid receptor, brain-derived neurotrophic factor, synaptophysin, glycogen synthase kinase 3 beta, nuclear factor erythroid 2-related factor 2, and indoleamine 2,3-dioxygenase in the hippocampus of stressed mice. Additionally, CMI presented antioxidant activity once it decreased the levels of reactive species and lipid peroxidation in the plasma of corticosterone-treated mice. These findings suggest the CMI ability to reverse behavioral and biochemical alterations in the depression-anxiety comorbidity induced by corticosterone, possibly by the modulation of mTOR signaling pathway.

**Keywords:** Organoselenium, antidepressant, anxiolytic, chronic stress, oxidative stress, mTOR.

**Abbreviations**

<i>AKT</i>	protein kinase B
<i>AMPA</i>	$\alpha$ -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
<i>ANOVA</i>	analysis of variance
<i>AU</i>	arbitrary units
<i>BDNF</i>	brain-derived neurotrophic factor
<i>CNS</i>	central nervous system
<i>Cort</i>	corticosterone
<i>DCF</i>	dichlorofluorescein
<i>DCHF-DA</i>	dichloro-dihydro-fluorescein diacetate
<i>DMSO</i>	dimethyl sulfoxide
<i>EPM</i>	elevated plus maze
<i>GAPDH</i>	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
<i>GR</i>	glucocorticoid receptor
<i>GSK3-<math>\beta</math></i>	glycogen synthase kinase 3 beta
<i>HC</i>	hippocampus
<i>HO-1</i>	heme-oxygenase 1
<i>HPA</i>	hypothalamic-pituitary-adrenal axis
<i>ICV</i>	intracerebroventricular
<i>IDO</i>	indoleamine 2,3-dioxygenase
<i>IG</i>	intragastrically
<i>iNOS</i>	inducible nitric oxide synthase
<i>LPS</i>	lipopolysaccharide
<i>MDA</i>	malondialdehyde
<i>MDD</i>	major depressive disorder
<i>mRNA</i>	messenger ribonucleic acid
<i>mTOR</i>	mammalian target of rapamycin
<i>NF<math>\kappa</math>B</i>	factor nuclear kappa B
<i>NMDA</i>	N-methyl-D-aspartate
<i>Nrf<sub>2</sub></i>	nuclear factor erythroid 2-related factor 2
<i>OFT</i>	open field test
<i>PFC</i>	pre-frontal cortex
<i>PI3K</i>	phosphoinositide 3-kinase
<i>qRT-PCR</i>	quantitative real-time polymerase chain reaction



<i>RNA</i>	ribonucleic acid
<i>RS</i>	reactive species
<i>TBARS</i>	thiobarbituric acid reactive species
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	tumor necrosis factor alpha
<i>TrkB</i>	tropomyosin receptor kinase B

## 1. Introduction

Major depressive disorder (MDD) is the most common neuropsychiatric disorder, affecting 322 million people worldwide. It is the leading cause of disability and the major contributor to deaths by suicide. Furthermore, MDD is often accompanied by other disorders, such as anxiety, since 59% of MDD patients suffers from anxiety episodes [1, 2]. MDD and anxiety are complex and multifactorial disorders that can be induced by chronic stress, leading to oxidative and nitrosative stress, peripheral inflammation, and reduction of neurotrophic factors [3–6].

Despite the social and economic relevance of MDD, the symptomatology of 40% of the patients does not improve with the current treatments [7], highlighting and instigating the search for new multitarget molecules. The 3-((4-chlorophenyl)selenanyl)-1-methyl-1*H*-indole (CMI) [8], a synthetic organoselenium compound, (i) has *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity [9, 10], (ii) presents antidepressant-like and anxiolytic effects in animal models induced by LPS and ARS [11, 12], and (iii) modulates depressive-like behavior and nociception induced by animal model of chronic pain [13, 14].

The mTOR complex is ubiquitously expressed and modulates neuronal activity, growth factors, energy, nutrient levels, and synaptic plasticity [15]. Changes in mTOR signaling are involved in several pathologies and psychiatric disorders, such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and MDD [16–18]. The PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$ /mTOR signaling pathway has been implicated in the integration of synaptic neurotransmission and in the fast-acting antidepressant effects of novel drugs, such as ketamine and atorvastatin [19–21]. The mTOR-mediated antidepressant-like effect is mainly related to the activation of TrkB by BDNF and to the modulation of the glutamatergic system by the activation of AMPA receptors and the inhibition of NMDA receptor [22]. Furthermore, the activation of mTOR increases the transcription and the translation of some proteins critically involved in the formation of new synapses, such as synaptophysin [23].

GSK-3 $\beta$  is involved in the pathogenesis of various psychiatric diseases, such as Alzheimer's disease, bipolar disorder, and MDD [24]. This enzyme, which is found upregulated in response to neuroinflammation, oxidative stress, and hypercortisolemia, phosphorylates the GR leading to the glucocorticoid resistance [9, 25, 26]. Resistant GR inhibits the negative feedback of the HPA axis, contributing to its hyperactivation [27]. However, once the PI3K/Akt pathway is activated, the Akt

phosphorylates and inhibits the GSK-3 $\beta$  activity, and as a consequence, anxiety and depression-like behaviors are reduced in mice [28, 29].

Additionally, GSK-3 $\beta$  activated prevents the translocation of Nrf2 to the nucleus and, as a consequence, the expression of HO-1 [30]. Dysfunction in Nrf2 expression produces redox imbalance and neuropsychiatric and neurodegenerative disorders [31–33]. In addition to the inflammation that arises from stress, activation of GSK-3 $\beta$  increases the activation of NF $\kappa$ B and, thereafter, the production of pro-inflammatory cytokines [24]. Pro-inflammatory cytokines, primarily TNF- $\alpha$ , activate IDO and iNOS, contributing to the reduction of the serotonergic transmission and impaired redox homeostasis [34, 35]. Interestingly, all pathways activated by stress are similar to those found in depressive patients, culminating with the excessive production of reactive species and decreased antioxidant defenses.

In light of the above, (i) considering the urgent need to find better molecules to treat depression and anxiety, (ii) the relevance of the PI3K/Akt/ GSK-3 $\beta$ /mTOR pathway to the antidepressant-like effect of fast-acting drugs, and (iii) the biological properties of CMI previously reported, the aim of the present study was to evaluate the antidepressant-like and anxiolytic like effect of CMI using chronic stress-induced depression-like behavior in mice. Furthermore, we wanted to dive into the possible mechanism of action of CMI based on the molecular pathways that are activated by the new and fast-acting antidepressant drugs.

## **2. Materials and methods**

### **2.1. Animals**

Male Swiss mice (newly weaned), maintained at 22-25°C with water and food ad libitum, under a 12:12h light/dark cycle provided by Animal Facility of the Federal University of Pelotas (UFPel) (Pelotas, Brazil) were used. The studies were performed in accordance with protocols approved by the Committee on the Care and Use of Experimental Animal Resources at UFPel (2208-2018).

### **2.2. Drugs**

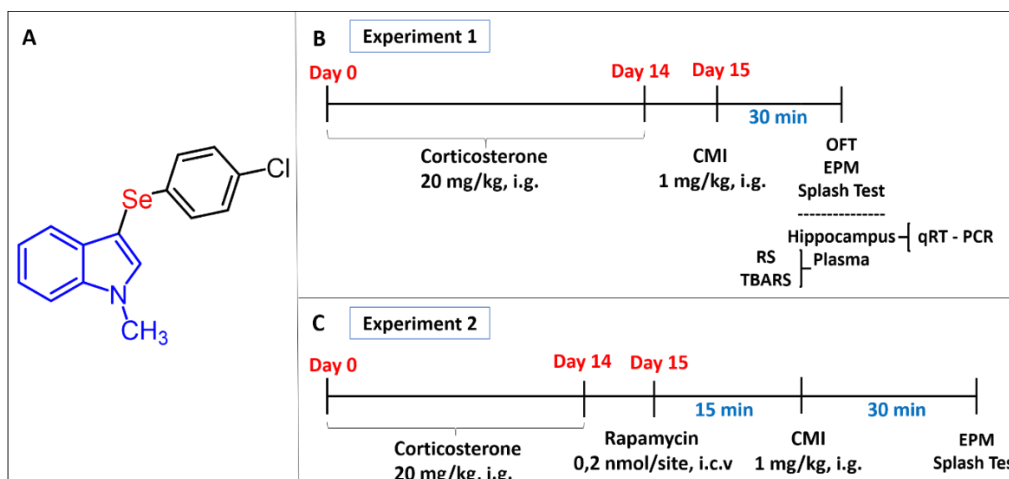
The CMI (Figure 1A) was synthesized at the Laboratory of Clean Organic Synthesis at Federal University of Pelotas [8], dissolved in canola oil (non-polar substance) and administered intragastrically by oral gavage (i.g.) at a dose of 1 mg/kg body weight (constant volume of 10 ml/kg). Corticosterone was purchased from Sigma

Aldrich (St Louis, Missouri, USA), dissolved in distilled water with 2% Tween 80 and 0.2% dimethyl sulfoxide (DMSO) and administered i.g. at 20 mg/kg/day, accordingly to [36]. Rapamycin, an inhibitor of mammalian target of rapamycin (mTOR) was dissolved in 100% DMSO and administered by intracerebroventricular route (i.c.v) at 0.2 nmol/site at a volume of 3 $\mu$ L per mouse [36]. I.c.v. injections were performed using the “free hand” method under isoflurane anesthesia according to the procedures described by Kaster et al. [37]. The RNA extraction reagents were purchased from Ambion (Life Technology, USA) and oligonucleotides were synthesized by Exxtend Biotecnologia Ltda (Campinas, Brazil). Other chemicals were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers.

### **2.3. Experimental design**

#### *2.3.1. Experiment 1 – Antidepressant- and anxiolytic-like actions of CMI*

Animals were randomly assigned to four experimental groups (n=8-9 mice/group). Two groups received corticosterone (20 mg/kg) orally once a day, whereas the other two groups were administrated only with vehicle. The administration lasted 14 days, and in the 15th day, CMI (1 mg/kg) or its vehicle were administrated (Figure 1B). The behavioral tests were performed 30 minutes after CMI or vehicle administration, aligned with previous data supporting the effect of organoselenium compounds and CMI after this time [9, 38, 39]. The depressive-like behavior of mice was assessed in the splash test and the locomotor activity was evaluated in the open field test (OFT). The anxiogenic-like behavior was assessed with the elevated plus maze (EPM) and OFT. All observations were done by observers blinded to the treatment. After the behavioral evaluation, mice were anesthetized (inhalation of isoflurane) for blood collection by cardiac puncture. Following that, mice euthanized by overdose of isoflurane inhalation and confirmed by cervical dislocation. Finally, the brain was removed and the hippocampus (HC) was isolated for analysis.



**Figure 1.** Schematic diagram of experimental design. CMI chemical structure (A), experimental design for experiment 1 (B) and for experiment 2 (C). CMI: 3-[(4-chlorophenyl)selanyl]-1-methyl-1H-indole; i.g.: intragastrically; OFT: open field test; EPM: elevated plus maze; RS: reactive species assay; TBARS: thiobarbituric acid reactive species assay; CORT: corticosterone assay; qRT-PCR: quantitative real-time polymerase chain reaction.

### 2.3.2. Experiment 2 – Involvement of the mTOR signaling in the antidepressant- and anxiolytic-like effects of CMI

Animals were randomly assigned to eight experimental groups (n=6 mice/group). Four groups received corticosterone (20 mg/kg) orally once a day, whereas the other four groups were administered only with vehicle. The administration lasted 14 days, in the 15th day, mice were anesthetized with isoflurane and received i.c.v injection of rapamycin (0.2 nmol/site) or its vehicle. After 15 min, CMI (1 mg/kg) or its vehicle were administered and after 30 minutes the behavioral tests were performed (Figure 1C). The behavioral tests and the euthanasia followed the protocol used in Experiment 1.

## 2.4. Behavioral tests

### 2.4.1. Open field test (OFT)

The OFT was performed in order to assess the locomotor activity of mice [40]. Animals were placed individually in the center of a box (30 x 30 x 15 cm) divided into nine quadrants with equal areas. During 5 min, their locomotor and exploratory activities, and anxiogenic-like behavior were assessed by the number of quadrants crossed with the four paws, the number of rearings and the number of groomings and entries in the central square, respectively.

#### 2.4.2. *Elevated plus maze (EPM)*

The EPM was carried out [41] to assess the anxiolytic-like behavior of mice [41]. The apparatus is plus-shaped with two open and two enclosed arms (arm length: 100 cm; arm width: 10 cm) elevated 40 cm above the floor. For the test, each animal was placed in the center of the apparatus and the number of head dips, number of entries and time spent in the open arms were scored manually during 5 min.

#### 2.4.3. *Splash test*

The splash test was carried out accordingly to Freitas et. al. [42], with minor modifications, to assess the depressive-like behavior, once the grooming behavior is a measurement of motivational and self-care activities that are decreased in depressive behavior. Briefly, a 10% sucrose solution was squirted on the dorsal coat of each mice placed on a polypropylene box, the grooming time (nose/face grooming, head washing and body grooming) were recorded manually during 5 min.

### 2.5. **Biochemical evaluation**

#### 2.5.1. *Tissue processing*

The HC was separated in two hemispheres in order to perform all biochemical determinations. The right hemispheres were immersed in TRIzol and maintained at -80°C for the quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The blood was collected in heparinized tubes, centrifuged 10 min at 12.000 g and 4°C and the plasma fraction was used for determination of reactive oxygen species (RS) and thiobarbituric acid reactive species (TBARS) levels.

#### 2.5.2. *Determination of the reactive species (RS) formation*

The levels of RS in the plasma of mice was quantified according to the assay previously described [43]. Concisely, aliquots of the plasma were incubated with 1 mM dichloro-dihydro-fluorescein diacetate (DCHF-DA) and 10 mM Tris-HCl pH 7.4. In the presence of RS, DCFH-DA is oxidized to fluorescent dichlorofluorescein (DCF), this fluorescence intensity emission is measured at 520 nm (with 480 nm excitation) and RS levels were expressed as arbitrary units (AU) of fluorescence.

#### 2.5.3. *Thiobarbituric acid reactive species (TBARS) assay*

Malondialdehyde (MDA), a product of oxidation, is used as biomarker of lipid peroxidation. The lipid peroxidation is measured by the formation of TBARS during the

reaction. Summarily, aliquot of plasma were incubated with 8.1% SDS, 0.8% TBA and acetic acid/HCl (pH 3.4) during 2 h at 95°C [44]. Absorbance was measured by spectrophotometry at 532 nm and the results were expressed as nmol TBARS/mL

#### 2.5.4. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR)

Total mRNA was extracted in the HC right hemispheres using TRIzol (Invitrogen™, Carlsbad, USA) followed by DNase treatment with DNA-free® kit (Ambion™, USA) and mRNA quantification. The cDNA was synthesized using High Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Applied Biosystems™, UK) according to the manufacturer's protocol. The amplification was made with UltraSYBR Mix (COWIN Bioscience Co., Beijing, China) using the Stratagene Mx3005P and the oligonucleotides were obtained from Exxtend Biotecnologia Ltda, Campinas, Brazil. Gene expressions were normalized using GAPDH as a reference gene and the conditions for the reaction involved 95°C for 15 s, 60 °C for 60 s and 72 °C for 30 s. The 2 $\Delta\Delta$ CT (Delta-Delta Comparative Threshold) method was used to normalize the fold change in gene expressions. The primers used for this analysis are organized in Table 1.

**Table 1.** Primers sequences.

Gene	Primers
Glucocorticoid receptor (GR) <sup>1</sup>	Fwd 5'-ACA GCA ACG GGA CCA CCT C-3' Rev 5'-ATG GCA TCC CGA AGC TTC -3'
Glycogen synthase kinase 3 beta (GSK-3 $\beta$ ) <sup>1</sup>	Fwd 5'-CGG GAC CCA AAT GTC AAA CT-3' Rev 5'-TCC GAG CAT GTG GAG GGA TA-3'
Brain derived neurotrophic factor (BDNF) <sup>1</sup>	Fwd 5'-CCA TAA GGA CGC GGA CTT GTA C-3' Rev 5'-AGA CAT GTT TGC GGC ATC CAG G-3'
Nuclear factor erythroid 2 (NFE2)-related factor 2 (Nrf <sub>2</sub> ) <sup>1</sup>	Fwd 5'-GTC TTC ACT GCC CCT CAT C-3' Rev 5'-TCG GGA ATG GAA AAT AGC TCC-3
Synaptophysin <sup>1</sup>	Fwd 5'-TGT GTT TGC CTT CCT CTA CTC-3' Rev 5'-TCA GTG GCC ATC TTC ACA TC-3'
Indoleamine-2,3- dioxygenase (IDO) <sup>1</sup>	Fwd 5'-AAT CAA AGC AAT CCC CAC TG-3' Rev 5'-AAA AAC GTG TCT GGG TCC AC-3'
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) <sup>1</sup>	Fwd 5'-AGG TCG GTG TGA ACG GAT TTG-3' Rev 5'-TGT AGA CCA TGT AGT TGA GGT CA-3'

<sup>1</sup> Casaril et al. (2019b)

## 2.6. *Statistical analysis*

All data are presented as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). Comparisons in Experiment 1 between corticosterone and treatment groups were analyzed by two-way analysis of variance (ANOVA). The Tukey post-hoc test was performed for between-group comparisons when ANOVA revealed significant differences. Comparisons in Experiment 2 between corticosterone, rapamycin and treatment groups were analyzed by three-way ANOVA. The Newman-Keuls post-hoc test was performed for between-group comparisons when ANOVA revealed significant differences. Values equal or less than 0.05 ( $p \leq 0.05$ ) were considered statistically significant. The statistical analyzes were performed using Graph Pad Prism version 7.0 for Windows, Graph Pad Software (San Diego, CA, USA).

## 3. Results

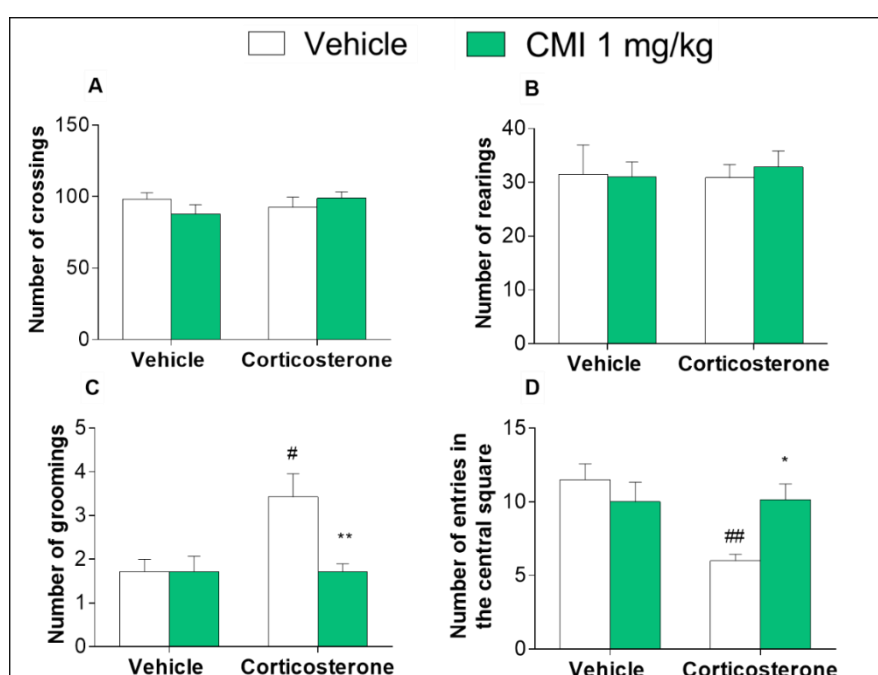
### 3.1. *A single administration of CMI reversed corticosterone induced depression- and anxiogenic-like behavior without evoking locomotor alteration*

In the present study, neither corticosterone administration nor CMI treatment changed the number of crossings and rearings in the OFT (Fig. 2A and 2B). The two-way ANOVA revealed no significant corticosterone  $\times$  CMI interaction ( $F_{(1,24)} = 2.11$ ,  $p = 0.16$ ) for the number of crossings and for the number of rearings ( $F_{(1,23)} = 0.12$ ,  $p = 0.71$ ). The anxiolytic-like effect of CMI treatment is depicted in Fig. 2C and 2D. A two-way ANOVA revealed statistically significant corticosterone  $\times$  CMI interaction for the number of groomings in the OFT ( $F_{(1,24)} = 5.61$ ,  $p = 0.03$ ), with corticosterone administration increasing the number of groomings in the OFT and CMI treatment reversing this effect (Fig. 2C). The post hoc analysis showed that CMI decreased the number of groomings in corticosterone-treated mice ( $p < 0.01$ ). A single administration of CMI reversed the reduced number of entries in the central square induced by corticosterone administration (Fig. 2D), as observed in the statistically significant corticosterone  $\times$  CMI interaction ( $F_{(1,20)} = 7.50$ ,  $p = 0.01$ ) and in the post hoc analysis ( $p < 0.05$ ).

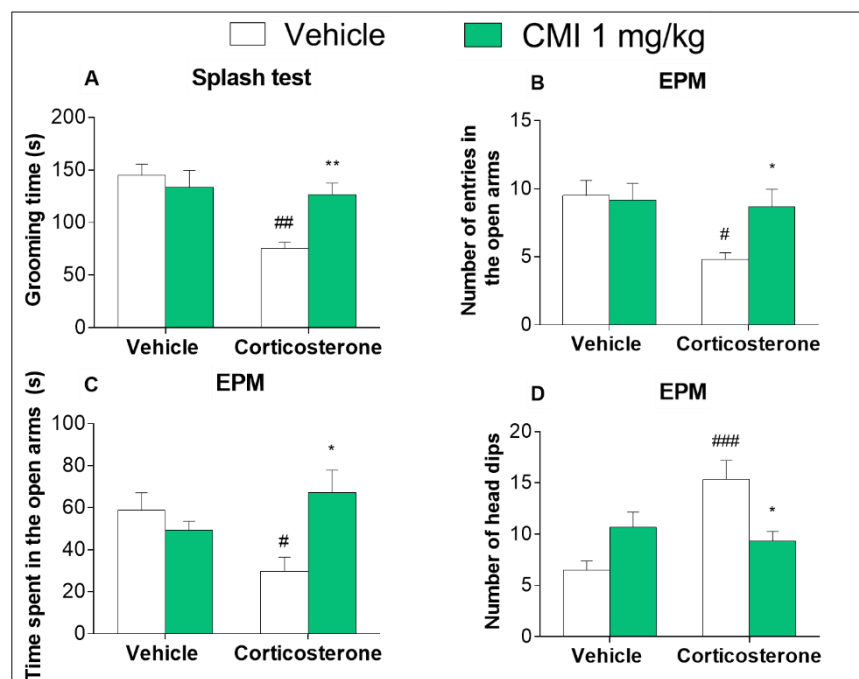
The effect of CMI in the depressive-like behavior induced by corticosterone administration in the splash test is depicted in Fig. 3A. The two-way ANOVA showed a statistically significant corticosterone  $\times$  CMI interaction for the grooming time ( $F_{(1,20)} = 7.38$ ,  $p = 0.01$ ). A post hoc analysis showed that CMI reversed the decreased



grooming time in corticosterone-treated mice ( $p < 0.01$ ). The effect of CMI in the anxiogenic-like behavior induced by corticosterone administration is depicted in Fig. 3B, 3C and 3D, in which a two-way ANOVA revealed a statistically significant corticosterone  $\times$  CMI interaction for the number of entries in the open arms ( $F_{(1,20)} = 4.25, p < 0.01$ ), for the time spent in the open arms ( $F_{(1,20)} = 8.79, p = 0.008$ ) and for the number of head dips ( $F_{(1,20)} = 14.13, p = 0.001$ ). The post hoc analysis showed that CMI increased the number of entries in the open arms ( $p \leq 0.05$ ) and the time spent in the open arms ( $p < 0.01$ ) and decreased the number of head dips ( $p \leq 0.05$ ).



**Figure 2.** Effect of CMI (1 mg/kg, i.g.) on behavioral tasks in the OFT of corticosterone administered mice. (A) number of crossings, (B) number of rearings, (C) number of groomings, and (D) number of entries in the central square. Data were analysed by a two-way ANOVA followed by Newman-Keuls post hoc test and are expressed as mean  $\pm$  SEM (standard error of the mean) of 6 – 7 independent animals. (#)  $p < 0.05$  and (##)  $p < 0.01$  when compared to control group. (\*)  $p < 0.05$  and (\*\*)  $p < 0.01$  when compared to corticosterone group. CMI: 3-[(4-chlorophenyl)selanyl]-1-methyl-1*H*-indole.



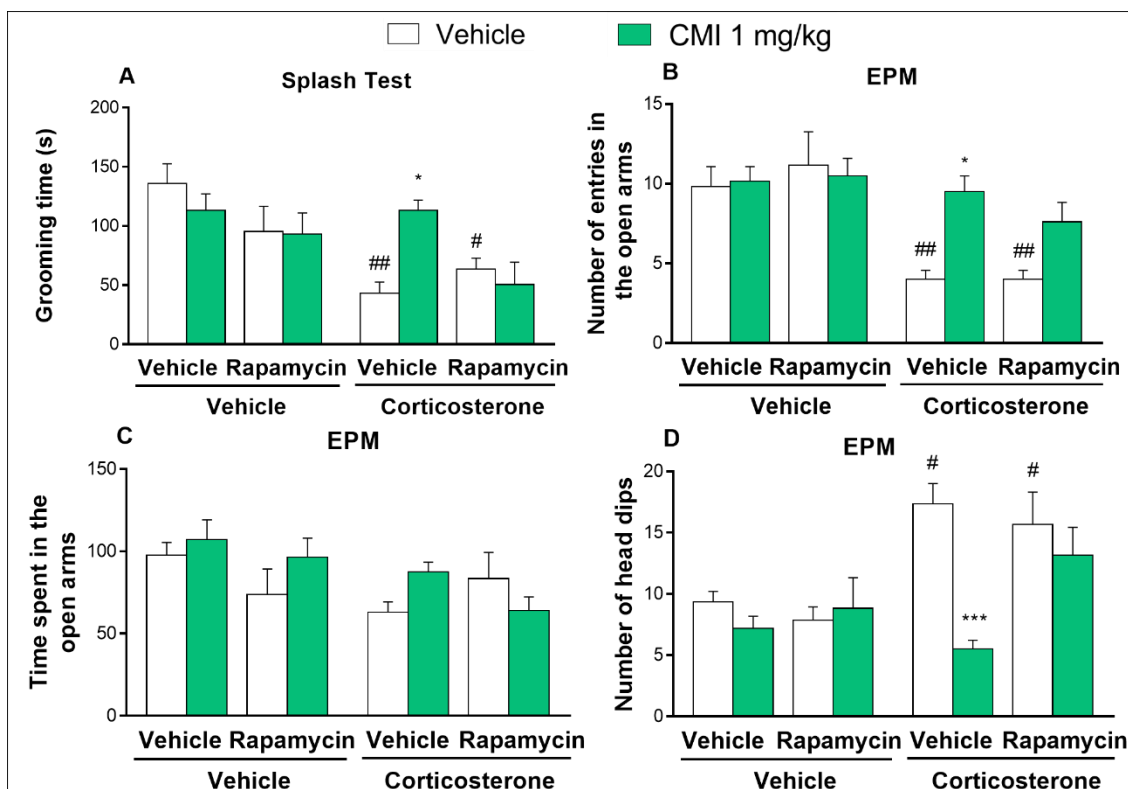
**Figure 3.** Effect of CMI (1 mg/kg, i.g.) on behavioral tasks of splash test and elevated plus maze apparatus. (A) grooming time in the splash test, (B) number of entries in the open arms, (C) time spent in the open arms, and (D) number of head dips in the elevated plus maze apparatus. Data were analyzed by a two-way ANOVA followed by Newman-Keuls post hoc test and are expressed as mean  $\pm$  SEM (standard error of the mean) of 6 – 7 independent animals (#)  $p \leq 0.05$ , (##)  $p < 0.01$  and (###)  $p < 0.001$  when compared to control group. (\*)  $p < 0.05$  and (\*\*)  $p < 0.01$  when compared to corticosterone group. CMI: 3-[(4-chlorophenyl)selanyl]-1-methyl-1*H*-indole.

### 3.2. The antidepressant- and anxiolytic-like effects of CMI in corticosterone treated mice may be dependent on mTOR signaling

The antidepressant- and anxiolytic-like effect of CMI may be dependent on mTOR signaling (Fig. 4) once a single administration of CMI in corticosterone-induced animals in the presence of rapamycin, a mTOR inhibitor, did not show the effects previously observed. The results regarding the splash test are depicted in Fig. 4A. A three-way ANOVA showed a statistically significant corticosterone  $\times$  CMI  $\times$  rapamycin interaction for the grooming time ( $F_{(1,40)} = 5.78$ ,  $p = 0.02$ ). The post hoc analysis showed that corticosterone-treatment induced depressive-like behavior in mice in the absence ( $p < 0.01$ ) and in the presence ( $p \leq 0.05$ ) of rapamycin. However, CMI did not exert the antidepressant-like effect in the presence of rapamycin while, this effect was observed in the absence ( $p \leq 0.05$ ) of rapamycin.

The results regarding the anxiogenic-like behavior in the elevated plus maze induced by corticosterone administration is depicted in Fig. 4B, 4C and 4D. The three-way ANOVA revealed no significance for corticosterone  $\times$  CMI  $\times$  rapamycin interaction for the number of entries in the open arms (Fig. 4B), though a significant main effect was found for corticosterone ( $F_{(1,40)} = 24.7, p = 0.0001$ ), CMI administration ( $F_{(1,40)} = 6.93, p = 0.0120$ ), and corticosterone  $\times$  CMI interaction ( $F_{(1,40)} = 8.20, p = 0.0072$ ). The post hoc analysis showed that corticosterone administration induced anxiogenic-behavior in mice in the absence ( $p < 0.01$ ) and in the presence ( $p < 0.01$ ) of rapamycin, but CMI treatment only presented effect in the absence of rapamycin ( $p \leq 0.05$ ).

Similarly, no significant interaction was found for the time spent in the open arms (Fig. 4C), however a main effect for corticosterone ( $F_{(1,40)} = 6.40, p = 0.0072$ ) was revealed by the three-way ANOVA. The post hoc analysis did not showed any significant statistically difference. For the number of head dips (Fig. 4D) in the elevated plus maze no significant interaction was found, however, main effects were found to the corticosterone treatment ( $F_{(1,40)} = 13.90, p = 0.0006$ ), the CMI administration ( $F_{(1,40)} = 9.76, p = 0.0033$ ), the rapamycin  $\times$  CMI interaction ( $F_{(1,40)} = 6.34, p = 0.0159$ ), and the corticosterone  $\times$  CMI interaction ( $F_{(1,40)} = 7.04, p = 0.0114$ ). The post hoc analysis revealed that corticosterone-treatment induced anxiogenic-behavior in mice in the absence ( $p \leq 0.05$ ) and in the presence ( $p \leq 0.05$ ) of rapamycin, besides, the single administration of CMI in the absence of rapamycin exerted anxiolytic-like effect ( $p < 0.001$ ), though, in the presence of rapamycin, the CMI did not exerted any effect.

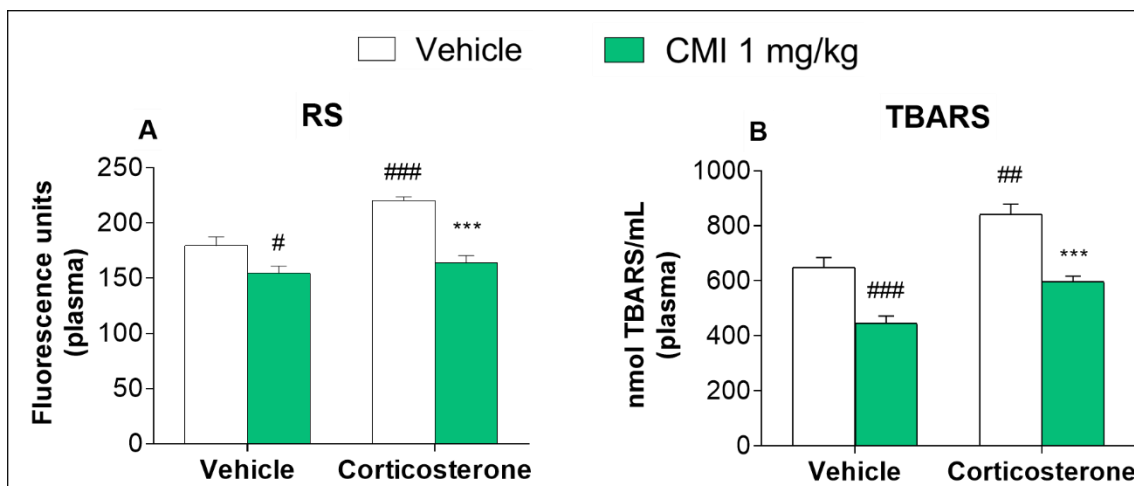


**Figure 4.** Effect of CMI (1 mg/kg, i.g.) and rapamycin (0,2 nmol/site, i.c.v.) on behavioral tasks of splash test and elevated plus maze test. (A) grooming time in the splash test, (B) number of entries in the open arms, (C) time spent in the open arms, and (D) number of head dips in the elevated plus maze apparatus. Data were analysed by a three-way ANOVA followed by Newman-Keuls post hoc test and are expressed as mean  $\pm$  SEM (standard error of the mean) of 6 independent animals (#)  $p \leq 0.05$  and (###)  $p < 0.001$  when compared to control group (vehicle of corticosterone – vehicle of rapamycin - vehicle of CMI). (\*)  $p \leq 0.05$  and (\*\*\*)  $p < 0.001$  when compared to corticosterone – rapamycin group. CMI: 3-[(4-chlorophenyl)selanyl]-1-methyl-1*H*-indole.

### 3.3. CMI reversed oxidative stress markers in the plasma of stressed mice

The two-way ANOVA revealed that the CMI treatment reversed the oxidative stress markers induced by corticosterone administration in plasma of mice. Reactive species were found increased in corticosterone treated mice while a single administration of CMI reversed the RS levels in plasma with a statistically significant corticosterone  $\times$  CMI interaction ( $F_{(1,20)} = 6.03$ ,  $p = 0.02$ ) as depicted in Fig. 5A. The two-way ANOVA did not reveal a statistically significant corticosterone  $\times$  CMI interaction for the levels of TBARS, though, the analysis found a main effect for the single CMI administration ( $F_{(1,21)} = 30.57$ ,  $p < 0.001$ ) and for the corticosterone-treatment ( $F_{(1,21)} = 52.39$ ,  $p < 0.001$ ). A post hoc analysis showed that CMI *per se*

exerted antioxidant effect *in vivo* ( $p < 0.001$ ) and that corticosterone-treatment increased TBARS levels ( $p < 0.01$ ), additionally, CMI reversed the corticosterone alterations, decreasing the TBARS levels ( $p < 0.001$ ).



**Figure 5.** Effect of CMI (1 mg/kg, i.g.) on biochemical evaluations of determination of reactive species level (A) and thiobarbituric acid reactive species (TBARS) assay. Data were analysed by a two-way ANOVA followed by Newman-Keuls post hoc test and are expressed as mean  $\pm$  SEM (standard error of the mean) of 5 – 6 independent animals (#)  $p \leq 0.05$ , (##)  $p < 0.01$  and (###)  $p < 0.001$  when compared to control group. (\*\*\*)  $p < 0.001$  when compared to corticosterone group. CMI: 3-[(4-chlorophenyl)selanyl]-1-methyl-1*H*-indole.

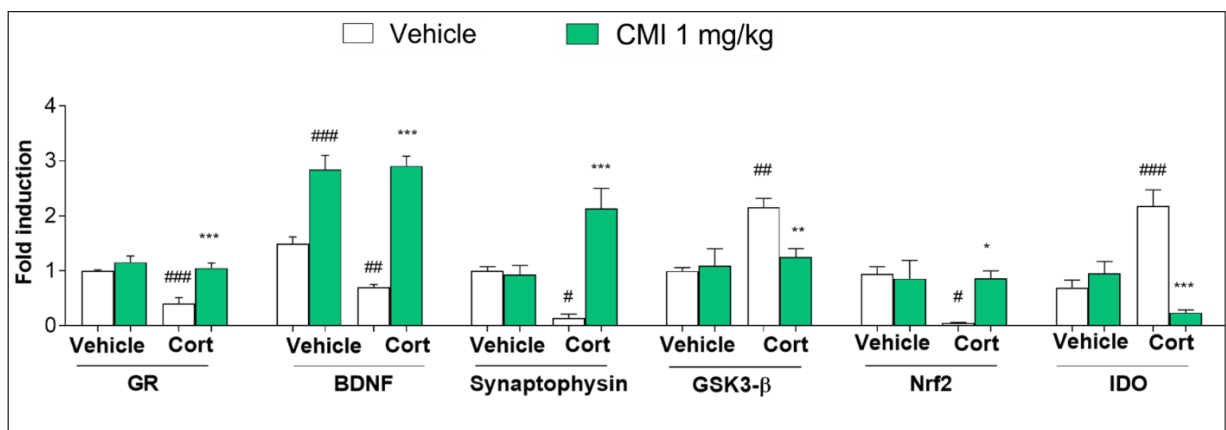
### 3.4. The modulation of GR, BDNF, synaptophysin, GSK3- $\beta$ , Nrf2, and IDO mRNA expression may be responsible for antidepressant- and anxiolytic-like effects of CMI

Corticosterone administration downregulated GR expression in the HC (Fig. 6) when compared to the control group. CMI treatment reversed the decreased GR expression in the HC with a statistically significant interaction for corticosterone  $\times$  CMI ( $F_{(1,20)} = 7.18$ ,  $p = 0.01$ ). Corticosterone-treatment decreased the GR expression ( $p < 0.001$ ) when compared to the control group and CMI increased this expression ( $p < 0.001$ ) when compared to the corticosterone group. Similarly, a two-way ANOVA revealed that the BDNF (Fig. 6) expression was downregulated in the HC of mice treated with corticosterone (Fig. 4), while CMI treatment upregulated BDNF expression when compared to stressed group (corticosterone  $\times$  CMI;  $F_{(1,20)} = 6.37$ ,  $p = 0.02$ ). A post hoc analysis showed that CMI increased BDNF expression ( $p < 0.001$ ) and that corticosterone administration decreased BDNF expression ( $p < 0.01$ ) when compared

to the control group, when administered in the stressed group, CMI increased de BDNF expression ( $p < 0.001$ ).

The two-way ANOVA showed a statistically significant corticosterone  $\times$  CMI interaction ( $F_{(1,20)} = 24.70$ ,  $p < 0.001$ ) for synaptophysin expression (Fig. 6) and the post hoc analysis revealed that corticosterone treatment downregulated synaptophysin expression in the HC of corticosterone-induced mice ( $p \leq 0.05$ ) while the single administration of CMI increased the expression levels of synaptophysin ( $p < 0.001$ ). On the other hand, corticosterone-induced mice showed upregulated GSK3- $\beta$  (Fig. 6) ( $p < 0.01$ ) in HC and CMI treatment restored ( $p < 0.01$ ) the levels of expression with a statistically significant interaction corticosterone  $\times$  CMI ( $F_{(1,20)} = 6.66$ ,  $p = 0.02$ ).

HC from stressed mice presented downregulated Nrf2 (Fig. 6) expression ( $p \leq 0.05$ ) and the single administration of CMI ( $p \leq 0.05$ ) abolished this effect (corticosterone  $\times$  CMI;  $F_{(1,20)} = 5.35$ ,  $p = 0.03$ ). Similarly, a two-way ANOVA revealed a statistically significant corticosterone  $\times$  CMI interaction for IDO (Fig. 6) expression ( $F_{(1,20)} = 31.48$ ,  $p < 0.001$ ). Corticosterone-treated mice showed upregulated IDO expression in the HC ( $p < 0.001$ ) and the single administration of CMI reversed this effect ( $p < 0.001$ ).



**Figure 6.** Effect of CMI (1 mg/kg, i.g.) on biochemical evaluations of qRT-PCR. Data were analysed by a two-way ANOVA followed by Newman-Keuls post hoc test and are expressed as mean  $\pm$  SEM (standard error of the mean) of 5 – 6 independent animals (#)  $p \leq 0.05$ , (##)  $p < 0.01$  and (###)  $p < 0.001$  when compared to control group. (\*\*\*)  $p < 0.001$  when compared to corticosterone group. CMI: 3-[(4-chlorophenyl)selenyl]-1-methyl-1*H*-indole; Cort: corticosterone; GR: glucocorticoid receptor; BDNF: brain derived neurotrophic factor; GSK3- $\beta$ : glycogen synthase kinase 3 beta; Nrf2: nuclear factor erythroid 2-related factor 2; IDO: Indoleamine 2,3-dioxygenase.

#### 4. Discussion

The present study showed for the first time that the effects elicited by a single administration of CMI was able to reverse the behavioral response to corticosterone administration in the OFT, splash test, and EPM, and that these effects may be dependent on the mTOR signaling. Of note, the antidepressant- and anxiolytic-like effects of CMI may also depend on the modulation of oxidative stress and neuroinflammation. Here we reported that a single administration of CMI did not reverse the depressive- and anxiogenic-like behavior of mice in the presence of rapamycin, the mTOR inhibitor. Additionally, we observed that CMI reversed the oxidative stress biomarkers by decreasing the TBARS and RS levels in the plasma of corticosterone-treated mice. Corroborating with the results, CMI was also able to restore the mRNA expression of GR, BDNF, synaptophysin, GSK3- $\beta$ , Nrf<sub>2</sub>, and IDO in the hippocampus of stressed mice. Considering the use of different approaches in the present investigation, our study provides solid evidence on the mechanism of action of CMI involved with its ability to abrogates the depression-anxiety comorbidity induced by corticosterone in male mice.

Administration of corticosterone is a validated preclinical model of depression that, in addition to inducing depressive- and anxiogenic-like behavior, it also induces neurochemical alterations, such as reducing the levels of hippocampal BDNF. Consequently, decreased hippocampal neurogenesis has been found in corticosterone-treated mice and depressive patients [45, 46]. In line with this, we showed that a single administration of CMI reversed the depressive- and anxiogenic-like behavior induced by repeated administration of corticosterone in the OFT, splash test, and EPM.

These outcomes after CMI treatment may be involved with the modulation of the signaling pathways altered by corticosterone. It has been acknowledged that BDNF is crucial for neuronal integrity and survival [47] and for synaptic plasticity through TrkB pathway [48, 49]. BDNF expression is dependent on GC-binding to GR [50] and high levels of circulant GC leads to GR resistance by several pathways [27], and, consequently, decreases BDNF expression. BDNF-binding to TrkB activates the mTOR signaling that culminates with the translation of several proteins related to the synaptogenesis, such as synaptophysin [51]. In line with this, corticosterone treatment downregulated GR, BDNF and synaptophysin expression in HC of mice, meantime, the single administration of CMI upregulated these expressions, possibly, contributing

to the antidepressant- and anxiolytic-like effects of CMI through improving the neurogenesis, synaptogenesis, and synaptic plasticity processes.

Alongside with the above-mentioned mechanisms, high levels of circulating GC induces the inflammatory response through activation of Toll-like receptor 4 (TLR4), which promotes the activation of GSK3- $\beta$  [12, 24]. Once activated, GSK3- $\beta$  prevents the translocation of Nrf2 to the nucleus, thus, reducing the transcription of antioxidant enzymes, such as HO-1 [30]. Moreover, GSK3- $\beta$  also promotes the translocation of NF $\kappa$ B to the nucleus, thereby, increasing the inflammatory response by upregulating the expression of pro-inflammatory cytokines, such as TNF- $\alpha$  and interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) [24]. The increased levels of pro-inflammatory cytokines can induce the activation of iNOS, the production of RS, and the activation of IDO, further contributing to oxidative stress by increasing the production of RS and impairing neurotransmission [52]. Activated GSK3- $\beta$  phosphorylates GR, high levels of pro-inflammatory cytokines can suppress GR through p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) and, increased concentrations of RS can oxidize GR [25]. Altogether, these biochemical reactions contribute to GR resistant and, consequently, hyperactivation of HPA axis, once the negative feedback is inhibited.

In this study, we reported that the repeated administration of corticosterone upregulated the expression of GSK3- $\beta$  and IDO, and downregulated the expression of Nrf2 in the HC. In addition, it also increased the levels of RS and TBARS in the plasma of mice. Inasmuch, the single administration of CMI restored the expression levels of GSK3- $\beta$ , IDO, and Nrf2, and, reduced the levels of RS and TBARS in the plasma of corticosterone-treated mice. These observations corroborate with the antioxidant activity of this organoselenium compound previously described [9, 11, 12].

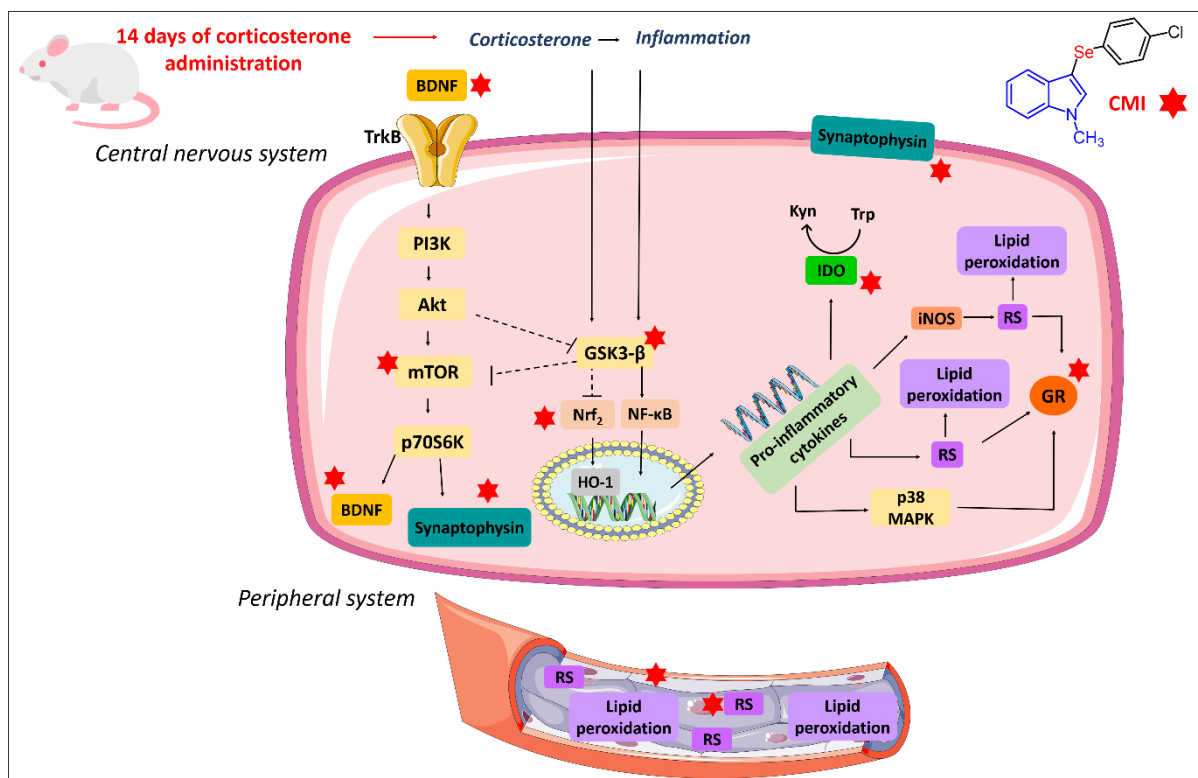
The mTOR is a serine/threonine kinase classified in two different protein complexes – TORC1 and TORC2. Rapamycin allosterically inhibits the TORC1 activity by blocking interactions with regulatory proteins and conformational changes [22, 53]. The mTOR signaling pathway in the CNS is related to several main physiological processes such as neurogenesis, synaptogenesis, and synaptic plasticity [22]. The mTOR signaling pathway is found impaired in depressive patients and this pathway can be inactivated by GSK3- $\beta$  activation [22, 54]. The modulation of mTOR pathway underlie the antidepressant effects of some classical antidepressants, such as escitalopram and paroxetine, and, is intrinsic to the fast action new antidepressants, such as esketamine [55, 56].



In this study, we gathered solid evidence that the mechanism of action of CMI may be dependent on the modulation of the mTOR signaling pathway. The administration of CMI in corticosterone-treated mice exerted antidepressant- and anxiogenic-like effect, possibly, through the modulation of the pathways above discussed. On the other hand, a single administration of CMI in stressed mice in the presence of rapamycin did not exert any of the effects previously observed. With this in mind, we suggest that the antidepressant- and anxiolytic-like effect of CMI may be dependent of mTOR signaling pathway. In other words, CMI was able to modulate the mTOR signaling pathway which includes the GR resistance, HPA axis hyperactivation, inflammation, and RS formation.

## **5. Conclusions**

The present study demonstrated that the antidepressant- and anxiolytic-like effects of CMI may be dependent, at least in part, on the mTOR signaling pathway. Probably, through the mTOR signaling and consequently modulation of oxidative stress and inflammatory pathways, CMI is able to reverse depressive- and anxiogenic-like behaviors induced by corticosterone treatment in mice (Figure 7). This ability is shown by the downregulation of GSK3- $\beta$  and IDO expression levels, and by the upregulation of GR, BDNF, synaptophysin, and Nrf<sub>2</sub> expression levels in the hippocampus. Besides, CMI reduced levels of RS and lipid peroxidation. Altogether, these alterations culminated with behavioral alterations. However, more studies are needed to delve into the molecular mechanisms responsible for the multitarget effects of CMI.



**Figure 7.** Summary of the effects of CMI treatment in corticosterone-treated mice. A single administration of CMI after 14 days of corticosterone administration downregulated the mRNA expression of GSK3- $\beta$  and IDO and upregulated the mRNA expression of GR, BDNF, synaptophysin and Nrf<sub>2</sub>. Furthermore, the pre-administration of rapamycin prevented the effects of CMI on behavioral alterations. Altogether, these results indicate that the mechanism of action may depend on mTOR signaling pathway.

### Ethical approval

All procedures were approved by the Committee on the Care and Use of Experimental Animal Resources at the Federal University of Pelotas, Brazil (2208-2018) and comply with the Animal Research: Reporting in Vivo Experiments (ARRIVE) guidelines, items 5 to 13 [57].

### Author contribution

DAL and AMC designed the study and protocol, performed the experiments, executed analysis of data and wrote the manuscript. MD, TAS, PTB and MSS performed the experiments and contributed to the manuscript writing. BV and EJJ synthesized CMI. FKS, TC and LS supervised the experiments and revised the scientific content of the manuscript. All authors critically reviewed the content and approved the final version for publication.

## References

1. World Health Organization (2017) Depression and Other Common Mental Disorders Global Health Estimates. Geneva
2. Kessler RC, Merikangas KR, Wang PS (2007) Prevalence, Comorbidity, and Service Utilization for Mood Disorders in the United States at the Beginning of the Twenty-first Century. *Annu Rev Clin Psychol* 3:137–158.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.3.022806.091444>
3. Moylan S, Berk M, Dean OM, et al (2014) Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much stress? *Neurosci Biobehav Rev* 45:46–62.  
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.05.007>
4. Slavich GM, Irwin MR (2014) From stress to inflammation and major depressive disorder: A social signal transduction theory of depression. *Psychol Bull* 140:774–815. <https://doi.org/10.1037/a0035302>
5. Han C, Lim YH, Hong YC (2016) The association between oxidative stress and depressive symptom scores in elderly population: A repeated panel study. *J Prev Med Public Heal* 49:260–274. <https://doi.org/10.3961/jpmph.16.029>
6. Otte C, Gold SM, Penninx BW, et al (2016) Major depressive disorder. *Nat Rev Dis Prim* 2:1–20. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.65>
7. Institute for Quality and Efficiency in Health Care (2017) Depression: How effective are antidepressants? Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG), Cologne, Germany
8. Vieira BM, Thurow S, Brito JS, et al (2015) Sonochemistry: An efficient alternative to the synthesis of 3-selenylindoles using CuI as catalyst. *Ultrason Sonochem* 27:192–199. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.05.012>
9. Casaril AM, Domingues M, Fronza M, et al (2017) Antidepressant-like effect of a new selenium-containing compound is accompanied by a reduction of

- neuroinflammation and oxidative stress in lipopolysaccharide-challenged mice. *J Psychopharmacol* 31:1263–1273. <https://doi.org/10.1177/0269881117711713>
10. Casaril AM, Ignasiak MT, Chuang CY, et al (2017) Selenium-containing indolyl compounds: Kinetics of reaction with inflammation-associated oxidants and protective effect against oxidation of extracellular matrix proteins. *Free Radic Biol Med* 113:395–405. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.344>
  11. Casaril AM, Domingues M, de Andrade Lourenço D, et al (2019) Depression- and anxiogenic-like behaviors induced by lipopolysaccharide in mice are reversed by a selenium-containing indolyl compound: Behavioral, neurochemical and computational insights involving the serotonergic system. *J Psychiatr Res* 115:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.05.006>
  12. Casaril AM, Domingues M, Bampi SR, et al (2019) The selenium-containing compound 3-((4-chlorophenyl)selanyl)-1-methyl-1H-indole reverses depressive-like behavior induced by acute restraint stress in mice: modulation of oxido-nitrosative stress and inflammatory pathway. *Psychopharmacology (Berl)* 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00213-018-5151-x>
  13. Birmann PT, Sousa FSS, de Oliveira DH, et al (2018) 3-(4-Chlorophenylselanyl)-1-methyl-1 H -indole, a new selenium compound elicits an antinociceptive and anti-inflammatory effect in mice. *Eur J Pharmacol* 827:71–79. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.03.005>
  14. Birmann PT, Sousa FSS, Domingues M, et al (2019) 3-(4-Chlorophenylselanyl)-1-methyl-1H-indole promotes recovery of neuropathic pain and depressive-like behavior induced by partial constriction of the sciatic nerve in mice. *J Trace Elem Med Biol* 54:126–133. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2019.04.014>

15. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM (2011) mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 12:21–35.  
<https://doi.org/10.1038/nrm3025>
16. Garelick MG, Kennedy BK (2011) TOR on the brain. *Exp Gerontol* 46:155–63.  
<https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.08.030>
17. Abelaira HM, Réus GZ, Neotti M V, Quevedo J (2014) The role of mTOR in depression and antidepressant responses. *Life Sci* 101:10–4.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.02.014>
18. Maiese K (2014) Driving neural regeneration through the mammalian target of rapamycin. *Neural Regen Res* 9:1413–7. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.139453>
19. Pazini FL, Cunha MP, Rosa JM, et al (2016) Creatine, Similar to Ketamine, Counteracts Depressive-Like Behavior Induced by Corticosterone via PI3K/Akt/mTOR Pathway. *Mol Neurobiol* 53:6818–6834.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-015-9580-9>
20. Cunha MP, Budni J, Ludka FK, et al (2016) Involvement of PI3K/Akt Signaling Pathway and Its Downstream Intracellular Targets in the Antidepressant-Like Effect of Creatine. *Mol Neurobiol* 53:2954–2968.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-015-9192-4>
21. Budni J, Lobato KR, Binfaré RW, et al (2012) Involvement of PI3K, GSK-3 $\beta$  and PPAR $\gamma$  in the antidepressant-like effect of folic acid in the forced swimming test in mice. *J Psychopharmacol* 26:714–723.  
<https://doi.org/10.1177/02698811111424456>
22. Ignácio ZM, Réus GZ, Arent CO, et al (2015) New perspectives on the involvement of mTOR in depression as well as in the action of antidepressant

- drugs. *Br J Clin Pharmacol* 82:1280–1290. <https://doi.org/10.1111/bcp.12845>
23. Li N, Lee B, Liu R-J, et al (2010) Rapid Antidepressant Effects of NMDA Receptor Blockade Require Synaptic Protein Synthesis and Spine Formation. *Science* (80- ) 329:959–964. <https://doi.org/10.1126/science.1190287>
24. Jope RS, Cheng Y, Lowell JA, et al (2017) Stressed and Inflamed, Can GSK3 Be Blamed? *Trends Biochem Sci* 42:180–192. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.10.009>
25. Galliher-Beckley AJ, Williams JG, Collins JB, Cidlowski JA (2008) Glycogen Synthase Kinase 3 -Mediated Serine Phosphorylation of the Human Glucocorticoid Receptor Redirects Gene Expression Profiles. *Mol Cell Biol* 28:7309–7322. <https://doi.org/10.1128/mcb.00808-08>
26. Dobarro M, Orejana L, Aguirre N, Ramírez MJ (2013) Propranolol reduces cognitive deficits, amyloid  $\beta$  levels, tau phosphorylation and insulin resistance in response to chronic corticosterone administration. *Int J Neuropsychopharmacol* 16:1351–1360. <https://doi.org/10.1017/S1461145712001393>
27. Mora A, Sakamoto K, Mcmanus EJ, Alessi DR (2005) Role of the PDK1 – PKB – GSK3 pathway in regulating glycogen synthase and glucose uptake in the heart. *FEBS Lett* 579:3632–3638. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.05.040>
28. Grimes CA, Jope RS (2001) The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3 $\beta$  in cellular signaling. *Prog Neurobiol* 65:391–426. [https://doi.org/10.1016/S0304-0082\(01\)00011-9](https://doi.org/10.1016/S0304-0082(01)00011-9)
29. Ackermann TF, Kempe DS, Lang F, Lang UE (2010) Hyperactivity and enhanced curiosity of mice expressing PKB/SGK-resistant glycogen synthase kinase-3 (GSK-3). *Cell Physiol Biochem* 25:775–86.

- <https://doi.org/10.1159/000315097>
30. Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S (2007) Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 47:89–116.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141046>
  31. Halliwell B (2006) Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 97:1634–58. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x>
  32. Singh S, Vrishni S, Singh BK, et al (2010) Nrf2-ARE stress response mechanism: a control point in oxidative stress-mediated dysfunctions and chronic inflammatory diseases. *Free Radic Res* 44:1267–88.  
<https://doi.org/10.3109/10715762.2010.507670>
  33. Baird L, Dinkova-Kostova AT (2011) The cytoprotective role of the Keap1-Nrf2 pathway. *Arch Toxicol* 85:241–72. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0674-5>
  34. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, et al (2008) From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci* 9:46–56. <https://doi.org/10.1038/nrn2297>
  35. Wirleitner B, Neurauter G, Schröcksnadel K, et al (2003) Interferon-gamma-induced conversion of tryptophan: immunologic and neuropsychiatric aspects. *Curr Med Chem* 10:1581–91. <https://doi.org/10.2174/0929867033457179>
  36. Freitas AE, Egea J, Buendia I, et al (2016) Agmatine, by Improving Neuroplasticity Markers and Inducing Nrf2, Prevents Corticosterone-Induced Depressive-Like Behavior in Mice. *Mol Neurobiol* 53:3030–3045.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-015-9182-6>
  37. Kaster MP, Gadotti VM, Calixto JB, et al (2012) Depressive-like behavior induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  in mice. *Neuropharmacology* 62:419–426.

- <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.08.018>.
38. Sousa FSS, Birmann PT, Baldinotti R, et al (2018)  $\alpha$ - (phenylselanyl) acetophenone mitigates reserpine-induced pain–depression dyad: Behavioral, biochemical and molecular docking evidences. *Brain Res Bull* 142:129–137. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.07.007>
39. Brod LMP, Fronza MG, Vargas JP, et al (2017) Modulation of PKA , PKC , CAMKII , ERK 1 / 2 pathways is involved in the acute antidepressant-like effect of ( octylseleno ) -xylofuranoside ( OSX ) in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 234:717–725. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4505-5>
40. Walsh RN, Cummins RA (1976) The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull* 83:482–504. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1037/0033-2909.83.3.482>
41. Boulle F, Massart R, Stragier E, et al (2014) Hippocampal and behavioral dysfunctions in a mouse model of environmental stress: normalization by agomelatine. *Transl Psychiatry* 4:e485. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.125>
42. Freitas AE, Machado DG, Budni J, et al (2013) Fluoxetine modulates hippocampal cell signaling pathways implicated in neuroplasticity in olfactory bulbectomized mice. *Behav Brain Res* 237:176–184. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.09.035>
43. Loetchutinat C, Kothan S, Dechsupa S, et al (2005) 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* 72:323–331. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2004.06.011>
44. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351–358.



- [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
45. Morales-Medina JC, Sanchez F, Flores G, et al (2009) Morphological reorganization after repeated corticosterone administration in the hippocampus, nucleus accumbens and amygdala in the rat. *J Chem Neuroanat* 38:266–72. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2009.05.009>
  46. Mao Q-Q, Huang Z, Zhong X-M, et al (2014) Piperine reverses the effects of corticosterone on behavior and hippocampal BDNF expression in mice. *Neurochem Int* 74:36–41. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.04.017>
  47. Chao M V. (2003) Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci* 4:299–309. <https://doi.org/10.1038/nrn1078>
  48. Daskalakis NP, Kloet ER De, Yehuda R, et al (2015) Early life stress effects on glucocorticoid—BDNF interplay in the hippocampus. *Front Mol Neurosci* 8:1–13. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00068>
  49. Yu H, Wang DD, Wang Y, et al (2012) Variant brain-derived neurotrophic factor Val66met polymorphism alters vulnerability to stress and response to antidepressants. *J Neurosci* 32:4092–4101. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5048-11.2012>
  50. Suri D, Vaidya VA (2013) Glucocorticoid regulation of brain-derived neurotrophic factor: relevance to hippocampal structural and functional plasticity. *Neuroscience* 239:196–213. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.08.065>
  51. Scheuing L, Chiu CT, Liao HM, Chuang DM (2015) Antidepressant mechanism of ketamine: Perspective from preclinical studies. *Front Neurosci* 9:1–7. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00249>

52. Dantzer R, O'Connor JC, Lawson MA, Kelley KW (2011) Inflammation-associated depression: From serotonin to kynurenine. *Psychoneuroendocrinology* 36:426–436. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.09.012>
53. Fingar DC, Blenis J (2004) Target of rapamycin (TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene* 23:3151–71. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207542>
54. Karege F, Perroud N, Burkhardt S, et al (2007) Alteration in kinase activity but not in protein levels of protein kinase B and glycogen synthase kinase-3beta in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Biol Psychiatry* 61:240–5. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.04.036>
55. Molero P, Ramos-Quiroga JA, Martin-Santos R, et al (2018) Antidepressant Efficacy and Tolerability of Ketamine and Esketamine: A Critical Review. *CNS Drugs* 32:411–420. <https://doi.org/10.1007/s40263-018-0519-3>
56. Zarate CA, Singh JB, Carlson PJ, et al (2006) A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry* 63:856–864. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.8.856>
57. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, et al (2010) Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol* 8:e1000412. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000412>

## 5. Conclusões e perspectivas

Nesse estudo foi proposto um possível mecanismo de ação para os efeitos tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico do CMI em protocolo de indução de comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso em camundongos através da administração repetida de corticosterona.

Em resumo, os efeitos de reversão das alterações comportamentais e bioquímicas exercidas pelo CMI, dependeram, possivelmente, da via de sinalização da mTOR e, portanto, o CMI também teve efeito modulatório nas vias de estresse oxidativo e inflamação. Esses efeitos de modulação foram observados através da redução da expressão de mRNA das enzimas GSK3- $\beta$  e IDO e, através do aumento da expressão de mRNA de GR, BDNF, sinaptofisina e Nrf<sub>2</sub> no hipocampo, além da redução dos níveis de ER e peroxidação lipídica no plasma, resultando nas alterações comportamentais observadas após a administração de CMI.

Os resultados encontrados com esse estudo foram promissores para a elucidação do mecanismo de ação molecular do CMI. Entretanto, ainda novos estudos precisam ser realizados a fim de avaliar mais sobre os efeitos multialvo desse composto.

Esse estudo compreende uma parte de um projeto maior, sendo assim, as próximas etapas consistem em avaliar a atividade do CMI no mesmo protocolo de indução de alterações bioquímicas e comportamentais na presença do inibidor da PI3K, o cloridrato de 2-(4-morfolinil)-8-fenil-1(4H)-benzopirano-4,4-ona (LY294002) e, do inibidor da HO-1, a protoporfirina X (ZnPP). Além disso, dentro das próximas etapas está incluso a realização da técnica de *Western Blot* para a quantificação das seguintes proteínas: BDNF, proteína cinase B (Akt), proteína de ligação responsiva ao AMPc (CREB) e NF $\kappa$ B. Essas futuras análises serão capazes de aprofundar os estudos acerca do mecanismo de ação do CMI, uma promissora molécula multialvo para a depressão e ansiedade.

## Referências

- AGUILAR, Tomás Alejandro Fregoso; NAVARRO, Brenda Carolina Hernández; PÉREZ, Jorge Alberto Mendoza. **Endogenous Antioxidants: A Review of their Role in Oxidative Stress**. 1ª ed. ed. London: IntechOpen, 2016.
- ALONSO, Richard; GRIEBEL, Guy; PAVONE, Giuseppe; STEMMELIN, Jeanne; LE FUR, Gérard; SOUBRIÉ, Philippe. Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. **Molecular Psychiatry**, v. 9, n. 3, p. 278–286, 224, 2004.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. 5ª ed. ed. Washington, EUA: American Psychiatric Publishing, 2013.
- ANVERSA, Roberta; SOUSA, Fernanda; BIRMANN, Paloma; LIMA, David; LENARDÃO, Eder; BRÜNING, César; SAVEGNAGO, Lucielli. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of 1,2-bis-(4 methoxyphenylselanyl) styrene in mice: involvement of the serotonergic system. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 7, p. 901–909, 2018.
- ATKINSON, Helen; WOOD, Susan; CASTRIQUE, Emma; KERSHAW, Yvonne; WILES, Crispin; LIGHTMAN, Stafford. Corticosteroids mediate fast feedback of the rat hypothalamic-pituitary- adrenal axis via the mineralocorticoid receptor. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 294, n. 6, p. 1011–1022, 2008.
- ATZORI, Marco; CUEVAS-OLGUIN, Roberto; ESQUIVEL-RENDON, Eric; GARCIA-OSCOS, Francisco; SALGADO-DELGADO, Roberto; SADARI, Nadia; MIRANDA-MORALES, Marcela; TREVIÑO, Mario; PINEDA, Juan; SALGADO, Humberto. Locus Ceruleus Norepinephrine Release: A Central Regulator of CNS Spatio-Temporal Activation? **Frontiers in Synaptic Neuroscience**, v. 8, p. 772-785, 2016.
- AXELSON, David; DORAISWAMY, Murali; MCDONALD, William; BOYKO, Orest; TUPLER, Larry; PATTERSON, Linda; NEMEROFF, Charles; ELLINWOOD, Everett; KRISHNAN, Ranga. Hypercortisolemia and hippocampal changes in depression. **Psychiatry Research**, v. 47, n. 2, p. 163–173, 1993.
- BAKER, Glen; COUTTS, Ronald; MCKENNA, Kevin; SHERRY-MCKENNA, Rhonda. Insights into the mechanisms of action of the MAO inhibitors phenelzine and

tranylcypromine: a review. **Journal of psychiatry & Neuroscience : JPN**, v. 17, n. 5, p. 206–214, 1992.

BAMPI, Suely; CASARIL, Angela; SOUSA, Fernanda; PESARICO, Ana Paula; VIEIRA, Beatriz; LENARDÃO, Eder; SAVEGNAGO, Lucielli. Repeated administration of a selenium-containing indolyl compound attenuates behavioural alterations by streptozotocin through modulation of oxidative stress in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 183, p. 46–55, 2019.

BANDEIRA, Suziy; GUEDES, Glaucivane; FONSECA, Lucas José; PIRES, André; GELAIN, Daniel; MOREIRA, José Claudio; RABELO, Luíza; VASCONCELOS, Sandra; GOULART, Marília. Characterization of blood oxidative stress in type 2 diabetes mellitus patients: increase in lipid peroxidation and SOD activity. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 1-13, 2012.

BANKS, William. The blood-brain barrier in psychoneuroimmunology. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v. 29, n. 2, p. 223–228, 2009.

BARCHAS, Jack; ALTEMUS, Margaret. Monoamine Hypotheses of Mood Disorders. In: SIEGEL, George; AGRANOFF, Bernard; WAYNE, Alberts; FISHER, Stephen; UHLER, Michael. (Eds.). **Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects**. 6ª ed. ed. Philadelphia, USA: Lippincott-Raven, 1999. p. 1200.

BAUMEISTER, David; LIGHTMAN, Stafford; PARIANTE, Carmine. The Interface of Stress and the HPA Axis in Behavioural Phenotypes of Mental Illness. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, v. 18, p. 13–24, 2014.

BEAR, Mark; CONNORS, Barry; PARADISO, Michael. **Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso**. 4ª ed. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

BEATO, Miguel; HERRLICH, Peter; SCHÜTZ, Günther. Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. **Cell**, v. 83, n. 6, p. 851–857, 1995.

BIRMANN, Paloma; SOUSA, Fernanda; OLIVEIRA, Daniela; DOMINGUES, Micaela; VIEIRA, Beatriz; LENARDÃO, Eder; SAVEGNAGO, Lucielli. 3-(4-Chlorophenylselanyl)-1-methyl-1 H -indole, a new selenium compound elicits an antinociceptive and anti-inflammatory effect in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 827, p. 71–79, 2018.

BIRMANN, Paloma; SOUSA, Fernanda; DOMINGUES, Micaela; BRÜNING, César; VIEIRA, Beatriz; LENARDÃO, Eder; SAVEGNAGO, Lucielli. . 3-(4-Chlorophenylselanyl)-1-methyl-1H-indole promotes recovery of neuropathic pain and depressive-like behavior induced by partial constriction of the sciatic nerve in mice.

**Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 54, n. November 2018, p. 126–133, 2019.

BITTAR, Thibault; NAIR, Betina; KIM, Joon; CHANDRASEKERA, Dhananjie; SHERRINGTON, Aidan; IREMONGER, Karl. Corticosterone mediated functional and structural plasticity in corticotropin-releasing hormone neurons. **Neuropharmacology**, v. 154, p. 79–86, 2019.

BLACK, Catherine; BOT, Mariska; SCHEFFER, Peter; CUJIPERS, Pim; PENNINX, Branda. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 51, p. 164–175, 2015.

BLUTHÉ, Rose-Marie; WALTER, Véronique; PARNET, Patricia; LAYÉ, Sophie; LESTAGE, Jacques; VERRIER, Danièle; POOLE, Stephen; STENNING, Bridget; KELLEY, Keith; DANTZER, Robert. Lipopolysaccharide induces sickness behaviour in rats by a vagal mediated mechanism. **Comptes Rendus De l'Academie Des Sciences. Serie III, Sciences De La Vie**, v. 317, n. 6, p. 499–503, 1994.

BOGDAN, Ryan; HYDE, Luke; HARIRI, Ahmad. A neurogenetics approach to understanding individual differences in brain, behavior, and risk for psychopathology. **Molecular Psychiatry**, v. 18, n. 3, p. 288–299, 2013.

BRIGITTA, Bondy. Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. **Dialogues In Clinical Neuroscience**, v. 4, n. 1, p. 7–20, 2002.

BROD, Lucimar; FRONZA, Mariana; VARGAS, Jaqueline; LÜDTKE, Diogo; LUCHESE, Cristiane; WILHELM, Ethel; SAVEGNAGO, Lucielli. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of (octylseleno)-xylofuranoside in the mouse tail suspension test. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 65, p. 201–207, 2016.

BROD, Lucimar; FRONZA, Mariana; VARGAS, Jaqueline; LÜDTKE, Diogo; BRÜNING, César; SAVEGNAGO, Lucielli. Modulation of PKA, PKC, CAMKII, ERK 1 / 2 pathways is involved in the acute antidepressant-like effect of ( octylseleno ) - xylofuranoside ( OSX ) in mice. **Psychopharmacology**, v. 234, n. 4, p. 717–725, 2017.

BRÜNING, César; MARTINI, Franciele; SOARES, Suelen; SAMPAIO, Tuane; GAI, Bibiana; DUARTE, Marta; NOGUEIRA, Cristina. m -Trifluoromethyl-diphenyl diselenide, a multi-target selenium compound, prevented mechanical allodynia and depressive-like behavior in a mouse comorbid pain and depression model. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 63, p. 35–46, 2015.

CANUSO, Carla; SINGH, Jaskaran; FEDGCHIN, Maggie; ALPHS, Larry; LANE,

Rosanne; LIM, Pilar; PINTER, Christine; HOUGH, David; SANACORA, Gerard; MANJI, Husseini; DREVETS, Wayne. Efficacy and Safety of Intranasal Esketamine for the Rapid Reduction of Symptoms of Depression and Suicidality in Patients at Imminent Risk for Suicide: Results of a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study. **The American Journal Of Psychiatry**, v. 175, n. 7, p. 620–630, 2018.

CARROLL, Bernard; CURTIS, George; MENDELS, Joseph. Neuroendocrine regulation in depression.I. Limbic system-adrenocortical dysfunction. **Archives of General Psychiatry**, v. 33, n. 9, p. 1039–1044, 1976.

CASARIL, Angela; IGNASIAK, Marta; CHUANG, Christine; VIEIRA, Beatriz; PADILHA, Nathalia; CARROLL, Luke; LENARDÃO, Eder; SAVEGNAGO, Lucielli; DAVIES, Michael. Selenium-containing indolyl compounds: Kinetics of reaction with inflammation-associated oxidants and protective effect against oxidation of extracellular matrix proteins. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 113, p. 395–405, 2017. a.

CASARIL, Angela; DOMINGUES, Micaela; FRONZA, Mariana; VIEIRA, Beatriz; BEGNINI, Karine; LENARDÃO, Eder; SEIXAS, Fabiana; COLLARES, Tiago; NOGUEIRA, Cristina; SAVEGNAGO, Lucielli. Antidepressant-like effect of a new selenium-containing compound is accompanied by a reduction of neuroinflammation and oxidative stress in lipopolysaccharide-challenged mice. **Journal of Psychopharmacology**, v. 31, n. 9, p. 1263–1273, 2017. b.

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

CASARIL, Angela; DOMINGUES, Micaela; LOURENÇO, Darling; BIRMANN, Paloma; PADILHA, Nathalia; BEGNINI, Karine; SEIXAS, Fabiana; COLLARES, Tiago; LENARDÃO, Eder; SAVEGNAGO, Lucielli. Depression- and anxiogenic-like behaviors induced by lipopolysaccharide in mice are reversed by a selenium-containing indolyl compound: Behavioral, neurochemical and computational insights involving the serotonergic system. **Journal of Psychiatric Research**, v. 115, n. February, p. 1–12, 2019. a.

CASARIL, Angela; DOMINGUES, Micaela; BAMPI, Suely; LOURENÇO, Darling; PADILHA, Nathalia; LENARDÃO, Eder; SONEGO, Mariana; SEIXAS, Fabiana; COLLARES, Tiago; NOGUEIRA, Cristina; DANTZER, Robert; SAVEGNAGO, Lucielli.

The selenium-containing compound 3-((4-chlorophenyl)selenanyl)-1-methyl-1H-indole reverses depressive-like behavior induced by acute restraint stress in mice: modulation of oxido-nitrosative stress and inflammatory pathway. **Psychopharmacology**, p. 1–14, 2019. b.

CIPRIANI, Andrea; FURUKAWA, Toshi; SALANTI, Georgia; CHAIMANI, Anna; ATKINSON, Lauren; OGAWA, Yusuke; LEUCHT, Stefan; RUHE, Henricus; TURNER, Erick; HIGGINS, Julian; EGGER, Matthias; TAKESHIMA, Nozomi; HAYASAKA, Yu; IMAI, Hissei; SHINOHARA, Kiyomi; TAJIKA, Aran; LOANNIDIS, John, GEDDES, John. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. **The Lancet**, v. 391, n. 10128, p. 1357–1366, 2018.

ClinicalTrials.gov. Oxford: University of Oxford (UK). 2019 Sep 06. Identifier NCT03013400, **Ebselen as an add-on Treatment in Hypo/Mania**; 2017 Jan 6. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03013400>>. Acesso em: 29 Out. 2019

COBLEY, James; FIORELLO, Maria; BAILEY, Damian. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. **Redox Biology**, v. 15, p. 490-503, 2018.

CONNOR, Thomas; LEONARD, Brian. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. **Life Sciences**, v. 62, n. 7, p. 583–606, 1998.

COPPEN, Alec. The Biochemistry of Affective Disorders. **British Journal of Psychiatry**, v. 113, n. 504, p. 1237–1264, 1967.

DALY, Ella; SINGH, Jaskaran; FEDGCHIN, Maggie; COOPER, Kimberly; LIM, Pilar; SHELTON, Richard; THASE, Michael; WINOKUR, Andrew; NUETEN, Luc Van; MANJI, Hussein; DREVETS, Wayne. Efficacy and Safety of Intranasal Esketamine Adjunctive to Oral Antidepressant Therapy in Treatment-Resistant Depression: A Randomized Clinical Trial. **JAMA Psychiatry**, v. 75, n. 2, p. 139–148, 2018.

DANTZER, Robert; O'CONNOR, Jason; FREUND, Gregory; JOHNSON, Rodney; KELLEY, Keith. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 46–56, 2008.

DASKALAKIS, Nikolaos; DE KLOET, Edo; YEHUDA, Rachel; MALASPINA, Dolores; KRANZ, Thorsten. Early life stress effects on glucocorticoid—BDNF interplay in the hippocampus. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 8, n. November, p. 1–13,



2015.

DE KLOET, Edo. Hormones, brain and stress. **Endocrine Regulation**, v. 37, n. 2, p. 51–68, 2003.

DELGADO, Pedro; MORENA, Francisco. Neurochemistry of mood disorders. In: STEIN, Dan; KUPFER, David; SCHATZBERG, Alan (Eds.). **The Textbook of Mood Disorders**. Washington, EUA: American Psychiatric Publishing Inc, 2006. p. 101–116.

DENICOFF, Kirk; RUBINOW, David; PAPA, Moshe; SIMPSON, Colleen; SEIPP, Claudia; LOTZE, Michael; CHANG, Alfred; ROSENSTEIN, Donald; ROSENBERG, Steven. The neuropsychiatric effects of treatment with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. **Annals Of Internal Medicine**, v. 107, n. 3, p. 293–300, 1987.

DOMINGUES, Micaela; CASARIL, Angela; BIRMANN, Paloma; LOURENÇO, Darling; VIEIRA, Beatriz; BEGNINI, Karine; LENARDÃO, Eder; COLLARES, Tiago; SEIXAS, Fabiana; SAVEGNAGO, Lucielli. Selanylimidazopyridine prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice by targeting neurotrophins and inflammatory/oxidative mediators. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, n. July, p. 1-14, 2018.

DOMINGUES, Micaela; CASARIL, Angela; BIRMANN, Paloma; BAMPI, Suely; LOURENÇO, Darling; VIEIRA, Beatriz; DAPPER, Luiz; LENARDÃO, Eder; SONEGO, Mariana; COLLARES, Tiago; SEIXAS, Fabiana; BRÜNING, César; SAVEGNAGO, Lucielli. Effects of a selanylimidazopyridine on the acute restraint stress-induced depressive- and anxiety-like behaviors and biological changes in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 366, n. November 2018, p. 96–107, 2019.

DONG, Junsheng; QU, Yang; LI, Jianji; CUI, Luying; WANG, Yefan; LIN, Jiaqi; WANG, Heng. Cortisol inhibits NF- $\kappa$ B and MAPK pathways in LPS activated bovine endometrial epithelial cells. **International Immunopharmacology**, v. 56, p. 71–77, 2018.

DUMAN, Ronald. Depression: A case of neuronal life and death? **Biological Psychiatry**, v. 56, n. 3, p. 140–145, 2004.

DUMAN, Ronald; AGHAJANIAN, George; SANACORA, Gerard; KRYSTAL, John. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. **Nature Medicine**, v. 22, n. 3, p. 238–249, 2016.

FARAVELLI, Carlo; PALLANTI, Stefano. Recent life events and panic disorder. **The American Journal Of Psychiatry**, v. 146, n. 5, p. 622–626, 1989.

FAVA, Maurizio; KENDLER, Kenneth. Major Depressive Disorder. **Neuron**, v. 28, n. 2,

p. 335–341, 2000.

FEIGHNER, John. Mechanism of action of antidepressant medications. **The Journal Of Clinical Psychiatry**, v. 60 Suppl 4, p. 4–11, 1999.

FENG, Ye; WANG, Xiaochuan. Antioxidant therapies for Alzheimer's disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 1-17, 2012.

FERGUSON, James. SSRI antidepressant medications: Adverse effects and tolerability. **Primary Care Companion to the Journal of Clinical Psychiatry**, v. 3, n. 1, p. 22–27, 2001.

FREITAS, Andiara; BETTIO, Luis; NEIS, Vivian; SANTOS, Danúbia; RIBEIRO, Camille; ROSA, Priscila; FARINA, Marcelo; RODRIGUES, Ana Lúcia. Agmatine abolishes restraint stress-induced depressive-like behavior and hippocampal antioxidant imbalance in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 50, p. 143–150, 2014.

FRODL, Thomas; O'KEANE, Veronica. How does the brain deal with cumulative stress? A review with focus on developmental stress, HPA axis function and hippocampal structure in humans. **Neurobiology of Disease**, v. 52, p. 24–37, 2013.

GALLIHER-BECKLEY, Amy; WILLIAMS, Jason; COLLINS, Jennifer; CIDLOWSKI, John. Glycogen Synthase Kinase 3 -Mediated Serine Phosphorylation of the Human Glucocorticoid Receptor Redirects Gene Expression Profiles. **Molecular and Cellular Biology**, v. 28, n. 24, p. 7309–7322, 2008.

GALTS, Ciaran; BETTIO, Luis; JEWETT, David; YANG, Charles; BROCARD, Patricia; RODRIGUES, Ana Lúcia; THACKER, Jonathan; GIL-MOHAPEL, Joana. Depression in neurodegenerative diseases: Common mechanisms and current treatment options. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 102, n. February, p. 56–84, 2019.

GARTLEHNER, Gerald; WAGNER, Gernot; MATYAS, Nina; TITSCHER, Viktoria; GREIMEL, Judith; LUX, Linda; GAYNES, Bradley; VISWANATHAN, Meera; PATEL, Sheila; LOHR, Kathleen. Pharmacological and non-pharmacological treatments for major depressive disorder: Review of systematic reviews. **BMJ Open**, v. 7, n. 6, p. 1–13, 2017.

GAYNES, Bradley; WARDEN, Diane; TRIVEDI, Madhukar; WISNIEWSKI, Stephen; FAVA, Maurizio; RUSH, John. What Did STAR\*D Teach Us? Results From a Large-Scale, Practical, Clinical Trial for Patients With Depression. **Psychiatric Services**, v. 60, n. 11, p. 1439–1445, 2009.

GODIC, Aleksandar; POLJSAK, Borut; ADAMIC, Metka; DAHMANE, Raja. The Role of Antioxidants in Skin Cancer Prevention and Treatment. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, v. 2014, p. 1-6, 2014.

GOUJON, Emmanuelle; PARNET, Patricia; LAYÉ, Sophie; COMBE, Chantal; DANTZER, Robert. Adrenalectomy enhances pro-inflammatory cytokines gene expression, in the spleen, pituitary and brain of mice in response to lipopolysaccharide. **Molecular Brain Research**, v. 36, n. 1, p. 53–62, 1996.

GRACE, Anthony. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 524–532, 2016.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John M. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3<sup>a</sup> ed. ed. Avon, Inglaterra: Oxford University Press, 1999.

HILLHOUSE, Todd; PORTER, Joseph. A brief history of the development of antidepressant drugs: from monoamines to glutamate. **Experimental And Clinical Psychopharmacology**, v. 23, n. 1, p. 1–21, 2015.

HUANG, Zhen; ZHONG, Xiao-Ming; LI, Zhao-Yi; FENG, Chun-Rong; PAN, Ai-Juan; MAO, Qing-Qiu. Curcumin reverses corticosterone-induced depressive-like behavior and decrease in brain BDNF levels in rats. **Neuroscience Letters**, v. 493, n. 3, p. 145–148, 2011.

IBRAHIM, Sohayla; KERKADI, Abdelhamid; AGOUNI, Abdelali. Selenium and Health: An Update on the Situation in the Middle East and North Africa. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 1457, 2019.

IMAI, Hideaki; MASAYASU, Hiroyuki; DEWAR, Deborah; GRAHAM, David; MACRAE, Mhairi. Ebselen protects both gray and white matter in a rodent model of focal cerebral ischemia. **Stroke**, v. 32, n. 9, p. 2149–2156, 2001.

IÑIGUEZ, Sergio; RIGGS, Lace; NIETO, Steven; DAYRIT, Genesis; ZAMORA, Norma; SHAWHAN, Kristi; CRUZ, Bryan; WARREN, Brandon. Social defeat stress induces a depression-like phenotype in adolescent male c57BL/6 mice. **Stress**, v. 17, n. 3, p. 247–255, 2014.

INSTITUTE FOR QUALITY AND EFFICIENCY IN HEALTH CARE. **Depression: How effective are antidepressants?** Cologne, Germany: Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG), 2017.

JESULOLA, Emmanuel; MICALOS, Peter; BAGULEY, Ian. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis

model - are we there yet? **Behavioural Brain Research**, v. 341, n. December 2017, p. 79–90, 2018.

JURUENA, Mario. Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. **Epilepsy and Behavior**, v. 38, p. 148–159, 2014.

KAUSHIK, Nagendra; KAUSHIK, Neha; ATTRI, Pankaj; HUMAR, Naresh; KIM, Chung; VERMA, Akhilesh; CHOI, Eun. Biomedical importance of indoles. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 6620–6662, 2013.

KÖHRLE, Josef; GÄRTNER, Roland. Selenium and thyroid. **Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 23, n. 6, p. 815–827, 2009.

KONSMAN, Jan Pieter; VIGUES, Stephan; MACKERLOVA, Ludmila; BRISTOW, Adrian; BLOMQVIST, A.. Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by peripheral inflammatory stimuli. **The Journal Of Comparative Neurology**, v. 472, n. 1, p. 113–129, 2004.

KRYSTAL, John; SANACORA, Gerard; BLUMBERG, Hilary; ANAND, Anit; CHARNEY, Dennis; MAREK, Gerard; EPPERSON, C Neil; GODDARD, Andrew; MASON, Graeme. Glutamate and GABA systems as targets for novel antidepressant and mood-stabilizing treatments. **Molecular Psychiatry**, v. 7 Suppl 1, p. S71-80, 2002.

LÓPEZ-ALARCÓN, Camilo; DENICOLA, Ana. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 763, p. 1-10, 2013.

LÓPEZ-LEÓN, Sandra; CROES, Esther; SAYED-TABATABAEI, Fakhredin; CLAES, Stephan; BROECKHOVEN, Christine; VAN DUJIN, Cornelia. The dopamine D4 receptor gene 48-base-pair-repeat polymorphism and mood disorders: A meta-analysis. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 9, p. 999–1003, 2005.

LÓPEZ-LEÓN, Sandra; JANSSENS, A. Cecile; GONZÁLEZ-ZULOETA LADD, Angela; DEL-FAVERO, Jurgen; CLAES, Stephan; OOSTRA, Bem; VAN DUJIN, Cornelia. Meta-analyses of genetic studies on major depressive disorder. **Molecular Psychiatry**, v. 13, n. 8, p. 772–785, 2008.

MAES, Michael; MIHAYLOVA, Ivanka; KUBERA, Marta; UYTTERHOEVEN, Marc; VRYDAGS, Nicolas; BOSMANS, Eugene. Lower whole blood glutathione peroxidase (GPX) activity in depression, but not in myalgic encephalomyelitis / chronic fatigue syndrome: another pathway that may be associated with coronary artery disease and neuroprogression in depression. **Neuro Endocrinology Letters**, v. 32, n. 2, p. 133–

140, 2011. a.

MAES, Michael; GALECKI, Piotr; CHANG, Yong; BERK, Michael. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 3, p. 676-692 2011. b.

MAES, Michael; FISAR, Zdenek; MEDINA, Miguel; SCAPAGNINI, Giovanni; NOWAK, Gabriel; BERK, Michael. New drug targets in depression: inflammatory, cell-mediated immune, oxidative and nitrosative stress, mitochondrial, antioxidant, and neuroprogressive pathways. And new drug candidates--Nrf2 activators and GSK-3 inhibitors. **Inflammopharmacology**, v. 20, n. 3, p. 127–150, 2012.

MALETIC, Vladimir; ERAMO, Anna; GWIN, Keva; OFFORD, Steve; DUFFY, Ruth. The Role of Norepinephrine and Its  $\alpha$ -Adrenergic Receptors in the Pathophysiology and Treatment of Major Depressive Disorder and Schizophrenia: A Systematic Review. **Frontiers in psychiatry**, v. 8, p. 42, 2017.

MANTHEY, Leonie; LEEDS, Caroline; GILTAY, Erik; VAN VEEN, Tineke; VREEBURG, Sophie; PENNINX, Brenda; ZITMAN, Frans. Antidepressant use and salivary cortisol in depressive and anxiety disorders. **European Neuropsychopharmacology**, v. 21, n. 9, p. 691–699, 2011.

MARIC, Nadja; ADZIC, Miroslav. Pharmacological modulation of HPA axis in depression New avenues for potential therapeutic benefits. **Psychiatria Danubina**, v. 25, n. 3, p. 299–305, 2013.

MAULIK, Nilanjana; MCFADDEN, David; OTANI, Hajime; THIRUNAVUKKARASU, Mahesh; PARINANDI, Narasimham. Antioxidants in longevity and medicine. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, v. 2013, p. 1-3, 2013.

MEAGHER, Emma; RADER, Daniel. Antioxidant therapy and atherosclerosis: Animal and human studies. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 11, n. 3-4, p. 162-165, 2001.

MERINEY, Stephen; FANSELOW, Erika. Monoamine transmitters. In: MERINEY, Stephen D.; FANSELOW, Erika E. (Eds.). **Synaptic Transmission**. 1<sup>a</sup> ed. Cambridge: Academic Press, 2019. p. 528.

MIFSUD, Karen; REUL, Johannes. Acute stress enhances heterodimerization and binding of corticosteroid receptors at glucocorticoid target genes in the hippocampus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of**

**America**, v. 113, n. 40, p. 11336–11341, 2016.

MORA, Alfonso; SAKAMOTO, Kei; MCMANUS, Edward; ALESSI, Dario. Role of the PDK1-PKB-GSK3 pathway in regulating glycogen synthase and glucose uptake in the heart. **FEBS letters**, v. 579, n. 17, p. 3632–3628, 2005.

MORSINK, Maarten; STEENBERGEN, Peter; VOS, Joost; KARST, Henk; JOËLS, Marian; DE KLOET, Edo; DATSON, Nicole. Acute activation of hippocampal glucocorticoid receptors results in different waves of gene expression throughout time. **Journal Of Neuroendocrinology**, v. 18, n. 4, p. 239–252, 2006.

NAKAMURA, Yoshimasa; FENG, Qing; KUMAGAI, Takeshi; TORIKAI, Koji; OHIGASHI, Hajime; OSAWA, Toshihiko; NOGUCHI, Noriko; NIKI, Etsuo; UCHIDA, Koji. Ebselen, a glutathione peroxidase mimetic seleno-organic compound, as a multifunctional antioxidant. Implication for inflammation-associated carcinogenesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 4, p. 2687–2694, 2002.

NEHA, Kumari; HAIDER, Rafi; PATHAK, Ankita; YAR, Shahar. Medicinal prospects of antioxidants : A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 178, p. 687–704, 2019.

NEMEROFF, Charles. Recent Findings in the Pathophysiology of Depression. **FOCUS**, v. 6, n. 1, p. 3–14, 2008.

NEMEROFF, Charles; VALE, Wylie . The neurobiology of depression: inroads to treatment and new drug discovery. **The Journal Of Clinical Psychiatry**, v. 66 Suppl 7, p. 5–13, 2005.

NEWPORT, Jeffrey; CARPENTER, Linda; MCDONALD, William; POTASH, James; TOHEN, Mauricio; NEMEROFF, Charles; APA Council of Research Task Force on Novel Biomarkers and Treatments. Ketamine and Other NMDA Antagonists: Early Clinical Trials and Possible Mechanisms in Depression. **The American Journal Of Psychiatry**, v. 172, n. 10, p. 950–966, 2015.

OLESCOWICZ, Gislaine; NEIS, Vivian; FRAGA, Daiane; ROSA, Priscila; AZEVEDO, Dayane; MELLEU, Fernando; BROCARD, Patricia; GIL-MOHAPEL, Joana; RODRIGUES, Ana Lúcia. Antidepressant and pro-neurogenic effects of agmatine in a mouse model of stress induced by chronic exposure to corticosterone. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 81, p. 395–407, 2018.

PANDYA, Chirayu.; HOWELL, Kristy; PILLAI, Anilkumar. Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 46, p. 214-223, 2013.

PAPP, Laura; LU, Jun; HOLMGREN, Arne; KHANNA, Kum Kum. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 9, n. 7, p. 775–806, 2007.

PARIANTE, Carmine; THOMAS, Sarah; LOVESTONE, Simon; MAKOFF, Andrew; KERWIN, Robert. Do antidepressants regulate how cortisol affects the brain? **Psychoneuroendocrinology**, v. 29, n. 4, p. 423–447, 2004.

PARIANTE, Carmine. The glucocorticoid receptor: part of the solution or part of the problem? **Journal Of Psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 20, n. 4 Suppl, p. 79–84, 2006.

PARIANTE, Carmine; LIGHTMAN, Stafford. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. **Trends in Neurosciences**, v. 31, n. 9, p. 464–468, 2008.

PAVLIDIS, Michail; THEODORIDI, Antonia; TSALAFOUTA, Aleka. Neuroendocrine regulation of the stress response in adult zebrafish, *Danio rerio*. **Progress In Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 60, p. 121–131, 2015.

PAZINI, Francis; CUNHA, Mauricio; ROSA, Julia; COLLA, André; LIEBERKNECHT, Vicente; OLIVEIRA, Ágatha; RODRIGUES, Ana Lúcia. Creatine, Similar to Ketamine, Counteracts Depressive-Like Behavior Induced by Corticosterone via PI3K/Akt/mTOR Pathway. **Molecular Neurobiology**, v. 53, n. 10, p. 6818–6834, 2016.

PERSSON, Torbjörn; POPESCU, Bogdan O; CEDAZO-MINGUEZ, Angel. Oxidative stress in alzheimer's disease: Why did antioxidant therapy fail?. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 1-11, 2014.

PHAM, Kara; NACHER, Juan; HOF, Patrick; MCEWEN, Bruce. Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. **The European Journal Of Neuroscience**, v. 17, n. 4, p. 879–886, 2003.

PISOSCHI, Aurelia; POP, Aneta. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, 2015.

POPOVA, Vanina; DALY, Ella; TRIVEDI, Madhukar; COOPER, Kimberly; LANE, Rosanne; LIM, Pilar; MAZZUCCO, Christine; HOUGH, David; THASE, Michael; SHELTON, Richard; MOLERO, Patricio; VIETA, Eduard; BAJBOUJ, Malek; MANJI, Hussein; DREVETS, Wayne; SINGH, Jaskaran. Efficacy and Safety of Flexibly Dosed Esketamine Nasal Spray Combined With a Newly Initiated Oral Antidepressant in Treatment-Resistant Depression: A Randomized Double-Blind Active-Controlled

- Study. **The American Journal Of Psychiatry**, v. 176, n. 6, p. 428–438, 2019.
- PRICE, Joseph; DREVETS, Wayne. Neurocircuitry of mood disorders. In: **Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress**. 5<sup>a</sup> ed.: Neuropsychopharmacology, 2002. v. 35p. 192–216.
- QUAN, Ning; WHITESIDE, Michael; HERKENHAM, Miles. Time course and localization patterns of interleukin-1beta messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide. **Neuroscience**, v. 83, n. 1, p. 281–293, 1998.
- RAGGUETT, Renee-Marie; TAMURA, Jocelyn; MCINTYRE, Roger. Keeping up with the clinical advances: depression. **CNS Spectrums**, v. S1, p. 1–9, 2019.
- RAYMAN, Margaret. The importance of selenium to human health. **The Lancet**, v. 356, n. 9225, p. 233–241, 2000.
- RAYMAN, Margaret. Food-chain selenium and human health: Emphasis on intake. **British Journal of Nutrition**, v. 100, n. 2, p. 254–268, 2008.
- RAYMAN, Margaret. Selenium and human health. **The Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1256–1268, 2012.
- REICHENBERG, Abraham; YIRMIYA, Raz; SCHULD, Andreas; KRAUS, Thomas; HAACK, Monika; MORAG, Abraham; POLLMÄCHER, Thomas. Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. **Archives Of General Psychiatry**, v. 58, n. 5, p. 445–452, 2001.
- RENAULT, Pierre; HOOFNAGLE, Jay; PARK, Yoon; MULLEN, Kevin; PETERS, Marion; JONES, Brian; RUSTGI, Vinod; JONES, Anthony. Psychiatric complications of long-term interferon alfa therapy. **Archives Of Internal Medicine**, v. 147, n. 9, p. 1577–1580, 1987.
- ROMAN, Marco; JITARU, Petru; BARBANTE, Carlo. Selenium biochemistry and its role for human health. **Metallomics**, v. 6, n. 1, p. 25–54, 2014.
- SANTANA, Magda; ROSMANINHO-SALGADO, Joana; CORTEZ, Vera; PEREIRA, Frederico; KASTER, Manuella; AVELEIRA, Célia; FERREIRA, Marisa; ÁLVARO, Ana Rita; CAVADAS, Cláudia. Impaired adrenal medullary function in a mouse model of depression induced by unpredictable chronic stress. **European Neuropsychopharmacology**, v. 25, n. 10, p. 1753–1766, 2015.
- SAPOLSKY, Robert; ARMANINI, Mark; PACKAN, Desta; TOMBAUGH, Geoffrey. Stress and Glucocorticoids in Aging. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 16, n. 4, p. 965–980, 1987.



SAPOLSKY, Robert; KREY, Lewis; MCEWEN, Bruce. The adrenocortical axis in the aged rat: Impaired sensitivity to both fast and delayed feedback inhibition.

**Neurobiology of Aging**, v. 7, n. 5, p. 331–335, 1986.

SAVASKAN, Nicolai; UFER, Christoph; KÜHN, Hartmut; BORCHERT, Astrid. Molecular biology of glutathione peroxidase 4: From genomic structure to developmental expression and neural function. **Biological Chemistry**, v. 388, n. 10, p. 1007-1017 2007.

SCHNEIDERMAN, Neil; IRONSON, Gail; SIEGEL, Scott. Stress and Health: Psychological, Behavioral, and Biological Determinants. **Annual Review of Clinical Psychology**, v. 1, n. 1, p. 607–628, 2005.

SCHULKIN, Jay; GOLD, Philip; MCEWEN, Bruce. Induction of corticotropin-releasing hormone gene expression by glucocorticoids: implication for understanding the states of fear and anxiety and allostatic load. **Psychoneuroendocrinology**, v. 23, n. 3, p. 219–243, 1998.

SCHULTE-HERBRÜGGEN, Olaf; CHOURBAJI, Sabine; RIDDER, Stephanie; BRANDWEIN, Christiane; GASS, Peter; HÖRTNAGL, Heide; HELLWEG, Rainer. Stress-resistant mice overexpressing glucocorticoid receptors display enhanced BDNF in the amygdala and hippocampus with unchanged NGF and serotonergic function. **Psychoneuroendocrinology**, v. 31, n. 10, p. 1266–77, 2006.

SCHWARCZ, Robert. The kynurenine pathway of tryptophan degradation as a drug target. **Current Opinion In Pharmacology**, v. 4, n. 1, p. 12–17, 2004.

SELYE, Hans. **The Stress of Life**. 2<sup>a</sup> ed. ed. New York: McGraw-Hill, 1978.

SHAW, Jon. Children exposed to war/terrorism. **Clinical Child And Family Psychology Review**, v. 6, n. 4, p. 237–246, 2003.

SHER, Leo; OQUENDO, Maria; BURKE, Ainsley; COOPER, Thomas; MANN, John. Combined dexamethasone suppression-corticotrophin-releasing hormone stimulation test in medication-free major depression and healthy volunteers. **J Affect Disord.**, v. 151, n. 3, p. 1108–1112, 2013.

SIES, Helmut. **Oxidative Stress: Introductory Remarks**. London: Academic Press, p. 507, 1985.

SINGH, Jaskaran; FEDGCHIN, Maggie; DALY, Ella; XI, Liwen; MELMAN, Caroline; DE BRUECKER, Geert; TADIC, Andre; SIENAERT, Pascal; WIEGAND, Frank; MANJI, Husseini; DREVETS, Wayne; VAN NUETEN, Luc. Intravenous Esketamine in Adult Treatment-Resistant Depression: A Double-Blind, Double-Randomization,

- Placebo-Controlled Study. **Biological Psychiatry**, v. 80, n. 6, p. 424–431, 2016.
- SMITH, Ronald. The macrophage theory of depression. **Medical Hypotheses**, v. 35, n. 4, p. 298–306, 1991.
- SOLOMONOW, Jonathan; TASKER, Jeffrey . Anxiety Behavior Induced in Mice by Acute Stress. **Tulane Undergraduate Research Journal**, v. 2, p. 14–19, 2015.
- SOLOVYEV, Nikolay. Importance of selenium and selenoprotein for brain function: From antioxidant protection to neuronal signalling. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 153, p. 1–12, 2015.
- SOUSA, Fernanda; BIRMANN, Paloma; BALDINOTTI, Rodolfo; FRONZA, Mariana; BALAGUEZ, Renata; ALVES, Diego; BRÜNING, César, SAVEGNAGO, Lucielli.  $\alpha$ -(phenylselanyl) acetophenone mitigates reserpine-induced pain–depression dyad: Behavioral, biochemical and molecular docking evidences. **Brain Research Bulletin**, v. 142, p. 129–137, 2018.
- SOUSA, Fernanda; BIRMANN, Paloma; BAMPI, Suely; FRONZA, Mariana; BALAGUEZ, Renata; ALVEZ, Diego; LEITE, Marlon; NOGUEIRA, Cristina; BRÜNING, César; SAVEGNAGO, Lucielli. Lipopolysaccharide-induced depressive-like, anxiogenic-like and hyperalgesic behavior is attenuated by acute administration of  $\alpha$ -(phenylselanyl) acetophenone in mice. **Neuropharmacology**, v. 146, p. 128–137, 2019.
- TANAPAT, Patima; HASTINGS, Nicholas; RYDEL, Tracy; GALEA, Lisa; GOULD, Elizabeth. Exposure to fox odor inhibits cell proliferation in the hippocampus of adult rats via an adrenal hormone-dependent mechanism. **The Journal Of Comparative Neurology**, v. 437, n. 4, p. 496–504, 2001.
- THOMPSON, Chris. Onset of action of antidepressants: results of different analyses. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, v. 17, n. S1, p. S27–S32, 2002.
- TODA, Shizuo. Polyphenol Content and Antioxidant Effects in Herb Teas. **Chinese Medicine**, v. 2, n. 1, p. 29–31, 2011.
- UDINA, Marc; CASTELLVÍ, Pere; MORENO-ESPAÑA, José; NAVINÉS, Ricard; VALDÉS, Manuel; FORNS, Xavier; LANGOHR, Klaus; SOLÀ, Ricard; VIETA, Eduard; MARTÍN-SANTOS, Rocío. Interferon-induced depression in chronic hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. **The Journal Of Clinical Psychiatry**, v. 73, n. 8, p. 1128–1138, 2012.
- VERMETTEN, Eric; VYTHILINGAM, Meena; SOUTHWICK, Steven; CHARNEY,

Dennis; BREMNER, Douglas. Long-term treatment with paroxetine increases verbal declarative memory and hippocampal volume in posttraumatic stress disorder.

**Biological Psychiatry**, v. 54, n. 7, p. 693–702, 2003.

VIEIRA, Beatriz; THUROW, Samuel; BRITO, Juliana; PERIN, Gelson; ALVES, Diego; JACOB, Raquel; SANTI, Claudio; LENARDÃO, Eder. Sonochemistry: An efficient alternative to the synthesis of 3-selanylindoles using CuI as catalyst. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 192–199, 2015.

VIEIRA, Beatriz; THUROW, Samuel; CASARIL, Angela; DOMINGUES, Micaela; SCHUMACHER, Ricardo; PERIN, Gelson; ALVES, Diego; SAVEGNAGO, Lucielli; LENARDÃO, Eder. Ultrasound-Assisted Synthesis and Antioxidant Activity of 3-Selanyl-1 H -indole and 3-Selanylimidazo [ 1 , 2- a ] pyridine Derivatives. **Asian Journal of Organic Chemistry**, v. 6, n. 11, p. 1635–1646, 2017.

VOS, Theo et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The Lancet**, v. 386, n. 9995, p. 743–800, 2015.

VREEBURG, Sophie; HOOGENDIJK, Witte; VAN PELT, Johannes; DERIJK, Roel; VERHAGEN, Jolanda; VAN DYCK, Richard; SMIT, Johannes; ZITMAN, Frans; PENNINX, Brenda. Major Depressive Disorder and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity. **Archives of General Psychiatry**, v. 66, n. 6, p. 617-626, 2009.

WANG, Huimei; ZHANG, Mingwei; XIE, Qiqi; YU, Jin; QI, Yan; YUE, Qiuyuan. Identification of diagnostic markers for major depressive disorder by cross-validation of data from whole blood samples. **PeerJ**, v. 2019, n. 7, p. 1-20, 2019.

WANG, Jun; YANG, Lian; ZHANG, Yue; NIU, Chun; CUI, Ying; FENG, Wei; WANG, Gui. BDNF and COX-2 participate in anti-depressive mechanisms of catalpol in rats undergoing chronic unpredictable mild stress. **Physiology and Behavior**, v. 151, p. 360–368, 2015.

WATKINS, Linda; WIERTELAK, Eric; GOEHLER, Lisa; MOONEY-HEIBERGER, Kelli; MARTINEZ, Jose; FURNESS, Linda; SMITH, Katherine; MAIER, Steven. Neurocircuitry of illness-induced hyperalgesia. **Brain Research**, v. 639, n. 2, p. 283–299, 1994.

WENG, Lianjin; GUO, Xiaohua; LI, Yang; YANG, Xin; HAN, Yuanyuan. Apigenin reverses depression-like behavior induced by chronic corticosterone treatment in mice. **European Journal Of Pharmacology**, v. 774, p. 50–54, 2016.

WIRLEITNER, Barbara; NEURAUTER, Gabriele; SCHRÖCKSNADDEL, Katharina; FRICK, Barbara; FUCHS, Dietmar. Interferon-gamma-induced conversion of tryptophan: immunologic and neuropsychiatric aspects. **Current Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 16, p. 1581–1591, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression and Other Common Mental Disorders Global Health Estimates**. Geneva. p. 24, 2017

WRÓBEL, Andrzej; SEREFKO, Anna; POLESZAK, Ewa; RECHBERGER, Tomasz. Fourteen-day administration of corticosterone may induce detrusor overactivity symptoms. **International Urogynecology Journal**, v. 27, n. 11, p. 1713–1721, 2016.

YANG, Xiaoguang; HILL, Kristina; MAGUIRE, Mark; BURK, Raymond. Synthesis and secretion of selenoprotein P by cultured rat astrocytes. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1474, n. 3, p. 390–396, 2000.

YOU, Jung-Man; YUN, Su-Jin; NAM, Kyong; KANG, Chulhun; WON, Ran; LEE, Eunjoo. Mechanism of glucocorticoid-induced oxidative stress in rat hippocampal slice cultures. **Canadian Journal Of Physiology And Pharmacology**, v. 87, n. 6, p. 440–447, 2009.

YOUDIM, Moussa; EDMONDSON, Dale; TIPTON, Keith. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 4, p. 295–309, 2006.

YOUSRI, Raafat; NOAMAN, Eman; SHAWI, Omama; FAHMY, Nadia; GHAZY, Maha. Evaluation of Anti-Oxidant Status and Radioprotective Activity of a Novel Anti-Cancer Drug in Mice. **Journal of Cancer Therapy**, v. 2, n. 5, p. 616–628, 2011.

ZHANG, Yan; ZHOU, You; SCHWEIZER, Ulrich; SAVASKAN, Nicolai; HUA, Deame; KIPNIS, Jonathan; HATFIELD, Dolph; GLADYSHEV, Vadim. Comparative analysis of selenocysteine machinery and selenoproteome gene expression in mouse brain identifies neurons as key functional sites of selenium in mammals. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 4, p. 2427–2438, 2008.