

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS QUÍMICAS, FARMACÊUTICAS E DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E BIOPROSPECÇÃO



Dissertação de Mestrado

Efeito do tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico

Natália Tavares Nonemacher

Pelotas, 2019.

Natália Tavares Nonemacher

Efeito do tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção).

Orientador: Prof. Dr. César Augusto Brüning

Co-orientadora: Prof. Dr^a. Cristiani Folharini Bortolatto

Pelotas, 2019.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

N812e Nonemacher, Natalia Tavares

Efeito do tipo antidepressivo da benzamida N-(-
-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos:
envolvimento do sistema serotoninérgico / Natalia Tavares
Nonemacher ; César Augusto Bruning, orientador ; Cristiani
Folharini Bortolatto, coorientadora. — Pelotas, 2019.

101 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação
em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências
Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade
Federal de Pelotas, 2019.

1. Depressão. 2. Composto orgânico de selênio. 3.
Benzamida. 4. Antidepressivo. 5. Sistema serotoninérgico.
I. Bruning, César Augusto, orient. II. Bortolatto, Cristiani
Folharini, coorient. III. Título.

CDD : 574.192

Natália Tavares Nonemacher

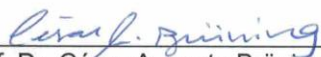
Natália Tavares Nonemacher

Efeito do tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção), Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 01/11/2019

Banca examinadora:



Prof. Dr. César Augusto Brüning (Orientador)
Doutor em Ciências Biológicas - Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)



Profª. Drª. Roselia Maria Spanevello
Doutora em Ciências Biológicas - Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)



Profª. Drª. Ana Paula Pesarico
Doutora em Ciências Biológicas - Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

AGRADECIMENTOS

Quero, primeiramente, agradecer ao meu orientador Prof. Dr. César Augusto Brüning por ter me acolhido e incentivado, pela dedicação e conhecimento transmitido. Obrigada me guiar, sempre com palavras de apoio, profissionalismo, conhecimento e disponibilidade incansável. O meu mais sincero obrigada.

Aos meus pais, Enio e Neusa, que me ensinaram a mestria de cuidar do outro, do respeito e honestidade. São meus maiores exemplos de amor e perseverança. Com o pouco que tinham sempre me deram o mundo e até hoje impulsionam minhas conquistas.

Ao meu marido, Johnny, meu porto-seguro, agradeço pelo amor e paciência. Faz questão de me apoiar e estar junto comigo em todas as jornadas e sonhos de vida.

Ao meu filho, Thomas, e a minha filha que está por chegar, que me dão forças para ser mais e melhor todos os dias. Obrigada por iluminarem os meus dias e trazerem tanta alegria para que eu siga em frente.

A co-orientadora Prof. Dr^a. Cristiani Folharini Bortolatto e alunos do Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), agradeço por partilharem comigo seu conhecimento e contribuir para a execução deste trabalho. Sem o coleguismo, carinho, humildade e dedicação de vocês esse trabalho não seria possível.

Agradeço aos professores e alunos do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção e alunos por serem parceiros e estenderem a mão sempre que preciso, e à Universidade Federal de Pelotas pela possibilidade de realização desse curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por meio do Mestrado, pelo suporte financeiro que apoiou o desenvolvimento desse trabalho.

Obrigada aos meus familiares e amigos que me acompanharam nessa etapa e em todas as outras etapas de vida contribuindo de forma direta ou indireta para o meu crescimento.

A todos vocês, meu muitíssimo obrigada.

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes”.

Isaac Newton

RESUMO

NONEMACHER, Natália Tavares. **Efeito do tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico**. 2019. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A depressão é uma doença incapacitante caracterizada por alterações psicológicas e comportamentais. Alterações nos níveis de neurotransmissores monoaminérgicos, como a dopamina, a serotonina e a noradrenalina, estão intimamente associadas à patogênese da depressão, estando o sistema serotoninérgico envolvido com o mecanismo de ação dos principais antidepressivos atualmente comercializados. Compostos orgânicos de selênio apresentam diversas propriedades farmacológicas, dentre elas o efeito do tipo antidepressivo. Nesse contexto, este estudo avaliou o efeito do tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB), um composto orgânico de selênio contendo o núcleo benzamida, no teste do nado forçado (TNF) e teste de suspensão da cauda (TSC) em camundongos, bem como o envolvimento do sistema serotoninérgico nos efeitos anti-imobilidade. A SePB, nas curvas de tempo (15-120 min) e dose resposta (1-50 mg/kg, via intragástrica), reduziu a imobilidade dos animais durante o TNF e o TSC sem alterar a atividade locomotora no teste de campo aberto (TCA), o que demonstra seu efeito antidepressivo. Foram selecionados a dose de 10 mg/kg de SePB e o tempo de 30 minutos para testar o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito do tipo antidepressivo deste composto. A pré-administração do depletor de serotonina (5-HT) *p*-clorofenilalanina (pCPA; 100 mg/kg, via intraperitonal, uma vez ao dia por 4 dias) impediu o efeito anti-imobilidade da SePB, indicando que o sistema serotoninérgico está envolvido no efeito antidepressivo da SePB. Além disso, a pré-administração dos antagonistas seletivos do receptor serotoninérgico WAY100635 (0,1 mg/kg, via subcutânea, um antagonista seletivo do receptor 5-HT_{1A}), quetanserina (1 mg/kg, ip, um antagonista do receptor 5-HT_{2A/2C}) e ondansetrona (1 mg/kg, ip, um antagonista seletivo do receptor 5-HT₃) também impediram o efeito anti-imobilidade da SePB, demonstrando que esses receptores estão envolvidos no efeito antidepressivo da SePB. Esse estudo demonstrou um efeito do tipo antidepressivo da SePB, cujo mecanismo de ação está relacionado com a modulação do sistema serotoninérgico.

Palavras-chave: Depressão, composto orgânico de selênio, benzamida, antidepressivo, sistema serotoninérgico.

ABSTRACT

NONEMACHER, Natália Tavares. **Antidepressant-like effect of N-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl) benzamide in mice: involvement of serotonergic system.** 2019. Dissertation (Master) - Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Depression is a disabling mental illness characterized by psychological and behavioral changes. Changes in monoaminergic neurotransmitter levels, such as dopamine, serotonin and norepinephrine, are closely associated with the pathogenesis of depression. Selenium organic compounds have several pharmacological properties, among them the antidepressant effect. In this context, this study evaluated the antidepressant-like effect of *N*-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB), an organoselenium compound containing the benzamide moiety, on the forced swim test (FST) and the tail suspension test (TST) in mice, as well as the involvement of the serotonergic system in anti-immobility effects. SePB, in time (15-120 min) and dose-response (1-50 mg/kg, intragastric) curves, reduced the animal immobility during FST and TST, without changing the locomotor activity in the open-field test (OFT), which demonstrate its antidepressant-like effect. The dose of 10 mg/kg of SePB and the pre-treatment time of 30 minutes were selected to test the involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of this compound. The preadministration of the serotonin (5-HT) depletor *p*-chlorophenylalanine (pCPA; 100 mg/kg, intraperitoneal route, once daily for 4 days) prevented the anti-immobility effect of SePB, indicating that the serotonergic system is involved in the SePB antidepressant-like effect. In addition, the preadministration of the selective serotonergic receptor antagonists WAY100635 (0.1 mg/kg, subcutaneous route, a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist), ketanserin (1 mg/kg, i.p., a 5-HT_{2A/2C} receptor antagonist) and ondansetron (1 mg/kg, i.p., a selective 5-HT₃ receptor antagonist) also prevented the anti-immobility effect of SePB, demonstrating that these receptors are involved in the antidepressant-like effect of SePB. This study demonstrated an effect of SePB antidepressant type, whose mechanism of action is related to the modulation of the serotonergic system.

Keywords: Depression, organic selenium compound, benzamide, antidepressant, serotonergic system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da benzamida <i>N</i> -(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica).....	13
Figura 2. Síntese de 5-HT a partir do triptofano	20
Figura 3. Esquema de inibição de transportadores para liberação de 5-HT na fenda sináptica	21
Figura 4. Exemplos de benzamidas com atividades farmacológicas	37
Figura 5. Representação esquemática dos comportamentos de imobilidade e mobilidade no teste da suspensão pela cauda	39
Figura 7. Representação esquemática dos comportamentos de mobilidade e imobilidade no teste do nado forçado	40

LISTA DE ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterase
ADTs	Antidepressivos tricíclicos
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CID	Classificação Internacional de Doenças
DA	Dopamina
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GPx	peroxidase Hipotálamo-
HPA	pituitária-adrenal Inibidores da
IMAOs	Monoaminoxidase
ISRS	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina
MAO	Monoaminoxidase
NA	Noradrenalina
SNC	Sistema nervoso central
SePB	Benzamida <i>N</i> -(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica
TCA	Teste do Campo Aberto
TNF	Teste do Nado Forçado
TSC	Teste da Suspensão da Cauda
WHO	Organização Mundial da Saúde (World Health Organization)
5-HT	Serotonina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3 REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 Depressão	15
3.2 Fisiopatologia da depressão	17
3.2.1 Sistema Monoaminérgico	18
3.2.2 Outros mecanismos envolvidos na depressão	22
3.3 Alternativas farmacológicas no tratamento da depressão e os seus efeitos ...	25
3.3.1 Inibidores da monoamina oxidase (IMAOs)	26
3.3.2 Antidepressivos tricíclicos (ADTs)	27
3.3.3 Inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS)	28
3.3.4 Antidepressivos atípicos	30
3.3.5 Inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina	31
3.4 Compostos orgânicos de selênio	32
3.5 Benzamida Selenopropargílica	37
3.6 Testes comportamentais utilizados para avaliar a depressão	38
3.6.1 Teste da suspensão da cauda (TSC)	38
3.6.2 Teste do nado forçado (TNF)	39
3.6.3 Teste do campo aberto (TCA)	40
4 RESULTADOS	42
5 CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS	79
ANEXO	100

1 INTRODUÇÃO

A depressão é uma doença mental caracterizada por alterações psicológicas e comportamentais, incluindo humor deprimido, perda de interesse ou prazer, diminuição de energia, sentimento de culpa, fracasso e desesperança, distúrbios de humor e apetite, dificuldade de concentração, exacerbação de dores, dores associadas a um aumento de tensão muscular, diminuição da libido e fadiga, sendo muito comuns também os sintomas de agitação e ansiedade (ANDREWS et al., 2015; HABERSTICK et al., 2016; MORILAK e FRAZER, 2005). Esta doença já é considerada a principal causa de incapacidade do século 21, e além do prejuízo social, causa enormes prejuízos econômicos, os quais foram estimados em mais de R\$ 2 trilhões no mundo todo em 2010 e esse custo deve dobrar nos próximos 20 anos (ANNAN, 2014; WHO, 2017).

Sabe-se que a depressão é um distúrbio multifatorial, porém a neurobiologia dessa doença e o conhecimento preciso da sua etiologia ainda não são bem esclarecidos (PAN, et al., 2018), sendo mais aceita a hipótese da teoria monoaminérgica, a qual prediz que alterações nos níveis de neurotransmissores monoaminérgicos, como a dopamina (DA) , a serotonina (5-HT) e a noradrenalina (NA) , estariam intimamente associadas à patogênese da depressão (WERNER e COVEÑAS, 2010; CAI et al., 2013; GORDON e GOELMAN, 2016). Outras teorias incluem alterações no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, com aumento do hormônio do estresse cortisol (MERALI et al., 2004), disfunção do sistema glutamatérgico (SANACORA et al., 2008), alterações nos níveis do neurotransmissor ácido γ -aminobutírico (GABA), redução de fatores neurotróficos, como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (DUMAN e MONTEGGIA, 2006) e disfunções do sistema imune (DANTZER et al., 2008).

Os principais objetivos do tratamento da depressão são atenuar os sintomas, restaurando a atividade psicossocial e ocupacional ao estado pré-sintomático, e reduzir a probabilidade de recaída e recorrência. O tratamento antidepressivo eficaz deve eliminar gradual e completamente os sintomas, melhorar o funcionamento ocupacional e interpessoal, reduzir o risco potencial de suicídio, racionalizar os recursos e reduzir o uso dos serviços de saúde (MILLAN, 2006, 2013). Existem

várias opções para o tratamento da depressão, incluindo terapia cognitiva comportamental, psicoterapia interpessoal, medicamentos, terapia eletroconvulsiva e a combinação das terapias com os antidepressivos.

O fato dos motivos subjacentes à depressão permanecerem pouco esclarecidos, constitui um condicionante para a própria terapêutica, já que os fármacos atualmente disponíveis têm ainda resultados insatisfatórios, sendo que 30% dos doentes não respondem ao tratamento (BRANDON e MCKAY, 2015; CAI et al., 2013) e além disso, dois terços dos afetados não realizam uma terapêutica adequada, estando relacionados com essa problemática a existência de muitos subdiagnósticos, preconceito e estigma em torno da própria doença (BALANESCU et al., 2016; FLEURANTIN, 2013; LAYAN et al., 2016).

Em relação às drogas que possuem alguma efetividade clínica na depressão, todas elas apresentam inúmeras limitações, como lento início de ação e muitos efeitos colaterais (PÁEZ-PEREDA, 2005). Nas últimas décadas houve um grande avanço na pesquisa por novos compostos antidepressivos e seguem as buscas por novas drogas efetivas no tratamento da depressão, que diminuam os sintomas em menos tempo e que apresentem poucos efeitos adversos.

A busca, portanto, por uma droga antidepressiva ideal ainda é alvo de estudos. O antidepressivo ideal deveria ser eficaz em todas as formas de depressão, inclusive as severas, não ter qualquer efeito adverso, ter baixo custo, poucas interações medicamentosas, poder ser aplicado em todas as idades, melhorar a qualidade do sono, ter posologia fácil e efeito ansiolítico. No entanto, uma droga com todas essas atribuições ainda não está presente no mercado

O desenvolvimento de novos alvos terapêuticos para o tratamento da depressão e a triagem de novas drogas com efeito antidepressivo são realizados por meio de modelos animais, sendo importantes ferramentas que permitem o estudo de teorias relacionadas à etiologia de depressão (DUMAN, 2010; OVERSTREET, 2012). Embora seja difícil avaliar a depressão em animais, existe a hipótese de que os mesmos possam apresentar comportamento do tipo depressivo (do inglês, *depressive-like*), como o apresentado pelos humanos (DUMAN, 2010; STEWART e KALUEFF, 2013), sendo frequentemente alcançado avaliando o comportamento do animal frente a um evento estressante inescapável (DUMAN, 2010).

A deficiência de selênio (Se) tem sido relacionada com uma ampla variedade de patologias que incluem doenças endócrinas, câncer e transtornos do humor

(FAIRWEATHER-TAIT et al., 2011). Sabe-se que baixos níveis de Se na dieta humana (32-36 µg/dia) têm sido associados com o aumento na incidência de depressão, ansiedade e agressividade (SHER, 2000, 2002) e que a suplementação da dieta com este elemento (226 µg/dia) melhora o humor e a qualidade de vida (BENTON, 2002; BENTON e COOK, 1990), o que reforça o papel do Se nas doenças afetivas.

Considerando esses aspectos, compostos orgânicos de Se sintéticos têm recebido bastante atenção devido a diversas propriedades farmacológicas que os mesmos têm apresentado (NOGUEIRA et al., 2004; NOGUEIRA e ROCHA, 2011). Muitos compostos orgânicos contendo Se apresentam efeito antioxidante e como o estresse oxidativo pode ser um importante fator patogênico da depressão (SIES, 1997), interessante, alguns desses compostos têm apresentado efeito do tipo antidepressivo (SAVEGNAGO et al., 2007; 2008; BRÜNING et al., 2010; 2011; 2015).

Além disso, moléculas orgânicas contendo o núcleo benzamida vêm sendo estudadas por diferentes grupos de pesquisa. Derivados de benzamidas substituídas com grupamentos alifáticos, aromáticos ou heteroaromáticos têm apresentado propriedades farmacológicas interessantes (ASIF, 2016), tais como antimicrobiana e antiparasitária (GURGU et al., 2017), anticonvulsivante (BAILLEUX et al., 1995), antipsicótica (YANG, F. et al., 2006), antiarrítmicas e antidepressivas, além de apresentarem efeitos analgésicos e anestésicos (COATS et al., 2004).

Dessa forma, recentemente foi realizada a síntese da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB), um composto orgânico de selênio contendo o núcleo benzamida (Figura 1), com o objetivo de testar seu possível efeito antidepressivo.

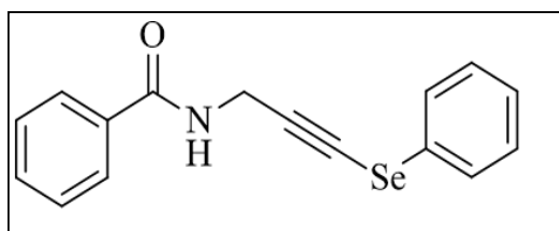


Figura 1. Estrutura química da SePB

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito do tipo antidepressivo do composto orgânico de selênio benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) em camundongos e seu envolvimento com o sistema serotoninérgico.

Objetivos Específicos

Considerando os aspectos mencionados, os objetivos específicos deste estudo compreenderam:

- Avaliar a atividade locomotora e exploratória dos camundongos no teste do campo aberto;
- Realizar uma curva de tempo-resposta do efeito do tipo antidepressivo da SePB no teste do nado forçado;
- Realizar uma curva de dose-resposta do efeito do tipo antidepressivo da SePB no teste do nado forçado e no teste de suspensão da cauda;
- Verificar se o sistema serotoninérgico está envolvido na ação do tipo antidepressiva da SePB através do bloqueio da síntese de 5-HT por p-clorofenilalanina.
- Verificar se o sistema serotoninérgico está envolvido na ação do tipo antidepressiva da SePB através da administração de antagonistas específicos dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/2C} e 5-HT₃.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Depressão

A depressão é uma doença heterogênea e multifatorial, que acomete cerca de 21% da população (desenvolvimento de pelo menos um episódio depressivo ao longo da vida) e que envolve uma complexa interação entre fatores genéticos, evolutivos e ambientais (MILLAN, 2006). Os números relacionados a transtornos de ansiedade e depressão no Brasil são altos. Segundo dados divulgados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), em fevereiro de 2017, 5,8% da população brasileira sofre de depressão, o que representa 11,5 milhões de brasileiros com a doença em números absolutos. O Brasil é o país com maior prevalência de depressão da América Latina e o segundo com maior prevalência no continente americano, ficando um pouco atrás dos Estados Unidos, que tem 5,9% de depressivos (OMS, 2017)

Essa doença está associada a problemas sociais, como dificuldade ao nível da integração social e problemas econômicos, afetando pessoas de todas as culturas e idades (BALANESCU et al., 2016; LAYAN et al., 2016). Pessoas deprimidas podem apresentar dificuldades na percepção e cuidado com o seu bem estar e saúde, déficits de interação no ambiente de trabalho e nas relações interpessoais, assim como pior desempenho cognitivo e acadêmico (BLUMENTHAL et al., 2012; PAPAKOSTAS et al., 2004). Os episódios depressivos costumam ocorrer numa fase precoce da vida, podendo tornar-se crônicos ou recorrentes (MARCUS et al., 2012). Estudos mostram que episódios depressivos não tratados, ou pessoas que apresentaram um episódio depressivo têm maiores chances de apresentar um novo episódio depressivo ao longo da vida. Além disso, crianças que apresentaram depressão na infância podem se tornar adultos depressivos (JURUENA et al., 2015; MCINTYRE e O'DONOVAN, 2004; TALAROWSKA et al., 2014).

O desenvolvimento ou aparecimento dos sintomas que caracterizam a depressão, comumente, está associado à presença de um evento aversivo, como, por exemplo, situações de estresse, descontentamento na realização de atividades

cotidianas (trabalho, casa, família) e perda de algo ou alguém significativo para o indivíduo (morte de um ente querido, fim de um relacionamento, perda do emprego, aposentadoria, saída dos filhos de casa) (DOUGHER e HACKBERT, 2003).

A doença tem como característica o sentimento deprimido na maior parte do tempo ou então pela falta de motivação para desenvolver tarefas cotidianas, de forma persistente por um período de pelo menos duas semanas. Além disso, os sintomas depressivos relacionados são a anedonia (que é o interesse diminuído ou perda de prazer para realizar as atividades consideradas prazerosas), a sensação de inutilidade ou culpa excessiva, a dificuldade de concentração (aptidão diminuída para pensar e concentrar-se), a fadiga ou perda de energia, distúrbios do sono (insônia ou hipersonia), problemas psicomotores (agitação ou retardo psicomotor), perda ou ganho de peso de forma significativa na ausência de regime alimentar, a ideação recorrente de morte ou suicídio (WHO, 2016b), bem como perda da libido, e aumento da sensação de dor (DEMYTTENAERE et al., 2005; THASE, 2013). O estado depressivo é uma alteração psicológica em que a pessoa tem um sentimento de culpa, nunca bem definido, e se sente fracassada, desesperançosa, pessimista, com auto-estima baixa, triste e melancólica (THASE, 2013).

A depressão é diagnosticada com base no DMS-V (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder*, manual para diagnóstico de transtornos mentais - DMS – V – *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder*, Fifth Ed – WHO) e geralmente um médico psiquiatra ou psicólogo utiliza os critérios padronizados pela CID-10 para concluir o diagnóstico e facilitar a comunicação entre profissionais da saúde em caso de paciente com suspeita de depressão. Esse sistema consiste na análise da presença de sintomas fundamentais e acessórios no indivíduo e que, se combinados, determinam o tipo de episódio depressivo que está sendo manifestado (FLECK et al., 2009).

É importante salientar ainda que a prevalência de depressão é superior em indivíduos que possuem uma doença crônica maior do que naqueles que não possuem qualquer comorbidade associada (LAYAN et al., 2016). A sua prevalência é também superior nas mulheres em cerca de 50% (ALBERT, 2015; BLIER e EL MANSARI, 2013; HABERSTICK et al., 2016). Quando associada a demência, é um dos principais problemas na terceira idade, existindo um acréscimo no grau de dependência dos idosos e, conseqüentemente, devido ao aumento da longevidade,

traduz-se em encargos superiores ao nível da saúde e da segurança social (MARCUS et al., 2012; MEHTA et al., 2016).

Fisiopatologia da depressão

Estudos sugerem que a depressão esteja relacionada tanto com alterações genéticas, como também ambientais, na medida em que esta é influenciada por fatores patogênicos ambientais que podem desencadear alterações a nível cerebral, através de modificações epigenéticas (BANSAL et al., 2016; CAI et al., 2013; CÓRDOVA-PALOMERA et al., 2015). Pesquisas indicam que a depressão é provavelmente causada por disfunções ao nível de variados tipos de células e de regiões do cérebro, incluindo o hipocampo. Alterações no hipocampo têm consequências negativas na atividade do córtex, da amígdala e outras estruturas relacionadas com o sistema de recompensa, da motivação e do controle emocional do nosso organismo (CAI et al., 2013).

O desenvolvimento da depressão tem sido relacionado ao estresse diário e dificuldades emocionais, além de alterações endócrinas (como hipertireoidismo e hipercortisolemia, com consequente aumento da atividade do eixo Hipófise-Pituitária-Adrenal – HPA) (CHANG et al., 2015; RON DE KLOET et al., 2005), câncer, efeitos adversos de medicamentos (ALDEA et al., 2014; EVANS et al., 2005). Diversas regiões do córtex cerebral, assim como as conexões neuronais que ocorrem entre elas e agem sobre as emoções e sobre as funções executivas estão envolvidas na depressão.

De todas as hipóteses consideradas, a deficiência de monoaminas como NA, 5-HT e DA em locais do cérebro relacionados ao humor (BRAUNWALD et al., 2009), alterações da neurogênese no hipocampo, e consequente atrofia e perda de neurônios e de células gliais no hipocampo e córtex pré-frontal são as que possuem maior relevância. Técnicas de neuroimagem permitiram ainda identificar anormalidades da morfologia cerebral, como por exemplo redução no volume da substância cinzenta na amígdala, nos córtex pré-frontal, orbitofrontal e cingulado, no hipocampo, no núcleo estriado, no hemisfério lateral direito e no hemisfério medial esquerdo; alteração da atividade e conectividade de circuitos cerebrais que regulam o humor, a cognição, o sono e comportamento, sendo demonstrada uma diminuição da conectividade funcional entre o córtex cingulado anterior e o tálamo e entre o

córtex cingulado anterior e a amígdala; diminuição da conectividade corticolímbica e do núcleo caudado e aumento da conectividade funcional no córtex pré-frontal dorso mediano (BANSAL et al., 2016; DUMAN E VOLETI, 2012; GORDON E GOELMAN, 2016).

Sistema Monoaminérgico

Nos anos 60, após a introdução no mercado dos primeiros medicamentos com efeito antidepressivo, constatou-se que eles interagem com sistemas de monoaminas (principalmente 5-HT e NA), que atuam como neurotransmissores em sinapses nervosas. Apesar da relevância da hipótese das monoaminas na investigação da depressão, atualmente existe certa resistência para sua plena aceitação, especialmente devido ao fato de todos os medicamentos antidepressivos aumentarem, de imediato, o nível desses neurotransmissores na fenda sináptica, porém seu efeito clínico só ocorre algumas semanas depois (MILLAN, 2004, 2006, 2013). Outras substâncias, como por exemplo, a cocaína, também elevam os níveis das monoaminas, mas não apresentam efeito antidepressivo (MILLAN, 2004).

A monoaminoxidase (MAO) é uma enzima mitocondrial presente em quase todos os tecidos. No Sistema Nervoso Central (SNC) ela é responsável pela desaminação de aminas, incluindo neurotransmissores monoaminérgicos (epinefrina, NA, DA e 5-HT). Foi demonstrada em 1968 a existência de 2 isoformas da MAO cerebral, tipo A (MAO-A) e tipo B (MAO-B). As quais se distinguem por diferentes afinidades em relação aos seus substratos e devido a sua sensibilidade (JOHNSTON, 1968). Sabe-se que a MAO-A possui alta afinidade pelos substratos 5-HT, enquanto a MAO-B possui preferência para a DA e feniletilamina, e ambas as enzimas atuam sobre a degradação de NA (GAWESKA e FITZPATRICK, 2011; YAMADA e YASUHARA, 2004)

A DA atua em vias de sinalização relacionadas com a atividade motora, motivação e cognição (DUNLOP e NEMEROFF, 2007) e também é associada ao sentimento de prazer e à noção de recompensa e motivação podendo influenciar diversos comportamentos como o apetite e o vício (TYE et al., 2013; STEHNO-BITTEL, 2008). Pacientes que sofrem de depressão apresentam maior quantidade de receptor de DA do que pessoas saudáveis (NEWBERG et al., 2007). Acredita-se que isso seja uma resposta compensatória de up-regulation para potencializar a

atividade dopaminérgica quando há deficiência de DA no SNC (RUHE et al., 2007; WERNER e COVEÑAS, 2010).

A NA atua no sistema nervoso autônomo e é responsável pelo aumento da vigilância e atenção às informações sensoriais, ou seja, sua atividade aumenta em situações de estresse ou que demandam muita atenção e diminui durante o sono. Níveis muito aumentados de NA levam ao transtorno do pânico (maior atividade do sistema nervoso simpático e sensação de terror) (STEHNO-BITTEL, 2008). Neurônios noradrenérgicos atuam fortemente em regiões cerebrais responsáveis pela emoção e cognição com funções que incluem a regulação do apetite, resposta ao prazer, satisfação sexual e comportamentos agressivos (MORET e BRILEY, 2011).

A ação da NA é vasta no cérebro e ocorre em diversas áreas que incluem o hipocampo, hipotálamo, amígdala e córtex cerebral. Isso sugere que qualquer alteração na rede noradrenérgica pode trazer prejuízos e implicar em diferentes distúrbios psicobiológicos (GODDARD et al., 2010). Os receptores para NA são acoplados à proteína G e divididos em dois grandes subgrupos: α e β , que agem predominantemente no relaxamento e contração de músculos e geram respostas inibitórias ou excitatórias no cérebro (STEHNO-BITTEL, 2008).

O cérebro adulto possui um fator neurotrófico derivado do cérebro chamado BDNF que controla a neurogênese e a sobrevivência dos neurônios. A neurogênese ocorre no hipocampo através de BDNF dependente de NA e 5-HT e, pessoas com diminuição nos níveis de NA apresentam comprometimento na manutenção dos neurônios nessa área do cérebro (GODDARD et al., 2010).

Sabe-se que a NA, tanto como neurotransmissor, quanto como modulador de outros neurotransmissores no SNC, tem um importante papel na sintomatologia da depressão e uma eficiente neurotransmissão noradrenérgica está relacionada com a melhora cognitiva e mental, sendo alvo de Antidepressivos Tricíclicos (ADTs) e Inibidores Seletivos da Recaptação de Noradrenalina (ISRNs) (INOUE et al., 2007).

A 5-HT, um importante neurotransmissor, é associada à saúde física e mental e diversos estudos já relacionaram o aumento dos níveis séricos de 5-HT com a melhora no humor; e a deficiência de 5-HT ou receptores de 5-HT com problemas de humor. Esse neurotransmissor está envolvido no controle de uma diversidade de funções fisiológicas, bem como ingestão de alimentos, ciclo do sono e vigília, memória, comportamento sexual, locomoção, funções endócrinas e ainda no

controle de nossas atividades emocionais e comportamentais (JACOBS e AZMITIA, 1992; LOWRY et al., 2008 ; YOUNG, 2007).

As concentrações de 5-HT estão relacionadas com o humor e percepções da dor. Níveis muito baixos geram comportamento depressivo e até mesmo suicida. Os receptores para 5-HT podem ser acoplados à proteína G ou canais regulados por ligantes e regulam funções complexas no cérebro como citado previamente (STEHNO-BITTEL, 2008).

As proteínas transportadoras envolvidas na recaptação de 5-HT são um alvo para a procura de novos agentes terapêuticos. Essas proteínas têm a função de retirar a 5-HT da fenda sináptica e quando inibidas aumentam a concentração de 5-HT, aumentando o tônus do sistema serotoninérgico, o que conseqüentemente leva a uma diminuição dos sintomas depressivos (DUPUY et al., 2011; FAVA e KENDLER, 2000). As moléculas reabsorvidas podem então ser degradadas ou armazenadas para serem liberadas posteriormente (KARG et al., 2011).

O aminoácido triptofano é o precursor da síntese de 5-HT. Duas enzimas participam da formação da 5-HT. A enzima triptofano hidroxilase converte triptofano em 5-hidroxitriptofano que é convertido em 5-HT por aminoácido aromático descarboxilase (STAHL e STAHL, 2000). Esta via está descrita na Figura 2.

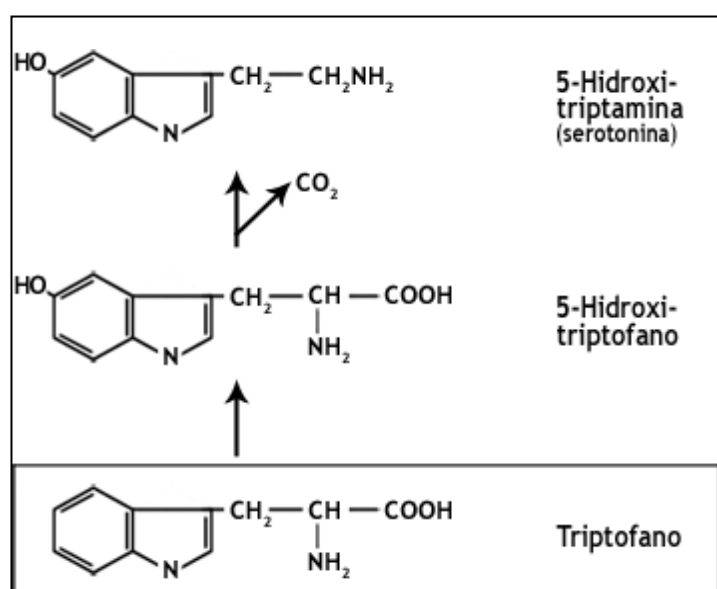


Figura 2: Síntese de 5-HT a partir do triptofano. Fonte: Negrão (2016).

Para a síntese da 5-HT é necessário que haja consumo regular do aminoácido essencial triptofano, assim como para a síntese de DA e NA faz-se necessária a presença dos aminoácidos essenciais tirosina/ fenilalanina. Dietas pobres em precursores de monoaminas diminuem a quantidade disponível no cérebro para a produção de neurotransmissores que equilibram o humor (PARKER e BROTHIE, 2011; RUHE et al, 2007).

Um estudo realizado por Meyers e colaboradores, em 2006 fez a utilização de um radioligante da enzima MAO para analisar a quantidade presente dessa proteína no cérebro e percebeu-se que pacientes que sofriam de depressão possuíam quantidade mais elevada desse metabolizador de monoaminas do que pessoas normais (MEYER et al., 2006).

A 5-HT e a NA são liberadas em todo o encéfalo por neurônios de regiões específicas e interagem com múltiplos tipos de receptores cerebrais para regular a vigília, alerta, atenção, processos sensoriais, apetite e também o humor, dentre outras funções (MURPHY e LESCH, 2008). Esses neurotransmissores são removidos das sinapses após sua liberação, por um processo de recaptação pelo neurônio pré-sináptico. Após a recaptação, são degradados no neurônio pré-sináptico pela ação da enzima MAO, ou são "re-embalados" em vesículas, para serem liberados na fenda sináptica novamente (Figura 3).

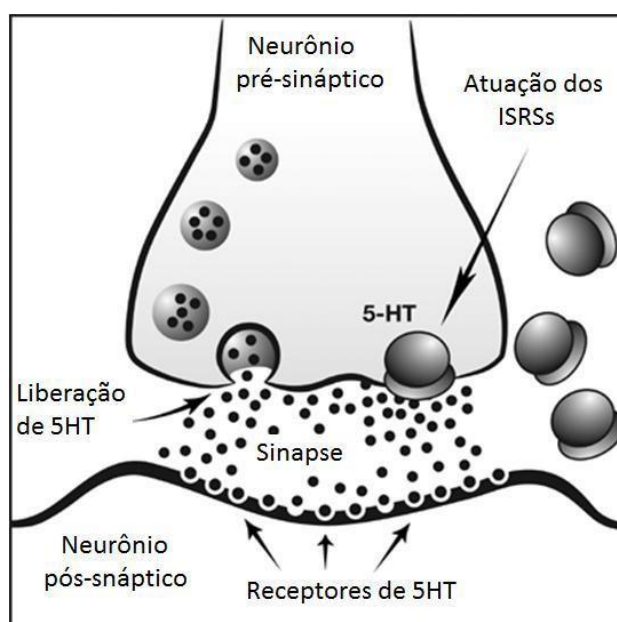


Figura 3: Esquema de inibição de transportadores para liberação de 5-HT na fenda sináptica.

Fonte: Adaptado de Lattimore (2005).

Os dois mecanismos produzem um controle nos níveis de neurotransmissores presentes na fenda sináptica. Esta constatação sugeriu inicialmente que os antidepressivos atuassem por aumento da transmissão serotoninérgica e noradrenérgica, compensando um possível estado de deficiência de neurotransmissores (MCLEOD e MCLEOD, 1971; SCHILDKRAUT, 1965).

A serotonina exerce sua ação de neurotransmissão interagindo com diversos receptores que diferem quanto a suas respostas farmacológicas a ligantes específicos, características sequenciais ou mecanismos de acoplamento a segundos mensageiros. Diversos estudos comprovam a existência de 14 subtipos de receptores de serotonina. A maioria deles, exceto o receptor 5-HT₃, pertence à família dos receptores acoplados à proteína G (G-protein-coupled receptors, GPCRs), constituídos de alfa-hélices em sete domínios transmembrânicos (BARNES e SHARP, 1999; HOYNER et al., 2002).

O receptor 5-HT_{1A} tem sido objeto de diversos estudos que demonstram sua participação em várias funções fisiológicas, tais como sono, apetite, libido, bem como em condições patológicas como ansiedade e depressão (BARRETI e VANOVER, 1993; PUCADYIL et al., 2005). A neurotransmissão serotoninérgica inclui sete famílias (5-HT₁ - 5-HT₇) distribuídas em catorze subtipos de receptores [5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}, 5-HT₆ e 5-HT₇] (HOYER ET AL., 2002; POMPEIANO, et al., 1994). Destes, os receptores 5-HT_{1A}, 5-HT₂ e 5-HT₃ são as mais diretamente envolvidas na ansiedade. Por exemplo, o primeiro ansiolítico de ação serotoninérgica específica, a buspirona, tem seu mecanismo de ação mediado pelo subtipo de receptor 5-HT_{1A} (NICHOLS E NICHOLS, 2008).

O receptor 5-HT_{1A} foi o primeiro receptor serotoninérgico a ser completamente sequenciado (FARGIN et al., 1988; KOBILKA et al., 1987) e também o primeiro para o qual anticorpos policlonais foram obtidos, permitindo sua visualização no nível subcelular em várias regiões do cérebro (EL MESTIKAWY et al., 1990).

Outros mecanismos envolvidos na depressão

Os eventos estressantes da vida cotidiana provavelmente “disparam” o desenvolvimento da depressão (TIMMERMANS et al., 2013). Eles atuam via ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), induzindo a liberação de

hormônios glicocorticoides cujas ações servem para preparar o organismo para desafios fisiológicos ou ambientais e são importantes para a consolidação da resposta ao estresse.

A persistência e a intensidade exagerada do estresse, no entanto, bem como a incapacidade do organismo em terminar sua resposta, podem tornar o eixo hiper-reativo, com prejuízos potenciais ao organismo, culminando com o desenvolvimento da depressão (NORTH e PFEFFERBAUM, 2013; RENOIR et al., 2013; TIMMERMANS et al., 2013). De fato, já foi demonstrada a existência de uma estreita associação entre o aparecimento de um episódio depressivo e a desregulação do eixo HPA. Em pacientes deprimidos, o controle inibitório da atividade do eixo HPA parece estar comprometido (BRAQUEHAIS et al., 2012; MARTOCCHIA et al., 2013). Sabe-se que a hiperativação descontrolada deste eixo causa uma elevação da liberação de hormônios glicocorticoides que, via ativação de receptores específicos, induz a liberação de mediadores sinápticos envolvidos no prejuízo das funções neurais (MUSAZZI et al., 2011; MUSAZZI et al., 2013; POPOLI et al., 2012; SANACORA et al., 2012).

Novas pesquisas provocaram a reformulação das bases fisiopatológicas dos transtornos de humor. Nesse novo paradigma, propõe-se um envolvimento direto das disfunções da plasticidade sináptica e das vias de resiliência celulares na fisiopatologia dos transtornos de humor (KERMAN, 2012; MANJI e DUMAN, 2001; MARSDEN, 2013; MILLAN, 2006, 2009). A plasticidade neuronal é caracterizada como a capacidade do cérebro produzir respostas adaptativas por meio da geração de novas conexões neurais secundariamente a estímulos internos ou externos (MARSDEN, 2013).

Associações com a epigenética na depressão já estão sendo estudadas. O interesse no mecanismo epigenético com um distúrbio de humor, parte do princípio de que interações ambientais são capazes de modificar respostas transcricionais sem haver alteração na sequência de DNA, o que explicaria a diferença da incidência da doença em gêmeos monozigóticos, por exemplo. Os mecanismos mais estudados são metilação do DNA, acetilação e metilação de histonas e microRNAs que alteram expressão gênica (KRISHNAN e NESTLER, 2008).

O glutamato é um aminoácido que atua como neurotransmissor excitatório no cérebro e não é capaz de ultrapassar barreira hemato-encefálica, portanto, toda a sua produção ocorre nos neurônios e células da glia (MITCHELL e BAKER, 2010).

Pesquisas demonstram que em muitos indivíduos sofrendo de depressão, os níveis de glutamato plasmáticos estavam elevados e estudos recentes associaram a utilização de antagonistas do receptor glutamatérgico NMDA, como a quetamina e o riluzol, com a melhora do comportamento depressivo em humanos e murinos (MITCHELL; BAKER, 2010; PARISEA et al., 2013; PITTENGER et al., 2008). Em contrapartida, alguns estudos revelaram que a concentração de glutamina e glutamato em pacientes deprimidos estava diminuída e poderia estar aumentada em pessoas que sofrem de transtorno bipolar (AJILORE, et al., 2007; MITCHELL e BAKER, 2010; YILDIZ-YESILOGLU e ANKERST, 2006).

Isso evidencia que o papel do glutamato na depressão pode envolver receptores pré e pós-sinápticos e que há interação entre o sistema de monoaminas e o glutamato. Sabe-se também que neurônios GABAérgicos e glutamatérgicos trabalham em conjunto, o que indica forte probabilidade de haver disfunção de GABA na depressão do mesmo modo que há disfunção de glutamato (CHAKI et al. 2006; MITCHELL e BAKER, 2010).

O neurotransmissor GABA, assim como o glutamato, não atravessa a barreira hemato-encefálica e é, portanto, formado no cérebro a partir do glutamato por ação da enzima glutamato descarboxilase, fazendo da glutamina um precursor indireto desse neurotransmissor (SIGMA, 2016). O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC e a hiperatividade neuronal pode ser ocasionada por baixos níveis de neurotransmissores inibitórios, que é uma das causas de convulsões (STEHN-BITTEL, 2008).

A relação do neurotransmissor GABA com distúrbios de humor foi observada pela primeira vez em 1980 por Emrich et al., que perceberam que a utilização de ácido valpróico, um agonista do receptor de GABA, era eficiente no tratamento de pacientes com transtorno bipolar (NOWAK et al., 2006.).

Um estudo realizado por Hasler et al. (2007) demonstrou por meio de técnicas de imagem in vivo que a concentração nos níveis de GABA e glutamato em pacientes com depressão estava diminuída em relação à concentração presente nos controles, o que corrobora com resultados encontrados em estudos postmortem anteriores.

Alternativas farmacológicas no tratamento da depressão e os seus efeitos

A terapia farmacológica é, atualmente, a forma mais utilizada para o tratamento da depressão (MILLAN, 2006, 2009, 2013; RACAGNI e POPOLI, 2010). Os antidepressivos são um grupo heterogêneo de medicamentos com efeitos terapêuticos em comum e, embora a maioria desses fármacos também seja eficaz no tratamento de outras doenças (OLATUNJI et al., 2008; POWERS et al., 2013; ZYLICZ et al., 1998), os efeitos mais importantes estão relacionados à terapia da depressão. Os antidepressivos produzem, em média, uma melhora dos sintomas depressivos de 60% a 70% enquanto a taxa de placebo é em torno de 30%. Esta taxa de melhora dificilmente é encontrada em outras abordagens terapêuticas de depressão, motivo que faz com que a terapia medicamentosa seja a mais usada (MILLAN, 2004, 2006).

O desenvolvimento de drogas específicas para o tratamento da depressão ocorreu no final da década de 50 do século passado, com a descoberta dos inibidores da monoaminoxidase (IMAOs) e os ADTs. Os antidepressivos clássicos são os compostos inibidores da monoamina oxidase (MAO) (selegilina, moclobemida), compostos tricíclicos (imipramina, maprotilina) e drogas que atuam especificamente sobre o sistema serotoninérgico (fluoxetina, venlafaxina, paroxetina) (WONG e LICINIO, 2001).

Na década de 70 surgiram os antidepressivos atípicos, sendo exemplos a nomifensina, mianserina, viloxazina, a trazodona, e a matrotilina. Posteriormente os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), liderados pela fluoxetina, destacaram-se por apresentar menos efeitos adversos e uma boa eficácia. Estes fármacos inibem de forma potente e seletiva a recaptação de 5-HT, resultando em potencialização da neurotransmissão serotoninérgica. A fluoxetina, citalopram, paroxetina e sertralina são exemplos de fármacos ISRS (ÁLAMO e LÓPEZ-MUÑOZ; 2010).

Embora existam várias opções de tratamento (farmacológicas e não farmacológicas) para o transtorno depressivo maior, 34-46% dos pacientes não respondem adequadamente ao tratamento (FAVA e DAVIDSON, 1996). Esses pacientes são classificados como tendo depressão *resistente ao tratamento* , que geralmente é definida como uma resposta inadequada (ou seja, falha na obtenção da remissão completa) a um ou mais tratamentos antidepressivos após duração e

dose adequadas (FAVA e DAVIDSON, 2003). A depressão resistente ao tratamento está bem documentada na literatura e é discutida como um subtipo de depressão; no entanto, não há uma definição unificada (SCHULBERG et. al., 1998 ; UHER et al., 2011).

Inibidores da monoamina oxidase (IMAOs)

Ao desenvolver novos compostos para tratamento da tuberculose, Fox e Gibas (1953) sintetizaram a iproniazida, um derivado monoalquila da isoniazida. Observações clínicas relataram “efeitos colaterais” da iproniazida em pacientes em tratamento de tuberculose, que incluíram euforia, psicoestimulação, aumento do apetite e melhora do sono (LOPEZ-MUNOZ et al., 2007 ; PLETSCHER, 1991). Mais tarde (1958) outro estudo clínico foi realizado em pacientes com depressão, no qual os pacientes foram tratados com iproniazida por várias semanas, obtendo melhorias significativas em 70% desses pacientes (LOOMER et al., 1958).

O mecanismo de ação destes fármacos se dá pela inibição da enzima monoamina oxidase, responsável pela degradação das aminas biogênicas no neurônio pré-sináptico (BUENO, 2000; CORDIOLI, 2007). As MAOs são responsáveis pela decomposição de aminas biogênicas estão localizados no terminal pré-sináptico. Um resultado da inibição da MAO é que as concentrações de neurotransmissores de monoamina aumentam no terminal pré-sináptico e estão prontamente disponíveis para liberação quando os potenciais de ação atingem o terminal nervoso (SHULMAN et al., 2013).

Existem IMAOs de efeito reversível e irreversível. Quando o efeito é reversível, o medicamento possui meia-vida menor e são necessárias mais doses, já que o efeito é mais breve. Já os IMAOs de efeito irreversível (como fenelzina, tranilcipromina e isocarboxazida, por exemplo) provocam uma ligação irreversível com a enzima MAO que leva à sua destruição e é preciso um intervalo de 10 a 14 dias para que o corpo possa sintetizar novamente a qualidade de enzima perdida (BUENO, 2000; CORDIOLI, 2007).

A redução na atividade da MAO resulta em aumento na concentração desses neurotransmissores nos locais de armazenamento no SNC e no sistema nervoso simpático. A inibição não seletiva dos IMAO fenelzina, isocarboxazida e tranilcipromina resulta em subsensibilização de receptores α_2 - ou β -adrenérgicos e

de 5-HT. A moclobemida é um antidepressivo inibidor seletivo da MAO-A e reversível, que desamina 5-HT e NA, ao passo que inibidores seletivos da MAO-B, como a selegilina, não possuem ação antidepressiva significativa (HIMMELHOCH, 1995).

Quando comparado com outros medicamentos antidepressivos, os IMAOs são bem menos utilizados, devido aos inúmeros efeitos colaterais e restrições dietéticas. Entre os efeitos adversos proporcionados pelo uso de IMAOs estão os efeitos sobre o sistema nervoso simpático, como hipotensão, insônia, aumento de peso e disfunção sexual e há o risco de hepatotoxicidade e crise hipertensiva caracterizada por náuseas, vômitos, cefaleia, sudorese e rigidez da nuca (CORDIOLI, 2007). A tiramina é uma amina simpatomimética derivada da tirosina presente em alguns alimentos fermentados e, quando presente em grandes quantidades no corpo, eleva a liberação de catecolaminas. Durante o uso de IMAOs irreversíveis, esse excesso de catecolaminas não é controlado, pois não há degradação das mesmas, e seus efeitos no sistema nervoso são potencializados, podendo levar à uma crise hipertensiva (CORDIOLI, 2007; NAILA et al., 2010). Logo, indivíduos que utilizam esse tipo de antidepressivo devem evitar alimentos ricos em tiramina e também interações com medicamentos de efeito α -adrenérgico (BUENO, 2000).

Antidepressivos tricíclicos (ADTs)

Os ADTs são compostos indicados para uma variedade de transtornos, incluindo depressão, transtorno de ansiedade e transtornos alimentares (CORDIOLI, 2007). Como resultado da descoberta e sucesso da clorpromazina para o tratamento da esquizofrenia, a busca por drogas antipsicóticas mais potentes se intensificou. Muitos destes novos compostos foram modificados molecularmente a partir da estrutura anti-histamínica clássica. O composto imipramina foi derivado da prometazina substituindo uma ponte de enxofre do anel fenotiazina por uma ponte de etileno (DOMINO, 1999 ; FANGMANN et al., 2008). A imipramina (Tofranil®) foi aprovada em 1959 pela Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de transtorno depressivo maior, que estabeleceu a classe de medicamentos denominados ADTs. O mecanismo de ação desses antidepressivos consiste no bloqueio da recaptação de 5HT, NA e DA pelo neurônio pré-sináptico. Os ADTs

também atuam como antagonistas competitivos de receptores muscarínicos colinérgicos, histamínicos tipo 1 e adrenérgicos (α e β) (CORDIOLI, 2007; MORENO; MORENO; SOARES, 1999).

Acredita-se que as inibições da recaptação de NA e SE nas proteínas de transporte sejam responsáveis pelos efeitos terapêuticos dos ACTs e resultem em concentrações aumentadas de NA e 5-HT na fenda sináptica, respectivamente. A seletividade para transportadores de NA ou 5-HT depende dos compostos; no entanto, como a maioria dos ADTs é mais seletiva para o transportador de NA em relação ao transportador de 5-HT (OWENS et al., 1997; SÁNCHEZ e HYTTEL, 1999 ; THOMAS et al., , 1987).

Os efeitos colaterais gerados pelos ATCs dependem do sistema envolvido na neurotransmissão. São eles: anticolinérgicos: mediados pelo sistema nervoso autônomo e incluem boca seca, turvação visual, hipertensão ocular, retenção urinária, confusão. Cardiovasculares: hipotensão, taquicardia, achatamento das ondas T, prolongamento do intervalo QT e depressão do segmento ST (street) no ecocardiograma. Neurológicos: ocorrem devido à ação anticolinérgica e podem gerar tremores das mãos, parestesias, bloqueio da fala, ataxia e mioclonias. Endócrinos/metabólicos: o efeito anti-histamínico dos ATCs já foi associado com o aumento de peso presente. Galactorréia, amenorreia e disfunções sexuais ocorrem com menos frequência. Disfunções no eixo hipotálamo-hipófise também podem acontecer e levam à anorgasmia e impotência sexual (BUENO, 2000; CORDIOLI, 2007; MORENO et al., 1999).

Os ATCs sofrem ação das enzimas do citocromo P450 (CYP450) – principalmente 2D6, 1A2, 3A4, 2C9 e 2C19 – no fígado e geralmente são inativados, assim a concentração no plasma se mantém baixa, mas suficiente para que surja efeito. Quando ocorrem interações medicamentosas com fármacos que competem pela CYP450, como fluoxetina, citalopram, bupropiona e venlafaxina, as concentrações no plasma de ATCs podem aumentar para níveis alarmantes e gerar toxicidade (GILLMAN, 2007; SOARES, 2016).

Inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS)

No final da década de 1960, começaram a surgir evidências sugerindo um papel significativo da 5-HT no transtorno depressivo maior (SHAW et al., ,

1967). Como resultado, a empresa farmacêutica Eli Lilly começou a desenvolver moléculas que inibiam seletivamente a recaptação de 5-HT nos transportadores de 5-HT e, como resultado, aumentavam as concentrações de 5-HT na fenda sináptica para estimular ainda mais os receptores pós-sinápticos da 5-HT. Em 1974, o primeiro relatório sobre o inibidor seletivo da recaptação de 5-HT foi publicado, sugerindo que a fluoxetina seria um medicamento antidepressivo (WONG et al., 1974). A fluoxetina foi aprovada pelo FDA em dezembro de 1987 e foi lançada no mercado em janeiro de 1988 sob o nome comercial Prozac® (WONG et al., 1995 ; WONG et al., 2005)

Embora a fluoxetina tenha sido o primeiro ISRS aprovado e comercializado nos Estados Unidos, os ensaios clínicos (Fase I-Fase III) duraram mais de sete anos e, durante esse período, a Astra AB introduziu o primeiro ISRS zimeldina (Zelmid®) no mercado europeu em março 1982. A zimeldina, derivada da feniramina, foi removida do mercado europeu em setembro de 1983 devido a efeitos colaterais graves, como reações de hipersensibilidade e síndrome de Guillain-Barre, que é neuropatia periférica aguda. As reações de hipersensibilidade se assemelhavam a uma síndrome semelhante à gripe, que incluía febre, dor nas articulações / músculos, dores de cabeça e efeitos hepáticos. A ocorrência estimada da reação de hipersensibilidade foi de 3: 1000. Curiosamente, a zimeldina produziu as reações de hipersensibilidade em 1,5% dos pacientes durante os ensaios clínicos, mas ainda foi aprovada no mercado europeu (MONTGOMERY et al., ; NILSSON, 1983). Durante os 16 meses em que a zimeldina estava no mercado, houve 10 casos confirmados de síndrome de Guillain-Barre e todos esses pacientes estavam em tratamento com zimeldina (FAGIUS et al., 1985).

ISRS estão 20-1500 vezes mais seletivos para a inibição da 5-HT sobre a NA nas suas respectivas proteínas transportadoras e têm afinidade de ligação mínima para outros receptores pós-sinápticos, como α adrenérgico α_1 , α_2 , e β , histamina H_1 , muscarínico, e dopamina D_2 receptores (OWENS et al., 1997 ; THOMAS et al., 1987). Os ISRSs (por exemplo, fluoxetina e citalopram) também não estimulam a liberação de 5-HT ou NA pré-sináptica (Rothman et al., 2001) e têm fraca ou nenhuma ação farmacológica direta nos receptores pós-sinápticos da 5-HT (por exemplo, 5-HT $1A$, 5-HT $2A$, e 5-HT $2C$) (OWENS et al., 1997 ; SÁNCHEZ e HYTTEL, 1999 ; THOMAS et al., 1987). Portanto, o aumento da atividade nos receptores pós-sinápticos da 5-HT produzidos pelos ISRS é resultado do aumento das

concentrações de 5-HT na fenda sináptica através da inibição da recaptação, em vez da ligação direta ao receptor pós-sináptico (PAPAKOSTAS, 2008).

ISRS são mais eficientes em depressões moderadas e apresentam efeitos colaterais que incluem náuseas, diarreia, disfunções sexuais, tonteiras, perda do apetite, cefaleia, insônia e inquietação motora. Pacientes idosos com comprometimento renal devem se atentar à dose, pois a meia vida dessas drogas varia de 23 a 220 horas e o seu acúmulo no organismo pode se tornar tóxico (BUENO, 2000). Alguns tipos de ISRS são capazes de inibir enzimas do citocromo P450, contribuindo para o acúmulo e toxicidade de outros medicamentos no corpo (MORENO et al., 1999).

A síndrome serotoninérgica é uma condição que ocorre quando há interação medicamentosa que culmina em uma exagerada ação serotoninérgica no sistema nervoso. Drogas como L-triptofano, lítio, IMAOs e até mesmo ISRS em doses aumentadas podem gerar os sintomas clínicos da síndrome. Esses sintomas formam a tríade que inclui alterações do estado mental (confusão, agitação), hiperatividade autonômica (diarreia, febre, mudanças na pressão arterial, vômitos e náuseas) e anormalidades neuromusculares (mioclonias, tremores) (ALMEIDA e KOWACS, 2013; MORENO et al., 1999).

Antidepressivos atípicos

Vários novos antidepressivos foram desenvolvidos nas últimas duas décadas, no entanto, os mecanismos de ação desses medicamentos são semelhantes aos antidepressivos já estabelecidos. Logo após a introdução da fluoxetina, foi aprovado o medicamento bupropiona (1989) (FAVA et al., 2005 ; STAHL et al., 2004) um antidepressivo “atípico” pertencente a uma classe química única (aminocetona). A bupropiona é principalmente um inibidor da recaptação de DA-NA, possuindo maior afinidade de ligação para os transportadores de DA e é pelo menos duas vezes mais seletiva para os transportadores de DA em comparação com os transportadores de NA (BYMASTER et al., 2002 ; LETCHWORTH et al., 2000 ; PRISTUPA et al., 1994). Além disso, a bupropiona exibe uma afinidade de ligação mínima ou inexistente para transportadores de 5-HT ou outros receptores pré e pós-sinápticos (BYMASTER et al., 2002 ;CUSACK et ai., 1994 ; SÁNCHEZ e HYTTEL, 1999). Pesquisas clínicas

mostraram que a bupropiona é tão eficaz quanto outros medicamentos antidepressivos para o tratamento da TDM e é bem tolerada com os três efeitos colaterais mais frequentes da bupropiona: boca seca, náusea e insônia (FEIGHNER, et al., 1984; FEIGHNER et al., 1986 ; MOREIRA, 2011). Além disso, a bupropiona tem o menor risco de disfunção sexual (quase a metade) em comparação com os ACTs, IMAOs, ISRS e SNRIs (CLAYTON et al., 2002 ; STAHL ET AL., 2004) Não existem outros inibidores seletivos da recaptação de DA-NA no mercado para o tratamento da depressão.

Em setembro de 2013, a vortioxetina (Brintellix®) tornou-se o medicamento antidepressivo mais recente aprovado pelo FDA para o tratamento do transtorno depressivo maior. A vortioxetina pertence à classe química das piperazinas e foi comercializada como uma droga "multimodal" porque a vortioxetina exibe alta afinidade de ligação e mecanismos de ação complementares para vários receptores de 5-HT (por exemplo, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{3A} Transportadores 5-HT₇ e serotonina). Especificamente, é um vortioxetine serotonina 5-HT_{1A} agonista do receptor, 5-HT_{1B}receptor agonista parcial, 5-HT_{3A} e 5-HT₇ antagonista do receptor, e um inibidor da reabsorção de 5-HT potente (BANG-ANDERSEN et al, 2011. ; MORK et al, 2012.). A vortioxetina possui considerável afinidade por receptores para transportadores de DA e NA; no entanto, a vortioxetina é aproximadamente 3 a 12 vezes mais seletiva para os transportadores de 5-HT, em comparação com os transportadores de DA e NA, respectivamente (BANG-ANDERSEN et al., 2011). A eficácia clínica e a tolerabilidade da vortioxetina são comparáveis a outros antidepressivos, com os efeitos colaterais mais comuns sendo náusea e dor de cabeça. A vortioxetina parece ter um baixo risco de disfunção sexual e ganho de peso (ALAM et al ; BOULENGER et al., 2012 ; BOULENGER et al., 2014 ; GIBBS e DEEKS, 2014 ; PEARCE e MURPHY, 2014). É importante observar que estudos clínicos (MCINTYRE et al., 2014) e pré-clínicos (DU JARDIN et al., 2014 ; JENSEN et al., 2014 ; MORK et al., 2013) mostraram que estudos vortioxetina pode ajudar a melhorar o funcionamento cognitivo.

Inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina

O próximo medicamento antidepressivo "atípico", venlafaxina, foi introduzido no mercado dos Estados Unidos em 1993, e esse medicamento visa seletivamente os transportadores de 5-HT e NA. A forma de liberação imediata de venlafaxina

(Effexor®), um inibidor da recaptação de serotonina-noradrenalina, foi aprovada pelo FDA (Food and Drug Administration) para o tratamento de MDD em 1993 e em 1997 a forma de liberação prolongada de venlafaxina também foi aprovada para MDD (PAPAKOSTAS, 2009). Desde a aprovação da venlafaxina, vários outros SNRIs (por exemplo, duloxetine [Cymbalta®] e milnacipran [Savella®]) foram aprovados para o tratamento de MDD. Os SNRIs são semelhantes aos ADTs, pois inibem a recaptação de 5-HT nos transportadores de 5-HT e NA, respectivamente. Diferentemente dos ADTs, os SNRIs têm ação farmacológica mínima ou inexistente nos receptores adrenérgicos (α_1 , α_2 e β), histamina (H_1), muscarínica, dopamina ou serotonina pós-sináptica (BYMASTER et al., 2001 ; MILLAN et al., 2001 ; OWENS et al., 1997 ; SÁNCHEZ E HYTTEL, 1999 ; VAISCHNAVI et al., 2004). Há alguma evidência que sugere que os SNRIs podem ser mais eficazes para o tratamento de TDM em comparação com os ISRS; no entanto, essas diferenças são relativamente modestas (PAPAKOSTAS et al, 2007 ; STAHL et al., 2005). A tolerabilidade clínica e a prevalência de disfunção sexual dos SNRIs são comparáveis com outros tratamentos antidepressivos (CLAYTON et al., 2002 ; STAHL et al., 2005).

Dados mostram que em relação às drogas que possuem alguma efetividade clínica na depressão, todas elas apresentam inúmeras limitações, como lento início de ação e muitos efeitos colaterais (PÁEZ-PEREDA, 2005), o que demonstra a importância da busca por tratamentos mais efetivos para a depressão.

Compostos orgânicos de selênio

O Se é um calcogênio do grupo 16 da tabela periódica e pode apresentar-se sob a forma orgânica (selenocisteína, selenocistina e selenometionina) e inorgânica (selenito e selenato) (NAKAMURO et al., 2000; PAPP et al., 2007). O papel biológico e nutricional do Se foi salientado em 1957, quando K. Schwarz e C.M. Foltz, comprovaram que o Se presente na levedura da cerveja diminuía a incidência de necrose hepática em ratos. Assim, passou a ser reconhecido que, em baixas concentrações, o Se possuía propriedades benéficas (LETAVAYOVÁ et al., 2006) e rapidamente se demonstrou que a deficiência em Se era também a causa de outras doenças em vários animais, designadamente alterações a nível muscular e vascular com grande impacto econômico (COMBS e GRAY, 1998).

Após essas descobertas, o Se passou a ser reconhecido como um elemento essencial para o desenvolvimento e metabolismo dos mamíferos, com importantes funções na proteção antioxidante contra danos causados por radicais livres em membranas celulares, lipoproteínas e ácidos nucleicos, na reprodução masculina e no normal desempenho do sistema imune (ALEXANDER, 2015). O Se tem atividade redox e está presente como resíduo de selenocisteína no sítio ativo das enzimas glutathione peroxidase (GPx) (WINGLER e BRIGELIUS-FLOHÉ, 1999), tioredoxina redutase (HOLMGREN, 1985), 5'-deiodinase (BEHNE e KYRIAKOPOULOS, 1990) e selenoproteína P (Ursini et al., 1990).

O Se também é considerado um importante modulador do humor e consiste num importante elemento capaz de modular a neurotransmissão dopaminérgica (KHAN, 2010; RASEKH *et al.*, 1997). Porém os mecanismos pelos quais o Se exerce esse efeito ainda não foram esclarecidos. Rasekh *et al.* (1997) sugere que o Se pode potencializar a função da DA no sistema nervoso central de ratos e estudos demonstram que quando há depleção de Se no organismo, o cérebro recebe uma oferta prioritária deste elemento em relação aos outros órgãos (BUCKMAN et al., 1993; WHANGER, 2001).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a ingestão diária recomendada para adultos deste micronutriente mineral é de 70µg. Níveis diminuídos deste elemento na dieta (< 40 µg/dia) estão associados com um aumento na incidência de ansiedade, depressão e agressividade (FINLEY e PENLAND, 1998) estando também associado ao déficit cognitivo e podendo agravar condições neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (SCHWEIZER et al., 2004; CORRIGAN et al., 1991), além de alterar a taxa de *turnover* de neurotransmissores (CASTANO et al., 1997).

Ao contrário, o aumento dos níveis de selênio na dieta ou a suplementação estão associados à melhora do humor e estado depressivo (BENTON AND COOK, 1991; RAYMAN et al., 2006; RAYMAN 2008), embora altos níveis deste elemento possam ser tóxicos (MOXON e RHIAN, 1943). Evidências clínicas demonstraram, ainda, o efeito benéfico do Se em doses superiores à dose diária recomendada (200-300 µg/dia) na prevenção de alguns tipos de câncer, em doenças cardiovasculares, como fator retardador no processo de envelhecimento, na progressão da doença em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) e na fertilidade masculina (LETAVAYOVÁ *et al.*, 2006).

O excesso de Se é excretado por via urinária após transformação em formas metiladas menos tóxicas como o metilselenol, trimetilselenônio ou selenoaçúcares, sendo estes posteriormente eliminados (GIERUS, 2007). Outras vias secundárias utilizadas para a excreção são: a eliminação fecal, a nível do folículo piloso, secreções biológicas e através das unhas (HERNÁNDEZ-MENDONZA e RIOS-LUGO, 2009). Em situações de ingestão de níveis muito elevados de Se, a via respiratória passa a ser uma via complementar de excreção do elemento na forma metilada (dimetilselenito). A biotransformação e excreção são, por isso, o principal mecanismo através do qual a homeostase do Se é mantida durante uma exposição excessiva havendo uma fase rápida de eliminação (1-3 dias dependendo da quantidade ingerida) e uma fase lenta de 30-110 dias (ALEXANDER, 2015).

A dose máxima admissível está fixada em 300-400 µg/dia e a dose letal média varia entre os valores de 1,5 e 6 mg/kg de peso corporal para a maioria dos compostos de Se e espécies animais. A intoxicação por Se é chamada selenose e o sistema nervoso central parece ser o órgão-alvo. No entanto, o fígado, o coração e os pulmões podem também ser afetados (ALEXANDER, 2015). Os principais sintomas incluem um hálito a alho, distúrbios gastrointestinais, perda de cabelo, descamação das unhas, danos neurológicos e fadiga (HERNÁNDEZ-MENDONZA e RIOS-LUGO, 2009).

Nas últimas décadas, o interesse em bioquímica, farmacologia e toxicologia de compostos orgânicos de Se aumentou de maneira significativa devido à variedade de propriedades biológicas desempenhadas por estes compostos (PARNHAM e GRAF, 1991, KANDA et al., 1999, NOGUEIRA et al., 2004). Os compostos orgânicos de Se são constituintes importantes e versáteis na síntese orgânica, destacando-se aqueles que apresentam átomos de nitrogênio, pois pertencem a uma classe que lhes permitem utiliza-los em vários propósitos, e também são caracterizados como potentes agentes farmacológicos com toxicidade menor quando comparada aos compostos inorgânicos (NOGUEIRA et al., 2014).

Estudos têm sido concentrados no desenvolvimento de compostos de Se estáveis que possuam potencial terapêutico para uma variedade de doenças humanas (NARAJJI et al., 2007). Os compostos orgânicos de Se, ebselen e disseleneto de difenila (PhSe)₂, têm merecido destaque na literatura desde a década de 80 principalmente por serem miméticos da enzima glutathione peroxidase (MÜLLER et al., 1984; WENDEL et al., 1984; WILSON et al., 1989).

O ebselen (2-fenil-1,2-benzilsoselenazol3(2H)-ona) foi o primeiro exemplo desta classe de compostos (PARNHAM e KINDT, 1984), cujas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias têm merecido destaque no campo da farmacologia. Este composto foi descrito e caracterizado como um mimético da enzima glutathione peroxidase na década de 80 (MULLER et al., 1984), entretanto, apenas a partir da década de 90, cresceu enormemente o número de trabalhos demonstrando seus efeitos protetores em diferentes tipos celulares e para os mais diversos tipos de injúria. O ebselen demonstrou ações anti-inflamatória e antioxidante em diversos modelos experimentais in vivo e in vitro (SCHEWE, 1995, PORCIUNCULA et al., 2003, BRODSKY et al., 2004). Além disso, foi empregado com sucesso em estudos clínicos em pacientes com aneurisma hemorrágico e isquemia aguda (PARNHAM e SIES, 2000).

Recentemente, um estudo utilizando camundongos apoE -/- mostrou o efeito antiaterogênico do ebselen na aterosclerose associada à hiperglicemia (CHEW et al., 2009). Outros trabalhos verificaram que o ebselen restaura a função endotelial em ratos diabéticos (BRODSKY et al., 2004) e diminui as lesões ateroscleróticas em camundongos transgênicos com expressão aumentada da NADPH oxidase (KHATRI et al., 2004). As atividades farmacológicas do ebselen podem ser explicadas em parte por sua capacidade de neutralizar eficientemente hidroperóxidos orgânicos e ONOO-, mimetizando a enzima GPx (MULLER et al., 1984, MASUMOTO e SIES, 1996).

Outro composto orgânico de Se que se destaca é o disseleneto de difenila (PhSe)₂, que reage eficientemente com hidroperóxidos e peróxidos orgânicos, através de reação similar a catalisada pela GPx. Todavia, o (PhSe)₂ demonstrou ser mais ativo como mimético da GPx (WILSON et al., 1989) e menos tóxico em roedores que o ebselen (MEOTTI et al., 2003, NOGUEIRA et al., 2003). O mecanismo catalítico para a detoxificação de peróxidos pelo (PhSe)₂ foi proposto. Inicialmente o (PhSe)₂ reage com um grupamento tiol (RSH) (por exemplo GSH) originando um selenilsulfeto, o qual reage com um segundo equivalente de GSH formando um selenol (SeH), este selenol reduz o H₂O₂ ou peróxidos lipídicos em H₂O, fechando assim o ciclo catalítico (NOGUEIRA e ROCHA, 2010). Este composto apresenta papel protetor em uma variedade de modelos experimentais associados à produção exacerbada de radicais livres (ROSSATO et al., 2002, GHISLENI et al., 2003, BURGER et al., 2004, MEOTTI et al., 2004, BORGES et al., 2005). Em

modelo experimental de diabetes, o tratamento com $(\text{PhSe})_2$ reduziu significativamente a hiperglicemia e a indução de estresse oxidativo em diferentes tecidos de roedores (BARBOSA et al., 2006, BARBOSA et al., 2008). Adicionalmente, este composto foi capaz atuar benéficamente em modelos experimentais de inflamação e dor (NOGUEIRA et al., 2003, SAVEGNAGO et al., 2006, SAVEGNAGO et al., 2007, SAVEGNAGO et al., 2008), e na indução de hepatotoxicidade em roedores (BORGES et al., 2005, BORGES et al., 2008). O $(\text{PhSe})_2$ também demonstrou proteger as plaquetas humanas contra peroxidação lipídica induzida pelo nitroprussiato de sódio, um doador de óxido nítrico, e reativou a atividade da GPx nestas células (POSSER et al., 2006).

A toxicidade dos compostos de Se parece ter ligação direta com a interação destes compostos com grupos tiol presentes em biomoléculas. A oxidação dos tióis endógenos por compostos orgânicos e inorgânicos de Se desempenha um papel crucial na toxicidade destes compostos. Além disso, a oxidação dos grupos tiol pode produzir espécies reativas de oxigênio sendo este um fator a mais na toxicidade dos compostos de Se (NOGUEIRA e ROCHA, 2011). Por outro lado, a oxidação de grupos tiol por disselenetos dá origem a grupos selenol que podem catalisar a decomposição do peróxido de hidrogênio apresentando, desta forma, propriedades farmacológicas. Este comportamento contrastante é dose dependente e também depende da via de administração (NOGUEIRA e ROCHA, 2010).

Diversos estudos envolvendo as ações do tipo antidepressiva e ansiolítica de compostos de Se já foram realizados, tendo demonstrado seus efeitos em diferentes modelos experimentais (BORTOLATTO et al., 2012; BRUNING et al., 2011; GAY et al., 2010; JESSE et al., 2010; POSSER et al., 2009; ROCHA et al., 2012). Concomitantemente a esses estudos, o risco de contaminação ocupacional por compostos de Se tem motivado pesquisas voltadas ao entendimento dos seus efeitos tóxicos. Alguns estudos mostram que a toxicidade do ebselen e $(\text{PhSe})_2$ são bastante similares, dependendo no entanto, da via de administração e do modelo animal utilizado (MEOTTI et al., 2003; NOGUEIRA et al., 2003b). Entretanto, quando administrados em doses farmacológicas, ambos os compostos apresentam baixa toxicidade tanto para ratos como para camundongos (NOGUEIRA et al., 2004). Em estudos envolvendo modelos experimentais de depressão como TSC e TNF, o efeito do tipo antidepressivo destes compostos parece ser mediado por uma interação com o sistema monoaminérgico (BRUNING et al., 2011; POSSER et al., 2009). Diante

disso, a pesquisa científica tem dado atenção aos efeitos farmacológicos de compostos orgânicos de Se, principalmente no que se refere aos seus efeitos sobre o SNC (NARAJJI et al., 2007; PATAI, 2012).

Benzamida Selenopropargílica

A benzamida é um derivado da amida do ácido carbônico do ácido benzóico, possui uma ampla gama de propriedades farmacológicas, como antidepressivo, antifúngico (SONDA et al., 2005), analgésico (COATS et al., 2004), anti-inflamatório (CALIENDO et al., 2001) e anticonvulsivante (FOSTER et al., 1999).

Exemplos disso são as amidas halogenadas, derivadas de ácido cinâmico e ácido benzoico que apresentam atividade antifúngica contra uma vasta gama de estirpes do gênero *Cândida* (Figura 4) (MONTES et al., 2016). Destaca-se também, nesse sentido, a parsalmida, fármaco anti-inflamatório não esteroide, que tem sido amplamente utilizado para tratar pacientes com artrite. Devido ao potencial anti-inflamatório, uma série de novos compostos relacionados a parsalmida tem sido estudada como, por exemplo, 4-amino-2-(benziloxi)-*n*-butilbenzamida (Figura 4) (CALIENDO et al., 2001).

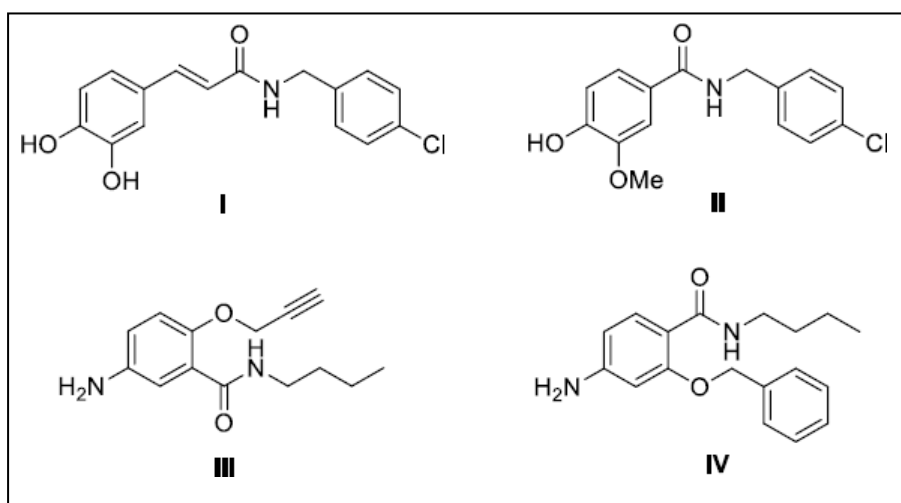


Figura 4 -Exemplos de benzamidas com atividades farmacológicas. Derivados de ácido cinâmico (I) e ácido benzoico (II), parsalmida (III) e 4-amino-2-(benziloxi)-*n*-butilbenzamida (IV). Fonte: BALBOM, 2018.

Considerando a notável importância das benzamidas e dos organocalcogênicos, é de grande interesse explorar um composto orgânico de Se contendo benzamida como estratégia para o desenvolvimento de novos fármacos capazes de atuar no transtorno depressivo. A SePB é um novo composto orgânico de Se contendo o núcleo benzamida recentemente sintetizado, e seus efeitos farmacológicos ainda não haviam sido testados até o desenvolvimento deste trabalho.

Testes comportamentais utilizados para avaliar a depressão

Entre os principais modelos para *screening* de efeito do tipo antidepressivo de novas moléculas destacam-se o teste do nado forçado (TNF) e teste da suspensão da cauda (TSC). Nestes testes os animais são expostos a um evento estressante inescapável e o comportamento deste animal frente a esse evento é avaliado. Já o TCA utilizado para avaliação da atividade locomotora, consiste em confrontar o animal com a novidade do ambiente e observar comportamentos de locomoção (número de quadrantes percorridos pelo animal), frequência de levantamentos, defecação e o tempo gasto para deixar a área central (CHOLERIS et al., 2001).

Teste da suspensão da cauda (TSC)

Este teste foi inicialmente proposto por STÉRU et al. (1985), para avaliar uma possível ação tipo antidepressiva. Os roedores são pendurados pela cauda (Figura 6) e após um período de movimentos de tentativas de fuga, estes desenvolvem uma postura de imobilidade, o que é resultado de uma situação estressante e inescapável. Esta imobilidade é observada durante um tempo total de teste de 6 minutos (STERU et al., 1985).

O TSC é um dos modelos mais tradicionais para o estudo da depressão em animais de laboratório, por apresentar alto valor preditivo devido à resposta aos medicamentos antidepressivos existentes, sabendo que os antidepressivos utilizados na clínica diminuem o tempo de imobilidade dos animais neste teste (CRYAN; MARKOU; LUCKI, 2002), uma redução do comportamento de imobilidade e/ou o aumento da latência à imobilidade de um grupo submetido a um dado

tratamento, em relação ao grupo veículo, sugere uma ação antidepressiva (TEIXEIRA-SILVA et al., 2006).

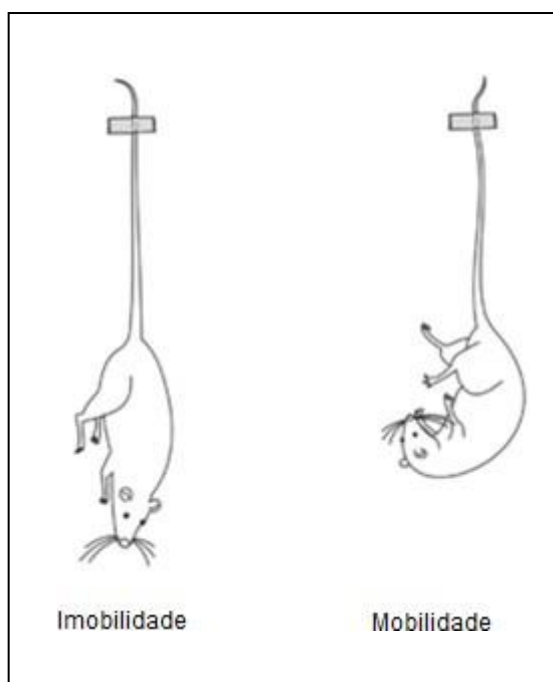


Figura 5. Representação esquemática dos comportamentos de imobilidade e mobilidade no teste da suspensão pela cauda. Fonte: Adaptado de ABELAIRA et al., 2013.

Teste do nado forçado (TNF)

Este teste foi originalmente descrito por Porsolt e colaboradores em 1977, sendo amplamente utilizado na triagem de novas drogas antidepressivas, por possuir alto valor preditivo, devido à resposta aos medicamentos já existentes, como os ADTs, ISRS, inibidores da MAO e antidepressivos atípicos (PORSOLT et al., 1977; CRYAN e LUCKI, 2000; CRYAN et al., 2002)..

O TNF apresenta um princípio semelhante ao do TSC. Esse teste possui alto valor preditivo para o efeito tipo antidepressivo e também constitui um teste comum para o estudo de novas drogas. Neste teste os roedores são expostos a uma situação aversiva, nadar em um tanque cilíndrico com água, onde eles não podem tocar o fundo do cilindro ou fugir (escape).

Assim como no TSC, o TNF geralmente tem duração de 6 minutos onde se observa o tempo total de imobilidade apresentado pelos animais. Tanto ratos como

camundongos podem ser usados para o estudo do efeito do tipo antidepressivo de drogas através do TNF. Muitas hipóteses têm sido desenvolvidas para explicar a adaptação física que é a imobilidade observada nos dois testes citados acima (CRYAN et al., 2005). Uma das hipóteses, e a mais aceita, é baseada na ideia de que o animal “perde a esperança de escapar” de tal situação, em outras palavras a falta de persistência em escapar é percebida como uma desistência e refletida em tempo de imobilidade descrito como um estado depressivo (THIERRY et al., 1984). As substâncias antidepressivas revertem esse quadro diminuindo assim o tempo de imobilidade fazendo com que o animal não desista de escapar das situações impostas a ele.

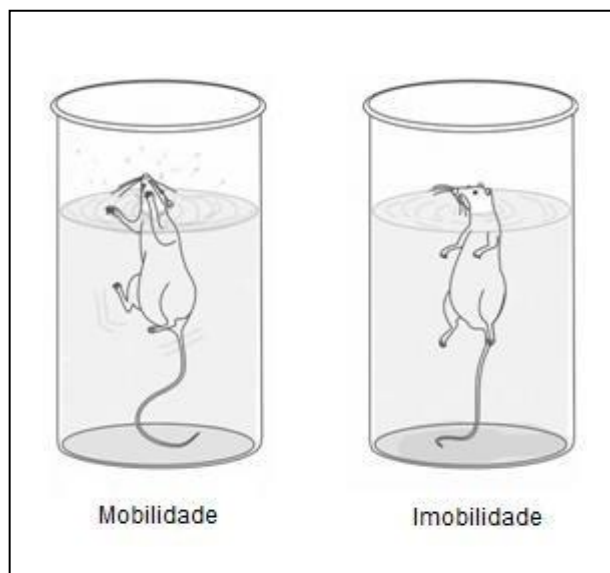


Figura 6. Representação esquemática dos comportamentos de mobilidade e imobilidade no teste do nado forçado. Fonte: Adaptado de ABELAIRA et al., 2013.

Teste do campo aberto (TCA)

Outro teste etológico bastante utilizado é o TCA. Desenvolvido por Hall (1936), este teste é realizado em uma caixa medindo 45 x 45 x 30 cm, com o chão dividido em 9 quadrantes iguais. Durante a sessão de teste, o número de quadrantes cruzados com todas as patas e elevações em um período de 6 minutos são utilizados como parâmetro para a avaliação da atividade locomotora e exploratória dos animais (WALSH e CUMMINS, 1976).

O TCA é utilizado para verificar os efeitos de substâncias sobre o sistema motor dos animais, a fim de excluir a possibilidade de que a diminuição do tempo de imobilidade exibida nos testes preditivos de efeito tipo antidepressivo, como no TSC ou no TNF, seja devido a uma estimulação motora. Substâncias estimulantes do SNC tendem a aumentar os parâmetros comportamentais registrados no modelo enquanto que substâncias depressoras tendem a diminuí-los. (WALSH e CUMMINS, 1976). Consiste em confrontar o animal com a novidade do ambiente e observar comportamentos de locomoção (número de quadrantes percorridos pelo animal), frequência de levantamentos, defecação e o tempo gasto para deixar a área central. Os roedores parecem preferir a periferia ao centro do aparelho, devido à tigmotaxia (CHOLERIS et al., 2001) normalmente deambulando em contato com as paredes. Assim, além da ansiedade, o teste também é capaz de avaliar a locomoção dos animais. Fármacos ansiolíticos como 33 benzodiazepínicos, buspirona e fluoxetina aumentam a exploração da área central (CRAWLEY, 1981; STEFAŃSKI et al., 1992; DE ANGELIS, 1996; SCHMITT E HIEMKE, 1998; PRUT e BELZUNG, 2003).

4 RESULTADOS

Os resultados que fazem parte dessa dissertação estão apresentados na forma de um manuscrito. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas do manuscrito estão dispostos de acordo com a recomendação do periódico científico.

Manuscrito Científico

Todos os resultados desta dissertação serão apresentados na forma de manuscrito submetido a um periódico científico internacional. O manuscrito está formatado segundo as regras do próprio periódico.

**Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice:
involvement of the serotonergic system**

Evelyn Mianes Besckow¹, Natália Tavares Nonemacher¹, Cleisson Schossler Garcia¹, Carlos Natã da Silva Espíndola¹, Éverton Berwanger Balbom², Fabiane Gritzenco², Lucielli Savegnago³, Benhur Godoi², Cristiani Folharini Bortolatto^{1*}, César Augusto Brüning^{1*}

¹Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Neurobiotechnology Research Group, Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPe), Pelotas, RS, 96010-900, Brazil.

²Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos (NUSAACOI), Federal University of Fronteira Sul (UFFS), Cerro Largo, RS, Brazil.

³Postgraduate Program in Biotechnology, Neurobiotechnology Research Group, Center of Biotechnology, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.

*Correspondence should be sent to:

César Augusto Brüning - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPe), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: cabruning@yahoo.com.br. ORCID: 0000-0003-0814-0203

Cristiani Folharini Bortolatto - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPe), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: cbortolatto@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9509-444

Abstract

Major depression is a psychiatric disorder that requires a lot of care, once it dramatically impairs the quality of life of the bearers and the available treatments do not present the efficacy needed, often presenting several side effects. Organoselenium compounds and benzamides have presented some pharmacological properties, among them the antidepressant-like effect. In this context, this study evaluated the antidepressant-like effect of *N*-(3-(phenylselenanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB), an organoselenium compound containing the benzamide moiety, on the forced swim test (FST) and the tail suspension test (TST) in mice, as well as the involvement of the serotonergic system in anti-immobility effects. SePB, in time (15-120 min) and dose-response (1-50 mg/kg, intraperitoneally, i.p.) curves, reduced the animal immobility during FST and TST, without changing the locomotor activity in the open-field test (OFT), which demonstrate its antidepressant-like effect. The preadministration of the serotonin (5-HT) depletor *p*-chlorophenylalanine (pCPA; 100 mg/kg, intraperitoneal route (i.p., once daily for 4 days) prevented the anti-immobility effect of SePB, indicating that the serotonergic system is involved in the SePB antidepressant-like effect. In addition, the preadministration of the selective serotonergic receptor antagonists WAY100635 (0.1 mg/kg, subcutaneous route, s.c., a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist), ketanserin (1 mg/kg, i.p., a 5-HT_{2A/2C} receptor antagonist) and ondansetron (1 mg/kg, i.p., a selective 5-HT₃ receptor antagonist) also prevented the anti-immobility effect of SePB, demonstrating that these receptors are involved in the antidepressant-like effect of SePB. Searching new antidepressant drugs is noteworthy and this study pointed out a new compound with antidepressant-like effect, whose mechanism of action is related to modulation of serotonergic system.

Keywords: Major depression, benzamide, selenium, serotonin, tail suspension test.

1. Introduction

Major depression is a heterogenic, multifactorial, complex and chronic mental disorder that affects more than 300 million people of all ages around the world, according to the World Health Organization (WHO) data, which show that depressive disorders increase more than 18% between 2005 and 2015. WHO also projects that depression will be the reason number one for incapacitation for work until 2030, bringing significative social and economic losses (WHO, 2017).

The pathogenesis of depression has given rise to many theories, among them the reduction of monoamine neurotransmitters like serotonin, noradrenaline and dopamine in the central nervous system (Coppen, 1967), dysfunction in the glutamatergic system (Sanacora *et al.*, 2008), alterations of the hypothalamus-hypophysis-adrenal axis (Merali *et al.*, 2004), shrinkage of neurotrophic factors (Duman & Monteggia, 2006) and disfunctions of the immune system (Dantzer *et al.*, 2014). However, monoaminergic deficiency is still considered the most clinically relevant neurobiological theory. Among the monoamine neurotransmitters, serotonin (5-HT) is the most extensively studied (Belmaker & Agam, 2008).

Most of the antidepressive treatments and especially those of the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI's) class increase the efficiency of the transmission of 5-HT in the postsynaptic neuron, inducing the activation of 5-HT postsynaptic receptors (Artigas, 2013). Among the 5-HT receptor family, the most widely studied receptors related to the physiopathology of depression are 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/2C} and 5-HT₃. The 5-HT_{1A} attracts special attention due to its central role in the regulation of 5-HT neurotransmission, as well as being involved in stress response mechanisms, aggressive behavior, anxiety and depression (Popova & Naumenko, 2013). As the commercially available treatments for depressive disorder do not show

the efficacy wished in many situations, a lot of patients are resistant to this type of treatment (Hegadoren *et al.*, 2009; Dupuy *et al.*, 2011). Beyond that, antidepressants present presented innumerable limitations, such as a slow onset action and many side effects (Paez-Pereda, 2005; Hillhouse & Porter, 2015). The SSRI's, for example, even being the most widely used treatment for major depressive disorders, show beneficial effects after 2 to 4 weeks and only about 33% of patients show remission to first-line treatment (Samuels *et al.*, 2016). Therefore, it's necessary to search for new treatments to provide antidepressant drugs with fast action time, fewer side effects and a higher efficacy.

Many studies around selenium organic compounds have shown promising pharmacological properties, such as antidepressants, anti-inflammatories, antioxidants and antinociceptives (Nogueira *et al.*, 2004; Savegnago *et al.*, 2007b; Savegnago *et al.*, 2008; Bruning *et al.*, 2010; Bruning *et al.*, 2011; Roman *et al.*, 2014; Bruning *et al.*, 2015; Pinto Brod *et al.*, 2016). Selenium is an essential element for human health and it is present in several mammals protective enzymes, including glutathione peroxidase (GPx) and thioredoxin reductase (TrxR) (Reich & Hondal, 2016). This element has been used on chemical structures for the development of new drugs over the years due to its pharmacological properties (Wrobel *et al.*, 2016). On another field, benzamide is a carbonic acid amide derivative from benzoic acid, it has a wide range of pharmacological properties, such as antidepressive (Sonda *et al.*, 2005), analgesic (Coats *et al.*, 2004), anti-inflammatory (Caliendo *et al.*, 2001) and anticonvulsant (Foster *et al.*, 1999). Therefore, it is interesting to explore a selenium containing-benzamide as a strategy for the development of new drugs capable of acting on the depressive disorder.

2. Material and methods

Animals

The tests were performed on adult male Swiss mice (25-30g) from the Central Biotery of the Federal University of Pelotas. All experiments were performed on separate groups of animals and each animal was used only once in each test. The animals were maintained at $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, in a 12h light / 12h dark cycle until the moment of the behavioral analyzes, with free access to water and food. The experiments were conducted according to the standards of the UFPel Animal Ethics and Welfare Committee (CEEAA 4903-2017), affiliated to the Council for Control of Animal Experiments (CONCEA), and according to National Institutes of Health Guide for the care and use of laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978). Every effort has been made to minimize animal suffering and reduce the number of animals used in the experiments.

Drugs

SePB (Figure 1) was synthesized in the Nucleus of Synthesis and Application of Organic and Inorganic Compounds (NUSAACOI), Federal University of Fronteira Sul (UFFS), according to Balbom *et al.* (2019). Analysis of the ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra showed analytical and spectroscopic data in full agreement with its assigned structure. The chemical purity of SePB (99.9%) was determined by GC/MS. N-[2-[4-(2-Methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-N-2pyridinylcyclohexanecarboxamide (WAY100635), ketanserin and p-chlorophenylalanine (pCPA) were purchased from Sigma Chemical Co. (St Louis, Missouri, USA). All other chemicals were of analytical grade and obtained from standard commercial suppliers. The positive control drug fluoxetine was administered to mice at a dose of 20 mg/kg, intraperitoneally (i.p.)

(Shakiba *et al.*, 2019). All drugs were diluted in saline, except SePB, that was diluted in canola oil, and administered to mice in a constant volume of 10 ml/kg of body weight. Appropriate vehicle-treated groups were also assessed simultaneously.

Behavioral analyses

Open-field test (OFT)

To evaluate possible effects of the treatments on the locomotor and exploratory activities of mice, 4 min before the depressive-like behavioral analysis the animals were evaluated in the open field test (OFT), according to Walsh and Cummins (1976). Each mouse was inserted in the center of a wooden box (30 cm x 40 cm x 40 cm) in which the bottom was properly divided into 9 equal quadrants. For 4 minutes, the number of quadrants crossed (crossings) and the frequency that the mouse stood on two paws (rearings), both on the wall of the box and in the air, were recorded. At the end of each test, the wooden crate was completely cleaned with alcohol 20% in order to prevent possible sensory abilities of olfaction between animal tests.

Forced swimming test (FST)

Forced swimming test (FST) is a validated pharmacological test for the study of depressive behavior, originally published by Porsolt *et al.* (1977). The mice were individually forced to swim in an open cylindrical container (diameter 10 cm, height 25 cm), containing 19 cm of water at 25°C and their escape related mobility behavior (latency for the first immobility episode and total duration of immobility) was recorded during 6 min period by a blinded observer. Each mouse was judged to be motionless when it stopped fighting and remained floating without moving in the water, making only the movements necessary to keep its head above water. The water in the

cylinder was changed after each swim session. An increase in the latency to the first immobility episode as well as a reduction in the immobility time was considered indicative of antidepressant-like effect. For the time-response curve of SePB in the FST, the animals were treated intragastrically (i.g) with 10 mg/kg of SePB and after different times (15, 30, 60 and 120 min) the FST was performed. For the dose-response curve, the animals were treated with different doses of SePB (1, 10 and 50 mg/kg, i.g.) and after 30 min (the best time obtained in the time-response curve), the FST was performed.

Tail Suspension Test (TST)

Another test widely used to identify depressive-like behavior in animals is the tail suspension test (TST) (Steru *et al.*, 1985). Each mouse was suspended 50 cm above the floor by adhesive tape placed approximately 1 cm from the tip of the tail. Each mouse was suspended for 6 min, and the time spent immobile as well as the latency to the first immobility episode were recorded. Mice were considered immobile only when they hung passively and completely motionless. An increase in the latency to the first immobility episode as well as a reduction in the immobility time was considered indicative of antidepressant-like effect. For the dose-response curve, the animals were treated with different doses of SePB (1, 10 and 50 mg/kg, i.g.) and after 30 min the TST was performed.

Involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of SePB

In order to test the hypothesis that the antidepressant effect of SePB could be mediated by its interaction with the serotonergic system, mice were pretreated with

p-CPA, a molecule capable of depleting brain 5-HT levels by inhibiting its biosynthesis. p-CPA was administered to mice at a dose of 100 mg/kg intraperitoneally, once daily, for 4 consecutive days (Machado *et al.*, 2007). On the fifth day (24 hours after the last administration of p-CPA), mice received SePB 10 mg/kg i.g. (an intermediate dose) 30 min before the TST.

To evaluate the contribution of specific 5-HT receptors in the antidepressant-like effect of SePB, mice were pretreated with WAY100635 (0.1 mg/kg, s.c., a 5-HT_{1A} receptor antagonist), ketanserin (1 mg/kg, i.p., a 5-HT_{2A/2C} receptor antagonist) or ondansetron (1 mg/kg, i.p., a 5-HT₃ receptor antagonist). and after 15 min they received SePB (10 mg/kg, i.g.) and 30 min later the TST was performed. The doses and treatment schedule of the 5-HT receptors antagonists were chosen based on previous experiments (Machado *et al.*, 2007; Jesse *et al.*, 2010; Bruning *et al.*, 2011).

Statistical Analysis

The experimental data obtained were expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (S.E.M). Normal distribution of data was assessed by the D'Agostino and Pearson normality test. Comparisons among experimental groups were performed by one-way or two-way ANOVA analysis of variance, when appropriate, followed by the Newman-Keuls *post-hoc* test. The comparison between the control group and fluoxetine was performed by the unpaired t-test. Probability values less than 0.05 ($p < 0.05$) were considered as statistically significant. All analyzes were performed using GraphPad Software (GraphPad, San Diego, CA, USA).

3. Results

Antidepressant-like effect of SePB on FST

A time course analysis of the SePB antidepressant-like profile was performed applying the FST after 15, 30, 60 and 120 min from the treatment. As shown in **Figure 2**, SePB at a dose of 10 mg/kg significantly increased the latency to the first episode of immobility at 30 min after the treatment [$F_{(4,30)} = 5.787$, $p = 0.0014$] (**Fig. 2A**). Moreover, SePB reduced the immobility time of mice at all time points analyzed, although at 30 min there was a greater reduction (38%) [$F_{(4,30)} = 14.56$, $p < 0.0001$] (**Fig. 2B**). No significant changes were observed in the number of crossings [$F_{(4,30)} = 0.9712$, $p = 0.4378$] and rearings [$F_{(4,30)} = 1.376$, $p = 0.2658$] among groups in the OFT (**Table S1**). Considering these results, the SePB presented an antidepressive-like effect on the FST and the 30 min time was chosen to perform a dose curve-response on the FST and for the following behavioral tests.

The dose-response curve of the antidepressant-like effect of SePB (1, 10 and 50 mg/kg, i.g.) was constructed based on previous results obtained from pharmacological activities of different organic compounds containing selenium (Savegnago *et al.*, 2007b; Savegnago *et al.*, 2008; Bruning *et al.*, 2011). The SePB, administered to mice 30 min before the FST, increased the latency to immobility at doses of 10 and 50 mg/kg [$F_{(3,26)} = 6.022$, $p = 0.003$] (**Fig. 3A**) and decreased the immobility time of mice at all doses [$F_{(3,26)} = 6.434$, $p = 0.0021$] (**Fig. 3B**). Fluoxetine was used as a positive control, at a dose of 20 mg/kg (i.p.). Fluoxetine increased the latency for the first episode of immobility of mice [unpaired t-test, $t = 5.15$, $df = 12$, $p = 0.0002$] (**Fig. 3A**) and reduced the total immobility time [unpaired t-test, $t = 5.73$, $df = 12$, $p < 0.0001$] (**Fig. 3B**), which validates the FST performed in this study. In addition, no significant changes were observed in the number of crossings [$F_{(3,26)} = 1.077$, $p = 0.3762$] and rearings [$F_{(3,26)} = 2.529$, $p = 0.0792$] in the animals treated with different doses of SePB in the OFT. Fluoxetine also did not modify the crossing

number [unpaired t-test, $t = 0.86$, $df = 12$, $p = 0.4049$], but caused a decrease in the number of rearings [unpaired t-test, $t = 3.524$, $df = 11$, $p = 0.0048$] (**Table S2**).

Antidepressant-like effect of SePB on TST

The mice treated with SePB 30 min before the TST demonstrated an increase in the latency to the first episode of immobility, starting at the 10 mg/kg, as shown in **figure 4A** [$F_{(3,27)} = 5.68$, $p = 0.0038$]. Beyond that, SePB reduced the immobility time of mice at all doses tested (**Fig. 4B**) [$F_{(3,27)} = 5.975$, $p = 0.0029$]. As a test validator, fluoxetine (20 mg/kg) also increased the latency to the first episode of immobility [unpaired t-test, $t = 2.86$, $df = 14$, $p = 0.0126$] and reduced the total immobility time [unpaired t-test, $t = 2.94$, $df = 14$, $p = 0.0107$] of mice in the TST. These results demonstrate that SePB present antidepressant-like effect in the TST. The dose of 10 mg/kg of SePB was effective both in the increase of latency to the first episode of immobility and in the decrease of immobility time in the TST and, therefore, was selected for the subsequent studies in the TST to evaluate the involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of SePB.

3.3 Involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of SePB

The results depicted in **Figure 5** demonstrate that the pretreatment of mice with the 5-HT synthesis inhibitor p-CPA prevented the antidepressant-like effect of SePB (10 mg/kg) in the TST. p-CPA blocked both the increase in the latency to the first episode of immobility [interaction $F_{(1,26)} = 9.88$, $p = 0.0041$] (**Fig. 5A**) and the reduction of the total immobility time induced by SePB [interaction $F_{(1,26)} = 9.342$, $p = 0.0051$] (**Fig. 5B**). The p-CPA and/or SePB treated animals presented no changes in

locomotor activity when compared to the vehicle group, either in crossing or in rearing number ($p > 0.05$) (**Table S3**).

To address the role of specific serotonergic receptors in the antidepressant-like effect of SePB, mice were pretreated with different 5-HT receptors antagonists. As can be seen in **Figure 6**, the pretreatment of mice with WAY100635 (a 5-HT_{1A} receptor antagonist) blocked the effect of SePB (10 mg/kg) on TST. SePB increased the latency to the first episode of immobility and decreased the immobility time of mice, demonstrating its antidepressant-like effect and WAY100635 prevented the alterations in the total immobility time [interaction $F_{(1,27)} = 4.679$, $p = 0.040$] (**Fig. 6A**), and in the latency to first immobility [interaction $F_{(1,27)} = 9.675$, $p = 0.004$] (**Fig. 6B**) caused by SePB. In the OFT, no significant effects of tested treatments were found on locomotor activity ($P > 0.05$) (**Table S4**).

The pretreatment of mice with ketanserin (a 5-HT_{2A/2C} receptor antagonist) also prevented the antidepressant-like effect of SePB (10 mg/kg) in the TST, once this antagonist blocked the increase in the latency to first episode of immobility caused by the compound [interaction $F_{(1,35)} = 23.13$, $p < 0.001$] (**Fig. 7A**) and the decrease in the total immobility time [interaction $F_{(1,35)} = 13.15$, $p < 0.001$] (**Fig. 7B**) of mice caused by SePB treatment. No significant change was found in the number of crossings ($p > 0.05$) in the animals treated with SePB and/or ketanserin, but an interaction of ketanserin and SePB treatment was found for rearing statistical analysis [$F_{(1,35)} = 6.036$, $p < 0.0189$], and *post hoc* comparisons revealed that animals treated with ketanserin and SePB had a decrease of rearing episodes when compared with the control group (**Table S5**).

Ondansetron (a 5-HT₃ receptor antagonist) also blocked the antidepressant-like effect of SePB (10 mg/kg) on TST, demonstrated by the prevention of both the

increase of the latency to first episode of immobility [$F_{(1,36)} = 4.795$, $p = 0.0351$] (**Fig. 8A**) and the reduction of immobility time [$F_{(1,36)} = 10.05$, $p = 0.0031$] (**Fig. 8B**) of mice caused by SePB. No significant changes were observed in the locomotor activity of mice in the OFT ($p > 0.05$) (**Table S6**).

4. Discussion

The results presented in this study demonstrate that SePB, an organoselenium compound, has antidepressant-like effect in mice when evaluated in the FST and TST. SePB induced an increase in the latency to the first episode of immobility as well as a reduction in the total immobility time of the animals in both tests. The antidepressant-like effect of SePB is inferred from its anti-immobility effects in those tests (Steru *et al.*, 1985). Accordingly, fluoxetine, a well-known antidepressant drug, also produced anti-immobility effects in both tests used in this study. In addition, SePB, at all doses tested, did not generate any locomotor alteration in animals when compared to the control group in the OFT. This indicates that a psychostimulant effect is not responsible for the decrease in immobility time that SePB provokes, in both FST and TST tests.

There are several theories related to the pathogenesis of depression. The monoamine deficit is the most widely accepted and among the different monoamines, the 5-HT stands out (Coppen, 1967). Molecules that block 5-HT reuptake or inhibit the monoamine oxidase (MAO), an enzyme responsible for degrading monoamines, increase the availability of 5-HT in the synaptic cleft and have been clinically effective as antidepressants (Belmaker & Agam, 2008). Thus, in this study, the pharmacological involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of SePB was evaluated. To investigate this possible relation, the animals were

pretreated with p-CPA, a tryptophan hydroxylase enzyme inhibitor, known for decreasing the brain 5-HT levels. The depletion of 5-HT by p-CPA completely antagonized the antidepressant-like effect caused by SePB in the TST. The fact that 5-HT depletion reversed the anti-immobility effect of SePB indicates that its antidepressant-like action requires the 5-HT system to be intact, showing the involvement of the serotonergic system with the antidepressant-like effect of SePB.

Different groups of 5-HT receptors have been demonstrated to be targets for antidepressant drugs (Bruning *et al.*, 2011; Yohn *et al.*, 2017; Kedzierska *et al.*, 2019). These receptors are divided into seven groups and are G protein-coupled receptors (GPCR), with exception of 5-HT₃ that is an ionotropic receptor. The present study evaluated the involvement of the 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/2C} and 5-HT₃ receptors in the antidepressant-like effect of SePB (10 mg/kg) in the TST in mice, through administration of selective antagonists of these receptors.

The 5-HT_{1A} antagonist WAY100635 totally blocked the anti-immobility effect of SePB in the TST without changing the locomotor activity of mice, which indicates that the 5-HT_{1A} receptor is involved in the antidepressant-like effect of SePB. The 5-HT_{1A} receptors are present in the frontal cortex, hippocampus, amygdala, and raphe nuclei, and their distribution is similar in rodent and human brains (Kedzierska *et al.*, 2019). Previous studies have shown that indeed there is a relation between the 5-HT_{1A} receptor and the pathophysiology of depression. Through positron emission tomography (PET), it was demonstrated that patients with major depressive disorders presented a widespread reduction in the availability of 5-HT_{1A} receptors suggesting the involvement of this receptor subtype in the pathophysiology of the illness (Hirvonen *et al.*, 2008). In this context, research have been made to develop molecules that activate 5-HT_{1A} receptors exhibiting potent, rapid-acting and sustained

antidepressant-like effect in animal models (Samuels *et al.*, 2016; Sniecikowska *et al.*, 2019). Some of them are already approved as antidepressant drugs, such as vilazodone and vortioxetine (McIntyre, 2017).

The 5-HT₂ receptors are also widely distributed at varying densities throughout the brain, in a pattern that suggests that their activation may be implicated in the regulation of mood disorders (Celada *et al.*, 2004). Various 5-HT_{2C} subtype receptor agonists, for example, were active in the FST, suggesting their antidepressant efficacy (Cryan & Lucki, 2000). In this work, the 5-HT_{2A/2C} receptor antagonist ketanserin prevented the antidepressant-like effect of SePB (10 mg/kg) in the TST, without causing locomotor alterations. This result shows that the 5-HT_{2A/2C} receptor is some way related to the antidepressant-like action of SePB.

Furthermore, the administration of ondansetron, a selective 5-HT₃ receptor antagonist, prevented the antidepressant-like effect of SePB (10 mg/kg), without changing locomotor activity parameters, showing that the 5-HT₃ receptor is also involved in the antidepressant-like effect of SePB. The role of 5-HT₃ receptors in depressive disorders is less studied than 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A/2C}, but the antidepressant-like effect of other organoselenium compounds was also inhibited by ondansetron (Savegnago *et al.*, 2007a; Bruning *et al.*, 2011).

Due to the fact that drugs having some clinical effectiveness in treating depression present several limitations, such as a slow onset of action and many side effects (Paez-Pereda, 2005), the results obtained in this study are of interest. SePB induced antidepressant-like effect in both FST and TST at low doses, two well-known animal models for screening antidepressant drugs. Beyond, the study demonstrated that the mechanism of action of SePB is related to the serotonergic system, because there is a dependence between the drug effect and the monoamine 5-HT, once the

depletion of 5-HT by p-CPA completely abolished the antidepressant-like effect of SePB. Furthermore, through the administration of selective antagonists of the serotonin receptors 5-HT_{1A} (WAY100635), 5-HT_{2A/2C} (ketanserin) and 5-HT₃ (ondansetron), it was possible to establish that the SePB antidepressant-like action is closely related to these receptors, once all antagonists blocked the effect of SePB. Further studies are needed to determine exactly how SePB interacts with the serotonergic system and if other neurotransmission systems are involved in its antidepressant-like effect.

Conflicts of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PROAP) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant numbers 420386/2018-1 and 438384/2018-0) for the financial support. C.S.G. is recipient of Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) fellowship.

Compliance with ethical standards

The experiments were conducted according to the standards of the UFPel Animal Ethics and Welfare Committee (CEEA 4903-2017), affiliated to the Council for Control of Animal Experiments (CONCEA), and according to National Institutes of Health Guide for the care and use of laboratory animals (NIH Publications No. 8023,

revised 1978). Every effort has been made to minimize animal suffering and reduce the number of animals used in the experiments.

5. References

- Artigas, F. (2013) Serotonin receptors involved in antidepressant effects. *Pharmacol Ther*, **137**, 119-131.
- Balbom, E.B., Gritzenco, F., Sperança, A., Godoi, M., Alves, D., Barcellos, T. & Godoi, B. (2019) Copper-catalyzed Csp-chalcogen bond formation: Versatile approach to N-(3-(organochalcogenyl)prop-2-yn-1-yl)amides. *Tetrahedron*, **75**, 4017-4023.
- Belmaker, R.H. & Agam, G. (2008) Major depressive disorder. *N Engl J Med*, **358**, 55-68.
- Bruning, C.A., Martini, F., Soares, S.M., Sampaio, T.B., Gai, B.M., Duarte, M.M. & Nogueira, C.W. (2015) m-Trifluoromethyl-diphenyl diselenide, a multi-target selenium compound, prevented mechanical allodynia and depressive-like behavior in a mouse comorbid pain and depression model. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **63**, 35-46.
- Bruning, C.A., Prigol, M., Roehrs, J.A., Zeni, G. & Nogueira, C.W. (2010) Evidence for the involvement of mu-opioid and delta-opioid receptors in the antinociceptive effect caused by oral administration of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice. *Behav Pharmacol*, **21**, 621-626.
- Bruning, C.A., Souza, A.C., Gai, B.M., Zeni, G. & Nogueira, C.W. (2011) Antidepressant-like effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in the mouse forced swimming test involves opioid and serotonergic systems. *Eur J Pharmacol*, **658**, 145-149.
- Caliendo, G., Santagada, V., Perissutti, E., Severino, B., Fiorino, F., Warner, T.D., Wallace, J.L., Ifa, D.R., Antunes, E., Cirino, G. & de Nucci, G. (2001) Synthesis of substituted benzamides as anti-inflammatory agents that inhibit preferentially cyclooxygenase 1 but do not cause gastric damage. *Eur J Med Chem*, **36**, 517-530.
- Celada, P., Puig, M., Amargos-Bosch, M., Adell, A. & Artigas, F. (2004) The therapeutic role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in depression. *J Psychiatry Neurosci*, **29**, 252-265.
- Coats, S.J., Schulz, M.J., Carson, J.R., Codd, E.E., Hlasta, D.J., Pitis, P.M., Stone, D.J., Jr., Zhang, S.P., Colburn, R.W. & Dax, S.L. (2004) Parallel methods for the preparation and SAR exploration of N-ethyl-4-[(8-alkyl-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-ylidene)-aryl-methyl]-benzamides, powerful mu and delta opioid agonists. *Bioorg Med Chem Lett*, **14**, 5493-5498.

- Coppen, A. (1967) The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry*, **113**, 1237-1264.
- Dantzer, R., Heijnen, C.J., Kavelaars, A., Laye, S. & Capuron, L. (2014) The neuroimmune basis of fatigue. *Trends Neurosci*, **37**, 39-46.
- Duman, R.S. & Monteggia, L.M. (2006) A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*, **59**, 1116-1127.
- Dupuy, J.M., Ostacher, M.J., Huffman, J., Perlis, R.H. & Nierenberg, A.A. (2011) A critical review of pharmacotherapy for major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, **14**, 1417-1431.
- Foster, J.E., Nicholson, J.M., Butcher, R., Stables, J.P., Edafiogho, I.O., Goodwin, A.M., Henson, M.C., Smith, C.A. & Scott, K.R. (1999) Synthesis, characterization and anticonvulsant activity of enamines. Part 6: Synthesis of substituted vinylic benzamides as potential anticonvulsants. *Bioorg Med Chem*, **7**, 2415-2425.
- Hegadoren, K.M., O'Donnell, T., Lanius, R., Coupland, N.J. & Lacaze-Masmonteil, N. (2009) The role of beta-endorphin in the pathophysiology of major depression. *Neuropeptides*, **43**, 341-353.
- Hillhouse, T.M. & Porter, J.H. (2015) A brief history of the development of antidepressant drugs: from monoamines to glutamate. *Exp Clin Psychopharmacol*, **23**, 1-21.
- Hirvonen, J., Karlsson, H., Kajander, J., Lepola, A., Markkula, J., Rasi-Hakala, H., Nagren, K., Salminen, J.K. & Hietala, J. (2008) Decreased brain serotonin 5-HT_{1A} receptor availability in medication-naïve patients with major depressive disorder: an in-vivo imaging study using PET and [carbonyl-¹¹C]WAY-100635. *Int J Neuropsychopharmacol*, **11**, 465-476.
- Jesse, C.R., Wilhelm, E.A., Bortolatto, C.F. & Nogueira, C.W. (2010) Evidence for the involvement of the serotonergic 5-HT_{2A/C} and 5-HT₃ receptors in the antidepressant-like effect caused by oral administration of bis selenide in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **34**, 294-302.
- Kedzierska, E., Fiorino, F., Magli, E., Poleszak, E., Wlaz, P., Orzelska-Gorka, J., Knap, B. & Kotlinska, J.H. (2019) New arylpiperazine derivatives with antidepressant-like activity containing isonicotinic and picolinic nuclei: evidence for serotonergic system involvement. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **392**, 743-754.
- Machado, D.G., Kaster, M.P., Binfare, R.W., Dias, M., Santos, A.R., Pizzolatti, M.G., Brighente, I.M. & Rodrigues, A.L. (2007) Antidepressant-like effect of the extract

from leaves of *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **31**, 421-428.

- McIntyre, R.S. (2017) The role of new antidepressants in clinical practice in Canada: a brief review of vortioxetine, levomilnacipran ER, and vilazodone. *Neuropsychiatr Dis Treat*, **13**, 2913-2919.
- Merali, Z., Du, L., Hrdina, P., Palkovits, M., Faludi, G., Poulter, M.O. & Anisman, H. (2004) Dysregulation in the suicide brain: mRNA expression of corticotropin-releasing hormone receptors and GABA(A) receptor subunits in frontal cortical brain region. *J Neurosci*, **24**, 1478-1485.
- Nogueira, C.W., Zeni, G. & Rocha, J.B. (2004) Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chem Rev*, **104**, 6255-6285.
- Paez-Pereda, M. (2005) New drug targets in the signaling pathways activated by antidepressants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **29**, 1010-1016.
- Pinto Brod, L.M., Fronza, M.G., Vargas, J.P., Ludtke, D.S., Luchese, C., Wilhelm, E.A. & Savegnago, L. (2016) Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of (octylseleno)-xylofuranoside in the mouse tail suspension test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **65**, 201-207.
- Popova, N.K. & Naumenko, V.S. (2013) 5-HT_{1A} receptor as a key player in the brain 5-HT system. *Rev Neurosci*, **24**, 191-204.
- Reich, H.J. & Hondal, R.J. (2016) Why Nature Chose Selenium. *ACS Chem Biol*, **11**, 821-841.
- Roman, M., Jitaru, P. & Barbante, C. (2014) Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*, **6**, 25-54.
- Samuels, B.A., Mendez-David, I., Faye, C., David, S.A., Pierz, K.A., Gardier, A.M., Hen, R. & David, D.J. (2016) Serotonin 1A and Serotonin 4 Receptors: Essential Mediators of the Neurogenic and Behavioral Actions of Antidepressants. *Neuroscientist*, **22**, 26-45.
- Sanacora, G., Zarate, C.A., Krystal, J.H. & Manji, H.K. (2008) Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov*, **7**, 426-437.
- Savegnago, L., Jesse, C.R., Pinto, L.G., Rocha, J.B., Barancelli, D.A., Nogueira, C.W. & Zeni, G. (2008) Diphenyl diselenide exerts antidepressant-like and anxiolytic-like effects in mice: involvement of L-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway in its antidepressant-like action. *Pharmacol Biochem Behav*, **88**, 418-426.

- Savegnago, L., Jesse, C.R., Pinto, L.G., Rocha, J.B., Nogueira, C.W. & Zeni, G. (2007a) Monoaminergic agents modulate antidepressant-like effect caused by diphenyl diselenide in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **31**, 1261-1269.
- Savegnago, L., Pinto, L.G., Jesse, C.R., Alves, D., Rocha, J.B., Nogueira, C.W. & Zeni, G. (2007b) Antinociceptive properties of diphenyl diselenide: evidences for the mechanism of action. *Eur J Pharmacol*, **555**, 129-138.
- Shakiba, S., Rezaee, M., Afshari, K., Kazemi, K., Sharifi, K.A., Haddadi, N.S., Haj-Mirzaian, A., Kamalian, A., Jazaeri, S.Z., Richter, K. & Dehpour, A.R. (2019) Evaluation of the pharmacological involvement of ATP-sensitive potassium (KATP) channels in the antidepressant-like effects of topiramate on mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **392**, 833-842.
- Sniecikowska, J., Newman-Tancredi, A. & Kolaczowski, M. (2019) From Receptor Selectivity to Functional Selectivity: The Rise of Biased Agonism in 5-HT_{1A} Receptor Drug Discovery. *Curr Top Med Chem*.
- Sonda, S., Kawahara, T., Katayama, K., Sato, N. & Asano, K. (2005) Synthesis and pharmacological evaluation of benzamide derivatives as selective 5-HT₄ receptor agonists. *Bioorg Med Chem*, **13**, 3295-3308.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B. & Simon, P. (1985) The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, **85**, 367-370.
- Walsh, R.N. & Cummins, R.A. (1976) The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull*, **83**, 482-504.
- WHO (2017) Depression and other common mental disorders: Global health estimates. Geneva: World Health Organization.
- Wrobel, J.K., Power, R. & Toborek, M. (2016) Biological activity of selenium: Revisited. *IUBMB Life*, **68**, 97-105.
- Yohn, C.N., Gergues, M.M. & Samuels, B.A. (2017) The role of 5-HT receptors in depression. *Mol Brain*, **10**, 28.

Figure captions

Figure 1. Chemical structure of *N*-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB).

Figure 2. Time-response curve of the antidepressant-like effect of SePB (10 mg/kg, i.g.) in mice in the FST (panels A and B show the latency to the first episode of immobility and the total immobility time, respectively). SePB was administered 15, 30, 60 and 120 minutes before the FST. Values are expressed as a mean $\pm$ S.E.M of 7 animals per group. (*) $p < 0.05$ and (***) $p < 0.001$ when compared with the control group (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

Figure 3. Dose-response curve of the antidepressant-like effect of SePB (1-50 mg/kg, i.g.) in mice in the FST (panels A and B show the latency to the first episode of immobility and the total immobility time, respectively). SePB was administered 30 minutes before the FST. Values are expressed as a mean $\pm$ S.E.M of 7-8 animals per group. (**) $p < 0.01$ and (***) $p < 0.001$ when compared with the control group (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls test). Fluoxetine was used as a positive control (20 mg/kg, i.p.) (***) $p < 0.001$, unpaired *t*-test).

Figure 4. Dose-response curve of the antidepressant-like effect of SePB (1-50 mg/kg, i.g.) in mice in the TST (panels A and B show the latency to the first episode of immobility and the total immobility time, respectively). SePB was administered 30 minutes before the TST. Values are expressed as a mean $\pm$ S.E.M of 7-8 animals per group. (*) $p < 0.05$, (**) $p < 0.01$ and (***) $p < 0.001$ when compared with the control group (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls). Fluoxetine was used as a positive control (20 mg/kg, i.p.) (*) $p < 0.05$, unpaired *t*-test).

Figure 5. Effect of p-CPA pretreatment (100 mg/kg; i.p., once daily for 4 consecutive days) on SePB antidepressant-like action (10 mg/kg, i.g., 24h after last p-CPA administration and 30 min before the test) in the TST (panels A and B show the latency to the first episode of immobility and the total immobility time, respectively). Values are expressed as a mean $\pm$ S.E.M of 7-8 animals per group. (**) $p < 0.01$ when compared with the vehicle treated group. (#) $p < 0.05$ and $p < 0.001$ when compared with SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

Figure 6. Effect of WAY100635 pretreatment (0.1 mg/kg, s.c.) on SePB antidepressant-like action (10 mg/kg, i.g.) in the TST (panels A and B show the latency to the first episode of immobility and the total immobility time, respectively). WAY100635 was administered 15 min before SePB and the TST was performed 30 min after SePB administration. Values are expressed as a mean $\pm$ S.E.M of 7-8 animals per group. (*) $p < 0.05$ when compared with the vehicle treated group. (#) $p < 0.05$ when compared with the SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

Figure 7. Effect of Ketanserin pretreatment (1 mg/kg, i.p.) on SePB antidepressant-like action (10 mg/kg, i.g.) in the TST (panels A and B show the latency to the first episode of immobility and the total immobility time, respectively). Ketanserin was administered 15 min before SePB and the TST was performed 30 min after SePB administration. Values are expressed as a mean $\pm$ S.E.M of 9-10 animals per group. (***) $p < 0.001$ when compared with the vehicle treated group. (####) $p < 0.001$ when

compared with the SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

Figure 8. Effect of ondansetron pretreatment (1 mg/kg, i.p.) on SePB antidepressant-like action (10 mg/kg, i.g.) in the TST (panels A and B show the latency to the first episode of immobility and the total immobility time, respectively). Ondansetron was administered 15 min before SePB and the TST was performed 30 min after SePB administration. Values are expressed as a mean $\pm$ S.E.M of 9-11 animals per group. (***) $p < 0.001$ when compared with the vehicle treated group. (###) $p < 0.001$ when compared with the SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

FIGURES

Figure 1

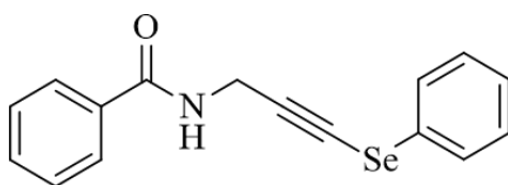


Figure 2

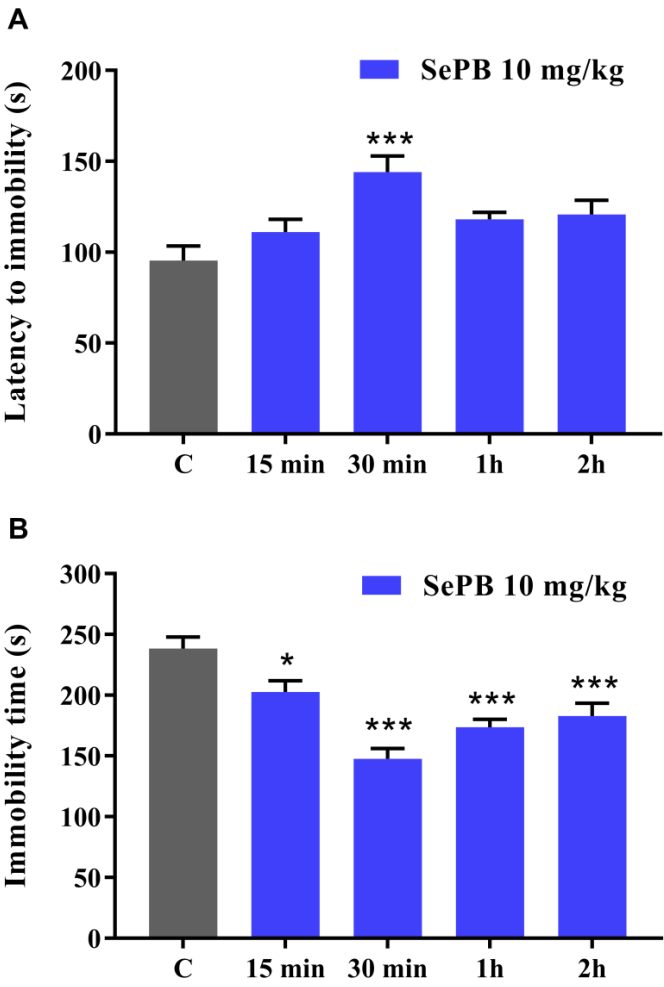


Figure 3

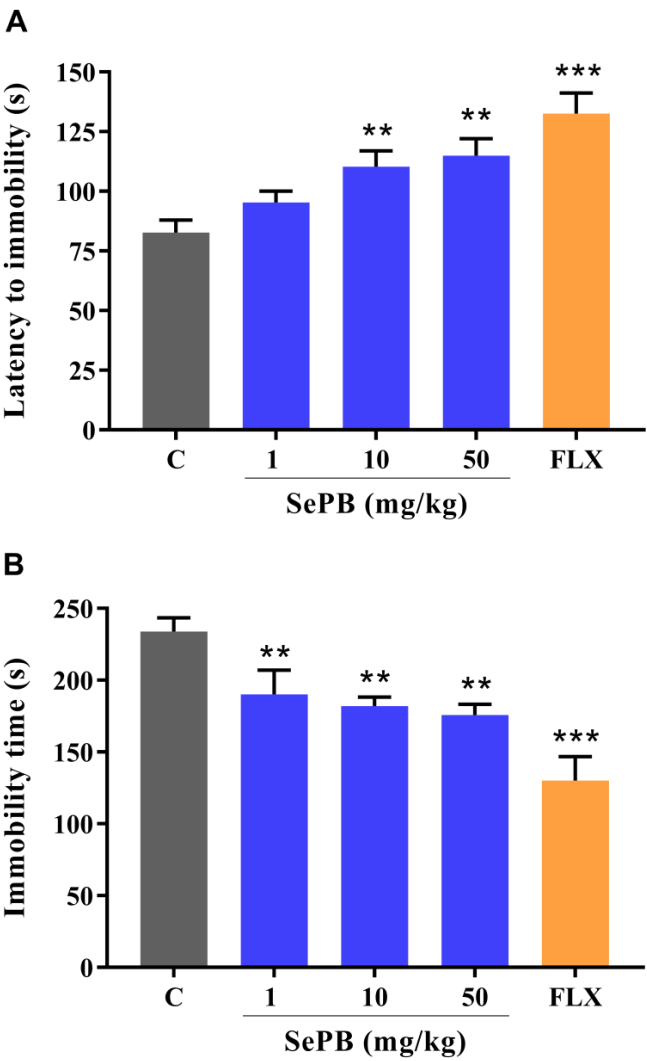


Figure 4

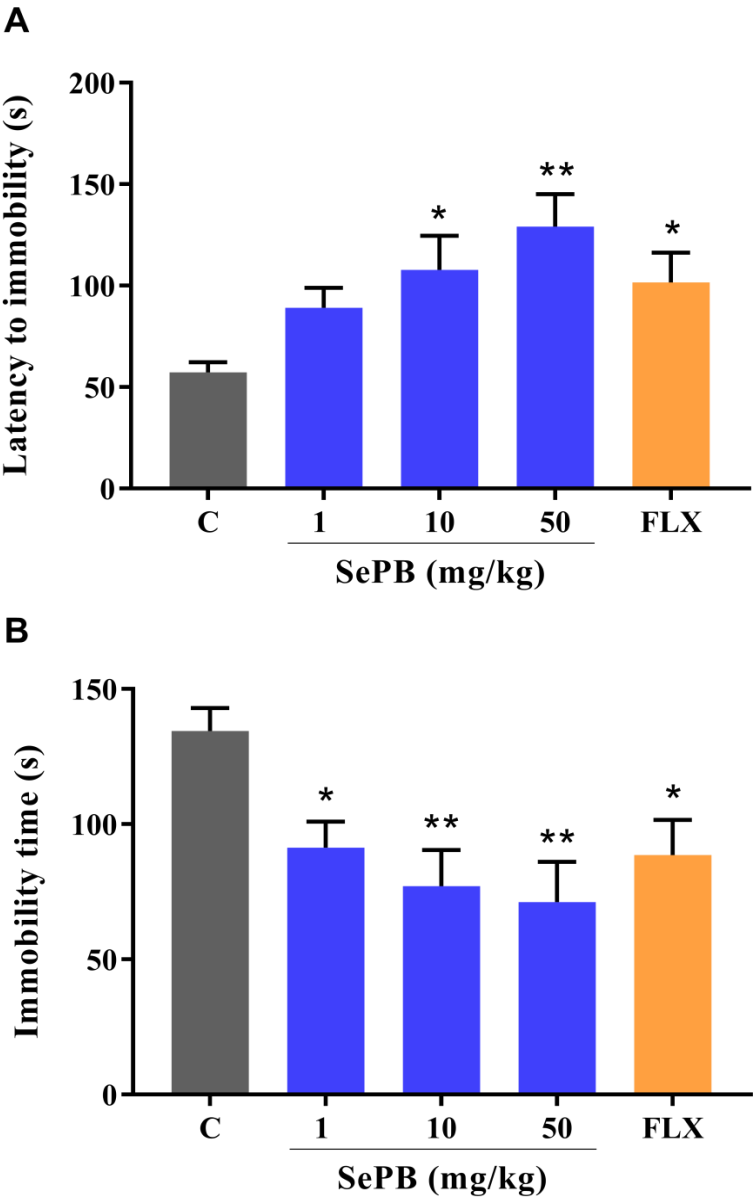


Figure 5

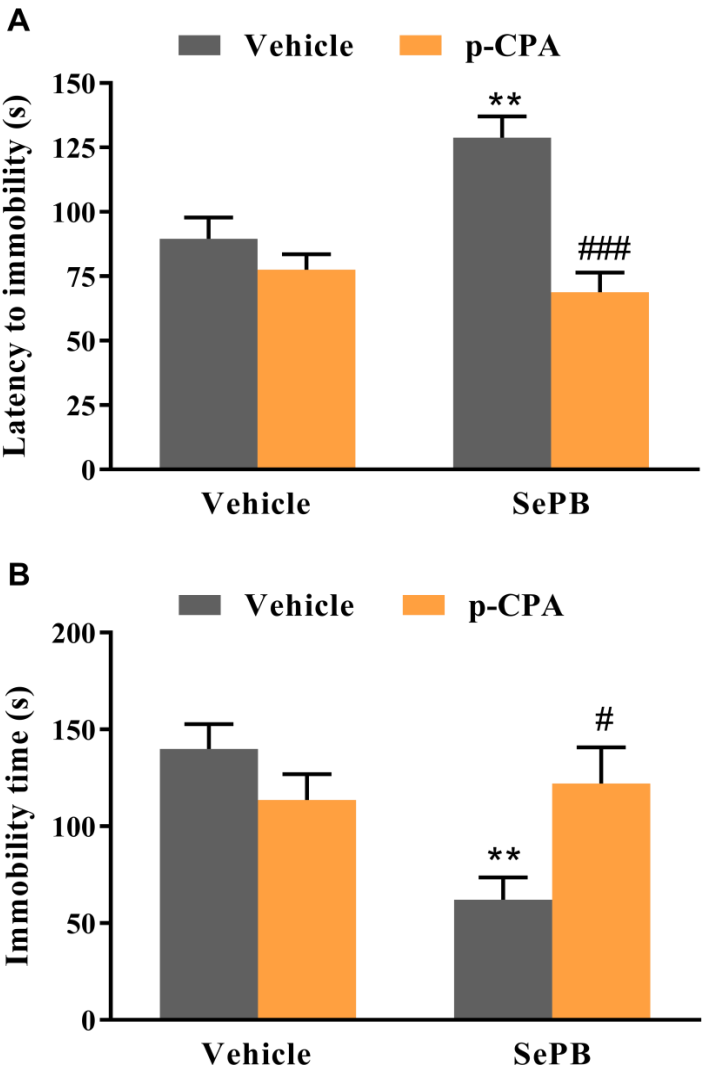


Figure 6

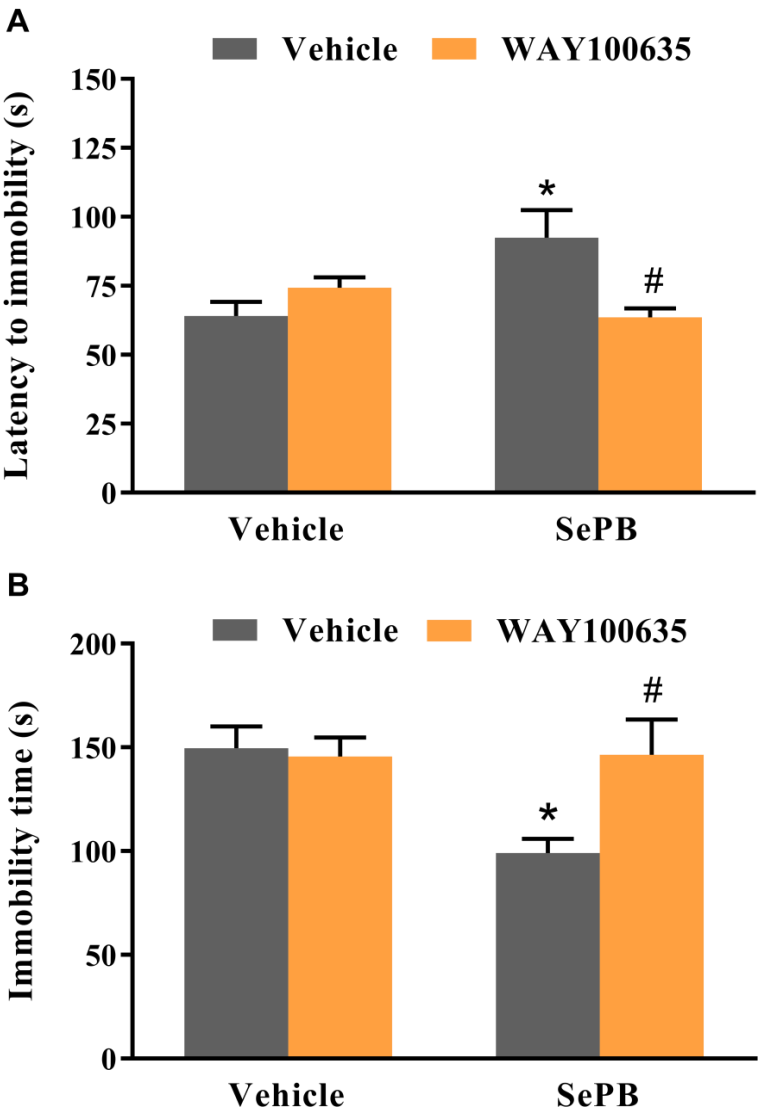


Figure 7

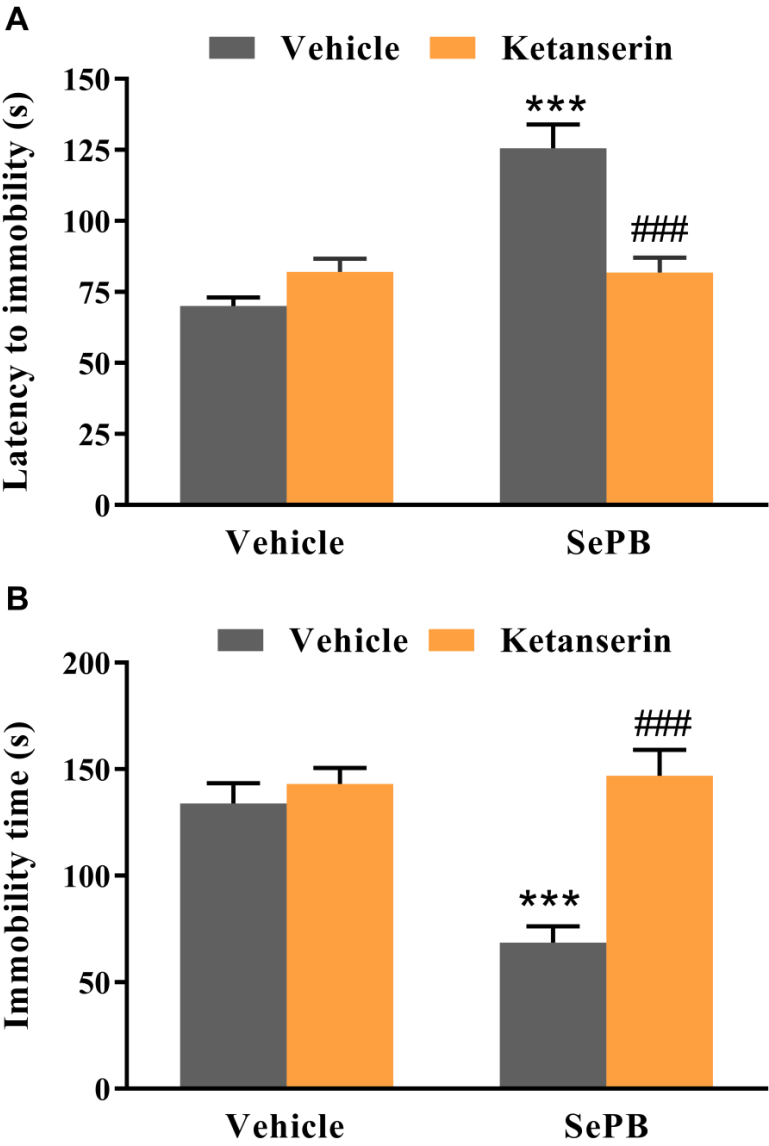
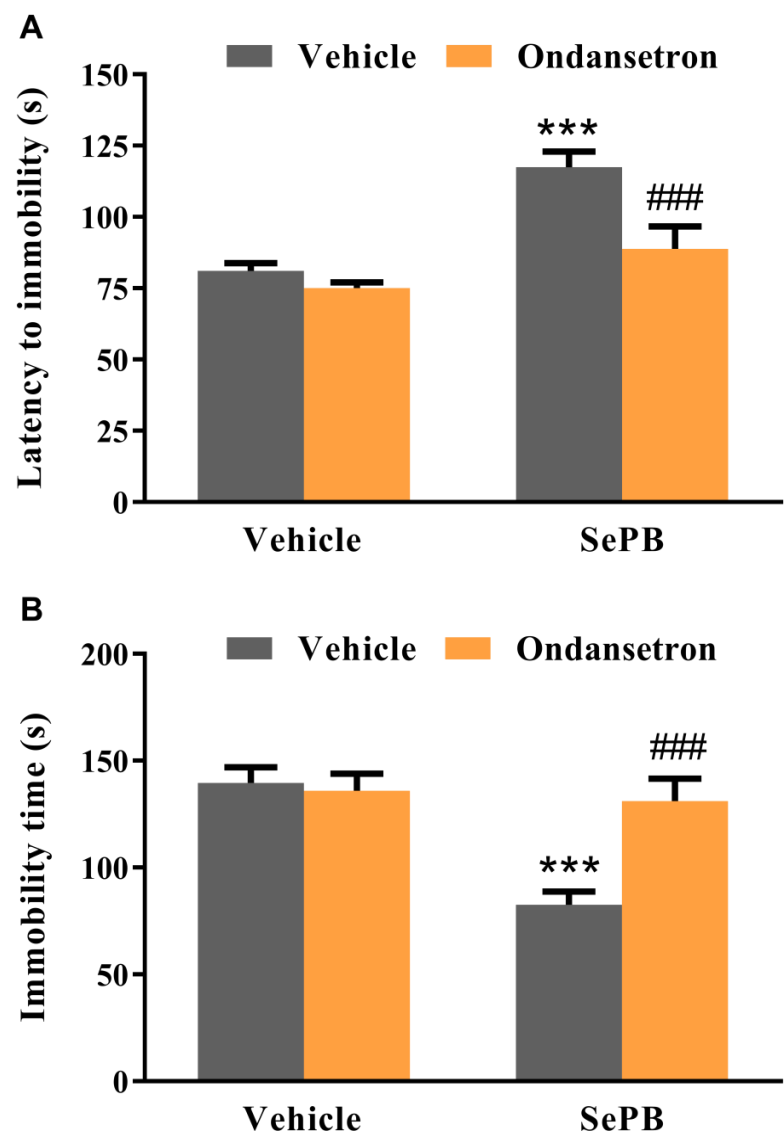


Figure 8



SUPPLEMENTARY MATERIAL

Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice and its involvement with the serotonergic system

Evelyn Mianes Besckow¹, Natália Tavares Nonemacher¹, Cleisson Schossler Garcia¹, Carlos Natã da Silva Espíndola¹, Éverton Berwanger Balbom², Fabiane Gritzenco², Lucielli Savegnago³, Benhur Godoi², Cristiani Folharini Bortolatto^{1*}, César Augusto Brüning^{1*}

¹Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Neurobiotechnology Research Group, Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, 96010-900, Brazil.

²Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos (NUSAACOI), Federal University of Fronteira Sul (UFFS), Cerro Largo, RS, Brazil.

³Postgraduate Program in Biotechnology, Neurobiotechnology Research Group, Center of Biotechnology, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.

*Correspondence should be sent to:

César Augusto Brüning - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: cabruning@yahoo.com.br. ORCID: 0000-0003-0814-0203

Cristiani Folharini Bortolatto - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: cbortolatto@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9509-4446

Table S1. Time-response curve of SePB in the open-field test (OFT)

Groups	Crossings	Rearings
Control	78.29 ± 4.37	47.43 ± 1.85
15 min	79.00 ± 8.44	53.29 ± 1.77
30 min	88.43 ± 4.96	56.14 ± 4.09
60 min	91.71 ± 8.93	49.00 ± 4.00
120 min	92.00 ± 6.38	50.43 ± 2.17

SePB (10 mg/kg, i.g.) was administered 15, 30, 60 and 120 minutes before the OFT. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 7 animals per group.

Table S2. Dose-response curve of SePB in the open-field test (OFT)

Groups	Crossings	Rearings
Control	70.13 ± 4.56	47.86 ± 2.93
SePB 1 mg/kg	74.71 ± 5.24	43.67 ± 2.46
SePB 10 mg/kg	71.00 ± 3.41	42.50 ± 2.50
SePB 50 mg/kg	63.14 ± 4.84	36.17 ± 3.62
Fluoxetine	80.50 ± 12.62	25.33 ± 6.03**

SePB (1-50 mg/kg, i.g.) was administered 30 minutes before the OFT. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 7-8 animals per group. Fluoxetine was used as a positive control (20 mg/kg, i.p.) (** $p < 0.01$, unpaired t -test).

Table S3. Effect of p-CPA and/or SePB in the open-field test (OFT)

Groups	Crossings	Rearings
Control	79.57 ± 10.70	28.71 ± 3.44
p-CPA	77.38 ± 6.38	28.38 ± 1.97
SePB	80.75 ± 6.39	28.50 ± 2.31
SePB + p-CPA	70.29 ± 6.44	30.57 ± 2.90

p-CPA (100 mg/kg; i.p.) was administered daily for 4 consecutive days. 24h after the last p-CPA administration the mice received SePB (10 mg/kg, i.g.) and after 30 min the OFT was performed. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 7-8 animals per group.

Table S4. Effect of WAY100635 and/or SePB in the open-field test (OFT)

Groups	Crossings	Rearings
Control	57.13 ± 6.73	24.50 ± 4.47
WAY100635	56.00 ± 4.27	26.86 ± 3.78
SePB	52.88 ± 3.31	25.13 ± 2.33
SePB + WAY100635	60.25 ± 4.15	24.38 ± 2.73

WAY100635 (0.1 mg/kg, s.c.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 7-8 animals per group.

Table S5. Effect of ketanserin and/or SePB in the open-field test (OFT)

Groups	Crossings	Rearings
Control	54.89 ± 4.63	18.11 ± 1.34
Ketanserin	54.20 ± 3.47	17.11 ± 3.13
SePB	64.60 ± 4.78	23.89 ± 1.40
SePB + Ketanserin	50.70 ± 2.45	10.20 ± 2.13 ^{*#}

Ketanserin (1 mg/kg, i.p.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 9-10 animals per group. (*) p < 0.05 when compared to the vehicle treated group. (#) p < 0.05 when compared with the SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

Table S6. Effect of ondansetron and/or SePB in the open-field test (OFT)

Groups	Crossings	Rearings
Control	58.91 ± 5.66	24.55 ± 2.66
Ondansetron	51.33 ± 3.44	22.67 ± 2.08
SePB	55.22 ± 12.11	22.50 ± 3.73
SePB + ondansetron	57.91 ± 5.87	24.60 ± 3.38

Ondansetron (1 mg/kg, i.p.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 9-11 animals per group.

5 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados nesta dissertação permitem concluir que o composto N- (3- (fenilselanil) prop-2-in-1-il) benzamida (SePB) apresenta ação do tipo antidepressiva em camundongos no TNF e TSC, e que esta ação seja possivelmente mediada pelo sistema serotoninérgico. Desta forma, este composto orgânico de Se torna-se um candidato à possível agente terapêutico para o tratamento das desordens depressivas, mediante estudos mais aprofundados em torno desta molécula.

REFERÊNCIAS

- ABELAIRA, H. M.; RÉUS, G. Z.; QUEVEDO, J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 35, n. 2, São Paulo, 2013.
- AJLORE, O. Measurement of brain metabolites in patients with type 2 diabetes and major depression using proton magnetic resonance spectroscopy. *Neuropsychopharmacology*, New York, v. 32, n. 6, p. 1224-1231, Jun. 2007.
- ALAM MY, JACOBSEN PL, CHEN Y, SERENKO M, MAHABLESHWARKAR AR. Safety, tolerability, and efficacy of vortioxetine (Lu AA21004) in major depressive disorder: Results of an open-label, flexible-dose, 52-week extension study. *International Clinical Psychopharmacology*; 29:36–44, 2014.
- ÁLAMO, C.; LÓPEZ-MUÑOZ, F. Depresión y ritmos circadianos: relación farmacológica. El papel de la agomelatina. *Revista de psiquiatría y salud mental*, p. 2–11, 2010.
- ALBERT, P. R. Why is depression more prevalent in women? *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 40(4), 219–21, 2015.
- ALDEA, M., CRACIUN, L., TOMULEASA, C., CRIVII, C.,. The role of depression and neuroimmune axis in the prognosis of cancer patients. *J. BUON*. 19, 5–14, 2014.
- ALEXANDER, J. NORDBERG, F. G., FOWLER, A. B., NORDBERG. M. *Handbook on the Toxicology of Metals*. 4^a ed. London, Elsevier, pp. 1175-1208, 2015.
- ALMEIDA, R. F.; KOWACS, F. Síndrome serotoninérgica e as triptanas. *Headache*, St. Louis, v. 4, n. 1, p. 20-24, Jan./Fev./Mar. 2013.
- ANNAN, K.,. *The Global Crisis of Depression*, 2014.
- ANDREWS, P. W., BHARWANI, A., LEE, K. R., FOX, M. & THOMSON, J. A. Is serotonin an upper or a downer? The evolution of the serotonergic system and its role in depression and the antidepressant response. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 51, 164–188, 2015.
- ARNALDI, G., MANCINI, T., TIRABASSI, G., TREMENTINO, L., BOSCARO, M.,. Advances in the epidemiology, pathogenesis, and management of Cushing's syndrome complications. *J Endocrinol Invest* 35, 434-448, 2012.
- ARTEEL, G.E.; SIES, H. The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 10, 153-158, 2001.
- ASIF, M. Pharmacological potential of benzamide analogues and their uses in medicinal chemistry. *Modern Chemistry & Applications*, v. 4, p. 194, 2016.

BAFFA, A. et al. Norepinephrine and serotonin transporter genes: impact on treatment response in depression. *Neuropsychobiology*, Basel, Suíça, v. 62, n. 2, p. 121-131, Jun. 2010.

BAILLEUX, V.; VALLEE, L.; NUYTS, J. P.; HAMOIR, G.; POUPAERT, J.; VAMECQ, J. Synthesis and anticonvulsant activity of some 4-nitro-N-phenylbenzamides. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 30, p. 439-444, 1995.

BALANESCU, P., BOTEZAT-ANTONESCU, I., DIMA, C. & SOREL, E. Depression screening in primary care and correlations with comorbidities in Romania. *International Medical Journal*, 23(2), 128–131, 2016.

BANG-ANDERSEN B, RUHLAND T, JØRGENSEN M, SMITH G, FREDERIKSEN K, JENSEN K. STENSBØL T. B. Discovery of 1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine (Lu AA21004): A novel multimodal compound for the treatment of major depressive disorder. *Journal of Medicinal Chemistry*; 2011.

BANSAL, R., PETERSON, B. S., GINGRICH, J., HAO, X., ODGEREL, Z., WARNER, V., ... WEISSMAN, M. M. Serotonin signaling modulates the effects of familial risk for depression on cortical thickness. *Psychiatry Research - Neuroimaging*, 248, 83–93, 2016.

BARBOSA NB, ROCHA JB, SOARES JC, WONDRACEK DC, GONCALVES JF, SCHETINGER MR, NOGUEIRA CW. Dietary diphenyl diselenide reduces the STZ-induced toxicity. *Food Chem Toxicol* 46:186-194, 2008.

BARBOSA NB, ROCHA JB, WONDRACEK DC, PEROTTONI J, ZENI G, NOGUEIRA C. W. Diphenyl diselenide reduces temporarily hyperglycemia: possible relationship with oxidative stress. *Chem Biol Interact* 163:230-238., 2006.

BEHNE, D.; KYRIAKOPOULOS, A. Identification of type I iodothyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 173, 1143- 1149, 1990.

BENTON, D., COOK, R.,. Selenium supplementation improves mood in a double-blind crossover trial. *Psychopharmacology (Berl)* 102, 549-550, 1990.

BENTON D, COOK R. The impact of selenium supplementation on mood. *Biol Psychiatry*;29: 1092-1098, 1991.

BENTON, D.,. Selenium intake, mood and other aspects of psychological functioning. *Nutr Neurosci* 5, 363-374, 2002.

BLIER, P. & EL MANSARI, M. Serotonin and beyond: therapeutics for major depression. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 368, 20120536, 2013.

BLUMENTHAL, J.A., SHERWOOD, A., BABYAK, M.A., WATKINS, L.L., SMITH, P.J., HOFFMAN, B.M., O'HAYER, C.V.F., MABE, S., JOHNSON, J., DORAISWAMY,

P.M., JIANG, W., SCHOCKEN, D.D., HINDERLITER, A.L.,. Exercise and pharmacological treatment of depressive symptoms in patients with coronary heart disease: Results from the UPBEAT (understanding the prognostic benefits of exercise and antidepressant therapy) study. *J. Am. Coll. Cardiol*, 2012.

BORGES, V.C. et al. Effect of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and ebselen on cerebral Na⁺ K⁺ ATPase activity in rats. *Toxicology* 215, 191-197, 2005.

BORGES, L.P. et al. Oral administration of diphenyl diselenide protects against cadmium-induced liver damage in rats. *Chem. Biol. Interact.* 171, 15-25, 2008.

BORTOLATTO, C. F., WILHELM, E. A., CHAGAS, P. M., NOGUEIRA, C. W. P-Chloro-diphenyl diselenide, an organoselenium compound, with antidepressant-like and memory enhancer in aging male rats. *Biogerontology* 13, 237-49, 2012.

BOULENGER JP, LOFT H, FLOREA I. A randomized clinical study of Lu AA21004 in the prevention of relapse in patients with major depressive disorder. *Journal of Psychopharmacology*. 2012.

BOULENGER JP, LOFT H, OLSEN CK. Efficacy and safety of vortioxetine (Lu AA21004), 15 and 20 mg/day: A randomized, double-blind, placebo-controlled, duloxetine-referenced study in the acute treatment of adult patients with major depressive disorder. *International Clinical Psychopharmacology*. 2014.

BRANDON, N. J. & MCKAY, R. The cellular target of antidepressants. *Nature Neuroscience*, 18(11), 1537–1538, 2015.

BRAUNWALD, E. et al. Harrison: medicina interna. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2009.

BRAQUEHAIS, M. D., PICOUTO, M. D., CASAS, M., SHER, L. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction as a neurobiological correlate of emotion dysregulation in adolescent suicide. *World J Pediatr* 8, 197-206, 2012.

BRODSKY SV, GEALEKMAN O, CHEN J, ZHANG F, TOGASHI N, CRABTREE M, GROSS SS, NASJLETTI A, GOLIGORSKY MS. Prevention and reversal of premature endothelial cell senescence and vasculopathy in obesity-induced diabetes by ebselen. *Circ Res* 94:377-384. 2004.

BRÜNING, C. A., PRIGOL, M., ROEHRS, J. A., ZENI, G., NOGUEIRA, C. W. Evidence for the involvement of mu-opioid and delta-opioid receptors in the antinociceptive effect caused by oral administration of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice. *Behav Pharmacol*, 21, 621-626, 2010.

BRÜNING, C. A., SOUZA, A. C., GAI, B. M., ZENI, G., NOGUEIRA, C. W. Antidepressant-like effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in the mouse forced swimming test involves opioid and serotonergic systems. *Eur J Pharmacol*, 658, 145-149, 2011.

BRÜNING, C. A., MARTINI, F., SOARES, S.M, SAMPAIO, T.B., GAI, B.M.,

- DUARTE, M.M.F, NOGUEIRA, C. W. 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 Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 63, 35-46-2015.
- BUCKMAN, T.; SUTPHIN, M. S.; ECKHERT, C. D. A comparison of the effects of dietary selenium on selenoprotein expression in rat brain and liver. *Biochim Biophys Acta*, 1163, 176-184. 1993.
- BUENO, J. R. Depressão: Etiologia e Opções Terapêuticas. In: BUENO, J.R.; Nardi, A. E. *Diagnóstico e Tratamento em Psiquiatria*, Rio de Janeiro: MEDSI, Capítulo 6, p. 145-169, 2000.
- BURGER M, FACHINETTO R, CALEGARI L, PAIXAO MW, BRAGA AL, ROCHA JB. Effects of age on reserpine-induced orofacial dyskinesia and possible protection of diphenyl diselenide. *Brain Res Bull* 64:339-345. 2004.
- BYMASTER FP, KATNER JS, NELSON DL, HEMRICK-LUECKE SK, THRELKELD PG, HEILIGENSTEIN JH. Perry KW. Atomoxetine increases extracellular levels of norepinephrine and dopamine in prefrontal cortex of rat: A potential mechanism for efficacy in attention deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2002.
- CAI, X., KALLARACKAL, A. J., KVARTA, M. D., GOLUSKIN, S., GAYLOR, K., BAILEY, A. M., THOMPSON, S. M. Local potentiation of excitatory synapses by serotonin and its alteration in rodent models of depression. *Nature Neuroscience*, 16(4), 464–472, 2012.
- CALIENDO, G., SANTAGADA, V., PERISSUTTI, E., SEVERINO, B., FIORINO, F., WARNER, T.D., WALLACE, J.L., IFA, D.R., ANTUNES, E., CIRINO, G. & DE NUCCI, G. Synthesis of substituted benzamides as anti-inflammatory agents that inhibit preferentially cyclooxygenase 1 but do not cause gastric damage. *Eur J Med Chem*, 36, 517-530, 2001.
- CASTANO, A.; AYALA, A.; RODRIGUEZ-GOMEZ, J. A.; HERRERA, A. J.; CANO, J.; MACHADO, A. Low selenium diet increases the dopamine turnover in prefrontal cortex of the rat. *Neurochem Int.*, 30, 549-555, 1997.
- CHANG, H.S., WON, E., LEE, H.-Y., HAM, B.-J., LEE, M.-S. Association analysis for corticotropin releasing hormone polymorphisms with the risk of major depressive disorder and the response to antidepressants. *Behav. Brain Res.* 292, 116–24. doi:10.1016/j.bbr.2015.06.005, 2015.
- CHAKI, S.; OKUBO, T.; SEKIGUCHI, Y. Non-monoamine-based approach for the treatment of depression and anxiety disorders. *Recent patents on CNS drug discovery*, San Francisco, v. 1, n. 1, p. 1-27, Jan. 2006.
- CHEN, B., DOWLATSHAHI, D., MACQUEEN, G. M., WANG, J. F., YOUNG, L. T.,. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 50, 260-265, 2001.

CHEW P, YUEN DY, KOH P, STEFANOVIC N, FEBBRAIO MA, KOLA I, COOPER ME, DE HAAN JB. Site-specific antiatherogenic effect of the antioxidant ebselen in the diabetic apolipoprotein E-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29:823-830. 2009.

CHOLERIS, E.; THOMAS, A.W.; KAVALIERS, M.; PRATO, F.S. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 25: 235-260, 2001.

CLAYTON AH, PRADKO JF, CROFT HA, MONTANO CB, LEADBETTER RA, BOLDEN-WATSON C., METZ A. Prevalence of sexual dysfunction among newer antidepressants. *Journal of Clinical Psychiatry*. 2002.

CHOLERIS, E.; THOMAS, A.W.; KAVALIERS, M.; PRATO, F.S. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 25: 235-260, 2001.

COATS, S.J., SCHULZ, M.J., CARSON, J.R., CODD, E.E., HLASTA, D.J., PITIS, P.M., STONE, D.J., JR., ZHANG, S.P., COLBURN, R.W. & DAX, S.L. Parallel methods for the preparation and SAR exploration of N-ethyl-4-[(8-alkyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-ylidene)-aryl-methyl]-benzamides, powerful mu and delta opioid agonists. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 14, 5493-5498, 2004.

COMBS, F. G. E GRAY, P. W. Chemopreventive Agents: Selenium. *Pharmacology & Therapeutics*, 79(3), pp. 179-192, 1998.

CORDIOLI, A. V. Terapias Biológicas. In: SADOCK, B. J.; SADOCK, V. A. *Compêndio de Psiquiatria Ciência do Comportamento e Psiquiatria Clínica*, 9ª Edição, Porto Alegre: Artmed. Capítulo 36, p. 1036-1226, 2007.

CÓRDOVA-PALOMERA, A., FATJÓ-VILAS, M., GASTÓ, C., NAVARRO, V., KREBS, M. & FAÑANÁS, L. Genome-wide methylation study on depression: differential methylation and variable methylation in monozygotic twins. *Translational Psychiatry*, 5, 2015.

CORRIGAN, F. M., REYNOLDS, G. P., WARD, N. I. Reductions of zinc and selenium in brain in Alzheimer's disease. *J. Trace Elements in Experiment. Med.* 8, 1–5, 1991.

CRAWLEY, J.; GOODWIN, F.K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav* ;13(2):167-70, 1980.

CRAWLEY, J.N. Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav* ;15(5):695-9, 1981.

CRYAN, J.F., LUCKI, I. Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine 2c receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 295, 1120–1126, 2000.

CRYAN, J.F., MARKOU, A., LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future need. *TIPS* 23, 238–245, 2002.

CRYAN, J. F.; VALENTINO, R. J; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressant using the modified rat forced swimming test. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 29, p. 547 - 569, 2005.

CUSACK B, NELSON A, RICHELSON E. Binding of antidepressants to human brain receptors: focus on newer generation compounds. *Psychopharmacology*. 1994.

DANTZER, R., O'CONNOR, J. C., FREUD, G. G., JOHNSON, R. W., KELLEY, K. W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*, 9, 46-57, 2008.

DE ANGELIS, L. Experimental anxiety and antidepressant drugs: the effects of moclobemide, a selective reversible MAO-A inhibitor, fluoxetine and imipramine in mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*; 354(3):379-83, 1996.

DEMYTTENAERE, K., DE FRUYT, J., STAHL, S. M. The many faces of fatigue in major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 8, 93-105, 2005.

DILSAVER, S.C. Cholinergic mechanisms in depression. *Brain Res*. 396, 285-316, 1986.

DOMINO E. F. History of modern psychopharmacology: A personal view with an emphasis on antidepressants. *Psychosomatic Medicine*. 1999.

DOUGHER, M. J., & HACKBERT, J. A. Uma explicação analítico-comportamental da depressão e o relato de um caso utilizando procedimentos baseados na aceitação. *Revista Brasileira de Terapia Comportamental e Cognitiva*, 5(2), 167-184, 2003.

DREVETS, W.C. Prefrontal cortical-amygdalar metabolism in major depression. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 877, 614–637, 1999.

DU JARDIN KG, JENSEN JB, SANCHEZ C, PEHRSON AL. Vortioxetine dose-dependently reverses 5-HT depletion-induced deficits in spatial working and object recognition memory: A potential role for 5-HT_{1A} receptor agonism and 5-HT₃ receptor antagonism. *European Neuropsychopharmacology*. 2014.

DUMAN, C. H. Models of depression. *Vitam Horm* 82, 1-21, 2010.

DUMONT, E., VANHAECKE, F., CORNELIS, R. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Anal Bioanal Chem*, 385, 1304-1323, 2006.

DUNLOP, B. W., NEMEROFF, C.B. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. *Arch. Gen. Psychiatry*. 64, 327-337, 2007.

DUPUY, J. M. A critical review of pharmacotherapy for major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, v. 14, n. 10, p. 1417-31, 2011.

EL-MALLAKH, R.S.; WYATT, R.J. The Na⁺ K⁺ ATPase hypothesis for bipolar illness. *Biol. Psychiatry* 37, 235-244, 1995.

ERECINSKA, M.; SILVER, I.A. Ions and energy in mammalian brain. *Prog. Neurobiol.* 43, 37-71, 1994.

ESPERIDIÃO, A. V., MAJESKI C. M., TOLEDO M. D., MORAES, M. G., FERNANDES, J.J., ASSIS, M.B. DE, SIQUEIRA B. R. *Neurobiologia das emoções. Rev. Psiquiatr. Clínica* 35, 55–65, 2008.

EVANS, D.L., CHARNEY, D.S., LEWIS, L., GOLDEN, R.N., GORMAN, J.M., KRISHNAN, K.R.R., NEMEROFF, C.B., BREMNER, J.D., CARNEY, R.M., COYNE, J.C., DELONG, M.R., FRASURE-SMITH, N., GLASSMAN, A.H., GOLD, P.W., GRANT, I., GWYTHYER, L., IRONSON, G., JOHNSON, R.L., KANNER, A.M., KATON, W.J., KAUFMANN, P.G., KEEFE, F.J., KETTER, T., LAUGHREN, T.P., LESERMAN, J., LYKETSOS, C.G., MCDONALD, W.M., MCEWEN, B.S., MILLER, A.H., MUSSELMAN, D., O'CONNOR, C., PETITTO, J.M., POLLOCK, B.G., ROBINSON, R.G., ROOSE, S.P., ROWLAND, J., SHELINE, Y., SHEPS, D.S., SIMON, G., SPIEGEL, D., STUNKARD, A., SUNDERLAND, T., TIBBITS, P., VALVO, W.J. Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. *Biol. Psychiatry* 58, 175–89, 2005.

FAGIUS J, OSTERMAN PO, SIDEN A, WIHOLM BE. Guillain-Barre syndrome following zimeldine treatment. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*; 48:65–69., 1985.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J., BAO, Y., BROADLEY, M. R., COLLINGS, R., FORD, D., HESKETH, J. E., HURST, R. Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Signal* 14, 1337- 1383, 2011.

FANGMANN P, ASSION HJ, JUCKEL G, GONZALEZ CA, LOPEZ-MUNOZ F. Half a century of antidepressant drugs: On the clinical introduction of monoamine oxidase inhibitors, tricyclics, and tetracyclics. Part II: Tricyclics, and tetracyclics. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2008.

FAVA, M.; KENDLER, K. S. Major depressive disorder. *Neuron*, v. 28, n. 2, p. 335-41, 2000.

FEIGHNER JP, HENDRICKSON G, MILLER LL, STERN WC. Double-blind comparison of doxepin versus bupropion in outpatients with a major depressive disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 1986.

FEIGHNER JP, MEREDITH CH, STERN WC, HENDRICKSON G, MILLER LL. A double-blind study of bupropion and placebo in depression. *American Journal of Psychiatry*. 1984.

FINLEY J.W., PENLAND J.G. Adequacy or deprivation of selenium in healthy men: Clinical and psychological findings. *J. Trace Elem. Experim. Med.* 11:11-27, 1998.

FIRST, M., GIL-AD, I., TALER, M., TARASENKO, I., NOVAK, N., WEIZMAN, A. The effects of reboxetine treatment on depression-like behavior, brain neurotrophins, and ERK expression in rats exposed to chronic mild stress. *J Mol Neurosci* 50, 88-97, 2013.

FLECK, M. P.; HORWATH, E. Pharmacologic management of difficult-to treat depression in clinical practice. *Psychiatr Serv*, 56, 8, 1005-1011, 2005.

FLEURANTIN, Y. The effects of stigma on health service utilization and health outcomes among adults with chronic depression. *Journal of the New York State Nurses Association*, 44(2), 40–45, 2013.

FLOHE L, GUNZLER WA, SCHOCK HH. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett*, 32:132–134, 1973.

FRITZE, J. The adrenergic-cholinergic imbalance hypothesis of depression: a review and a perspective. *Rev. Neurosci.* 41, 63-93, 1993.

FURCZYK, K., SCHUTOVÁ, B., MICHEL, T.M., THOME, J., BÜTTNER, A. The neurobiology of suicide - A Review of post-mortem studies. *J. Mol. psychiatry* 1, 2, 2013.

GAMARO, G.D. Reduction of hippocampal Na⁺ K⁺ ATPase activity in rats subjected to an experimental model of depression. *Neurochem. Res.* 28, 1339-1344, 2003.

GARCIA-ALLOZA, M. Cholinergic-serotonergic imbalance contributes to cognitive and behavioral symptoms in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 43, 442-449, 2005.

GAWESKA, H.; FITZPATRICK, P. F. Structures and Mechanism of the Monoamine Oxidase Family. *Biomol Concepts*, v. 2, n. 5, p. 365-377, Oct 1 2011.

GAY, B. M., PRIGOL, M., STEIN, A. L., NOGUEIRA, C. W. Antidepressant-like pharmacological profile of 3-(4-fluorophenylselenyl)-2,5-diphenylselenophene: Involvement of serotonergic system. *Neuropharmacology* 59, 172-179, 2010.

GHISLENI G, PORCIUNCULA LO, CIMAROSTI H, BATISTA TRJ, SALBEGO CG, SOUZA DO. Diphenyl diselenide protects rat hippocampal slices submitted to oxygen-glucose deprivation and diminishes inducible nitric oxide synthase immunocontent. *Brain Res* 986:196-199. 2003.

GIBBS A, DEEKS E. Vortioxetine: First global approval. *Drugs*. 2014.

GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. *Ciência Rural*, 37(4), pp. 1212- 1220, 2007.

GILLMAN, P. K. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *British Journal of Pharmacology*, Basingstoke, Hampshire, v. 151, n. 6, p. 737-748, Jul. 2007.

GODDARD, A. W. et al. Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, New York, v. 27, n. 4, p. 339-350, Abr. 2010.

GORDON, N.; GOELMAN, G. Understanding alterations in serotonin connectivity in a rat model of depression within the monoamine-deficiency and the hippocampal-neurogenesis frameworks. *Behavioural Brain Research*, 296, 141–148, 2016.

GURGU, H.; NUȚĂ, D.C.; CĂPROIU, M. T.; DRĂGHICI, C.; CHIFIRIUC, M. C.; MISSIR, A. V.; LIMBAN, C. Synthesis and biological evaluation of new N-(2dimethylaminoethyl)-N-((un)substituted phenyl-2-(4-methy/methoxy-phenoxy)methyl) Benzamides. *Farmacia*, v. 65, p. 494-500, 2017.

HASLER, G. Reduced prefrontal glutamate/glutamine and γ -aminobutyric acid levels in major depression determined using proton magnetic resonance spectroscopy. *Archives of General Psychiatry*, Chicago, v. 64, n. 2, p. 193-200, Fev. 2007.

HABERSTICK, B. C., BOARDMAN, J. D., WAGNER, B., SMOLEN, A., HEWITT, J. K., KILLEA-JONES, L. A., MULLAN HARRIS, K. Depression, stressful life events, and the impact of variation in the serotonin transporter: Findings from the National Longitudinal Study of Adolescent to Adult Health (Add Health), 2016.

HERNÁNDEZ-MENDONZA, H. E RIOS-LUGO, J. M. Rol biológico del selênio en El humano. *Química Viva*, 8(2), pp. 64-80, 2009.

HIMMELHOCH, JM. Monoamine oxidase inhibitors. In: Kaplan HI, Sadock BJ, editors. *Comprehensive textbook of psychiatry*. 6th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; p. 2038-56, 1995.

HOLLON, S. D., JARRETT, R. B., NIERENBERG, A. A., THASE, M. E., TRIVEDI, M., & RUSH, A. J. Psychotherapy and medication in the treatment of adult and geriatric depression: Which monotherapy or combined treatment? *Archives of General Psychiatry*, 66(4), 455-468, 2005.

HOLMGREN, A. Thioredoxin. *Annu. Rev. Biochem.* 54, 237-271, 1985.

INOUE, K. No association of the G1287A polymorphism in the norepinephrine transporter gene and susceptibility to major depressive disorder in a Japanese population. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Tóquio, v. 30, n. 10, p. 1996-1998, Out. 2007.

JACOBS, B. L.; AZMITIA, E. C. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev*, v. 72, n. 1, p. 165-229, Jan 1992.

JENSEN JB, DU JARDIN KG, SONG D, BUDAC D, SMAGIN G, SANCHEZ C, PEHRSON AL. Vortioxetine, but not escitalopram or duloxetine, reverses memory

impairment induced by central 5-HT depletion in rats: Evidence for direct 5-HT receptor modulation. *European Neuropsychopharmacology*. 2014.

JESSE, C. R., WILHELM, E. A., NOGUEIRA, C. W. Depression-like behavior and mechanical allodynia are reduced by bis selenide treatment in mice with chronic constriction injury: a comparison with fluoxetine, amitriptyline, and bupropion. *Psychopharmacology (Berl)* 212, 513-522, 2010.

JOHNSTON, J. P. Some observations upon a new inhibitor of monoamine oxidase in brain tissue. *Biochem Pharmacol*, v. 17, n. 7, p. 1285-97, Jul 1968.

JURUENA, M.F., WERNE BAES, C. VON, MENEZES, I.C., GRAEFF, F.G. Early life stress in depressive patients: role of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors and of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Curr. Pharm*, 2015.

KARG, K. The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis revisited: evidence of genetic moderation. *Archives of General Psychiatry, Chicago, Estados Unidos*, v. 68, n. 5, p. 444-454, Maio. 2011.

KHATRI JJ, JOHNSON C, MAGID R, LESSNER SM, LAUDE KM, DIKALOV SI, HARRISON DG, SUNG HJ, RONG Y, GALIS ZS. Vascular oxidant stress enhances progression and angiogenesis of experimental atheroma. *Circulation* 109:520-525. 2004.

KESSLER, R. C., BERGLUND, P., DEMLER, O., JIN, R., KORETZ, D., MERIKANGAS, K. R. National Comorbidity Survey Replication. The epidemiology of major depressive disorder: Results from the National. Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA*, 289(23), 3095-3105, 2003.

KESSLER, R. C. & BROMET, E. J. The epidemiology of depression across cultures. *BMC Med. Clin. N. Am. Annu Rev Public Health*. Author Manuscript *Annu Rev Public Health*, 9(34), 901–14, 2011.

KERMAN, I. A. New insights into BDNF signaling: relevance to major depression and antidepressant action. *Am J Psychiatry* 169, 1137-1140, 2012.

KHAN HA. Selenium partially reverses the depletion of striatal dopamine and its metabolites in MPTP-treated C57BL mice. *Neurochem Int*, 57: 489–491, 2010.

KRISHNAN, V.; NESTLER, E. J. The molecular neurobiology of depression. *Nature, Reino Unido*, v. 455, n. 7215, p. 894-902, Out. 2008.

LATTIMORE, K. A. Selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) use during pregnancy and effects on the fetus and newborn: a meta-analysis. *Journal of Perinatology, Filadélfia*, v. 25, n. 9, p. 595-604, Set. 2005.

LAYAN, Z., TAO, Z., YANHONG, H. & ELIOT, S. A study of depression screening in primary care settings of China. *Biological Psychiatry*, 23(2), 119–121, 2016

LESCH, K.P. Regional brain expression of serotonin transporter mRNA and its

regulation by reuptake inhibiting antidepressants. *Mol. Brain Res.* 17, 31-35, 1993.

LETAVAYOVÁ, L., VLCKOVÁ, V. E BROZMANOVÁ, J. Selenium: from cancer prevention to DNA damage. *Toxicology*, 227(1-2), pp. 1-14, 2006.

Letchworth SR, Smith HR, Porrino LJ, Bennett BA, Davies HML, Sexton T, Childers SR. Characterization of a tropane radioligand, [^3H]2 β -Propanoyl-3 β - (4-tolyl) Tropane ([^3H]PTT), for dopamine transport sites in rat brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2000; 293:686–696. [PubMed: 10773045]

LOOMER HP, SAUNDERS JC, KLINE NS. A clinical and pharmacodynamic evaluation of iproniazid as a psychic energizer. *Psychiatr Res Rep Am Psychiatr Assoc.* 1957 Dec;8:129–141.

LOPEZ-MUNOZ F, ALAMO C, JUCKEL G, ASSION HJ. Half a century of antidepressant drugs: On the clinical introduction of monoamine oxidase inhibitors, tricyclics, and tetracyclics. Part I: Monoamine oxidase inhibitors. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2007.

LOPRESTI, A.L., HOOD, S.D., DRUMMOND, P.D. A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: Diet, sleep and exercise. *J. Affect. Disord.* 148, 12–27, 2013.

LOWRY, C. A. et al. Serotonergic systems, anxiety, and affective disorder: focus on the dorsomedial part of the dorsal raphe nucleus. *Ann N Y Acad Sci*, v. 1148, p. 86-94, Dec 2008.

LU J, HOLMGREN A. Selenoproteins. *J Biol Chem*, 284:723–730, 2009.

MANJI, H. K., DUMAN, R. S. Impairments of neuroplasticity and cellular resilience in severe mood disorders: implications for the development of novel therapeutics. *Psychopharmacol Bull* 35, 5-49, 2001.

MANJI, H. K., LENOX, R. H. The nature of bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* 61 Supp 13, 42-57, 2000.

MANSELL, W., COLOM, F., SCOTT, J. The nature and treatment of depression in bipolar disorder: a review and implications for future psychological investigation. *Clin Psychol Rev* 25, 1076-1100, 2005.

MARCUS, M., YASAMY, M. T., OMMEREN, M., CHISHOLM, D. & SAXENA, S. Depression, a global public health concern. WHO Department of Mental Health and Substance Abuse, 6–8, 2012.

MARTIN, L. A., NEIGHBORS, H. W. & GRIFFITH, D. M. The Experience of symptoms of depression in men vs women. *JAMA Psychiatry*, 70(10), 1100, 2013.

MARTOCCHIA, A., STEFANELLI, M., FALASCHI, G. M., TOUSSAN, L., ROCCHIETTI MARCH, M., RAJA, S., ROMANO, G., FALASCHI, P. Targets of anti-

glucocorticoid therapy for stress-related diseases. *Recent Pat CNS Drug Discov* 8, 79-87, 2013.

MARSDEN, W. N. Synaptic plasticity in depression: molecular, cellular and functional correlates. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 43, 168-184, 2013.

MCINTYRE, R., O'DONOVAN, C. The human cost of not achieving full remission in depression. *Can J Psychiatry* 49, 10S–16S. doi:10.1.1.553.796, 2004.

MCINTYRE RS, LOPHAVEN S, OLSEN CK. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of vortioxetine on cognitive function in depressed adults. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2014.

MCLEOD, W. R., MCLEOD, M. F. Serotonin and severe affective disorders. *Aust N Z J Psychiatry* 5, 289-295, 1971.

MEARNS, J.; DUNN, J.; LEES-HALEY, P.R. Psychological effects of organophosphate pesticides: a review and call for psychologists. *J. Clin. Psychol.* 50, 286-294, 1994.

MEHTA, C. P., DESALE, A. V, KAKRANI, V. A. & BHAWALKAR, J. S. Economic Dependency and Depression in Elderly. *Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University*, 5(1), 100–110, 2016.

MEOTTI FC, BORGES VC, ZENI G, ROCHA JB, NOGUEIRA CW. Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and Ebselen for rats and mice. *Toxicol Lett* 143:9-16. 2003

MEOTTI FC, STANGHERLIN EC, ZENI G, NOGUEIRA CW, ROCHA JB. Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation. *Environ Res* 94:276-282. 2004.

MERALI, Z., DU, L., HRDINA, P., PALKOVITS, M., FALUDI, G., POULTER, M. O., ANISMAN, H. Dysregulation in the suicide brain: mRNA expression of corticotrophin releasing hormone receptors and GABA (A) receptor subunits in frontal cortical brain region. *J Neurosci*, 24, 1478-1485, 2004.

MEYER, J. H. et al. Elevated putamen D 2 receptor binding potential in major depression with motor retardation: an [11 C] raclopride positron emission tomography study. *American Journal of Psychiatry*, Washington, v. 163, n. 9, p. 594-602, Set. 2006.

MILLAN, M. J. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant agents: a critical review. *Eur J Pharmacol*, v. 500, n. 1-3, p. 371-84, Oct 1 2004.

MILLAN, M. J. Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. *Pharmacol Ther* 110, 135-370, 2006.

MILLAN, M. J. Dual- and triple-acting agents for treating core and co-morbid symptoms of major depression: novel concepts, new drugs. *Neurotherapeutics* 6, 53-77, 2009.

MILLAN, M. J. On 'polypharmacy' and multi-target agents, complementary strategies for improving the treatment of depression: a comparative appraisal. *Int J Neuropsychopharmacol*, 1-29, 2013.

MIN, W. Monoamine transporter gene polymorphisms affect susceptibility to depression and predict antidepressant response. *Psychopharmacology. Alemanha*, v. 205, n. 3, p. 409-417. Maio, 2009.

MITCHELL, N. D.; BAKER, G. B. An update on the role of glutamate in the pathophysiology of depression. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, Copenhagen, v. 122, n. 3, p. 192-210, Jan. 2010.

MONTGOMERY SA, GABRIEL R, JAMES D, HAWLEY C, BURKITT P. The specificity of the zimelidine reaction. *International Clinical Psychopharmacology*. 1989.

MOREIRA R. The efficacy and tolerability of bupropion in the treatment of major depressive disorder. *Clinical Drug Investigation*. 2011.

MORENO, R. A., MORENO, D. H. & SOARES, M. B. DE M. Psicofarmacologia de antidepressivos. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 21, 24-40, 1999.

MORET, C.; BRILEY, M. The importance of norepinephrine in depression. *Neuropsychiatr Disease and Treatment*, Albany, Auckland, v. 7, n. Suppl 1, p. 9-13, Maio. 2011.

MØRK A, PEHRSON A, BRENNUM LT, NIELSEN SM, ZHONG H, LASSEN AB, STENSBOEL TB. Pharmacological effects of Lu AA21004: A novel multimodal compound for the treatment of major depressive disorder. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2012.

MØRK A, MONTEZINHO LP, MILLER S, TRIPPODI-MURPHY C, PLATH N, LI Y, SANCHEZ C. Vortioxetine (Lu AA21004), a novel multimodal antidepressant, enhances memory in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2013.

MORILAK, D. A.; FRAZER, A. Antidepressants and brain monoaminergic systems: a dimensional approach to understanding their behavioural effects in depression and anxiety disorders. *Int J Neuropsychopharmacol*, v. 7, n. 2, p. 193-218, Jun 2004.

MOXON, A.L.; RHIAN, M. Selenium poisoning. *Physiol. Ver.*, 23, 305-337. 1943.

MÜLLER A., CADENAS E., GRAF P., SIES H. A novel biologically active seleno-organic compound-I: glutathione peroxidase-like activity in vitro and antioxidant capacity of PZ51 (ebselen). *Biochem. Pharmacol.* 33:3235-3239, 1984.

MURPHY, D. L., LESCH, K. P. Targeting the murine serotonin transporter: insights into human neurobiology. *Nat Rev Neurosci* 9, 85-96, 2008.

MUSAZZI, L., RACAGNI, G., POPOLI, M. Stress, glucocorticoids and glutamate release: effects of antidepressant drugs. *Neurochem Int* 59, 138-149, 2011.

MUSAZZI, L., TRECCANI, G., MALLEI, A., POPOLI, M. The action of antidepressants on the glutamate system: regulation of glutamate release and glutamate receptors. *Biol Psychiatry* 73, 1180-1188, 2013.

NAILA, A. Control of biogenic amines in food—existing and emerging approaches. *Journal of Food Science, Champaign, IL, Estados Unidos*, v. 75, n. 7, p. R139-R150, Set. 2010.

NAKAMURO, K.; OKUNO, T.; HASEGAWA, T. Metabolismo f Selenoamino Acids and Contribution of Selenium Methylation to their toxicity. *J. Health Sci* 46, 418-421, 2000.

NARAJJI, C., KARVEKAR, M. D., DAS, A. K. Biological importance of organoselenium compounds. *Indian J. Pharm. Sci* 69, 344-351, 2007.

NEGRÃO, M. M. Transtornos do Humor I, Maio, 2016. Disponível em: <http://www.orgone.com.br/a_thumor1.html>.

NEMEROFF, C.B.; OWENS, M.J. Treatment of mood disorders. *Nat. Neurosci.* 5, 1068-1070, 2002.

NEWBERG, A.; AMSTERDAM, J.; SHULTS, J. Dopamine transporter density may be associated with the depressed affect in healthy subjects. *Nuclear Medicine Communications, Londres*, v. 28, n. 1, p. 3-6, Jan. 2007.

NILSSON BS. Adverse reactions in connection with zimeldine treatment--a review. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 1983.

NOGUEIRA CW, QUINHONES EB, JUNG EA, ZENI G, ROCHA JB. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of diphenyl diselenide. *Inflamm Res* 52:56-63. 2003.

NOGUEIRA, C.W.; ZENI, G.; ROCHA, J.B.T. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chem. Rev.* 104, 6255-6286, 2004.

NOGUEIRA CW, ROCHA JB. Diphenyl Diselenide a Janus-Faced Molecule. *J Braz Chem Soc*, 2010.

NOGUEIRA CW, ROCHA JBT. Toxicology and pharmacology of selenium: emphasis on synthetic organoselenium compounds. *Arch Toxicol*, 85(11):1313-59, 2011.

NORTH, C. S., PFEFFERBAUM, B. Mental health response to community disasters: a systematic review. *JAMA* 310, 507-518, 2013.

NOWAK, G. Antidepressant-like activity of CGP 36742 and CGP 51176, selective GABAB receptor antagonists, in rodents. *British Journal of Pharmacology*, Basingstoke, Hampshire, v. 149, n. 5, p. 581-590, Nov. 2006.

OLATUNJI, B. O., FELDMAN, G., SMITS, J. A., CHRISTIAN, K. M., ZALTA, A. K., POLLACK, M. H., SIMON, N. M. Examination of the decline in symptoms of anxiety and depression in generalized anxiety disorder: impact of anxiety sensitivity on response to pharmacotherapy. *Depress Anxiety* 25, 167-171, 2008.

OVERSTREET, D. H. Modeling depression in animal models. *Methods Mol Biol* 829, 125- 144, 2012.

OWENS MJ, MORGAN WN, PLOTT SJ, NEMEROFF CB. Neurotransmitter receptor and transporter binding profile of antidepressants and their metabolites. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1997.

PÁEZ-PEREDA, M. New drug targets in the signalling pathways activated by antidepressants. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 29, 1010-1016, 2005.

PAN, J.-X., XIA, J.-J., DENG, F.-L., LIANG, W.-E., WI, J., YIN, B.-M., CHEN, J.-J., YE, F., WANG, H.-Y., ZHENG, P., XIE, P. - Diagnosis of major depressive disorder based on changes in multiple plasma neurotransmitters: a targeted metabolomics study. *Translational Psychiatry*, 2018.

PAPP, L.V. et al. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid. Redox Signal.* 9, 775-806, 2007.

PAPAKOSTAS, G.I., PETERSEN, T., MAHAL, Y., MISCHOULON, D., NIERENBERG, A.A., FAVA, M. Quality of life assessments in major depressive disorder: a review of the literature. *Gen. Hosp. Psychiatry* 26, 13–17, 2004.

PAPAKOSTAS GI. Serotonin norepinephrine reuptake inhibitors: Spectrum of efficacy in major depressive disorder. *Primary Psychiatry*. 2009.

PARISE, E. M. Repeated ketamine exposure induces an enduring resilient phenotype in adolescent and adult rats. *Biological Psychiatry*, Amsterdam, v. 74, n. 10, p. 750-759, Nov. 2013.

PARKER, G.; BROTHIE, H. Mood effects of the amino acids tryptophan and tyrosine. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, Copenhagen, v. 124, n. 6, p. 417-426, Dez. 2011.

PARNHAM M.J., LEYCK S., GRAF E., DOWLING E.J., BLAKE D.R. The pharmacology of ebselen. *Agents and Actions* 32:4-9, 1991.

PATAI'S CHEMISTRY OF FUNCTIONAL GROUPS. The Chemistry of Organic Selenium and Tellurium Compounds. Rappoport Z (Ed), John Wiley E Sons Ltd, PP 61, 2012.

PEARCE EF, MURPHY JA. Vortioxetine for the treatment of depression. *Annals of Pharmacotherapy*. 2014.

PLETSCHER A. The discovery of antidepressants: A winding path. *Experientia*. 1991.

PITTENGER, C. Riluzole in the treatment of mood and anxiety disorders. *CNS drugs*, Auckland, v. 22, n. 9, p. 761-786, Ago. 2008.

POPOLI, M., YAN, Z., MCEWEN, B. S., SANACORA, G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci* 13, 22-37, 2012.

PORCIÚNCULA L.O., ROCHA J.B.T., CIMAROSTI H., VINADÉ L., GHISLENI G., SALBEGO C.G., SOUZA D.O. Neuroprotective effect of ebselen on rat hippocampal slices submitted to oxygen-glucose deprivation: correlation with immunoccontent of inducible nitric oxide synthase. *Neurosc. Lett.* 346:101-104, 2003.

PORSOLT, R. D., BERTIN, A., BLAVET, N., DENIEL, M., JALFRE, M.. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *Eur J Pharmacol* 57, 201-210, 1979.

POSSER, T., MORETTO, M. B., DAFRE, A. L., FARINA, M., ROCHA, J. B., NOGUEIRA, C. W., ZENI, G., FERREIRA, J. D., LEAL, R. B., FRANCO, J. L. Antioxidant effect of diphenyl diselenide against sodium nitroprusside (SNP) induced lipid peroxidation in human platelets and erythrocyte membranes: An in vitro evaluation. *Chem. Biol. Inter.*, in press, 2006.

POSSER, T., KASTER, M. P., BARAUNA, S. C., ROCHA, J. B., RODRIGUES, A. L., LEAL, R. B. Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Eur J Pharmacol* 602, 85-91, 2009.

POWERS, S. W., KASHIKAR-ZUCK, S. M., ALLEN, J. R., LECATES, S. L., SLATER, S. K., ZAFAR, M., KABBOUCHE, M. A., O'BRIEN, H. L., SHENK, C. E., RAUSCH, J. R., HERSHEY, A. D. Cognitive behavioral therapy plus amitriptyline for chronic migraine in children and adolescents: a randomized clinical trial. *JAMA* 310, 2622-2630, 2013.

PRISTUPA ZB, WILSON JM, HOFFMAN BJ, KISH SJ, NIZNIK HB. Pharmacological heterogeneity of the cloned and native human dopamine transporter: disassociation of [3H]WIN 35,428 and [3H]GBR 12,935 binding. *Molecular Pharmacology*. 1994.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 2003.

PURVES, D.; AUGUSTINE, G. J.; FITZPATRICK, D. *Neuroscience*. 2ª edição. Sunderland (MA): Sinauer Associates. Glutamate, 2001,

RACAGNI, G., POPOLI, M. The pharmacological properties of antidepressants. *Int Clin Psychopharmacol* 25, 117-131, 2010.

RAYMAN, M. P. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *Brit. J. Nutr.* 100, 254-268, 2008.

RATMAN, M. P. The importance of selenium to human health. *Lancet* 356, 233-241, 2000.

RENOIR, T., HASEBE, K., GRAY, L. Mind and body: how the health of the body impacts on neuropsychiatry. *Front Pharmacol* 4, 158, 2013.

RASEKH HR, DAVIS MD, COOKE LW, MAZZIO EA, REAMS RR, SOLIMAN KF. The effect of selenium on the central dopaminergic system: a microdialysis study. *Life Sci*, 61(11):1029-35, 1997.

RON DE KLOET, E., JOËLS, M., HOLSBOER, F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 463–75, 2005.

ROSSATO JI, KETZER LA, CENTURIAO FB, SILVA SJ, LUDTKE DS, ZENI G, BRAGA AL, RUBIN MA, ROCHA JB. Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain. *Neurochem Res* 27:297-303, 2002.

RUHÉ, H. G.; MASON, N. S.; SCHENE, A. H. Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Molecular Psychiatry*, New York, v. 12, n. 4, p. 331-359, Apr. 2007.

SANACORA, G., ZARATE, C. A., KRYSTAL, J. H., MANJI, H. K. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov*, 7, 426-437, 2008.

SANACORA, G., TRECCANI, G., POPOLI, M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. *Neuropharmacology* 62, 63-77, 2012.

SÁNCHEZ C, HYTTEL J. Comparison of the effects of antidepressants and their metabolites on reuptake of biogenic amines and on receptor binding. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 1999.

SARANDOL, A. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative antioxidative systems. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* 22, 67-73, 2007.

SAVEGNAGO, L. et al. Antisecretory and antiulcer effects of diphenyl diselenide. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 21, 86-92, 2006.

SAVEGNAGO, L., PINTO, L. G., JESSE, C. R., ALVES, D., ROCHA, J. B., NOGUEIRA, C. W., ZENI, G. Antinociceptive properties of diphenyl diselenide: evidences for the mechanism of action. *Eur J Pharmacol*, 555, 129-138, 2007.

SAVEGNAGO, L., JESSE, C. R., PINTO, L. G., ROCHA, J. B., BARANCELLI, D. A., NOGUEIRA, C. W., ZENI, G. Diphenyl diselenide exerts antidepressant-like and anxiolytic-like effects in mice: involvement of L-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway in its antidepressant-like action. *Pharmacol Biochem Behav*, 88, 418-426, 2008.

SCHEWE, T. Molecular actions of ebselen – an anti-inflammatory antioxidant. *Gen. Pharmac.* 26:1153-1169, 1995.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 122, 509-522, 1965.

SCHMITT, U.; HIEMKE, C. Combination of open field and elevated plus-maze: a suitable test battery to assess strain as well as treatment differences in rat behavior. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1998.

SCHULBERG HC, KATON W, SIMON GE, RUSH A. Treating major depression in primary care practice: An update of the agency for health care policy and research practice guidelines. *Archives of General Psychiatry*. 1998.

SCHWARZ, K, FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *Am Chem Soc*, 79: 3292-3293, 1957.

SIES H., MASUMOTO H. Ebselen as a glutathione peroxidase mimic and as a scavenger of peroxynitrite. *Adv. Pharmacol.* 38:229-246, 1997.

SHAW DM, ECCLESTON EG, CAMPS FE. 5-Hydroxytryptamine in the hind-brain of depressive suicides. *The British Journal of Psychiatry*. 1967.

SHER, L. Selenium and human health. *Lancet* 356, 943, 2000.

SHER, L. Effects of selenium status on mood and behaviour: role of thyroid hormones. *Aust N Z J Psychiatry* 36, 559-560, 2002.

SHULMAN K, HERRMANN N, WALKER S. Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression. *CNS Drugs*. 2013.

SIGMA-ALDRICH. Glutamate/GABA Synthesis and Metabolism. 2016. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/rbi-handbook/non-peptide-receptors-synthesis-and-metabolism/glutamate-gaba-synthesis-and-metabolism.html>>.

SOARES, O. T. Interações Medicamentosas em Psiquiatria. Disponível em: <<http://www.ipqhc.org.br/pdfs/Psico.pdf>>.

SONDA, S., KAWAHARA, T., KATAYAMA, K., SATO, N. & ASANO, K. Synthesis and pharmacological evaluation of benzamide derivatives as selective 5-HT(4) receptor agonists. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 13, 3295-3308, 2005.

STAHL, S. M.; STAHL, S. M. Essential psychopharmacology of depression and bipolar disorder. 3ª Edição. Cambridge University Press, Reino Unido, 2000.

STAHL SM, PRADKO JF, HAIGHT BR, MODELL JG, ROCKETT CB, LEARNED-
COUGHLIN S. A review of the neuropharmacology of bupropion, a dual
norepinephrine and dopamine reuptake inhibitor. Primary Care Companion to The
Journal of Clinical Psychiatry. 2004.

STEFAŃSKI, R.; PAŁEJKO, W.; KOSTOWSKI, W.; PŁAŻNIK, A. The comparison of
benzodiazepine derivatives and serotonergic agonists and antagonists in two animal
models of anxiety. Neuropharmacology. 1992.

STEHN-BITTEL, L. Sinapses e Transmissões Sinápticas. In: LUNDY-EKMAN, L.
Neurociência fundamentos para reabilitação, 3ª Edição, Rio de Janeiro: Elsevier,
Capítulo 3, p. 45-59, 2008.

STERU, L., CHERMAT, R., THIERRY, B., SIMON, P. The tail suspension test: a new
method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology (Berl) 85, 367-
370, 1985.

STEWART, A. M., KALUEFF, A. V. Developing better and more valid animal models
of brain disorders. Behav Brain Res, 2013.

SCHWEIZER U, BRÄUER AU, KÖHRLE J, NITSCH R, SAVASKAN NE. Selenium
and brain function: a poorly recognized liaison. Brain Res Rev, 2004.

TALAROWSKA, M., BOBINSKA, K., ZAJACZKOWSKA, M., SU, K.-P., MAES, M.,
GALECKI, P. Impact of oxidative/nitrosative stress and inflammation on cognitive
functions in patients with recurrent depressive disorders. Med. Sci. Monit. 20, 110–
115, 2014.

TEIXEIRA-SILVA, F.; QUEIROGA, M. N. G.; VARELA, R. W. B.; FECHINE, M. F.
Métodos para Avaliar Drogas Antidepressivas. In: Almeida, R.N. Psicofarmacologia
Fundamentos Práticos. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, p. 262 - 274, 2006.

THASE, M. E., 2013. The multifactorial presentation of depression in acute care. J
Clin Psychiatry 74 Suppl 2, 3-8, 2013.

THOMAS DR, NELSON DR, JOHNSON AM. Biochemical effects of the
antidepressant paroxetine, a specific 5-hydroxytryptamine uptake inhibitor.
Psychopharmacology. 1987.

THIERRY, B., STERU, L., CHERMAT R., SIMON, P. Searching-waiting strategy: a
candidate for a evolutionary model of depression? Behav. Neural. Biol., 41:180-189,
1984.

TIMMERMANS, W., XIONG, H., HOOGENRAAD, C. C., KRUGERS, H. J., 2013.
Stress and excitatory synapses: from health to disease. Neuroscience 248, 626-636,
2013.

TSUBOI, H. Possible connections among job stress, depressive symptoms, lipid
modulation and antioxidants. J. Affect. Disord. 91, 63-70, 2006.

TUNG, T. C. Depressão. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 64, n. 12, 2007.

TYE, K. M. et al. Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour. *Nature*, Reino Unido, v. 493, n. 7433, p. 537-541, 2013.

UHER R, MORS O, RIETSCHER M, RAJEWSKA-RAGER A, PETROVIC A, ZOBEL A, ET AL. MCGUFFIN P. Early and delayed onset of response to antidepressants in individual trajectories of change during treatment of major depression: a secondary analysis of data from the genome-based therapeutic drugs for depression (GENDEP) study. *Journal of Clinical Psychiatry*. 2011.

URSINI, F. Dual function of the seleno-protein PHGPx during sperm maturation. *Science* 285, 1393-1396, 1990.

VAISHNAVI SN, NEMEROFF CB, PLOTT SJ, RAO SG, KRANZLER J, OWENS MJ. Milnacipran: a comparative analysis of human monoamine uptake and transporter binding affinity. *Biological Psychiatry*, 2004.

VAN PRAAG, H.M. Monoamines and abnormal behaviour: a multiaminergic perspective. *Br. J. Psychiatry* 157, 723-734, 1990.

VINCETI M, WEI ET, MALAGOLI C, BERGOMI M, VIVOLI G. Adverse health effects of selenium in humans. *Rev Environ Health*, 16:233–251, 2001.

WALSH, R. N., CUMMINS, R.A. The open-field test: a critical review. *Psychol Bull.*, 83, 482-504. 1976.

WENDEL A., FAUSEL M., SAFAYHI H., TIEGS G., OTTER R. A novel biologically active seleno-organic compound--II. Activity of PZ 51 in relation to glutathione peroxidase. *Biochem. Pharmacol.* 33:3241, 1984.

WERNER, F; COVEÑAS, R. Classical Neurotransmitters and Neuropeptides Involved in Major Depression: a Review. *International Journal of Neuroscience*, Londres, v. 120, n. 7, p. 455–470, Jul. 2010.

WILSON S.R., ZUCKER P.A., HUANG R-R.C., SPECTOR A. Development of synthetic compounds with glutathione peroxidase activity. *J. Am. Chem. Soc.* 111:5936-5939, 1989.

WINGLER, K.; BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Gastrointestinal glutathione peroxidase. *Biofactors* 10, 245-249, 1999.

WHANGER, P. D.; PEDERSEN, N. D.; HATFIELD, J.; WESWING, P. H. Absorption of selenite and selenomethionine from ligated digestive tract segments in rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 153, 295-287. 1976.

WHO, 2016A. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Media Centre. Depression. Fact Sheet No.369, 2016 [Internet]. [WWW Document]. Organ. Geneva World Heal.

WHO, 2016B. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Programmes. Management of substance abuse. Terminology and classification. Diagnostic and statistical 71 manual of mental disorders. More information on DSM-V.

WONG DT, BYMASTER FP, ENGLEMAN EA. Prozac (fluoxetine, lilly 110140), the first selective serotonin uptake inhibitor and an antidepressant drug: Twenty years since its first publication. Life Sciences. 1995.

WONG DT, HORNG JS, BYMASTER FP, HAUSER KL, MOLLOY BB. A selective inhibitor of serotonin uptake: Lilly 110140, 3-(p-Trifluoromethylphenoxy)-n-methyl-3-phenylpropylamine. Life Sciences. 1974.

WONG, M.; LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. Nat. Rev. Neurosci. 2, 343-351, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depression and other common mental disorders: global health estimates. Geneva: World Health Organization; 2017.

WORRALL, D.M.; WILLIAMS, D.C. Sodium ion-dependent transporters for neurotransmitter: a review of recent developments. Biochem. J. 297, 425-436, 1994.

YAMADA, M.; YASUHARA, H. Clinical pharmacology of MAO inhibitors: safety and future. Neurotoxicology, v. 25, n. 1-2, p. 215-21, Jan 2004.

YANG, F.; JIANG, X.; LI, J.; WANG, Y.; LIU, Y.; BI, M.; WU, C.; ZHAO, Q.; CHEN, W.; YIN, J.; ZHANG, J.; XIE, Y.; HUA, T.; XU, M.; GUO, S.; WANG, Z.; HE, Y.; SHEN, J.; Synthesis, structure–activity relationships, and biological valuation of a series of benzamides as potential multi receptor antipsychotics. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 26, p. 3141-3147, 2016.

YILDIZ-YESILOGLU, A.; ANKERST, D. P. Review of 1 H magnetic resonance spectroscopy findings in major depressive disorder: a meta-analysis. Psychiatry Research: Neuroimaging, Shannon, Irlanda, v. 147, n. 1, p. 1-25, Jun. 2006.

YOUNG, S. N. How to increase serotonin in the human brain without drugs. Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN, Ottawa, Canada, v. 32, n. 6, p. 394, Nov. 2007.

ZARATE, C. A., JR., QUIROZ, J. A., SINGH, J. B., DENICOFF, K. D., DE JESUS, G., LUCKENBAUGH, D. A., CHARNEY, D. S., MANJI, H. K. An open-label trial of the glutamatergic agent riluzole in combination with lithium for the treatment of bipolar depression. Biol Psychiatry 57, 430-432, 2005.

ZYLICZ, Z., SMITS, C., KRAJNIK, M. Paroxetine for pruritus in advanced cancer. J Pain Symptom Manage 16, 121-124, 1998.

ANEXO



Pelotas, 05 de outubro de 2017

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação do potencial farmacológico de benzamidas selenopropargílicas em modelos de dor e depressão em camundongos**” processo número 23110.004903/2017-74, de responsabilidade de **César Augusto Bruning** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua complementação pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 02/10/2017.

Finalidade	(X) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	05/10/2017 a 15/09/2020
Espécie/linhagem/raça	<i>Mus musculus</i> /Swiss
Nº de animais	656
Idade	60 dias
Sexo	650 machos e 6 fêmeas
Origem	Biotério Central - UFPEL

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao **COBALTO** para posterior registro no **COCEPE** (código para cadastro nº **CEE A 4903-2017**).


M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix
Presidente da CEEA

Ciente em: 25 / 10 / 2017
 Assinatura do Professor Responsável: 