

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

**ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICO E
SEROTONINÉRGICO NO EFEITO TIPO ANTIDEPRESSIVO CAUSADO
PELO FENILSELENOMETIL-1,2,3-TRIAZOL EM CAMUNDONGOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Franciele Donato

Uruguaiana, RS, Brasil.

2013

**ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICO E
SEROTONINÉRGICO NO EFEITO TIPO ANTIDEPRESSIVO CAUSADO
PELO FENILSELENOMETIL-1,2,3-TRIAZOL EM CAMUNDONGOS**

por

Franciele Donato

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Bioquímica**

Orientadora: Profa. Dra. Lucielli Savegnago

Co-orientador: Prof. Dr. Cristiano Ricardo Jesse

Uruguaiana, RS, Brasil.

2013

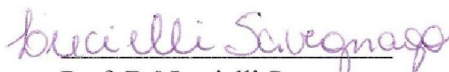
FRANCIELE DONATO

ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICO E
SEROTONINÉRGICO NO EFEITO TIPO ANTIDEPRESSIVO CAUSADO
PELO FENILSELENOMETIL-1,2,3-TRIAZOL EM CAMUNDONGOS

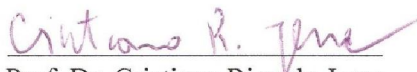
Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal
do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial
para obtenção do grau de **Mestre em Bioquímica**.
Área de concentração: Bioquímica Farmacêutica e
Toxicológica

Dissertação defendida e aprovada em: 17 de janeiro de 2013.

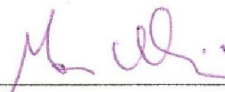
Banca examinadora:



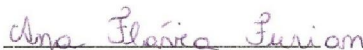
Prof. Dr.ª Lucielli Saveghago
Orientadora (UFPel)



Prof. Dr. Cristiano Ricardo Jesse
Co-orientador (UNIPAMPA)



Prof. Dr. Mauro Schneider Oliveira
UFSM



Prof. Dr.ª Ana Flávia Furian
UFSM

Uruguaiana, RS, Brasil.

2013

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que sempre está presente guiando e iluminando meu caminho.

Aos meus queridos pais, por todo amor, dedicação, apoio e por todos os ensinamentos de vida, enfim, não tenho palavras para agradecer tudo que vocês já fizeram e fazem por mim. Sei que por muitas vezes vocês abriram mão dos seus sonhos para que os meus fossem realizados; e principalmente, pelo suporte emocional e educação. São os meus maiores admiradores. Amo vocês!

Agradeço ao Giovani, meu amor, pelo carinho, amor incondicional, por estar sempre ao meu lado desde o início da graduação, sempre me incentivando e principalmente acreditando em mim! Obrigada pela compreensão nos momentos mais difíceis ou de ausência. Te amo muito!

Aos meus irmãos, Vitor e Daniel, que mesmo longe me proporcionaram muitos momentos de felicidade. Amo vocês!!

À minha orientadora, Lucielli, expresso minha gratidão por ser a principal responsável pela minha inserção e minha opção pela pesquisa. Obrigada pela amizade, pelo apoio, sempre me estimulando, e também pelo tempo dedicado, sugestões e compreensão. Enfim, obrigada por tudo!

Ao Cristiano, que foi muito mais que um co-orientador. Agradeço imensamente a excelente oportunidade que me deu de fazer parte do seu grupo de pesquisa. Principalmente, por ter se colocado a disposição para realização deste trabalho e pela oportunidade de ter continuado a trabalhar com você, um vínculo que iniciou na graduação; e principalmente pelo aprendizado, tempo dedicado, sugestões, conselhos. Enfim, muito obrigada pela orientação!

Também sou grata aos meninos do LaftamBio Pampa, pela amizade, colaboração e por proporcionarem dias super agradáveis no laboratório, é muito bom trabalhar com vocês.

Um agradecimento especial a Natália e ao professor Diego, responsáveis pela síntese do composto utilizado neste trabalho.

Obrigada pela colaboração, amizade, ensinamentos das meninas do Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia da UFPel, principalmente a Débora, que mesmo sem me conhecer hospedou-me na sua casa.

Aos Amigos, que fora do laboratório me acompanharam neste percurso, agradeço as palavras de incentivo e de amizade, e também aos momentos de descontração. Adoro vocês!

À Universidade Federal do Pampa e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica pela possibilidade de realização desse curso.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, que contribuíram de alguma forma para minha formação.

Aos animais utilizados, todo o meu respeito, pois sem eles não teria sido possível a realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa que me foi concedida para a concretização deste trabalho.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica
Universidade Federal do Pampa

ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS DOPAMINÉRGICO E SEROTONINÉRGICO NO EFEITO TIPO ANTIDEPRESSIVO CAUSADO PELO FENILSELENOMETIL-1,2,3-TRIAZOL EM CAMUNDONGOS

Autora: Franciele Donato
Orientadora: Lucielli Savegnago
Co-orientador: Cristiano Ricardo Jesse

Local e Data da defesa: Uruguaiana, 17 de janeiro de 2013.

A depressão é um transtorno mental comum associado a um significativo impacto negativo na qualidade de vida, morbidade/mortalidade e função cognitiva. A teoria das monoaminas da depressão postula que esta doença resulta de uma deficiência na atividade monoaminérgica no cérebro, no entanto, outros sistemas neurais e processos bioquímicos, como o estresse oxidativo, parecem estar envolvidos na sua patogênese. Os objetivos desse estudo foram investigar o efeito tipo antidepressivo e toxicidade aguda do fenilselenometil-1,2,3-triazol (Se-TZ), (um composto orgânico heterocíclico contendo selênio), administrado pela via oral, em camundongos. Os resultados obtidos evidenciaram que a administração de Se-TZ, reduziu significativamente o tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda (TSC), sem alterar a atividade locomotora e exploratória no teste de campo aberto (TCA). O efeito tipo antidepressivo de Se-TZ no TSC foi bloqueado pelo pré-tratamento dos camundongos com SCH23390 (0,05 mg/kg, s.c., antagonista seletivo do receptor D₁), sulpirida (50 mg/kg, i.p., antagonista seletivo do receptor D₂) e metisergida (2 mg/kg, s.c., antagonista não seletivo dos receptores 5-HT), mas não com prazosin (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores α_1 -adrenérgico), ioimbina (1 mg/kg i.p., antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos) e propranolol (2 mg/kg, i.p., antagonista não seletivo β -adrenérgico). A determinação dos níveis de neurotransmissores monoaminérgicos e seus metabólitos colaborou com os resultados obtidos anteriormente no TSC. Neste contexto, o Se-TZ, aumentou os níveis dos neurotransmissores monoaminérgicos dopamina (DA) e serotonina (5-HT) no córtex cerebral e no hipocampo, enquanto que os níveis de norepinefrina (NE), não foram alterados. Este estudo também mostrou que 72 horas após a administração do Se-TZ, os parâmetros de toxicidade aguda aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), ureia e creatinina, não foram alterados. Além disso, os resultados evidenciaram que a exposição ao Se-TZ causou um aumento significativo na atividade da catalase (CAT) no córtex cerebral e no hipocampo, no entanto, a glutatona S-transferase (GST) aumentou apenas no córtex cerebral. A peroxidação lipídica e os níveis de tióis não-protéicos (NPSH) não foram alterados. Estes resultados sugerem que o Se-TZ apresentou efeito tipo antidepressivo, mediado através do sistema neurotransmissor dopaminérgico (D₁ e D₂) e serotoninérgico, sem causar toxicidade aguda nos marcadores bioquímicos de lesão hepática e renal avaliados.

Palavras-chave: selênio, heterocíclicos, tipo antidepressivo, sistema monoaminérgico, camundongos.

ABSTRACT

Dissertation of Master
Program of Post-Graduation in Biochemistry
Federal University of Pampa

**INVOLVEMENT OF DOPAMINERGIC AND SEROTONERGIC
SYSTEMS IN THE ANTIDEPRESSANT-LIKE EFFECT CAUSED
BY FENILSELENOMETIL-1 ,2,3-TRIAZOLE IN MICE**

Author: Franciele Donato
Advisor: Lucielli Savegnago
Co-advisor: Cristiano Ricardo Jesse

Site and Date of Defence: Uruguaiiana, january 17, 2013.

Depression is a common mental disorder associated with a significant negative impact on quality of life, morbidity/mortality, and cognitive function. The monoamine theory of depression postulates that this disease results from a deficiency of brain monoaminergic activity, however other neural systems and biochemical process, like oxidative stress, appear to be involved in its pathogenesis. The aims of the study were investigated the antidepressant-like effect, acute toxicity of 4-phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole (Se-TZ), (an organocompounds selenium-containing heterocycles), administered by oral route, in mice. The results evidenced that administration of Se-TZ, significantly reduced immobility time in tail suspension test (TST), without altering locomotor and exploratory activity in the open-field test (OFT). The antidepressant-like effect of Se-TZ in the TST was prevented by pre-treatment of mice with SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c., selective D₁ receptor antagonist), sulpiride (50 mg/kg, i.p., selective D₂ receptor antagonist) and methysergide (2 mg/kg, s.c., non-selective 5-HT receptors antagonist), but not with prazosin (1 mg/kg, i.p., an α_1 -adrenoceptor antagonist), yohimbine (1 mg/kg, i.p., α_2 -adrenoceptor antagonist) and propranolol (2 mg/kg, i.p., a β -adrenoceptor antagonist). The determination of levels of monoamine neurotransmitters and their metabolites cooperating with results obtained previously in TST. In this context, the Se-TZ, increased monoamine neurotransmitters dopamine (DA) and serotonin (5-HT) levels in the cerebral cortex and hippocampus, whereas norepinephrine (NE) levels, were not altered. This study also showed that 72 hours after administration of single oral dose of Se-TZ, the parameters of acute toxicity to biochemical markers hepatic damage: aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) and renal: urea and creatinine, were not altered. Furthermore, the results evidenced that exposure to Se-TZ caused a significant increase in the catalase (CAT) activity in the cerebral cortex and hippocampus, however the glutathione S-transferase (GST) activity increased only in cerebral cortex. The lipid peroxidation and NPSH (non protein thiols) levels, were not changed. These results suggest that the Se-TZ presented antidepressant effect, mediated through the dopaminergic (D₁ and D₂) and serotonergic neurotransmitter systems, without causing acute toxicity in biochemical markers of liver and kidney damage evaluated.

Keywords: selenium, heterocycles, antidepressant-like, monoaminergic system, mice.

LISTA DE FIGURAS

Revisão Bibliográfica

Figura 1: Teoria monoaminérgica da depressão	22
Figura 2: Fármacos contendo unidade heterocíclica	28
Figura 3: Estrutura química de antidepressivos com estrutura heterocíclica	29
Figura 4: Estrutura química do fenilselenometil-1,2,3-triazol	30
Figura 5: Estrutura química de compostos orgânicos heterocíclicos contendo selênio	33
Figura 6: Estrutura química do Disseleneto de Difenila	34

Manuscrito

Figure 1. Chemical structure of 4-Phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole	67
Figure 2. Effect of acute administration of Se-TZ, fluoxetine and imipramine on immobility time in the TST in mice. Time-course curve of Se-TZ (50 mg/kg, p.o.; panel A) administered 30, 60, 120 and 240 minutes before the TST. Dose-response curve of Se-TZ (1, 5, 25 and 50 mg/kg, p.o.; panel B) administered 30 minutes before the TST. Fluoxetine (32mg/kg, p.o.) and imipramine (15 mg/kg, p.o.), were used as positive controls and they were administered 30 minutes before the TST	68
Figure 3. Effect of pre-treatment with prazosin (1 mg/kg, i.p.; panel A), yohimbine (1 mg/kg, i.p.; panel B) and propranolol (2 mg/kg, i.p.; panel C) on the immobility time of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST in mice	69
Figure 4. Effect of pre-treatment with SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c.; panel A) and sulpiride (50 mg/kg, i.p.; panel B) on immobility time of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST in mice..	71
Figure 5. Effect of pre-treatment with methysergide (2 mg/kg, s.c.) on immobility time of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST in mice	72

LISTA DE TABELAS

Revisão Bibliográfica

Tabela 1. Critérios diagnósticos da depressão de acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, quarta edição (DSM-IV)	19
--	----

Manuscrito

Table 1. Effect of acute treatment with Se-TZ administered orally on biochemical parameters in mice	73
Table 2. Effect of acute treatment with Se-TZ on lipid peroxidation and NPSH levels in the liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus of mice	74
Table 3. Effect of acute treatment with Se-TZ on CAT and GST activities the liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus of mice	75
Table 4. The levels of monoamine neurotransmitters and their metabolite (ng/g tissue) in cerebral cortex and hippocampus of mice after acute treatment with Se-TZ 25mg/kg	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChE - Acetilcolinesterase

ALT - Alanina Amino Transferase

AST - Aspartato Amino Transferase

BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês: Brain-derived neurotrophic factor)

BO – Bulbectomia Olfatória

CAT - Catalase

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CMS - Estresse Crônico Leve (do inglês: chronic mild stress)

D₁e D₂ - Subtipos de receptores dopaminérgicos

DA - Dopamina

DOPAC - 3,4-di-hidroxifenilacético (do inglês: 3,4-dihydroxyphenylacetic acid)

DSM-IV - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - quarta edição (do inglês, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Manual - Fourth Edition)

Ebselen - (2-fenil-1, 2-benzilsoselenazol-3 (2H)-ona)

ECI - Estresse crônico imprevisível

GPx - Glutathione peroxidase

GR - Glutathione reductase

GSH - Glutathione reduzida

GST - Glutathione transferase

i.p. - Intraperitoneal

ISRS - Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina

MDA - Malondialdeído

MDD - Transtorno Depressivo Maior (do inglês, Major Depressive Disorder)

MHPG - 3-metoxi-4-hidroxifeniletlenoglicol (do inglês: 4-Hydroxy-3-methoxyphenylglycol)

MRI - Ressonância Magnética

NE - Norepinefrina

NGF - Fator de crescimento neuronal (do inglês: Nerve Growth Factor)

NPSH - tiol não-proteico

p.o. - via oral (do inglês: per oral)

RMf - Ressonância Magnética funcional

S - Enxofre

s.c. - via subcutânea

Se-TZ - Fenilselenometil-1,2,3-triazol

SNC - Sistema nervoso central

SOD - Superóxido dismutase

TBARS - Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (do inglês: thiobarbituric acid reactive species)

TCA - Teste do Campo Aberto

TGN - Teste de Gaiola Nova

TNF - Teste do Nado Forçado

TON - Teste do Objeto Novo

TSC - Teste da Suspensão da Cauda

WHO - Organização Mundial da Saúde (do inglês, World Health Organization)

α_1 , α_2 e β - Subtipos de receptores noradrenérgicos

[(PhSe)₂] - Disseleneto de difenila

[m-CF₃(PhSe)₂] - m-trifluormetil-difenil disseleneto

[p-Cl(PhSe)₂] - p-cloro-difenil disseleneto

5-HIAA - Ácido 5-hidroxiindoleacético (do inglês: hydroxyindole acetic acid)

5-HT - Serotonina

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xii
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Depressão	18
2.1.2 Estresse Oxidativo X Depressão	24
2.2 Modelos experimentais para o estudo da depressão	25
2.2.1 Teste da suspensão da cauda (TSC)	26
2.2.2 Teste do nado forçado (TNF)	26
2.2.3 Teste do campo aberto (TCA)	27
2.3 Compostos Heterocíclicos	28
2.4 Selênio	30
2.4.1 Atividade biológica	31
2.4.2 Compostos Orgânicos de Selênio	32
3 OBJETIVOS	36
3.1 Objetivos Gerais	36
3.2 Objetivos Específicos	36
4. MANUSCRITO	38
Abstract	40
1. Introduction	41
2. Materials and methods	42
2.1. Animals	42
2.2. Chemicals	43
2.3. Behavioral testing	44
2.3.1 Tail suspension test (TST)	44
2.3.2. Open-field test (OFT)	45
2.4. Behavioral measurements	45

2.4.1. Monoamine neurotransmitters and metabolites levels.....	46
2.5. Acute toxicity and biochemical parameters	46
2.5.1. Lipid Peroxidation	47
2.5.2. Non protein thiols (NPSH) determination	48
2.5.3. Catalase (CAT) activity	48
2.5.4. Glutathione S-transferase (GST) activity.....	48
2.5.5. Protein determination.....	49
2.6. Statistical analysis.....	49
3. Results.....	50
3.1. Effect of the Se-TZ on the immobility time in the TST and locomotor and exploratory activity in the OFT	50
3.2. Investigation of the mechanisms underlying the antidepressant-like effect of the Se-TZ in the TST	51
3.3. Effects of Se-TZ on monoamine neurotransmitter levels and their metabolites.....	52
3.4. Acute toxicity and biochemical parameters	53
4. Discussion	54
Conflict of interest statement	59
Acknowledgments	59
References.....	60
4 DISCUSSÃO	82
5 CONCLUSÕES	88
6 PERSPECTIVAS	89
REFERÊNCIAS	90
ANEXO A – Protocolo de aprovação do projeto pelo CEUA-UNIPAMPA.....	100
ANEXO B – Carta de confirmação da submissão do artigo à revista “European Journal of Pharmacology”	101

1 INTRODUÇÃO

A depressão tornou-se alvo de grandes discussões em Saúde Mental na contemporaneidade devido ao fato de que estatísticas de levantamentos realizados pela Organização Mundial de Saúde (World Health Organization – WHO 2011) revelam que nos dias atuais a depressão representa uma das principais causas de incapacitação dos indivíduos, e a previsão para o ano de 2030, é que seja considerada a maior causa mundial. Devido à introspecção e ao isolamento que este estado afetivo provoca, acaba ocasionando uma incapacitação para realização de afazeres profissionais, bem como vivência de sua existência nas dimensões sociais e coletivas. A terapia disponível para o tratamento da depressão está frequentemente associada a vários efeitos colaterais indesejáveis, e a sua eficácia só alcança certa porção da população (Perović *et al.*, 2010). A heterogeneidade da resposta clínica ao antidepressivo e susceptibilidade aos efeitos adversos são os principais problemas clínicos que apoiam a investigação de novos agentes terapêuticos para tratar a depressão (Croom *et al.*, 2009).

Embora o mecanismo que provoca a depressão ainda não seja claramente elucidado, o estresse oxidativo através da produção de radicais livres, pode desempenhar um importante papel na sua fisiopatologia (Ng *et al.*, 2008; Behr *et al.*, 2012). Sob condições fisiológicas, há um equilíbrio entre os sistemas oxidantes e antioxidantes no organismo. Entretanto, o desequilíbrio entre os sistemas de defesa antioxidante e uma elevada produção de espécies reativas que resulta no estresse oxidativo, está implicado na fisiopatologia de diversas doenças neuropsiquiátricas, incluindo a depressão (Behr *et al.*, 2012). Em particular, têm sido relatados, que pacientes diagnosticados com depressão possuem um distúrbio oxidativo somado a uma diminuição na atividade de enzimas antioxidantes e que o tratamento com antidepressivos melhora este efeito (Sarandol *et al.*, 2007; Ng *et al.*, 2008).

Nesse contexto, cabe salientar que 85% dos fármacos disponíveis na medicina moderna são de origem sintética, destes, 62% são compostos heterocíclicos (Barreiro *et al.*, 2001). Os compostos heterocíclicos possuem grande importância, uma vez que muitos processos que sustentam a vida no planeta possuem a participação indispensável destes compostos, os quais estão distribuídos em grande número na natureza. Além disso, de maneira geral, esses compostos apresentam muitas aplicações farmacêuticas, agroquímicas, entre outras (Barreiro *et al.*, 2001). Um fato que vem reforçar a importância crescente dos compostos heterocíclicos é a notoriedade da aplicação de alguns representantes desta

categoria no tratamento de doenças que invariavelmente levam a morte de milhares de pessoas (Cao *et al.*, 2008). Por essas razões, a fundamentação de avaliar as propriedades farmacológicas e/ou toxicológicas de selenotriazóis deve-se ao fato de que muitos compostos heterocíclicos, os triazóis, são fármacos mundialmente consumidos que apresentam atividades farmacológicas diversificadas, tais como antihipertensiva (losartan); antiviral (ribavirina); antitumoral (carbamato de fluorouracila); antifúngica (fluconazol); antiinflamatória e analgésica (dipirona); antiprotozoária (metronidazol); inibidora da beta-lactamase (tazobactama sódica) e antimicrobiana (benzilpenicilina) (Mello *et al.*, 2006). Ainda neste sentido, cabe salientar que muitos antidepressivos já utilizados na clínica apresentam estrutura heterocíclica (Goodman & Gilman 2007).

Com base na importância crescente do campo de síntese de compostos heterocíclicos, um grande número de reações vêm sendo desenvolvidas, e a preparação de novos compostos tem sido objeto de estudos de vários grupos de pesquisa ao redor do mundo (Arcadi *et al.*, 1999; Barluenga *et al.*, 2003; Yue *et al.*, 2006; Alves *et al.*, 2008; Seus *et al.*, 2012). Dentre estas inúmeras classes de compostos heterocíclicos que vêm sendo preparados, os compostos contendo selênio surgem como uma importante alternativa que estimula a realização de testes bioquímicos e/ou farmacológicos, já que estudos têm demonstrado o papel do selênio em transtornos do humor (Hawkes & Hornbostel, 1996; Sher, 2007).

Neste contexto destacam-se os compostos heterocíclicos contendo selênio em sua estrutura, entre eles destaca-se o ebselen (2-fenil-1,2-benzilsoselenazol-3(2H)-ona), que exibe atividade catalítica e propriedades antioxidantes similares a glutatona peroxidase (Satoh *et al.*, 2004), além de possuir efeito tipo antidepressivo (Posser *et al.*, 2009). Outros compostos orgânicos (heterocíclicos contendo selênio) também estão sendo extensamente estudados e tem numerosas propriedades farmacológicas, incluindo o efeito tipo antidepressivo (Gay *et al.*, 2010; Gai *et al.*, 2012).

Dessa forma, considerando que existe: a necessidade de estender os nossos estudos sobre novos compostos orgânicos de selênio, uma vez que, estes apresentam inúmeras propriedades farmacológicas; a intensa busca por fármacos eficazes que possam representar uma nova alternativa terapêutica para depressão, com baixos efeitos adversos; a importância dos compostos heterocíclicos, mais precisamente os triazóis, particularmente no que se refere ao fato de inúmeros usos como medicamentos; o presente estudo avaliou o efeito tipo antidepressivo e a toxicidade aguda do fenilselenometil-1,2,3-triazol em camundongos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Depressão

O transtorno depressivo é uma das psicopatologias mais prevalentes, séria, altamente recorrente e incapacitante, com altas taxas de suicídio, elevado uso de tratamentos com altos custos para sociedade e que ameaça a qualidade de vida do indivíduo (Holtzheimer & Numeroff, 2006; Duman, 2010). Esta psicopatologia está associada com uma piora significativa no funcionamento social e ocupacional, é caracterizada por apresentar um conjunto de etiologias, sendo que a predisposição genética (hereditária) interagindo com fatores de riscos ambientais (traços de personalidade e eventos de vida estressantes) podem iniciar episódios depressivos em alguns pacientes (Kendler *et al.*, 1999). Alguns subtipos de depressão como o distúrbio depressivo maior apresentam maior incidência em determinadas famílias, desse modo sugerindo uma influência genética (Bienvenu *et al.*, 2011). Estudos genéticos sugerem que o risco para adquirir a doença resulta da influência de múltiplos genes, os quais podem sofrer interferências ambientais (Bienvenu *et al.*, 2011). Além disso, episódios depressivos podem ser desencadeados por eventos traumáticos, (e.g. perda de um ente querido) ou qualquer situação percebida como estressante (Klauke *et al.*, 2010). A depressão acomete pessoas de todas as idades, etnias e classes socioeconômicas (Brhlikova *et al.*, 2011), trazendo prejuízos na qualidade das relações interpessoais e pode apresentar comorbidade com outras doenças psiquiátricas e neurológicas, como ansiedade, abuso de substâncias, doença de Parkinson, entre outros diversos distúrbios somáticos, os quais limitam atividades normais (Gotlib & Joormann, 2010).

A depressão também é descrita como uma doença relacionada com o estresse, podendo este, causar alterações neuroquímicas e morfológicas que contribuem para o risco de depressão (Nestler *et al.*, 2002). Esses fatores isolados ou combinados induzem um estado de vulnerabilidade no indivíduo (Sullivan *et al.*, 2000; Davidson, 2011). De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-IV, 1994) (**Tabela 1**), a pessoa diagnosticada com depressão deverá apresentar juntamente com humor deprimido, perda de interesse ou prazer em praticamente todas as atividades diárias normais, sintoma conhecido como anedonia. Além disso, o paciente deverá exibir pelo menos quatro sintomas adicionais por um período de no

mínimo duas semanas (Kessler *et al.*, 2005; Davidson, 2011); estes sintomas característicos incluem a irritabilidade, sentimentos inapropriados de desvalia ou culpa, diminuição da capacidade de concentração e incapacidade de tomar decisões, distúrbios do sono, do apetite/peso, retardo ou agitação psicomotora, fadiga ou perda de energia, pensamentos suicidas ou relacionados com a morte.

Tabela 1. Critérios diagnósticos da depressão de acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, quarta edição (DSM-IV).

-
1. Humor deprimido
 2. Anedonia
-
3. Falta de esperança, desespero, sentimento de culpa ou desvalia
 4. Perda de peso e apetite/ ganho de peso ou apetite
 5. Agitação psicomotora/ letargia
 6. Fadiga ou falta de energia
 7. Pensamentos recorrentes de morte ou suicídio
 8. Dificuldade de concentração
 9. Insônia/hipersônia
-

Fonte: Manual Diagnóstico e Estatístico dos Distúrbios Mentais (American Psychiatric Association, 1994).

A condição clínica observada nos pacientes com depressão caracteriza-se por causar significativo sofrimento e prejuízo social, ocupacional e em outras áreas de funcionamento (Williams *et al.*, 1995). Esta patologia é extremamente heterogênea e de etiologia diversa e que não deve ser encarada apenas como uma doença crônica e recorrente, mas também como uma doença progressiva (Maletic *et al.*, 2007).

Os dados levantados pela Organização Mundial da Saúde (World Health Organization - WHO) demonstram que a depressão está entre os principais distúrbios psiquiátricos. Em 2004, o transtorno depressivo foi classificado em terceiro lugar no ranking como distúrbio incapacitante entre todas as idades e sexos; para o ano de 2030 está previsto que seja a maior causa mundial de incapacitação, sendo principal causa global de doença (WHO, 2011). Hoje a depressão afeta aproximadamente 350 milhões de indivíduos em todo o mundo, sendo que a incidência de vida varia de 15-25% (Kessler & Wang, 2009; WHO, 2012). Adicionalmente, existe um elevado índice de mortalidade associado ao suicídio, além disso, os pacientes deprimidos são mais propensos a desenvolverem doenças cardiovasculares, osteoporose,

diabetes mellitus tipo 2 e atrofia reversível do hipocampo (Kornhuber *et al.*, 2009; Van der Feltz-Cornelis *et al.*, 2010). O elevado risco de desenvolver esse transtorno, também está associado com a presença de condições médicas como doenças cardíacas e câncer. Além disso, a medicação usada para essas enfermidades pode produzir efeitos colaterais que podem contribuir para o desenvolvimento da depressão (Parker & Brotchie, 2010).

A terapia disponível para o tratamento da depressão está frequentemente associada a vários efeitos colaterais indesejáveis, e a sua eficácia só alcança uma certa porção da população (Perović *et al.*, 2010). A heterogeneidade da resposta clínica aos antidepressivos e susceptibilidade aos efeitos adversos são os principais problemas clínicos, por isso é importante apoiar a investigação de novos agentes terapêuticos para tratar a depressão (Croom *et al.*, 2009).

Apesar do forte impacto e prevalência da depressão na sociedade, existe ainda pouco conhecimento sobre sua patogenia. Isso pode ser devido a vários aspectos, como a dificuldade de pesquisar mudanças patológicas no encéfalo humano. As técnicas disponíveis para acessar as funções cerebrais consistem de estudos *post-mortem* e de neuroimagem (Tham *et al.*, 2010), as quais fornecem importantes relatos sobre as regiões encefálicas envolvidas neste transtorno do humor, embora simples mudanças na atividade cerebral possam não explicar esta complexa doença em sua totalidade (Krishnan & Nestler, 2008).

O conjunto de estruturas envolvidas na modulação da resposta comportamental ao estresse e na neurobiologia da depressão é complexo e engloba diversas regiões e circuitos encefálicos, os quais são altamente interconectados. Porém, certas estruturas têm recebido maior destaque, tais como hipocampo, córtex pré-frontal, hipotálamo, amígdala, tálamo e giro cingulado, sendo o conjunto dessas estruturas conhecido como sistema límbico (Price & Drevets, 2009). Acredita-se que prejuízos morfofuncionais nessas áreas estejam relacionados à depressão, por essa razão, essas estruturas são consideradas alvos estratégicos para o tratamento antidepressivo (Maletic *et al.*, 2007).

Desse modo, as regiões encefálicas citadas acima parecem contribuir para diferentes mecanismos da doença (Maletic *et al.*, 2007). Por exemplo, o córtex cerebral e o hipocampo podem mediar sintomas cognitivos da depressão, como prejuízos de memória, sentimentos de desvalia, desesperança e culpa. Estudos prévios avaliando pacientes deprimidos demonstraram alterações no fluxo sanguíneo, redução do volume da substância cinzenta e densidade glial no córtex cerebral e no hipocampo (Krishnan & Nestler, 2008). Já foi demonstrado também que ocorre atrofia e perda neuronal em resposta ao estresse na depressão, como nos estudos de imagens cerebrais de pacientes deprimidos, estes indicam

uma significativa redução do volume do hipocampo em comparação com indivíduos saudáveis e ainda mostram que o estresse pode resultar em atrofia e morte de neurônios nas áreas piramidais CA3 do hipocampo (Sapolsky, 1996). Além disso, o estresse diminui a neurogênese de neurônios granulares do giro dentado do hipocampo de animais adultos (Gould *et al.*, 1997). Estudos de ressonância magnética (MRI) mostram consistentemente que o córtex pré-frontal e o hipocampo são reduzidos em tamanho em pacientes adultos com transtorno depressivo maior (MDD), em comparação com controles saudáveis (Ongur *et al.*, 1998; MacQueen *et al.*, 2003). Desta maneira, os efeitos danosos de estresse podem contribuir para a redução da atividade e do volume do córtex e do hipocampo observado em pacientes com depressão ou com transtorno de estresse pós-traumático (Bremner *et al.*, 1995; Sheline *et al.*, 1996; Drevets *et al.*, 1997). Estudos prévios avaliando pacientes deprimidos demonstraram alterações no fluxo sanguíneo, redução do volume da substância cinzenta e densidade glial no córtex pré-frontal e no hipocampo (Krishnan & Nestler, 2008).

O hipocampo e o córtex cerebral participam de funções de alta ordem como memória, aprendizado, atenção e impulsos, tomada de decisões, bem como desempenha um papel chave na modulação autonômica e endócrina de resposta ao estresse. Nesse sentido, sugere-se que estas estruturas cerebrais podem mediar aspectos cognitivos da depressão, tais como deficiências de memória e sentimentos de culpa, desesperança e suicídio (Duman *et al.*, 1999; Czeh *et al.*, 2008). Além disso, alterações funcionais nestas áreas parecem favorecer o desenvolvimento de transtornos mentais, como ansiedade e depressão (Drevets, 2000; Hamani *et al.*, 2009; Musazzi *et al.*, 2010).

Além disso, prejuízos no estriado e no núcleo accumbens podem ser responsáveis por déficits em memórias emocionais, além de induzir motivação reduzida e anedonia. O hipotálamo, também apresenta papel importante nesta doença, modulando funções neurovegetativas como o sono-vigília, distúrbios de apetite e regulação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal. Adicionalmente, outra estrutura chave na regulação das respostas ao estresse e depressão é a amígdala, uma vez que alterações morfofuncionais e bioquímicas nesta estrutura encefálica estão implicadas na modulação do medo e da ansiedade (Rodrigues *et al.*, 2009). Estudos de imageamento por ressonância magnética funcional (RMf) e tomografia por emissão de pósitrons têm demonstrado que sintomas depressivos associados com aumento da atividade da amígdala e córtex cingulado subgenua estão relacionados a emoções disfóricas (Krishnan & Nestler, 2008; Vago *et al.*, 2011).

Apesar da etiologia da depressão ainda não ser bem esclarecida, sabe-se que a doença resulta, em parte, de uma deficiência na atividade monoaminérgica no cérebro (Elhwuegi,

2004). A hipótese monoaminérgica da depressão surgiu em 1965 e postula que o maior processo neuroquímico envolvido na depressão é a disfunção na neurotransmissão monoaminérgica e concomitante diminuição das monoaminas (norepinefrina (NE) e/ou serotonina (5-HT)) na fenda sináptica, e também pode ser estendida para dopamina (DA) (Schildkraut, 1965) (**Figura 1**). Desta maneira a concentração de monoaminas pode ser alterada através de uma perturbação na síntese, armazenamento ou liberação, ou estes podem manter-se inalterados, mas as atividades dos receptores e/ou mensageiros intracelulares podem estar alteradas. Esta hipótese é sustentada principalmente pelo fato de a maioria dos antidepressivos utilizados na clínica aumentarem os níveis de monoaminas no cérebro através da inibição da recaptação de 5-HT, NE ou DA e/ou ainda age como inibidor da enzima monoamina oxidase, enzima que biotransforma as monoaminas (Nemeroff, 2007). Estudos neurobiológicos e neuroanatômicos também estão de acordo com a hipótese monoaminérgica e indicam que importantes alterações nos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico estão relacionadas com o sucesso do tratamento antidepressivo (Cummings, 1993; Elhwuegi, 2004).

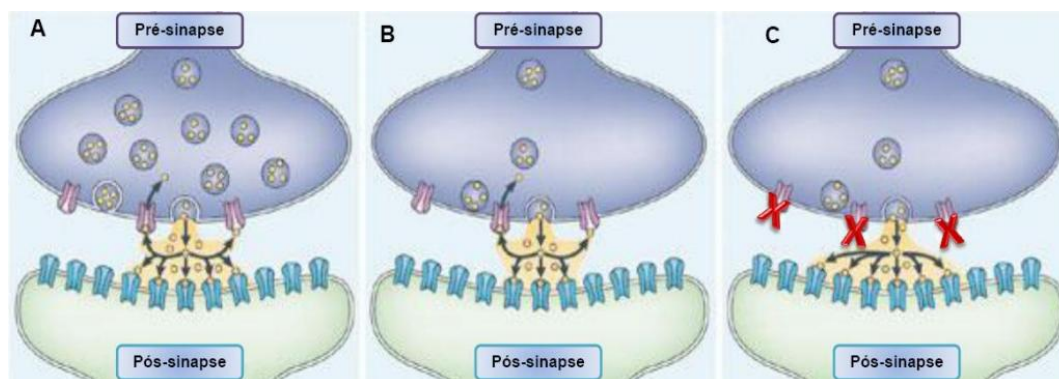


Figura 1. Teoria monoaminérgica da depressão. (A) No cérebro normal os neurotransmissores monoaminérgicos (5-HT, NE ou DA) (em amarelo) são liberados e ativam receptores pós-sinápticos. A neurotransmissão é terminada pela recaptação do neurotransmissor no neurônio pré-sináptico. (B) Na depressão, a concentração de monoaminas na fenda sináptica está diminuída, acarretando o transtorno de humor. (C) O bloqueio dos sítios de receptação, poderia representar o efeito do uso de antidepressivos (em vermelho) aumenta a disponibilidade dos neurotransmissores monoaminérgicos para ativarem seus receptores pós-sinápticos, e o humor é restabelecido. (Adaptado de Castrén, 2005).

O envolvimento do sistema serotoninérgico não participa só na neurobiologia da depressão, mas também, em alterações do comportamento (ansiedade, impulsividade, agressividade) (Kim, 2008). Além disso, participa na maturação dos sistemas cerebrais

envolvidos na regulação emocional no adulto, sendo que alterações serotoninérgicas numa fase precoce do desenvolvimento predis põem para o desenvolvimento de depressão (Froekjaer *et al.*, 2009). As drogas que agem sobre este sistema têm sido largamente utilizadas no tratamento dos distúrbios depressivos, sendo que o tratamento da depressão foi revolucionado com a introdução dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS). O primeiro ISRS introduzido foi a fluoxetina, que continua sendo um dos ISRS mais largamente prescrito. Outros ISRS incluem o citalopram, a fluvoxamina, a paroxetina, a sertralina e a venlafaxina (Risch & Nemeroff, 1992; Wong *et al.*, 2005).

O papel do sistema noradrenérgico na depressão também têm sido relatado na literatura (Wong & Licinio, 2001; Taylor *et al.*, 2005). Diversas evidências demonstram a participação de α -adrenoceptores e β -adrenoceptores na ação de fármacos antidepressivos. Sendo que o bloqueio de α_1 -adrenoceptores está associado a estados depressivos, enquanto que o tratamento crônico com antidepressivos causa um aumento na densidade e na atividade de α_1 -adrenoceptores no córtex frontal e no hipocampo. O tratamento crônico com antidepressivos também causa uma “down-regulation” dos auto-receptores α_2 -adrenérgicos e dos β_1 -adrenoceptores (Millan, 2004).

Adicionalmente, o sistema dopaminérgico também é um importante alvo implicado nas desordens envolvendo os transtornos de humor, devido ao fato de que a função dopaminérgica reduzida também está implicada na fisiopatologia da depressão (D’Aquila *et al.*, 2000; Dailly *et al.*, 2004). No estriado de pacientes com depressão maior foi observada uma “up-regulation” dos transportadores dopaminérgicos (Laasonen-Balk *et al.*, 1999), o que pode ser o fator primário que determina uma menor disponibilidade de DA na fenda sináptica (Dailly *et al.*, 2004). Cabe ressaltar que recentemente tem sido considerado que a hipofunção da via dopaminérgica mesolímbica pode estar relacionada com a anedonia, um dos principais sintomas da depressão, considerada como uma característica central do transtorno, e que o efeito de antidepressivos sobre a transmissão dopaminérgica parece ser um importante fator que contribui para a eficácia da terapia antidepressiva (Shankman *et al.*, 2010).

Desta forma, a modulação dos três sistemas, serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico, têm demonstrado participação nos efeitos comportamentais em testes animais preditivos de agentes antidepressivos como, o TNF e o TSC (Cryan *et al.*, 2005; O’Leary *et al.*, 2007).

2.1.2 Estresse Oxidativo X Depressão

O metabolismo celular produz continuamente espécies reativas através da respiração e outras atividades metabólicas, tanto fisiológicas como patológicas (Halliwell, 1994; Azbill *et al.*, 1997; Morgan *et al.*, 2007). Essas espécies reativas podem ser neutralizadas por defesas antioxidantes (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2000; Santamaría *et al.*, 2003). Entretanto, o desequilíbrio entre os sistemas de defesa antioxidante através de uma elevada produção de espécies reativas e/ou um prejuízo dos sistemas de defesas antioxidantes, resulta no estresse oxidativo. Esse quadro de estresse oxidativo pode causar danos a todas as estruturas celulares, incluindo ácido desoxirribonucléico (DNA), lipídios e proteínas (Dawson & Dawson, 1996; Halliwell & Gutteridge, 2007). O sistema nervoso central (SNC) é especialmente susceptível ao estresse oxidativo, devido ao grande conteúdo lipídico altamente peroxidável e à alta taxa de metabolismo oxidativo cerebral (Halliwell, 2006). Neste contexto, o estresse oxidativo tem sido implicado em muitos mecanismos de neurotoxicidade, desempenhando papel importante na fisiopatologia de diversas doenças neuropsiquiátricas, incluindo perturbação depressiva maior (MDD), além disso, também tem sido associado a doenças como aterosclerose e câncer (Witztum, 1994; Johnson, 2004; Behr *et al.*, 2012).

Alterações na biologia oxidativa são cada vez mais reconhecidos como uma rota crítica de danos para a fisiopatologia do estresse induzido por doenças psiquiátricas (Berk, 2007; Ng *et al.*, 2008). Vários estudos mostram o envolvimento do estresse oxidativo na patogênese da depressão. Maes *et al.*, (2000), bem como outros pesquisadores (Tsuboi *et al.*, 2006; Sarandol *et al.*, 2007) estabeleceram a co-existência de estresse oxidativo aumentado e sintomas de depressão em pacientes, como evidenciado pela deficiência nas defesas antioxidantes em associação com maior susceptibilidade à peroxidação lipídica. Além disso, estudos pré-clínicos sugerem que os antidepressivos clássicos (imipramina: antidepressivo tricíclico, venlafaxina: inibidor da receptação de serotonina/norepinefrina e fluoxetina: inibidor seletivo da recaptação da serotonina). Têm propriedades antioxidantes (radicais *scavengers*) (Eren *et al.*, 2007; Zafir *et al.*, 2009). Considerando que as espécies reativas de oxigênio apresentam importante papel sobre diversas patologias, é conveniente ressaltar a importância exercida por compostos que apresentam atividade antioxidante, pois estes podem representar uma alternativa para o tratamento de inúmeras patologias. Em vista disso, tem sido alvo de interesse de muitos pesquisadores a busca por novos compostos que possuam

atividade biológica com o mínimo de toxicidade e efeitos adversos (Mugesh *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2006).

Assim, a intervenção terapêutica antidepressiva pode estar associada com a normalização dos processos oxidativos críticos, juntamente com o alívio dos sintomas depressivos. Desse modo, alguns trabalhos fornecem evidências para que os efeitos cumulativos antioxidantes promovidos por diferentes classes de antidepressivos podem representar um mecanismo mais universal de ação que não envolve apenas a SOD como alvo potencial de regulação antidepressivo (Li *et al.*, 2000; Kolla *et al.*, 2005), mas também se estende a outros antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Zafir *et al.*, 2009).

2.2 Modelos experimentais para o estudo da depressão

Os modelos animais experimentais de depressão representam uma valiosa ferramenta de estudo dos aspectos neurobiológicos da depressão, como também para a pesquisa de novas alternativas terapêuticas (fármacos antidepressivos) para o uso na depressão e ainda, os mecanismos de ação pelos quais exercem seus efeitos. Estes modelos devem representar diversos aspectos da depressão nas espécies pesquisadas, comumente roedores (ratos e camundongos) (Willner, 1997).

Embora humanos e roedores apresentem diferenças marcantes na anatomia encefálica, diversos circuitos que regem respostas comportamentais e fisiológicas, estão conservados entre estas espécies (Cryan & Holmes, 2005). Por meio de inferências baseadas em achados provenientes de modelos animais, nós podemos elucidar comportamentos, vias neurais e fatores genéticos relacionados ao transtorno depressivo e aperfeiçoar o entendimento do comportamento humano frente à doença.

Existe uma hipótese de que algumas espécies de animais podem exibir alterações de comportamento do tipo depressivo (do inglês, *depressive-like*), ou seja, parecido com alguns comportamentos apresentados pelos humanos. Até a década de 90, mais de 20 modelos animais de depressão já tinham sido desenvolvidos e vários modelos experimentais têm sido validados para o estudo do comportamento depressivo, principalmente em roedores (Willner & Mitchell, 2002; Duman, 2010). Estes testes possibilitam a triagem de novas drogas com efeito antidepressivo e permitem o estudo de teorias relacionadas à etiologia de depressão.

Para isso o modelo deve apresentar uma razoável analogia com a patologia humana, sua sintomatologia (validade) e mudanças comportamentais que podem ser monitoradas objetivamente (Willner, 2005), podendo ser revertidas através do mesmo tratamento efetivo em humanos (validade preditiva). Adicionalmente, isto deve ser reprodutível em diferentes grupos e pesquisa (McKinney & Bunney, 1969), e ter etiologia similar entre o modelo e a patologia humana (Frazer & Morilak, 2005).

Em geral, os animais são expostos a um evento estressante inescapável e o comportamento deste animal frente a esse evento é avaliado. Paradigmas que empregam a exposição ao estresse agudo ou subcrônico incluem o desamparo aprendido, o teste da suspensão da cauda (TSC) e o teste do nado forçado (TNF), que empregam a exposição a curto prazo ao estresse inevitável e incontrolável e podem prever a resposta dos animais a uma droga antidepressiva.

Dentre os modelos a curto prazo amplamente utilizados no estudo da depressão em roedores, o TSC e o TNF são os mais empregados. Os critérios para validação desses modelos são adotados quanto à previsibilidade, semelhança e homologia.

2.2.1 Teste da suspensão da cauda (TSC)

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. Neste teste, os roedores são pendurados pela cauda 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). No entanto, diferentemente do teste do nado forçado (TNF), apenas camundongos podem ser avaliados no TSC.

2.2.2 Teste do nado forçado (TNF)

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. Proposto por Porsolt e colaboradores, em 1977, 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, dessa maneira os antidepressivos clássicos empregados na clínica, como a imipramina e a fluoxetina são utilizados como controles positivos nestes testes.

2.2.3 Teste do campo aberto (TCA)

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. 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).

2.3 Compostos Heterocíclicos

Os compostos heterocíclicos possuem grande importância, uma vez que muitos processos que sustentam a vida no planeta possuem a participação indispensável destes compostos, os quais estão distribuídos em grande número na natureza. Além disso, de maneira geral, esses compostos apresentam enormes aplicações farmacêuticas, agroquímicas, entre outras (Barreiro *et al.*, 2001). Um fato que vem reforçar a importância crescente dos compostos heterocíclicos é a notoriedade da aplicação de alguns representantes desta categoria no combate a doenças que invariavelmente levam a morte de milhares de pessoas (Cao *et al.*, 2008). Neste contexto, são citados vários compostos heterocíclicos que apresentam atividades farmacológicas diversificadas tais como: antitumoral (D-501036), antifúngica (5-(3-buten-1-inil)-2,2'-bitienila); sendo que muitos destes compostos são fármacos mundialmente consumidos, tais como, inibidor do HIV (AZT), a dipirona que apresenta atividade antiinflamatória e analgésica; o metronidazol que apresenta atividade antiprotozoária e a ribavirina que apresenta atividade antiviral (**Figura 2**) (Mello *et al.*, 2006).

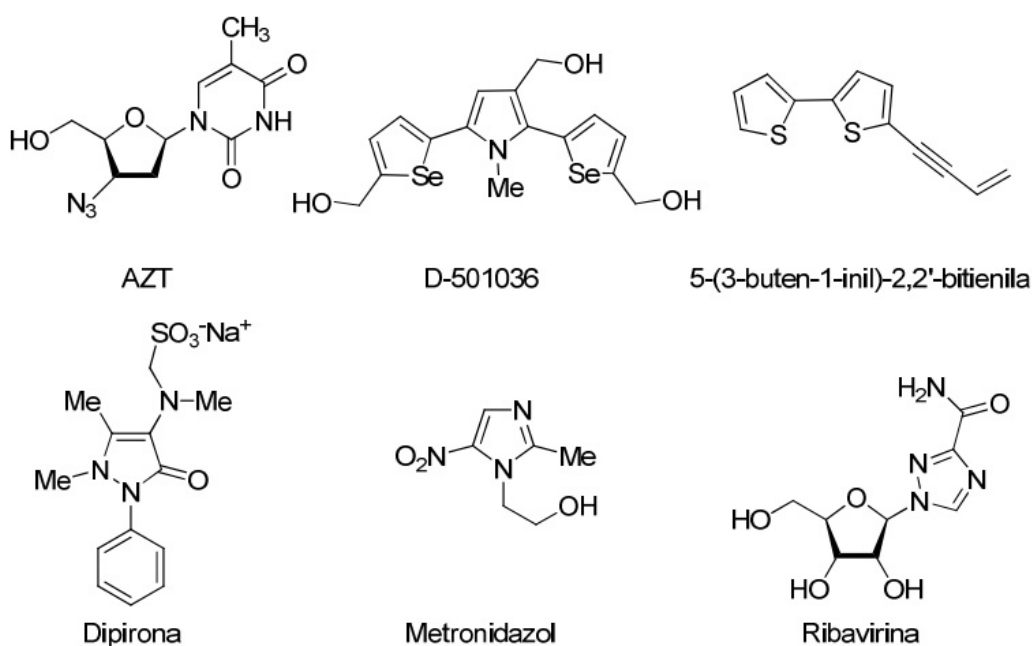


Figura 2: Fármacos contendo unidade heterocíclica.

Outros compostos com estrutura heterocíclica são antidepressivos já utilizados na clínica, os fármacos compreendem: amoxapina, maprotilina, trazodona, mirtazapina e nefazodona (**Figura 3**) (Goodman & Gilman 2007) (Estruturas desenhadas utilizando o programa ChemDraw Ultra 8.0.3)

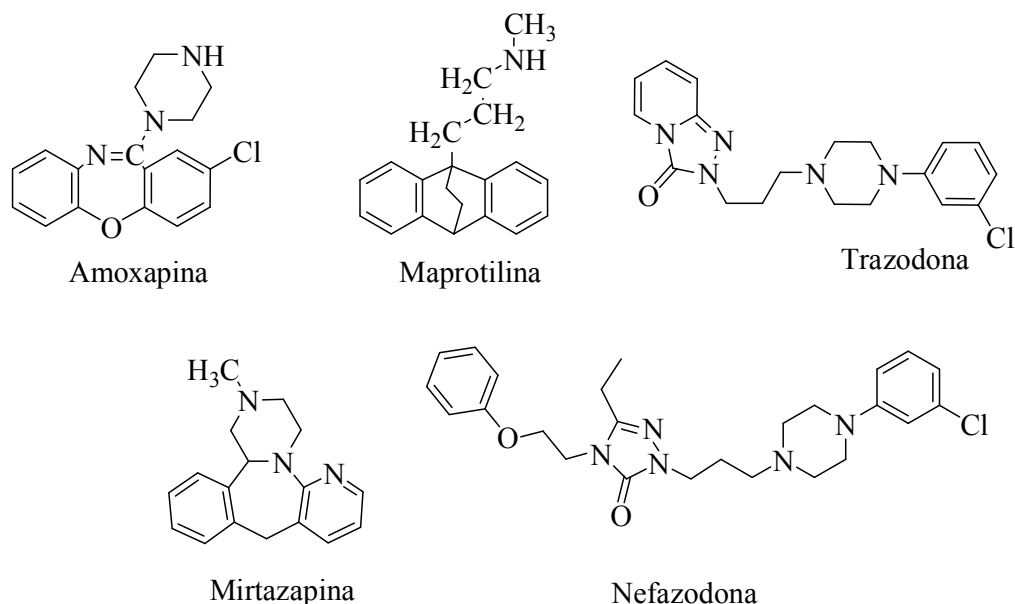


Figura 3: Estrutura química de antidepressivos com estrutura heterocíclica. (Estruturas desenhadas utilizando o programa ChemDraw Ultra 8.0.3).

Com base na importância crescente da área de síntese de compostos heterocíclicos, um grande número de reações vêm sendo desenvolvidas, e a preparação de novos compostos tem sido objeto de estudos de vários grupos de pesquisa ao redor do mundo (Arcadi *et al.*, 1999; Barluenga *et al.*, 2003; Yue *et al.*, 2006; Alves *et al.*, 2008; Seus *et al.*, 2012). Neste contexto, cabe salientar uma classe de moléculas promissoras que exibem um largo espectro de atividades biológicas, são os 1,2,3-triazóis (Mello *et al.*, 2006). Estes compostos heterocíclicos de nitrogênio são caracterizados por possuírem o anel triazol em sua estrutura química. Dentre estas inúmeras classes de compostos heterocíclicos que vêm sendo preparados, os compostos heterocíclicos contendo selênio na sua estrutura química possuem considerável importância quando se refere à versatilidade e aplicação dos compostos

orgânicos de selênio tanto na síntese orgânica como em diversas atividades biológicas, principalmente os compostos que contêm átomos de nitrogênio em sua estrutura química, como os triazóis, são de especial interesse (Ninomiya *et al.*, 2011).

Desta maneira, recentemente foram sintetizados representantes desta classe, em que o composto que possui a seguinte denominação: fenilselenometil-1,2,3-triazol (**Figura 4**) foi selecionado para o nosso trabalho, para realização de uma pesquisa inédita frente a seus potenciais farmacológicos e toxicológicos, principalmente por ser um dos produtos com maior rendimento durante a síntese orgânica (Seus *et al.*, 2012).

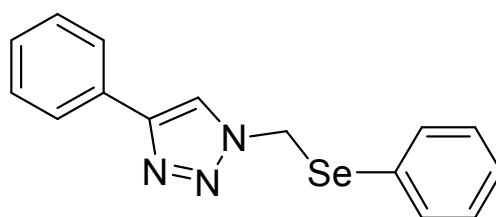


Figura 4: Estrutura química do fenilselenometil-1,2,3-triazol. (Estrutura desenhada utilizando o programa ChemDraw Ultra 8.0.3).

2.4 Selênio

O selênio, (do grego σελήνιον, que significa “resplendor da lua”) foi descoberto em 1817 pelo químico sueco Jöns Jacob Berzelius e seu nome foi dado em homenagem à Selena, deusa grega da lua, devido a sua coloração. O selênio é um elemento traço pertencente ao grupo 16 da tabela periódica (calcogênios), apresentando-se em três formas alotrópicas incluindo selênio cinza, vermelho e preto, e ocorre em diversos estados de oxidação, tais como, seleneto (Se^{-2}), selênio elementar (Se^0), selenito (Se^{+4}) e selenato (Se^{+6}) (Porciúncula, 2003).

O selênio existe na natureza sob a forma orgânica (selenocisteína, selenocistina e selenometionina) e inorgânica (selenito e selenato) (Nakamuro *et al.*, 2000). Devido à possibilidade de existir em diversos estados de oxidação, o selênio pode levar à formação de diferentes compostos orgânicos e aminoácidos em substituições ao enxofre (S) (Tinggi, 2003). De fato, o selênio compartilha diversas propriedades químicas e físicas com o S e esta similaridade permite que o selênio substitua o enxofre, promovendo importantes interações

selênio-enxofre nos sistemas biológicos (Stadtman, 1980). Por outro lado, as diferenças nas propriedades físico-químicas entre selênio e S constituem a base de seus papéis biológicos específicos (Ursini & Bindoli, 1987). Cabe mencionar que o interesse inicial na atividade biológica do selênio foi em razão de sua toxicidade (Moxon & Rhian, 1943; Nogueira & Rocha, 2011). Entretanto, atualmente o selênio é também considerado um elemento traço essencial para saúde (Papp *et al.*, 2007).

2.4.1 Atividade biológica

O selênio é um micronutriente essencial para todas as formas de vida (Schwartz & Foltz, 1957), desempenha um papel crucial em diversas via metabólicas, incluindo o metabolismo dos hormônios tireoidianos, a função imunológica, o crescimento celular e principalmente o sistema de defesa antioxidante (Stazi & Trinti, 2008). O selênio está presente como resíduo de selenocisteína no sítio ativo das enzimas glutathione peroxidase (Flohé *et al.*, 1973), tioredoxina redutase (Holmgren, 1985), 5'-deiodinase (Behne & Kyriakopoulos, 1990) e selenoproteína P (Ursini *et al.*, 1985), sendo que a atividade redox do selênio é essencial para o sítio catalítico dessas enzimas. Concentrações adequadas de selênio são requeridas para a manutenção da saúde (Rayman, 2000) visto que concentrações insuficientes ou excessivas deste elemento podem ocasionar deficiência ou toxicidade, respectivamente.

De acordo com a Junta de Alimentação e Nutrição da Academia de Ciências dos Estados Unidos, a ingestão diária recomendada para adultos deste micronutriente mineral é de 50-200 µg; porém, de fato, quando a ingestão diária ultrapassa 400 µg, excedendo a capacidade corporal de eliminação, o selênio pode provocar efeitos tóxicos, denominado selenoses. Esse elemento é encontrado principalmente em alimentos como a castanha-do-pará, alho, cebola, brócolis, cogumelos, cereais, pescados, ovos e carnes (Dumont *et al.*, 2006).

Portanto, a partir da descoberta do papel essencial do selênio na defesa antioxidante do organismo, as pesquisas que envolvem o entendimento do seu papel biológico, em particular seu papel fisiológico na saúde e seu uso potencial como agente terapêutico se intensificaram (Papp *et al.*, 2007), principalmente as que abrangem efeitos neuroprotetores, uma vez que esse elemento desempenha um importante papel para o cérebro. Trabalhos mostram que quando há

depleção de selênio no organismo, o cérebro recebe uma oferta prioritária desse elemento com relação aos outros órgãos, indicando a importância deste micronutriente para função cerebral (Behne *et al.*, 1988; Buckman *et al.*, 1993; Schweizer *et al.*, 2004), sendo que sua deficiência no cérebro tem efeitos potencialmente negativos sobre o seu funcionamento podendo agravar a perda neuronal e disfunção subsequentes aos estímulos endógenos ou exógenos, trauma e outras condições neurodegenerativas (Schweizer *et al.*, 2004) e até mesmo alterar a taxa de *turnover* de neurotransmissores (Castano *et al.*, 1997). Neste contexto, é importante relatar que diversos estudos demonstraram a importância do selênio em patologias associadas aos transtornos de humor (Benton & Cook, 1991; Hawkes & Hornbostel, 1996; Benton, 2002; Sher, 2008). Além disso, provas consideráveis sugerem que uma carência de selênio na dieta, em que são observados baixos níveis de elemento (32-36 µg/dia), afetam alguns parâmetros psicológicos, por isso têm sido associado com um aumento significativo da incidência de depressão, ansiedade, confusão e agressividade (Finley & Penland, 1998). A suplementação ou o aumento no consumo de selênio na dieta, em que os níveis deste elemento atinjam a quantidade de (226 µg/dia), estão associados com a melhora do humor, diminuindo o estado depressivo e outros sintomas negativos do humor, como a ansiedade, confusão, e conseqüentemente melhorando a qualidade de vida (Benton & Cook, 1991; Rayman, 2000, 2008; Rayman *et al.*, 2006).

2.4.2 Compostos Orgânicos de Selênio

Nos últimos anos, os compostos orgânicos de selênio têm sido alvo de interesse em síntese orgânica em virtude da descoberta de suas aplicações sintéticas, de suas propriedades farmacológicas e também por apresentar maior biodisponibilidade e geralmente menor toxicidade em relação às espécies inorgânicas deste elemento (Parnham & Graf, 1991; Nogueira *et al.*, 2004; Narrajji *et al.*, 2007). Com base na importância crescente no campo da síntese de compostos orgânicos de selênio, muitos deles heterocíclicos, uma série de investigadores tem se concentrado no desenvolvimento de compostos possuindo um elevado potencial terapêutico para uma variedade de doenças humanas (Yue *et al.*, 2006; Narrajji *et al.*, 2007; Alves *et al.*, 2008; Seus *et al.*, 2012). Dentre os compostos orgânicos estudados, destacam-se os heterocíclicos que contêm selênio em sua estrutura química, estes são

considerados ferramentas sintéticas muito importantes em síntese orgânica, sendo bastante utilizadas como intermediários para a obtenção de moléculas biologicamente ativas, principalmente alguns derivados de produtos naturais (Rhoden & Zeni, 2011). Neste contexto, destaca-se o ebselen (**Figura 5A**), que exibe atividade catalítica e propriedades antioxidantes similares à glutatona peroxidase (Sato *et al.*, 2004) além de demonstrar também, efeito tipo antidepressivo em camundongos (Posser *et al.*, 2009). Os selenofenos, outra classe de compostos orgânicos, heterocíclicos contendo selênio, também vêm sendo amplamente relatado por apresentar propriedades antimicrobianas, anti-apoptóticas e antitumorais (Abdel-Hafez, 2005; Juang *et al.*, 2007; Shiah *et al.*, 2007). Além disso, estudos recentes demonstraram os efeitos hepatoprotetores, anticonvulsivantes, antinociceptivos, anti-alodínicos e antioxidantes do composto 3-alquinilselenofeno (1-(2,5-difenilselenofeno-3-il)-3-metilpent-1-in-3-ol) (**Figura 5B**) (Wilhelm *et al.*, 2009a, b, c, 2010). Outro selenofeno recentemente relatado é o 3-(4-fluorofenilselenil)-2,5-difenilselenofeno (**Figura 5C**), que exibe efeito tipo antidepressivo em camundongos (Gay *et al.*, 2010).

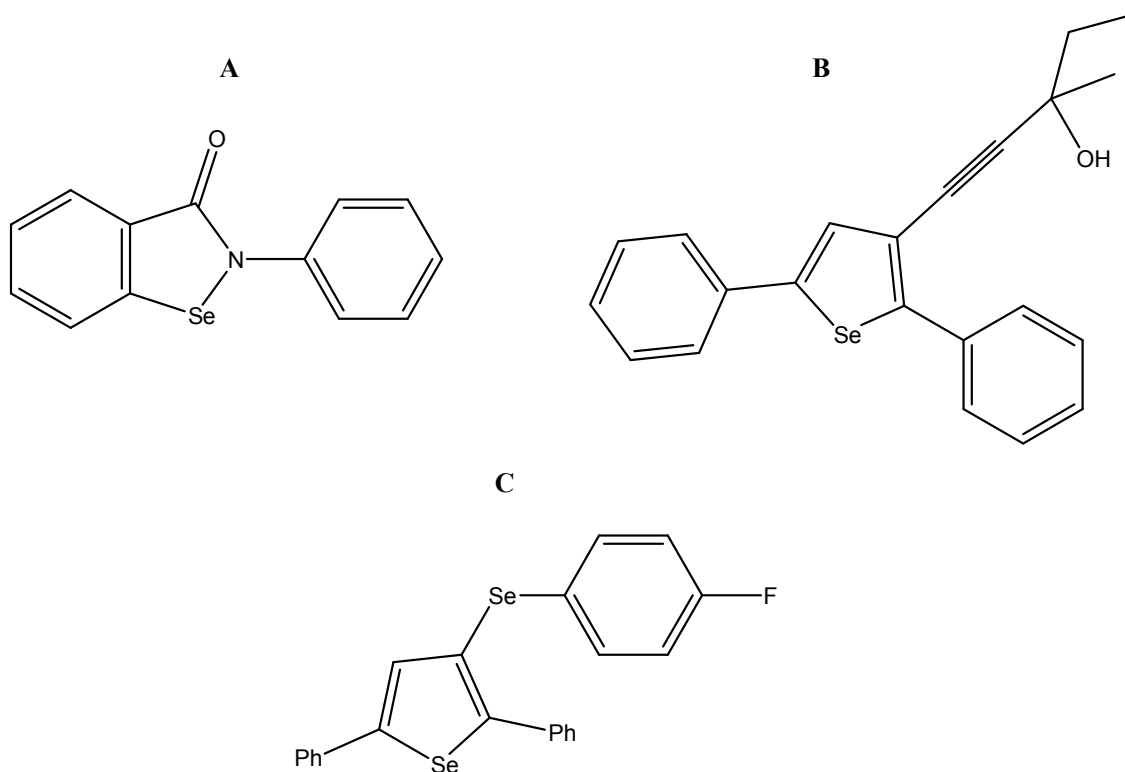


Figura 5: Estrutura química de compostos orgânicos heterocíclicos contendo selênio. (A) Ebselen; (B) 3-alquinilselenofeno; (C) 3-(4-fluorofenilselenil)-2,5-difenilselenofeno. (Estruturas desenhadas utilizando o programa ChemDraw Ultra 8.0.3).

As inúmeras propriedades farmacológicas de outras moléculas contendo selênio, também vêm sendo relatadas (Nogueira *et al.*, 2004; Nogueira & Rocha, 2010), e com grande relevância para nosso estudo, destacam-se os compostos que possuem atividade do tipo antidepressiva e antioxidante. O disseleneto de difenila [(PhSe)₂] (**Figura 6**) apresentou pronunciada ação como antioxidante, na redução da peroxidação de lipídeos provocada por diversos agentes e em diferentes tecidos (Rossato *et al.*, 2002; Nogueira *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2004; Borges *et al.*, 2006; Posser *et al.*, 2009), também demonstrou atividade do tipo antidepressiva (Savegnago *et al.*, 2007, 2008; Acker *et al.*, 2009; Wilhelm *et al.*, 2010). Recentes estudos revelam que os derivados substituídos no anel aromático do (PhSe)₂ também apresentam potencial farmacológico, tanto o *p*-cloro-difenil disseleneto [*p*-Cl(PhSe)₂], como o *m*-trifluorometil-difenil disseleneto [*m*-CF₃(PhSe)₂] induziram efeitos do tipo antidepressivo em camundongos (Bortolatto *et al.*, 2011; Brüning *et al.*, 2011). Outro estudo recentemente publicado mostrou que outra classe de compostos orgânicos de selênio, o fenilseleno acetofenona, possui atividade antioxidante *in vitro* e efeito tipo antidepressivo *in vivo* (Gerzson *et al.*, 2012). Adicionalmente, uma simples molécula contendo selênio em sua estrutura, o fenilselenometil, também exibe efeito tipo antidepressivo em camundongos (Oliveira *et al.*, 2012).

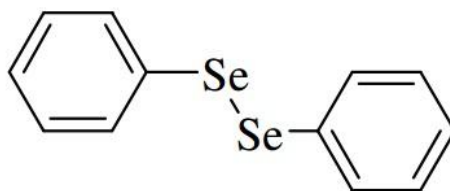


Figura 6: Estrutura química do Disseleneto de Difenila. (Estrutura desenhada utilizando o programa ChemDraw Ultra 8.0.3).

Portanto, a atividade antioxidante, em que os compostos orgânicos de selênio são capazes de propagar o ciclo redox do selênio, com a propriedade de mimetizar a química fisiológica redox de grupos selenóis/selenolatos, poderia suplementar as defesas celulares naturais contra os agentes oxidantes (Arteel & Sies, 2001). A atividade antioxidante, sendo

adicionada ao efeito tipo antidepressivo, demonstrado por diversos destes compostos, poderiam ser úteis para a prevenção e/ou o tratamento de doenças relacionadas à excessiva produção de espécies reativas, como é o caso da depressão. Assim, a síntese e a concepção de novos compostos orgânicos, especificamente heterocíclicos contendo selênio, com propriedades antioxidantes e antidepressivas, são altamente desejáveis para o desenvolvimento de potenciais agentes terapêuticos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos Gerais

Tendo em vista as promissoras propriedades farmacológicas dos compostos orgânicos heterocíclicos contendo selênio, o objetivo geral do presente trabalho foi investigar o efeito tipo antidepressivo e a toxicidade aguda do fenilselenometil-1,2,3-triazol (Se-TZ), um composto inédito, que possui um núcleo triazólico e ligado a ele um grupo orgânico de selênio, em camundongos.

3.2 Objetivos Específicos

Considerando os aspectos já mencionados, os objetivos específicos deste trabalho compreendem:

- (1) Investigar o efeito tipo antidepressivo do Se-TZ em camundongos, através do TSC.
- (2) Estudar a possível contribuição dos sistemas noradrenérgico, dopaminérgico e serotoninérgico no efeito tipo antidepressivo induzido pelo Se-TZ; incluindo a avaliação dos mecanismos de ação através da administração de antagonistas, bem como, pela determinação dos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos nas estruturas cerebrais (córtex e hipocampo).
- (3) Investigar a toxicidade aguda do Se-TZ, quando administrado pela via oral em camundongos, através de dosagens bioquímicas de AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), uréia e creatinina, a fim de avaliar a funcionalidade hepática e renal.
- (4) Determinar os marcadores de estresse oxidativo, através da determinação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conteúdo de grupos tióis não-protéicos (NPSH),

catalase (CAT) e glutathione-transferase (GST) em fígado, rins, córtex cerebral e hipocampo, com o propósito de oferecer segurança no uso desse composto.

4. MANUSCRITO

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de manuscrito. Os itens Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências encontram-se no próprio manuscrito e representam a íntegra do deste estudo. O manuscrito está disposto da mesma forma que foi submetido para a Revista “European Journal of Pharmacology”.

Evidence for the involvement of the dopaminergic and serotonergic systems in the antidepressant-like effect caused by 4-phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole in mice

Franciele Donato^{a,b}, Marcelo Gomes de Gomes^b, André Tiago Rossito Goes^{a,b}, Natália Seus^c,
Diego Alves^c, Cristiano Ricardo Jesse^{*b}, Lucielli Savegnago^{*d}

^aPrograma de Pós-graduação em Bioquímica (PPGBioq) – Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Campus Uruguaiana, BR 472 KM 582, Caixa Postal 118, CEP 97500-970, RS, Brazil.

^bLaboratório de avaliações farmacológicas e toxicológicas aplicadas às moléculas bioativas (LaftamBio Pampa) – Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Rua Luiz Joaquim de Sá Britto, s/n, Campus Itaqui-, CEP 97650-000, RS, Brazil.

^cLaboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) - Universidade Federal de Pelotas (UFPel) P.O. BOX 354, 96010-900, Pelotas, RS, Brazil.

^dCentro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), Biotecnologia – Universidade Federal de Pelotas (UFPel), CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brazil.

*Correspondence should be sent to:

e-mail: lucielisavegnago@yahoo.com.br (L. Savegnago) Tel./fax: +55-53-3275-7350;

e-mail: cristianoricardojsesse@yahoo.com.br

Abstract

The aims of the study were investigated the antidepressant-like effect and acute toxicity of 4-phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole (Se-TZ), an organocompounds selenium-containing heterocycles in mice. Se-TZ (5-50 mg/Kg) significantly reduced immobility time in tail suspension test (TST) without altering locomotor and exploratory activities. The antidepressant-like effect of Se-TZ (25 mg/Kg) in the TST was prevented by pre-treatment of mice with SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c., a selective D₁ receptor antagonist), sulpiride (50 mg/kg, i.p., a selective D₂ receptor antagonist) and methysergide (2 mg/kg, s.c., a non-selective serotonergic receptor antagonist), but not with prazosin (1 mg/kg, i.p., an α_1 -adrenoceptor antagonist), yohimbine (1 mg/kg, i.p., an α_2 -adrenoceptor antagonist) and propranolol (2 mg/kg, i.p., a β -adrenoceptor antagonist). Se-TZ, increased monoamine neurotransmitters dopamine and serotonin levels in the cerebral cortex and hippocampus, whereas norepinephrine turnover was not changed. This study also demonstrated that the Se-TZ, did not cause the acute toxicity in biochemical markers hepatic and renal damage. The results evidenced that exposure to Se-TZ caused a significant increase in the catalase (CAT) activity in the cerebral cortex and hippocampus, however the glutathione S-transferase (GST) activity increased only in cerebral cortex. Thus, these results suggest that Se-TZ demonstrated antidepressant-like effect, mediated via the central dopaminergic and serotonergic neurotransmitter systems, as well as the elevation of dopamine and serotonin levels in the mice brain, and may be of interest as a therapeutic agent for the treatment of depressive disorders.

Keywords: selenium, heterocycles, antidepressant-like, monoaminergic system, mice.

1. Introduction

Depression is one of the most prevalent, serious, recurrent, incapacitating and costly psychopathologies worldwide, being characterized by altered mood and cognitive functions, and recurrent thoughts of death or suicide with a lifetime incidence of 15-25% and is associated with significant impairment in social and occupational functioning as well as reduced quality of life (Kessler and Wang, 2009; Paykel, 2006). According to the World Health Organization, unipolar depressive disorders were ranked as the third leading cause of the global burden of disease in 2004 and will move into the first place by 2030 (WHO, 2011).

It is well known that monoamine neurotransmitters such as serotonin, noradrenaline and dopamine in the central nervous system play a key role in the pathophysiology of depression (Elhwuegi, 2004). Evidence suggests that alterations in monoaminergic systems are associated with the mechanisms of action underlying the favorable therapeutic activity of antidepressant drugs. Effective antidepressant treatments normalize the disturbed monoaminergic systems which are assumed to be responsible for the clinical features of depression (Sartorius et al., 2007).

Although the mechanism provoking depression has not been clearly elucidated oxidative stress, via free radical production, may play an important role in its pathophysiology (Ng et al., 2008). Under physiological conditions there is a balance between oxidative and antioxidative systems in the organism. Oxidative stress is the imbalance between these systems in favour of the former and has been implicated in the pathophysiology of several neuropsychiatric diseases, including major depressive disorder (MDD) (Behr et al., 2012). In particular, a number of oxidative disturbances with a decrease in antioxidant enzyme activities in patients diagnosed with depression have been reported, including enhanced oxidative

damage, while the antidepressant treatment ameliorated this effect (Ng et al., 2008; Sarandol et al., 2007). Based on increasing importance in the field of synthesis of heterocyclic compounds, a series of researchers has been concentrated on development of heterocyclic compounds having therapeutic high potential toward a variety of human diseases (Alves et al., 2008; Seus et al., 2012). Furthermore, studies have demonstrated the role of selenium in mood disorders (Hawkes and Hornbostel, 1996; Sher, 2007). In this context, selenium-containing heterocycles are of considerable biochemical and pharmacological relevance (Ninomiya et al., 2011), among currently identified stands the ebselen (2-phenyl-1,2-benzisoselenazol-3 (2H) - one) which displays catalytic activity and antioxidant properties similar to glutathione peroxidase (Sato et al., 2004) and antidepressant-like effect (Posser et al., 2009). Other organic compounds (selenium-containing heterocycles) are also being widely studied and have numerous pharmacological proprieties, including antidepressant-like effects (Gai et al., 2012; Gay et al., 2010).

Thus, the aims of the present study were to evaluate the antidepressant-like effect of Se-TZ in mice, as well as, analyze its caused acute toxicity. Additionally, for understanding the antidepressant mechanism, this study investigated the possible involvement of the noradrenergic, dopaminergic and serotonergic systems in the antidepressant-like effect of the Se-TZ in the tail suspension test (TST). We also examine levels of the monoaminergic neurotransmitter and their metabolites changes in specific brain regions (cerebral cortex and hippocampus) after administration of the Se-TZ.

2. Materials and methods

2.1. Animals

The experiments were conducted using male C57BL/6J mice (25-30 g) maintained at 22–25 °C with free access to water and food, under a 12:12 h light/dark cycle (lights on at 07:00 h). All manipulations were carried out between 09:00 a.m. and 04:00 p.m., with each animal used only once. All procedures in this study were performed in accordance with the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. The experiments were performed after approval of the protocol by the Institutional Ethics Committee (CEUA/UNIPAMPA) under number 027/2012, and all efforts were made to minimize animals suffering and to reduce the number of animals used in the experiments.

2.2. Chemicals

4-Phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole (Se-TZ; Figure 1) was prepared and characterized as previously described (Seus et al., 2012). Analysis of the ¹H NMR and ¹³C NMR spectra showed analytical and spectroscopic data in full agreement with its assigned structure. The chemical purity of Se-TZ (99.9%) was determined by GC/HPLC. The following drugs were used: fluoxetine, imipramine, prazosin, yohimbine, propranolol, SCH 23390, sulpiride, and methysergide (Sigma Chemical Co, USA). All drugs were dissolved in saline 0.9%, except Se-TZ that was dissolved in canola oil with 10% of dimethyl sulfoxide (DMSO) for the *in vivo* experiments. Mice received all drugs in a constant volume of 10 ml/kg body weight. Appropriate vehicle-treated groups were also assessed simultaneously. The chemical standards used in HPLC including noradrenaline and its metabolite 4-Hydroxy-3-methoxyphenylglycol (MHPG), dopamine and its metabolites, 3,4-dihydroxyphenylacetic

acid (DOPAC), serotonin and its metabolite 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), were purchased from Sigma (St. Louis, MO, USA) and were dissolved in the mobile phase.

2.3. Behavioral testing

2.3.1 Tail suspension test (TST)

The total duration of immobility induced by tail suspension was measured according to the method described by Steru et al. (1985). Mice both acoustically and visually isolated were suspended 50 cm above the floor by adhesive tape placed approximately 1 cm from the tip of the tail. Immobility time was recorded during a 6-min period (Jesse et al., 2010a).

For the time–course curve, mice were submitted to the TST 30, 60, 120 and 240 minutes after the administration of Se-TZ (50 mg/kg, p.o.) or vehicle (10 ml/kg, p.o.). For the dose–response curve, mice were treated with Se-TZ (1, 5, 25 and 50 mg/kg, p.o.), or vehicle 30 minutes before the TST. Fluoxetine (32mg/kg, p.o.) and imipramine (15 mg/kg, p.o.), were used as positive controls and they were administered 30 minutes before the TST.

In the experiments designed to verify the possible involvement of noradrenergic, serotonergic and dopaminergic systems in the antidepressant-like effect of Se-TZ. For this, mice received a single injection of prazosin (1 mg/kg, i.p., an α_1 -adrenoceptor antagonist), yohimbine (1 mg/kg, i.p., an α_2 -adrenoceptor antagonist), propranolol (2 mg/kg, i.p., a β -adrenoceptor antagonist), SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c., a selective dopamine D₁ receptor antagonist), sulpiride (50 mg/kg, i.p., a selective dopamine D₂ receptor antagonist) and

methysergide (2 mg/kg, s.c., a non-selective serotoninergic receptor antagonist) or saline (10 mL/kg) 30 min before the administration of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) or vehicle. Thirty minutes after treatment with Se-TZ or vehicle, the mice were submitted to the TST. All doses of antagonists used in this work were chosen according previously published data (Jesse et al., 2010a; Savegnago et al., 2007; Villarinho et al., 2012).

2.3.2. Open-field test (OFT)

To assess the possible effects of Se-TZ on locomotor activity, mice were evaluated in the open-field test (OFT), as described by (Walsh and Cummins, 1976). The open-field was made of polywood and surrounded by walls 30 cm in height. The floor of the open-field, 45 cm in length and 45 cm in width, was divided by masking tape markers into 09 squares (3 rows of 3). Each animal was placed individually at the center of the apparatus and observed for 6 min to record the locomotor (number of segments crossed with the four paws) and exploratory activities (expressed by the number of time rearing on the hind limbs). Mice were treated with Se-TZ (1, 5, 25 and 50 mg/kg, p.o.), or vehicle 30 minutes before the TST. Another groups of mice were pretreated with prazosin (1 mg/kg, i.p.) or yohimbine (1 mg/kg, i.p.) or propranolol (2 mg/kg, i.p.) or SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c.) or sulpiride (50 mg/kg, i.p.) or methysergide (2 mg/kg, s.c.) or saline (10 mL/kg). Thirty minutes after this treatment or pretreatment, the mice were submitted to the OFT.

2.4. Behavioral measurements

2.4.1. Monoamine neurotransmitters and metabolites levels

Mice were euthanized by cervical dislocation two hours after the administration of Se-TZ (25mg/kg, p.o.) or vehicle (10 ml/kg, p.o.). The brains were excised, and the cerebral cortex and hippocampus were immediately separated and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC). The levels of the monoamines noradrenaline, dopamine, serotonin, and their metabolites 4-Hydroxy-3-methoxyphenylglycol (MHPG), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) and hydroxyindole acetic acid (5-HIAA), were assayed by described by Ferraz et al. (2002), using high performance liquid chromatography (HPLC) with electrochemical detection. The mobile phase, used at a flow rate of 0.8 ml/min, consisted of 0.02 M phosphate/citrate buffer and 90/10 methanol (v/v), 0.12 mM Na_2EDTA , and 0.0556% heptane sulphonic acid as ion pair. The pH was adjusted to 2.64 with H_3PO_4 at $22\text{ }^{\circ}\text{C}$. A 5- μm (220 \times 4.6) Spheri-5 RP-18 column from Brownlee Laboratory was used. Electrochemical detection of monoamines was performed with a Shimadzu L-ECD-6A electrochemical detector with a potential of 0.75 V. The peak area of the internal standard (DHBA) was used to quantify the sample peaks. The tissue levels were expressed in ng/g tissue.

2.5. Acute toxicity and biochemical parameters

To investigate the potential acute toxicity and changes of biochemical parameters caused by Se-TZ, the mice received a single oral dose of Se-TZ (1, 5, 25 e 50 mg/kg) or vehicle (10 ml/kg). After drug administration, animals were observed for up to 72 h. After this

time, the animals were anesthetized for the blood collection by heart puncture into heparin containing tubes. Plasma was obtained by centrifugation at 2000 g for 10 min and used for the acute toxicity assays. The liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus were quickly removed, placed on ice, and homogenized in cold 50 mM Tris-HCl, pH 7.4 (liver and kidney: 1/10 w/v; and cerebral cortex and hippocampus 1/5, w/v). The homogenate was centrifuged at 4000 g at 4 °C for 10 min and a low-speed supernatant fraction (S₁) was used for measurement of the biochemical parameters: thiobarbituric acid-reactive species (TBARS), non protein thiols (NPSH), catalase and glutathione S-transferase (GST).

Plasma aspartate (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities, used as biochemical markers for the early acute hepatic damage, were determined by the colorimetric method of Reitman and Frankel (1957). Renal function was analyzed by determining plasma urea (Mackay and Mackay, 1927) and creatinine levels (Jaffe, 1886). All assays were carried out using commercial kits (LABTEST, Diagnostic S.A. Minas Gerais, Brazil).

2.5.1. Lipid Peroxidation

Lipid peroxidation was estimated by measuring TBARS assay, according to the method by Ohkawa et al. (1979). The low-speed supernatant (S₁) of liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus, were incubated with 0.8% thiobarbituric acid (TBA), acetic acid buffer pH 3.4 and 8.1% sodium dodecyl sulphate at 95 °C for 2 h. The amount of TBARS produced was measured at 532 nm, using MDA as a biomarker of lipid peroxidation. TBARS levels are expressed as nmol of MDA/mg protein.

2.5.2. Non protein thiols (NPSH) determination

To evaluate the non-enzymatic antioxidant defenses, were determined the NPSH levels in liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus samples according to the method proposed by Ellman (1959) with some modifications. An aliquot S₁ were precipitated with TCA (10%) and subsequently centrifuged at 3000 x g for 10 min. After the centrifugation, the protein pellet was discarded and free -SH groups were determined in the clear supernatant. An aliquot of supernatant was added in 1 M potassium phosphate buffer, pH 7.4, and 10 mM 5,5-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB). The color reaction was measured at 412 nm. NPSH levels were expressed as nmol NPSH/mg protein.

2.5.3. Catalase (CAT) activity

Catalase activity was assayed spectrophotometrically by method proposed by Aebi (1984), which involves monitoring the disappearance of H₂O₂ in the homogenate at 240 nm. Enzymatic reaction was initiated by adding an aliquot of 20 µl of S₁ of liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus and the substrate (H₂O₂) to a concentration of 0.3 mM in a medium containing 50 mM phosphate buffer, pH 7.0. One unit of enzyme was defined as the amount of enzyme required for monitoring the disappearance of H₂O₂. The enzymatic activity was expressed in Units (U)/mg protein (1U decomposes 1 mmol of H₂O₂/min at pH 7 at 25 °C).

2.5.4. Glutathione S-transferase (GST) activity

GST activity was assayed spectrophotometrically at 340 nm by the method of Habig et al. (1974). The reaction mixture contained an aliquot S₁ of liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus, 0.1 M potassium phosphate buffer pH 7.4, 100 mM glutathione (GSH) and 100 mM CDNB, which was used as substrate. The enzymatic activity was expressed as nmol CDNB conjugated/min/mg of protein.

2.5.5. Protein determination

Protein content was measured colorimetrically by the method of Bradford (1976), and bovine serum albumin (1 mg/mL) was used as standard.

2.6. Statistical analysis

The results are expressed as the mean \pm standard error of the mean (SEM). Statistical analysis was performed using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Newman–Keuls (acute toxicity, biochemical parameters and monoamine neurotransmitter levels and their metabolites) or two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test (behavioral tests). The level of significance was set at $p < 0.05$. The statistical analysis was performed using the software GraphPad Prism version 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA).

3. Results

3.1. Effect of the Se-TZ on the immobility time in the TST and locomotor and exploratory activity in the OFT

In order to investigate the interval time that the Se-TZ achieves the best performance in TST, a time-course curve was carried out. Figure 2A illustrates the times what after the administration of the Se-TZ (50 mg/kg, p.o.), it was able to produce an antidepressant-like effect in the TST. One-way ANOVA revealed a significant effect of the Se-TZ in the TST [$F(4, 33) = 16.33$; $p < 0.001$]. Moreover, post hoc analyses showed that the Se-TZ exhibits similar performance in the time intervals (30 and 60 min), and the antidepressant-like effect remained significant up to 120 min, however this effect was abolished in 240 min. Considering these data, all experiments were performed using 30 min as interval time to investigate the effect of the Se-TZ and its mechanism of action.

The results illustrated in Figure 2B show that the Se-TZ or the conventional antidepressants (used as positive controls), fluoxetine (32 mg/kg, p.o., a serotonin reuptake inhibitor) or imipramine (15 mg/kg, p.o., a tricyclic antidepressant) given by oral route, 30 min before the TST, decreased the immobility time. One-way ANOVA revealed a significant effect of the Se-TZ in the TST [$F(4, 24) = 11.39$; $p < 0.001$]. Post hoc analysis indicated a significant decrease in the immobility time elicited by the administration of the Se-TZ at doses of 5, 25 and 50 mg/kg (p.o.) in the TST.

Treatment with Se-TZ, fluoxetine, imipramine or any of the antagonists, at all doses tested, did not produce any change in the number of crossings and rearing in the mice OFT,

indicating that a confounding locomotor and exploratory activity impairment can be discarded in the antidepressant-like effect observed in the TST (data not shown).

3.2. Investigation of the mechanisms underlying the antidepressant-like effect of the Se-TZ in the TST

With the purpose of investigating the mechanisms underlying the antidepressant-like effect of Se-TZ in the TST, mice were pre-treated with prazosin, yohimbine or propranolol (involvement of the noradrenergic system); SCH23390 or sulpiride (involvement of the dopaminergic system) and methysergide (involvement of the serotonergic system).

The results depicted in Figure 3A show that the pre-treatment of mice with prazosin (1 mg/kg, i.p., an α_1 -adrenoceptor antagonist), did not antagonize the reduction in immobility time elicited by Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST. Two-way ANOVA revealed a main effect of treatment Se-TZ ($F(1, 18) = 61.09; p < 0.001$), but not of the pre-treatment with prazosin ($F(1, 18) = 5.80; p = 0.027$) and pre-treatment \times treatment interaction (prazosin \times Se-TZ) ($F(1, 18) = 0.02; p = 0.897$). Figure 3B show that the pre-treatment of mice with yohimbine (1 mg/kg, i.p., an α_2 -adrenoceptor antagonist), did not reverse the reduction in immobility time elicited by Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST. Two-way ANOVA revealed a main effect of treatment Se-TZ ($F(1, 16) = 62.28; p < 0.001$), but not of the pre-treatment with yohimbine ($F(1, 16) = 0.97; p = 0.338$) and pre-treatment \times treatment interaction (yohimbine \times Se-TZ) ($F(1, 16) = 0.11; p = 0.747$). Figure 3C show that the pre-treatment of mice with propranolol (2 mg/kg, i.p., a β -adrenoceptor antagonist), did not block the reduction in immobility time elicited by Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST. Two-way ANOVA revealed a main effect of treatment Se-

TZ ($F(1, 16)= 38.82; p<0.001$), but not of the pre-treatment with propranolol ($F(1, 16)= 1.51; p=0.236$) and pre-treatment \times treatment interaction (propranolol \times Se-TZ) ($F(1, 16)= 0.77; p=0.392$).

Figure 4A show that the pre-treatment of mice with SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c., a selective dopamine D₁ receptor antagonist), prevent the effect of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST. Two-way ANOVA revealed significant differences of treatment Se-TZ ($F(1, 16)= 23.25; p<0.002$), pre-treatment with SCH23390 ($F(1, 16)= 28.35; p<0.001$) and pre-treatment \times treatment interaction (SCH23390 \times Se-TZ) ($F(1, 16)= 12.08; p<0.003$). Figure 4B show that the pre-treatment of mice with sulpiride (50 mg/kg, i.p., a selective dopamine D₂ receptor antagonist), was effective in reversing the effect of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST. Two-way ANOVA revealed significant differences of treatment Se-TZ ($F(1, 16)= 7.44; p<0.015$), pre-treatment with sulpiride ($F(1, 16)= 10.33; p<0.005$) and pre-treatment \times treatment interaction (sulpiride \times Se-TZ) ($F(1, 16)= 5.83; p<0.028$).

Figure 5 show that the pre-treatment of mice with methysergide (2 mg/kg, s.c., a non-selective serotonergic receptor antagonist), reversed the effect of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST. Two-way ANOVA revealed significant differences of treatment Se-TZ ($F(1, 16)= 11.80; p<0.004$), pre-treatment with methysergide ($F(1, 16)= 20.84; p<0.004$) and pre-treatment \times treatment interaction (methysergide \times Se-TZ) ($F(1, 16)= 19.38; p<0.005$).

3.3. Effects of Se-TZ on monoamine neurotransmitter levels and their metabolites

The levels of monoamine neurotransmitters and their metabolites detected in the cerebral cortex and hippocampus were summarized in Table 5. We observed that Se-TZ

(25mg/kg, p.o.) induced a significant increase in cortical and hippocampal serotonin levels, whereas 5-HIAA levels were significantly decreased in the cerebral cortex and suggestively increased in the hippocampus. Furthermore, the 5-HIAA/serotonin ratio diminished in these two brain sections examined. Similarly, we also detected an increase in dopamin level in the cerebral cortex and hippocampus, whereas decreases in DOPAC levels in the cerebral cortex, although, levels were not significantly altered in hippocampus. The ratios of DOPAC/dopamin were significantly reduced in these two brain sections examined. Moreover, there were no alterations in noradrenaline or MHPG levels or in the MHPG/ noradrenaline ratio in any of the brain regions examined.

3.4. Acute toxicity and biochemical parameters

Oral administration of Se-TZ, at all doses tested (1-50 mg/kg), did not alter plasma AST or ALT activities, or the urea and creatinine levels when compared to the control group (Table 1).

The TBARS levels, a measure of lipid peroxidation, were not changed in the liver, kidney, cerebral cortex or hippocampus of the treated mice after oral exposure to Se-TZ when compared to the control group, as can be seen in Table 2. Furthermore, in order to evaluate non-enzymatic antioxidant defenses, we measured NPSH levels. Statistical analyses revealed that, at the dose of Se-TZ (50mg/kg, p.o.), levels were also not altered in the kidney, cerebral cortex or hippocampus. However, there was an increased in NPSH levels in hepatic tissue (Table 2).

As can be observed in table 3 after oral exposure to Se-TZ , the results showed significantly increased CAT activity at all doses in the cerebral cortex and at doses (25 and 50mg/kg) in the hippocampus. Similarly, oral exposure to Se-TZ (5, 25 and 50mg/kg) increased in GST activity in cerebral cortex. However, CAT and GST activities in the liver and kidney did not modify after treatment with Se-TZ at all doses (Table 3).

4. Discussion

In the present study, we demonstrated that Se-TZ administered by oral route produces a significant antidepressant-like effect in the mice in TST. Additionally, the locomotor and exploratory activity was not changed in mice. Moreover, an involvement of serotonergic (serotonergic receptors) and dopaminergic (D_1 and D_2 receptors) systems in the antidepressant-like effect of Se-TZ was evidenced, but not with noradrenergic (α_1 , α_2 and β) system. The determination of levels of monoamine neurotransmitters and their metabolites detected in the cerebral cortex and hippocampus, cooperating with results obtained previously. Furthermore, it can be suggested that the Se-TZ demonstrated antioxidant activity, by increased antioxidant enzymes, such as CAT and GST, without causing acute toxicity in biochemical markers hepatic and renal damage.

This study shows that the acute administration of Se-TZ by p.o. route is effective to produce a significant antidepressant-like response in the TST in mice. Moreover, it was noteworthy that the antidepressant-like effect produced by Se-TZ was similar to the effect produced by the classical antidepressants fluoxetine and imipramine in the TST. The TST is widely used as animal model reported to be predictive test of antidepressant action sensitive to the acute administration of antidepressant drugs (Steru et al., 1985). In accordance with

these results, other organocompounds selenium-containing heterocycles also have antidepressant-like effect (Gai et al., 2012; Gay et al., 2010; Posser et al., 2009). Monoamine neurotransmitters, such as noradrenaline, dopamine and serotonin, are believed to be involved in depressive disorders and play important roles in mediating behavioral effects of antidepressant drugs (Elhwuegi, 2004).

The dopaminergic system is also an important target implicated in the regulation of depression (Klimek et al., 2002). DA has many functions in the brain, including important roles in behavior and cognition, punishment and reward, sleep, mood, attention and learning (Dunlop and Nemeroff, 2007). In our study, the pre-treatment of mice with SCH23390 or sulpiride, selective dopamine D₁ and D₂ receptor antagonists, respectively, was able to reverse the antidepressant-like effect of Se-TZ. The results presented here indicate that the dopaminergic system appears to be implicated in the antidepressant-like effect of Se-TZ in the TST. This result is somewhat in agreement with previous studies that show that SCH23390 and sulpiride are able to prevent the antidepressant-like effect of several putative antidepressant agents in the FST, such as some organoselenium (Oliveira et al., 2012; Posser et al., 2009). In this context, classical antidepressant drug, imipramine (a tricyclic antidepressant), has involvement of dopamine D₁ and D₂ receptors in the mechanism of action in the TST (Hirano et al., 2007).

Since serotonin is the main neurotransmitter involved in the cognitive functions, it has been proposed that an increase in serotonergic neurotransmission might counteract the cognitive impairment including in memory and learning which is considered a core feature of major depressive disorder (Baune et al., 2010; Haider et al., 2007). In this study, the anti-immobility effect of Se-TZ was abolished when mice were pre-treated with methysergide (a non-selective serotonergic receptor antagonist) thereby confirming the possible involvement

of the serotonergic system in the antidepressant-like effect. Similarly, it has been shown that the effects of some antidepressants are prevented by the concurrent administration of a serotonergic receptor antagonist, by increasing extracellular serotonin after blockade of the serotonin transporter (O'Leary et al., 2007).

Depression is also associated with a hypofunction of the noradrenergic system (Elhwuegi, 2004). In fact, some antidepressants such as mazindol, reboxetine and mirtazapine act by increasing the synaptic availability of noradrenaline (Nikiforuk et al., 2010; Scates and Doraiswamy, 2000). In our study, the decrease in the immobility time elicited by Se-TZ was not reversed by prazosin (an α_1 -adrenoceptor antagonist), yohimbine (an α_2 -adrenoceptor antagonist) or propranolol (a β -adrenoceptor antagonist), suggesting that noradrenergic system may not be involved in antidepressant-like effects of Se-TZ. Similar results was reported in previous studies with others organoselenium, that the antidepressant-like effect not was dependent on the stimulation of noradrenergic system (Gerzson et al., 2012; Jesse et al., 2010b).

In addition, to support the hypothesis that the antidepressant-like effect of Se-TZ is mediated by the increase of serotonin and dopamin levels, the effect of Se-TZ on the monoamine neurotransmitters and their metabolites in mice brain was studied. In our study, we focused on two brain structures, the cerebral cortex and hippocampus, which are both critically involved in the regulation of depression related emotion, motivation, learning and memory (Mao et al., 2011). In the present study, Se-TZ, at a dose (25 mg/kg, p.o.) and time (2 h before testing) maximum that exert an antidepressant-like effect, Se-TZ significantly enhanced serotonin and dopamin levels in the cerebral cortex and hippocampus, additionally, a decrease in 5-HIAA and DOPAC levels were detected in cerebral cortex. Also, there was an increase in 5-HIAA levels in the hippocampus of Se-TZ treated mice. However, noradrenaline

and MHPG levels were not altered in any brain region, suggesting that the antidepressant-like effect of Se-TZ in the TST appears to be mediated by dopaminergic and serotonergic neurotransmitters but not by noradrenaline in the mice brain.

The ratio of the major metabolite to the corresponding monoamine is commonly used as an index of monoamine turnover (Kitanaka et al., 2006). As the ratio of neurotransmitter compared to its metabolites (turnover) can be used as an index of neurotransmitter metabolism, the reduction of turnover indicates a slowdown in the metabolism of neurotransmitters. In this study, Se-TZ induced a decreased turnover in DOPAC/dopamin and 5-HIAA/serotonin in all of the brain structures examined, indicating a reduction in dopamin and serotonin metabolism. Conversely, NE turnover was not affected in the two brain areas analyzed. These results strongly suggest that Se-TZ can cause dopaminergic and serotonergic activation in specific regions of the brain, and consequently, elevating the availability of these neurotransmitters, which is consistent with the behavioral changes exhibited in TST. Thus, the current study confirmed that the dopaminergic and serotonergic systems might be implicated in the antidepressant-like effect of Se-TZ.

Oxidative stress is primarily or secondarily involved in the pathogenesis of major depression. Maes et al. (2000), as well as a growing number of other investigators (Sarandol et al., 2007; Tsuboi et al., 2006) have established the co-existence of increased oxidative stress with symptoms of depression in patients. Several studies provide evidences for the cumulative antioxidant-promoting effects of different classes of antidepressants, for example, olanzapine, venlafaxine, amitriptyline and fluoxetine, which may represent a more universal mechanism of action that not only involves potential target of antidepressant regulation (Kolla et al., 2005), but also extends to other enzymatic and non-enzymatic antioxidants. Therefore,

antidepressant therapeutic intervention may be associated with the normalization of critical oxidative processes along with alleviating the depressive symptoms.

Interestingly, our results evidenced an increase of important antioxidant enzymes, CAT activity in the hippocampus and cerebral cortex, and similarly, there increased in GST activity in cerebral cortex, suggesting the protective effect in response an acute treatment of Se-TZ in mice, mediated by its antioxidant action. Corroborating with these data, Réus et al., 2010 reported the role of classical antidepressant, such imipramine showed that after both acute and chronic treatment with imipramine antidepressant improvement of oxidative stress parameters, in male Wistar rat brain, reported increased CAT and superoxide dismutase (SOD) activities and already decreased MDA levels in cerebral cortex and hippocampus. Other study was reported wherein concurrent and synchronized restoration of key endogenous antioxidants, in the activities of SOD, CAT, GST, glutathione reductase (GR) and GSH levels and yet decreased MDA in brain samples of stressed Swiss albino rats by treatment with imipramine, venlafaxine and fluoxetine, may thus largely contribute to neuroprotection (Zafir et al., 2009). Additionally, alpha-tocopherol (vitamin E) administration produced antidepressant-like effects in animal models of depression. Along with antidepressant-like effects, long-term treatment with alpha-tocopherol enhanced antioxidant defenses in the mouse hippocampus and cerebral cortex, two structures closely implicated in the pathophysiology of depression (Lobato et al., 2010). Though, the TBARS levels, were not changed in the liver, kidney, cerebral cortex or hippocampus of the treated mice after oral exposure to Se-TZ, suggest that this compound did not cause oxidative stress in mouse tissue following acute treatment.

There are studies showing that organoselenium compounds with antioxidant properties may confer antidepressant-like effects, such as Ebselen, a substance that mimics the activity

of the antioxidant enzyme GPx (Sato et al., 2004), decreased immobility time in rodents, an effect that was dependent on its interaction with the noradrenergic and dopaminergic systems (Posser et al., 2009); m-Trifluoromethyl-diphenyl diselenide [(m-CF₃-PhSe)₂], showed antioxidant properties (Prigol et al., 2009), and antidepressant-like effect involves the modulation of serotonergic and opioid systems in mice (Brüning et al 2011); too was recently shown that α -(phenylselanyl) acetophenone, showed antioxidant properties and antidepressant-like effects mediated by the serotonergic system, more specifically, the 5-HT_{1A} receptor subtype in mice (Gerzson et al., 2012).

In conclusion, the Se-TZ, a heterocyclic organoselenium compound, demonstrated antidepressant-like effect mediated, at least partially, via the central dopaminergic and serotonergic neurotransmitter system.

Conflict of interest statement

All authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgments

This work was supported by CNPq (Grant 472644/2010-6), CAPES and FAPERGS (PRONEX 10/0027-4, PqG 1012043). L.S is recipient of CNPq fellowship.

References

- Aebi, H. Catalase 'in vitro', 1984. *Methods Enzymol.* 105:121-7.
- Alves, D., Reis, JS., Luchese, C., Nogueira, CW., Zeni, G., 2008. Synthesis of 3-alkynylselenophene derivatives by a cooper-free sonogashira crosscoupling reaction. *European J. Org. Chem.* 2:377-82.
- Baune, B.T., Miller, R., McAfoose, J., Johnson, M., Quirk, F., Mitchell, D., 2010. The role of cognitive impairment in general functioning in major depression. *Psychiatry Res.* 176:183-189.
- Behr, G.A., Moreira, J.C.F., Frey, B.N., 2012. Preclinical and Clinical Evidence of Antioxidant Effects of Antidepressant Agents: Implications for the Pathophysiology of Major Depressive Disorder. *Oxid. Med. Cell. Longev.* Article ID 609421:13.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-54.
- Brüning, C.A., Souza, A.C.G, 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.
- Dunlop, B.W., Nemeroff, C.B., 2007. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. *Arch. Gen. Psychiatry.* 64:327-337.

- Elhwuegi, A.S., 2004. Central monoamines and their role in major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 28:435-451.
- Ellman, G.L., 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 82:70-77.
- Ferraz, A.C., Anselmo-Franci, J.A., Perosa, S.R., Castro-Neto, E.F., Bellissimo, M.I., Oliveira, B.H., et al., 2002. Aminoacid and monoamine alterations in the cerebral cortex and hippocampus of mice submitted to ricinine-induced seizures. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 72:779-786.
- Gai, B.M., Stein, A.L., Roehrs, J.A., Bilheri, F.N., Nogueira, C.W., Zeni, G., 2012. Synthesis and antidepressant-like activity of selenophenes obtained via iron(III)-PhSeSePh-mediated cyclization of Z-selenoenynes. *Org. Biomol. Chem.* 10:798.
- Gay, B.M., Prigol, M., Stein, A.L., Nogueira, C.W., 2010. Antidepressant-like pharmacological profile of 3-(4-fluorophenylselenyl)-2,5-diphenylselenophene: involvement of serotonergic system. *Neuropharmacology*. 59:172-179.
- Gerzson, M.F.B., Victoria, F.N.V., Radatz, C.S., Gomes, M.G., Boeira, S.B., Jacob, R.G, et al., 2012. In vitro antioxidant activity and in vivo antidepressant-like effect of α -(phenylselanyl) acetophenone in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 102, 21-29.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139.

- Haider, S., Khaliq, S., Haleem, D.J., 2007. Enhanced serotonergic neurotransmission in the hippocampus following tryptophan administration improves learning acquisition and memory consolidation in rats. *Pharmacol. Rep.* 59:53-57.
- Hawkes, W.C., Hornbostel, L., 1996. Effects of dietary selenium on mood in healthy men living in a metabolic research unit. *Biol. Psychiatry.* 39:121-128.
- Hirano, S., Miyata, S., Onodera, K., Kamei, J., 2007. Involvement of dopamine D₁ receptors and α_1 -adrenoceptors in the antidepressant-like effect of chlorpheniramine in the mouse tail suspension test. *Eur. J. Pharmacol.* 562:72-76.
- Jaffe, M.Z., 1986. Methods determining creatinine. *Physiol. Chem.* 10:39-40.
- Jesse, C.R., Wilhelm, E.A., Bortolatto, C.F., Nogueira, C.W., 2009a. Evidence for the involvement of the noradrenergic system, dopaminergic and imidazoline receptors in the antidepressant-like effect of tramadol in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 95:344-50.
- Jesse, C.R., Wilhelm, E.A., Bortolatto, C.F., Nogueira, C.W., 2010b. 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 bisphenol A in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 34:294-302.
- Kessler, R.C., Wang, P.S., 2009. Epidemiology of depression. In: Gotlib, I.H., Hammen, C.L. (Eds.), *Handbook of Depression*. Guilford Press, New York, NY. 5-22.

- Kitanaka, N., Kitanaka, J., Takemura, M., 2006. Modification of morphine-induced hyperlocomotion and antinociception in mice by clorgyline, a monoamine oxidase-A inhibitor. *Neurochem. Res.* 31:829-837.
- Klimek, V., Schenck, J.E., Han, H., Stockmeier, C.A., Ordway, G.A., 2002. Dopaminergic abnormalities in amygdaloid nuclei in major depression: a postmortem study. *Biol. Psychiatry.* 52:740-748.
- Kolla, N., Wei, Z., Richardson, J.S., Li, X.M., 2005. Amitriptyline and fluoxetine protect PC12 cells from cell death induced by hydrogen peroxide. *J. Psychiatry Neurosci.* 2005;30:196-201.
- Lobato, K.R., Cardoso, C.C., Binfaré, R.W., Budni, J., Wagner, C.L.R., Brocardo, P.S., et al., 2010. “ α - Tocopherol administration produces an antidepressant-like effect in predictive animal models of depression”. *Behav. Brain Res.* 209:249-259.
- Mackay, E.M., Mackay, L.L., 1927. Methods determining urea. *J. Clin. Invest.* 4:295-296.
- Maes, M., De Vos, N., Pioli, R., Demedts, P., Wauters, A., Neels, H.A., et al., 2000. Lower serum vitamin E concentrations in major depression. Another marker of lowered antioxidant defenses in that illness. *J. Affect Disord.* 58:241-246.

- Mao, Q.Q., Xian, Y.F., Ip, S.P., Che, C.T., 2011. Involvement of serotonergic system in the antidepressant-like effect of piperine. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 35:1144-1147.
- Ng, F., Berk, M., Dean, O., Bush, A.I., 2008. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 11:851-876.
- Nikiforuk, A., Golembiowska, K., Popik, P., 2010. Mazindol attenuates ketamine- induced cognitive deficit in the attentional set shifting task in rats. *European Neuropsychopharmacology*. 20:37-48.
- Ninomiya, M., Garudb, D.R., Koketsua, M., 2011. Biologically significant selenium-containing heterocycles. *Coord. Chem. Rev.* 255:2968-2990.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95:351-358.
- O'Leary, O.F., Bechtholt, A.J., Crowley, J.J., Hill, T.E., Page, M.E., Lucki, I., 2007. Depletion of serotonin and catecholamines block the acute behavioral response to different classes of antidepressant drugs in the mouse tail suspension test. *Psychopharmacol.* 192:357-371.
- Oliveira, C.E.S., Gai, B.M., Godoi, B., Zeni, G., Nogueira, C.W., 2012. The antidepressant-like action of a simple selenium-containing molecule, methyl phenyl selenide, in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 690:119-1123.

- Paykel, E.S., 2006. Depression: major problem for public health. *Epidemiol. Psychiatry*. 15:4-10.
- Posser, T., Kaster, M.P., Baraúna, S.C., Rocha, J.B., Rodrigues, A.L.S., Leal, R.B., 2009. Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Eur. J. Pharmacol.* 602:85-91.
- Prigol, M., Brüning, C.A., Zeni, G., Nogueira, C.W., 2009. Protective effect of disubstituted diaryl diselenides on cerebral oxidative damage caused by sodium nitroprusside. *Biochem. Eng. J.* 45:94-99.
- Reitman, S., Frankel, S., 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.* 28:56-63.
- Réus, G.Z., Stringari, R.B., Souza, B., Petronilho, F., Dal-Pizzol, F., Hallak, J.E., et al., 2010. Harmine and imipramine promote antioxidant activities in prefrontal cortex and hippocampus. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 5:325-331.
- Sarandol, A., Sarandol, E., Eker, S.S, Erdin, S., Vatansever, E., Kirli, S., 2007. 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.

- Sartorius, N., Baghai, T.C., Baldwin, D.S., Barrett, B., Brand, U., Fleischhacker, W., et al., 2007. Antidepressant medications and other treatments of depressive disorders: a CINP Task Force report based on a review of evidence. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 10:1-207.
- Satoh, T., Ishige, K., Sagara, Y., 2004. Protective effects on neuronal cells of mouse afforded by ebselen against oxidative stress at multiple steps. *Neurosci. Lett.* 371:1-5.
- Savegnago, L., Jesse, C.R., Pinto, L.G., Rocha, J.B., Nogueira, C.W., Zeni, G., 2007. Monoaminergic agents modulate antidepressant-like effect caused by diphenyl diselenide in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 31:1261-1269.
- Scates, A.C., Doraiswamy, P.M., 2000. Reboxetine: a selective norepinephrine reuptake inhibitor for the treatment of depression. *Ann. Pharmacother.* 34:1302-1312.
- Seus, N., Saraiva, M.T., Alberto, E.E., Savegnago, L., Alves, D., 2012. Selenium compounds in Click Chemistry: copper catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition of azidomethyl arylselenides and alkynes. *Tetrahedron.* doi: 10.1016/j.tet.2012.07.019.
- Sher, L., 2007. Possible role of selenium deficiency in the neurobiology of depression and suicidal behavior in patients with alcohol use disorders. *Int. J. Disabil. Hum. Dev.* 6:227-230.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Simon, P., 1985. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology.* 85:367-370.

Tsuboi, H., Tatsumi, A., Yamamoto, K., Kobayashi, F., Shimoi, K., Kinae, N., 2006. Possible connections among job stress, depressive symptoms, lipid modulation and antioxidants. *J. Affect Disord.* 91:63-70.

Villarinho, J.G., Fachineto, R., Pinheiro, F.V., Sant'Anna, G.S., Machado, P., Dombrowski, P.A., et al., 2012. Antidepressant-like effect of the novel MAO inhibitor 2-(3,4-dimethoxy-phenyl)-4,5-dihydro-1H-imidazole (2-DMPI) in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 39:31-39.

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

WHO., 2011. Depression. World Health Organization., [cited 2012 Apr 12] Available from http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/

Zafir, A., Ara, A., Banu, N., 2009. In vivo antioxidant status: a putative target of antidepressant action. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 33:220-228.

Legends of figures

Fig. 1. Chemical structure of 4-Phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole.

Fig. 2. Effect of acute administration of Se-TZ, fluoxetine and imipramine on immobility time in the TST in mice. Time-course curve of Se-TZ (50 mg/kg, p.o.; panel A) administered 30, 60, 120 and 240 minutes before the TST. Dose-response curve of Se-TZ (1, 5, 25 and 50 mg/kg, p.o.; panel B) administered 30 minutes before the TST. Fluoxetine (32mg/kg, p.o.) and imipramine (15 mg/kg, p.o.), were used as positive controls and they were administered 30 minutes before the TST. The values were analyzed by one-way ANOVA, followed by the Newman–Keuls, each value is expressed as the means \pm S.E.M. (n = 6-8 mice in each group). Asterisks represent significant effect ($*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$) when compared with the respective control.

Fig.3. Effect of pre-treatment with prazosin (1 mg/kg, i.p.; panel A), yohimbine (1 mg/kg, i.p.; panel B) and propranolol (2 mg/kg, i.p.; panel C) on the immobility time of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST in mice. The values were analyzed by two-way ANOVA followed by Bonferroni's test, each value is expressed as the means \pm S.E.M. (n = 6-8 mice in each group). Asterisks represent significant effect ($***p < 0.001$) when compared with the respective vehicle-treated control.

Fig. 4. Effect of pre-treatment with SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c.; panel A) and sulpiride (50 mg/kg, i.p.; panel B) on immobility time of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST in mice. The values were analyzed by two-way ANOVA followed by Bonferroni's test, each value is expressed as the means \pm S.E.M. (n = 6-8 mice in each group). Asterisks represent significant effect ($***p < 0.001$) when compared with the respective vehicle-treated control. ($\#p < 0.01$; $\#\#p < 0.001$) as compared with Se-TZ alone.

Fig. 5. Effect of pre-treatment with methysergide (2 mg/kg, s.c.) on immobility time of Se-TZ (25 mg/kg, p.o.) in the TST in mice. The values were analyzed by two-way ANOVA followed by Bonferroni's test, each value is expressed as the means \pm S.E.M. (n = 6-8 mice in each group). Asterisks represent significant effect ($***p < 0.001$) when compared with the respective vehicle-treated control. (# # $p < 0.001$) as compared with Se-TZ alone.

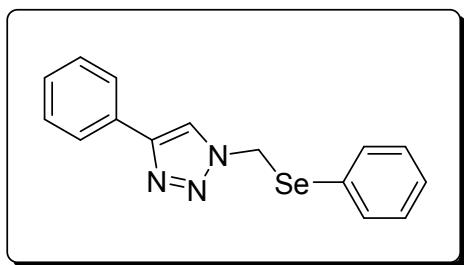
Figure 1.

Figure 2.

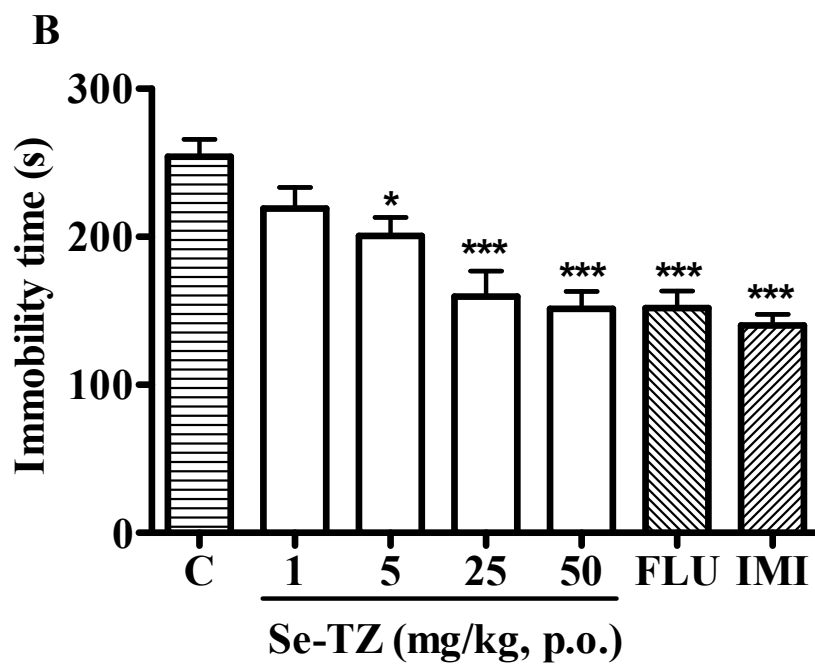
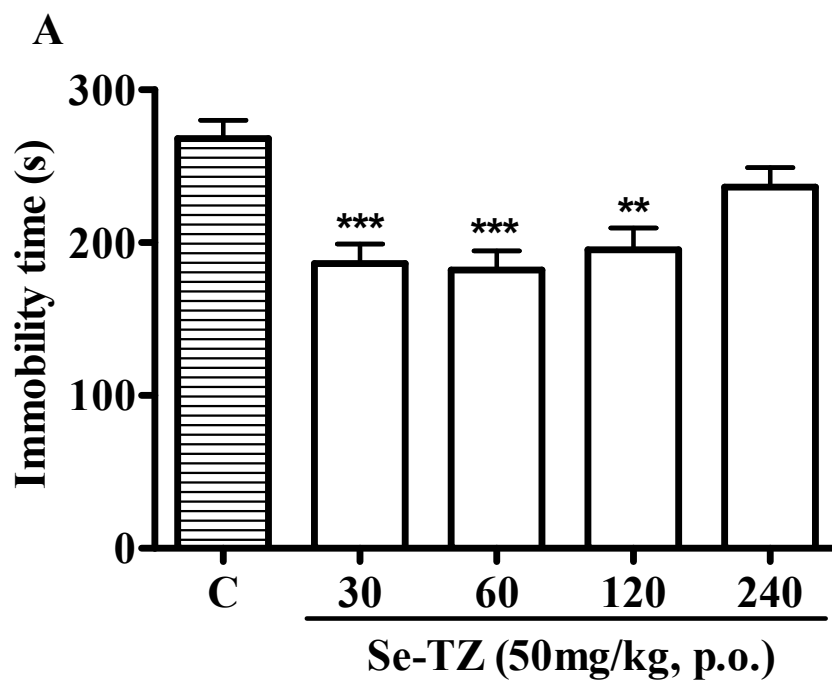
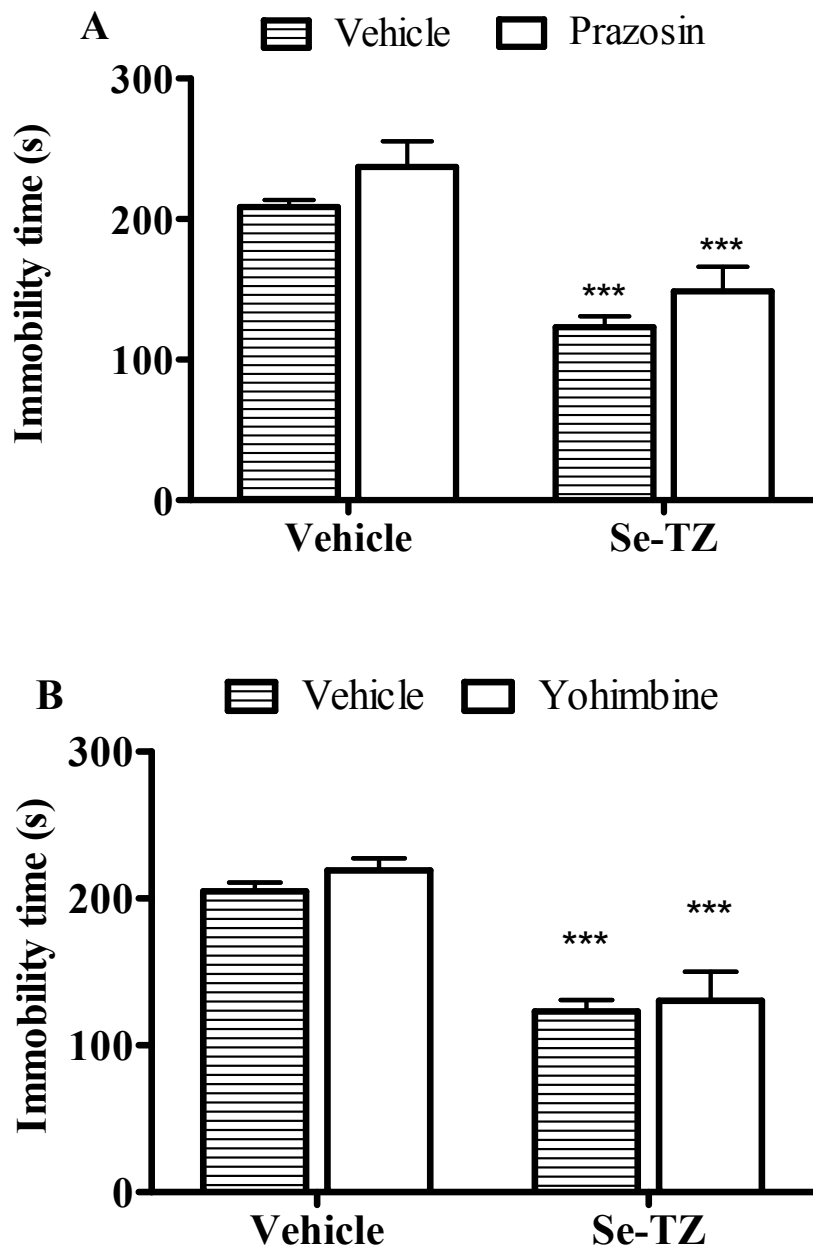


Figure 3.



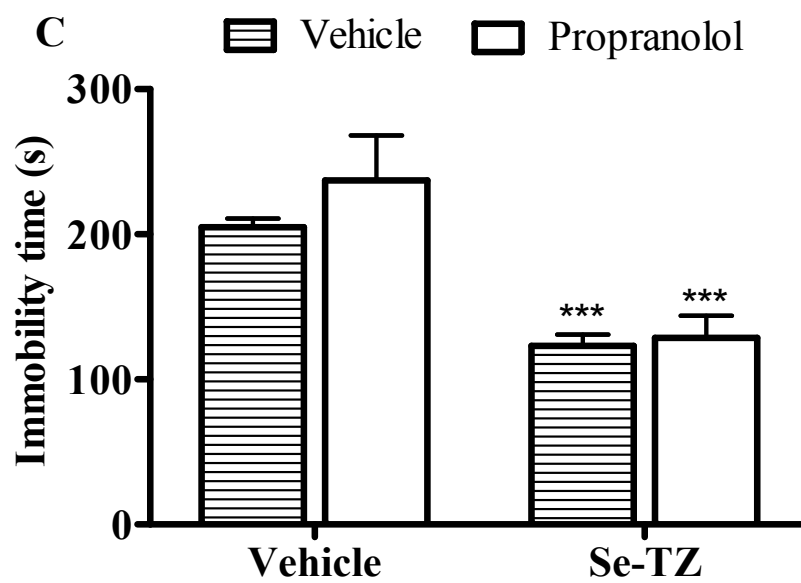


Figura 4.

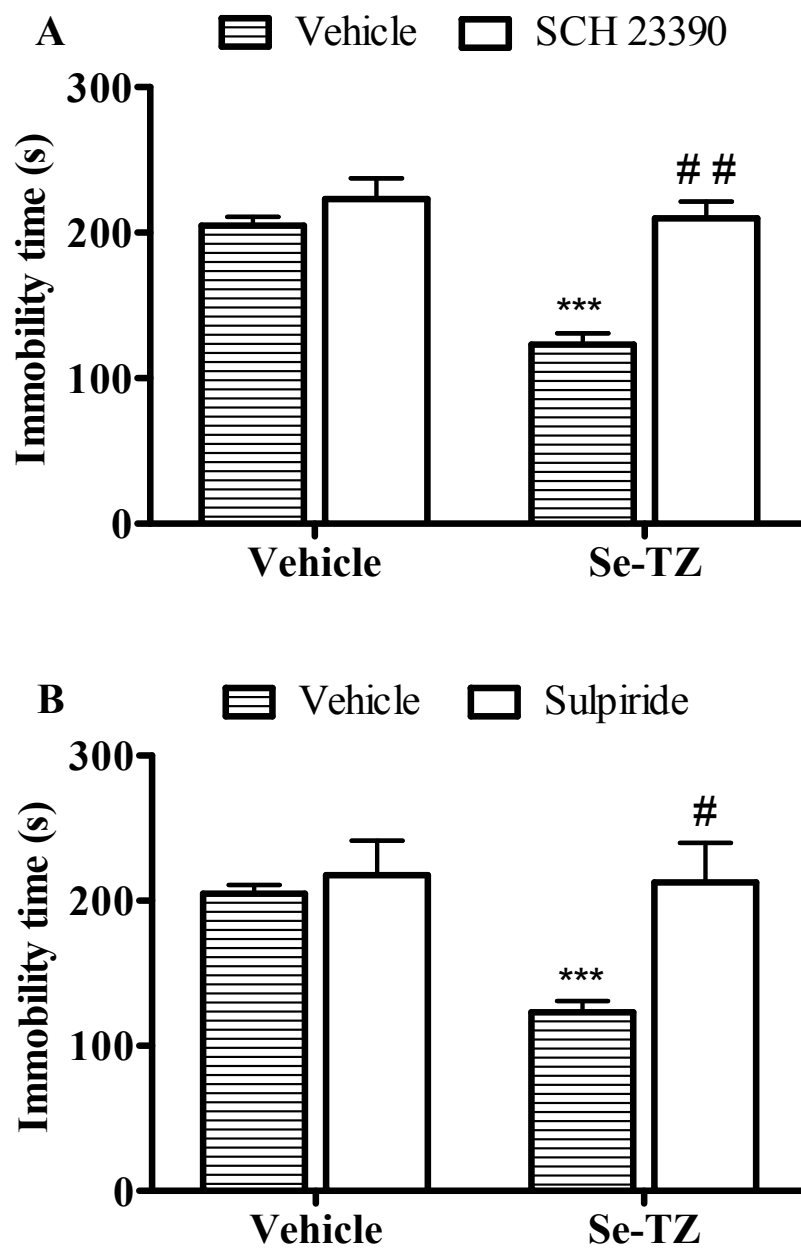


Figure 5.

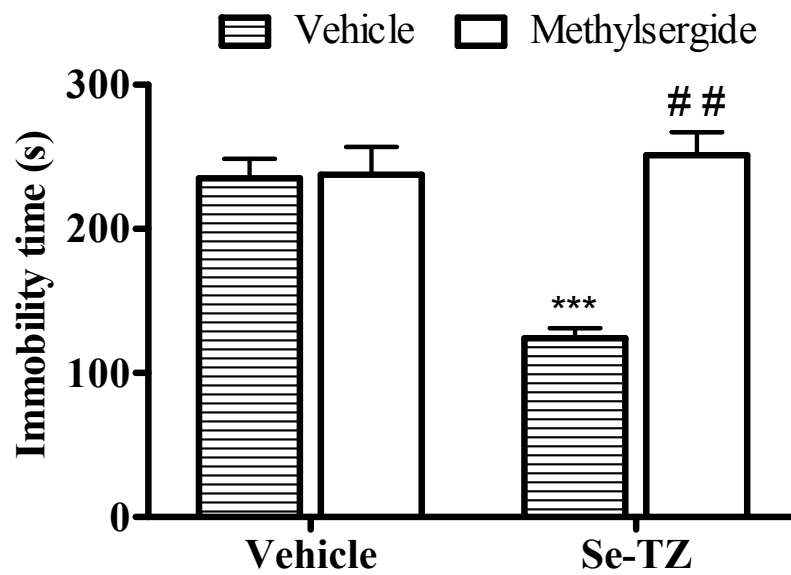


Table 1. Effect of acute treatment with Se-TZ administered orally on biochemical parameters in mice

Dose (mg/kg)	AST (U/L)	ALT (U/L)	Urea (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)
Control	124.2 ± 6.04	44.03 ± 6.18	46.19 ± 4.3	0.13 ± 0.01
1	131.6 ± 12.01	34.05 ± 6.71	46.32 ± 10.9	0.13 ± 0.01
5	124.8 ± 8.18	33.75 ± 4.83	40.56 ± 13.06	0.15 ± 0.02
25	164.9 ± 10.67	44.32 ± 6.77	19.53 ± 2.53	0.16 ± 0.01
50	124.7 ± 6.02	36.69 ± 5.01	24.95 ± 4.36	0.15 ± 0.02

The values were analyzed by one-way ANOVA, followed by the Newman–Keuls,

each value is expressed as the mean ± S.E.M (n = 6-8).

Table 2. Effect of acute treatment with Se-TZ on lipid peroxidation and NPSH levels in the liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus of mice

Dose (mg/kg)	TBAR'S (nmol MDA/mg of protein)				NPSH (nmol NPSH/mg of protein)			
	Liver	Kidney	Cortex	Hippocampus	Liver	Kidney	Cortex	Hippocampus
Control	9.76 ± 0.41	16.23 ± 1.38	30.08 ± 1.87	32.58 ± 1.82	18.18 ± 1.3	46.98 ± 2.87	4.58 ± 0.25	4.71 ± 0.33
1	11.36 ± 1.06	15.19 ± 1.3	23.44 ± 2.27	27.46 ± 1.85	19.78 ± 4.04	48.48 ± 8.46	4.23 ± 0.71	4.17 ± 0.61
5	11.3 ± 0.46	12.80 ± 1.13	26.61 ± 2.17	27.91 ± 3.63	18.59 ± 1.32	48.72 ± 1.65	5.40 ± 0.65	4.93 ± 0.44
25	11.18 ± 0.63	12.92 ± 1.03	27.26 ± 2.53	28.24 ± 1.95	17.74 ± 3.28	54.63 ± 6.24	6.27 ± 0.64	5.16 ± 0.13
50	11.48 ± 0.36	14.31 ± 1.29	26.87 ± 2.99	26.10 ± 1.75	33.34 ± 1.19**	63.69 ± 7.66	7.04 ± 0.86	4.5 ± 0.22

The values were analyzed by one-way ANOVA, followed by the Newman–Keuls, each value is expressed as the mean ± S.E.M (n = 6-8).

Asterisks represent significant effect (** $p < 0.01$) when compared with the respective control.

Table 3. Effect of acute treatment with Se-TZ on CAT and GST activities the liver, kidney, cerebral cortex and hippocampus of mice

Dose (mg/kg)	Catalase (Ucat/mg protein)				Glutathiona S-Transferase (nmol CDNB/min/mg of protein)			
	Liver	Kidney	Cortex	Hippocampus	Liver	Kidney	Cortex	Hippocampus
Control	1.45 ± 0.16	3.64 ± 0.39	0.13 ± 0.01	0.27 ± 0.03	45.16 ± 2.92	3.84 ± 0.49	3.48 ± 0.38	6.22 ± 0.39
1	1.27 ± 0.06	3.52 ± 0.46	0.37 ± 0.06***	0.30 ± 0.03	34.98 ± 0.97	4.19 ± 0.23	5.40 ± 0.39	7.46 ± 1.05
5	1.68 ± 0.35	3.27 ± 0.39	0.32 ± 0.03***	0.54 ± 0.08	39.10 ± 2.02	3.44 ± 0.12	10.92 ± 1.28***	9.03 ± 1.08
25	1.57 ± 0.12	4.06 ± 0.34	0.41 ± 0.04***	0.83 ± 0.11**	40.51 ± 3.08	3.61 ± 0.37	9.94 ± 1.14***	6.93 ± 1.55
50	1.63 ± 0.37	3.11 ± 0.36	0.41 ± 0.03***	0.78 ± 0.08**	44.94 ± 3.45	3.61 ± 0.35	14.36 ± 1.12***	7.28 ± 1.34

The values were analyzed by one-way ANOVA, followed by the Newman–Keuls, each value is expressed as the mean ± S.E.M (n = 6-8).

Asterisks represent significant effect (** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$) when compared with the respective control.

Table 4. The levels of monoamine neurotransmitters and their metabolite (ng/g tissue) in cerebral cortex and hippocampus of mice after acute treatment with Se-TZ 25mg/kg

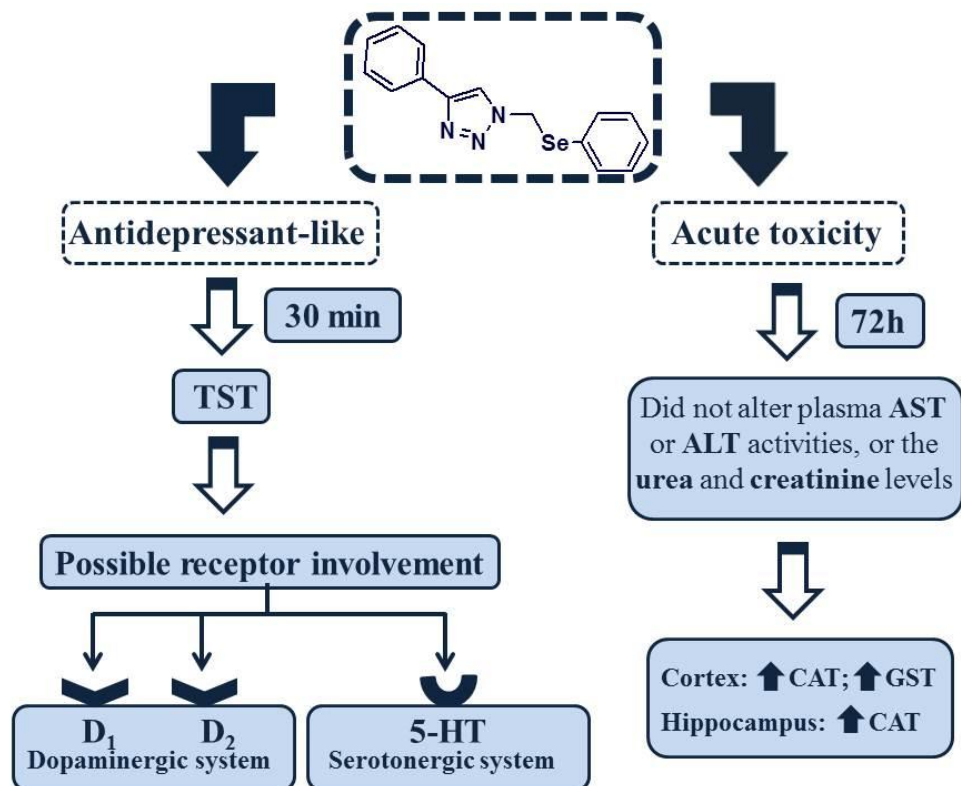
Group	Cortex		Hippocampus	
	Control	Se-TZ (25mg/kg)	Control	Se-TZ (25mg/kg)
NE	575.8 ± 13.38	557.5 ± 18.82	557.0 ± 14.40	556.8 ± 14.96
MHPG	277.8 ± 9.42	269.8 ± 10.53	554.3 ± 21.14	535.3 ± 30.71
MHPG/NE	0.48 ± 0.01	0.49 ± 0.02	0.1 ± 0.04	0.95 ± 0.05
5-HT	445.0 ± 18.71	590.0 ± 16.19***	650.0 ± 12.46	835.8 ± 21.71***
5-HIAA	350.5 ± 10.99	278.0 ± 13.69**	618.8 ± 8.28	710.5 ± 14.9**
5-HIAA/5-HT	0.77 ± 0.06	0.47 ± 0.03***	1.03 ± 0.03	0.84 ± 0.01*
DA	714.3 ± 13.03	855.5 ± 30.26***	614.8 ± 9.13	746.5 ± 27.65***
DOPAC	603.5 ± 12.9	530.3 ± 13.91**	643.5 ± 14.62	624.3 ± 10.14
DOPAC/DA	0.84 ± 0.02	0.62 ± 0.02***	1.05 ± 0.04	0.85 ± 0.03*

The values were analyzed by one-way ANOVA, followed by the Newman–Keuls, each value is expressed

as the mean \pm S.E.M (n = 5). Asterisks represent significant effect (* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)

when compared with the respective control.

Graphical Abstract



4 DISCUSSÃO

Há um grande número de tratamentos farmacológicos existentes para a depressão, mas o grau de sucesso da medicação não é mais do que 50-60% (Kiss, 2008) e a maior parte deles são mal tolerados devido aos efeitos adversos (Guadarrama-Cruz *et al.*, 2008). Portanto, existe uma necessidade de pesquisa e desenvolvimento de terapias antidepressivas mais eficazes, sem qualquer ou com menos efeitos adversos.

Os resultados presentes nesta dissertação demonstraram que o Se-TZ administrado pela via oral, produz significativo efeito tipo antidepressivo em camundongos no TSC, sem causar toxicidade aguda nos marcadores bioquímicos de lesão hepática e renal. Adicionalmente, a atividade locomotora e exploratória não foi alterada nos camundongos. Também foi evidenciado o envolvimento dos sistemas serotoninérgico (5-HT) e dopaminérgico (D_1 e D_2), mas não do sistema noradrenérgico (α_1 , α_2 e β) no efeito tipo antidepressivo demonstrado pelo Se-TZ. A determinação dos níveis de neurotransmissores monoaminérgicos e seus respectivos metabólitos, detectados no córtex cerebral e no hipocampo, colaboraram com os resultados obtidos anteriormente. Além disso, pode-se sugerir que o Se-TZ demonstrou atividade antioxidante, através do aumento da atividade das enzimas antioxidantes, como a CAT e a GST.

Este estudo mostra que a administração aguda de Se-TZ pela via oral, na dose de 50 mg/kg, é eficaz para produzir uma resposta tipo antidepressiva significativa no TSC em camundongos. Este efeito exibiu resultados similares nos intervalos de (30 e 60 minutos), e manteve-se significativo até 120 minutos, entretanto este efeito foi abolido em 240 minutos. Considerando estes resultados, todos experimentos foram realizados utilizando 30 minutos como intervalo de tempo para investigação do Se-TZ e seus mecanismos de ação.

Além disso, é notável que o efeito tipo antidepressivo produzido pelo Se-TZ foi semelhante ao efeito produzido pelos antidepressivos clássicos, fluoxetina e imipramina, (utilizados como controles positivo), pois também reduziram significativamente o tempo de imobilidade dos camundongos no TSC, o que reforça a afirmação que o TSC é um modelo animal amplamente utilizado como teste preditivo da atividade antidepressiva, sensível à administração aguda de drogas antidepressivas

(Steru *et al.*, 1985). O efeito tipo antidepressivo observado no TSC poderia ser erroneamente interpretado caso o composto estudado apresentasse algum efeito psicoestimulante. Neste estudo, a administração do Se-TZ, nas doses em que apresentou efeito tipo antidepressivo em camundongos, não alterou a atividade locomotora e/ou exploratória dos animais. Assim, pode-se afirmar que a redução no tempo de imobilidade observada no TSC é um parâmetro válido que pode ser utilizado para demonstrar o efeito comportamental do tipo antidepressivo do Se-TZ e que este efeito, não é devido a um efeito psicoestimulante do mesmo.

De acordo com estes resultados, compostos orgânicos heterocíclicos contendo selênio também são descritos na literatura por possuírem efeito tipo antidepressivo (Posser *et al.*, 2009; Gay *et al.*, 2010; Gai *et al.*, 2012). Acredita-se que neurotransmissores monoaminérgicos, tais como NE, DA e 5-HT, estão envolvidos em desordens depressivas e desempenham um papel importante na mediação de efeitos comportamentais de drogas antidepressivas (Elhwuegi, 2004).

O sistema dopaminérgico também é um alvo importante implicado na regulação da depressão (Klimek *et al.*, 2002). A DA tem muitas funções no cérebro, incluindo papéis importantes no comportamento e cognição, punição e recompensa, sono, atenção, humor e aprendizagem (Dunlop & Nemeroff, 2007). Em nosso estudo, o pré-tratamento de camundongos com SCH23390 ou sulpirida, antagonistas seletivos de receptores D₁ e D₂, respectivamente, foram capazes de bloquear o efeito tipo antidepressivo produzido pelo Se-TZ. Os resultados aqui apresentados indicam que o sistema dopaminérgico pode modular o efeito tipo antidepressivo de Se-TZ no TSC. Este resultado está de acordo, com estudos anteriores que demonstraram que SCH23390 e sulpirida são capazes de bloquear o efeito tipo antidepressivo de vários agentes tipo antidepressivos no TNF, tais como alguns compostos orgânicos de selênio, o ebselen e o fenilselenometil (Posser *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2012). Neste contexto, o fármaco antidepressivo clássico, a imipramina (antidepressivo tricíclico) também tem envolvimento de receptores dopaminérgicos, D₁ e D₂ no mecanismo de ação no TSC (Hirano *et al.*, 2007).

Uma vez que a 5-HT é o principal neurotransmissor envolvido nas funções cognitivas, foi proposto que o aumento da neurotransmissão serotoninérgica pode neutralizar a alteração cognitiva, incluindo a memória e o aprendizado que são consideradas características centrais do transtorno depressivo maior (Haider *et al.*, 2007; Baune *et al.*, 2010). Neste estudo, o efeito anti-imobilidade de Se-TZ foi abolido

quando os camundongos foram pré-tratados com metisergida (antagonista não seletivo do receptor 5-HT), confirmando assim o possível envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito tipo antidepressivo. Do mesmo modo, demonstrou-se que os efeitos de alguns antidepressivos são bloqueados através da administração simultânea de um antagonista do receptor 5-HT, através do aumento de 5-HT extracelular após bloqueio do transportador de 5-HT (O'Leary *et al.*, 2007).

A depressão também pode estar associada com uma hipofunção do sistema noradrenérgico (NA) (Elhwuegi, 2004). Na verdade, alguns antidepressivos, tais como mazindol, reboxetina e mirtazapina atuam através do aumento da disponibilidade sináptica de NA (Scates & Doraiswamy, 2000; Nikiforuk *et al.*, 2010). Nesse estudo, a redução no tempo de imobilidade induzida por Se-TZ não foi bloqueado com prazosina (antagonista α_1 -adrenérgico), ioimbina (antagonista α_2 -adrenérgico) ou propranolol (antagonista β -adrenérgico), sugerindo que o efeito tipo antidepressivo do Se-TZ não foi dependente da modulação do sistema noradrenérgico. Resultados semelhantes foram relatados em estudos anteriores com outros compostos orgânicos de selênio, em que o efeito tipo antidepressivo não foi dependente da estimulação do sistema noradrenérgico (Jesse *et al.*, 2010; Gerzson *et al.*, 2012).

Além disso, para suportar a hipótese de que o efeito tipo antidepressivo do Se-TZ é mediado pelo aumento dos níveis de 5-HT e DA, o efeito de Se-TZ sobre os neurotransmissores monoaminérgicos e seus respectivos metabólitos foram analisados no cérebro dos camundongos. No presente estudo foram utilizadas duas estruturas cerebrais, o córtex cerebral e o hipocampo, ambas estão criticamente envolvidas na regulação da depressão relacionada com emoção, motivação, aprendizado e memória (Mao *et al.*, 2011). Nesse estudo, o Se-TZ, administrado na dose de 25 mg/kg, p.o., 2 horas antes do TSC, (tempo máximo que é capaz de exercer efeito tipo antidepressivo), demonstrou melhorar significativamente os níveis de 5-HT e DA no córtex cerebral e no hipocampo; adicionalmente, uma diminuição foi detectada nos níveis dos seus respectivos metabólitos, 5-HIAA e DOPAC, no córtex cerebral. Além disso, verificou-se um aumento de níveis de 5-HIAA no hipocampo de Se-TZ nos camundongos tratados. No entanto, os níveis de NE e MHPG não foram alterados em quaisquer regiões do cérebro, sugerindo que o efeito tipo antidepressivo de Se-TZ no TSC parece ser modulado por DA e 5-HT, mas não por neurotransmissores noradrenérgicos no cérebro de camundongos.

A relação maior entre o metabólito da monoamina correspondente é geralmente utilizada como um índice de volume da monoamina (Kitanaka *et al.*, 2006). À medida que a proporção do neurotransmissor em relação com os seus metabólitos (turnover) pode ser utilizada como um índice do metabolismo do neurotransmissor, a redução do volume indica um abrandamento do metabolismo dos neurotransmissores. Neste estudo, Se-TZ induziu uma diminuição no volume do “turnover” DOPAC/DA e 5-HIAA/5-HT em todas as estruturas do cérebro examinadas, o que indica uma redução no metabolismo de DA e 5-HT. Por outro lado, o “turnover” de NE não foi afetado nas duas áreas do cérebro analisadas. Estes resultados sugerem fortemente que o Se-TZ causa modulação dopaminérgica e serotoninérgica em regiões específicas do cérebro e, por conseguinte, elevam a disponibilidade desses neurotransmissores, o que é consistente com as mudanças comportamentais exibidas no TSC. Assim, o estudo confirmou que os sistemas dopaminérgico e serotoninérgico poderiam estar envolvidos no efeito tipo antidepressivo do Se-TZ.

O estresse oxidativo está envolvido primariamente ou secundariamente na patogênese da depressão maior. Maes *et al.* (2000), bem como um número crescente de outros pesquisadores (Tsuboi *et al.*, 2006; Sarandol *et al.*, 2007) estabeleceram a coexistência de aumento do estresse oxidativo em pacientes com sintomas de depressão. Vários estudos fornecem evidências para os efeitos antioxidantes cumulativos promovidos por diferentes classes de antidepressivos, por exemplo, a olanzapina, a venlafaxina, amitriptilina e fluoxetina, podem representar um mecanismo mais universal de ação que não envolve apenas alvo potencial de regulação antidepressiva (Kolla *et al.*, 2005), mas também se estende na atuação de outros antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Assim, a intervenção terapêutica antidepressiva pode ser associada com a normalização dos processos oxidativos críticos, juntamente com o alívio dos sintomas depressivos.

Curiosamente, os nossos resultados evidenciaram um aumento das enzimas antioxidantes. Observou-se um aumento na atividade de CAT no hipocampo e no córtex cerebral, e ainda um aumento na atividade de GST no córtex cerebral, sugerindo um efeito protetor em resposta a um tratamento agudo com Se-TZ em camundongos é mediado por sua ação antioxidante. Corroborando com estes dados, Réus *et al.*, (2010) demonstraram o papel do antidepressivo clássico, a imipramina, que após o tratamento agudo e crônico com antidepressivos houve uma melhoria dos parâmetros de estresse oxidativo, no cérebro de ratos Wistar machos, relatando aumento nas atividades de CAT

e superóxido dismutase (SOD) e a diminuição dos níveis de MDA no córtex cerebral e no hipocampo. Outro estudo relatado foi a restauração simultânea e sincronizada de antioxidantes endógenos chave, como nas atividades de SOD, CAT, GST, glutathione redutase (GR) e níveis de GSH e ainda a diminuição de MDA em amostras de cérebro de ratos suíços albinos estressados, através do tratamento com imipramina, venlafaxina e fluoxetina, podendo assim, contribuir largamente para a neuroproteção (Zafir *et al.*, 2009). Outro estudo publicado recentemente mostrou que a venlafaxina antagonizou o estresse induzido, demonstrando uma diminuição dos níveis de GSH e na atividade de GST no hipocampo dos animais testados, em doses que apresentaram atividade tipo antidepressiva no TNF e TSC (Abdel-Wahab *et al.*, 2011). Estes resultados refletem a sua capacidade de repor a depleção induzida pelo estresse no armazenamento celular de GSH e reativação da enzima GST inibida pela exposição ao estresse, indicando a ligação entre a resposta antioxidante ao efeito tipo antidepressivo (Abdel-Wahab *et al.*, 2011). Além disso, a administração do alfa-tocoferol (vitamina E) produziu efeitos semelhantes aos antidepressivos em modelos animais de depressão. Juntamente com efeitos semelhantes a antidepressivos, a longo prazo, o tratamento com alfa-tocoferol resultou na melhora das defesas antioxidantes no hipocampo e córtex cerebral do ratos, duas estruturas estreitamente implicados na fisiopatologia da depressão (Lobato *et al.*, 2010). No entanto, observou-se que os níveis de TBARS, não foram alterados no fígado, rim, córtex cerebral e hipocampo de camundongos expostos oralmente ao Se-TZ, sugerindo então, em que este composto não causou estresse oxidativo no tecido após o tratamento agudo. Tudo isso também pode estar relacionado de uma maneira geral, para a manutenção da atividade das enzimas antioxidantes por antidepressivos para efetivamente combater o estresse oxidativo.

Há estudos que mostram que os compostos orgânicos de selênio com propriedades antioxidantes podem conferir efeitos tipo antidepressivo semelhantes, como o ebselen, uma substância que mimetiza a atividade da enzima antioxidante GPx (Sato *et al.*, 2004), e também causa a redução do tempo de imobilidade, em roedores, um efeito dependente da sua interação com os sistemas noradrenérgico e dopaminérgico (Posser *et al.*, 2009.); O m-trifluorometil-difenil disseleneto [(m-CF₃-PhSe)₂], demonstrou propriedades antioxidantes (Prigol *et al.*, 2009), e efeito tipo antidepressivo que envolve a modulação dos sistemas serotoninérgicos e opióides em camundongos (Brüning *et al.*, 2011); muito recentemente foi demonstrado que a α -(phenylselanyl) acetofenona, demonstrou propriedades antioxidantes e tipo antidepressivas, como

efeitos mediados pelo sistema serotoninérgico, mais especificamente, o subtipo de receptor 5-HT_{1A} em camundongos (Gerzson *et al.*, 2012).

Neste cenário, as intervenções com antidepressivos que possuem efeito antioxidante, podem ser consideradas eficazes, não só por aliviar os sintomas depressivos, mas também por ser um meio de modulação do estresse oxidativo. Este fato pode ser reforçado, tendo em conta a evidência de que o estresse oxidativo é um elemento comum em muitos casos de eventos neurológicos desordens associadas com o estresse psicológico e depressão.

Em conjunto, os nossos dados sugerem que o Se-TZ, um composto orgânico heterocíclico contendo selênio, demonstrou efeito tipo antidepressivo mediado, pelo menos em parte, através do sistema neurotransmissor dopaminérgico e serotoninérgico, sem causar efeitos tóxicos nos parâmetros e doses testadas. Contudo, mais estudos precisam ser realizados para demonstrar a possível participação das enzimas antioxidantes frente ao estresse oxidativo e a outros modelos de depressão.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados nesta dissertação, podemos concluir e/ou inferir que:

- A administração aguda do composto fenilselenometil-1,2,3-triazol (Se-TZ), diminui o tempo de imobilidade no TSC;
- O efeito antidepressivo do Se-TZ não causou prejuízo motor no teste realizado, já que as diferentes doses administradas não afetaram significativamente a atividade locomotora e exploratória avaliada no TCA;
- Foi evidenciado o envolvimento dos sistemas serotoninérgico (5-HT) e dopaminérgico (D₁ e D₂) no efeito tipo antidepressivo demonstrado pelo Se-TZ com o uso de antagonistas destes sistemas;
- A determinação dos níveis de neurotransmissores monoaminérgicos e seus respectivos metabólitos, detectados no córtex cerebral e no hipocampo, sustentaram a hipótese do envolvimento dopaminérgico e serotoninérgico;
- A administração aguda do Se-TZ não alterou os marcadores bioquímicos de lesão hepática e renal (AST, ALT, uréia e creatinina);
- As atividades das enzimas antioxidantes CAT e GST aumentaram nas estruturas cerebrais analisadas, indicando que o Se-TZ desempenha um possível papel na atividade antioxidante;

6 PERSPECTIVAS

Verificar o efeito tipo antidepressivo do Se-TZ no tratamento crônico, através do teste de suspensão da cauda (TSC) e observar os efeitos comportamentais no teste do campo aberto (TCA) e no splash test em camundongos, após o estresse crônico imprevisível (ECI);

Investigar o possível papel protetor das enzimas antioxidantes glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST) em córtex cerebral e hipocampo, após administração crônica do Se-TZ em camundongos submetidos ao ECI;

Avaliar os efeitos da administração crônica do Se-TZ nos parâmetros de estresse oxidativo, como no dano em lipídeos e dano em proteínas em tecidos de córtex cerebral e hipocampo de camundongos submetidos ao ECI;

Analisar amostras de córtex cerebral e hipocampo após tratamento crônico com o Se-TZ em camundongos submetidos ao ECI, a fim de verificar os níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e do fator de crescimento neuronal (NGF).

Monitorar as principais alterações comportamentais dos camundongos operados (BO) e não operados (Sham) no teste de campo aberto (TCA), teste do objeto novo (TON), teste de gaiola nova (TGN), splash test e water maze (WM), com o intuito de observar se a bulbectomia olfatória (BO) induz alterações comportamentais, e se estas são revertidas pelo tratamento com o Se-TZ;

Investigar os efeitos de OB e Sham nos parâmetros bioquímicos de camundongos expostos de forma repetida ao Se-TZ ou fluoxetina, a fim de verificar os níveis séricos de corticosterona e glicose, bem como a atividade da acetilcolinesterase (AChE) em amostras de hipocampo e córtex cerebral, observando a capacidade que este tratamento tem de reverter possíveis alterações bioquímicas induzidas por BO;

REFERÊNCIAS

- ABDEL-WAHAB, B. A.; SALAMA, R. H. Venlafaxine protects against stress-induced oxidative DNA damage in hippocampus during antidepressant testing in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 100:59-65, 2011.
- ACKER, C. I.; LUCHESE, C.; PRIGOL, M.; NOGUEIRA, C. W. Antidepressant-like effect of diphenyldiselenide on rats exposed to malathion: involvement of Na⁺K⁺ATPase activity. *Neurosci. Lett.*, 455:168-172, 2009.
- ALVES, D.; REIS, J. S.; LUCHESE, C.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Synthesis of 3-alkynylselenophene derivatives by a copper-free sonogashira crosscoupling reaction. *Eur. J. Org. Chem.*, 2:377-382, 2008.
- ARCADI, A.; CACCHI, S.; FABRIZI, G.; MARINELLI, F.; MORO, L. Synthesis and in vitro and in vivo evaluation of the 2-(6-methoxy-3',4'-dihydro-1'-naphthyl)-4H-3,1-benzoxazin-4-one as a new potent substrate inhibitor of human leukocyte elastase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1432, 1999.
- ARTEEL, G. E.; SIES, H. The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 10:153-158, 2001.
- AZBILL, R. D.; MU, X. J.; BRUCEKELLER, A. J.; MATTSON, M. P.; SPRINGER, J. E. Impaired mitochondrial function, oxidative stress and altered antioxidant enzyme activities following traumatic spinal cord injury. *Brain Res.*, 765:283-290, 1997.
- BARLUENGA, J.; TRINCADO, M.; RUBIO, E.; GONZALEZ, J. M. IPy2BF4-promoted intramolecular addition of masked and unmasked anilines to alkynes: direct assembly of 3-iodoindole cores. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 42:2406-2409, 2003.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. F. *Química Medicinal: As Bases Moleculares de ação de Fármacos*, Artemed Editora, Porto Alegre - RS, 53, 2001.
- BAUNE, B. T.; MILLER, R.; MCAFOOSE, J.; JOHNSON, M.; QUIRK, F.; MITCHELL, D. The role of cognitive impairment in general functioning in major depression. *Psychiatry Res.*, 176:183-9, 2010.
- BEHNE, D.; HILMERT, H.; SCHEID, S.; GESSNER, H.; ELGER, W. Evidence for specific selenium target tissue and new biologically important selenoproteins. *Biochim. Biophys. Acta.*, 966:12-21, 1988.
- BEHNE, D.; KYRIAKOPOULOS, A. Identification of type I iodothyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 173:1143-1149, 1990.
- BEHR, G. A.; MOREIRA, J. C. F.; FREY, B. N. Preclinical and Clinical Evidence of Antioxidant Effects of Antidepressant Agents: Implications for the Pathophysiology of Major Depressive Disorder. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, Article ID 609421:13, 2012.
- BENTON, D.; COOK, R. The impact of selenium supplementation on mood. *Biol. Psychiatry.*, 29:1092-1098, 1991.
- BERK, M. Oxidative biology: new intervention opportunities in psychiatry. *Acta Neuropsychiatr.*, 19:259-60, 2007.
- BIENVENU, O. J.; DAVYDOW, D. S.; KENDLER, K. S. Psychiatric 'diseases' versus behavioral disorders and degree of genetic influence. *Psychol. Med.*, 41:33-40, 2011.

- BORGES, L. P.; NOGUEIRA, C. W.; PANATIERI, R. B.; ROCHA, J. B. T.; ZENI, G. Acute liver damage induced by 2-nitropropane in rats: Effect of diphenyl diselenide on antioxidant defenses. *Chem. Biol. Interact.*, 160:99-107, 2006.
- 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 actions in aging male rats. *Biogerontology*, 3:237-49, 2012.
- BREMNER, J. D.; RANDALL, P.; SCOTT, T. M.; BRONEN, R. A.; SEIBYL, J. P.; SOUTHWICK, S. M.; et al. MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related post-traumatic stress disorder. *Am. J. Psychiatry*, 152:973-981, 1995.
- BRHLIKOVA, P.; POLLOCK, A. M.; MANNERS, R. Global Burden of Disease estimates of depression how reliable is the epidemiological evidence? *J. R. Soc. Med.*, 104:25-34, 2011.
- BRÜNING, C. A.; SOUZA, A. C. G.; GAI, B. M.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W. Antidepressant-like effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in the mouse forced swimming test involves opioid and serotonergic systems. *Eur. J. Pharmacol.*, 658:145-9, 2011.
- 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.
- CAO, X.; YOU, Q.; LI, Z.; LIU, X.; XU, D.; GUO, Q.; et al. The design, synthesis and biological evaluation of 7-alkoxy-4-heteroaryl-amino-3-cyanoquinolines as dual inhibitors of c-Src and Inos. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 18:6206-6209, 2008.
- CASTANO, A.; AYALA, A.; RODRIGUEZ-GOMES, 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.
- CROOM, K. F.; PERRY, C. M.; PLOSKER, G. L. Mirtazapine: a review of its use in major depression and other psychiatric disorders. *CNS Drugs*, 23:427-52, 2009.
- CRYAN, J. F.; HOLMES, A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 4:775-90, 2005.
- CRYAN, J. F.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 29:547-69, 2005.
- CUMMINGS, J. L. The neuroanatomy of depression. *J. Clin. Psychiatry*, 11:14-20, 1993.
- CZEH, B.; PEREZ-CRUZ, C.; FUCHS, E.; FLUGGE, G. Chronic stress-induced cellular changes in the medial pre-frontal cortex and their potential clinical implications: does hemisphere location matter? *Behav. Brain Res.*, 190:1-13, 2008.
- DAILLY, E.; CHENU, F.; RENARD, C. E.; BOURIN, M. Dopamine, depression and antidepressants. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 18:601-607, 2004.
- D'AQUILA, P. S.; COLLU, M.; GESSA, G. L.; SERRA, G. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. *Eur. J. Pharmacol.*, 405:365-73, 2000.
- DAVIDSON, M. D.; ECHEVERRY, D. Collaborative care for depression and chronic illness. *N. Engl. J. Med.*, 364:1278, 2011.
- DAWSON, V. L.; DAWSON, T. M. Free radicals and neuronal cell death. *Cell Death and Differ.*, 3:71-78, 1996.

- DREVETS, W. C. Neuroimaging studies of mood disorders. *Biol. Psychiatry.*, 48:813-829, 2000.
- DREVETS, W. C.; PRICE, J. L.; SIMPSON, J. R.; TODD, R. D.; REICH, T.; VANNIER, M.; RAICHEL, M. E. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature.* 386:824–827, 1997.
- DUMAN, C. H. Models of Depression. *Hormones of the Limbic System Book Series: Vitam. and Horm. Series.*, 82:1-21, 2010.
- DUMAN, R. S.; MALBERG, J.; THOME, J. Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol. Psychiatry.*, 46:1181–1191, 1999.
- DUMONT, E.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 385:1304-1343, 2006.
- DUNLOP, B. W.; NEMEROFF, C. B. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. *Arch. Gen. Psychiatry.*, 64:327-37, 2007.
- ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 28:435-51, 2004.
- EREN, I.; NAZIROGLU, M.; DEMIRDAS, A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochem. Res.*, 32:1188–95, 2007.
- FINLEY, J. W., PENLAND, J. G. Adequacy or deprivation of dietary selenium in healthy men: clinical and psychological findings. *Journal Of Trace Elements In Experimental Medicine.*, 11, 1–27, 1998.
- FLOHÉ, L.; GUNZLER, W. A.; SCHOCK, H. H. Glutathione peroxidase: a selenium enzyme. *FEBS Lett.*, 32:132-134, 1973.
- FRAZER, A.; MORILAK, D. A. What should animal models of depression model? *Neurosci Biobehav. Rev.*, 29:515-523, 2005.
- FROKJAER, V. G.; VINBERG, M.; ERRITZOE, D.; SVARER, C.; BAARE, W.; BUDTZ-JOERGENSEN, E.; et al. High familial risk for mood disorder is associated with low dorsolateral prefrontal cortex serotonin transporter binding. *Neuroimage.*, 46:360-6, 2009.
- GAI, B. M.; STEIN, A. L.; ROEHR, J. A.; BILHERI, F. N.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Synthesis and antidepressant-like activity of selenophenes obtained via iron(III)–PhSeSePh-mediated cyclization of Z-selenoenynes. *Org. Biomol. Chem.*, 10:798, 2012.
- 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. *Neuropharmacol.*, 59:172–9, 2010.
- GERZSON, M. F. B.; VICTORIA, F. N. V.; RADATZ, C. S.; GOMES, M. G.; BOEIRA, S. B.; JACOB, R. G.; et al. In vitro antioxidant activity and in vivo antidepressant-like effect of α -(phenylselenanyl) acetophenone in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 102:21-9, 2012.
- GOODMAN, L. S., GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica.* 11^a ed. Rio de Janeiro, McGraw-Hill., 385-388, 2007.
- GOTLIB, I. H.; JOORMANN, J. Cognition and depression: current status and future directions. *Annu. Rev. Clin. Psychol.*, 27: 285-312, 2010.
- GOULD, E.; MCEWEN, B. S.; TANAPAT, P.; GALEA, L. A. M.; FUCHS, E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J. Neurosci.*, 17:2492–2498, 1997.

- GUADARRAMA-CRUZ, G.; ALARCON-AGUILAR, F. J.; LEZAMA-VELASCO, R.; VAZQUEZ-PALACIOS, G.; BONILLA-JAIME, H. Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *J. Ethnopharmacol.*, 120:277–281, 2008.
- HAIDER, S.; KHALIQ, S.; HALEEM, D. J. Enhanced serotonergic neurotransmission in the hippocampus following tryptophan administration improves learning acquisition and memory consolidation in rats. *Pharmacol. Rep.*, 59:53-7, 2007.
- HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet.*, 344:721-724, 1994.
- HALLIWELL, B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J. Neurochem.*, 97:1634-1658., 2006.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in Biology and medicine, fourth ed. Clarendon Press, Oxford Science Publications, Oxford/UK., 2007.
- HAMANI, C.; DIWAN, M.; MACEDO, C. E.; BRANDAO, M. L.; SHUMAKE, J.; et al. Antidepressant-like effects of medial prefrontal cortex deep brain stimulation in rats. *Biol. Psychiatry.*, 5:67:117-24, 2009.
- HAWKES, W. C.; HORNBOSTEL, L. Effects of dietary selenium on mood in healthy men living in a metabolic research unit. *Biol. Psychiatry.*, 39:121-8, 1996.
- HIRANO, S.; MIYATA, S.; ONODERA, K.; KAMEI, J. Involvement of dopamine D₁ receptors and α_1 -adrenoceptors in the antidepressant-like effect of chlorpheniramine in the mouse tail suspension test. *Eur. J. Pharmacol.*, 562:72-6, 2007.
- HOLMGREN, A. Thioredoxin. *Annu. Rev. Biochem.*, 54:237-271, 1985.
- HOLTZHEIMER, P. E.; NUMEROFF, C. B. Advances in the treatment of depression. *NeuroRx.*, 3:42-56, 2006.
- JESSE, C. R.; WILHELM, E. A.; BORTOLATTO, C. F.; NOGUEIRA, C. W. 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 biselenide in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 34:294-302, 2010.
- JOHNSON, I. T. New approaches to the role of diet in the prevention of cancers of the alimentary tract. *Mutat. Res.*, 551:9-28, 2004.
- JUANG, S. H.; LUNG, C. C.; HSU, P. C.; HSU, K. S.; LI, Y. C.; HONG, P. C.; et al. D- 501036, a novel selenophene-based triheterocycle derivative, exhibits potent in vitro and in vivo antitumoral activity which involves DNA damage and ataxia telangiectasia–mutated nuclear protein kinase activation. *Mol. Cancer Ther.*, 6:193-202, 2007.
- KENDLER, K. S.; KARKOWSKI, L. M.; PRESCOTT, C. A. Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *Am. J. Psychiatry.*, 156:837–841, 1999.
- KESSLER, R. C.; WANG, P. S. Epidemiology of depression. In: Gotlib, I.H., Hammen, C.L. (Eds.), *Handbook of Depression*. Guilford Press, New York, NY., 5-22, 2009.
- KIM, C. H.; WALDMAN I. D.; BLAKELY, R. D.; KIM, K. S. Functional gene variation in the human norepinephrine transporter: association with attention deficit hyperactivity disorder. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1129:256-60, 2008.
- KISS, J. P. Theory of active antidepressants: a nonsynaptic approach to the treatment of depression. *Neurochem. Int.*, 52:34–39, 2008.
- KITANAKA, N.; KITANAKA, J.; TAKEMURA, M. Modification of morphine-induced hyperlocomotion and antinociception in mice by clorgyline, a monoamine oxidase-A inhibitor. *Neurochem. Res.*, 31:829-37, 2006.

- KLAUKE, B.; DECKERT, J.; REIF, A.; PAULI, P.; DOMSCHKE, L. Life events in panic disorder-an update on "candidate stressors". *Depress. Anxiety.*, 27:716-730, 2010.
- KLIMEK, V.; SCHENCK, J. E.; HAN, H.; STOCKMEIER, C. A.; ORDWAY, G. A. Dopaminergic abnormalities in amygdaloid nuclei in major depression: a postmortem study. *Biol. Psychiatry.*, 52:740-8, 2002.
- KOLLA, N.; WEI, Z.; RICHARDSON, J. S.; LI, X. M. Amitriptyline and fluoxetine protect PC12 cells from cell death induced by hydrogen peroxide. *J. Psychiatry Neurosci.*, 30:196-201, 2005.
- KORNHUBER, J.; REICHEL, M.; TRIPAL, P.; GROEMER, T. W.; HENKEL, A. W.; MUHLE, C.; et al. The role of ceramide in major depressive disorder. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.*, 259:199-204, 2009.
- KRISHNAN, V.; NESTLER, E. J. The molecular neurobiology of depression. *Nature.*, 455:894-902, 2008.
- LAASONEN-BALK, T., KUIKKA, J., VIINAMAKI H., HUSSOSAASTAMOINEN, M., LEHTONEN, J., TIIHONEN, J. Striatal dopamine transporter de density in major depression. *Psychopharmacol.*, 144:282-285, 1999.
- LI, X. M.; CHLAN-FOURNEY, J.; JUORIO, A. V.; BENNETT, V. L.; SHRIKHANDE, S.; BOWEN, R. C. Antidepressants upregulate messenger RNA levels of the neuroprotective enzyme superoxide dismutase (SOD1). *J. Psychiatry. Neurosci.*, 25:43-7, 2000.
- LOBATO, K. R.; CARDOSO, C. C.; BINFARÉ, R. W.; BUDNI, J.; WAGNER, C. L. R.; BROCARD, P. S.; et al. "α- Tocopherol administration produces an antidepressant-like effect in predictive animal models of depression". *Behav. Brain Res.*, 209:249-59, 2010.
- MACQUEEN, G. M.; CAMPBELL, S.; MCEWEN, B. S.; MACDONALD, K.; AMANO, S.; JOFFE, R.T.; et al. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 1387-1392, 2003.
- MAES, M.; DE VOS, N.; PIOLI, R.; DEMEDTS, P.; WAUTERS, A.; NEELS, H.; et al. A. Lower serum vitamin E concentrations in major depression. Another marker of lowered antioxidant defenses in that illness. *J. Affect Disord.*, 58:241-6, 2000.
- MALETIC, V.; ROBINSON, M.; OAKES, T.; IYENGAR, S., BALL, S. G.; RUSSEL, J. Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. *Int. J. Clin. Pract.*, 12:2030-2040, 2007.
- MAO, Q. Q.; XIAN, Y. F.; IP, S. P.; CHE, C. T. Involvement of serotonergic system in the antidepressant-like effect of piperine. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 35:1144-1147, 2011.
- MCKINNEY, W. T JR.; BUNNEY, W. E JR. Animal model of depression. Review of evidence: implications for research. *Arch. Gen. Psychiatry.*, 21:240-248, 1969.
- MELLO, J.; DONNICI, C. L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, M. L. G.; et al. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. *Química Nova.*, 29:569-579, 2006.
- MILLAN, M. J. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant. *Eur. J. Pharmacol.*, 500:371-384, 2004.
- MORGAN, M. J.; KIM, Y. S.; LIU, Z. Lipid rafts and oxidative stress-induced cell death. *Antioxid. Redox Signal.*, 9:1471-1483, 2007.
- MOXON, A. L.; RHIAN, M. Selenium poisoning. *Physiol. Rev.*, 23:1305-337, 1943.

- MUGESH, G.; DU MONT, W. W.; SIES, H. Chemistry of biologically important Organoselenium compounds. *Chem. Rev.*, 101:2125-2179, 2001.
- MUSAZZI, L.; MILANESE, M.; FARISELLO, P.; ZAPPETTINI, S.; TARDITO, D.; et al. Acute stress increases depolarization-evoked glutamate release in the rat prefrontal/frontal cortex: the dampening action of antidepressants. *PLoS One.*, 5:e8566, 2010.
- NAKAMURO, K.; OKUNO, T.; HASEGAWA, T. Metabolism of Selenoamino Acids and Contribution of Selenium Methylation to Their Toxicity. *J. Health Sci.*, 46:418-421, 2000.
- NARRAJI, C.; KARVEKAR, M. D.; DAS, A. K. Biological importance of organoselenium compounds. *Indian J. Pharm. Sci.*, 69:344-351, 2007.
- NEMEROFF, C. B. The burden of severe depression: A review of diagnostic challenges and treatment alternatives. *J. Psychiatr. Res.*, 41:189-206, 2007.
- NESTLER, E. J.; BARROT, M.; DILEONE, R. J.; EISCH, A. J.; GOLD, S. J.; MONTEGGIA, L. M. Neurobiology of depression. *Neuron.*, 34:13-25, 2002
- NG, F.; BERK, M.; DEAN, O.; BUSH, A, I. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 11:851-76, 2008.
- NIKIFORUK, A.; GOŁEMBIOWSKA, K.; POPIK, P. Mazindol attenuates ketamine-induced cognitive deficit in the attentional set shifting task in rats. *European Neuropsychopharmacol.*, 20:37-48, 2010.
- NINOMIYA, M.; GARUDB, D. R.; KOKETSUA, M. Biologically significant selenium-containing heterocycles. *Coord. Chem. Rev.*, 255:2968-90, 2011.
- NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T. Diphenyl Diselenide a Janus-Faced Molecule. *J. Braz. Chem. Soc.*, 21:2055-2071, 2010.
- NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Organoselenium and organotellurium compounds. *Toxicology and pharmacology. Chem. Rev.*, 104, 6255-6285, 2004.
- O'LEARY, O. F.; BECHTHOLT, A. J.; CROWLEY, J. J.; HILL, T. E.; PAGE, M. E.; LUCKI, I. Depletion of serotonin and catecholamines block the acute behavioral response to different classes of antidepressant drugs in the mouse tail suspension test. *Psychopharmacol.*, 192:357-71, 2007.
- OLIVEIRA, C. E. S.; GAI, B. M.; GODOI, B.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W. The antidepressant-like action of a simple selenium-containing molecule, methyl phenyl selenide, in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 690:119-23, 2012.
- ONGUR, D.; DREVETS, W. C.; PRICE, J. L. Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95:13290 - 13295, 1998.
- PAPP, L. V.; LU, J.; HOLMGREN, A.; KHANNA, K. K. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid. Redox. Signal.*, 9:775-806, 2007.
- PARKER, G.; BROTHIE, H. Gender differences in depression. *Int. Rev. Psychiatry*, 22:429-436, 2010.
- PARNHAM, M. J.; GRAF, E. Pharmacology of synthetic organic selenium compounds. *Prog. Drug Res.* 36:10-47, 1991.
- PEROVIĆ, B.; JOVANOVIĆ, M.; MILJKOVIĆ, B.; VEZMAR, S. Getting the balance right: Established and emerging therapies for major depressive disorders. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.*, 6:343-64, 2010.
- PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Internal Pharmacodynamics and Therapeutics.*, 229:327-336, 1977.

- POSSER, T.; KASTER, M. P.; BARAÚNA, S. C.; ROCHA, J. B.; RODRIGUES, A. L. S.; LEAL, R. B. Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Eur. J. Pharmacol.*, 602:85-91, 2009.
- PRICE, J. L.; DREVETS, W. C. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacol.*, 35:192-216, 2010.
- PRIGOL, M.; BRÜNING, C. A.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W. Protective effect of disubstituted diaryl diselenides on cerebral oxidative damage caused by sodium nitroprusside. *Biochem. Eng. J.*, 45:94-9, 2009.
- RAYMAN, M. P. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *Br. J. Nut.*, 100:254-268, 2008.
- RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. *Lancet.*, 356:233-41, 2000.
- RAYMAN, M.; THOMPSON, A.; WARREN-PERRY, M.; GALASSINI, R.; CATTERICK, J.; HALL, E.; et al. Impact of Selenium on Mood and Quality of Life: A Randomized, Controlled Trial. *Biol. Psychiatry.*, 59:147-154, 2006.
- RÉUS, G. Z.; STRINGARI, R. B.; SOUZA, B.; PETRONILHO, F.; DAL-PIZZOL, F.; HALLAK, J. E.; et al. Harmine and imipramine promote antioxidant activities in prefrontal cortex and hippocampus. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 5:325-31, 2010.
- RHODEN, C. R. B., ZENI, G., 2011. New Development of Synthesis and Reactivity of Seleno and Tellurophenes. *Org. Biomol. Chem.*, 9:1301-1313, 2011.
- RISCH, S. C.; NEMEROFF, C. B. Neurochemical alterations of serotonergic neuronal systems in depression. *J. Clin. Psychiatry.*, 53:3-7, 1992.
- RODRIGUES, S. M.; LEDOUX, J. E.; SAPOLSKY, R. M. The influence of stress hormones on fear circuit. *Annu. Rev. Neurosci.*, 32:289-313, 2009.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ, E.; CAMACHO, A.; MALDONADO, P. D.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; SANTAMARIA, D.; GALVAN-ARZATE, S.; SANTAMARIA, A. Effect of quinolinic acid on endogenous antioxidants in rat corpus striatum. *Brain Res.*, 858:436-439, 2000.
- ROSSATO, J. I.; KETZER, L. A.; CENTURIÃO, F. B.; SILVA, S. J. N.; LÜDTKE, D. S.; ZENI, G.; et al. Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain. *Neurochem. Res.*, 27:297-303, 2002.
- SANTAMARÍA, A.; SALVATIERRA-SANCHEZ, R.; VAZQUEZ-ROMAN, B.; SANTIAGO-LOPEZ, D.; VILLEDA-HERNANDEZ, J.; GALVAN-ARZATES, S.; JIMENEZ-CAPDEVILLE, M. E.; ALI, S. F. Protective effects of the antioxidant selenium on quinolinic acid-induced neurotoxicity in rats: in vitro and in vivo studies. *J. Neurochem.*, 86:479-488, 2003.
- SANTOS, F. W.; ORO, T.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T.; NASCIMENTO, P. C.; NOGUEIRA, C. W. Cadmium induced testicular damage and its response to administration of succimer and diphenyl diselenide in mice. *Toxicol. Lett.*, 152, 255-263, 2004.
- SAPOLSKY, R. M. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: The current state of confusion. *Stress.*, 1:1-19, 1996.
- SARANDOL, A.; SARANDOL, E.; EKER, S.; ERDIN, S.; VATANSEVER, E.; KIRLI, S. 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.
- SATOH, T.; ISHIGE, K.; SAGARA, Y. Protective effects on neuronal cells of mouse afforded by ebselen against oxidative stress at multiple steps. *Neurosci. Lett.*, 371:1-5, 2004.

- SAVEGNAGO, L.; JESSE, C. R.; PINTO, L. G.; ROCHA, J. B.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Monoaminergic agents modulate antidepressant-like effect caused by diphenyl diselenide in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 31:1261-69, 2007.
- SAVEGNAGO, L.; JESSE, C. R.; PINTO, L.; ROCHA, J.; BARANCELLI, D.; NOGUEIRA, C.; et al. 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.
- SCATES, A. C.; DORAISWAMY, P. M. Reboxetine: a selective norepinephrine reuptake inhibitor for the treatment of depression. *Ann. Pharmacother.*, 34:1302-12, 2000.
- SCHWARTZ, K.; FOLTSZ, P. J. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.*, 79:200-214, 1957.
- SCHWEIZER, U.; BRAUER, A. U.; KOHRLE, J.; NITSCH, R.; SAVASKAN, N. E. Selenium and brain function: a poorly recognized liaison. *Brain Res. Rev.*, 45: 164-178, 2004.
- SEUS, N.; SARAIVA, M. T.; ALBERTO, E. E.; SAVEGNAGO, L.; ALVES, D. Selenium compounds in Click Chemistry: copper catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition of azidomethyl arylselenides and alkynes. *Tetrahedron.*, 68:10419-10425, 2012.
- SHANKMAN, S. A.; NELSON, B. D.; HARROW, M.; FAULL, R. Does physical anhedonia play a role in depression? A 20-year longitudinal study. *J. Affect. Disord.*, 120:170-176, 2010.
- SHELINE, Y. I.; WANG, P.; GADO, M. H.; CSERNANSKY, J. G.; VANNIER, M. W. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:3908-3913, 1996.
- SHER, L. Possible role of selenium deficiency in the neurobiology of depression and suicidal behavior in patients with alcohol use disorders. *Int. J. Disabil. Hum. Dev.*, 6:227-30, 2007.
- SHIAH, H. S.; LEE, W. S.; JUANG, S. H.; HONG, P. C.; LUNG, C. C.; CHANG, C. J.; et al. Mitochondria-mediated and p53-associated apoptosis induced in human cancer cells by a novel selenophene derivative, D-501036. *Biochem. Pharmacol.*, 73:610-619, 2007.
- STADTMAN, T. C. Selenium-dependent enzymes. *Annu. Rev. Biochem.*, 49: 93-110, 1980.
- STAZI, A. V.; TRINTI, B. Selenium deficiency in celiac disease: risk of autoimmune thyroid disease. *Minerva Med.*, 99:643-653, 2008.
- STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacol.*, 85:367-70, 1985.
- SULLIVAN, P. F.; NEALE, M. C.; KENDLER, K. S. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am. J. Psychiatry.*, 157:1552-1562, 2000.
- TAYLOR, C.; FRICKER, A. D.; DEVI, L. A.; GOMES, I. Mechanisms of action of antidepressants: from neurotransmitter systems to signaling pathways. *Cel. Signal.*, 17:549-557, 2005.
- THAM, M. W.; WOON, P. S.; SUM, M. Y.; LEE, T. S.; SIM, K. White matter abnormalities in major depression: Evidence from post-mortem, neuroimaging and genetic studies. *J. Affect. Disord.*, 132:26-36, 2010.

- THIERRY, B.; STERU, L.; CHERMAT, R.; SIMON, P. Searching-waiting strategy: a candidate for an evolutionary model of depression? *Behav. Neural. Biol.*, 41:180-189, 1984.
- TINGGI, U. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicol. Lett.*, 137:103-110, 2003.
- TSUBOI, H.; TATSUMI, A.; YAMAMOTO, K.; KOBAYASHI, F.; SHIMOI, K.; KINAE, N. Possible connections among job stress, depressive symptoms, lipid modulation and antioxidants. *J. Affect Disord.*, 91:63-70, 2006.
- URSINI, F.; BINDOLI, A. The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes. *Chem. Phys. Lipids.*, 44:255-276, 1987.
- URSINI, F.; HEIM, S.; KIESS, M.; MAIORINO, M.; ROVERI, A.; WISSING, J.; FLOHÉ, L. Dual function of seleno-protein PHGPx during sperm maturation. *Sci.*, 285:1393-1396, 1990.
- VAGO, D. R.; EPSTEIN, J.; CATENACCIO, E.; STERN, E. Identification of neural targets for the treatment of psychiatric disorders: the role of functional neuroimaging. *Neurosurg. Clin. N. Am.*; 22:279-305, 2011.
- VAN DER FELTZ-CORNELIS, C. M.; NUYEN, J.; STOOP, C.; CHAN, J.; JACOBSON, A. M.; KATON, W.; et al. Effect of interventions for major depressive disorder and significant depressive symptoms in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Gen. Hosp. Psychiatry.*, 32:380-395, 2010.
- WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: a critical review. *Psychol. Bull.*, 83: 482-504, 1976.
- WHO. Depression. World Health Organization. 2011 [cited 2011 Apr 12] Available from http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/
- WILHELM, E. A.; JESSE, C. R.; BORTOLATTO, C. F.; BARBOSA, N. B.; NOGUEIRA, C. W. Evidence of the involvement of K⁺ channels and PPAR γ receptors in the antidepressant-like activity of diphenyl diselenide in mice. *J. Pharm. Pharmacol.*, 62:1121-1127, 2010.
- WILHELM, E. A.; JESSE, C. R.; BORTOLATTO, C. F.; NOGUEIRA, C. W.; SAVEGNAGO, L. Anticonvulsant and antioxidant effects of 3-alkynyl selenophene in 21-day-old rats on pilocarpine model of seizures. *Brain Res. Bull.*, 79:281-287, 2009a.
- WILHELM, E. A.; JESSE, C. R.; BORTOLATTO, C. F.; NOGUEIRA, C. W.; SAVEGNAGO, L. Antinociceptive and anti-allodynic effects of 3-alkynyl selenophene on different models of nociception in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 93:419-425, 2009b.
- WILHELM, E. A.; JESSE, C. R.; PRIGOL, M.; ALVES, D.; SCHUMACHER, R. F.; NOGUEIRA, C. W. 3-Alkynyl selenophene protects against carbon-tetrachloride-induced and 2 nitropropane-induced hepatic damage in rats. *Cell Biol. Toxicol.*, 26:569-577, 2010.
- WILHELM, E. A.; JESSE, C. R.; ROMAN, S. S.; NOGUEIRA, C. W.; SAVEGNAGO, L. Hepatoprotective effect of 3-alkynyl selenophene on acute liver injury induced by D galactosamine and lipopolysaccharide. *Exp. Mol. Pathol.*, 87:20-26, 2009c.
- WILLIAMS, J. W.; KERBER, C. A.; MULROW, C. D.; MEDINA, A.; AGUILAR, C. A. Depressive disorders in primary care: prevalence, functional disability, and identification. *J. Gen. Intern. Med.*, 10:7-12, 1995.

- WILLNER, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiol.*, 52:90-110, 2005.
- WILLNER, P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacol. (Berl.)*, 134:319-29, 1997.
- WILLNER, P.; MITCHELL, P. J. The validity of animal models of predisposition to depression. *Behav. Pharmacol.*, 13:169-188, 2002.
- WITZTUM, J. L. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet.*, 344:793-795, 1994.
- WONG, D. T.; PERRY, K. W.; BYMASTER, F. P. The discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nat. Rev. Drug Discov.*, 4:764-774, 2005.
- WONG, M.; LICINIO, J. Research and treatment approaches to depression. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2:343-351, 2001.
- XU, J. H.; HU, H. T.; LIU, Y.; QIAN, Y. H.; LIU, Z. H.; TAN, Q. R.; ZHANG, Z. J. Neuroprotective effects of ebselen are associated with the regulation of Bcl-2 and Bax proteins in cultured mouse cortical neurons. *Neurosci. Lett.*, 399:210-214, 2006.
- YUE, D.; YAO, T.; LAROCK, R. C. Syntheses of isochromenes and naphthalenes by electrophilic cyclization of acetylenic arenecarboxaldehydes. *J. Org. Chem.*, 71:3381-3388, 2006.
- ZAFIR, A.; ARA, A.; BANU, N. In vivo antioxidant status: a putative target of antidepressant action. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 33:220-8, 2009.

ANEXO A – Protocolo de aprovação do projeto pelo CEUA-UNIPAMPA

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
(Lei nº 11.606, de 11 de junho de 2008)

Pró-Reitoria de Pesquisa

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Fone: (55) 3433-4321, E-mail: ceua@unipampa.edu.br

PROTOCOLO Nº 027/2012

Título: ESTUDO DOS EFEITOS ANTIOXIDANTE E ANTIDEPRESSIVO DE SELENOTRIAZÓIS

Pesquisador: Cristiano Ricardo Jesse e Franciele Donato

Campus: Itaqui

Telefone: (55) 3433-1669

E-mail: cristianoricardojesse@yahoo.com.br / francieledonato@gmail.com

Após a análise detalhada do projeto de pesquisa a relatoria da CEUA-Unipampa emite parecer **FAVORÁVEL** para o cadastro do protocolo e execução do referido projeto.

Luiz E. Henkes
Professor Adjunto
Coordenador do CEUA/Unipampa

ANEXO B – Carta de confirmação da submissão do artigo à revista “European Journal of Pharmacology”

De: The European Journal of Pharmacology <ejp-office@pharm.uu.nl>

Para: luciellisavegnago@yahoo.com.br

Enviadas: Segunda-feira, 17 de Dezembro de 2012 15:54

Assunto: Submission Confirmation for Evidence for the involvement of the dopaminergic and serotonergic systems in the antidepressant-like caused by 4-phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole in mice

Dear Dr Lucielli Savegnago,

Your submission entitled "Evidence for the involvement of the dopaminergic and serotonergic systems in the antidepressant-like caused by 4-phenyl-1-(phenylselanylmethyl)-1,2,3-triazole in mice" has been received by journal European Journal of Pharmacology

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/ejp/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

European Journal of Pharmacology

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.