

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Gregory Klein Schneider

EFEITO DA MOXIDECTINA SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO
DEPRESSIVO E ANSIOSO EM CAMUNDONGOS SWISS

Santa Maria, RS
2024

Gregory Klein Schneider

EFEITO DA MOXIDECTINA SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO E
ANSIOSO EM CAMUNDONGOS SWISS

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado do Programa de Pós-Graduação
em Farmacologia, Área de Concentração
em Neuropsicofarmacologia e
Imunofarmacologia, da Universidade
Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como
requisito parcial para aprovação obtenção
do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof.^a. Dr.^a. Eliane Maria Zanchet
Coorientador: Prof. Dr. Valério Valdetar Marques Portela Júnior

Santa Maria, RS
2024

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Schneider, Gregory Klein
EFEITO DA MOXIDECTINA SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO E ANSIOSO EM CAMUNDONGOS SWISS / Gregory Klein Schneider.-2024.
97 p.97; 30cm

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Eliane Maria Zanchet
Coorientador: Prof. Dr. Valério Valdetar Marques Portela Júnior
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Santa Maria, RS, 2024.

1. Depressão 2. Moxidectina I. Zanchet, Eliane Maria II. Portela, Valério Valdetar Marques III. Título

Declaro, GREGORY KLEIN SCHNEIDER, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Gregory Klein Schneider

EFEITO DA MOXIDECTINA SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO E
ANSIOSO EM CAMUNDONGOS SWISS

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado do Programa de Pós-Graduação
em Farmacologia, Área de Concentração
em Neuropsicofarmacologia e
Imunofarmacologia, da Universidade
Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como
requisito parcial para aprovação obtenção
do título de Mestre em Farmacologia.

Aprovado em agosto de 2024:

Eliane Maria Zanchet, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Roselei Fachinetto, Dr. (UFSM)

Alencar Kolinski Machado, Dr. (UFN)

Santa Maria, RS
2024

To Juan. My light.

“Apenas que... busquem conhecimento”

E. T. Bilu

RESUMO

EFEITO DA MOXIDECTINA SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO E ANSIOSO EM CAMUNDONGOS SWISS

AUTOR: Gregory Klein Schneider

ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Eliane Maria Zanchet

COORIENTADOR: Prof. Dr. Valério Valdetar Marques Portela Júnior

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) afeta cerca de 6% da população, porém sua patofisiologia e farmacoterapia permanecem mal elucidados. Antidepressivos monoaminérgicos têm como principal mecanismo de ação a interferência no metabolismo e recaptação de monoaminas. Estes fármacos consistentemente diminuem sintomas graves em pacientes, mas sua taxa de sucesso clínico é inferior a 67%. Além disso, esses medicamentos levam semanas para apresentarem efeitos. Logo, a descoberta de novos alvos farmacológicos, bem como novos possíveis tratamentos, têm sido explorados visando melhora prognóstica. Nesse contexto, a moxidectina, um fármaco originalmente endectocida, tem mostrado atividade antidepressiva em ratos. Seu mecanismo de ação, especula-se, está relacionado à modulação alostérica positiva de receptores GABA_A e ativação de receptores P2X₄, nicotínicos $\alpha 7$ e glicina. Assim, os objetivos deste estudo foram a escrita de uma revisão bibliográfica sobre a literatura de 2013 a 2023 a respeito das características da moxidectina como neuromodulador; e investigar o potencial efeito antidepressivo e ansiolítico de uma única dose de moxidectina (1,5 mg/kg) em camundongos Swiss machos, bem como seu efeito sobre marcadores oxidativos e moleculares. A avaliação dos comportamentos tipo depressivo-ansioso foram efetuados pelos testes de suspensão da cauda (TST), splash (SPT), labirinto em cruz elevada (EPM) e campo aberto (OFT), que revelaram diminuição do comportamento do tipo depressivo, representado por menor tempo de imobilidade no TST e maior tempo de grooming no SPT, e ansiogênese, representada por maior tempo no centro no OFT. Para melhor elucidar as bases biológicas das mudanças comportamentais observadas, testes oxidativos demonstraram aumento da Glutathione S-transferase (GST) e capacidade antioxidante total (TAC) no córtex pré-frontal e diminuição de GST no hipocampo dos animais, sem alteração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O rt-PCR demonstrou aumento de RNAm de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) no córtex. Os resultados apresentados neste trabalho demonstram que a literatura consistentemente traz a moxidectina como capaz de induzir melhora em modelos animais de neuropsicopatologias, possui perfil toxicológico favorável e, em nosso protocolo, uma única dose de moxidectina foi capaz de reduzir o comportamento tipo-depressivo em camundongos sem alterar os parâmetros oxidativos de forma deletéria, além de induzir aumento de mRNA de BDNF no tecido neural. São resultados promissores que estimulam a continuidade do estudo da moxidectina como um possível novo composto no tratamento do TDM.

Palavras-chave: Depressão. Reposicionamento Farmacológico. Moxidectina. Modulador alostérico. BDNF.

ABSTRACT

THE EFFECT OF MOXIDECTIN ON THE DEPRESSIVE AND/OR ANXIOUS BEHAVIOR OF SWISS MICE

AUTHOR: Gregory Klein Schneider

ADVISOR: Prof.^a. Dr.^a. Eliane Maria Zanchet

CO-ADVISOR: Prof. Dr. Valério Valdetar Marques Portela Júnior

Major Depressive Disorder (MDD) affects approximately 6% of the population, but its pathophysiology and pharmacotherapy remain poorly elucidated. Monoaminergic antidepressants have as their main mechanism of action interference with the metabolism and reuptake of monoamines. These drugs consistently ameliorate severe symptoms in patients, but their clinical success rate is less than 67%. Furthermore, these drugs may take weeks to show effect. Therefore, the discovery of new pharmacological targets, as well as new possible treatments, have been explored with the aim of improving prognosis. In this context, moxidectin, an originally endectocidal drug, has shown antidepressant activity in rats. Its mechanism of action is speculated to be related to the positive allosteric modulation of GABA_A receptors and activation of P2X₄, nicotinic $\alpha 7$ and glycine receptors. Thus, the objectives of this study are to compose a bibliographic review on the literature spanning 2013 to 2023 regarding the characteristics of moxidectin as a neuromodulator; and investigate the potential antidepressant and anxiolytic effect of a single dose of moxidectin (1.5 mg/kg) in male Swiss mice, as well as its effect on oxidative stress markers and molecular parameters. The assessment of depressive-anxious-type behaviors was carried out using the tail suspension (TST), splash (SPT), elevated plus maze (EPM) and open field (OFT) tests, which revealed a decrease in depressive-type behavior, represented by shorter immobility time in TST and longer grooming time in SPT, and anxiogenesis, represented by longer time spent in the center in OFT. To better elucidate the biological basis of the observed behavioral changes, oxidative tests assays demonstrated an increase in Glutathione S-transferase (GST) and total antioxidant capacity (TAC) in the prefrontal cortex and a decrease in GST in the hippocampus of the animals, without changes in substances reactive to the thiobarbituric acid (TBARS). rt-PCR demonstrated an increase in Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) mRNA in the cortex. The results presented in this work demonstrate that the literature consistently presents moxidectin as capable of inducing improvement in the behavior of animal submitted to models of neuropsychopathologies, has a favorable toxicological profile and, in our protocol, a single dose of moxidectin was able to reduce depressive-like behavior in mice without negatively impacting oxidative stress parameters, in addition to inducing an increase in BDNF mRNA in neural tissue. These are promising results that encourage the continuation of the study of moxidectin as a possible new compound in the treatment of MDD.

Keywords: Depression. Drug repurposing. Moxidectin. Allosteric Modulator. BDNF.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
EPM	Teste de Labirinto em Cruz Elevado
ERN	Espécie Reativa de Nitrogênio
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GDNF	Fator Neurotrófico Derivado de Células Gliais
GST	Glutathione S-transferase
HPA	Pituitária-Hipotálamo-Adrenal
IL	Interleucina
IMAO	Inibidores da Monoamina Oxidase
IRSN	Inibidores da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina
ISRS	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina
LPS	Lipopolissacarídeo
MAO-A	Monoamino oxidase A
MAO-B	Monoamino oxidase B
NGF	Fator de Crescimento Neurotrófico
NMDA	Receptor N-metilaspártato
OFT	Teste de Campo Aberto
RNAm/mRNA	Ácido Ribonucleico Mensageiro
rt-PCR	Reação de Transcriptase Reversa Seguida de Reação em Cadeia da Polimerase

SNC/CNS	Sistema Nervoso Central
SPT	Teste de Splash
TAC	Capacidade Antioxidante Total
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TDM/MDD	Transtorno Depressivo Maior
TGF	Fator de Crescimento Transformativo
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TST	Teste de Suspensão da Cauda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR.....	14
2.1.1	Epidemiologia	14
2.1.2	Diagnóstico	15
2.1.3	Fisiopatologia do TDM	16
2.1.3.1	Hipótese Monoaminérgica.....	16
2.1.3.2	Hipótese do Eixo HPA.....	18
2.1.3.3	Hipótese inflamatória.....	19
2.1.3.4	Hipótese Neurotrófica.....	21
2.1.3.5	Hipótese Estresse Oxidativo.....	22
2.1.3.6	Hipótese Glutamatérgica.....	23
2.1.3.7	Alteração da modulação alostérica positiva de GABA-A.....	24
2.2	FARMACOTERAPIA	26
2.2.3	Modulação Monoaminérgica	26
2.2.4	Novas Terapias	29
2.2.4.1	Ketamina.....	29
2.2.4.2	Psicodélicos.....	31
2.2.5	Reposicionamento Farmacológico	33
2.2.6	Lactonas Macrocíclicas	33
3	OBJETIVOS	35
3.1	OBJETIVO GERAL.....	35
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
4	MANUSCRITO	36
4.1	MANUSCRITO 1.....	36
4.2	MANUSCRITO 2.....	60
5	CONCLUSÕES	88

1 INTRODUÇÃO

A depressão, denominada oficialmente Transtorno Depressivo Maior (TDM) é um transtorno psiquiátrico devastador que afeta cerca de 3,8% da população mundial. No Brasil, o Rio Grande do Sul é o estado com a maior porcentagem de casos, 17,9% (BRITO et al., 2022). É um transtorno afetivo ou do humor que envolve funções orgânicas, humor e pensamento, sendo caracterizado, principalmente, por sentimentos de tristeza, ansiedade, culpa, baixa auto-estima, distúrbios do sono e do apetite, fadiga, dificuldade de concentração e outros sintomas que podem durar semanas, meses ou anos (DEAN; KESHAVAN, 2017). É deletério não somente ao paciente e seus entes queridos, mas também é reconhecido como problema de saúde pública (BRITO et al., 2022). O distúrbio pode ser decorrente do consumo de drogas, condições clínicas, em resposta a estressores psicossociais ou até mesmo idiopático. Várias hipóteses tentam explicar os mecanismos moleculares e celulares da depressão, incluindo a teoria monoaminérgica, desregulação do eixo hipófise-pituitária-adrenal, envolvimento do sistema neurotrófico, imune/inflamatório, estresse oxidativo e a glutamatérgica (PLANCHEZ; SURGET; BELZUNG, 2019; ZHAO et al., 2008). Mais recentemente a alteração da microbiota intestinal, também conhecida como disbiose, tem se mostrado de suma importância na saúde mental. Diversas patologias neuropsiquiátricas, do desenvolvimento e neurodegenerativas já demonstraram alguma relação com a disbiose, como o TDM, doença de Parkinson, transtorno do espectro autista, esclerose lateral amiotrófica, doença de Alzheimer e até mesmo alguns cânceres do sistema nervoso central, como o glioma (FAN et al., 2022b; IWANIAK; OWELARSSON; URBANÁSKA, 2024; LI et al., 2023; NOOR EDDIN et al., 2024; PEDDINTI et al., 2024).

Várias linhas de evidência suportam a teoria de que há correlação entre estresse e sintomas depressivos (DANESE et al., 2007). Assim, alguns modelos animais expõem os mesmos a situações de estresse agudo ou crônico, como por exemplo os protocolos de estresse crônico moderado, estresse crônico de contenção, estresse derrota social crônica, estresse moderado imprevisível crônico, estresse imprevisível crônico, e modelos de separação materna. Tais modelos induzem mudanças comportamentais, emocionais e cognitivas em animais que mimetizam sintomas da depressão em humanos (POCHWAT et al., 2022). Porém, alguns modelos recapitulam outras possíveis causas para o transtorno, induzindo alterações que podem participar da fisiopatologia da depressão e, portanto, ao induzir tais alterações, é possível mimetizar o comportamento depressivo em animais. Tais modelos são a exposição ao lipopolissacarídeo (LPS), corticosterona, modelos genéticos, manipulações optogênicas e

bulbectomia (BELZUNG; WILLNER; PHILIPPOT, 2015; PLANCHEZ; SURGET; BELZUNG, 2019). A indução de disbiose com antibióticos, como a clindamicina, e associações de antibióticos também é utilizada para indução do comportamento do tipo depressivo (BIRMANN et al., 2023; FAN et al., 2022a, 2022b). Não incomum em literatura, também, são avaliações pré-clínicas de fármacos antidepressivos sem a utilização de qualquer estressor nos animais (ELERSIČ et al., 2024; HIROAKI-SATO et al., 2014; MALIKOWSKA-RACIA et al., 2023; PIGNATARO et al., 2022).

Apesar da ampla gama de medicamentos antidepressivos disponíveis, 30 a 60% dos pacientes não respondem ao tratamento. A taxa de remissão é inferior a 50%, e a taxa de recorrência em 10 anos supera 85% (ROOHI; JAAFARI; HASHEMIAN, 2021). Estes números demonstram a real necessidade de pesquisa não somente sobre a patofisiologia deste distúrbio como também sobre o desenvolvimento de novos compostos antidepressivos.

Junto ao desenvolvimento de novos medicamentos e métodos de tratamento, o reposicionamento de compostos de outros usos têm ganhado espaço na pesquisa farmacológica. O reposicionamento de fármacos é muitas vezes mais rápido e barato do que o desenvolvimento de novos compostos, pois sua farmacocinética e farmacodinâmica já é parcialmente conhecida e o acesso aos compostos facilitado (JARADA; ROKNE; ALHAJJ, 2020). Na última década, artigos vêm apontando os efeitos positivos de lactonas macrocíclicas, principalmente moxidectina e ivermectina, sobre o transtorno de abuso do álcool e nicotina em ratos e camundongos (HUYNH et al., 2017; YUNUSOĞLU et al., 2021) e sobre os efeitos antidepressivos da moxidectina em ratos Wistar-Kyoto (GETACHEW et al., 2019; GETACHEW; TIZABI, 2019). Nestes estudos, a moxidectina apresentou ação antidepressiva demonstrada por menor tempo de imobilidade no teste de nado forçado além de ser capaz de aumentar os níveis de BDNF e de reduzir a interleucina TNF- α no SNC dos animais em uma única dose, além de modular positivamente a biota gastrointestinal em protocolo de 7 dias. Porém, o efeito antidepressivo da mesma ainda não foi estudado em camundongos, nem seu impacto em fatores oxidativos, o que pode estar envolvido na ação antidepressiva da mesma.

Desta forma, neste projeto de pesquisa, primeiramente efetuamos uma revisão bibliográfica sobre o conhecimento da ação neuromoduladora da moxidectina publicado entre 2013 e 2023. Em seguida, avaliamos o efeito de uma única dose da mesma sobre o comportamento tipo depressivo e ansioso de camundongos Swiss, bem como seu efeito sobre parâmetros oxidativos e moleculares.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

2.1.1 Epidemiologia

O TDM é a psicopatologia com maior impacto na quantidade de anos vividos sem deficiências no mundo, superando doenças neurológicas e outros distúrbios como abuso de substâncias. As consequências deste distúrbio sem tratamento ou com tratamento precário são imensas para os pacientes e todos ao seu redor (MURROUGH; ABDALLAH; MATHEW, 2017).

O TDM afeta mais o sexo feminino, numa proporção de duas a três vezes maior do que o sexo masculino. Também é um dos transtornos mentais com maior risco de suicídio (DEAN; KESHAVAN, 2017; SEEDAT et al., 2009). No mundo, mais de 700 mil pessoas perecem ao suicídio por ano, e grande parte destes se deve a problemas de saúde mental (WHO, 2024a).

Atualmente, estima-se que 3,8% da população mundial experiencie alguma forma de depressão, cerca de 5% da população adulta e 5,7% da população com mais de 60 anos, totalizando cerca de 280 milhões de pessoas. Mais de 75% destes, principalmente residentes de países de baixa e média renda, não recebem qualquer tipo de tratamento ou acompanhamento médico (WHO, 2024b).

Uma pesquisa sobre a prevalência de depressão autorreferida no Brasil em 2019 reportou que um em cada 10 adultos referiu já ter recebido o diagnóstico de depressão na vida. O Rio Grande do Sul foi o estado campeão em taxa de adultos deprimidos, com estimada 17,9% da população, em contraste com o Pará, que apresentou 4,1%. Em dados nacionais, 14,7% das mulheres reportaram já ter recebido diagnóstico, em comparação a 5,1% dos homens. O distúrbio parece afetar mais os brancos, 12,5%, do que pretos e pardos, com 8,6%. Pessoas em áreas urbanas também reportaram maiores taxas de depressão do que moradores de áreas rurais, 10,7% e 7,6%. Quanto a nível de instrução, pessoas com Superior Completo apresentaram a maior taxa, 12,2% (BRITO et al., 2022). Este estudo, porém, sugere que estes dados não necessariamente refletem a real saúde mental dos entrevistados, mas possam estar relacionados ao acesso à saúde, pois áreas com menor acesso a atendimento médico e menor desenvolvimento socioeconômico consistentemente possuíam menores taxas de diagnóstico. Ademais, grande parte dos pacientes que relataram possuir diagnóstico de depressão o adquiriram em estabelecimentos de saúde privados, demonstrando novamente a alta fragilidade

ao acesso equitativo a serviços de saúde mental disponíveis à população nacional (BRITO et al., 2022).

2.1.2. Diagnóstico

Segundo o DSM-5-TR (Manual Diagnóstico e Estatístico de Distúrbios Mentais, quinta edição, revisão textual, 2022) os critérios diagnósticos para o TDM são cinco ou mais dos sintomas presentes consistentemente durante duas ou mais semanas de forma que representem mudanças ao estado prévio do paciente. Um dos sintomas deve obrigatoriamente ser humor deprimido e/ou anedonia, a perda de prazer e/ou interesse em prazer. Notadamente, não se deve incluir sintomas desencadeados por outras patologias comórbidas. Os sintomas devem ser clinicamente relevantes e/ou atrapalhar a vida do paciente no âmbito profissional, social ou ocupacional. A seguir serão citados estes sintomas:

1. Humor deprimido o dia todo ou em maior parte dele
2. Marcada diminuição ou interesse em prazer em quase todas as atividades diárias quase todos os dias
3. Significativo ganho ou perda de peso sem intencionalidade
4. Insônia ou hipersonia todos ou quase todos os dias
5. Agitação ou retardo psicomotor
6. Fadiga ou baixa energia
7. Sentimentos de baixa auto estima e culpa excessiva ou inapropriada
8. Dificuldades em concentração e em fazer escolhas
9. Recorrentes pensamentos sobre morte e ideação suicida, com ou sem planos

Deve-se considerar que eventos adversos na vida, como perda de entes queridos, desastres naturais ou de natureza financeira podem levar a comportamentos semelhantes. Cabe ao clínico saber diferenciar. Para caracterizar-se o TDM, deve-se obrigatoriamente não haver ocorrido episódio maníaco ou hipomaníaco anteriormente, salvo quando desencadeado por medicamentos ou outras patologias.

O TDM não possui código de diagnóstico único. Este varia de acordo com a recorrência ou não do mesmo, intensidade dos sintomas, presença de características psicóticas e status de remissão. Algumas subcategorias são: leve, moderado, intenso, em remissão parcial ou total, associado a ansiedade, com características melancólicas, características atípicas, características

psicóticas congruentes ou não com o humor, com catatonia, periparto, sazonal, recorrente, entre outros.

2.1.3 Fisiopatologia do TDM

O TDM é um distúrbio multifacetado e heterogêneo. Também é altamente comórbido a outras patologias, como transtornos de ansiedade, diabetes tipo 2, doenças neurológicas como doença de Parkinson, epilepsia e demência, síndrome do intestino irritável, câncer e outros (YANG et al., 2015).

Sua patofisiologia, no entanto, ainda é altamente elusiva. Diversas hipóteses são propostas para o entendimento do TDM, onde diferentes sistemas neurais parecem estar envolvidos na neurobiologia e neuroquímica deste transtorno. Nota-se que estas hipóteses não devem ser tomadas como opostas e sim complementares. Muitos autores desestimulam a procura de uma “teoria unificada” do TDM, assim como genuínos “genes da depressão” também não foram identificados até o momento (KRISHNAN; NESTLER, 2008). Especula-se que o TDM pode também estar sendo utilizado como termo generalista para algumas patologias hoje em dia agrupadas pela semelhança sintomática, como SUNESON et al., 2021, por exemplo, discute sobre a “depressão inflamatória”, o TDM com marcado papel do sistema imune. Este perfil, porém, não é universal. Há a possibilidade do TDM ser futuramente subdividido em diversos subtipos, potencialmente causados por etiologias distintas, possibilitando tratamentos mais personalizados aos pacientes (LYNCH; GUNNING; LISTON, 2020).

Abaixo discutiremos as principais hipóteses sobre a patofisiologia do TDM.

2.1.3.1 Hipótese Monoaminérgica

Como monoaminas, entende-se quatro compostos essenciais para o funcionamento adequado do SNC: adrenalina (A), noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e dopamina (DA). Em meados de 1950, foi observado que fármacos que depletam estas monoaminas como a reserpina, um fármaco antipsicótico e anti-hipertensivo, causavam sintomas similares à depressão (SCHILDKRAUT, 1965). Em 1957 a iproniazida, um inibidor da enzima monoaminoxidase utilizada no tratamento da tuberculose, é relatada como tendo levado a melhora de distúrbios mentais de 11 dos 13 pacientes tratados (CRANE, 1957). A primeira hipótese sobre a patofisiologia do TDM foi popularizada por Schildkraut em 1965, onde postula

“A ‘hipótese catecolaminérgica de afecções afetivas’ propõe que algumas, senão todas, depressões estão associadas com a absoluta ou relativa diminuição de catecolaminas, particularmente noradrenalina, disponível nos receptores adrenérgicos centrais”¹. Apesar de Schildkraut na mesma publicação reconhecer que “não é possível definitivamente confirmar ou rejeitar esta hipótese com base nos dados atualmente disponíveis”¹, esta teoria ganhou marcada disseminação popular a ponto de que, quando Moncrieff, 2023, afirmou “Não há evidência convincente que a depressão é causada por, ou associada a, diminuída concentração ou atividade serotoninérgica”¹. Seu artigo ganhou a mídia popular, sendo publicado em jornais voltados ao público, como The Guardian, The Times, Independent, Sky News, The Telegraph e outros, como sendo altamente impactante na pesquisa neuropsiquiátrica. Portanto, como revisado por Moncrieff, não existem evidências empíricas convincentes que correlacionam os níveis de monoaminas cerebrais a o TDM. A depleção monoaminérgica experimental em humanos já foi demonstrada como capaz de levar a leve piora do humor em pacientes deprimidos, mas não causou alterações em controles saudáveis (KRISHNAN; NESTLER, 2008).

Mesmo assim, a teoria monoaminérgica ainda é a base da maior parte do tratamento farmacológico contemporâneo dos transtornos de humor. A alta taxa de recorrência e baixa taxa de sucesso deste tipo de tratamento sugere que a teoria monoaminérgica é no mínimo incompleta. Não seria prudente descartar completamente esta hipótese, pois cerca de 70% dos pacientes apresentam algum tipo de resposta, mesmo que insatisfatória, a este tipo de terapia (ADZIC et al., 2018).

O tratamento de reposicionamento monoaminérgico (ver mais em 2.2.1) leva ao aumento imediato dos níveis de monoaminas. Porém, efeitos comportamentais só são observados após semanas de tratamento. Esta latência entre o início do tratamento e aparecimento de melhora clínica é explicada por outros autores como devida a interferência nos mecanismos auto reguladores pré-sinápticos presentes nos neurônios monoaminérgicos e por outras alterações no circuito neural pós-sináptico. O tratamento agudo leva a retroalimentação inibitória aguda por meio da ativação dos auto-receptores nos neurônios serotoninérgicos e noradrenérgicos. Isso leva a diminuição aguda da síntese e liberação desses neurotransmissores, possivelmente explicando a aparição de efeitos colaterais antes da resposta clínica. A longo prazo estes auto-receptores sofrem dessensibilização, levando ao aumento da transmissão

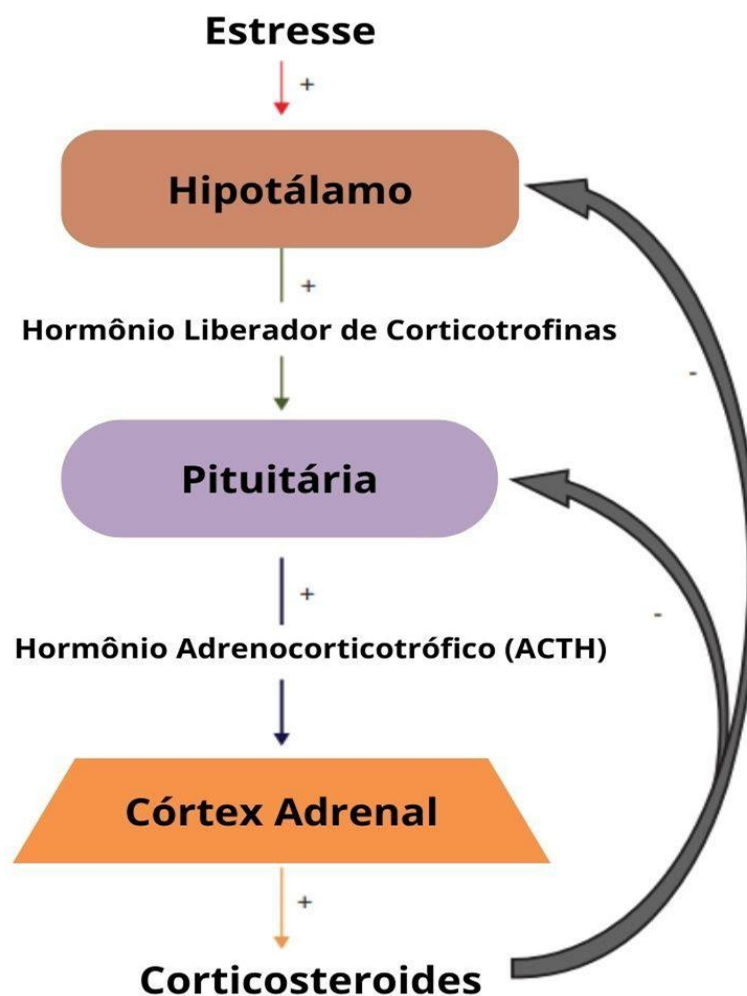
¹ Tradução nossa.

serotoninérgica e noradrenérgica, levando a melhora clínica (GOLAN, 2012; KRISHNAN; NESTLER, 2008).

2.1.3.2 Hipótese do Eixo HPA

Eventos estressantes parecem estar altamente associados ao início dos sintomas do TDM. Estes efeitos, teoriza-se, podem estar associados à disfunção do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), responsáveis pelo controle do cortisol sérico (Figura 1). O nível de cortisol, corticosterona em murinos, é agudamente responsivo a estressores psicossociais, porém, espera-se que em um indivíduo são estes níveis retornem a homeostase após o evento, o que não é observado em alguns pacientes com TDM e síndrome do estresse pós traumático (YANG et al., 2015).

Figura 1. Eixo HPA



Fonte: Adaptado de CHOPRA, KUMAR e KUHAD (2011)

Alterações nos níveis basais de corticosterona e alterações no padrão de liberação do hormônio secundário a stress parecem estar altamente correlacionados com a susceptibilidade ou resiliência de camundongos a desenvolverem comportamentos do tipo depressivo (KIM et al., 2013). Observa-se, também, maior predisposição ao TDM em pacientes expostos a fatores adversos durante o desenvolvimento neuronal, como *in utero* (MINA; REYNOLDS, 2014) e na infância e adolescência, levando a “hipótese de vulnerabilidade”, que predispõe estes indivíduos a desenvolverem o transtorno em segundo momento (LUPIEN et al., 2018). Ademais, alterações nos níveis circulantes de cortisol seja por doenças crônicas como Síndrome de Cushing ou por farmacoterapia a outras patologias, como a utilização prolongada de corticóides para doenças autoimunes, por exemplo, o que pode também levar a Síndrome de Cushing iatrogênica, predispõe pacientes ao TDM (BRÁS et al., 2022).

Outro fator que fortalece esta teoria, é a característica de neurotoxicidade dos glicocorticóides. Estudos demonstram que exposição crônica a estes compostos leva a déficits de memória e performance cognitiva, principalmente em tarefas dependentes do hipocampo, como testes de memória espacial (BORCEL et al., 2008). Já foi demonstrado, também, que exposição crônica a estes compostos leva a diminuição do volume, atrofia dendrítica e perda neuronal no hipocampo, área do encéfalo com alta prevalência de receptores glicocorticóides (LUPIEN et al., 2018). A diminuição de volume do hipocampo é observada frequentemente em pacientes com TDM (DUMAN; SANACORA; KRYSTAL, 2019). A exposição crônica do tecido neuronal a glicocorticóides pode aumentar a liberação de radicais livres, diminuir o transporte de glicose e diminuir a produção de BDNF. Na hipercortisolemia, a atividade da enzima monoaminoxidase-A é aumentada, que secundariamente diminui a disponibilidade de noradrenalina e serotonina na fenda sináptica, (CHOPRA; KUMAR; KUHAD, 2011). Todos estes estudos sugerem que a disfunção do eixo HPA, assim como altos níveis de glicocorticóides, desempenham um papel importante na fisiopatologia do TDM.

2.1.3.3 Hipótese inflamatória

A hipótese inflamatória postula sobre o envolvimento de agentes imunes, como interleucinas e citocinas, na fisiopatologia do TDM. Rang e Dale, 2020, caracterizam citocinas como mediadores protéicos ou polipeptídeos produzidos e liberados por células do sistema imunológico que tem como objetivo a sinalização e coordenação do início e do fim de respostas inflamatórias. Algumas citocinas são denominadas pró-inflamatórias como as interleucinas (IL) IL-1 β , IL-6 e TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e outras anti-inflamatórias como IL-4, IL-

10 e fator de crescimento transformativo (TGF), que tem o objetivo de promover cessação da resposta inflamatória, reparo celular e reconstrução extracelular (TROUBAT et al., 2021).

Segundo Rang e Dale, 2020, a inflamação é essencial para a defesa de criaturas contra agentes infecciosos, assim como promove a cicatrização e restauração da função normal de tecidos após eventos lesivos. No geral, a resposta imune é benéfica, mas ocasionalmente apresenta falhas que podem levar a um espectro de doenças. No sistema nervoso central a resposta imune é mediada principalmente por células gliais.

A inflamação crônica, de fonte cerebral ou sistêmica, aumenta os níveis de marcadores inflamatórios circulantes, ativando vias de sinalização pró-inflamatórias e pró-apoptóticas de diversas células do SNC. Estas vias estão altamente relacionadas a depleção de serotonina, desregulação do eixo HPA e alteração da neurogênese adulta no giro dentado do hipocampo, fatores já relacionados com humor deprimido. Vários estudos já demonstraram correlações entre níveis de citocinas inflamatórias e comportamento deprimido em humanos e animais, tanto no sangue quanto no encéfalo (SUNESON et al., 2021; TROUBAT et al., 2021). Ademais, estressores psicossociais já foram demonstrados como capazes de levar a inflamação. Animais susceptíveis e responsivos a estressores psicossociais têm demonstrado aumento de interleucinas pró-inflamatórias circulantes, como a IL-1 β , IL-6 e TNF- α (HASSAMAL, 2023).

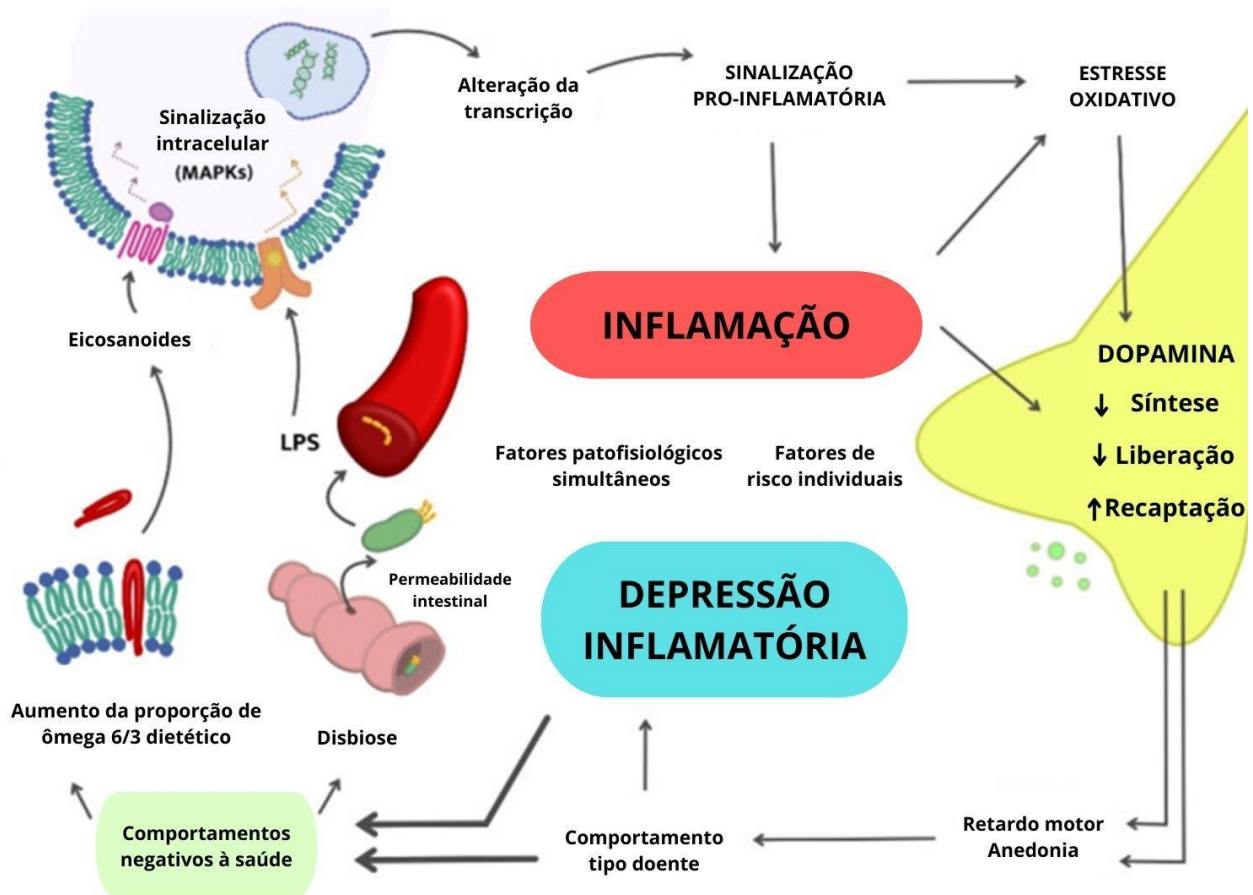
As citocinas também sensibilizam o eixo HPA, levando a uma desregulação do feedback negativo do mesmo, propiciando a propagação de mais reações inflamatórias (HASSAMAL, 2023).

Além disso, medicamentos pró-inflamatórios, como por exemplo o Interferon alfa, um antiviral, estão altamente relacionados com altas taxas de TDM (HOYO-BECERRA; SCHLAACK; HERMANN, 2014). Igualmente, vários medicamento anti-inflamatórios, como anti-inflamatórios não esteroidais, minociclina, ustekinumab, adalimumab, ixekizumab, etanercept, glicocorticóides e muitos outros, estão associados a melhora da sintomatologia depressiva (TROUBAT et al., 2021). Esta teoria também é fortalecida pela alta comorbidade do TDM com patologias inflamatórias sistêmicas, como o diabetes, artrite reumatóide, obesidade e infecções como hepatite (YANG et al., 2015).

Outro fator importante é a emergente relação entre patologias gastrintestinais e neuropsiquiátricas, com ênfase na disbiose intestinal. A disbiose é caracterizada pela flora gastrintestinal anômala, composta pela diminuição da flora residente e/ou aumento de espécies patológicas, o que leva a uma alteração da permeabilidade intestinal e possibilita que patógenos ou partes deles ganhem a circulação e ativem o sistema imunológico (SUNESON et al., 2021).

Diversos fatores são importantes na disbiose, como estilo de vida, dieta, tabagismo e até mesmo atividade física. Ademais, o humor deprimido tende a levar pacientes a adotar um estilo de vida menos saudável, como pela diminuição da atividade física e piores escolhas alimentares, o que leva a um ciclo de retroalimentação positiva (SUNESON et al., 2021). A relação entre a disbiose e a inflamação está ilustrada na Figura 2.

Figura 2 - Eixo Intestino-Cérebro



Fonte: Adaptado de SUNESON et al, 2021

2.1.3.4 Hipótese Neurotrófica

Neurotrofinas são proteínas sintetizadas por neurônios e células da glia, responsáveis pela modulação da replicação, plasticidade, maturação e sobrevivência celular e sináptica, processos essenciais na memória e aprendizado. As principais neurotrofinas são GDNF (fator neurotrófico derivado de células gliais), NGF (fator de crescimento nervoso neurotrófico) e BDNF (fator neurotrófico derivado do encéfalo) (ALLEN et al., 2013). Estudos em animais e humanos mostram relação positiva entre níveis de BDNF e escores de humor. Em casos de humor deprimido observa-se baixos níveis de BDNF, assim como há aumento do mesmo

subsequente a tratamento eficaz com antidepressivos, principalmente no córtex e hipocampo (YU; CHEN, 2011). Além disso o BDNF tem sido estudado devido à modulação de sua expressão por estresse e por fármacos antidepressivos e, por isso, surge como uma neurotrofina com importante papel no TDM (KAUFMAN et al., 2006). Em contraste, o estresse causa uma diminuição nos níveis de BDNF e das vias intracelulares que são ativados por esta neurotrofina, contribuindo assim para a atrofia das estruturas límbicas e menor atividade das mesmas (CASTRÉN; RANTAMÄKI, 2010; KAUFMAN et al., 2006).

A administração intracerebral de BDNF demonstrou potencial antidepressivo e protetivo contra stress oxidativo em modelos murinos de mania (VALVASSORI et al., 2015). Outras neurotrofinas também já foram analisadas como fármacos em neuropsicopatologias, como doenças de Parkinson, Mal de Alzheimer e Huntington. Porém, estas moléculas demonstram dificuldades terapêuticas pela baixa taxa de penetração pela barreira hematoencefálica, dificultando o acesso a seus receptores no SNC. Em contraposto, outras formas de administração, como por vetores virais, transporte ativo, implantação direta de células secretoras ou infusão direta no SNC têm sido exploradas, assim como a tentativa de desenvolvimento de moléculas menores e/ou mais lipofílicas que possam atuar diretamente nos receptores destas neurotrofinas (ALLEN et al., 2013). Nota-se, no entanto, que o BDNF possui efeito antidepressivo quando infundido diretamente no hipocampo murino. Também observa-se aumento de BDNF causado por estressores crônicos no Núcleo Accumbens e, igualmente, a infusão de BDNF neste local leva a comportamento do tipo depressivo em murinos. O BDNF parece estar intimamente relacionado em respostas neuroplásticas, mas seu efeito no humor é dependente da região cerebral (KRISHNAN; NESTLER, 2008).

2.1.3.5 Hipótese do Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre os níveis fisiológicos de agentes antioxidantes e radicais livres, também conhecidos como espécies reativas, principalmente de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs), mas também de enxofre e carbono, produzidos constantemente pelo processo de respiração celular. Níveis moderados de radicais livres são essenciais para o funcionamento adequado das células, pois agem como sinalizadores celulares (BARNHAM; MASTERS; BUSH, 2004).

A disfunção mitocondrial e de respiração celular está associada a diversas patologias, muitas delas neurológicas. O processo de queima de calorias e respiração celular é extremamente prevalente no SNC, conferindo ao tecido extrema vulnerabilidade a estresse

oxidativo. Pacientes com TDM parecem apresentar níveis aumentados de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e diminuição de defesas antioxidantes (BLACK et al., 2015). Também existem evidências de estresse oxidativo em doenças neurodegenerativas como Doença de Alzheimer, Mal de Parkinson, Huntington e Esclerose Lateral Amiotrófica (BARNHAM; MASTERS; BUSH, 2004).

O adequado balanço entre EROs (peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH^\bullet), oxigênio singlete (1O_2), e ERNs (óxido nítrico (NO), peroxinitrito ($ONOO^\bullet$) e dióxido de nitrogênio (NO_2)) e as defesas antioxidantes, que incluem glutaciona peroxidase (GPx), a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) e as não enzimáticas que compreendem antioxidantes tiólicos, como a glutaciona reduzida (GSH), bem como as vitaminas C e E, o composto carotenóide β -caroteno (LIU et al., 2015; VALKO et al., 2007) é de suma importância em todo o organismo, pois radicais livres são capazes de danificar estruturas celulares, como proteínas e os fosfolípidios presentes na membrana plasmática celular e até mesmo danificar o DNA diretamente. Estas moléculas também possuem papel sinalizador intracelular e são capazes de modular a expressão gênica levando a, por exemplo, hipotativação de receptores NMDA, inibição do recaptador de glutamato tipo 1, inibição da bomba de sódio/potássio, inibição de transportadores de glicose tipo 3, estimula a cascata apoptótica, atrapalha a sinalização de cálcio intracelular (fator altamente relacionado com doenças neurodegenerativas) (BARNHAM; MASTERS; BUSH, 2004). Também leva ao aumento da expressão de genes pró-inflamatórios e a produção de citocinas pró-inflamatórias, assim como altera o padrão de ativação de interneurônios gabaérgicos, degrada neurônios dopaminérgicos e altera o balanço do eixo HPA (BHATT; NAGAPPA; PATIL, 2020).

2.1.3.6 Hipótese Glutamatérgica

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central. Se liga a diversos receptores, como os ionotrópicos NMDA, AMPA e cainato, responsáveis pelo influxo de cátions no neurônio, e os metabotrópicos ou mGluRs (RITTER ET AL., 2020). O glutamato está intimamente relacionado com processos de memória e aprendizado, regulação do humor e mecanismo de recompensa cerebral. Já foi também relacionado com dor neuropática, epilepsia, transtorno de abuso de substâncias, TDM e distúrbios de ansiedade. Portanto, é um alvo altamente explorado na pesquisa neuropsiquiátrica, porém, sua modulação demonstra potenciais riscos pela possibilidade de induzir convulsões e outros fatores relacionados à tolerância ao tratamento (MURROUGH; ABDALLAH; MATHEW, 2017).

Os receptores AMPA e NMDA são permeáveis a sódio e possuem papel essencial na plasticidade neuronal, fator imprescindível na memória e aprendizado. A ativação de receptores NMDA pode promover tanto processos neurotróficos como neurotóxicos dependendo da intensidade e duração de sua ativação, localização do receptor e outros fatores ambientais no momento de sua ativação. Níveis de ativação moderados levam a comportamento neurotrófico, como a produção de BDNF, por exemplo. Já a ativação excessiva leva a um fenômeno conhecido como excitotoxicidade, que leva a atrofia dendrítica e até mesmo morte neuronal (MURROUGH; ABDALLAH; MATHEW, 2017). Alguns estudos também já demonstraram que existem alterações nos subtipos de receptores glutamatérgicos em pacientes com TDM (DUMAN; SANACORA; KRYSTAL, 2019).

O estresse agudo parece aumentar os níveis de glutamato extracelulares no córtex pré-frontal e hipocampo. Estudos morfológicos mostram que exposição crônica ao estresse diminui a ramificação e tamanho de dendritos hipocampais e corticais, potencialmente explicando a redução em volume destas áreas em pacientes deprimidos. Também existem evidências de que estresse crônico leva a hipertrofia da amígdala cerebelosa, principalmente do tamanho e complexidade dos neurônios glutamatérgicos no núcleo basolateral. Esta área está altamente relacionada com a regulação de emoções (DUMAN; SANACORA; KRYSTAL, 2019). Isto novamente demonstra a alta complexidade do transtorno e como o encéfalo não pode ser estudado como órgão único de resposta homogênea.

Existe também uma correlação positiva entre os níveis plasmáticos de glutamato e a gravidade dos sintomas depressivos em pacientes com TDM (MITANI et al., 2006). Juntas, essas descobertas sugerem que anormalidades no ciclo de glutamato no cérebro provavelmente estão envolvidos na fisiopatologia do TDM.

A ketamina, um antagonista NMDA, tem se mostrado potente como antidepressivo de rápida ação, potencialmente não só pela modulação da sinalização glutamatérgica como também por seu efeito no aumento temporário do metabolismo glutamatérgico no córtex pré-frontal (CHOWDHURY et al., 2017). A ketamina será discutida mais profundamente em 2.2.4.1.

2.1.3.7 Alteração da modulação alostérica positiva de GABA_A

O ácido gama-aminobutírico (GABA) é um dos principais neurotransmissores inibitórios. Age principalmente em dois receptores, GABA_A, ionotrópico e GABA_B, metabotrópico. O receptor GABA_A é um receptor pentamérico formado de diferentes

combinações de subunidades, com 19 tipos de subunidades distintas já identificadas. Receptores de subtipos diferentes parecem popular diferentes áreas do neurônio, onde, por exemplo, receptores que expressam a subunidade gama estão presentes principalmente nas sinapses e receptores delta em áreas extra sinápticas. Diferentes combinações de subunidades garantem aos receptores características específicas, como a sensibilidade aos benzodiazepínicos, conferida pela presença da subunidade gama junto a certas subunidades alfa. Receptores GABA_A tem como principal função a abertura de canais de cloro, levando à hiperpolarização celular, resultando em correntes pós-sinápticas inibitórias (ZORUMSKI et al., 2013).

Rang & Dale: Farmacologia, 2020, define moduladores alostéricos como fármacos que se ligam a um local do receptor diferente dos agonistas ‘tradicionais’ (nos dias atuais, frequentemente referidos como agonistas ‘ortostéricos’). Estes podem modificar a atividade do receptor por (i) alteração da afinidade do agonista, (ii) alteração da eficácia do agonista ou (iii) desencadeando eles mesmos, diretamente, a resposta.

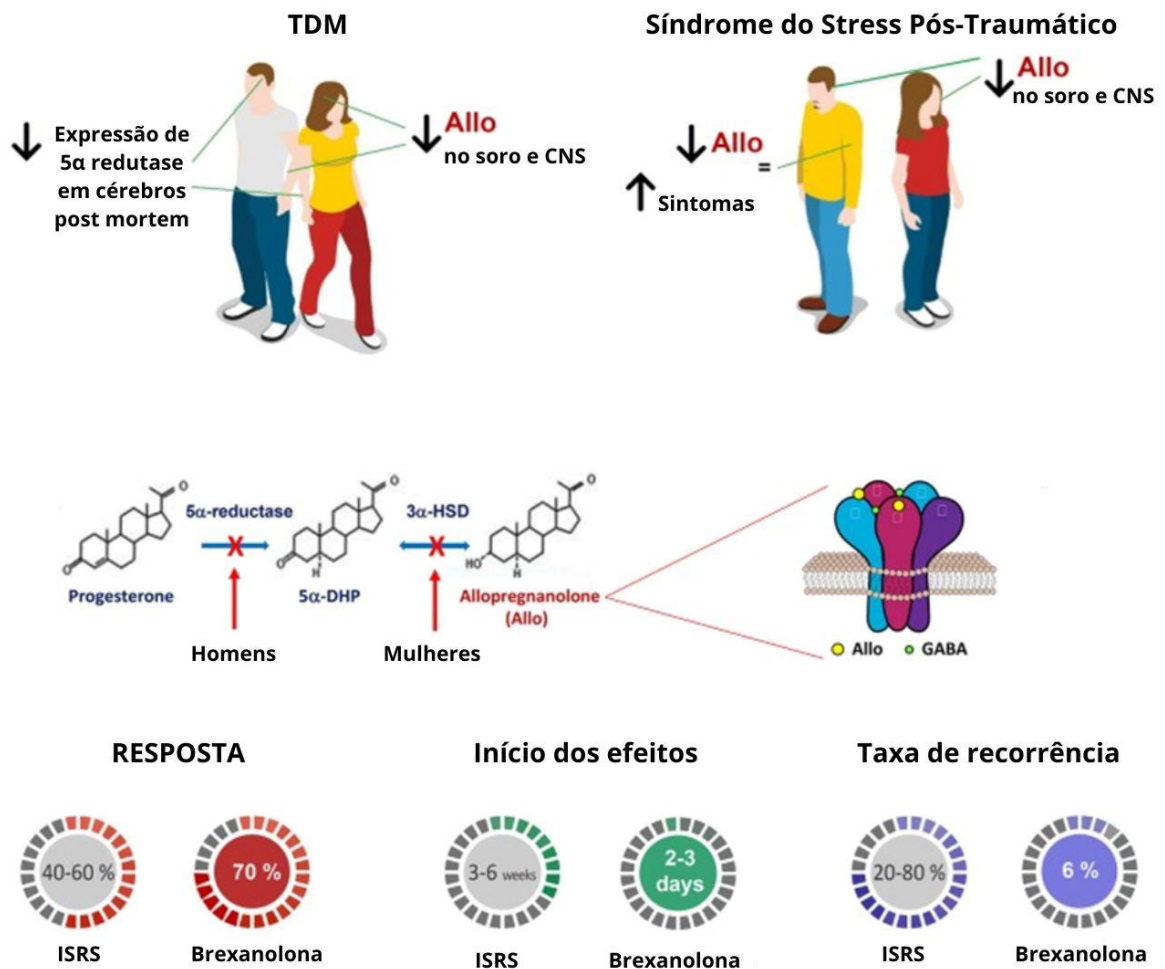
Grande parte da modulação farmacológica GABAérgica moderna se dá por modulação alostérica. Alguns exemplos destes compostos são o etanol, barbitúricos, benzodiazepínicos, não-benzodiazepínicos (ou drogas Z) e muitos outros. Há também modulação alostérica positiva de GABA_A endógena, como por neuroesteróides, tendo como exemplo a alopregnanolona (Allo), um metabólito da progesterona (ZORUMSKI et al., 2013). A diminuição deste neuroesteróide parece estar altamente relacionado a depressão pós parto e sua reposição por meio de infusão contínua por 60h, sob o nome de brexanolona, em testes duplo-cego tem mostrado resultados promissores não somente pela marcada diminuição dos escores depressivos, mas também pelo mais rápido início de efeito quando comparados ao tratamento com antidepressivos moduladores monoaminérgicos (PATTERSON et al., 2024), como ilustrado na Figura 3.

Ademais, um transtorno denominado Síndrome Pós-Finasterida, fármaco inibidor da enzima 5-alfa-redutase, é caracterizado por afecções sexuais e psíquicas, como depressão, ansiedade e ideação suicida, durante e persistentes após o tratamento, principalmente em homens. Ainda é um transtorno disputado pela comunidade médica e não possui diretrizes de tratamento. Alguns artigos negam a existência do transtorno e caracterizam os pacientes que relatam os sintomas como psicóticos ou delirantes. Outros, apesar de reconhecerem os sintomas, o tratam como tão raro que o faria insignificante. Porém, uma meta-análise recente mostrou que a taxa de ocorrência desta síndrome parece estar entre 3 e 5% dos homens e, por ser um fármaco extremamente popular, colocaria o número de homens sofrendo deste distúrbio

entre 900 mil a um milhão e meio de pessoas (TRAISH, 2020). Como demonstrado pela Figura 3, a enzima 5-alfa-redutase é necessária para a produção de alopregnanolona, potencialmente justificando um dos mecanismos de ação deste transtorno.

Portanto, a modulação alostérica positiva de GABA_A parece ser um alvo promissor no tratamento de afecções neuropsicológicas.

Figura 3 - Brexanolona



Fonte: Adaptado de PINNA, 2020

2.2 FARMACOTERAPIA

2.2.1 Modulação Monoaminérgica

A primeira geração de antidepressivos desenvolvidos foram os inibidores da monoamino oxidase (IMAO), uma enzima endógena responsável pela degradação de

monoaminas. A inibição da mesma, portanto, confere às monoaminas maior tempo de meia vida e, portanto, maior tempo de ação na sinapse (PEREZ-CABALLERO et al., 2019). Os IMAO são classificados com base em sua especificidade para as isoenzimas MAO-A e MAO-B, e de acordo com a reversibilidade ou irreversibilidade de sua ligação. Os IMAO como iproniazida, fenelzina e isocarboxazida, são não seletivos e inibidores irreversíveis da MAO. Os IMAO mais recentes, como moclobemida, befloxatona e brofaromina, são seletivos para a MAO-A e ligam-se de modo reversível. A selegilina, um inibidor seletivo da MAO-B em baixas doses, também coíbe a MAO-A em doses mais altas. Os fármacos IMAOs possuem diversos efeitos colaterais, interações farmacológicas extensas e restrições alimentares, principalmente de alimentos com altos níveis de tiramina, como vinhos, algumas conservas, derivados da soja e queijos envelhecidos. Portanto, não são mais considerados medicamentos de primeira linha (CANTILINO; MONTEIRO, 2016; VAN DEN EYNDE; GILLMAN; BLACKWELL, 2022).

Outra classe, denominada antidepressivos tricíclicos (ATC), inibem a recaptação de 5-HT e NA do espaço extracelular por meio do bloqueio dos transportadores de recaptação da 5-HT e da NA, respectivamente. Os ATC são a imipramina, amitriptilina, desipramina, nortriptilina e clomipramina (um agente de primeira linha para o transtorno obsessivo-compulsivo). Também são capazes de se ligar a diversos receptores, e possuem ação antagonista nos receptores histaminérgicos, acetilcolinérgicos e noradrenérgicos (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015), o que leva a efeitos colaterais como boca seca, retenção urinária, constipação, sonolência, hipotensão ortostática e tonturas. Também pode interagir com canais de sódio sensíveis a voltagem cardíacos e cerebrais, levando a possibilidade de complicações, principalmente em pacientes com patologias comórbidas (CANTILINO; MONTEIRO, 2016). Possuem potencial letalidade em casos de overdose, os tornando menos atrativos para o tratamento domiciliar de pacientes com risco de suicídio (FEIGHNER, 1999). Estes fármacos também são utilizados em pacientes que apresentam síndromes dolorosas, como dor neuropática, dores somáticas, enxaqueca e fadiga crônica em doses sub-antidepressivas (GOLAN, 2012). Na sequência foram desenvolvidos os antidepressivos tetracíclicos, como a maprotilina, que são pouco utilizados.

A busca por medicamentos mais específicos e seguros levou ao desenvolvimento de inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), como a fluoxetina, paroxetina, sertralina, citalopram, escitalopram e fluvoxamina; Inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina, como desipramina; e inibidores de recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN), como a venlafaxina, desvenlafaxina e duloxetina. Estes fármacos possuem taxas de sucesso similares aos ATC, mas possuem menor risco de letalidade em casos de superdosagem

e menor taxa de efeitos adversos (GOLAN, 2012). Todos estes medicamentos agem inibindo a recaptação desses neurotransmissores para dentro da célula, permitindo que passem mais tempo na fenda sináptica e, portanto, estimulem seus respectivos receptores por maior tempo (PEREZ-CABALLERO et al., 2019). Medicamentos destas classes são geralmente mais bem tolerados pelos pacientes do que os antidepressivos tricíclicos ou IMAOs, mas também possuem efeitos colaterais. Estes possuem alta variabilidade entre indivíduos e até entre fármacos, mesmo que pertençam à mesma classe. Os mais comuns são disfunção sexual, sonolência, ganho de peso, ansiedade e cefaléia. Por serem fármacos mais seguros do que os anteriormente citados no caso de superdosagem, são mais interessantes para o tratamento domiciliar de pacientes com potencial suicida (CANTILINO; MONTEIRO, 2016). Os IRSNs duloxetine e milnaciprana também são indicados para síndromes dolorosas, como for neuropática e fibromialgia, principalmente em pacientes com complicações clínicas e fragilidades que contra-indiquem ATCs (GOLAN, 2012).

Denomina-se moduladores de serotonina a viladozona e trazodona, sendo a trazodona muito mais popular. Agem como antagonistas serotoninérgicos nos receptores 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}, inibidores da recaptação de serotonina e norepinefrina e também interagem com receptores alfa-1-adrenérgicos e histaminérgicos H₁, possuindo efeito ansiolítico e hipnótico (CANTILINO; MONTEIRO, 2016; FEIGHNER, 1999). O antagonismo dos receptores serotoninérgicos citados é bem-vinda, pois estes receptores estão associados a alguns dos efeitos colaterais dos ISRS, como a insônia, ansiedade e disfunção sexual. A sedação observada no uso destes fármacos é um fator que deve ser considerado, pois pode ser um empecilho ou bônus dependendo dos sintomas do paciente. Pode ser utilizado concomitantemente com outros antidepressivos por sua função como hipnótico em pacientes com insônia ou sono demasiado leve (CANTILINO; MONTEIRO, 2016).

Também existem compostos que não possuem classe bem delimitada, chamados de atípicos, como a bupropiona e mirtazapina (FEIGHNER, 1999). A mirtazapina atua bloqueando receptores alfa-2-adrenérgicos pós-sinápticos, o bloqueio destes receptores propicia maior liberação de noradrenalina, que atinge receptores alfa-1-adrenérgicos dos neurônios serotoninérgicos e finalmente estimula a produção e liberação de serotonina pelos mesmos. Possui afinidade por receptores de histamina, onde seu antagonismo leva a sonolência e sedação. Também é comumente observado ganho de peso por aumento do apetite (CANTILINO; MONTEIRO, 2016). A bupropiona é um fármaco utilizado para o TDM e como auxiliar na cessação do tabagismo. É boa alternativa especialmente nos pacientes que têm

baixos níveis de energia e anedonia intensa, porém pode aumentar a ansiedade. Age como inibidor dos transportadores de dopamina e noradrenalina (CANTILINO; MONTEIRO, 2016).

Como observado, estes antidepressivos contemporâneos interagem com a homeostase monoaminérgica. Seus níveis de sucesso e reincidência são pobres, apenas 30 a 45% dos pacientes atingem remissão (ADZIC et al., 2018). Apesar da ampla gama de medicamentos ansiolíticos e antidepressivos disponíveis, os mesmos não são eficazes para todos os pacientes, possuem lento início de ação (aproximadamente seis semanas), diversos efeitos adversos, e, conseqüentemente, baixa adesão ao tratamento (KATZMAN et al., 2014; SULAKHIYA et al., 2016). Um sumário dos principais medicamentos e suas classes está disposto no Quadro 1.

Desta forma, a pesquisa sobre novas possibilidades terapêuticas é essencial.

Quadro 1 – Fármacos Antidepressivos

Classe	Fármacos
IMAO	Isocarboxazida, Moclobemida, Fenelzina, Selegilina, Tranilcipromina, Befloxafona e Brofaromina
Tricíclicos	Imipramina, Amitriptilina, Desipramida, Nortriptilina e Clomipramina
Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina	Fluoxetina, Paroxetina, Sertralina, Citalopram e Escitalopram
Inibidores de Recaptação de Serotonina e Noradrenalina	Venlafaxina, Desvenlafaxina e Duloxetina
Moduladores de serotonina	Viladozona e Trazodona
Atípicos	Bupropiona e Mirtazapina

Fonte: FEIGHNER, 1999; CANTILINO e MONTEIRO, 2017; PEREZ-CABALLERO et al, 2019

2.2.2 Novas Terapias

2.2.2.1 Ketamina

Em 1970 a ketamina foi aprovada pela FDA como anestésico para humanos. Tem efeitos eficientes como sedativo e analgésico até em doses sub anestésicas e é considerada por alguns autores um dos agentes anestésicos mais seguros disponíveis (ALSHAMMARI, 2020). Em 1975, Sofia e Harakal publicaram um artigo demonstrando o efeito antidepressivo da ketamina

em alguns modelos murinos, onde afirmam “O cloreto de ketamina possui significativa atividade em ampla gama de doses por via oral”.

Na virada do milênio, dois artigos em humanos se destacam: Berman et al., 2000, onde pacientes deprimidos receberam ketamina intravenosa (0,5 mg/kg) em teste duplo cego e houve melhora significativa nos pacientes que receberam ketamina quando comparados ao grupo controle no escore de Hamilton 72 horas após a infusão; e Kudoh et al., 2002, onde pacientes deprimidos submetidos a cirurgias ortopédicas receberam ou não 1 mg/kg de ketamina como parte do protocolo anestésico. Os pacientes que receberam ketamina reportaram melhora do quadro depressivo e menores escores de dor pós-operatória do que o grupo que não recebeu ketamina.

Pacientes com TDM submetidos a dois tratamentos distintos ou acréscimos sem sucesso são denominados pacientes com transtorno depressivo resistente ao tratamento. Nestes pacientes, tentativas subsequentes de tratamento com antidepressivos monoaminérgicos possuem taxas de remissão inferiores a 15% (KVERNO; MANGANO, 2021). A maior parte dos estudos com ketamina se dão em pacientes com este perfil.

A ketamina age em receptores NMDA presentes em interneurônios GABAérgicos, onde atua como antagonista não competitivo. Interneurônios GABAérgicos possuem como principal função a inibição de neurônios piramidais. Portanto, a inibição de neurônios GABAérgicos, que possuem como função a inibição de neurônios piramidais, leva indiretamente a excitação de neurônios piramidais (HOMAYOUN; MOGHADDAM, 2007; MCINTYRE et al., 2021). Neurônios piramidais recebem este nome pelo formato piramidal de seu corpo celular e representam aproximadamente dois terços de todo o córtex mamífero. Também podem ser encontrados no hipocampo e amígdala cerebelosa. Estes neurônios estão envolvidos no processamento de informações avançadas, como em estruturas dedicadas aos sentidos e controle motor. São excitados pelo glutamato (ELSTON, 2003; SPRUSTON, 2008). Já que os receptores NMDA pós-sinápticos nos neurônios piramidais também estão bloqueados pela ketamina, o excesso de glutamato na fenda sináptica ativa receptores AMPA, desencadeando a ativação de cascatas intracelulares que levam ao aumento de BDNF e estimulação da via AKT-mTOR. Esta via parece ser necessária para o efeito antidepressivo da ketamina, já que pré-tratamento com antagonistas AMPA atenuam a resposta da ketamina (MCINTYRE et al., 2021). A ketamina também possui efeitos menos potentes em diversos outros receptores do sistema nervoso central, como agonista nos receptores opióides MOP, KOP e DOP (ALSHAMMARI, 2020). Estudos animais mostram que esta via é necessária, porém não suficiente, para os efeitos antidepressivos da mesma. Pré-tratamento com naltrexona em adultos

atenuou a potência da ketamina como antidepressivo e anti ideação suicida (MCINTYRE et al., 2021).

Recentemente, diversos estudos pré-clínicos consistentemente demonstraram a efetividade do enantiômero S da ketamina, a esketamina. Em 2019 a FDA aprovou a molécula para uso no tratamento de pacientes com transtorno depressivo resistente ao tratamento (MCINTYRE et al., 2021). O spray nasal de esketamina (56 ou 84 mg), pode ser administrado duas vezes por semana por quatro semanas, uma vez por semana por 4 semanas e subsequentemente uma vez por semana ou em semanas alternadas. A maior parte dos estudos comparou grupos de pacientes com TDM resistente ao tratamento iniciando seu terceiro (ou mais) modulador monoaminérgico acompanhado de esketamina ou placebo. Apesar de observar-se melhora no grupo controle quando os dados foram analisados ao longo do tempo, ainda assim o grupo esketamina demonstrou melhora significativa. O tratamento concomitante de anti-depressivo monoaminérgico e esketamina diminuiu o risco de relapso em 51% nos pacientes em remissão estável e 70% nos pacientes com resposta estável (MCINTYRE et al., 2021).

2.2.2.2 Psicodélicos

O termo “Psychedelic”, psicodélico, foi inventado em 1956. Deriva do grego, significando manifestado da mente. São diversos fármacos/compostos, naturais e sintéticos, que tem como efeitos distorções da percepção (similares a alucinações, daí o termo alucinógeno, um sinônimo), experiências psicológicas e humor mutável. Alguns exemplos são a dietilamida do ácido lisérgico (LSD), dimetilriptamina (DMT), 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA, popular ecstasy), mescalina e psilocibina (KWAN et al., 2022). Nota-se que todos estes compostos, com exceção do MDMA, são agonistas do receptor 5HT-2_A (KO et al., 2023).

Após muitos anos sob ilegalidade, o que dificultou que estes compostos/fármaco fossem estudados, a terapia com psicodélicos finalmente tem passado por um renascimento (em escala experimental) na psiquiatria, principalmente no tratamento do TDM, transtornos de ansiedade, abuso de substâncias e síndrome do stress pós-traumático. Seu uso em outras patologias como dor de cabeça crônica em salvas e dor do membro fantasma também tem sido avaliadas (KO et al., 2023).

Em 2016 uma meta-análise publicada por Rucker et al. analisou estudos publicados com humanos com TDM entre os anos de 1949 e 1973. O principal fármaco utilizado foi o LSD, com alguns casos associando mescalina. No total, 423 pacientes foram levados em consideração. A metodologia entre os estudos e doses foi extremamente variada; doses de LSD

variaram entre 20 e 1500 µg e as sessões de uso entre 1 e 58. O resultado final demonstrou que 79,2% dos pacientes mostraram algum grau de melhora clínica, com resultados sendo mais promissores quando os fármacos foram administrados em doses mais elevadas e/ou a administração foi acompanhada por psicoterapia ou apoio psicológico (RUCKER et al., 2016).

Desde então, novos estudos têm sido elaborados com maior rigor metodológico, incluindo grupos placebo e controle, por exemplo, e têm consistentemente mostrado significativos resultados positivos em várias psicopatologias, como as citadas anteriormente e também no transtorno obsessivo-compulsivo e outros distúrbios de estresse ligados a doenças crônicas ou terminais. Os compostos mais estudados no momento são a psilocibina, DMT e LSD (KO et al., 2023).

A Psilocibina é um composto encontrado em mais de 100 tipos de cogumelos, principalmente os pertencentes ao gênero *Psilocybe*. A psilocibina é metabolizada em psilocina, composto psicoativo. A psilocina é estruturalmente semelhante à serotonina e possui forte agonismo nos receptores 5-HT_{2A}, porém não é seletiva. Já foi demonstrado que pacientes com alto escore depressivo, neurótico e comportamento suicida possuem maior concentração de receptores 5-HT_{2A} corticais. O composto não apresenta potencial de abuso por causar dessensibilização dos receptores 5-HT_{2A}, levando a rápida tolerância, especialmente com uso diário (LINARTEVICH I et al., 2021).

Agonismo do receptor 5-HT_{2A} é comum a todos os psicodélicos. Pré-tratamento com um antagonista diminui a ação destes compostos e a quantidade de receptores ocupados está diretamente relacionada com a potência do efeito psicodélico, porém, nem todo agonista 5-HT_{2A} é psicoativo. O exato mecanismo de ação destes fármacos ainda não é bem elucidado, mas parece ser ao menos mediado pela ativação do receptor 5-HT_{2A} (KWAN et al., 2022).

A psilocibina apresenta início de efeito rápido e duração de até seis meses. As principais mudanças observadas nos pacientes são diminuição do neuroticismo e aumento do pensamento positivo sobre si mesmo. A psilocibina também mostrou efeitos positivos em transtornos de ansiedade, cessação de vícios, muito bem demonstrado no tabagismo e alcoolismo, e no transtorno obsessivo-compulsivo (LINARTEVICH I et al., 2021).

Atualmente um estudo clínico em fase III, identificação NCT05624268, está sendo desenvolvido nos Estados Unidos utilizando COMP360, uma formulação sintética de psilocibina desenvolvida pela COMPASS Pathways em pacientes acima de 18 anos com TDM resistente ao tratamento. O estudo objetiva utilizar 255 participantes, é duplo cego e com controle-placebo. Os pacientes receberão 25 mg de COMP360 via intraperitoneal ou placebo, seguido de suporte psicológico e reavaliados em seis semanas. Em segundo momento, alguns

pacientes receberão outra dose para avaliação da eficácia e segurança a longo prazo. Finalmente, 26 semanas de estudo open-label. Mais detalhes podem ser encontrados em < <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05624268>>.

Além disso, outro estudo de fase III foi finalizado recentemente utilizando 40 a 180 mg de MDMA como auxiliar na psicoterapia de pacientes com síndrome do estresse pós-traumático severo. O MDMA demonstrou alta eficácia e foi seguro e bem tolerado em pacientes sãos e com comorbidades (MITCHELL et al., 2021). Em 3 de fevereiro de 2023 o mesmo foi liberado para uso por alguns psiquiatras na Austrália (TAC, 2024).

2.2.3 Reposicionamento Farmacológico

Como observado, a patofisiologia da TDM é altamente disputada e multifacetada. Apesar de a maior parte dos antidepressivos disponíveis modularem a transmissão monoaminérgica, novos alvos moleculares têm sido explorados na tentativa de dar a este transtorno um prognóstico mais favorável.

Define-se como reposicionamento farmacológico o ato de utilizar um fármaco já conhecido para uma função em outra. O menor custo e menor tempo para aprovação em agências de vigilância o tornam atrativo na pesquisa biomédica, porém deve-se levar em consideração que muitas vezes a dose e/ou via de administração são alteradas (DAS, 2020). Alguns exemplos de drogas reposicionadas são a sildenafil, popular Viagra, originalmente envisionada para o tratamento de angina, agora utilizada na disfunção erétil; e aspirina, originalmente utilizada como anti-inflamatório, agora utilizada no tratamento de câncer colorretal e isquemia cardíaca (DAS, 2020).

O reposicionamento farmacológico pode ser uma alternativa interessante na pesquisa neuropsiquiátrica, não somente por seu menor valor como também pela agilidade garantida pelo mais fácil acesso aos compostos e menor burocracia no estabelecimento de estudos. Ademais, a ketamina, por exemplo, já é considerada um fármaco reposicionado para a neuropsiquiatria, de sua original utilização como auxiliar anestésico (DAS, 2020; JARADA; ROKNE; ALHAJJ, 2020).

2.2.4 Lactonas Macroclícas

As Lactonas Macroclícas (LM) são um grupo de endectocidas, utilizadas principalmente no controle de parasitas externos na criação de gado bovino. Atualmente seu uso não é restrito a esta espécie, são utilizadas na medicina de pequenos animais, animais de

produção e humana. Alguns exemplos são ivermectina, moxidectina, eprinomectina e doramectina (SPINOSA, 2023).

As LMs têm como principal mecanismo de ação a ativação dos canais glutamatérgicos de cloro, um canal ionotrópico, essencial para o controle muscular de invertebrados. Esta ativação leva à paralisia flácida dos parasitas e eventual morte. Esses canais não são encontrados em mamíferos, portanto, são compostos antiparasitários interessantes por apresentarem efeitos colaterais mínimos aos seus usuários, enquanto mantém efeito potente sobre invertebrados (RODRIGUES-ALVES et al., 2008).

No entanto, novos estudos demonstraram a sua capacidade de se ligar alostericamente e modular os receptores ionotrópicos do sistema nervoso dos mamíferos, como por exemplo os receptores purinérgicos P_2X_4 , $GABA_A$, glicina e nicotínicos $\alpha-7$ (SPAMPANATO; GIBSON; DUDEK, 2018). Esses efeitos raramente são observados clinicamente quando o medicamento é utilizado em sua dose endectocida padrão de $50\mu/kg$.

A história e os efeitos da moxidectina sobre o SNC serão discutidos mais profundamente nos Manuscritos 1 e 2.

Assim sendo, visto a abrangência mundial do TDM, seu custo social, sua complexidade e eficácia relativa de seu tratamento, o reposicionamento farmacológico da moxidectina pode ser uma nova alternativa terapêutica e merece um estudo aprofundado e contínuo.

3 OBJETIVOS

3.2 OBJETIVO GERAL

- Elaboração de um artigo de revisão bibliográfica sobre o efeito neuromodulador da moxidectina e na sequência avaliar o efeito da mesma sobre o comportamento tipo depressivo e ansioso de camundongos jovens, bem como seus efeitos no sistema nervoso central no âmbito oxidativo e molecular.

3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver uma revisão de literatura que sintetize os achados dos últimos 10 anos (2013-2023) de exploração dos efeitos da moxidectina como neuromodulador.
- Avaliar o efeito da moxidectina sobre o comportamento do tipo depressivo e ansioso em camundongos Swiss machos jovens através dos testes de suspensão da cauda, campo aberto, splash e labirinto em cruz elevado.
- Avaliar o efeito da moxidectina sobre o estresse oxidativo de áreas do SNC (córtex, hipocampo) dos animais, avaliando TBARS, TAC e GST.
- Avaliar o efeito da moxidectina sobre a expressão gênica de BDNF, TNF- α e IL-6 sobre o córtex e hipocampo dos animais.

4 MANUSCRITO

4.1 MANUSCRITO 1

O manuscrito apresentado a seguir é a revisão bibliográfica efetuada e inclui as seções “Introdução”, “Discussão”, “Conclusão” e “Referências”. Está formatado de acordo com as normas de submissão da revista Behavioral Neuroscience, a que foi submetido.

Moxidectin as a Neuromodulator, a Review

Gregory Klein Schneider¹ and Eliane Maria Zanchet²

^{1 2} Center of Health Sciences, Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

¹ Center of Health Sciences, Postgraduate Program in Pharmacology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

ORCID:

GKS: 0000-0003-3205-5252

EMZ: 0000-0001-8094-3372

Author Note:

Both authors were equally involved in writing this paper.

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise. No funding was provided for this work.

Corresponding author contact: eliane.m.zanchet@ufsm.br

Abstract

Very little is known about the pathophysiology of mood and alcohol use disorders and their treatment is equally lackluster. Consequently, new molecular targets are often being explored. The development of novel drugs poses significant challenges, prompting the investigation of already established compounds in different therapeutic areas as an interesting alternative. One of such new targets in depression is the positive allosteric modulation of GABA-A receptors, which has recently had a new drug approved by the FDA for the treatment of postpartum depression, brexanolone. Moxidectin, an antiparasitic drug, has the capability to modulate mammalian GABA-A and P2X4 purinergic receptors in doses above the standard endectocidal. Due to this capability and its favorable safety profile, it has been tested as a neuromodulator in murine models of depression, alcohol use disorder, and Parkinson's disease in recent years. This review aims to synthesize the findings of papers published between 2012 and 2022 on the neuromodulatory and neuropharmacological properties and effects of moxidectin. All papers consistently showed moxidectin as possessing promise in the treatment of alcohol use disorder and depression and anxiety disorders in mice models with a favorable safety profile. The in vitro studies corroborated these findings and better elucidated the mechanism of action of this compound.

Keywords: alcohol use disorder, depression, drug repositioning, macrocyclic lactones, GABA-A

Moxidectin as a Neuromodulator, a Review

In 1938 a gram-positive bacterium named *Streptomyces cyaneogriseus noncyanogenus* was isolated from Australian red sand by scientists of the Glaxo Group from England and scientists of American Cyanamid from the USA. The bacterium produced a chemical named Nemadectin. After undergoing modifications in its structure, the semisynthetic compound now known as Moxidectin (MOX) was created. It was first marketed in 1990 as an injectable endectocide for cattle (Campbell, 2012). Moxidectin is the most popular Milbemycin, a subgroup of the Macrocyclic Lactones (ML). The ML are a group of pharmaceuticals used mainly for external and internal parasite control. For its wide use and success in human and animal medicine its developers were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine in 2015.

Moxidectin was approved for human use by the FDA in 2018 for onchocerciasis, popularly known as “River Blindness” (FDA, 2023). In veterinary practice it is commonly used as an endectocide in livestock and in the prevention of *Dirofilaria immitis* in dogs (Ménez et al., 2012).

Another widely known ML is Ivermectin (IVM), part of the Avermectins (AVM) subgroup. IVM is derived from *Streptomyces avermectinius*, a Japanese soil dwelling bacterium (Spampanato et al., 2018). We highlight the existence of AVM because MOX and IVM research often goes hand in hand and, even though we focus this paper on the former, the latter will appear often as a point of reference or comparison.

ML have as their main mechanism of action the targeting of glutamate-activated chloride channels, an ionotropic channel, essential for muscular control of invertebrates. This activation leads to flaccid paralysis of the parasites and eventual death. These channels are not

found in mammals (Rodrigues-Alves et al., 2008). Therefore, they are interesting antiparasitic compounds for their minimal side effects to their users while maintaining potent effect on invertebrates. However, new studies have demonstrated their ability to allosterically bind and modulate mammalian nervous system ionotropic receptors, namely the γ -aminobutyric acid type A (GABA-A), glycine, nicotinic $\alpha 7$ and P2X4 purinergic receptors (Spampanato et al., 2018). These effects are rarely observed when the drug is utilized in its standard endectocidal dose.

The intricacies of the brain remain a mystery. Very little is known about its functioning and even less about the pathophysiology of some disorders that affect it. Major depressive and alcohol use disorders have in common their high toll on public health and relative inefficacy of treatment (Getachew & Tizabi, 2019; Huynh et al., 2017). As for Major Depressive Disorder (MDD), the main theory, monoaminergic imbalance or of low serotonin, remains influential as an explanation of its pathophysiology and represents the basis of the most common treatment option: serotonin replacement therapy, utilizing SSRIs and other associated classes, although there is no empirical evidence to support that MDD is linked to or caused by serotonin depletion (Moncrieff et al., 2023). Currently, other targets are being explored in the attempt to develop new, more efficient, therapies.

Drug development is a lengthy, costly, and therefore risky, process. Finding new uses for already established compounds, known as drug repositioning, is an alternative to speed up the exploration and development of new therapeutic strategies (Jarada et al., 2020).

ML are currently being explored as neuromodulators in mammals in various murine models of disorders utilizing doses many times higher than the endectocidal. In this paper, we have selected articles that explore the effects and profile of moxidectin as a neuromodulator.

The search prompt “(moxidectin) AND (neur* OR depression OR anxiety OR brain OR behavior OR alcohol use disorder)” was inputted into PubMed, with the timeframe set between 2012 and 2022, resulting in 185 studies. Four (4) studies were excluded for quoting MOX but not experimenting on or exploring it; twenty-four (24) studies used MOX as an agent for some other disorder not in the scope of this study, such as an antitumor agent, or analyzed its toxicology profile in a way that was not deemed relevant to this study; in one hundred and thirty-five (135) studies the MOX was analyzed as an endectocide; fifteen (15) studies explored its effects on wildlife, food and environmental contamination. After applying the eligibility and exclusion criteria, seven (7) papers were selected and included in this review.

Discussion

Pharmacological profile

P-glycoprotein (P-gp), coded by the MDR1/ABCB1 gene, is a plasma membrane efflux pump belonging to the ATPbinding cassette (ABC) transporters family (Ménez et al., 2012). It can be found in the small intestine, blood-brain barrier (BBB), hepatocytes, kidney proximal tubule (International Transporter Consortium et al., 2010) and at low levels in the myocardium (Couture et al., 2006). It performs functions of aiding in absorption, such as in the small intestine; excretion, such as in the production of bile and urine (Wessler et al., 2013); and protective, as in the BBB, where it efficiently restricts the entry and actively disposes of compounds, being vital for homeostasis and protecting the Central Nervous System (CNS) from harmful compounds (Ménez et al., 2012). P-gp is a semi-specific protein, however, with the capability of affecting some compounds but not others (Ménez et al., 2012).

Tests with equimolar doses of IVM and MOX in P-gp deficient mice show that these compounds tend to accumulate in the CNS, with IVM possessing a higher ratio of brain-to-blood concentration than MOX in all times tested (Ménez et al., 2012).

To exert any effect, therapeutic or toxic, a compound has to reach its target. Since MLs tend to accumulate in the CNS, efflux pumps are vital to hinder toxic effects (Spampanato et al., 2018). P-gp, which has affinity to IVM, is one of these pumps. IVM overdoses in humans are mainly characterized by extended coma and hypotension (Chung et al., 1999). Severe signs of neurotoxicity and potential lethality can be observed in P-gp deficient dogs with a standard therapeutic dose (0.2 mg/kg). This polymorphism is rare in humans, but very common on Collie-like dog breeds. Interestingly, MOX is not toxic to these animals and showed less affinity (10-fold) to P-gp than IVM (Ménez et al., 2012).

Models of P-gp deficient mice show that the s.c. LD50 for IVM is 0.40 mg/kg or 0.46 $\mu\text{mol/kg}$, with literature depicting 27–34 $\mu\text{mol/kg}$ for wild-type mice. For MOX, the LD50 was 1.47 mg/kg or 2.3 $\mu\text{mol/kg}$ in P-gp deficient mice, with literature depicting 70–131 $\mu\text{mol/kg}$ in wild-type mice. The onset of toxicological signs started at 6 h for IVM and 4 h for MOX. The lethality for both compounds happened between 8 and 12 h post administration (Ménez et al., 2012). These above stated LD50 differences between wild-type and P-gp deficient animals indicate that, although MOX possesses less affinity to P-gp, there still is some level of efflux. Furthermore, the concentration of these compounds in the CNS does not seem to be directly correlated to their toxicity. At the LD50 the concentration of MOX in the brain was 830 versus IVM's 270 pmol/g. Assuming the toxicity is GABA-A mediated, this suggests that these compounds show different GABA-A activation profiles (Ménez et al., 2012).

The gamma-aminobutyric acid is one of the main inhibitory neurotransmitters. It acts mainly on two receptors, GABA-A, ionotropic and GABA-B, metabotropic. The GABA-A

receptor is a pentameric receptor composed of varying combinations of subunits, with 19 different types of subunits already identified ($\alpha 1-6$, $\beta 1-3$, $\gamma 1-3$, δ , ϵ , θ , π and $\rho 1-3$) (Farrant & Nusser, 2005).

Most GABA-A receptors are found at the synaptic junction; however, they have also been encountered throughout the neuronal surface independent of synaptic contact, both by electron microscopy and electrophysiological tests. Their concentration, however, diminishes the further away the site is from a GABA-releasing site (Nusser et al., 1995).

Receptors of different subtypes, i.e. composed of different combinations of subunits, seem to populate different areas of the neuron, where, for example, receptors expressing the gamma subunit are present mainly in synapses and delta-containing receptors in extra synaptic areas. Different combinations of subunits give specific characteristics to the receptor, such as sensitivity to benzodiazepines, conferred by the presence of the gamma subunit with certain alpha subunits. GABA-A receptors' main function is to open chloride channels, leading to chloride influx and cellular hyperpolarization, resulting in inhibitory postsynaptic currents (Zorumski et al., 2013).

Trying to better understand the different effects MOX and IVM have over mammalian GABA-A receptors, *Xenopus laevis* oocytes expressing rat $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ GABA-A receptors were exposed to saline containing 0.05 μM –1 mM GABA and the tested compounds. The results showed that at low receptor occupancy (EC10) both IVM and MOX were able to potentiate GABA receptors demonstrating that both compounds can act as positive allosteric modulators of the mammalian GABA-A receptor. At a concentration averaging 0.5 μM , however, IVM caused almost twice the maximal potentiation of the GABA-A receptor than MOX, indicating that IVM's potentiating response is much greater than MOX's at that concentration (Ménez et al., 2012).

The shape of the GABA-potential curves was also different between the compounds, with IVM having a Hill slope of 1.52 ± 0.45 and MOX of 0.34 ± 0.56 . “A Hill coefficient greater than one for IVM suggests positive cooperativity, i.e., once one molecule is bound to the receptor, the affinity of the receptor for the molecule increases”, while a coefficient under one suggests negative cooperativity. This data indicates that at sublethal concentrations, IVM’s action can potentiate GABA-A receptors at a greater extent than MOX, contributing to its higher toxicity (Ménez et al., 2012).

IVM has a higher and faster penetration rate into the brain and lower toxicity threshold than MOX. Both compounds are able to allosterically modulate GABA-A receptors; but at higher concentrations MOX is less potent than IVM (Ménez et al., 2012). Moxidectin, then, possesses lower neurotoxicity and a more favorable margin of safety over IVM, especially at higher concentrations. This would contribute to a safer long-term use of MOX over IVM for preventing accumulation of the compound in the CNS, both in healthy and in p-gp deficient patients, leading to a diminished likelihood of coma due to the overstimulation of GABA-A receptors (Huynh et al., 2017).

It is of note that the concomitant use of two or more pharmaceuticals that depend on P-gp for removal from the brain may lead to an exhaustion of the protein. Therefore, MOX seems to again be safer in comparison to IVM in multi-drug scenarios due to its lower dependence on P-gp for removal from the CNS, diminishing the likelihood of adverse effects and/or intoxication (Huynh et al., 2017).

Live CA1 hippocampal pyramidal neurons from brain slices of young-adult male and female Sprague-Dawley rats and CD-1 mice’s miniature inhibitory postsynaptic currents (mIPSCs) were recorded with a whole cell patch-clamp configuration. Statistical differences on tonic currents were observed in the concentrations of 100 nM, 300 nM, and 1 μ M of MOX,

while the concentration of 10 nM presented no such differences. No effect was found in phasic currents in any of the concentrations tested. The EC50 for tonic currents found was 152nM (Spampanato et al., 2018).

The study suggests that the effect of moxidectin on the profile of observed phasic and tonic currents is by direct potentiation of GABA-activated currents at the extra and peri synaptic GABA-A receptors and not by a presynaptic mechanism (Spampanato et al., 2018).

It is important to highlight that phasic and tonic currents seem to be mediated by different subtypes of the GABA-A receptor. Phasic currents are short-duration high-intensity currents which result from synaptic release of GABA, where tonic currents are non-inactivating and longer-lasting, more associated with the activation of extra and peri synaptic GABA-A receptors which, in CA1 pyramidal neurons, contain the subunit $\alpha 5$. Previous studies showed that MLs have a fivefold increase in selectivity for $\beta 3$ -containing receptors, subunits that naturally pair with $\alpha 5$ subunits (Spampanato et al., 2018). MOX could specifically potentiate tonic GABA currents through $\alpha 5\beta 3$ -containing receptors, more commonly found at the extra and peri synaptic spaces (Spampanato et al., 2018), but it is capable of modulating rat $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ GABA-A receptors as well (Ménez et al., 2012).

The estimated concentration of MOX 24h after a standard endectocidal dose of 0.2mg/kg in wild-type mice is around 9nM, well below the EC50 found. This concentration, however, would be higher in animals with low or non-functional p-gp and/or higher doses (Spampanato et al., 2018). This finding corroborates the many years in which this compound was used as an endectocide with little to no behavioral effects observed.

Alcohol Use Disorder

P2X4 receptors are one of the most sensitive purinergic receptors, capable of identifying ATP at nanomolar concentrations. They're widely expressed in central and peripheral neurons and microglia, but are also present in the epithelium and endothelium. The P2X family of receptors is involved in a myriad of functions such as synaptic transmission, muscle contraction, platelet aggregation, inflammation, macrophage activation, cell differentiation and proliferation and neuropathic and inflammatory pain. P2X4, however, is mainly responsible for neurotransmission and has been associated with alcohol-induced responses of microglia, inflammation and neuropathic pain (Suurväli et al., 2017).

Avermectins, such as IVM, have been successful as pharmacotherapeutic drugs in lowering the intake of ethanol in different drinking paradigms in male and female mice. Ivermectin is speculated to be helpful in animal models of Alcohol Use Disorder (AUD) due to its ability to significantly reduce or eliminate the inhibitory effects of ethanol on P2X4 receptors (P2X4R). This effect was observed in vitro and is a common mechanism utilized for the screening of potentially useful drugs for AUD. When P2X4R's effect is reduced or eliminated in animals a significant decrease in alcohol intake is observed (Huynh et al., 2017).

MOX was observed as potent in decreasing the intake of alcohol in both sexes in a dose dependent manner. Doses starting from 1.25 mg/kg were effective, but 2.5 mg/kg MOX was the lowest dose that caused the maximum reduction in ethanol intake, that being a 44% decrease in females and 55% in males. The effect of a single administration lasted between 1 and 2 days, with behavioral effects starting at 4 hours. Doses of 5mg/kg and above impaired food intake, but did not cause significant changes in body weight during the time tested (Huynh et al., 2017).

In a five-day treatment with 2.5 mg/kg, MOX was effective in lowering the ethanol consumption of female mice. There was no interaction between treatment and time, however, meaning the effect found at the first day of treatment remained constant throughout the

experiment. There was no impact on water, food intake or body weight in these animals. A drinking-in-the-dark paradigm showed that MOX administration consistently reduced ethanol intake across the testing period. (Huynh et al., 2017).

The effects of 0.5 and 1 μM concentration of MOX were tested in *Xenopus* oocytes injected with rat P2RX4 gene accompanied by “behaviorally relevant concentrations of ethanol (25 and 50 mM)”. As expected, both doses of ethanol significantly inhibited ATP-gated P2X4R currents. Both doses of MOX produced a comparable degree of potentiation of P2X4R activity. The lower concentration of MOX, however, was only capable of significantly reducing the inhibitory effect of the lower concentration of ethanol. The dose of 1 μM of MOX was capable of eliminating the inhibitory effect of ethanol at both concentrations. Therefore, the concentration of 1 μM of MOX was capable of antagonizing the effects of ethanol on P2X4 receptors (Huynh et al., 2017).

More studies analyzed the effects of MOX on different drinking paradigms, such as adult male Swiss mice, divided into four groups: the control group (saline + saline); alcohol group (saline + alcohol) and moxidectin treatment groups (moxidectin (5 and 10 mg/kg, i.p.) + alcohol respectively) with 10 and 20 mg/kg of moxidectin administered i.p. in the conditioning phase 30 min before the alcohol injections showed significant effect of time, treatment and time x treatment. Post-hoc analysis indicated that MOX at the dose of 10 mg/kg is successful in decreasing the time in the drug-associated chamber, but 5 mg/kg is not (Ekici et al., 2022). One limitation of this study is the short window between MOX and alcohol injections. As one of the previous papers cited, MOX may take 4 hours to reach effect (Huynh et al., 2017), possibly explaining the ample difference between the needed doses to reach efficacy between the studies.

The conditioned place preference test is based on Pavlov’s discoveries, where a strong association is formed between contextual stimuli and a psychoactive drug. In the test the animal

is repeatedly placed in one of two distinct environments when under effect of a psychoactive and in another environment after receiving none or an inert substance. In a second moment animals are given the chance to move freely between environments. Then, the amount of time spent on each environment is an indicator of the animal's preference for the psychoactive or drug-free state. Animals that spend more time in the drug-associated chamber are said to have acquired incentive salience, reflecting the rewarding properties of the pharmaceutical. Therefore, this test is commonly used to study drug reward processes in rodents and substance addiction as a whole (Napier et al., 2013).

Moxidectin at the dose of 10 mg/kg is successful not only in inhibiting the acquisition of Conditioned Place Preference (CPP), but also in extinguishing and preventing the reinstatement of alcohol induced CPP following a low priming dose of ethanol in mice. GABA agonists (such as sodium oxybate, baclofen, gabapentin, pregabalin and tiagabine) have been shown as capable of reducing alcohol dependence, and that is one of the suggested mechanisms by which MOX could decrease the ethanol-induced CPP (Ekici et al., 2022).

P2X4 (Huynh et al., 2017), GABA-ARs (Ménez et al., 2012), glycine, and nAChRs (Wolstenholme & Rogers, 2005) receptors are all targets ML have been shown to interact with. Notably, all these receptors have been linked to the modulation of the mesolimbic dopamine activity and regulation of ethanol consumption behavior. The effects observed by the administration of MOX should not be read as exclusive to GABA-A or P2X4 receptors, but by cumulative effect on those and possibly others more (Huynh et al., 2017).

Major Depressive Disorder

Male adult Wistar-Kyoto rats receiving daily doses of either saline or 2.5 mg/kg of MOX i.p. for seven days showed significant differences on multiple species of bacteria in their

gut microbiome. The gut bacteria associated with mood enhancement (e.g. Bifidobacterium and Lactobacillus) were increased, while those associated with inflammation (e.g. Ruminococcus) were decreased (Getachew et al., 2019).

Inflammatory pathologies, such as diabetes, obesity and infections have high comorbidity with Major Depressive Disorder (MDD). Many clinical and preclinical studies have shown increased levels of pro-inflammatory cytokines in patients with MDD and animals with depressive-like behaviors. Also, treatments that involve pro-inflammatory medication, such as Interferon alpha, have as a side effect high probabilities of developing MDD (Troubat et al., 2021). A factor highly correlated to increased systemic levels of inflammatory cytokines is a “leaky gut”, an increase of intestinal permeability, allowing bacteria or parts of them to cross the intestinal barrier and reach the bloodstream. This is often secondary to an imbalance of the native flora, or dysbiosis (Suneson et al., 2021). Therefore, the increase of gut bacteria associated with mood enhancement and a decrease of inflammation-linked species could explain one of the potential pathways through which MOX produces its antidepressant effect (Getachew et al., 2019).

MOX has been shown as capable of direct modulation of the CNS, however, therefore further studies were developed to investigate these effects. Adult male Wistar-Kyoto rats who received 2.5 mg/kg MOX i.p. in a single dose showed decreased immobility time in the forced swim test at the 24 hour and 7-day marks when compared to rats that received saline, indicating lower depressive-like behavior. The test was performed again at the 14-day mark, but the results were no longer statistically significant. There was no impact on locomotor activity (Getachew & Tizabi, 2019).

Brains of adult male Wistar-Kyoto rats who received 2.5 mg/kg MOX i.p. 24 hours before tissue collection showed a statistically significant increase of BDNF and decrease of TNF- α in western blot analysis in both cortex and hippocampus (Getachew & Tizabi, 2019).

TNF- α , an inflammatory cytokine, has been previously shown to be increased in patients with MDD and associated with depressive-like behavior in mice (Cheng et al., 2018; Liu et al., 2012).

BDNF, or brain-derived neurotrophic factor, is a neurotrophin that mediates adult hippocampal neurogenesis, neuronal differentiation, growth, plasticity and synaptic development and influences dopaminergic and serotonergic neurotransmission (Colucci-D'Amato et al., 2020). It has also been associated with MDD, in which patients and animals with depressed mood express less of this protein, while successful treatment tends to rescue it to normal levels (Troubat et al., 2021).

Another factor not discussed by these papers is the previously shown GABA-A modulation of MOX. A new drug called Brexanolone has been approved by the FDA for treatment of postpartum depression (Azhar & Din, 2023). It is a form of a naturally occurring neurosteroid, allopregnanolone, that has been consistently shown to be decreased in postpartum depression, MDD and post-traumatic stress disorder patients in serum and cerebrospinal fluid. It acts as a positive allosteric modulator of GABA-A (Pinna et al., 2022).

We speculate that the positive allosteric modulation of GABA-A receptors may be one of the pathways through which MOX exerts its antidepressive effect.

Parkinson's Disease:

The degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta (SNpc) and the ventral tegmental area, results in dopamine depletion in the basal ganglia and its circuitry, leading to Parkinson's disease (PD). All the current pharmacological approaches aim to reestablish the dopamine deficit, be it via inhibition of its decarboxylase, supplementation of its precursors or dopaminergic agonists. There is no cure for PD and this line of treatment still has many limitations (Warnecke et al., 2020).

P2XRs are one potential system which could potentially modulate endogenous dopamine levels. The P2X4R subtype is expressed throughout the CNS, including co-localization with the aforementioned dopaminergic neurons in the SNpc and with GABA containing projection neurons in the striatum. P2X4Rs are capable of regulating dopamine release, increasing the expression of dopamine receptors and transporter, and increasing its biosynthesis via tyrosine hydroxylase (Warnecke et al., 2020). There are no selective P2X4R agonists, but MOX and IVM have been shown to be positive modulators, for example on alcohol drinking preference modulated by P2X4Rs (Huynh et al., 2017).

C57BL/6J mice of both sexes submitted to stereotaxic surgery with unilateral lesioning with 6-hydroxydopamine (6-OHDA) and receiving IVM associated with L-DOPA showed statistically significant increases in rotational behavior, therefore a potential treatment option. MOX, also associated with L-DOPA, did not present statistically significant results in either sex in doses of 2.5 and 5 mg/kg. IVM and MOX have been previously reported as possessing no effect on this model when used by themselves (Warnecke et al., 2020).

Tables:

Summary of results found on *Ex Vivo/In Vitro* studies:

Study	Species	Receptor/Cell type	Concentration	Results
Spampanato et al., 2018	Sprague-Dawley rats	Live neurons from brain slices of CA1 pyramidal neurons of the dorsal hippocampus	10nM to 1µM	No effect on phasic currents All but 10nM yielded results on tonic currents EC50 for tonic currents was 152nM
Huynh et al., 2017	<i>Xenopus laevis</i>	Oocytes injected with rat P2X4R gene	0.5 and 1 µM concentration of MOX 25 and 50 mM of ethanol	Both doses of MOX produced a comparable degree of potentiation of P2X4R activity. But the lower concentration of MOX was only capable of significantly reducing the inhibitory effect of the lower concentration of ethanol.
Ménez et al., 2012	<i>Xenopus laevis</i>	Oocytes expressing rat $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ GABA-A receptors	0.0001 to 10 µM	MOX possesses a Hill coefficient of 0.34 ± 0.56 in rat $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ GABA channels expressed in <i>Xenopus oocytes</i>

Summary of results found on *In Vivo* studies:

Study	Animals	Dose(s)	Pathophys. Model	Tests	Main Results
Ekici et al., 2022	Swiss mice, male	5 and 10mg/kg	AUD	Conditioned Place Preference	10 mg/kg dose was effective in reverting CPP, 5 mg/kg was not
Huynh et al., 2017	C57BL/6J mice	From 0.65 to 10mg/kg	AUD	Two Bottle Choice, Drinking in the Dark	Doses of 1.25 mg/kg and higher were effective in acute treatment in a dose dependent manner. The dose of 2.5 mg/kg was the lowest dose that achieved the maximum result. Dose of 2.5 mg/kg was tested in a 5-day model and was effective
Ménez et al., 2012	Mdr1ab (-/-) mice	-	P-gp deficiency	LD50	LD50 of 1.47 mg/kg, or 2.3 µmol/kg. The literature LD50 for wild-type mice is 70 to 131 µmol/kg
Warnecke et al., 2020	C57BL/6J	2.5 and 5mg/kg	Parkinson's Disease	6-OHDA unilateral lesioning	No effect by itself or when associated with L-DOPA
Getachew et al., 2018	Wistar-Kyoto rats, male	2.5 mg/kg, 7d	MDD	Stool bacterial DNA analysis	MOX positively affected the gut microbiome
Getachew and Tizabi, 2019	Wistar-Kyoto rats, male	Single dose, 2.5 mg/kg	MDD	Forced Swim Test	MOX lowered the immobility time in the FST test at the 24 h and 7 d mark. Also increased BDNF and decreased TNF- α

Conclusion

Alcohol use and mood disorders remain elusive in their pathophysiology. The monoaminergic theory of depression, which had been the most accepted for the last decades, has been losing traction not only by the limited results found in its replacement therapy, but also by recent reviews which show that there is no high quality or convincing evidence that depression is associated with, or caused by, lower serotonin concentrations or activity (Moncrieff et al., 2023). Therefore, while no new breakthroughs in its pathophysiology are discovered, new targets and compounds for treatments of this and other mood disorders are urgently needed.

And there we may find moxidectin. The results presented in this paper show the compound as quite safe, by its wide therapeutic margin and under-one Hill coefficient, shows quick effectiveness; especially when compared to standard antidepressants such as SSRIs, which may take up to six weeks to reach maximum effect (Pinna et al., 2022). It is effective in most of the paradigms tested, potentially possessing dual action in mood disorders by direct modulation of the CNS as well as the gut microbiome (Getachew et al., 2019).

Very few studies were found about this subject. This was surprising to our team given how positive the results were. We stimulate further research on this compound as a neuromodulator in more diverse depression-like and drug abuse-like paradigms.

References

- Azhar, Y., & Din, A. U. (2023). Brexanolone. In StatPearls. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31082098>
- Campbell, W. C. (2012). History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(6), 853–865. <https://doi.org/10.2174/138920112800399095>
- Cheng, Y., Desse, S., Martinez, A., Worthen, R. J., Jope, R. S., & Beurel, E. (2018). TNF α disrupts blood brain barrier integrity to maintain prolonged depressive-like behavior in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 69, 556–567. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.02.003>
- Chung, K., Yang, C. C., Wu, M. L., Deng, J. F., & Tsai, W. J. (1999). Agricultural avermectins: an uncommon but potentially fatal cause of pesticide poisoning. *Annals of Emergency Medicine*, 34(1), 51–57. [https://doi.org/10.1016/s0196-0644\(99\)70271-4](https://doi.org/10.1016/s0196-0644(99)70271-4)
- Colucci-D'Amato, L., Speranza, L., & Volpicelli, F. (2020). Neurotrophic Factor BDNF, Physiological Functions and Therapeutic Potential in Depression, Neurodegeneration and Brain Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20). <https://doi.org/10.3390/ijms21207777>
- Couture, L., Nash, J. A., & Turgeon, J. (2006). The ATP-binding cassette transporters and their implication in drug disposition: a special look at the heart. *Pharmacological Reviews*, 58(2), 244–258. <https://doi.org/10.1124/pr.58.2.7>
- Ekici, A., Gürbüz, E., Berköz, M., Türkmen, Ö., Başbuğan, Y., & Yunusoğlu, O. (2022). Investigation of the impact of antiparasitic drug moxidectin on the rewarding effects of alcohol. *General Physiology and Biophysics*, 41(3), 245–253. https://doi.org/10.4149/gpb_2022014

Farrant, M., & Nusser, Z. (2005). Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA(A) receptors. *Nature Reviews. Neuroscience*, 6(3), 215–229. <https://doi.org/10.1038/nrn1625>

Getachew, B., Reyes, R. E., Davies, D. L., & Tizabi, Y. (2019). Moxidectin Effects on Gut Microbiota of Wistar-Kyoto Rats: Relevance to Depressive-Like Behavior. *Clinical Pharmacology and Translational Medicine*, 3(1), 134–142. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31321385>

Getachew, B., & Tizabi, Y. (2019). Antidepressant effects of moxidectin, an antiparasitic drug, in a rat model of depression. *Behavioural Brain Research*, 376, 112220. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112220>

Huynh, N., Arabian, N., Naito, A., Louie, S., Jakowec, M. W., Asatryan, L., & Davies, D. L. (2017). Preclinical development of moxidectin as a novel therapeutic for alcohol use disorder. *Neuropharmacology*, 113(Pt A), 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.09.016>

International Transporter Consortium, Giacomini, K. M., Huang, S.-M., Tweedie, D. J., Benet, L. Z., Brouwer, K. L. R., Chu, X., Dahlin, A., Evers, R., Fischer, V., Hillgren, K. M., Hoffmaster, K. A., Ishikawa, T., Keppler, D., Kim, R. B., Lee, C. A., Niemi, M., Polli, J. W., Sugiyama, Y., ... Zhang, L. (2010). Membrane transporters in drug development. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 9(3), 215–236. <https://doi.org/10.1038/nrd3028>

Jarada, T. N., Rokne, J. G., & Alhajj, R. (2020). A review of computational drug repositioning: strategies, approaches, opportunities, challenges, and directions. *Journal of Cheminformatics*, 12(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00450-7>

Liu, Y., Ho, R. C.-M., & Mak, A. (2012). Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF- α) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with major depressive disorder: a meta-analysis and meta-regression. *Journal of Affective Disorders*, 139(3), 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2011.08.003>

Ménez, C., Sutra, J.-F., Prichard, R., & Lespine, A. (2012). Relative neurotoxicity of ivermectin and moxidectin in *Mdr1ab* (-/-) mice and effects on mammalian GABA(A) channel activity. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(11), e1883. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001883>

Moncrieff, J., Cooper, R. E., Stockmann, T., Amendola, S., Hengartner, M. P., & Horowitz, M. A. (2023). The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Molecular Psychiatry*, 28(8), 3243–3256. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01661-0>

Napier, T. C., Herrold, A. A., & de Wit, H. (2013). Using conditioned place preference to identify relapse prevention medications. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(9 Pt A), 2081–2086. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.05.002>

Nusser, Z., Roberts, J. D., Baude, A., Richards, J. G., & Somogyi, P. (1995). Relative densities of synaptic and extrasynaptic GABAA receptors on cerebellar granule cells as determined by a quantitative immunogold method. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 15(4), 2948–2960. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-04-02948.1995>

Pinna, G., Almeida, F. B., & Davis, J. M. (2022). Allopregnanolone in Postpartum Depression. *Frontiers in Global Women's Health*, 3, 823616. <https://doi.org/10.3389/fgwh.2022.823616>

Rodrigues-Alves, P. S. B., Lebrun, I., Flório, J. C., Bernardi, M. M., & Spinosa, H. de S. (2008). Moxidectin interference on sexual behavior, penile erection and hypothalamic GABA levels of male rats. *Research in Veterinary Science*, 84(1), 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.04.003>

Spampanato, J., Gibson, A., & Dudek, F. E. (2018). The antihelminthic moxidectin enhances tonic GABA currents in rodent hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*, 119(5), 1693–1698. <https://doi.org/10.1152/jn.00587.2017>

Suneson, K., Lindahl, J., Chamli Hårsmar, S., Söderberg, G., & Lindqvist, D. (2021). Inflammatory Depression-Mechanisms and Non-Pharmacological Interventions. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4). <https://doi.org/10.3390/ijms22041640>

Suurväli, J., Boudinot, P., Kanellopoulos, J., & Rüütel Boudinot, S. (2017). P2X4: A fast and sensitive purinergic receptor. *Biomedical Journal*, 40(5), 245–256. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2017.06.010>

Troubat, R., Barone, P., Leman, S., Desmidt, T., Cressant, A., Atanasova, B., Brizard, B., El Hage, W., Surget, A., Belzung, C., & Camus, V. (2021). Neuroinflammation and depression: A review. *The European Journal of Neuroscience*, 53(1), 151–171. <https://doi.org/10.1111/ejn.14720>

Warnecke, A. M. P., Kang, M. S., Jakowec, M. W., & Davies, D. L. (2020). The macrocyclic lactones ivermectin and moxidectin show differential effects on rotational behavior in the 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease. *Behavioural Brain Research*, 393, 112804. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112804>

Wessler, J. D., Grip, L. T., Mendell, J., & Giugliano, R. P. (2013). The P-glycoprotein transport system and cardiovascular drugs. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(25), 2495–2502. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.02.058>

Wolstenholme, A. J., & Rogers, A. T. (2005). Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. *Parasitology*, 131 Suppl, S85–S95. <https://doi.org/10.1017/S0031182005008218>

Zorumski, C. F., Paul, S. M., Izumi, Y., Covey, D. F., & Mennerick, S. (2013). Neurosteroids, stress and depression: potential therapeutic opportunities. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(1), 109–122. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.10.005>

4.2 MANUSCRITO 2

O manuscrito apresentado a seguir é o artigo original efetuado e inclui as seções “Introdução”, “Materiais e Métodos”, “Resultados”, “Discussão”, “Conclusão” e “Referências”. Está formatado de acordo com as normas de submissão da revista Behavioral Neuroscience, a que foi submetido.

Antidepressant Exploration of Moxidectin: Effects on Behavior, Neurotrophic Factors and Oxidative Stress Biomarkers in Mice

Gregory Klein Schneider¹, Francini Arboit², Vitória Schnath³, Guilherme Vargas Bochi⁴, Maria Amália Pavanato⁴, Isabela Andres Finamor⁴, Valério Marques Portela⁴, Leonardo Andrade² and Eliane Maria Zanchet⁴

¹Programa de Pós-graduação em Farmacologia – UFSM, Santa Maria, RS, Brazil

²Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária – UFSM, Santa Maria, RS, Brazil

³Programa de Graduação em Medicina Veterinária – UFSM, Santa Maria, RS, Brazil

⁴Departamento de Fisiologia e Farmacologia – UFSM, Santa Maria, RS, Brazil

Author Note

ORCID:

G.K.S 0000-0003-3205-5252; F.A. 0000-0002-4112-809X; V.S. 0009-0006-7849-193X;
G.V.B.0000-0003-1871-1356; M.A.P. 0000-0002-1348-3828; I.A.F. 0000-0003-4537-4850;
V.M.P 0000-0003-2109-1346; L.A. 0000-0003-3638-0490; E.M.Z. 0000-0001-8094-3372

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

All funding was provided by CAPES/Brazil.

Corresponding author: eliane.m.zanchet@ufsm.br

Abstract

Major depressive disorder is a reality to an increasing number of individuals worldwide, yet, it is still poorly understood and its treatment remains lackluster. Due to the subpar success rates of traditional monoaminergic pharmacotherapy, new targets have been explored. Here, the behavioral effects of a single dose of moxidectin (MOX) (1.5 mg/kg, s.c.), a drug capable of allosterically modulating GABA_A channels, was evaluated in male Swiss mice by the tail suspension (TST), splash (SPT), open field and elevated plus maze tests. MOX was capable of significantly decreasing the immobility time in TST and increasing grooming time in SPT, suggesting an antidepressant effect. To further explain the molecular pathways underlying MOX's observed behavioral changes, neurotrophic factors and oxidative stress biomarkers were identified. An increase in brain-derived neurotrophic factor (*Bdnf*) mRNA was observed, possibly explaining the behavioral changes. An increase in total antioxidant capacity and glutathione S-transferase (GST) in the prefrontal cortex and a decrease of GST in the hippocampus of MOX-treated animals may have also contributed to these results. To our knowledge, this is the first study demonstrating the antidepressant-like effect of MOX in mice. While these results are preliminary, they're promising. The utilization of GABA_A modulators is an emerging and interesting new avenue to be explored in the treatment of neuropsychiatric ailments.

Keywords: depression, antiparasitic, BDNF, GABA_A, behavioral testing

Antidepressant Exploration of Moxidectin: Effects on Behavior, Neurotrophic Factors and Oxidative Stress Biomarkers in Mice

Depression affects around 5% of the world's adult population (WHO, 2024). According to the DSM-5-TR, Major Depressive Disorder (MDD) is characterized by a depressed mood and/or anhedonia plus five other criteria that involve changes in weight, sleep, energy levels, low self-esteem, suicidal ideation, and others in a manner that disturbs or interferes with the person's day to day life. Data on the overall efficacy of antidepressants is highly variable. One of the most complete and extensive studies to date relates a rate of remission of 36.8% on the first treatment attempt, with subsequent attempts reaching lower success rates, with an overall cumulative remission rate of 67%, leaving 33% of patients with unsatisfactory outcomes. Even when remission is achieved, MDD has very high relapse and recurrence rates (Rush et al., 2006).

Given the still unelucidated pathophysiology of MDD and the current lackluster performance of the monoaminergic therapy for its low success rates, various side effects, delayed onset and limited efficacy, new targets have been explored, such as the NMDA receptor and its antagonist esketamine, which has already been approved as an antidepressant by the FDA (FDA, 2020). Another promising pharmacological target is the GABA receptor, namely via allopregnanolone (Allo). Allo is an endogenous neuroactive steroid, a progesterone metabolite, capable of positive allosteric modulation of the GABA_A receptor. It has been observed that Allo is lower in patients with MDD, both in serum and cerebrospinal fluid in a symptom-related ratio, with levels rescued after successful treatment (Zorumski et al., 2013). Two compounds derived from Allo, brexanolone and zuranolone, have already been approved by the FDA as treatments for postpartum depression (PPD) (FDA, 2019). Another positive allosteric modulator of GABA_A is moxidectin (MOX), an originally antiparasitic compound

widely used in veterinary medicine (Ménez et al., 2012; Spampanato et al., 2018), which recently has been shown to possess antidepressant effects in rats (Getachew & Tizabi, 2019).

The current research aims to investigate the antidepressant potential of a single dose of MOX in male mice and identify some underlying molecular pathways, including neurotrophic factors and oxidative stress biomarkers.

Materials and Methods

Animals:

36 male Swiss mice, aged between 6 and 8 weeks old, weighing 30 to 40g were utilized. Animals were purchased from UFSM's central vivarium. The animals acclimatized to our vivarium for 6 days before the beginning of the experimental protocol. Animals were housed in standard shoebox cages with wood chip bedding and food and water *ad libitum* without any environmental enrichment. Standard vivarium humidity and temperature conditions with a 12-hour light/dark cycle. All administrations, manipulations and tests were performed under the light cycle, between 13:00 and 17:00 h. The animals were manipulated as little as possible.

Experimental design:

Animals were randomly divided in 3 groups of 11 animals. Groups consisted of MOX, fluoxetine (FLX) (positive control), or control (naïve). 24 hours after administering the compounds the open field test (OFT) and splash test (SPT) were carried out. On the following day, elevated plus maze test (EPM) and tail suspension test (TST), the last behavioral tests, were performed. On the next day, the animals were euthanized.

Drugs:

The MOX utilized was Cydectin 1% (Part.: 007/21, Zoetis, Brazil). It was diluted in 10% hydroalcoholic solution in a concentration that allowed the administration of 0.1 mL of solution for every 10g of weight. Animals received 1.5 mg/kg of body weight, s.c. The FLX utilized was Daforin 20 mg/mL (L2R9960, EMS, Brazil), diluted in saline in a concentration that allowed the administration of 0.1mL of solution for every 10g of weight. Animals received

10 mg/kg of body weight via gavage. Mice from the control group did not receive any administration.

Euthanasia was performed by isoflurane sedation followed by exsanguination via intraventricular blood draw. The animals were then decapitated, prefrontal cortex and hippocampus collected and frozen at - 80 °C until analysis. The entire protocol was approved and overseen by our institution's Committee of Ethics on Animal Experimentation (CEUA/UFSM: 3435310322). All possible measures were taken to minimize animal suffering.

Behavioral tests:

OFT was performed for 5 min, in which animals were recorded while alone in a room inside a circular 30 cm diameter apparatus (Prut & Belzung, 2003). The time spent in the middle of the apparatus or in the external zone was determined by ANY-Maze software. The inner 15 cm diameter was considered the central zone, the following 5 cm a neutral zone, and the outer 5 cm the periphery zone. The software was configured to account for the entire body with a head bias.

Immediately after, each animal underwent the SPT, adapted from Haj-Mirzaian et al. (2015). Animals were picked up, their back fur brushed with a finger against the grain once and a solution of 10% sucrose at room temperature sprayed, with a standard cleaning spray nozzle, on their backs four times. This was done to ensure the animals were properly soaked, given the hydrophobic nature of mice fur. They were reallocated to the same apparatus in which they underwent the OFT and were again left alone in the room while being recorded for 5 min. The time spent grooming was determined manually. After the test, the animals were gently washed with warm water and towel-dried before being returned to their cages. We adopted this protocol for the SPT so that the animals were already familiar with the environment and would spend less time exploring. After the SPT, the apparatus was cleaned with ethanol 30% before receiving the next animal.

The EPM test (Donatti et al., 2017) was performed in a standard mice elevated plus maze, each arm measuring 30 cm, in which the animals were left alone in a room while being recorded. Checks in the middle of the 5 min were quickly performed to ensure no animal had jumped from the apparatus. ANY-Maze software evaluated the total distance traveled, time spent in the neutral zone, open arms or closed arms, and number of entries in each zone. After the test ended the apparatus was cleaned with ethanol 30% to receive the next animal.

After all animals underwent the EPM, the TST was carried out (Steru et al., 1985). Animals were hung by their tails in a horizontal wooden rod using adhesive tape leaving 1 to 2 cm of tail above the tape. They were recorded while alone in a room, with a quick check in the middle to ensure no animal had fallen or climbed their tail. Animals who had were repositioned and the clock restarted. The test lasted 6 min, with the first two being discarded. Total immobility time was evaluated manually.

Assays:

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) determination was performed by homogenizing tissue samples with ice-cold 1.1% phosphoric acid and centrifuging at 1000 g for 5 min at 4 °C. The supernatants were used in the assay. It was performed by the addition of sample aliquots to tubes containing 7% phosphoric acid and a solution composed of 0.4% thiobarbituric acid, 20 mM NaOH, and 40 μ M butylated hydroxytoluene. The tubes were heated in a boiling-water bath for 45 min. They were rapidly cooled on ice and then butanol was added. Finally, the tubes were vortexed and centrifuged at 1000 g for 5 min at RT. The organic layer was removed and placed in a cuvette. The absorbance was measured at 532 nm. The TBARS levels were expressed as nmol/g tissue using $\epsilon = 156 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Hermes-Lima et al., 1995).

For the total antioxidant capacity (TAC) evaluation, a solution containing 5 mM 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) and 0.15 mM 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) in 20 mM phosphate buffer pH 7.0 was

incubated for 50 min at 45°C. The resulting solution was afterwards rapidly cooled on ice and kept at 4°C until use. The assay was carried out by the addition of sample aliquots to plates containing the ABTS/APPH solution at 22°C. The absorbance was recorded at 734 nm for 1 min. TAC was calibrated against ascorbic acid standards and expressed as $\mu\text{mol/g}$ tissue (Cao & Prior, 1998).

Glutathione S-transferase (GST) was measured according to Habig et al. (1974). Results are expressed as nmol/min/g tissue.

Nucleic acid extraction and qRT-PCR:

Prefrontal cortex and hippocampus samples were collected, immersed in TRIzol (ThermoFisher), and frozen at -80°C until analysis. All cited products were utilized as instructed by the manufacturer. The samples were extracted in TRIzol, followed by purification utilizing PureLink RNA MiniKit. Sample's quality and quantity were analyzed by the NanoDrop-1000 Spectrophotometer (Thermo Scientific). Invitrogen's Superscript III was utilized for cDNA synthesis. Real-time qPCR was performed using SYBR fluorophore GoTaq1 Green Master Mix (Promega Corporation). All samples were run in duplicates with negative controls. Housekeeping genes utilized were β -actin (Li et al., 2017) and HPRT (Peres et al., 2021). The genes tested were TNF- α (Peres et al., 2021), brain-derived neurotrophic factor (*Bdnf*) (Ubhi et al., 2012), and IL-6 (Chao et al., 2009). IL-6 and TNF- α samples did not replicate and therefore are not shown. β -actin was chosen as the control gene.

Statistical Analysis:

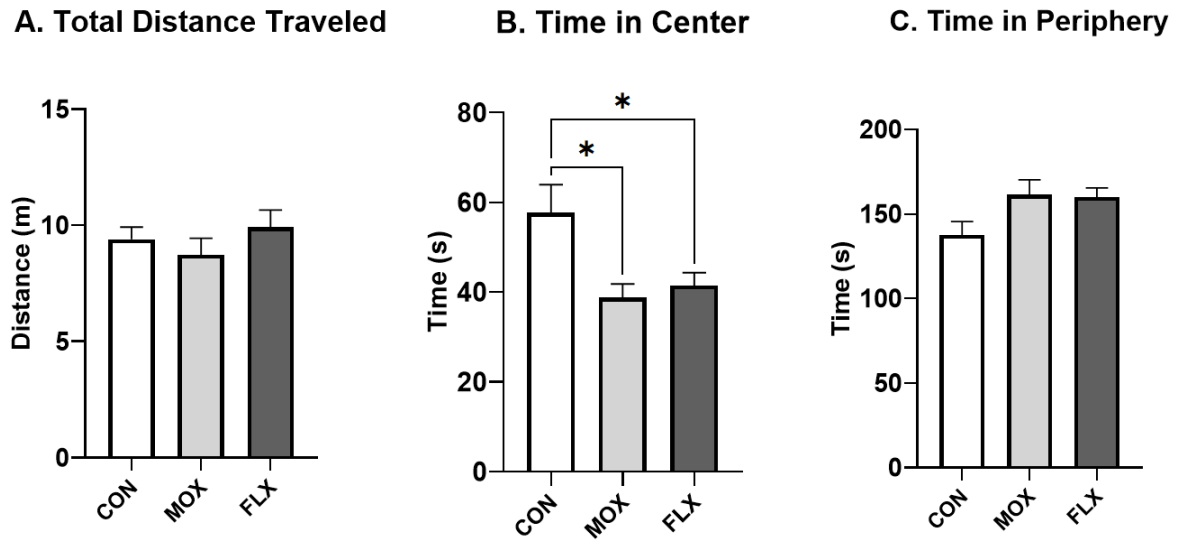
All data is expressed as mean \pm SEM and were analyzed and graphed using GraphPad Prism (version 9.0.0, San Diego, USA). The Shapiro-Wilk normality test was utilized, and points considered non-normal were removed. All data were analyzed using one-way ANOVA followed by Dunnett's post hoc test, with $p < 0.05$ considered significant.

Results

Behavioral Tests:

Single Moxidectin dose's Effect on Mice Behavior:

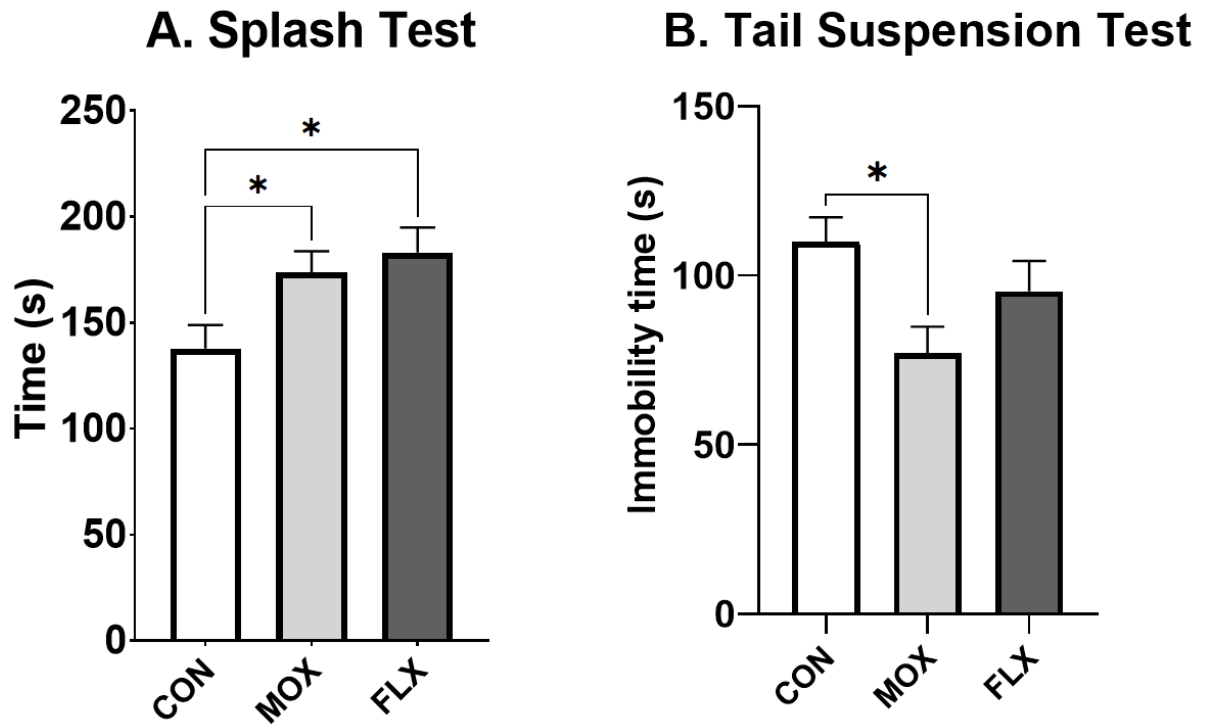
The behavioral response of mice exposed to MOX in the OFT demonstrated that in both groups, MOX and FLX, mice spent less time in the center (Fig. 1B), with p values of 0.0100 and 0.0430, respectively. No difference was observed in the total distance traveled (Fig. 1A) or time spent in the peripheral zone (Fig. 1C) when compared to the CON group. Regarding the SPT, MOX and FLX-treated animals spent significantly more time grooming than the CON group, with p values of 0.0441 and 0.0158 respectively (Fig. 2A) Moreover, MOX decreased the immobility time in the TST, with a p-value of 0.0130, whereas FLX had no effect on it (p value of 0.3377) (Fig. 2B). Finally, in EPM, no significant changes were observed in relation to the CON group (Fig. 3).

Figure 1*Effects of MOX on behavior: open field test*

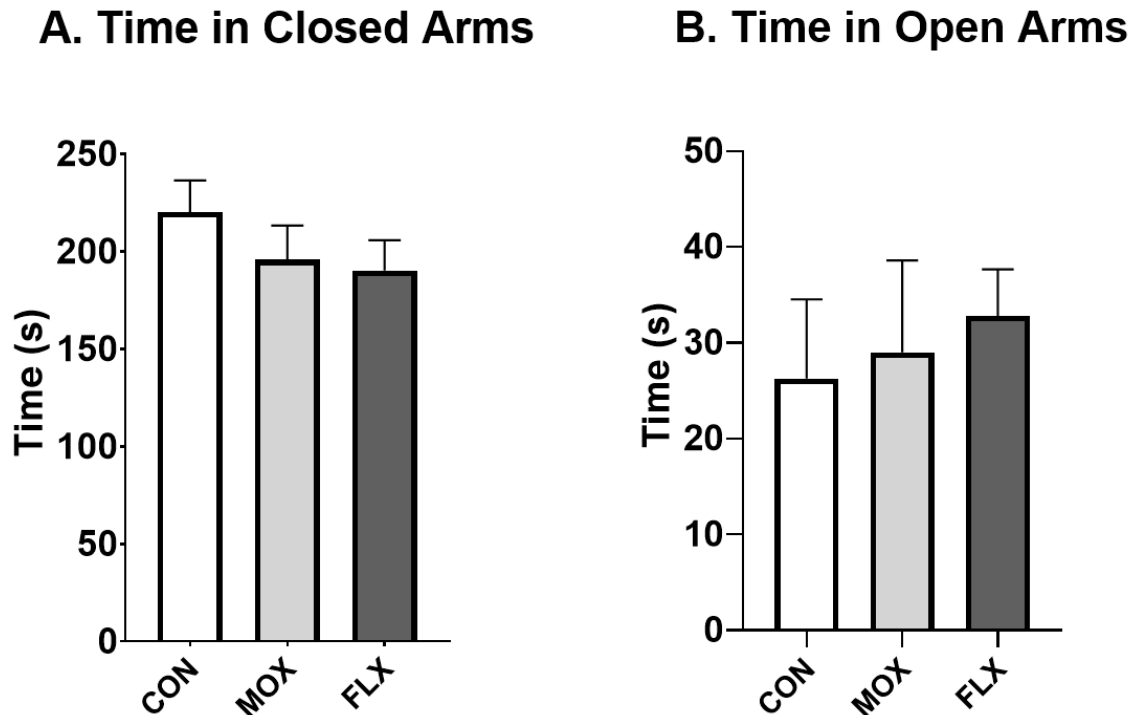
Results are presented as mean \pm SEM, $n=8\sim 11$ /group, * $p < 0.05$. (A) Total distance traveled; (B) Time spent in the central zone (C) Time spent in the outer zone. FLX was used as positive control. Abbreviations: CON, control group; FLX, fluoxetine; MOX, moxidectin.

Figure 2

Effects of MOX on behavior: splash and tail suspension tests



Results are presented as mean \pm SEM, $n=8\sim 11$ /group, * $p < 0.05$. (A) Time spent grooming on the SPT; (B) Time spent immobile in the TST. FLX was used as positive control. Abbreviations: CON, control group; FLX, fluoxetine; MOX, moxidectin; SPT, splash test; TST, tail suspension test.

Figure 3*Effects of MOX on behavior: elevated plus maze test*

Results are presented as mean \pm SEM, $n=8\sim 11$ /group, * $p < 0.05$. (A) Time spent in closed arms; (B) Time spent in open arms. FLX was used as positive control. Abbreviations: CON, control group; FLX, fluoxetine; MOX, moxidectin.

Single Moxidectin Dose's Effect on Oxidative Stress Biomarkers in the CNS:

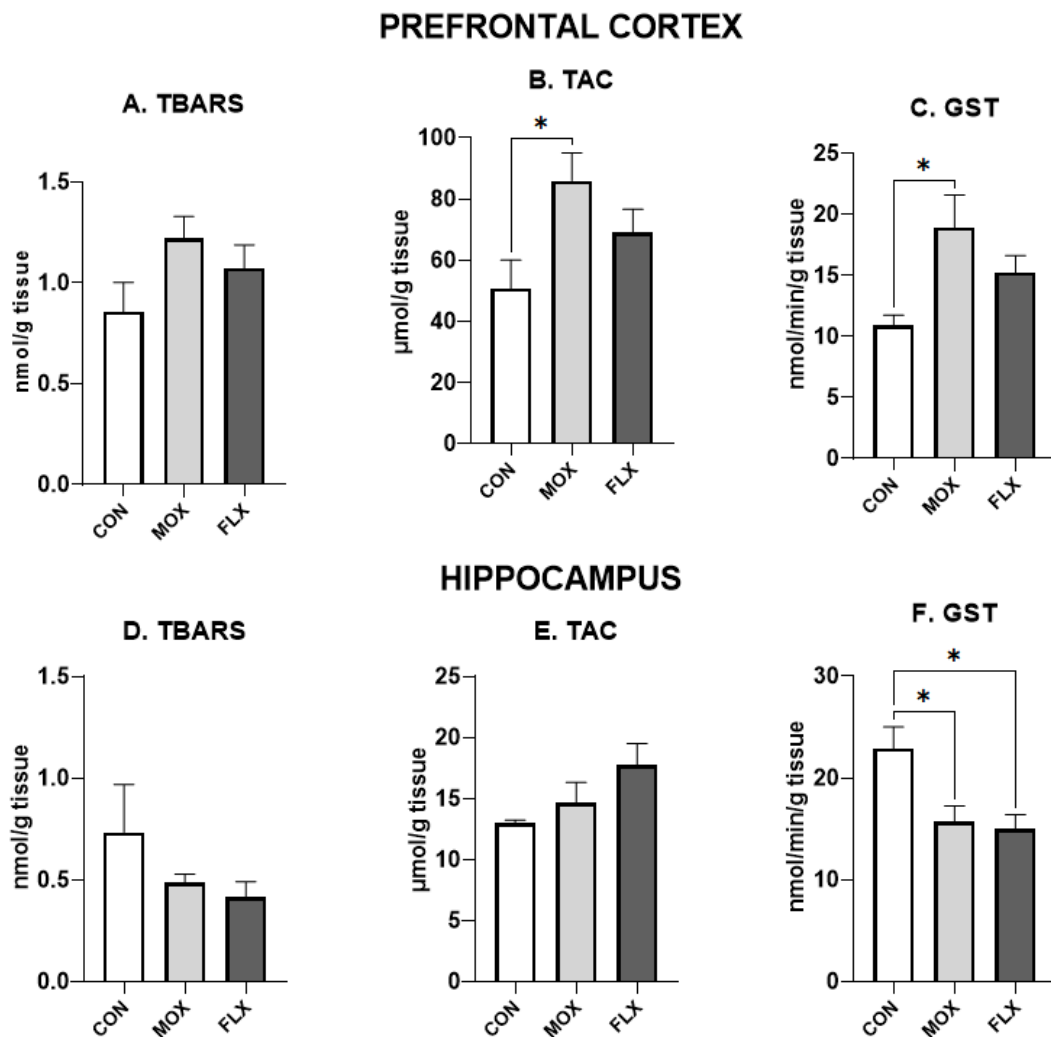
Regarding the prefrontal cortex, no significant changes were observed in TBARS levels between groups (MOX $p = 0.1430$, FLX $p=0.4109$) (Fig 4A). Furthermore, MOX increased TAC levels ($p = 0.0300$) (Fig 4B) and GST activity ($p = 0.0192$) (Fig 4C) FLX-treated animals exhibited no significant changes in any of the analyzed biomarkers when compared to the CON group.

In the hippocampus, TBARS levels did not differ in any of the treated groups (MOX $p = 0.4699$, FLX $p = 0.2685$) (Fig 4D). Moreover, MOX ($p = 0.6322$) or FLX ($p = 0.0617$) did

not change TAC levels (Fig 4E); treatment with either compound was linked to the decrease of GST activity in the hippocampus (MOX $p = 0.0226$, FLX $p = 0.0130$) (Fig. 4F).

Figure 4

Effects of MOX on the oxidative stress biomarkers of the CNS



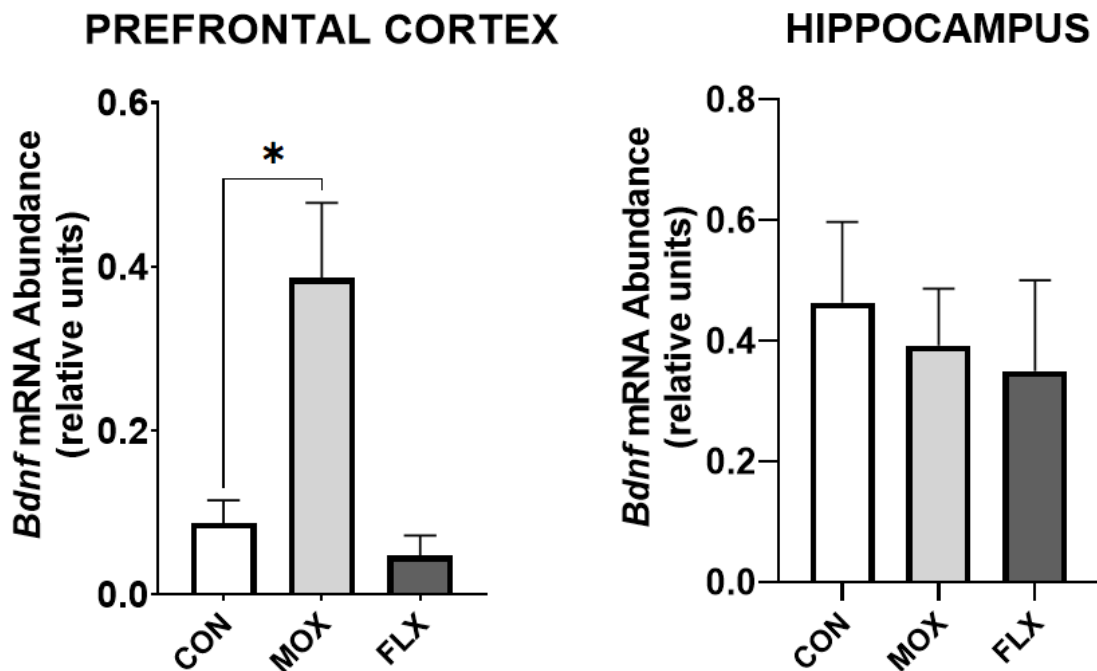
Results are presented as mean \pm SEM, $n=4\sim 5/\text{group}$, * $p < 0.05$. FLX was used as positive control. Abbreviations: CON, control group; FLX, fluoxetine; GST, glutathione S-transferase; MOX, moxidectin; TAC, total antioxidant capacity; TBARS, thiobarbituric acid reactive substances.

Single Moxidectin dose's Effect on mRNA levels of Bdnf:

Bdnf mRNA levels were upregulated in the prefrontal cortex of the MOX-treated mice ($p = 0.015$) (Fig 5). Its levels did not change significantly in the FLX group when compared to the CON group ($p = 0.8811$). No changes were seen in *Bdnf* mRNA levels in the hippocampus (MOX $p = 0.8745$, FLX $p = 0.7698$) (Fig 5).

Figure 5

Effects of MOX on Bdnf mRNA abundance in the CNS



Results are presented as mean \pm SEM, $n=3\sim5$ /group, * $p < 0.05$. FLX was used as positive control. Abbreviations: *Bdnf*, brain-derived neurotrophic factor; CON, control group; FLX, fluoxetine; MOX, moxidectin.

Discussion

The current treatment of depressive disorders consists of psychotherapy and pharmacotherapy with compounds such as selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors, molecules that intervene with the metabolism of serotonin and other biogenic amines (Park & Zarate, 2019). Even with the myriads of available compounds, treatment success rates are unsatisfactory, with up to 33% of patients not responding to four different treatment options (Rush et al., 2006).

This could perhaps be due to the still unelucidated pathophysiology of depressive disorders, which have been long theorized to be associated with a depletion of biogenic amines, but this notion has been recently called into question, with some authors stating that there is no direct correlation between depressive disorders and serotonin (Moncrieff et al., 2023). Therefore, new targets have been explored. One of which is the recently approved compound for the treatment of PPD brexanolone, a GABA_A positive allosteric modulator (Patterson et al., 2024).

A compound that acts as a positive allosteric modulator of GABA_A is MOX. Originally an antiparasitic, it was first marketed as an injectable for cattle in 1990, but it is nowadays widely utilized in most species in veterinary medicine (Spampanato et al., 2018) and is approved for human use by the FDA for onchocerciasis (FDA, 2018). It acts by targeting the parasite's glutamate-activated chloride channels, leading to paralysis and eventual death. These channels are not found in mammals, however, which contributes to little to no side-effects to its users. In doses above the standard endectocidal, however, the compound can interact with mammalian ionotropic channels, such as the aforementioned GABA_A (Spampanato et al., 2018). MOX has also shown promise in animal models of alcohol abuse disorder (Huynh et al., 2017).

In this paper, we show that a single dose of MOX was able to significantly decrease the immobility time in the TST and increase grooming time in the SPT, suggesting an antidepressant effect.

The TST is useful for assessing the behavioral effects of antidepressant compounds and other pharmacological and genetic manipulations relevant to depression (Cryan et al., 2005). Higher immobility times are associated with a depressed mood, where this immobility may be analogous to the clinical observations that depressed patients often lack sustained expenditure of effort (Weingartner & Silberman, 1982). Therefore, decreased immobility time appoints to a compound's antidepressant potential. MOX, in a single dose of 1.5 mg/kg, significantly decreased the immobility time in the TST. Our findings are congruent with data published by (Getachew & Tizabi, 2019), which demonstrated that MOX in a single dose induced a 30% decrease in immobility in the forced swim test in rats at the dose of 2.5 mg/kg.

Anhedonia is a behavior defined as the inability to feel pleasure or the lack of pleasure-seeking behaviors, a hallmark of depressive disorders. In animals, this behavior can be evaluated by the SPT. The number of sprays, test location, time of testing, or even variable analyzed in the splash test is not always consistent throughout the literature, but the consensus is that decreased number of grooming bouts and/or decreased total grooming time in rodents is correlated with anhedonic behavior (Bijani et al., 2024; Kalueff & Tuohimaa, 2005). Our results show that a single dose of MOX could lower the anhedonic behavior of mice within 24 h. We observed increased grooming time for both compounds, corroborating literature where FLX has been reported as capable of increasing grooming in mice (Isingrini et al., 2010).

Depressive disorders are often accompanied by anxiety. Therefore, the EPM test was performed to evaluate the anxiety levels of the treated animals. Albeit no significance was reached on either group, both showed tendencies to spend less time in open arms and more time in closed arms, an indication of anxiety. A review showed that FLX administration on naïve

animals can have an anxiogenic effect, often shown by decreased time spent in open arms in the EPM (Kryst et al., 2022).

The OFT is another popular test to measure animal anxiety-like behavior. Our results showed that both compounds were anxiogenic. MOX has been tested in rats in the OFT, but only the locomotor activity was reported as unchanged (Getachew & Tizabi, 2019), this corroborates our findings. Changes in locomotion, observed as increased total travel distance and/or number of crossings in the open field test, can indicate altered neurological processes or abnormal brain function (Kraeuter et al., 2019), therefore, the unaltered results found in the MOX group appoint to no deleterious effects on the observed mice. FLX has been shown consistently as having little to no effect on locomotion in mice (Kryst et al., 2022). Even though there are no reports of MOX's effect on the time spent on each zone in the OFT, there is weak evidence that allopregnanolone, another positive allosteric modulator of GABA_A, can cause an increase in anxious behavior in the OFT (Czlonkowska et al., 1999).

To our knowledge, this is the first work of literature that evaluates animal response to MOX in the SPT, TST and EPM and the first to evaluate time spent in different zones in the OFT. As shown, MOX had similar effects to FLX in most behavioral parameters. The increased grooming time in the splash tests appoints to diminished anhedonia and therefore diminished depressive-like behavior, as does the decreased immobility time in the tail suspension test. These findings agree with the reports of Getachew (2019) in the forced swim test in Wistar-Kyoto rats. With the intent of explaining the molecular basis of this behavioral change, Getachew also reported increased levels of BDNF in the central nervous system of these animals via Western Blot.

BDNF is one of the main proteins of the neurotrophin family. Neurotrophins are proteins synthesized by neurons and glial cells, responsible for modulating cellular and synaptic replication, maturation, and survival, vital processes for memory and learning (Allen et al.,

2013). Animal and human studies show a positive correlation between BDNF levels and mood scores, mainly in the cortex and hippocampus (Yu & Chen, 2011). Furthermore, BDNF mRNA abundance is modulated by stress, therefore, this seems to be a molecule with an important role in MDD (Kaufman et al., 2006). Stress causes a decrease in BDNF levels and interferes with the intracellular pathways activated by this neurotrophin, thus contributing to the atrophy and reduced activity of limbic structures (Castrén & Rantamäki, 2010).

The present study shows that MOX increases mRNA levels of *Bdnf* in the prefrontal cortex, but not hippocampus, of treated mice, 72 h after administration. (Getachew & Tizabi, 2019)), showed, via Western Blot, that a single MOX dose (2.5 mg/kg) was capable of increasing the BDNF protein levels in the frontal cortex and hippocampus of rats at the 24 h mark. This rapid effect of MOX may constitute an important mechanism for fast-acting antidepressants, a current weakness of traditional ones.

Another factor involved in neuropsychiatric disorders is oxidative stress. Oxidative stress is defined as the biologically damaging effects of free radicals such as reactive oxygen species (ROS). The presence of these molecules is normal and necessary for proper cellular functioning. However, when found in excess they may lead to cellular damage and even cellular death (Valko et al., 2007). Mitochondrial dysfunction has been observed in many disorders, some of which are neuropsychiatric (Black et al., 2015).

Some neuroactive compounds increase oxidative stress markers in the Central Nervous System (Malacarne et al., 2021) while others, such as FLX and other antidepressants, tend to decrease it (Abdel Salam et al., 2013; Chakraborty et al., 2009; da Silva et al., 2014). Therefore, we sought to evaluate the oxidative stress biomarkers in prefrontal cortex and hippocampus of mice treated with MOX to further analyze its potential as a neuromodulator.

TBARS, is widely utilized as a generic metric of lipid peroxidation in biological fluids, often considered a good indicator of the levels of oxidative stress within a biological sample

(Aguilar Diaz De Leon & Borges, 2020). The non-significant results found in both tissues are a positive result, since they indicate that the compounds did not negatively affect the CNS of the animals. Another commonly utilized tool in the evaluation of the antioxidant capacity of tissues is TAC. Our results showed MOX as capable of increasing the TAC of the mice's prefrontal cortex.

We observed a MOX-induced increase in cortical GST levels. The GSTs are a protein family of antioxidant enzymes that regulate stress-induced signaling pathways (Singh & Reindl, 2021). An isoform of GST, GST Mu, was found to be significantly decreased in the cortex of postmortem patients with MDD, schizophrenia and untreated bipolar disorder (Gawryluk et al., 2011), the MOX-induced increase found on our animals may be an early indicator of a potential drug candidate to for the treatment of these ailments. Once more, to our knowledge, these are the first reported effects of MOX on the oxidative stress parameters in the CNS of mice.

The utilization of FLX, a well-established compound in the treatment of MDD, as a positive control gives these results a more solid basis for understanding the behavioral effects of MOX. Albeit most behavioral results were similar, the mechanism of action of these compounds differs greatly. While FLX is a SSRI (Gram, 1994), this effect has not been demonstrated for MOX. MOX is a potent GABA_A positive allosteric modulator (Spampanato et al., 2018), as well as a P2X₄R modulator (Huynh et al., 2017).

Looking to further understand MOX's role in behavior, it is important to note that the dysregulation of the hippocampus-pituitary-adrenal (HPA) axis has been implicated to play a crucial role in the pathophysiology of MDD. Changes in basal levels and in the pattern of release of corticosterone secondary to stress appear to be highly correlated with the susceptibility or resilience to depressive-like behaviors in mice (Kim et al., 2013). Excess glucocorticoids have been shown to be neurotoxic, especially in the hippocampus, where apoptosis can be triggered

by the activation of glucocorticoid receptors (Crochemore et al., 2005). These events can contribute to the loss of hippocampal volume observed in MDD (Chopra et al., 2011).

The corticotropin releasing hormone neurons receive input from a myriad of brain regions, with their activity ultimately regulated by GABAergic inhibition (Mody & Maguire, 2011), it is estimated that a third of all inputs to that region are GABAergic (Miklós & Kovács, 2002). In practice, microinjections of GABA antagonists into that area have shown to activate the HPA axis, while agonists decrease the circulating levels of stress hormones (Cullinan et al., 2008; Sarkar et al., 2011).

Furthermore, as commented previously, GABA_A receptors are allosterically modulated by endogenous neurosteroids, such as allopregnanolone (Allo), a progesterone metabolite. Reduced levels of Allo and other neurosteroids have been observed and implicated to play a role in the pathophysiology of MDD, anxiety, Post Traumatic Stress Disorder and other neuropsychiatric ailments, while successful SSRI treatment rescues endogenous Allo levels (Chen et al., 2021; Schüle et al., 2014). Direct GABA_A modulation is an emerging field in the treatment of neuropsychiatric disorders. It has gained traction mostly as a treatment for PPD with representatives such as brexanolone, the first FDA approved treatment specific for PPD (Azhar & Din, 2023; Patterson et al., 2024).

Limitations of this study include the lack of monitoring of corticosterone levels, which could potentially confirm if MOX is capable of interfering in this pathway, and the use of only male mice. Future studies should address these limitations and explore the effects of MOX in female mice and other neuropsychiatric disease models.

Conclusion

In summary, a single dose of MOX showed promising antidepressant effect in male Swiss mice, demonstrated by decreased immobility time in TST and increased grooming time in the SPT. MOX also stimulated the antioxidant responses in the prefrontal cortex and increased *Bdnf* mRNA levels, indicating a potential for rapid antidepressant action. However,

more studies are necessary to fully understand its mechanisms and efficacy in broader contexts and to confirm if this compound possesses clinical relevance.

CRedit:

E.M.Z. was responsible for manuscript review, editing, supervision, resources, methodology, project administration, funding acquisition, conceptualization, and investigation. G.K.S. was responsible for data curation, original draft writing, visualization, and investigation of the entire project. F.A., V.S., I.A.F., and L.A. were involved in portions of the investigation. V.M.P., G.V.B., and M.A.P. were responsible for resources and supervision.

Acknowledgements:

We thank Gerson Fernandes de Brum for his kind SYBR donation, Dr Jaime Aramburu for euthanasia and general animal handling assistance and the entire LEDep/UFSM team for their support and advice.

References

- Abdel Salam, O. M. E., Mohammed, N. A., Sleem, A. A., & Farrag, A. R. (2013). The effect of antidepressant drugs on thioacetamide-induced oxidative stress. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *17*(6), 735–744.
- Aguilar Diaz De Leon, J., & Borges, C. R. (2020). Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, *159*. <https://doi.org/10.3791/61122>
- Allen, S. J., Watson, J. J., Shoemark, D. K., Barua, N. U., & Patel, N. K. (2013). GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. *Pharmacology & Therapeutics*, *138*(2), 155–175.
- Azhar, Y., & Din, A. U. (2023). Brexanolone. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Bijani, S., Kashfi, F. S., Zahedi-Vanjani, S., Nedaei, K., Sharafi, A., Kalantari-Hesari, A., & Hosseini, M.-J. (2024). The role of gender differences in the outcome of juvenile social isolation: Emphasis on changes in behavioral, biochemical and expression of nitric oxide synthase genes alteration. *Heliyon*, *10*(7), e28964.
- Black, C. N., Bot, M., Scheffer, P. G., Cuijpers, P., & Penninx, B. W. J. H. (2015). Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, *51*, 164–175.
- Cao, G., & Prior, R. L. (1998). Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry*, *44*(6 Pt 1), 1309–1315.
- Castrén, E., & Rantamäki, T. (2010). The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: Reactivation of developmental plasticity. *Developmental Neurobiology*, *70*(5), 289–297.
- Chakraborty, S., Dasgupta, A., Das, H. N., Singh, O. P., Mandal, A. K., & Mandal, N. (2009). Study of oxidative stress in obsessive compulsive disorder in response to treatment with

- Fluoxetine. *Indian Journal of Clinical Biochemistry: IJCB*, 24(2), 194–197.
- Chao, P.-C., Hsu, C.-C., & Yin, M.-C. (2009). Anti-inflammatory and anti-coagulatory activities of caffeic acid and ellagic acid in cardiac tissue of diabetic mice. *Nutrition & Metabolism*, 6, 33.
- Chen, S., Gao, L., Li, X., & Ye, Y. (2021). Allopregnanolone in mood disorders: Mechanism and therapeutic development. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 169, 105682.
- Chopra, K., Kumar, B., & Kuhad, A. (2011). Pathobiological targets of depression. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 15(4), 379–400.
- Crochemore, C., Lu, J., Wu, Y., Liposits, Z., Sousa, N., Holsboer, F., & Almeida, O. F. X. (2005). Direct targeting of hippocampal neurons for apoptosis by glucocorticoids is reversible by mineralocorticoid receptor activation. *Molecular Psychiatry*, 10(8), 790–798.
- Cryan, J. F., Mombereau, C., & Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(4-5), 571–625.
- Cullinan, W. E., Ziegler, D. R., & Herman, J. P. (2008). Functional role of local GABAergic influences on the HPA axis. *Brain Structure & Function*, 213(1-2), 63–72.
- Czlonkowska, A. I., Sienkiewicz-Jarosz, H., Siemiałkowski, M., Bidziński, A., & Plaźnik, A. (1999). The Effects of Neurosteroids on Rat Behavior and 3H-Muscimol Binding in the Brain. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 63(4), 639–646.
- da Silva, A. I., Monteiro Galindo, L. C., Nascimento, L., Moura Freitas, C., Manhaes-de-Castro, R., Lagranha, C. J., & Lopes de Souza, S. (2014). Fluoxetine treatment of rat neonates significantly reduces oxidative stress in the hippocampus and in behavioral indicators of anxiety later in postnatal life. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 92(4),

330–337.

Donatti, A. F., Soriano, R. N., Leite-Panissi, C. R. A., Branco, L. G. S., & de Souza, A. S.

(2017). Anxiolytic-like effect of hydrogen sulfide (H₂S) in rats exposed and re-exposed to the elevated plus-maze and open field tests. *Neuroscience Letters*, *642*, 77–85.

Food and Drug Administration (2018). U.S. Food and Drug Administration; FDA.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/2108671bl.pdf

Food and Drug Administration (2019). U.S. Food and Drug Administration; FDA.

<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-treatment-post-partum-depression>

Food and Drug Administration (2020). U.S. Food and Drug Administration; FDA.

<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-nasal-spray-medication-treatment-resistant-depression-available-only-certified>

Gawryluk, J. W., Wang, J.-F., Andreazza, A. C., Shao, L., Yatham, L. N., & Young, L. T.

(2011). Prefrontal cortex glutathione S-transferase levels in patients with bipolar disorder, major depression and schizophrenia. *The International Journal of Neuropsychopharmacology / Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum*, *14*(8), 1069–1074.

Getachew, B., & Tizabi, Y. (2019). Antidepressant effects of moxidectin, an antiparasitic drug,

in a rat model of depression. *Behavioural Brain Research*, *376*, 112220.

Gram, L. (1994). Fluoxetine. *The New England Journal of Medicine*, *331*(20), 1354–1361.

Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first

enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, *249*(22), 7130–7139.

Haj-Mirzaian, A., Amiri, S., Kordjazy, N., Rahimi-Balaei, M., Haj-Mirzaian, A., Marzban, H.,

Aminzadeh, A., Dehpour, A. R., & Mehr, S. E. (2015). Blockade of NMDA receptors

- reverses the depressant, but not anxiogenic effect of adolescence social isolation in mice. *European Journal of Pharmacology*, 750, 160–166.
- Hermes-Lima, M., Willmore, W. G., & Storey, K. B. (1995). Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe(III)xylenol orange complex formation. *Free Radical Biology & Medicine*, 19(3), 271–280.
- Huynh, N., Arabian, N., Naito, A., Louie, S., Jakowec, M. W., Asatryan, L., & Davies, D. L. (2017). Preclinical development of moxidectin as a novel therapeutic for alcohol use disorder. *Neuropharmacology*, 113(Pt A), 60–70.
- Isingrini, E., Camus, V., Le Guisquet, A.-M., Pingaud, M., Devers, S., & Belzung, C. (2010). Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. *PloS One*, 5(4), e10404.
- Kalueff, A. V., & Tuohimaa, P. (2005). The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *Journal of Neuroscience Methods*, 143(2), 169–177.
- Kaufman, J., Yang, B.-Z., Douglas-Palumberi, H., Grasso, D., Lipschitz, D., Houshyar, S., Krystal, J. H., & Gelernter, J. (2006). Brain-derived neurotrophic factor-5-HTTLPR gene interactions and environmental modifiers of depression in children. *Biological Psychiatry*, 59(8), 673–680.
- Kim, J.-G., Jung, H.-S., Kim, K.-J., Min, S.-S., & Yoon, B.-J. (2013). Basal blood corticosterone level is correlated with susceptibility to chronic restraint stress in mice. *Neuroscience Letters*, 555, 137–142.
- Krauter, A.-K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods in Molecular Biology*, 1916, 99–103.
- Kryst, J., Majcher-Maślanka, I., & Chocyk, A. (2022). Effects of chronic fluoxetine treatment

- on anxiety- and depressive-like behaviors in adolescent rodents - systematic review and meta-analysis. *Pharmacological Reports: PR*, 74(5), 920–946.
- Li, T., Liu, Y., Zhao, J., Miao, S., Xu, Y., Liu, K., Liu, M., Wang, G., & Xiao, X. (2017). Aggravation of acute kidney injury by mPGES-2 down regulation is associated with autophagy inhibition and enhanced apoptosis. *Scientific Reports*, 7(1), 10247.
- Malacarne, I. T., De Souza, D. V., Rosario, B. D. A., Viana, M. D. B., Pereira, C. D. S., Estadella, D., Dos Santos, J. N., & Ribeiro, D. A. (2021). Genotoxicity, oxidative stress, and inflammatory response induced by crack-cocaine: relevance to carcinogenesis. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(12), 14285–14292.
- Ménez, C., Sutra, J.-F., Prichard, R., & Lespine, A. (2012). Relative neurotoxicity of ivermectin and moxidectin in *Mdr1ab* (-/-) mice and effects on mammalian GABA(A) channel activity. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(11), e1883.
- Miklós, I. H., & Kovács, K. J. (2002). GABAergic innervation of corticotropin-releasing hormone (CRH)-secreting parvocellular neurons and its plasticity as demonstrated by quantitative immunoelectron microscopy. *Neuroscience*, 113(3), 581–592.
- Mody, I., & Maguire, J. (2011). The reciprocal regulation of stress hormones and GABA(A) receptors. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 6, 4.
- Moncrieff, J., Cooper, R. E., Stockmann, T., Amendola, S., Hengartner, M. P., & Horowitz, M. A. (2023). The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Molecular Psychiatry*, 28(8), 3243–3256.
- Park, L. T., & Zarate, C. A., Jr. (2019). Depression in the Primary Care Setting. *The New England Journal of Medicine*, 380(6), 559–568.
- Patterson, R., Balan, I., Morrow, A. L., & Meltzer-Brody, S. (2024). Novel neurosteroid therapeutics for post-partum depression: perspectives on clinical trials, program development, active research, and future directions. *Neuropsychopharmacology: Official*

Publication of the American College of Neuropsychopharmacology, 49(1), 67–72.

- Pellegrini, N., Vitaglione, P., Granato, D., & Fogliano, V. (2020). Twenty-five years of total antioxidant capacity measurement of foods and biological fluids: merits and limitations. *Journal of the science of food and agriculture*, 100(14), 5064–5078. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9550>
- Peres, D. S., Theisen, M. C., Fialho, M. F. P., Dalenogare, D. P., Rodrigues, P., Kudsi, S. Q., Bernardes, L. de B., Ruviaro da Silva, N. A., Lückemeyer, D. D., Sampaio, T. B., Pereira, G. C., Mello, F. K., Ferreira, J., Bochi, G. V., Oliveira, S. M., de David Antoniazzi, C. T., & Trevisan, G. (2021). TRPA1 involvement in depression- and anxiety-like behaviors in a progressive multiple sclerosis model in mice. *Brain Research Bulletin*, 175, 1–15.
- Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3), 3–33.
- Rush, A. J., Trivedi, M. H., Wisniewski, S. R., Nierenberg, A. A., Stewart, J. W., Warden, D., Nederehe, G., Thase, M. E., Lavori, P. W., Lebowitz, B. D., McGrath, P. J., Rosenbaum, J. F., Sackeim, H. A., Kupfer, D. J., Luther, J., & Fava, M. (2006). Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR*D report. *The American Journal of Psychiatry*, 163(11), 1905–1917.
- Sarkar, J., Wakefield, S., MacKenzie, G., Moss, S. J., & Maguire, J. (2011). Neurosteroidogenesis is required for the physiological response to stress: role of neurosteroid-sensitive GABAA receptors. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(50), 18198–18210.
- Schüle, C., Nothdurfter, C., & Rupprecht, R. (2014). The role of allopregnanolone in depression and anxiety. *Progress in Neurobiology*, 113, 79–87.
- Singh, R. R., & Reindl, K. M. (2021). Glutathione S-Transferases in Cancer. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antiox10050701>

- Spampanato, J., Gibson, A., & Dudek, F. E. (2018). The antihelminthic moxidectin enhances tonic GABA currents in rodent hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*, *119*(5), 1693–1698.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., & Simon, P. (1985). The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*, *85*(3), 367–370.
- Ubhi, K., Inglis, C., Mante, M., Patrick, C., Adame, A., Spencer, B., Rockenstein, E., May, V., Winkler, J., & Masliah, E. (2012). Fluoxetine ameliorates behavioral and neuropathological deficits in a transgenic model mouse of α -synucleinopathy. *Experimental Neurology*, *234*(2), 405–416.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *39*(1), 44–84.
- Weingartner, H., & Silberman, E. (1982). Models of cognitive impairment: cognitive changes in depression. *Psychopharmacology Bulletin*, *18*(2), 27–42.
- World Health Organization, (2024). Retrieved June 2, 2024, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
- Yu, H., & Chen, Z.-Y. (2011). The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. *Acta Pharmacologica Sinica*, *32*(1), 3–11.
- Zorumski, C. F., Paul, S. M., Izumi, Y., Covey, D. F., & Mennerick, S. (2013). Neurosteroids, stress and depression: potential therapeutic opportunities. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *37*(1), 109–122.

5 CONCLUSÕES

A moxidectina induziu diminuição do comportamento tipo-depressivo e ansiogênese pareada ao controle positivo em camundongos Swiss machos jovens. Estes achados são corroborados pela literatura.

A revisão de literatura efetuada nos esclareceu a farmacodinâmica deste composto nas doses supra-endectocidas, onde foi observado marcada modulação alostérica positiva de receptores GABA(A), assim como agonismo em outros receptores ionotrópicos, como o P2X4. Mostrou-se teoricamente mais segura do que a ivermectina em casos de superdosagem pelo reduzido coeficiente de Hill e menor dependência na glicoproteína-p para remoção do SNC. Também mostrou impactos positivos em modelos de abuso de álcool, melhora da disbiose e efeitos antidepressivos em dose única.

Em segundo momento, o artigo científico desenvolvido nos mostrou que uma única dose de moxidectina (1,5 mg/kg), foi capaz de reduzir comportamentos do tipo depressivo nos testes comportamentais efetuados, caracterizado pelo diminuído tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda e aumento do tempo de grooming no teste de splash. Também foi observada ansiogênese no teste de campo aberto, comportamento pareado ao controle positivo.

A moxidectina também foi capaz de aumentar agudamente a expressão de RNAm de BDNF no córtex dos animais, além de aumentar a capacidade antioxidante total do tecido neuronal, sem impactos negativos nos níveis de TBARS.

Apesar destes dados serem extremamente preliminares, são promissores. A modulação alostérica de GABA(A) é uma emergente classe de fármacos antidepressivos e a moxidectina pode acabar se tornando uma nova molécula nesta classe.

REFERÊNCIAS

- ADZIC, Miroslav; BRKIC, Zeljka; MITIC, Milos; FRANCIJA, Ester; JOVICIC, Milica J.; RADULOVIC, Jelena; MARIC, Nadja P. Therapeutic Strategies for Treatment of Inflammation-related Depression. **Current neuropharmacology**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 176–209, 2018. DOI: 10.2174/1570159X15666170828163048. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2174/1570159X15666170828163048>.
- ALLEN, Shelley J.; WATSON, Judy J.; SHOEMARK, Deborah K.; BARUA, Neil U.; PATEL, Nikunj K. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. **Pharmacology & therapeutics**, [S. l.], v. 138, n. 2, p. 155–175, 2013. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.01.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.004>.
- ALSHAMMARI, Tahani K. The Ketamine Antidepressant Story: New Insights. **Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 23, 2020. DOI: 10.3390/molecules25235777. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25235777>.
- BARNHAM, Kevin J.; MASTERS, Colin L.; BUSH, Ashley I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Nature reviews. Drug discovery**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 205–214, 2004. DOI: 10.1038/nrd1330. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd1330>.
- BELZUNG, Catherine; WILLNER, Paul; PHILIPPOT, Pierre. Depression: from psychopathology to pathophysiology. **Current opinion in neurobiology**, [S. l.], v. 30, p. 24–30, 2015. DOI: 10.1016/j.conb.2014.08.013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2014.08.013>.
- BHATT, Shvetank; NAGAPPA, Anantha Naik; PATIL, Chandragouda R. Role of oxidative stress in depression. **Drug discovery today**, [S. l.], v. 25, n. 7, p. 1270–1276, 2020. DOI: 10.1016/j.drudis.2020.05.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2020.05.001>.
- BIRMANN, Paloma T.; CASARIL, Angela M.; PESARICO, Ana Paula; RODRIGUES, Rafael R.; CONCEIÇÃO, Fabricio R.; SOUSA, Fernanda Severo Sabedra; COLLARES, Tiago; SEIXAS, Fabiana K.; SAVEGNAGO, Lucielli. Komagataella pastoris KM71H Mitigates Depressive-Like Phenotype, Preserving Intestinal Barrier Integrity and Modulating the Gut Microbiota in Mice. **Molecular neurobiology**, [S. l.], v. 60, n. 7, p. 4017–4029, 2023. DOI: 10.1007/s12035-023-03326-7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-023-03326-7>.
- BLACK, Catherine N.; BOT, Mariska; SCHEFFER, Peter G.; CUIJPERS, Pim; PENNINX, Brenda W. J. H. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, [S. l.], v. 51, p. 164–175, 2015. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2014.09.025. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.09.025>.
- BORCEL, Erika; PÉREZ-ALVAREZ, Laura; HERRERO, Ana Isabel; BRIONNE, Thomas; VAREA, Emilio; BEREZIN, Vladimir; BOCK, Elisabeth; SANDI, Carmen; VENERO, César. Chronic stress in adulthood followed by intermittent stress impairs spatial memory and the survival of newborn hippocampal cells in aging animals: prevention by FGL, a peptide mimetic of neural cell adhesion molecule. **Behavioural pharmacology**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 41–49, 2008. DOI: 10.1097/FBP.0b013e3282f3fca9. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282f3fca9>.

BRÁS, João Paulo et al. Stress-induced depressive-like behavior in male rats is associated with microglial activation and inflammation dysregulation in the hippocampus in adulthood. **Brain, behavior, and immunity**, [S. l.], v. 99, p. 397–408, 2022. DOI: 10.1016/j.bbi.2021.10.018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2021.10.018>.

BRITO, Valéria Cristina de Albuquerque; BELLO-CORASSA, Rafael; STOPA, Sheila Rizzato; SARDINHA, Luciana Monteiro Vasconcelos; DAHL, Catarina Magalhães; VIANA, Maria Carmen. Prevalence of self-reported depression in Brazil: National Health Survey 2019 and 2013. **Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Unico de Saude do Brasil**, [S. l.], v. 31, n. spe1, p. e2021384, 2022. DOI: 10.1590/SS2237-9622202200006.especial. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/SS2237-9622202200006.especial>.

CANTILINO, Amaury; MONTEIRO, Dennison Carreiro. **Psiquiatria clínica: Um guia para médicos e Profissionais da Saúde Mental**. [s.l.] : MedBook, 2016. Disponível em: <https://play.google.com/store/books/details?id=DKJt0AEACAAJ>.

CASTRÉN, Eero; RANTAMÄKI, Tomi. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: Reactivation of developmental plasticity. **Developmental neurobiology**, [S. l.], v. 70, n. 5, p. 289–297, 2010. DOI: 10.1002/dneu.20758. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/dneu.20758>.

CHOPRA, Kanwaljit; KUMAR, Baldeep; KUHAD, Anurag. Pathobiological targets of depression. **Expert opinion on therapeutic targets**, [S. l.], v. 15, n. 4, p. 379–400, 2011. DOI: 10.1517/14728222.2011.553603. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1517/14728222.2011.553603>.

CHOWDHURY, G. M. I. et al. Transiently increased glutamate cycling in rat PFC is associated with rapid onset of antidepressant-like effects. **Molecular psychiatry**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 120–126, 2017. DOI: 10.1038/mp.2016.34. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2016.34>.

CRANE, G. E. Iproniazid (marsilid) phosphate, a therapeutic agent for mental disorders and debilitating diseases. **Psychiatric research reports**, [S. l.], v. 8, p. 142–152, 1957. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13542682>.

DANESE, Andrea; PARIANTE, Carmine M.; CASPI, Avshalom; TAYLOR, Alan; POULTON, Richie. Childhood maltreatment predicts adult inflammation in a life-course study. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 104, n. 4, p. 1319–1324, 2007. DOI: 10.1073/pnas.0610362104. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0610362104>.

DAS, Joydip. Repurposing of Drugs-The Ketamine Story. **Journal of medicinal chemistry**, [S. l.], v. 63, n. 22, p. 13514–13525, 2020. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c01193. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01193>.

DEAN, Jason; KESHAVAN, Matcheri. The neurobiology of depression: An integrated view. **Asian journal of psychiatry**, [S. l.], v. 27, p. 101–111, 2017. DOI: 10.1016/j.ajp.2017.01.025. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajp.2017.01.025>.

DUMAN, Ronald S.; SANACORA, Gerard; KRYSTAL, John H. Altered Connectivity in Depression: GABA and Glutamate Neurotransmitter Deficits and Reversal by Novel Treatments. **Neuron**, [S. l.], v. 102, n. 1, p. 75–90, 2019. DOI: 10.1016/j.neuron.2019.03.013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2019.03.013>.

ELERSIČ, Kristian; BANJAC, Anamarija; ŽIVIN, Marko; ZOROVIĆ, Maja. Behavioral sensitization and tolerance induced by repeated treatment with ketamine enantiomers in male Wistar rats. **PloS one**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. e0299379, 2024. DOI: 10.1371/journal.pone.0299379. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0299379>.

ELSTON, Guy N. Cortex, cognition and the cell: new insights into the pyramidal neuron and prefrontal function. **Cerebral cortex**, [S. l.], v. 13, n. 11, p. 1124–1138, 2003. DOI: 10.1093/cercor/bhg093. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bhg093>.

FAN, Xingli; DENG, Handan; QIU, Jianing; JI, Hua; SHEN, Xiangdi. Antibiotics-induced depression in mice via the microbiota-gut-brain axis. **Journal of affective disorders**, [S. l.], v. 318, p. 152–158, 2022. a. DOI: 10.1016/j.jad.2022.08.059. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2022.08.059>.

FAN, Yiqi; SU, Qing; CHEN, Junxiao; WANG, Yong; HE, Shuai. Gut Microbiome Alterations Affect Glioma Development and Foxp3 Expression in Tumor Microenvironment in Mice. **Frontiers in oncology**, [S. l.], v. 12, p. 836953, 2022. b. DOI: 10.3389/fonc.2022.836953. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2022.836953>.

FEIGHNER, J. P. Mechanism of action of antidepressant medications. **The Journal of clinical psychiatry**, [S. l.], v. 60 Suppl 4, p. 4–11; discussion 12–3, 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10086478>.

GETACHEW, Bruk; REYES, Rachel E.; DAVIES, Daryl L.; TIZABI, Yousef. Moxidectin Effects on Gut Microbiota of Wistar-Kyoto Rats: Relevance to Depressive-Like Behavior. **Clinical pharmacology and translational medicine**, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 134–142, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31321385>.

GETACHEW, Bruk; TIZABI, Yousef. Antidepressant effects of moxidectin, an antiparasitic drug, in a rat model of depression. **Behavioural brain research**, [S. l.], v. 376, p. 112220, 2019. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.112220. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112220>.

GOLAN, David E. **Princípios de farmacologia**. [s.l.] : Grupo Gen - Guanabara Koogan, 2012. Disponível em: <https://play.google.com/store/books/details?id=Qc2YAQAACAAJ>.

HASSAMAL, Sameer. Chronic stress, neuroinflammation, and depression: an overview of pathophysiological mechanisms and emerging anti-inflammatories. **Frontiers in psychiatry / Frontiers Research Foundation**, [S. l.], v. 14, p. 1130989, 2023. DOI: 10.3389/fpsy.2023.1130989. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fpsy.2023.1130989>.

HILAL-DANDAN, Randa; BRUNTON, Laurence. **Manual de Farmacologia e Terapêutica de Goodman & Gilman - 2ed**. [s.l.] : AMGH Editora, 2015. Disponível em: <https://play.google.com/store/books/details?id=ofidBgAAQBAJ>.

HIROAKI-SATO, Vinicius A.; SALES, Amanda J.; BIOJONE, Caroline; JOCA, Sâmia R. L.

Hippocampal nNOS inhibition induces an antidepressant-like effect: involvement of 5HT1A receptors. **Behavioural pharmacology**, [*S. l.*], v. 25, n. 3, p. 187–196, 2014. DOI: 10.1097/FBP.0000000000000035. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/FBP.0000000000000035>.

HOMAYOUN, Houman; MOGHADDAM, Bitá. NMDA receptor hypofunction produces opposite effects on prefrontal cortex interneurons and pyramidal neurons. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, [*S. l.*], v. 27, n. 43, p. 11496–11500, 2007. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2213-07.2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2213-07.2007>.

HOYO-BECERRA, Carolina; SCHLAAK, Joerg F.; HERMANN, Dirk M. Insights from interferon- α -related depression for the pathogenesis of depression associated with inflammation. **Brain, behavior, and immunity**, [*S. l.*], v. 42, p. 222–231, 2014. DOI: 10.1016/j.bbi.2014.06.200. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.06.200>.

HUYNH, Nhat; ARABIAN, Natalie; NAITO, Anna; LOUIE, Stan; JAKOWEC, Michael W.; ASATRYAN, Liana; DAVIES, Daryl L. Preclinical development of moxidectin as a novel therapeutic for alcohol use disorder. **Neuropharmacology**, [*S. l.*], v. 113, n. Pt A, p. 60–70, 2017. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.09.016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.09.016>.

IWANIÁK, Paulina; OWE-LARSSON, Maja; URBÁŃSKA, Ewa M. Microbiota, Tryptophan and Aryl Hydrocarbon Receptors as the Target Triad in Parkinson's Disease-A Narrative Review. **International journal of molecular sciences**, [*S. l.*], v. 25, n. 5, 2024. DOI: 10.3390/ijms25052915. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms25052915>.

JARADA, Tamer N.; ROKNE, Jon G.; ALHAJJ, Reda. A review of computational drug repositioning: strategies, approaches, opportunities, challenges, and directions. **Journal of cheminformatics**, [*S. l.*], v. 12, n. 1, p. 46, 2020. DOI: 10.1186/s13321-020-00450-7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13321-020-00450-7>.

KATZMAN, Martin A. et al. Canadian clinical practice guidelines for the management of anxiety, posttraumatic stress and obsessive-compulsive disorders. **BMC psychiatry**, [*S. l.*], v. 14 Suppl 1, n. Suppl 1, p. S1, 2014. DOI: 10.1186/1471-244X-14-S1-S1. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-244X-14-S1-S1>.

KAUFMAN, Joan; YANG, Bao-Zhu; DOUGLAS-PALUMBERI, Heather; GRASSO, Damion; LIPSCHITZ, Deborah; HOUSHYAR, Shadi; KRYSTAL, John H.; GELERNTER, Joel. Brain-derived neurotrophic factor-5-HTTLPR gene interactions and environmental modifiers of depression in children. **Biological psychiatry**, [*S. l.*], v. 59, n. 8, p. 673–680, 2006. DOI: 10.1016/j.biopsych.2005.10.026. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.10.026>.

KIM, Jae-Gon; JUNG, Hye-Seung; KIM, Ki-Joon; MIN, Sun-Seek; YOON, Bong-June. Basal blood corticosterone level is correlated with susceptibility to chronic restraint stress in mice. **Neuroscience letters**, [*S. l.*], v. 555, p. 137–142, 2013. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.09.031. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2013.09.031>.

KO, Kwonmok; KOPRA, Emma I.; CLEARE, Anthony J.; RUCKER, James J. Psychedelic therapy for depressive symptoms: A systematic review and meta-analysis. **Journal of**

affective disorders, [S. l.], v. 322, p. 194–204, 2023. DOI: 10.1016/j.jad.2022.09.168. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2022.09.168>.

KRISHNAN, Vaishnav; NESTLER, Eric J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, [S. l.], v. 455, n. 7215, p. 894–902, 2008. DOI: 10.1038/nature07455. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature07455>.

KVERNO, Karan S.; MANGANO, Emma. Treatment-Resistant Depression: Approaches to Treatment. **Journal of psychosocial nursing and mental health services**, [S. l.], v. 59, n. 9, p. 7–11, 2021. DOI: 10.3928/02793695-20210816-01. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3928/02793695-20210816-01>.

KWAN, Alex C.; OLSON, David E.; PRELLER, Katrin H.; ROTH, Bryan L. The neural basis of psychedelic action. **Nature neuroscience**, [S. l.], v. 25, n. 11, p. 1407–1419, 2022. DOI: 10.1038/s41593-022-01177-4. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41593-022-01177-4>.

LI, Hui et al. Alteration of the gut microbiota profile in children with autism spectrum disorder in China. **Frontiers in microbiology**, [S. l.], v. 14, p. 1326870, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1326870. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2023.1326870>.

LINARTEVICH, Vagner Fagnani; FROZA, Matheus Gonzales; CURY, Rafael de Moraes; NASCIMENTO, Francisney Pinto Do. POTENCIAL USO DA PSILOCIBINA NO TRATAMENTO DA DEPRESSÃO: UMA REVISÃO / POTENTIAL USE OF PSILOCYBIN IN THE DEPRESSION TREATMENT: A REVIEW. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 32270–32288, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n3-783. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/27303/21601>.

LIU, Tao; ZHONG, Shuming; LIAO, Xiaoxiao; CHEN, Jian; HE, Tingting; LAI, Shunkai; JIA, Yanbin. A Meta-Analysis of Oxidative Stress Markers in Depression. **PloS one**, [S. l.], v. 10, n. 10, p. e0138904, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0138904. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0138904>.

LUPIEN, Sonia J.; JUSTER, Robert-Paul; RAYMOND, Catherine; MARIN, Marie-France. The effects of chronic stress on the human brain: From neurotoxicity, to vulnerability, to opportunity. **Frontiers in neuroendocrinology**, [S. l.], v. 49, p. 91–105, 2018. DOI: 10.1016/j.yfrne.2018.02.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.02.001>.

LYNCH, Charles J.; GUNNING, Faith M.; LISTON, Conor. Causes and Consequences of Diagnostic Heterogeneity in Depression: Paths to Discovering Novel Biological Depression Subtypes. **Biological psychiatry**, [S. l.], v. 88, n. 1, p. 83–94, 2020. DOI: 10.1016/j.biopsych.2020.01.012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.01.012>.

MALIKOWSKA-RACIA, Natalia; KONIEWSKI, Maciej; GOLEBIEWSKA, Joanna; POPIK, Piotr. Acute but not long-lasting antidepressant-like effect of psilocybin in differential reinforcement of low-rate 72 schedule in rats. **Journal of psychopharmacology**, [S. l.], v. 37, n. 11, p. 1149–1156, 2023. DOI: 10.1177/02698811231205692. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/02698811231205692>.

MCINTYRE, Roger S. et al. Synthesizing the Evidence for Ketamine and Esketamine in

Treatment-Resistant Depression: An International Expert Opinion on the Available Evidence and Implementation. **The American journal of psychiatry**, [S. l.], v. 178, n. 5, p. 383–399, 2021. DOI: 10.1176/appi.ajp.2020.20081251. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.20081251>.

MINA, Theresia H.; REYNOLDS, Rebecca M. Mechanisms linking in utero stress to altered offspring behaviour. **Current topics in behavioral neurosciences**, [S. l.], v. 18, p. 93–122, 2014. DOI: 10.1007/7854_2014_291. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/7854_2014_291.

MITANI, Hideaki; SHIRAYAMA, Yukihiro; YAMADA, Takeshi; MAEDA, Kazuhisa; ASHBY, Charles R., Jr; KAWAHARA, Ryuzou. Correlation between plasma levels of glutamate, alanine and serine with severity of depression. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, [S. l.], v. 30, n. 6, p. 1155–1158, 2006. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2006.03.036. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2006.03.036>.

MITCHELL, Jennifer M. et al. MDMA-assisted therapy for severe PTSD: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. **Nature medicine**, [S. l.], v. 27, n. 6, p. 1025–1033, 2021. DOI: 10.1038/s41591-021-01336-3. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-021-01336-3>.

MURROUGH, James W.; ABDALLAH, Chadi G.; MATHEW, Sanjay J. Targeting glutamate signalling in depression: progress and prospects. **Nature reviews. Drug discovery**, [S. l.], v. 16, n. 7, p. 472–486, 2017. DOI: 10.1038/nrd.2017.16. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd.2017.16>.

NOOR EDDIN, Ahmed; ALFUWAIS, Mohammed; NOOR EDDIN, Reena; ALKATTAN, Khaled; YAQINUDDIN, Ahmed. Gut-Modulating Agents and Amyotrophic Lateral Sclerosis: Current Evidence and Future Perspectives. **Nutrients**, [S. l.], v. 16, n. 5, 2024. DOI: 10.3390/nu16050590. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/nu16050590>.

PATTERSON, Riah; BALAN, Irina; MORROW, A. Leslie; MELTZER-BRODY, Samantha. Novel neurosteroid therapeutics for post-partum depression: perspectives on clinical trials, program development, active research, and future directions. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, [S. l.], v. 49, n. 1, p. 67–72, 2024. DOI: 10.1038/s41386-023-01721-1. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41386-023-01721-1>.

PEDDINTI, Vasu; AVAGHADE, Manoj Mohan; SUTHAR, Sunil Umedmal; ROUT, Biswajit; GOMTE, Shyam Sudhakar; AGNIHOTRI, Tejas Girish; JAIN, Aakanchha. Gut instincts: Unveiling the connection between gut microbiota and Alzheimer’s disease. **Clinical nutrition ESPEN**, [S. l.], v. 60, p. 266–280, 2024. DOI: 10.1016/j.clnesp.2024.02.019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnesp.2024.02.019>.

PEREZ-CABALLERO, L.; TORRES-SANCHEZ, S.; ROMERO-LÓPEZ-ALBERCA, C.; GONZÁLEZ-SAIZ, F.; MICO, J. A.; BERROCOSO, Esther. Monoaminergic system and depression. **Cell and tissue research**, [S. l.], v. 377, n. 1, p. 107–113, 2019. DOI: 10.1007/s00441-018-2978-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00441-018-2978-8>.

PIGNATARO, Patrizia et al. Antidepressant Effect of Intermittent Long-Term Systemic Administration of Irisin in Mice. **International journal of molecular sciences**, [S. l.], v. 23,

n. 14, 2022. DOI: 10.3390/ijms23147596. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23147596>.

PLANCHEZ, Barbara; SURGET, Alexandre; BELZUNG, Catherine. Animal models of major depression: drawbacks and challenges. **Journal of neural transmission**, [S. l.], v. 126, n. 11, p. 1383–1408, 2019. DOI: 10.1007/s00702-019-02084-y. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00702-019-02084-y>.

POCHWAT, Bartłomiej et al. Combined hyperforin and lanicemine treatment instead of ketamine or imipramine restores behavioral deficits induced by chronic restraint stress and dietary zinc restriction in mice. **Frontiers in pharmacology**, [S. l.], v. 13, p. 933364, 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.933364. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.933364>.

RITTER ET AL., James. **Rang & Dale Farmacologia**. [s.l.] : GEN Guanabara Koogan, 2020. Disponível em: <https://play.google.com/store/books/details?id=0gb3zweACAAJ>.

RODRIGUES-ALVES, Patricia S. B.; LEBRUN, Ivo; FLÓRIO, Jorge Camilo; BERNARDI, Maria M.; SPINOSA, Helenice de S. Moxidectin interference on sexual behavior, penile erection and hypothalamic GABA levels of male rats. **Research in veterinary science**, [S. l.], v. 84, n. 1, p. 100–106, 2008. DOI: 10.1016/j.rvsc.2007.04.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.04.003>.

ROOHI, Elnaz; JAAFARI, Nematollah; HASHEMIAN, Farshad. On inflammatory hypothesis of depression: what is the role of IL-6 in the middle of the chaos? **Journal of neuroinflammation**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 45, 2021. DOI: 10.1186/s12974-021-02100-7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-021-02100-7>.

RUCKER, James Jh; JELEN, Luke A.; FLYNN, Sarah; FROWDE, Kyle D.; YOUNG, Allan H. Psychedelics in the treatment of unipolar mood disorders: a systematic review. **Journal of psychopharmacology**, [S. l.], v. 30, n. 12, p. 1220–1229, 2016. DOI: 10.1177/0269881116679368. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/0269881116679368>.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American journal of psychiatry**, [S. l.], v. 122, n. 5, p. 509–522, 1965. DOI: 10.1176/ajp.122.5.509. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1176/ajp.122.5.509>.

SEEDAT, Soraya et al. Cross-national associations between gender and mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. **Archives of general psychiatry**, [S. l.], v. 66, n. 7, p. 785–795, 2009. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.36. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.36>.

SPAMPANATO, Jay; GIBSON, Anne; DUDEK, F. Edward. The antihelminthic moxidectin enhances tonic GABA currents in rodent hippocampal pyramidal neurons. **Journal of neurophysiology**, [S. l.], v. 119, n. 5, p. 1693–1698, 2018. DOI: 10.1152/jn.00587.2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1152/jn.00587.2017>.

SPINOSA, Helenice de Souza. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária** - 7. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

SPRUSTON, Nelson. Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. **Nature reviews. Neuroscience**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 206–221, 2008. DOI: 10.1038/nrn2286.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2286>.

SULAKHIYA, Kunjbihari; KESHAVLAL, Gohil Pratik; BEZBARUAH, Babul B.; DWIVEDI, Shubham; GURJAR, Satendra Singh; MUNDE, Nitin; JANGRA, Ashok; LAHKAR, Mangala; GOGOI, Ranadeep. Lipopolysaccharide induced anxiety- and depressive-like behaviour in mice are prevented by chronic pre-treatment of esculetin. **Neuroscience letters**, [S. l.], v. 611, p. 106–111, 2016. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.11.031. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2015.11.031>.

SUNESON, Klara; LINDAHL, Jesper; CHAMLI HÅRSMAR, Simon; SÖDERBERG, Gustav; LINDQVIST, Daniel. Inflammatory Depression-Mechanisms and Non-Pharmacological Interventions. **International journal of molecular sciences**, [S. l.], v. 22, n. 4, 2021. DOI: 10.3390/ijms22041640. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22041640>.

TAC. **Update on MDMA and psilocybin access and safeguards from 1 July 2023**. 2024. Disponível em: <https://www.tga.gov.au/news/news/update-mdma-and-psilocybin-access-and-safeguards-1-july-2023>. Acesso em: 21 jun. 2024.

TRAISH, Abdulmaged M. Post-finasteride syndrome: a surmountable challenge for clinicians. **Fertility and sterility**, [S. l.], v. 113, n. 1, p. 21–50, 2020. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.11.030. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.11.030>.

TROUBAT, Romain et al. Neuroinflammation and depression: A review. **The European journal of neuroscience**, [S. l.], v. 53, n. 1, p. 151–171, 2021. DOI: 10.1111/ejn.14720. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/ejn.14720>.

VALKO, Marian; LEIBFRITZ, Dieter; MONCOL, Jan; CRONIN, Mark T. D.; MAZUR, Milan; TELSER, Joshua. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, [S. l.], v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>.

VALVASSORI, Samira S. et al. Intracerebral Administration of BDNF Protects Rat Brain Against Oxidative Stress Induced by Ouabain in an Animal Model of Mania. **Molecular neurobiology**, [S. l.], v. 52, n. 1, p. 353–362, 2015. DOI: 10.1007/s12035-014-8873-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-014-8873-8>.

VAN DEN EYNDE, Vincent; GILLMAN, Peter Kenneth; BLACKWELL, Barry B. The Prescriber's Guide to the MAOI Diet-Thinking Through Tyramine Troubles. **Psychopharmacology bulletin**, [S. l.], v. 52, n. 2, p. 73–116, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35721816>.

WHO. **Suicide**. 2024a. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/suicide>. Acesso em: 21 jun. 2024.

WHO. **Depressive disorder (depression)**. 2024b. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>. Acesso em: 21 jun. 2024.

YANG, Longfei; ZHAO, Yinghao; WANG, Yicun; LIU, Lei; ZHANG, Xingyi; LI, Bingjin; CUI, Ranji. The Effects of Psychological Stress on Depression. **Current**

neuropharmacology, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 494–504, 2015. DOI: 10.2174/1570159x1304150831150507. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2174/1570159x1304150831150507>.

YU, Hui; CHEN, Zhe-Yu. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. **Acta pharmacologica Sinica**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 3–11, 2011. DOI: 10.1038/aps.2010.184. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/aps.2010.184>.

YUNUSOĞLU, Oruç; DEMIRKOL, Muhammed Hamdi; BERKÖZ, Mehmet; SAĞMANLIGİL, Vedat; OTO, Gökhan; OZDEMİR, Hülya. The effects of moxidectin nicotine-conditioned cue on nicotine-seeking behavior in mice. **International Journal of Advances in Engineering Sciences and Applied Mathematics**, [S. l.], v. 8, n. 12, p. 117–125, 2021. DOI: 10.21833/ijaas.2021.12.014. Disponível em: <http://www.science-gate.com/IJAAS/2021/V8I12/1021833ijaas202112014.html>.

ZHAO, Yunan; MA, Ru; SHEN, Jia; SU, Hui; XING, Dongming; DU, Lijun. A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections. **European journal of pharmacology**, [S. l.], v. 581, n. 1-2, p. 113–120, 2008. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.12.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.12.005>.

ZORUMSKI, Charles F.; PAUL, Steven M.; IZUMI, Yukitoshi; COVEY, Douglas F.; MENNERICK, Steven. Neurosteroids, stress and depression: potential therapeutic opportunities. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 109–122, 2013. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2012.10.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.10.005>.