



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

Bruna Reque Kouba

**Efeitos antidepressivo e ansiolítico relacionados à suplementação de vitamina D**

Florianópolis

2022

Bruna Reque Kouba

**Efeitos antidepressivo e ansiolítico relacionados à suplementação de vitamina D**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação  
em Bioquímica da Universidade Federal de Santa  
Catarina para a obtenção do título de Mestre em  
Bioquímica

Orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Severo Rodrigues

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra

Kouba, Bruna Reque

Efeitos antidepressivo e ansiolítico relacionados à  
suplementação de vitamina D / Bruna Reque Kouba ;  
orientador, Ana Lúcia Severo Rodrigues, 2022.

105 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, , Programa de Pós-Graduação em , Florianópolis,  
2022.

Inclui referências.

1. . 2. Vitamina D. 3. Depressão. 4. Ansiedade. 5.  
Proteínas sinápticas. I. Rodrigues, Ana Lúcia Severo. II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em . III. Título.

Bruna Reque Kouba

**Efeitos antidepressivo e ansiolítico relacionados à suplementação de vitamina D**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Manuella Pinto Kaster, Dra.  
Instituição UFSC

Profa. Vivian Binder Neis, Dra.

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Bioquímica.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Profa. Dra. Ana Lúcia Severo Rodrigues  
Orientadora

Florianópolis, 2022



Este trabalho é dedicado à minha família.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha família, em especial à minha mãe Neiva, à minha tia Leocádia e ao meu avô Matheus por todo o amor, carinho e apoio incondicional. Sobretudo por terem confiado em mim e por sempre me recordarem que eu jamais estava sozinha, mesmo estando longe.

Gostaria de agradecer ao meu irmão Pedro por sempre me ouvir, aconselhar e sobretudo pela parceria. Obrigada pelas mensagens que alegravam meu dia. Você e a Gamorinha sempre me faziam esquecer dos momentos difíceis.

Agradeço à minha orientadora Dra. Ana Lúcia Severo Rodrigues por confiar em mim e ser um exemplo de profissional. Agradeço imensamente pela oportunidade e por ter compartilhado seus conhecimentos. Jamais me esquecerei das suas aulas enriquecedoras!

Gostaria de agradecer em especial à minha amiga Ana Clara Nass da Cruz Torrá por todos os momentos que passamos juntas durante o mestrado, pelas madrugadas, pelo companheirismo, pela paciência, pelo choro que se transformava em risos e cervejinhas no fim do dia. Agradeço imensamente por ter tido a sorte de te conhecer! Sem você, eu jamais teria conseguido.

Agradeço ao Anderson Camargo por todo o conhecimento compartilhado, por ter sido tão paciente e humano comigo, pelos conselhos e principalmente pela confiança depositada em mim.

Agradeço aos demais alunos do Laboratório de Neurobiologia da Depressão pelas contribuições durante este período.

Agradeço imensamente aos meus amigos Camila, Carol, Nathália, Karyn, Júlia, João, Jhonathan e Helo por estarem comigo em todos os momentos. Sou muito grata por ter vocês na minha vida.

Gostaria de agradecer ao meu antigo orientador Dr. Marcelo Machado Ferro por ter me oportunizado trabalhar em um laboratório de pesquisa, por todos os ensinamentos e conselhos.

Agradeço à professora Dra. Juliana Inaba por ter me despertado o amor pela Bioquímica. A senhora é um exemplo de profissional para mim!

Agradeço também à todos os professores do PPG em Bioquímica por terem compartilhado seus conhecimentos.

Agradeço à CAPES, LAMEB e UFSC pelo apoio financeiro e pela infraestrutura.

E principalmente agradeço aos animais que foram utilizados nesse trabalho.

“A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo da busca. E ensinar e aprender não pode dar-se fora da procura, da boniteza e da alegria” (PAULO FREIRE).

## **APRESENTAÇÃO**

A presente dissertação foi subdividida em dois capítulos. O Capítulo I é composto por uma revisão teórica, a qual inclui estudos pré-clínicos e clínicos sobre a vitamina D como uma potencial estratégia terapêutica no manejo de transtornos de depressão e ansiedade. O Capítulo II refere-se aos resultados experimentais obtidos a partir da avaliação dos efeitos tipo-depressivo e tipo-ansiolítico da suplementação com colecalciferol e do seu possível efeito pró-sinaptogênico em camundongos.

## RESUMO

A depressão e a ansiedade são transtornos psiquiátricos altamente prevalentes e incapacitantes. Frequentemente estes transtornos ocorrem de forma concomitante, dificultando o diagnóstico e o tratamento. Além disso, a farmacoterapia atual apresenta várias limitações, incluindo diversos efeitos colaterais. Portanto, a busca por novos compostos terapêuticos com propriedades antidepressivas e/ou ansiolíticas é de fundamental importância. Nesse contexto, o capítulo I dessa dissertação é constituído por uma revisão crítica da literatura envolvendo estudos pré-clínicos e clínicos, cujo intuito era investigar a eficácia antidepressiva e ansiolítica da vitamina D. Apesar de serem poucos os estudos clínicos que comprovam seus efeitos em indivíduos com depressão e/ou ansiedade, majoritariamente estudos pré-clínicos demonstraram benefícios de sua suplementação em modelos animais. Vários estudos têm indicado que a vitamina D possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, pró-neurogênicas e neuromoduladoras, sugerindo que essa vitamina atua de forma semelhante aos antidepressivos convencionais. Entretanto nenhum estudo havia avaliado os seus possíveis efeitos pró-sinaptogênicos. Diante desse cenário, o segundo capítulo é composto por um estudo experimental que avaliou os efeitos tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico da suplementação com colecalciferol e do seu possível efeito pró-sinaptogênico no córtex pré-frontal e hipocampo em camundongos. Neste trabalho, observou-se que a suplementação crônica com colecalciferol em camundongos *Swiss* fêmeas (100 UI/kg durante 21 dias, p.o.) induziu um efeito tipo-antidepressivo no teste de suspensão pela cauda. O colecalciferol não causou alterações nas respostas de autolimpeza, número de bolos fecais e tempo no centro do aparato no teste do campo aberto, parâmetros relacionados ao comportamento tipo-ansioso. Entretanto, a administração crônica de colecalciferol (100 UI/kg durante 21 dias, p.o.) foi efetiva no teste da alimentação suprimida pela novidade, um paradigma comportamental sensível ao efeito de ansiolíticos e de antidepressivos administrados cronicamente. Posteriormente, a fim de investigar se mecanismos pró-sinaptogênicos estariam associados aos efeitos tipo-ansiolítico e antidepressivo do colecalciferol, avaliamos os níveis do fator de transcrição CREB total e a sua fosforilação (Ser<sup>133</sup>), bem como das seguintes proteínas sinápticas: sinapsina, GluA1 e PSD-95 por *Western Blotting* no hipocampo e no córtex pré-frontal. Não evidenciamos alterações no imunoconteúdo de CREB total e na razão P-CREB/CREB. Entretanto, a suplementação com colecalciferol promoveu um aumento de sinapsina no hipocampo, enquanto observou-se um aumento significativo de GluA1 e PSD-95 apenas no córtex pré-frontal, sugerindo que esse composto modula positivamente a tradução de proteínas sinápticas de maneira dependente da região encefálica. Em conjunto, esses resultados sugerem que propriedades pró-sinaptogênicas podem estar subjacentes aos efeitos tipo-antidepressivo e ansiolítico do colecalciferol. Portanto, a suplementação de vitamina D se apresenta como uma estratégia que pode ser útil no tratamento da depressão e da ansiedade.

**Palavras-chave:** Ansiedade; Depressão; Proteínas sinápticas; Vitamina D.

## ABSTRACT

Depression and anxiety are highly prevalent and disabling psychiatric disorders. These disorders often occur concomitantly, making diagnosis and treatment difficult. In addition, current pharmacotherapy has several limitations, including side effects. Therefore, the search for new therapeutic compounds with antidepressant and/or anxiolytic properties are of fundamental importance. In this context, chapter I of this work consists of a critical review of the literature involving preclinical and clinical studies, in order to evaluate the antidepressant and anxiolytic efficacy of vitamin D. Although there are few clinical studies that indicate its effects in individuals with depression and/or anxiety symptoms, pre-clinical studies have mostly demonstrated benefits of its supplementation in animal models of depression and anxiety. Convincing evidence has indicated that vitamin D exhibits antioxidant, anti-inflammatory, pro-neurogenic, and neuromodulatory properties, suggesting that it acts similarly to conventional antidepressants. However, no studies have evaluated its possible pro-synaptogenic effects in the prefrontal cortex and hippocampus. In this scenario, the second chapter is composed of an experimental study that evaluated the antidepressant and anxiolytic effects of cholecalciferol supplementation and its possible pro-synaptogenic effect in mice. In this work, chronic cholecalciferol supplementation in female *Swiss* mice (100 IU/kg for 21 days, p.o.) induced an antidepressant-like effect in the tail suspension test. Cholecalciferol caused no significant alterations in grooming, number of fecal boli, and time in the center of the apparatus, parameters related to anxiety-like behavior in the open field test. However, chronic administration of cholecalciferol (100 IU/kg for 21 days, p.o.) was effective in the novelty-suppressed feeding test, a behavioral paradigm sensitive to anxiolytics and to chronic administration of antidepressants. Subsequently, in order to investigate whether pro-synaptogenic mechanisms could be associated with the anxiolytic and antidepressant-like effects of cholecalciferol, we investigated the immunoccontent of total CREB and its phosphorylation (Ser<sup>133</sup>), as well as the immunoccontent of the synaptic proteins synapsin, GluA1 and PSD-95 by Western Blotting in the hippocampus and prefrontal cortex. No changes were observed in the total CREB immunoccontent and in the ratio P-CREB/CREB. However, cholecalciferol supplementation increased the immunoccontent of synapsin in the hippocampus, while a significant increase of GluA1 and PSD-95 was observed only in the prefrontal cortex, suggesting that cholecalciferol modulates the translation of synaptic proteins in a brain region-dependent manner. Taken together, these results suggest that pro-synaptogenic properties may underlie the anxiolytic and antidepressant-like effects of cholecalciferol. Therefore, vitamin D supplementation presents itself as a strategy that may be useful for the treatment of depression and anxiety.

**Keywords:** Anxiety; Depression; Synaptic proteins; Vitamin D.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Hipótese monoaminérgica .....	22
Figura 2 - Hipótese neurotrófica .....	24
Figura 3 - Mecanismo de ação dos ISRS mediado pela alteração na coliberação de serotonina e glutamato em neurônios serotoninérgicos .....	25
Figura 4 - Neurotransmissão glutamatérgica .....	27
Figura 5 – Mecanismos relacionados à sinaptogênese .....	29
Figura 6 – Propriedades neuromoduladoras, anti-inflamatórias e antioxidantes da vitamina D .....	43
Figura 7 – Delineamento experimental .....	55
Figura 8 - Efeito da administração de colecalciferol nos testes de suspensão pela cauda e campo aberto .....	59
Figura 9 – Efeito da administração de colecalciferol em relação ao tempo no centro, <i>grooming</i> e número de bolos fecais no teste do campo aberto .....	60
Figura 10 - Efeito da administração de colecalciferol no teste da alimentação suprimida pela novidade .....	61
Figura 11 - Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunocontéudo de CREB total, P-CREB/ CREB no hipocampo e córtex pré-frontal .....	62
Figura 12 - Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunocontéudo de sinapsina no hipocampo e córtex pré-frontal .....	63
Figura 13 - Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunocontéudo de PSD-95 no hipocampo e córtex pré-frontal .....	64
Figura 14 - Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunocontéudo de GluA1 no hipocampo e córtex pré-frontal .....	65

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos pré-clínicos do efeito da vitamina D em modelos animais de depressão e ansiedade .....	46
---	----



## LISTA DE ABREVIATURAS

- AMPA – Ácido alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
- AMPK - Proteína cinase ativada por AMP
- ASC - Proteína associada à apoptose contendo um domínio de recrutamento de caspase
- BDI - Inventário de Depressão de Beck
- BDNF - Fator neurotrófico derivado do encéfalo
- CaMKII - Proteína cinase dependente de cálcio/calmodulina II
- CASK - Proteína serina cinase dependente de cálcio
- CCVD - Canal de cálcio dependente de voltagem
- CREB - Proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc
- CUMS - Estresse crônico leve imprevisível
- DBP - Proteína de ligação à vitamina D
- DO - Densidade óptica
- DOPA - dihidrofenilalanina
- DSM-5 - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – quinta edição
- EAAT1 - Transportadores de aminoácidos excitatórios do tipo 1
- EAAT2 - Transportadores de aminoácidos excitatórios do tipo 2
- EAAT3 - Transportadores de aminoácidos excitatórios do tipo 3
- ERK - Cinase regulada por sinal extracelular
- EROs - Espécies reativas de oxigênio
- FoxO - Forkhead box-O
- GDNF - Fator neurotrófico derivado da linhagem de células gliais
- HO-1 - Heme oxigenase-1
- IFN- $\gamma$  - Interferon-gamma
- IL - Interleucina
- iMAO - Inibidor da enzima monoamina oxidase
- iNOS - Óxido nítrico sintase induzível
- ISRN - Inibidor seletivo da recaptção de noradrenalina
- ISRS - Inibidor seletivo da recaptção de serotonina
- KA - Cainato
- LTP - Potenciação de longa duração

mGlu - Receptor metabotrópico glutamatérgico  
MAPK - Proteína cinase ativada por mitógeno  
MAO - Monoamina oxidase  
mTOR - Proteína alvo mecanístico da rapamicina  
NF- $\kappa$ B - Fator nuclear kappa B  
NGF - Fator de crescimento nervoso  
NLRP3 - *NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3*  
NMDA - N-metil-D-aspartato  
NO - Óxido nítrico  
Nrf2 - Fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2  
NT-3 - Neurotrofina-3  
NT-4 - Neurotrofina-4  
p70S6K - Proteína ribossomal S6 cinase de 70 kDa  
P-CREB - Proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc fosforilada  
PCPA - Éster metílico de p-clorofenilalanina  
PCR - Proteína C-reativa  
PET - Tomografia por emissão de pósitrons  
PI3K - Fosfatidilinositol 3-cinase  
PKB/Akt - Proteína cinase B  
PLC - Fosfolipase C  
p.o. - Oralmente  
PSD-95 - Proteína de densidade pós-sináptica de 95 kDa  
RXR - Receptor retinoide X  
SNC - Sistema Nervoso Central  
SOD - Superóxido dismutase  
TCA - Antidepressivo tricíclico  
TGF- $\beta$  - Fator de crescimento transformador beta  
TLR - Receptor Toll-like  
TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa  
TrkB - Receptor tropomiosina cinase B  
TSPO - Proteína translocadora de 18 kDa  
TXNIP - Proteína de interação com tioredoxina

UVB - Radiação solar ultravioleta B

VDR - Receptor de vitamina D

VDREs - Elementos de resposta à vitamina D

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> - 1 $\alpha$ ,25-dihidroxitamina D

25(OH)D<sub>3</sub> - 25-hidroxitamina D<sub>3</sub>

4E-BP - Proteína ligadora do fator de alongamento 4E

5-HT<sub>1A</sub> - Receptores de serotonina do tipo 1 A

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
1.1 TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR .....	17
1.2 TRANSTORNOS DE ANSIEDADE .....	19
1.3 BASES NEUROBIOLÓGICAS COMUNS À DEPRESSÃO E ANSIEDADE .....	21
1.3.1 Sistemas monoaminérgicos.....	21
1.3.2 Hipótese neurotrófica .....	23
1.3.3 Sistema glutamatérgico: sinaptogênese .....	26
1.3.4 Neuroinflamação .....	30
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>33</b>
<b>3 CAPÍTULO I: Bases moleculares subjacentes ao potencial terapêutico da vitamina D para o tratamento da depressão e ansiedade</b> .....	<b>35</b>
3.1 INTRODUÇÃO .....	36
3.2 NEUROINFLAMAÇÃO COMO PRINCIPAL MECANISMO FISIOPATOLÓGICO RELACIONADO AOS TRANSTORNOS DE DEPRESSÃO E ANSIEDADE.....	36
3.3 METABOLISMO E FUNÇÕES BIOLÓGICAS DA VITAMINA D .....	38
3.3.1 Propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da vitamina D .....	39
3.3.2 Propriedades pró-neurogênicas e neuromoduladoras da vitamina D .....	41
3.3.3 Vitamina D: modulação da microbiota intestinal .....	42
3.4 ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS: EFEITOS DA VITAMINA D EM MODELOS DE DEPRESSÃO E ANSIEDADE .....	43
3.5 ESTUDOS CLÍNICOS: EFEITOS DA VITAMINA D NA DEPRESSÃO E ANSIEDADE.....	48
3.6 CONCLUSÕES E DIREÇÕES FUTURAS .....	49
<b>4 CAPÍTULO II: Investigação dos efeitos antidepressivo e ansiolítico relacionados a ação pró-sinaptogênica da suplementação de vitamina D em camundongos</b> .....	<b>51</b>
4.1 INTRODUÇÃO .....	52
4.2 OBJETIVO GERAL .....	53
4.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	53
4.4 MATERIAIS E MÉTODOS .....	53

4. 4. 1. Animais .....	53
4. 4. 2 Tratamento e delineamento experimental .....	54
4. 4. 3 Teste de suspensão pela cauda .....	55
4. 4. 4 Teste do campo aberto .....	55
4. 4. 5 Teste da alimentação suprimida pela novidade .....	56
4. 4. 6 Imunodeteção de proteínas por <i>Western Blotting</i> .....	57
4. 4. 7 Análises estatísticas .....	58
4. 5 RESULTADOS .....	58
4. 5. 1 Efeito da administração de colecalciferol nos testes de suspensão pela cauda e campo aberto .....	58
4. 5. 2 Efeito da administração de colecalciferol em parâmetros relacionados ao comportamento tipo-ansioso no teste do campo aberto .....	59
4. 5. 3 Efeito da administração de colecalciferol no teste da alimentação suprimida pela novidade .....	61
4. 5. 4 Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunoconteúdo de CREB total, P-CREB/CREB, PSD-95, GluA1 e sinapsina no córtex pré-frontal e hipocampo .....	62
4. 6 DISCUSSÃO .....	65
4. 7 CONCLUSÃO .....	72
4. 8 PERSPECTIVAS .....	73
<b>5 PUBLICAÇÕES REFERENTES AO PERÍODO DO MESTRADO .....</b>	<b>74</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>92</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR

O transtorno depressivo maior (sendo nesta dissertação tratado como depressão) é um transtorno psiquiátrico altamente prevalente, crônico e incapacitante que afeta globalmente mais de 300 milhões de pessoas, sendo mais comum em mulheres (prevalência anual de 5,1%) do que em homens (prevalência anual de 3,6%). Além disso, estima-se que 1 a cada 6 adultos sejam acometidos por este transtorno ao longo da vida (CULPEPPER, 2011; OTTE et al., 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Particularmente, o Brasil é o país com o maior índice de indivíduos com depressão na América Latina. A cidade de São Paulo destaca-se por superar os índices mundiais, apresentando uma prevalência anual de 10,4% (BROMET et al., 2011; OTTE et al., 2016).

Indivíduos que passaram por eventos adversos durante a vida, como luto e trauma psicológico são mais propensos a desenvolver depressão. Mais recentemente, a pandemia de COVID-19 causada pelo coronavírus SARS-CoV-2 tem sido associada com um aumento de sintomas de depressão na população mundial (COVID-19 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2021). Portanto, o transtorno depressivo é resultado de uma complexa interação entre pré-disposições genéticas, fatores ambientais, bem como disfunções neuroquímicas, neuroendócrinas e moleculares (BERTON; NESTLER, 2006; OTTE et al., 2016). A forte relação deste transtorno com o suicídio é a preocupação clínica mais imediata. Estima-se que pacientes com depressão são 20 vezes mais propensos a cometer suicídio que a população em geral (CHESNEY; GOODWIN; FAZEL, 2014; OTTE et al., 2016).

Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), caracteriza-se como um indivíduo com depressão aquele que apresentar de forma recorrente, por um período de pelo menos duas semanas, no mínimo cinco dos seguintes sintomas: i) humor deprimido evidente; ii) diminuição no interesse ou prazer em quase todas ou todas as atividades (anedonia); iii) aumento ou diminuição no apetite, associado com alterações no peso sem dieta alimentar aparente; iv) hipersônia ou insônia; v) agitação ou retardo psicomotor; vi) sensação de fadiga; vii) sentimento excessivo de inutilidade ou culpa; viii) diminuição na capacidade de concentração e tomada de decisões; ix) pensamentos recorrentes de morte ou ideação suicida. Destaca-se que obrigatoriamente, para se caracterizar como transtorno depressivo, o indivíduo

deve apresentar humor deprimido ou anedonia (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

## 1.2 TRANSTORNOS DE ANSIEDADE

Transtornos de ansiedade, incluindo transtorno de ansiedade de separação, fobia específica, mutismo seletivo, transtorno de ansiedade social, transtorno do pânico, agorafobia e transtorno de ansiedade generalizado, constituem uma das principais causas de incapacitação, acometendo globalmente, cerca de 264 milhões de indivíduos, sendo mais prevalentes em mulheres (4,6%) do que em homens (2,6%). O Brasil se destaca no cenário mundial, possuindo o maior número de casos de transtornos de ansiedade entre todos os países do mundo, considerando que anualmente cerca de 9,3% da população é acometida (CRASKE et al., 2017; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Estima-se que pacientes com transtornos de ansiedade recém-diagnosticados aumentaram de 31,13 milhões em 1990 para 45,82 milhões em 2019 (YANG et al., 2021). Particularmente, no atual contexto da pandemia de COVID-19, vários estudos têm relatado um aumento expressivo nos sintomas de ansiedade na população (COVID-19 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2021). Além disso, a alta prevalência de transtornos de ansiedade aumenta significativamente o risco de mortalidade, tornando-se um crítico problema clínico e de saúde pública (MEIER et al., 2016).

De forma geral, transtornos de ansiedade estão relacionados a alterações no sistema límbico, disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e fatores genéticos, e são caracterizados por iniciarem durante a infância, adolescência e início da idade adulta. Eles diferem da ansiedade fisiológica transitória normativa do desenvolvimento ou induzida pelo estresse por serem persistentes e desproporcionais à ameaça real presente. Portanto, indivíduos com estes transtornos apresentam sensações de medo e ansiedade excessivas e tendem a evitar situações consideradas “ameaçadoras”, o que compromete conseqüentemente, seu cotidiano (CRASKE; STEIN, 2016; CRASKE et al., 2017).

Os transtornos de ansiedade raramente existem de forma isolada, mais de 90% dos indivíduos com este transtorno apresentam concomitantemente outros transtornos psiquiátricos (KAUFMAN; CHARNEY, 2000). Verifica-se por exemplo, que transtornos de ansiedade podem pré-dispor o indivíduo a desenvolver depressão (LEWINSOHN et al., 1997; AVENEVOLI et al., 2001).



Portanto, transtornos de depressão e ansiedade apresentam-se como comorbidades pronunciadas, com 50-60% dos indivíduos com depressão atendendo aos critérios de um transtorno de ansiedade (KAUFMAN; CHARNEY, 2000). Este fato sugere o envolvimento de mecanismos fisiopatológicos comuns a estes transtornos.

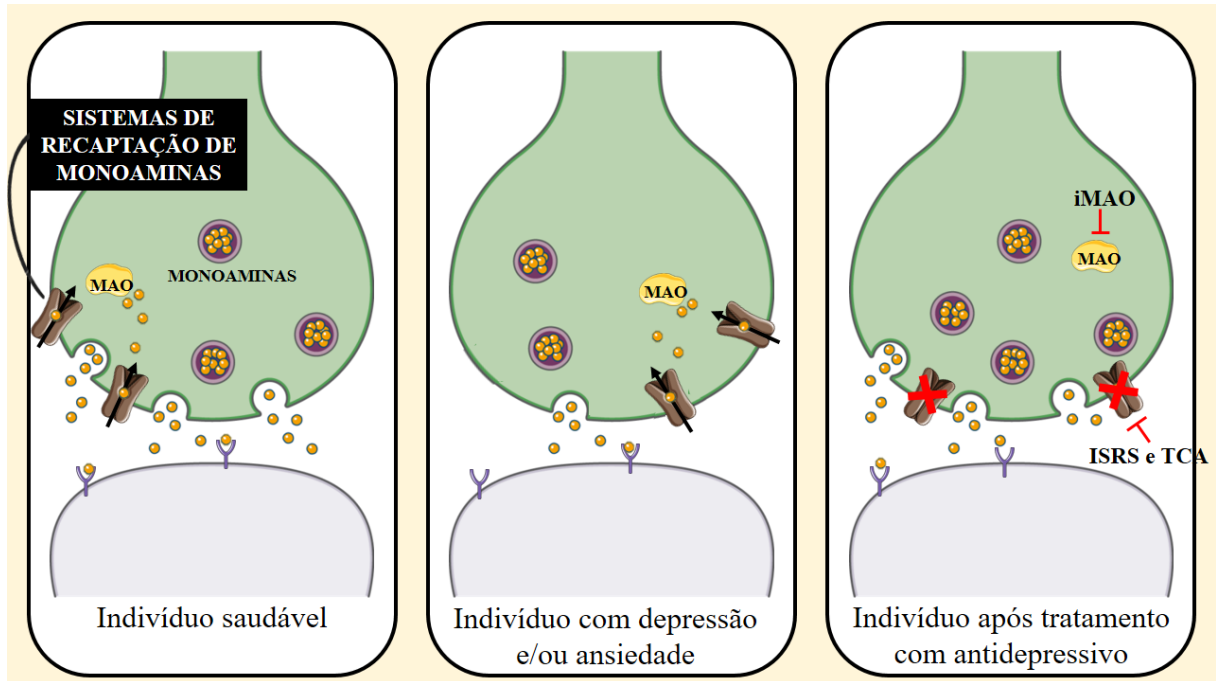
## 1.3 BASES NEUROBIOLÓGICAS COMUNS À DEPRESSÃO E ANSIEDADE

### 1.3.1 Sistemas monoaminérgicos

Os sistemas monoaminérgicos compostos principalmente pelos neurotransmissores serotonina, noradrenalina e dopamina estão diretamente relacionados à regulação do humor, cognição, motivação e autocontrole (HAMON; BLIER, 2013). A metabolização da noradrenalina e dopamina ocorre em neurônios catecolinérgicos. A partir da hidroxilação do aminoácido tirosina, a tirosina hidroxilase promove a formação da dihidrofenilalanina (DOPA). Posteriormente, por meio de uma descarboxilase, a DOPA é convertida em dopamina. A dopamina formada pode ser então convertida pela enzima dopamina  $\beta$ -hidroxilase em noradrenalina (SANDERS-BUSH; HAZELWOOG, 2012). Em neurônios serotoninérgicos a triptofano hidroxilase metaboliza o aminoácido triptofano em serotonina. Após a síntese, esses neurotransmissores são estocados em vesículas no neurônio pré-sináptico. Em decorrência da despolarização neuronal, ocorre a liberação e, posterior interação dessas monoaminas com seus respectivos receptores noradrenérgicos, dopaminérgicos ou serotoninérgicos no neurônio pós-sináptico. Sequencialmente à interação, transportadores específicos pré-sinápticos promovem a captação dessas monoaminas para o interior neuronal, onde são metabolizadas pela monoamina oxidase (MAO), enzima responsável pela desaminação oxidativa dessas aminas biogênicas e os metabólitos formados podem ser utilizados na síntese de novos neurotransmissores (WONG; PERRY; BYMASTER, 2005; SANDERS-BUSH; HAZELWOOG, 2012).

Tem sido reportado que indivíduos com transtornos de depressão ou ansiedade apresentam alterações no metabolismo dessas monoaminas, fato que fundamenta a hipótese monoaminérgica (HAMON; BLIER, 2013; LIU; ZHAO; GUO, 2018). Particularmente, níveis diminuídos de serotonina são evidenciados no líquido cefalorraquidiano e plasma de indivíduos com depressão (MAES et al., 1990) ou ansiedade (BREWERTON et al., 1995). Nesse contexto, foi observado que antidepressivos convencionais como inibidores da MAO (iMAO), tricíclicos (TCA) e inibidores seletivos de receptação de serotonina (ISRS) e noradrenalina (ISRN) também apresentam propriedades ansiolíticas (Figura 1) (NUTT, 2005).

Figura 1 - Hipótese monoaminérgica



Em um indivíduo saudável, as monoaminas, particularmente serotonina contidas nas vesículas do neurônio pré-sináptico são liberadas e se ligam a receptores específicos do neurônio pós-sináptico. Após a interação, estas monoaminas são recaptadas, retornando ao neurônio pré-sináptico, onde são degradadas pela MAO e os metabólitos formados podem ser utilizados na síntese de novos neurotransmissores. Considerando a hipótese monoaminérgica, no indivíduo com transtorno psiquiátrico ocorre uma redução nos níveis de monoaminas na fenda sináptica, acarretando numa menor interação e ativação de receptores pós-sinápticos. Os antidepressivos como os ISRS ou os ATCs, visam bloquear os sistemas de recaptação de monoaminas, enquanto os iMAO diminuem diretamente a degradação destes neurotransmissores. Portanto, os antidepressivos proporcionam uma melhora nos sintomas, por promoverem um aumento na biodisponibilidade de monoaminas na fenda sináptica. Abreviaturas: TCA: antidepressivos tricíclicos; iMAO: inibidores da enzima monoamina oxidase; ISRS: inibidores seletivos da recaptação de serotonina; MAO monoamina oxidase. Figura originada a partir de imagens do Servier Medical Art. Fonte: autora.

Dentre os antidepressivos convencionais, ISRS estão entre os tratamentos medicamentosos mais efetivos para pacientes com transtornos psiquiátricos, sendo os fármacos de primeira escolha para o tratamento da depressão e ansiedade (ANDRISANO; CHIESA; SERRETTI, 2013; DALE; BANG-ANDERSEN; SÁNCHEZ, 2015). Apesar do mecanismo de ação de ISRS envolver um aumento pronunciado de serotonina na fenda sináptica poucas horas após a administração (VASWANI; LINDA; RAMESH, 2003), verifica-se que a remissão dos sintomas ocorre somente 3-4 semanas após o início do tratamento, fato que sugere o envolvimento de outros mecanismos e vias de sinalização no efeito terapêutico desses fármacos (OTTE et al., 2016).

### 1.3.2 Hipótese neurotrófica

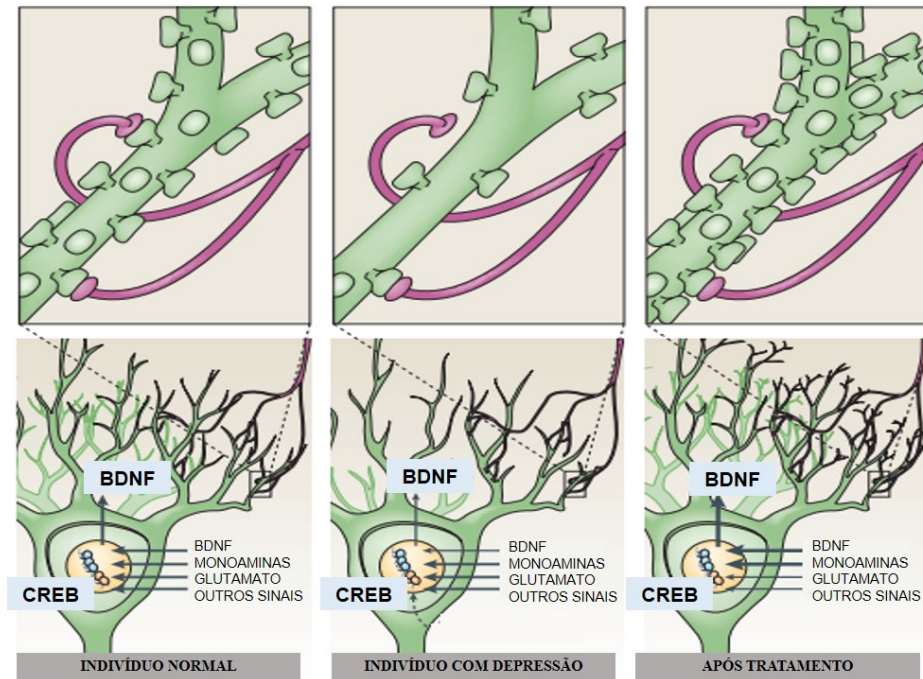
A hipótese neurotrófica postula que indivíduos com depressão apresentam alterações nos níveis de fatores neurotróficos, os quais desempenham um papel fundamental na proliferação (neurogênese), migração e diferenciação de células neuronais e gliais (MASI; BROVEDANI, 2011). Tem sido sugerido que mecanismos semelhantes podem ocorrer com a ansiedade. De fato, em pacientes com transtornos de depressão e/ou ansiedade evidencia-se uma diminuição nos níveis de fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) no soro ou plasma (LEE; KIM, 2009; SHEN et al., 2019). Além disso, tem sido robustamente demonstrado que comportamentos tipo-depressivo e ansioso estão associados à diminuição de BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal de modelos animais (RIOS et al., 2001; MASI; BROVEDANI, 2011; LI et al., 2019a).

Majoritariamente, as funções do BDNF e de outros fatores neurotróficos como fator de crescimento nervoso (NGF), neurotrofina-3 (NT-3) e neurotrofina-4 (NT-4) são mediadas por subtipos específicos de receptores tirosina cinase (LU; PANG; WOO, 2005). A ligação e dimerização BDNF-TrkB (receptor tropomiosina cinase B) promove a autofosforilação deste receptor, induzindo o ancoramento de proteínas intracelulares. Esse processo pode desencadear a ativação de distintas vias de sinalização a jusante como proteína cinase ativada por mitógeno (MAPK), fosfolipase C (PLC) e fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K) (REICHARDT, 2006; MASI; BROVEDANI, 2011). A ativação da via MAPK pode culminar na fosforilação e ativação da proteína de ligação ao elemento de resposta de monofosfato de adenosina cíclico (CREB), responsável pela transcrição de BDNF e TrkB. Portanto, por meio de um feedback positivo transcricional, o BDNF é capaz de modular seus próprios níveis de expressão nos neurônios (PITTINGER; DUMAN, 2008; MASI; BROVEDANI, 2011; ESVALD et al., 2020).

Um compilado de evidências aponta que o tratamento crônico com antidepressivos convencionais como ISRS, iMAO e TCA é capaz de restabelecer os níveis séricos de BDNF (DUMAN; HENINGER; NESTLER, 1997; DWIVEDI; RIZAVI; PANDEY, 2006; MASI; BROVEDANI, 2011). Além disso, um recente estudo reportou que antidepressivos clássicos e de ação rápida são capazes de se ligar diretamente ao TrkB, facilitando assim sua localização sináptica e posterior, ativação através do BDNF (CASAROTTO et al., 2021). Corroborando esses fatos, a janela terapêutica desses antidepressivos é consistente com o período necessário

para que uma célula progenitora se torne um neurônio funcional (Figura 2) (SURGET et al., 2008).

Figura 2 - Hipótese neurotrófica

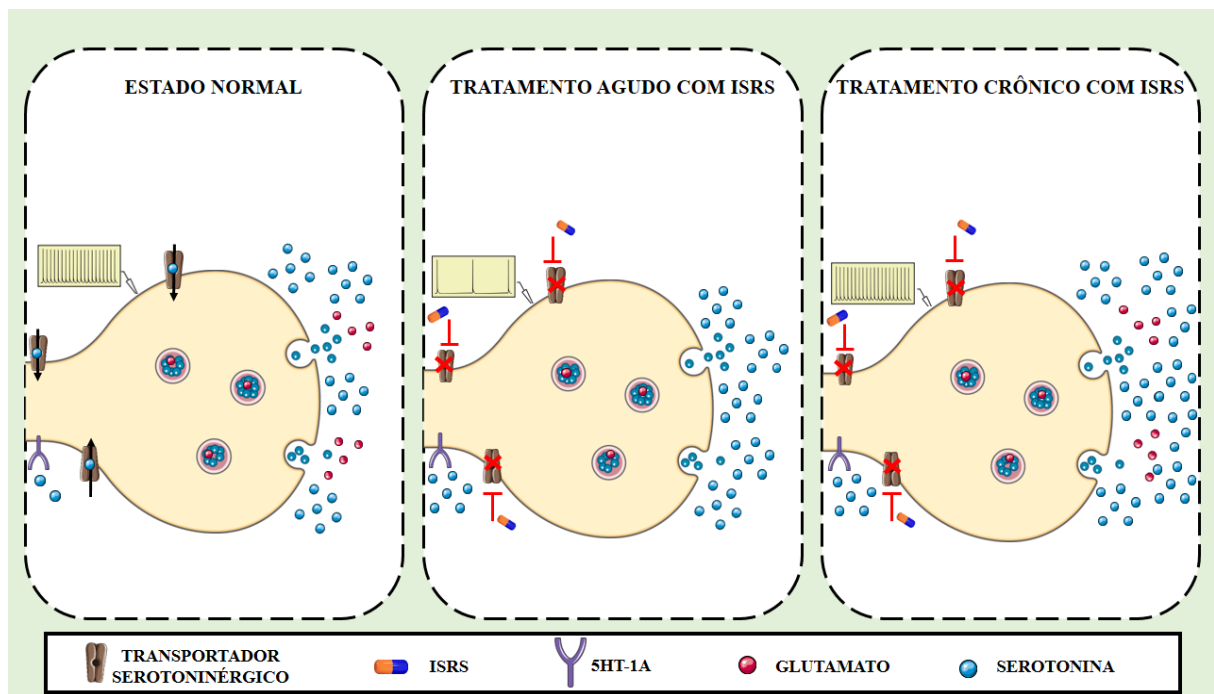


Um indivíduo em estado normal possui neurônios piramidais hipocâmpais com projeções monoaminérgicas, glutamatérgicas e de outros tipos neuronais que auxiliam nos circuitos de neurotransmissão. Entretanto, um indivíduo com depressão e/ou ansiedade apresenta alterações nos neurônios piramidais hipocâmpais, incluindo redução de espinhos dendríticos e retração da arborização dendrítica, em consequência da redução dos níveis de BDNF e dos mecanismos transcricionais mediados pelo CREB. Mecanismos similares também podem ocorrer na ansiedade (MARTINOWICH; MANJI; LU, 2007). O tratamento com antidepressivos, por sua vez, promove um aumento na arborização dendrítica e na expressão de BDNF mediado pela ativação de CREB. BDNF: fator neurotrófico derivado do encéfalo; CREB: proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc. Fonte: Adaptado de BERTON e NESTLER (2006).

Além dos mecanismos relacionados ao restabelecimento de serotonina e neurogênese, tem sido demonstrado que os ISRS afetam a liberação de serotonina e glutamato em neurônios serotoninérgicos (FISCHER; JOCHAM; ULLSPERGER, 2014). Como mencionado anteriormente, a administração aguda desses antidepressivos é capaz de bloquear transportadores que promovem a recaptção de serotonina, promovendo um aumento desse neurotransmissor na fenda sináptica e nas proximidades dos autorreceptores de serotonina do tipo 1 A (5-HT<sub>1A</sub>). A ativação destes autorreceptores promove uma hiperpolarização, diminuindo assim as taxas de disparos sinápticos. Com isso, menos glutamato e serotonina são

liberados do neurônio, mas devido ao bloqueio dos transportadores serotoninérgicos, apenas o glutamato permanece em menor concentração na fenda sináptica. Quando os autorreceptores dessensibilizam, aproximadamente 2-3 semanas após o tratamento, as taxas de disparos são restabelecidas, restaurando também o glutamato (Figura 3) (FISCHER; JOCHAM; ULLSPERGER, 2014). Destaca-se que este neurotransmissor é fundamental para o processo de sinaptogênese, tornando os neurônios formados mais funcionais (OHGI; FUTAMURA; HASHIMOTO, 2015).

Figura 3 - Mecanismo de ação dos ISRS mediado pela alteração na coliberação de serotonina e glutamato em neurônios serotoninérgicos



Fisiologicamente foi demonstrado que neurônios serotoninérgicos são capazes de coliberar glutamato e serotonina de maneira excitatória. A administração aguda de ISRS bloqueiam transportadores serotoninérgicos, promovendo um aumento de serotonina na fenda sináptica e nas proximidades dos autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub>, culminando numa hiperpolarização neuronal, diminuindo assim as taxas de disparos. Conseqüentemente, ocorre uma atenuação nos níveis de glutamato na fenda sináptica. Aproximadamente 2-3 semanas após o tratamento, os autorreceptores se dessensibilizam e as taxas de disparos são restabelecidas, restaurando também o componente glutamatérgico. ISRS: inibidores seletivos da recaptação de serotonina; 5-HT<sub>1A</sub>: autorreceptores de serotonina do tipo 1 A. Figura originada a partir de imagens do Servier Medical Art. Fonte: autora, baseada em FISCHER; JOCHAM; ULLSPERGER (2014).

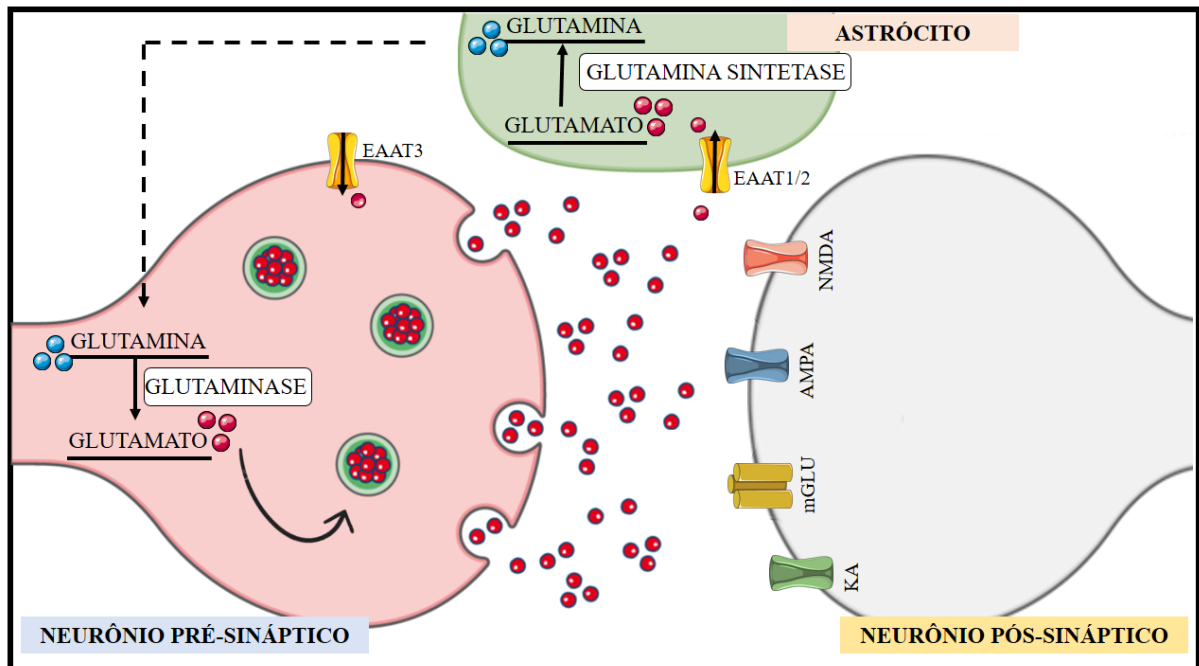
### 1.3.3 Sistema glutamatérgico: sinaptogênese

O glutamato é o principal mediador dos sinais excitatórios do Sistema Nervoso Central (SNC), sendo um neurotransmissor que compõe o sistema glutamatérgico (ZHOU; DANBOLT, 2014). Esse neurotransmissor é sintetizado principalmente pela enzima glutaminase, presente em neurônios pré-sinápticos, a qual promove a desaminação da glutamina. Estímulos excitatórios permitem que o neurônio pré-sináptico atinja o potencial de ação e, posteriormente promova a exocitose de vesículas contendo o glutamato sintetizado (NICIU; KELMENDI; SANACORA, 2012; SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012; ZHOU; DANBOLT, 2014). O glutamato liberado na fenda sináptica pode então interagir com receptores de membrana ionotrópicos e metabotrópicos. Os receptores ionotrópicos incluem os subtipos de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (AMPA) e cainato. Esses receptores são canais iônicos controlados por ligantes permeáveis a cátions que promovem correntes excitatórias a partir da interação e ligação do glutamato, enquanto que os metabotrópicos (mGlu1 a mGlu8) incluem os receptores glutamatérgicos acoplados à proteína G inibitória ou estimulatória (REINER; LEVITZ, 2018).

Posteriormente, o glutamato presente na fenda sináptica é captado e reciclado principalmente pelos transportadores de aminoácidos excitatórios do tipo 1 e 2 (EAAT1 e EAAT2) presentes em astrócitos e, em menor proporção, pelos EAAT3 presentes em neurônios (ARMADA-MOREIRA et al., 2020). Intracelularmente, o glutamato é convertido em glutamina, através da ação da enzima glutamina sintetase. Em seguida, por meio de transportadores específicos, ocorre o efluxo da glutamina formada para o meio extracelular, sendo posteriormente transportada para o interior neuronal. No citosol, a glutaminase presente em neurônios pré-sinápticos pode converter novamente a glutamina em glutamato, o qual é posteriormente armazenado em vesículas sinápticas (Figura 4) (NICIU; KELMENDI; SANACORA, 2012; SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012).

Considerando que o excesso deste neurotransmissor promove a ativação exacerbada e/ou prolongada dos receptores glutamatérgicos, principalmente receptores NMDA extrassinápticos, induzindo excitotoxicidade glutamatérgica, o processo de remoção e reciclagem de glutamato da fenda sináptica é de fundamental importância para a homeostase sináptica e manutenção de suas funções fisiológicas (ARMADA-MOREIRA et al., 2020).

Figura 4 - Neurotransmissão glutamatérgica



Após estímulos excitatórios, o neurônio pré-sináptico promove exocitose de vesículas contendo glutamato na fenda sináptica, o qual pode interagir com os receptores ionotrópicos (NMDA, AMPA e KA) e metabotrópicos (mGLU). Após a interação, o glutamato presente na fenda sináptica é captado e reciclado, principalmente pelos transportadores EAAT1 e EAAT2 presentes em astrócitos e EAAT3 presentes em neurônios. Intracelularmente, o glutamato é convertido em glutamina, através da ação da enzima glutamina sintetase. Em seguida, por meio de transportadores específicos, ocorre o efluxo da glutamina formada para o meio extracelular. Este aminoácido presente no meio extracelular é então transportado para o interior neuronal, onde é convertido novamente à glutamato pela glutaminase, sendo posteriormente armazenado em vesículas sinápticas. AMPA: receptor ácido alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico; EAAT: transportadores de aminoácidos excitatórios; KA: receptor cainato; NMDA: receptor N-metil-D-aspartato. Figura originada a partir de imagens do Servier Medical Art. Fonte: autora, baseada em NICIU; KELMENDI; SANACORA (2012).

Dentre as funções fisiológicas relacionadas ao sistema glutamatérgico, o papel do glutamato na plasticidade sináptica tem ganhado destaque nas últimas décadas (KACZMAREK; KOSSUT; SKANGIEL-KRAMSKA, 1997). De especial interesse, a plasticidade sináptica refere-se à modulação de processos estruturais e funcionais de dendritos e axônios, a fim de aumentar a força e/ou eficácia da transmissão sináptica em resposta a processos adaptativos do SNC. Neste contexto, a sinaptogênese é um dos mecanismos que compõe esse processo (CITRI; MALENKA, 2008; SKAPER et al., 2017).

A formação de novas sinapses se dá inicialmente pela interação célula-célula. Moléculas de adesão, incluindo neurexinas localizadas pré-sinápticamente e neuroliginas presentes pós-sinápticamente promovem junções interneuronais (PETZOLDT; SIGRIST, 2014; SÜDHOF,



2018). Posteriormente, neurônios pré-sinápticos são então estimulados por uma série de potenciais rítmicos excitatórios, fato que culmina na despolarização neuronal, seguida da abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem (CCVD). O influxo de cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), favorece a ativação da proteína serina cinase dependente de cálcio (CASK), a qual ao interagir com neurexinas promove a exocitose de vesículas contendo glutamato (DALVA; MCCLELLAND; KAYSER, 2007; CITRI; MALENKA, 2008; NICOLL, 2017). Subsequentemente, o glutamato liberado, ativa receptores ionotrópicos pós-sinápticos, preferencialmente AMPA. A ativação destes receptores induz um influxo de íons sódio ( $\text{Na}^{+}$ ) e potássio ( $\text{K}^{+}$ ), causando uma despolarização neuronal necessária para que o íon magnésio presente em receptores NMDA seja dissociado (MAYER; WESTBROOK; GUTHRIE, 1984; NOWAK et al., 1984). Esse desbloqueio permite que o glutamato juntamente com a serina/glicina possam interagir e ativar receptores NMDA. A ativação destes receptores culmina no influxo de íons  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Na}^{+}$ , contribuindo assim com a despolarização e abertura de CCVD (CITRI; MALENKA, 2008).

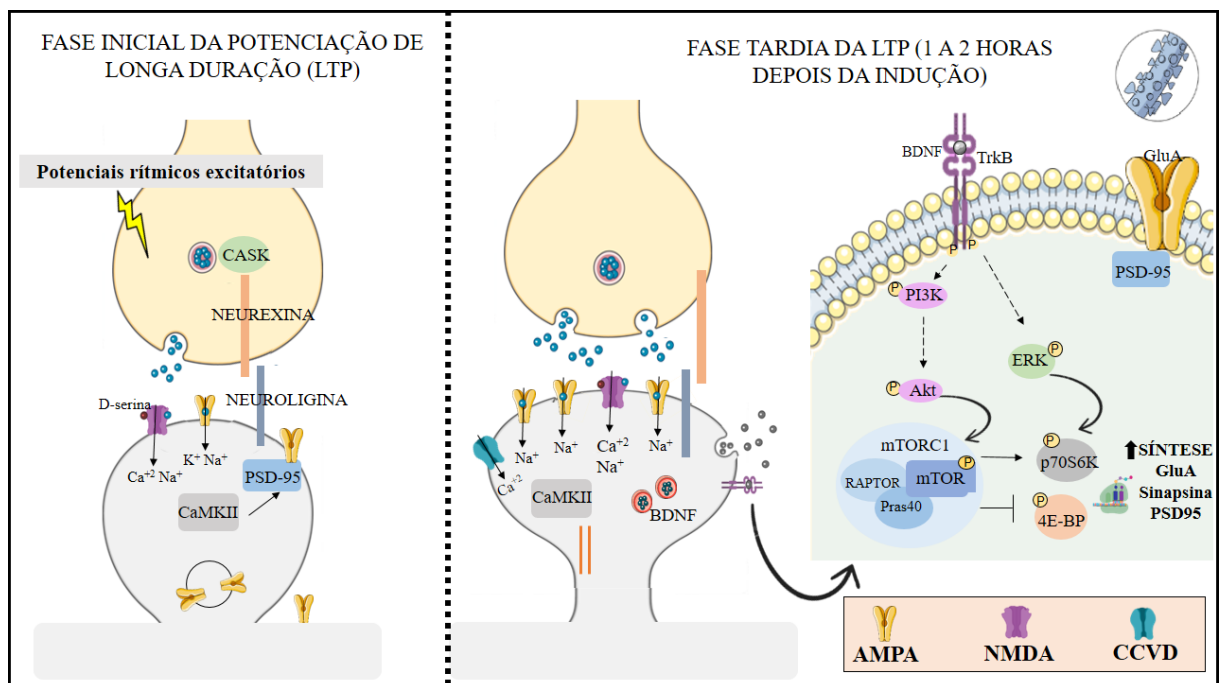
O aumento substancial de  $\text{Ca}^{+2}$  intracelularmente promove a autofosforilação e ativação da proteína cinase dependente de cálcio/calmodulina (CaMKII) (MILLER; KENNEDY, 1986). Dentre suas funções, verifica-se que esta proteína contribui com o tráfego de receptores AMPA para a porção sináptica (CITRI; MALENKA, 2008). Além disso, esta enzima é capaz de aumentar a condutância de receptores AMPA constituídos pela subunidade GluA1, por meio da fosforilação do resíduo de aminoácido serina 831 (DERKACH; BARRIA; SODERLING, 1999; DERKACH et al., 2007). Reporta-se que várias outras vias participam deste processo, incluindo MAPK-CREB, relacionada à síntese de BDNF (THOMAS; HUGANIR, 2004). Esses mecanismos em conjunto constituem a denominada fase inicial da potenciação de longa duração (LTP) (CITRI; MALENKA, 2008; NICOLL, 2017).

Cerca de 1-2 horas após esta indução ocorre a fase tardia da LTP (CITRI; MALENKA, 2008). Nesta fase, o aumento na densidade de receptores AMPA acoplados a porção sináptica, favorece a rápida despolarização neuronal, facilitando o influxo de  $\text{Ca}^{+2}$  via receptores NMDA e CCVD. Com isso, vesículas contendo BDNF são exocitadas, sendo que o BDNF liberado em seguida interage e ativa receptores TrkB (FORREST; PARNELL; PENZES, 2018). A autofosforilação destes receptores promove a ativação de vias de sinalização tais como as vias PI3K/proteína cinase B (PKB/Akt) e cinase regulada por sinal extracelular (ERK), culminando na fosforilação da proteína alvo mecanístico da rapamicina (mTOR) (FORREST; PARNELL;

PENZES, 2018; SWIECH et al., 2008). Após ativação, a mTOR fosforila e reprime a proteína ligadora do fator de alongamento 4E (4E-BP) e ativa proteína ribossomal S6 cinase de 70 kDa (p70S6K), modulando positivamente a síntese de proteínas sinápticas, particularmente subunidades GluA1, proteína de densidade sináptica de 95 kDa (PSD-95) e sinapsina (SWIECH et al., 2008; HOEFFER; KLANN, 2010; LI et al., 2010; DUMAN et al., 2012; TAKEI; NAWA, 2014). Destaca-se que a tradução de GluA1 não é decorrente apenas da estimulação da via mTOR, pois tem sido reportado que ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas são capazes de se ligar e traduzir diretamente RNA mensageiro de GluA1, de forma independente da p70S6K (JUNG et al., 2020).

Concomitantemente a esses mecanismos, o influxo de  $\text{Ca}^{+2}$  continua promovendo a fosforilação da CaMKII, a qual é também capaz de modular a dinâmica do citoesqueleto, contribuindo para a alteração morfológica dos espinhos dendríticos. O aumento na maturação e densidade dendrítica favorece a formação de sinapses mais específicas e estáveis (Figura 5) (CITRI; MALENKA, 2008; OHGI; FUTAMURA; HASHIMOTO, 2015).

Figura 5 – Mecanismos relacionados à sinaptogênese



A formação de novas sinapses se dá inicialmente pela interação interneuronal promovida pelas neurexinas e neuroliginas. Neurônios pré-sinápticos são então estimulados por potenciais rítmicos excitatórios, fato que culmina na abertura de CCVD. O influxo de  $\text{Ca}^{+2}$ , favorece a ativação da CASK, a qual ao interagir com neurexinas promove a exocitose de vesículas glutamatérgicas. O glutamato liberado, ativa receptores AMPA, promovendo

um influxo de  $\text{Na}^{+2}$  e  $\text{K}^{+}$ , causando o desbloqueio de receptores NMDA, os quais são então ativados pelo glutamato. A ativação destes receptores culmina no influxo de íons  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Na}^{+}$ , contribuindo assim com a despolarização e abertura de CCVD. O aumento de  $\text{Ca}^{+2}$  intracelularmente promove a ativação da CaMKII, a qual contribui com o tráfego de receptores AMPA para a porção sináptica. Além disso, esta enzima aumenta a condutância de receptores AMPA constituídos pela subunidade GluA1. Após esta indução ocorre a fase tardia da LTP, na qual o aumento na densidade de receptores AMPA acoplados à porção sináptica, favorece a rápida despolarização neuronal, facilitando influxo de  $\text{Ca}^{+2}$  via receptores NMDA e CCVD. Com isso, o BDNF contido em vesículas sinápticas é liberado, ativando receptores TrkB. A autofosforilação destes receptores promove a ativação das vias PI3K/Akt e ERK, culminando na fosforilação da mTOR. Após ativação, a mTOR fosforila e reprime a 4E-BP e ativa a p70S6K, induzindo a síntese de proteínas sinápticas como subunidades GluA1, PSD-95 e sinapsina. Concomitantemente a esses mecanismos, o influxo de  $\text{Ca}^{+2}$  continua promovendo a fosforilação da CaMKII, a qual contribui para a alteração morfológica dos espinhos dendríticos. Akt: proteína cinase B; AMPA:  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato; BDNF: fator neurotrófico derivado do encéfalo;  $\text{Ca}^{+2}$ : cálcio; CaMKII: proteína cinase dependente de cálcio/calmodulina; CCDV: canal de cálcio dependente de voltagem; CASK: proteína serina cinase dependente de cálcio; ERK: proteína cinase regulada por sinal extracelular;  $\text{K}^{+}$ : potássio; LTP: potenciação de longa duração; mTOR: proteína alvo mecanístico da rapamicina; PI3K: fosfatidilinositol 3-cinase; PSD-95: proteína de densidade pós-sináptica de 95 kDa; NMDA: N-metil-D-aspartato;  $\text{Na}^{+2}$ : sódio; TrkB: receptor tropomiosina cinase B. Figura originada a partir de imagens do Servier Medical Art e BioRender. Fonte: A autora.

Tem sido demonstrado que fármacos moduladores glutamatérgicos como a cetamina (antagonista do receptor NMDA) são capazes de promover efeitos antidepressivos e ansiolíticos rápidos através de mecanismos relacionados à sinaptogênese (LI et al., 2010; OHGI; FUTAMURA; HASHIMOTO, 2015; BANOV et al., 2020; FRAGA et al., 2020). Além disso, reporta-se que antidepressivos convencionais também promovem a formação de novas sinapses, por meio da ativação da via BDNF/PI3K/Akt, e consequente inibição dos fatores de transcrição FoxO (Forkhead box-O) (RANA et al., 2021). Notavelmente, a modulação de mecanismos relacionados à plasticidade sináptica é fundamental para a melhora de sintomas depressivos e ansiosos, considerando que indivíduos com estes transtornos apresentam redução na densidade dendrítica e atrofia neuronal, alterações que podem ser desencadeadas por processos neuroinflamatórios (LEUNER; SHORS, 2013; OHGI; FUTAMURA; HASHIMOTO, 2015).

### 1.3.4 Neuroinflamação

Nas últimas décadas, tem sido reportada a existência de uma intrínseca interação entre a hiperativação do sistema imunológico, liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias e alterações em regiões encefálicas relacionadas ao humor (KAUFMANN et al., 2017). De fato, a crônica ativação do sistema imune se constitui em um mecanismo subjacente às disfunções dos sistemas serotoninérgico, dopaminérgico, noradrenérgico e glutamatérgico observadas em

indivíduos com depressão e ansiedade, resultando em alterações nos volumes e funções de regiões cerebrais, particularmente córtex pré-frontal e hipocampo (LIU et al., 2019).

Estudos de imagem de tomografia por emissão de pósitrons (PET) demonstram que indivíduos com depressão exibem uma regulação positiva da proteína translocadora de 18 kDa (TSPO), uma proteína marcadora de neuroinflamação e ativação microglial, em regiões como o córtex cingulado anterior, córtex pré-frontal, hipocampo e ínsula (GRITTI et al., 2021). Destaca-se que as células microgliais são as principais mediadoras do processo neuroinflamatório, uma vez que atuam como células de primeira resposta a insultos exógenos e endógenos que acometem o cérebro (HERMAN; PASINETTI, 2018). Além disso, indivíduos com transtornos de depressão e/ou ansiedade têm apresentado níveis aumentados de mediadores pró-inflamatórios, particularmente interleucina (IL)-6, IL-2, proteína C-reativa (PCR), IL-1 $\beta$  e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (ROSSI et al., 2017; LIU et al., 2019). Portanto, dados da literatura sugerem que vias neuroinflamatórias estão relacionadas a etiologia desses transtornos, sendo potenciais alvos terapêuticos.

Tem sido reportado que fármacos antidepressivos podem modular a liberação de citocinas inflamatórias. Antidepressivos tricíclicos, incluindo clomipramina, imipramina e citalopram são capazes de inibir a liberação de IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  em monócitos humanos (XIA; DEPIERRE; NÄSSBERGER, 1996). A fluoxetina (ISRS) é capaz de reduzir significativamente a produção de interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) e TNF- $\alpha$  (MAES et al., 2005). Além disso, estudos clínicos indicam que o tratamento com antidepressivos incluindo fluoxetina, paroxetina, mianserina, mirtazapina, venlafaxina, desvenlafaxina, amitriptilina, agomelatina e imipramina pode diminuir níveis de citocinas inflamatórias por atenuar a expressão de vários componentes do inflamassoma NLRP3 (*NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3*) (ALCOCER-GÓMEZ et al., 2014; ALCOCER-GÓMEZ et al., 2017). De forma semelhante aos antidepressivos convencionais, a cetamina também apresenta efeitos anti-inflamatórios, por meio da regulação negativa do complexo NLRP3 (LI et al., 2019b; CAMARGO et al., 2021). O inflamassoma é um complexo multiproteico intracelular capaz de coordenar mecanismos imunes inatos centrais e periféricos através da ativação de caspases, que catalisam a maturação e liberação de citocinas pró-inflamatórias, particularmente IL-1 $\beta$  e IL-18 (KELLEY et al., 2019; ZAHID et al., 2019).

Notavelmente, a descoberta gradativa de novas bases neurobiológicas e vias intracelulares relacionadas à neurogênese, neuroplasticidade e neuroinflamação mudou a compreensão dos aspectos fisiopatológicos e terapêuticos dos transtornos de depressão e ansiedade, possibilitando a busca de novos e melhores compostos e alvos terapêuticos (DELGADO, 2000; DALE; BANG-ANDERSEN; SÁNCHEZ, 2015; OTTE et al., 2016). Nesse sentido, a vitamina D tem se destacado nos últimos anos por apresentar propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, pró-neurogênicas e neuromoduladoras, as quais parecem estar subjacentes aos seus efeitos antidepressivos e ansiolíticos (CAMARGO et al., 2018; SABIR et al., 2018; KOSHKINA et al., 2019; BAKHTIARI-DOVVOMBAYGI et al., 2021).

## 2 JUSTIFICATIVA

Os transtornos de depressão e ansiedade são condições clínicas altamente prevalentes que constituem uma das principais causas de incapacidade em todo o mundo (OTTE et al., 2016; CRASKE et al., 2017). Notavelmente, em decorrência da pandemia ocasionada pelo coronavírus 2019 (COVID-19), tem sido reportado um aumento significativo na prevalência de sintomas depressivos e ansiosos em diversos países (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

Destaca-se que frequentemente os transtornos de depressão e ansiedade ocorrem de forma concomitante, ocasionando uma sobreposição de sintomas nos indivíduos, fato que contribui para que o diagnóstico e tratamento continuem sendo um desafio para a clínica (CRASKE et al., 2017; MALHI; MANN, 2018). Além disso, a farmacoterapia atual apresenta uma série de limitações, incluindo diversos efeitos colaterais, como náuseas, insônia, sintomas gastrointestinais e disfunção sexual que causam redução de adesão ao tratamento (OTTE et al., 2016).

Diante deste cenário, a busca por novos alvos e compostos terapêuticos com propriedades antidepressivas e/ou ansiolíticas é de fundamental importância. Agentes que atuam em mecanismos fisiopatológicos implicados no início e progressão destes transtornos, particularmente relacionados às alterações na neurogênese e plasticidade sináptica, neuroinflamação e depleção de monoaminas demonstram ser promissores (KIM; JEON, 2018; MALHI; MANN, 2018). Nesse sentido, a vitamina D tem se destacado por apresentar diversas propriedades farmacológicas de especial interesse para o tratamento da depressão e ansiedade (CAMARGO et al., 2018; KOSHKINA et al., 2019).

Dentre as propriedades farmacológicas da vitamina D, foi demonstrado que este composto é capaz de inibir a recaptação de serotonina e a expressão gênica da MAO-A (SABIR et al., 2018). Em pacientes com depressão ou ansiedade, a administração diária de vitamina D aliada ao fármaco convencional já utilizado pelo paciente mostrou-se superior ao tratamento convencional isolado, o que sugere um potencial efeito antidepressivo/ansiolítico sinérgico decorrente da administração desta vitamina (EID et al., 2019; KHORAMINYA et al., 2013). Além disso, reportou-se que sua administração em modelos animais promove um aumento nos níveis de fatores neurotróficos (KOSHKINA et al., 2019). Entretanto, os mecanismos desencadeados pelo aumento de neurotrofinas relacionados à neurogênese e sinaptogênese

ainda não foram explorados. Com isso, torna-se relevante elucidar os potenciais mecanismos sinaptogênicos que possam estar subjacentes aos efeitos ansiolítico e/ou antidepressivo da vitamina D.

### **3 CAPÍTULO I**

**Bases moleculares subjacentes ao potencial terapêutico da vitamina D para o tratamento da depressão e ansiedade**



### 3. 1 INTRODUÇÃO

Diversos são os fatores etiológicos relacionados aos transtornos de depressão e ansiedade (OTTE et al., 2016; CRASKE et al., 2017). De particular interesse, a deficiência de vitamina D tem sido associada a um risco aumentado de desenvolver estes transtornos (CASSEB; KASTER; RODRIGUES, 2019). Em consonância com estas evidências, estudos têm reportado que a deficiência desta vitamina pode reduzir a expressão de fatores neurotróficos, alterando a expressão de proteínas envolvidas na plasticidade sináptica e neurotransmissão (EYLES et al., 2003; ALMERAS et al., 2007). Estes fatos em conjunto sugerem que a vitamina D é um composto terapêutico em potencial para o manejo de transtornos psiquiátricos. Estudos pré-clínicos indicam que a vitamina D possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, pró-neurogênicas e neuromoduladoras, as quais podem estar subjacentes aos seus efeitos ansiolíticos e/ ou antidepressivos (LEFEBVRE D'HELLEN COURT et al., 2003; FEDOTOVA et al., 2017; MORELLO et al., 2018; KHAIRY; ATTIA, 2021). Portanto, esta revisão explora a possibilidade de que essas propriedades da vitamina D possam estar subjacentes a sua possível resposta neuroprotetora.

### 3. 2 NEUROINFLAMAÇÃO COMO PRINCIPAL MECANISMO FISIOPATOLÓGICO RELACIONADO À DEPRESSÃO E ANSIEDADE

A neuroinflamação é um processo complexo que atua como um mecanismo de defesa no SNC, protegendo e restaurando a estrutura e função do encéfalo contra infecções e lesões (YONG et al., 2019). No entanto, respostas inflamatórias crônicas e exacerbadas podem induzir efeitos nocivos no cérebro. Esse evento pode envolver moléculas de sinalização relacionadas à inflamação, microbiota, células imunes e cerebrais (FULLERTON; GILROY, 2016; CARLESSI et al., 2021).

De especial interesse, a microglia corresponde às células imunes específicas do sistema nervoso. Em condições normais, a microglia assume um fenótipo definido por uma morfologia ramificada e processos altamente móveis para monitoramento constante do parênquima encefálico (fenótipo M2). Após um insulto promovido por padrões moleculares associados a patógenos e/ou a danos que interagem com receptores de reconhecimento de padrões, como os receptores Toll-like (TLRs), a microglia retrai seus processos móveis e se transforma em uma

forma amebóide (fenótipo M1) (BARTON, 2008; ORIHUELA; MCPHERSON; HARRY, 2016; HERMAN; PASINETTI, 2018; RUDZKI; MAES, 2020).

Além das alterações morfológicas, a ligação desses padrões moleculares aos TLRs induz a expressão de NLRP3 e pró-IL-1 $\beta$  via fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) e vias de resposta primária de diferenciação mielóide 88 (HERMAN; PASINETTI, 2018; SONG; LI, 2018; KELLEY et al., 2019). Destaca-se que a expressão de NLRP3 pode ser inibida sob certas condições, particularmente após a ativação do fator nuclear 2 relacionado ao fator eritróide 2 (Nrf2), o principal regulador da resposta antioxidante (LIU et al., 2017; XU et al., 2018). Posteriormente a transcrição, diferentes estímulos capazes de promover disfunção mitocondrial, fluxo iônico de cálcio e potássio, produção de ROS e dano lisossomal ativam o inflamassoma NLRP3, induzindo uma ativação autoproteolítica da pró-caspase-1 (KELLEY et al., 2019). A caspase-1 formada pode sequencialmente clivar pró-IL-1 $\beta$  e pró-IL-18 em suas formas ativas IL-1 $\beta$  e IL-18, respectivamente (SUTTERWALA; HAASKEN; CASSEL, 2014; HERMAN; PASINETTI, 2018). Além disso, a ativação do NLRP3 pode levar à formação de poros da membrana mediada por gasdermina D e, posteriormente, à piroptose (HERMAN; PASINETTI, 2018).

Os mediadores liberados pela microglia ativada são capazes de induzir a polarização dos astrócitos (LIDDELOW et al., 2017). Essa polarização contribui para o comprometimento de vias de sinalização que desempenham um papel crucial na sobrevivência neuronal e plasticidade sináptica, como a via de sinalização BDNF/TrkB (TEJEDA; DÍAZ-GUERRA, 2017). A ativação crônica dos astrócitos ainda resulta em níveis aumentados de quimiocinas, como o ligante 2 da quimiocina, que fixa receptores de células imunes periféricas para induzir a infiltração de macrófagos e monócitos da circulação para o SNC. Portanto, a ativação de astrócitos está relacionada ao aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (FARINA; ALOISI; MEINL, 2007; TROUBAT et al., 2021).

Citocinas pró-inflamatórias derivadas do processo neuroinflamatório como IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , provocam um aumento na atividade da enzima indoleamina 2,3-dioxigenase em astrócitos, microglia e células inflamatórias. A ativação dessa enzima aumenta a formação de ácido quinolínico (agonista do receptor NMDA) pela via das quinureninas, contribuindo para o distúrbio do sistema glutamatérgico e comprometendo a síntese de serotonina pela depleção do triptofano (BRAIDY et al., 2009; PIEROZAN et al., 2016; KIM; JEON, 2018; BANSAL et al.,

2019). Processos neuroinflamatórios também podem induzir alterações na microbiota intestinal, o que pode comprometer diretamente a síntese de serotonina, uma vez que tem sido relatado que mais de 90% da serotonina do organismo é produzida no intestino, principalmente nas células enterocromafins (AGUS; PLANCHAIS; SOKOL, 2018; CHEN et al., 2021). De fato, alterações na microbiota intestinal prejudicam até mesmo a eficácia de antidepressivos, como a fluoxetina (SIOPI et al., 2020).

Portanto, a neuroinflamação resulta de uma intrínseca comunicação entre células imunes periféricas, microbiota intestinal e células imunes presentes no cérebro que culmina em desregulação glutamatérgica, redução da plasticidade sináptica e síntese de monoaminas. Todos esses fatores juntos contribuem para atrofia e a perda neuronal evidenciada em indivíduos com transtornos de depressão e ansiedade (DUMAN, 2009). Nesse sentido, compostos com propriedades anti-inflamatórias, pró-neurogênicas e neuromoduladoras, como a vitamina D, são de especial interesse para o tratamento desses transtornos.

### 3. 3 METABOLISMO E FUNÇÕES BIOLÓGICAS DA VITAMINA D

A vitamina D é um hormônio esteróide que pode ser obtido pela dieta sob duas formas: i) vitamina D<sub>2</sub> (ergocalciferol) encontrada em leveduras, cogumelos e plantas; ii) vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) encontrada em alimentos de origem animal, como óleo de fígado de bacalhau e peixes oleosos (CHAROENNGAM; SHIRVANI; HOLICK, 2019). No entanto, a principal fonte de vitamina D é o colecalfiferol sintetizado endogenamente através da radiação solar ultravioleta B (UVB) na faixa de comprimento de onda de 290-315 nm (HOLICK, 2011; CHAROENNGAM; SHIRVANI; HOLICK, 2019). Nesse processo, os fótons UVB penetram na derme e são absorvidos pelo 7-desidrocolesterol, que é então convertido em pré-vitamina D<sub>3</sub> (HOLICK, 2011). A pré-vitamina D<sub>3</sub> formada se isomeriza em vitamina D<sub>3</sub>, a qual é transportada na circulação pela proteína de ligação à vitamina D (DBP) (HOLICK, 2011). No fígado, a vitamina D<sub>3</sub> é hidroxilada no carbono-25 pela 25-hidroxilase, principalmente CYP2R1, para produzir 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>) (HOLICK, 2007; ZHU; DELUCA, 2012). Em seguida, 25(OH)D<sub>3</sub> pode ser armazenado ou sofrer uma segunda hidroxilação nos rins pela 25-hidroxivitamina D-1 $\alpha$ -hidroxilase (CYP27B1), formando sua forma biologicamente ativa, 1 $\alpha$ ,25-dihidroxivitamina D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), também conhecida como calcitriol (HOSSEIN-NEZHAD; HOLICK, 2013). Estima-se que humanos possam

sintetizar quantidades equivalentes à ingestão oral de 20.000 UI desta vitamina (HOLICK, 2007).

A vitamina D é amplamente conhecida por desempenhar funções críticas no metabolismo do cálcio-fósforo, atuando na manutenção óssea (HOLICK, 2007). Além disso, também é capaz de exercer funções pleiotrópicas que ganharam atenção nos últimos anos (CHRISTAKOS et al., 2016). Essas ações biológicas são mediadas pelo receptor de vitamina D (VDR) (WACKER; HOLICK, 2013). A interação entre calcitriol e VDR permite que outros fatores de transcrição, como o receptor retinoide X (RXR) interajam com esse complexo formando um heterodímero (WACKER; HOLICK, 2013). O heterodímero formado liga-se a elementos de resposta à vitamina D (VDREs) e, ao recrutar complexos co-ativadores ou co-repressores, é capaz de modular a expressão gênica (HAUSSLER et al., 2013; WACKER; HOLICK, 2013). Estima-se que 200 a 2.000 genes sejam modulados direta ou indiretamente por esta vitamina (WACKER; HOLICK, 2013).

Devido às inúmeras ações biológicas mediadas pela vitamina D, a mensuração de sua concentração sérica torna-se indispensável. Em relação aos níveis séricos de 25(OH)D<sub>3</sub>, a Diretriz de Prática Clínica da Sociedade Americana de Endocrinologia define valores de deficiência <20 ng/mL; valores de insuficiência na faixa de 21–29 ng/mL; e valores de suficiência entre 30 a 100 ng/mL (HOSSEIN-NEZHAD; HOLICK, 2013; CHAROENNGAM; SHIRVANI; HOLICK, 2019). Contudo, os valores de referência para a vitamina D ainda permanecem sendo uma questão de debate (ALSHAHRANI; ALJOHANI, 2013).

### 3. 3. 1 Propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da vitamina D

Neurônios e células gliais são capazes de expressar VDR e enzimas do metabolismo da vitamina D em regiões como o córtex pré-frontal e hipocampo, sugerindo um possível papel desta vitamina na depressão e ansiedade (EYLES et al., 2005). Corroborando estas evidências, estudos apontam para a existência de uma associação inversa entre os níveis séricos de vitamina D e sintomas relacionados a estes transtornos (HOOGENDIJK et al., 2008; PU et al., 2018; CASSEB; KASTER; RODRIGUES, 2019).

Além das células gliais, VDRs e CYP27B1 também são expressos em várias outras células imunes, como células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, células B, macrófagos, neutrófilos e células

dendríticas (BAEKE et al., 2010). Portanto, foi demonstrado que o calcitriol é capaz de modular as respostas imunes inatas e adquiridas (BAEKE et al., 2010). Além disso, a modulação positiva de enzimas antioxidantes mediadas pelo calcitriol contribui para a homeostase redox e, conseqüentemente, para a atenuação do processo neuroinflamatório (YAMINI; RAY; CHOPRA, 2018; NAKAJO et al., 2021). Por exemplo, foi demonstrado que o calcitriol inibe a síntese de IL-6, TNF- $\alpha$  e óxido nítrico (NO) pela microglia ativada (LEFEBVRE D'HELLEN COURT et al., 2003). Da mesma forma, o calcitriol foi capaz de diminuir a expressão de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e óxido nítrico sintase induzível (iNOS), enzima responsável pela síntese de NO, no córtex pré-frontal de ratos (CUI et al., 2019).

Além de IL-6 e TNF- $\alpha$ , em outro estudo foi possível verificar que a vitamina D3 é capaz de reduzir a expressão de IL-12 e aumentar a expressão da citocina anti-inflamatória IL-10 (BOONTANRART et al., 2016). A vitamina D também é capaz de regular a expressão de outras citocinas anti-inflamatórias, incluindo IL-4 e fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) (CALVELLO et al., 2017). Em consonância com estas evidências, o calcitriol regulou positivamente o receptor TLR10 e negativamente TLR2 e TLR4, reforçando seu papel na atenuação da ativação microglial (VERMA; JUNG; KIM, 2014; VERMA; JUNG; KIM, 2014).

Ainda nesse contexto, foi relatado que a vitamina D mitiga a ativação do inflamassoma NLRP3 (XIN et al., 2019; CAMARGO et al., 2020). Embora Camargo e colaboradores não tenham encontrado alterações nos níveis de NLRP3, observou-se que a administração de colecalciferol por 7 dias reduziu o imunoconteúdo de outras proteínas relacionadas ao inflamassoma, incluindo ASC (proteína associada à apoptose contendo um domínio de recrutamento de caspase), TXNIP (proteína de interação com tioredoxina) e caspase-1 no hipocampo de camundongos (CAMARGO et al., 2020). No entanto, Xin et al. (2019) demonstraram que o calcitriol atenuou a expressão de NLRP3 pela inibição da via NF- $\kappa$ B em células epiteliais brônquicas humanas. Da mesma forma, o tratamento com agonista de VDR (paricalcitol) foi capaz de atenuar a expressão de NLRP3, gasdermina D, caspase-1 e IL-1 $\beta$ , proteínas relacionadas ao processo de piroptose mediada por NF- $\kappa$ B em modelos de lesão renal aguda induzida por cisplatina (JIANG et al., 2021). Reporta-se que um dos possíveis mecanismos pelos quais a vitamina D pode atenuar a ativação de NF- $\kappa$ B seja através da regulação positiva de I $\kappa$ B $\alpha$  (inibidor de NF- $\kappa$ B) (COHEN-LAHAV et al., 2006). Inclusive, o VDR pode se ligar diretamente ao NLRP3, inibindo a ativação desse complexo (HUANG et al., 2018; RAO et al., 2019).

Além do NLRP3, o calcitriol também foi capaz de suprimir a ativação do inflamassoma NLRP1 pela regulação positiva da via de sinalização do Nrf2 (NAKAJO et al., 2021). De fato, a capacidade do calcitriol de ativar a sinalização Nrf2 parece estar diretamente associada à sua propriedade neuroprotetora (CUI et al., 2021). Uma vez ativado, o Nrf2 promove a transcrição de várias enzimas antioxidantes (FÃO; MOTA; REGO, 2019). Nesse sentido, estudos têm demonstrado que a vitamina D é capaz de induzir a expressão da heme oxigenase-1 (HO-1), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutamato cisteína ligase (a enzima limitante da síntese de glutathione, um peptídeo antioxidante endógeno) inibindo assim o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) no encéfalo (SHINPO et al., 2000; YAMINI; RAY; CHOPRA, 2018; MEHRABADI; SADR, 2020; ALI et al., 2021).

### 3. 3. 2 Propriedades pró-neurogênicas e neuromoduladoras da vitamina D

A deficiência de vitamina D durante a gravidez pode comprometer o desenvolvimento cerebral da prole (CUI et al., 2007; EYLES et al., 2007; ZHU et al., 2012). Verifica-se que estes animais exibem um córtex mais fino, uma expressão reduzida de genes e proteínas relacionados à manutenção do citoesqueleto, plasticidade sináptica, neurotransmissão, proliferação e crescimento celular, além de níveis diminuídos de NGF (EYLES et al., 2003; FÉRON et al., 2005; ALMERAS et al., 2007; EYLES et al., 2007). Embora o estudo de Féron et al. (2005) não tenha reportado alterações nos níveis de BDNF e fator neurotrófico derivado da linhagem de células gliais (GDNF) na prole com deficiência de vitamina D, evidências verificaram que essa vitamina é capaz de induzir a síntese destas e de outras neurotrofinas, como a NT-3 (NEVEU et al., 1994; NAVEILHAN et al., 1996; KOSHKINA et al., 2019; XU; LIANG, 2021).

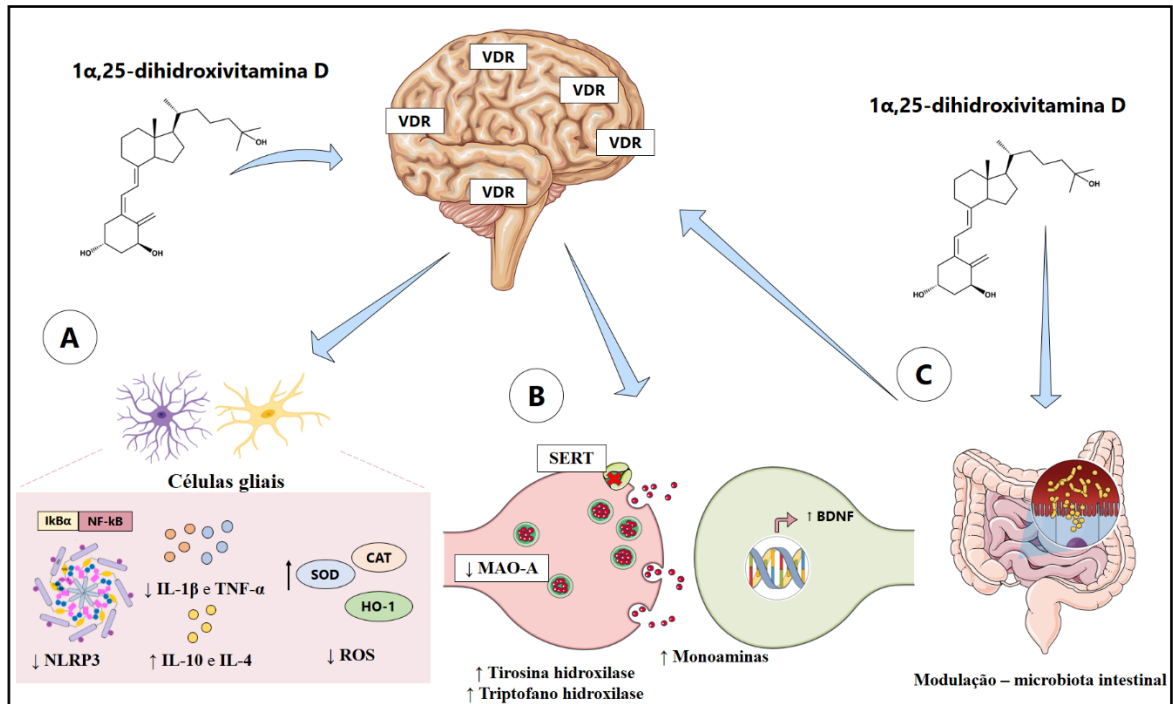
Corroborando estas evidências, um estudo de Atif e colaboradores (2013) demonstrou que o tratamento combinado de progesterona e vitamina D é eficaz para ativar a via de sinalização BDNF/TrkB (ATIF et al., 2013). Embora este estudo não tenha explorado os mecanismos subjacentes a essa ativação, sabe-se que o TrkB ativado pode fosforilar e ativar a via de sinalização mTOR, resultando na tradução de proteínas sinápticas (LI et al., 2010; ABDALLAH et al., 2015). Notavelmente, sinapsinas podem aumentar a liberação de neurotransmissores na fenda sináptica após serem fosforiladas por MAP cinases ativadas pela interação BDNF-TrkB (JOVANOVIC et al., 2000). Curiosamente, a suplementação de vitamina D promoveu um aumento na serotonina sérica em indivíduos depressivos

(ALGHAMDI et al., 2020) e nos níveis séricos de dopamina em crianças com transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (SEYEDI et al., 2019). Em relação à modulação dos níveis de monoaminas pela vitamina D, foi demonstrado que ela pode aumentar diretamente a biossíntese de monoaminas, aumentando a expressão das enzimas tirosina hidroxilase e triptofano hidroxilase implicadas na síntese de dopamina/noradrenalina e serotonina, respectivamente (JIANG et al., 2014). Além disso, a superexpressão de VDR demonstrou aumentar a diferenciação de neurônios dopaminérgicos e, conseqüentemente, a produção de dopamina (PERTILE; CUI; EYLES, 2016). No estudo de Morello et al. (2018), o calcitriol causou proliferação neuronal em culturas primárias de células progenitoras neurais murinas e melhorou a neurogênese em camundongos transgênicos semelhantes a AD (modelo 5XFAD). Por fim, o calcitriol também foi capaz de inibir a recaptção de serotonina e a expressão gênica da MAO-A, sugerindo que essa vitamina e os antidepressivos podem compartilhar mecanismos de ação comuns (SABIR et al., 2018).

### 3. 3. 3 Vitamina D: modulação da microbiota intestinal

O papel imunológico e neuromodulador da vitamina D ocorre em parte por sua interação com a microbiota intestinal (LUTHOLD et al., 2017). A concentração sérica de vitamina D pode contribuir para a alteração na composição da microbiota intestinal. Estudos demonstraram que a deficiência de vitamina D, depleção de VDR ou CYP27B1 promovem aumentos nos filos *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*, desencadeando disfunção da barreira epitelial e inflamação intestinal (OOI et al., 2013; ASSA et al., 2014). Curiosamente, foi demonstrado que o VDR regula negativamente a ativação de NF-κB intestinal induzida por bactérias, atenuando as respostas inflamatórias. Portanto, o VDR é um importante contribuinte para a homeostase intestinal e proteção contra infecções bacterianas (WU et al., 2010). As principais propriedades neuromoduladoras, anti-inflamatórias e antioxidantes da vitamina D relacionadas ao seu possível efeito antidepressivo e ansiolítico estão ilustradas na Figura 6.

Figura 6 – Propriedades neuromoduladoras, anti-inflamatórias e antioxidantes da vitamina D



Neurônios e células gliais são capazes de expressar VDR em regiões como o córtex pré-frontal e o hipocampo. Nessas regiões, a modulação positiva de enzimas antioxidantes mediadas pelo calcitriol como HO-1, CAT e SOD contribui para a homeostase redox e, conseqüentemente, para a atenuação do processo neuroinflamatório. O calcitriol também é capaz de aumentar a expressão de I $\kappa$ B $\alpha$ , inibindo assim a translocação nuclear do fator nuclear NF- $\kappa$ B. Como consequência, ocorre menor síntese, oligomerização e ativação do inflamassoma NLRP3, resultando em atenuação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$ , fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e aumento de citocinas anti-inflamatórias (IL-10, IL-4) (A). Ainda nesse contexto, a vitamina D foi capaz de modular a microbiota intestinal (C). Além disso, participa ativamente do aumento da síntese de monoaminas e do BDNF, favorecendo o processo de plasticidade sináptica (B). Abreviaturas: BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro; CAT: catalase; HO-1: heme oxigenase-1; IL: interleucina; I $\kappa$ B $\alpha$ : inibidor NF- $\kappa$ B; MAO: monoamina oxidase; NF- $\kappa$ B: fator nuclear kappa B; NLRP3: *NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3*; ROS: espécies reativas de oxigênio; SERT: transportadores de serotonina; SOD: superóxido dismutase; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; VDR: receptor de vitamina D. Figura originada a partir de imagens do Servier Medical Art, BioRender e Mind the Graph. Fonte: A autora.

### 3. 4 ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS: EFEITOS DA VITAMINA D EM MODELOS DE DEPRESSÃO E ANSIEDADE

Nos últimos anos, estudos pré-clínicos têm sido realizados para investigar o possível efeito antidepressivo e ansiolítico da vitamina D (Tabela 1). A administração crônica de colecalciferol (5 mg/kg por 14 dias; s.c.) provocou um efeito antidepressivo no teste de natação forçada em ratas *Wistar* ovariectomizadas (FEDOTOVA et al., 2016). Além disso, em outros estudos, a suplementação de colecalciferol (5 mg/kg por 14 dias; s.c.) foi capaz de atenuar comportamentos do tipo-ansioso nos testes do labirinto em cruz elevado e da caixa claro-escuro (FEDOTOVA et al., 2017; FEDOTOVA, 2019). Com base nesses achados, mais estudos têm



sido realizados para uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes aos efeitos ansiolíticos e antidepressivos da vitamina D em modelos animais (CAMARGO et al., 2018; BAKHTIARI-DOVVOMBAYGI et al., 2021).

Camargo e colaboradores (2018) relataram que o colecalciferol (2,5 µg/kg, p.o.) administrado uma vez ao dia nos últimos 7 dias da administração crônica de corticosterona (21 dias) exerceu um efeito antidepressivo no *splash test* e no teste de suspensão pela cauda em camundongos machos. Além disso, neste estudo, o tratamento com colecalciferol atenuou o aumento dos níveis proteicos de carbonila e nitrito induzidos pela corticosterona, sugerindo que a vitamina D3 tem um efeito antidepressivo ao modular o estresse oxidativo (CAMARGO et al., 2018). A administração de colecalciferol (100 UI/kg, p.o.) por 7 dias também aboliu o comportamento tipo-depressivo no teste de suspensão pela cauda, induzido pela administração crônica de corticosterona em camundongos fêmeas (DA SILVA SOUZA et al., 2020). Neste estudo, uma diminuição significativa na síntese de EROs no hipocampo foi observada após o tratamento com colecalciferol tanto em camundongos controle quanto expostos à corticosterona, reforçando que o efeito antidepressivo dessa vitamina pode envolver a modulação do estresse oxidativo (DA SILVA SOUZA et al., 2020). Mais recentemente, um estudo de Neis et al. (2022) demonstrou que a administração repetida de colecalciferol por 7 dias (2,5 µg/kg, p.o.) aboliu o comportamento tipo-depressivo induzido por estresse crônico imprevisível no teste de suspensão da cauda, bem como a redução no conteúdo de serotonina no córtex pré-frontal de camundongos fêmeas. Além disso, reforçando o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do colecalciferol, neste estudo a administração do inibidor da síntese de serotonina p-clorofenilalanina metil éster (PCPA) foi eficaz em abolir a redução do tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda induzido por colecalciferol (NEIS et al., 2022).

A administração de uma dose baixa de colecalciferol (2,5 µg/kg, p.o.) também causou efeito antidepressivo e foi eficaz para reduzir o imunoc conteúdo de proteínas relacionadas ao inflamassoma NLRP3 como ASC, caspase-1 e TXNIP no hipocampo de camundongos machos (CAMARGO et al., 2020). O tratamento com calcitriol (100 ng/kg, p.o.) durante 10 semanas em ratas *Sprague-Dawley* ovariectomizadas também promoveu efeitos neuroprotetores, por meio da regulação da via de sinalização da proteína cinase ativada por AMP (AMPK)/NF-κB. O tratamento com calcitriol reduziu as citocinas pró-inflamatórias IL-1β, IL-6 e TNF-α, bem como os níveis de iNOS e ciclooxigenase-2 (COX-2) no hipocampo (ZHANG et al., 2020).

Isso sugere que a modulação da via de sinalização acionada pelo inflamassoma NLRP3 pode também estar subjacente ao efeito antidepressivo dessa vitamina.

Mais recentemente, Bakhtiari-Dovvombaygi e colaboradores (2021) relataram que os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes exibidos pelo pré-tratamento com vitamina D3 (10.000 UI/kg por 28 dias) em ratos machos estão associados à sua capacidade de atenuar os comportamentos tipo-depressivos e ansiosos induzidos pelo modelo de estresse crônico leve imprevisível (CUMS) nos testes de natação forçada e labirinto em cruz elevado. Esses efeitos da vitamina D foram acompanhados por uma diminuição nos níveis de malondialdeído cortical e IL-6, bem como um aumento na atividade de tióis totais, SOD e CAT (BAKHTIARI-DOVVOMBAYGI et al., 2021). Outro estudo observou que o comportamento tipo-depressivo induzido por CUMS (4 semanas) promove um aumento na expressão de 1,25(OH)2D e VDR no hipocampo de ratos, sugerindo um mecanismo compensatório pelo qual a vitamina D pode proteger contra a indução de comportamento do tipo-depressivo (JIANG et al., 2013).

Além da capacidade da vitamina D de atenuar comportamentos tipo-depressivos e ansiosos por meio de suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, foi demonstrado que a modulação de fatores neurotróficos contribui para esses efeitos (KOSHKINA et al., 2019). Xu e colaboradores verificaram que o calcitriol (25 µg/kg/dia por 4 semanas; i.c.v.) possui efeito antidepressivo no modelo de depressão pós-AVC (camundongos machos C57BL/6) pela regulação positiva da expressão de VDR e BDNF (XU; LIANG, 2021). Em um modelo de depressão induzido por CUMS em ratas *Wistar* ovariectomizadas, o tratamento com vitamina D3 (5 mg/kg por 4 semanas; s.c.) foi capaz de reverter o comportamento tipo-depressivo nos testes de preferência por sacarose e natação forçada, aumentando BDNF e NT -3 no hipocampo (KOSHKINA et al., 2019). Embora esses estudos tenham mostrado que a suplementação de vitamina D promove efeitos pró-neurogênicos, foi mostrado que a deficiência de vitamina D em camundongos BALB/c induz um comportamento tipo-depressivo sem comprometer a neurogênese hipocampal (GROVES et al., 2016). Portanto, estudos são necessários para elucidar se esses mecanismos relacionados à neurogênese são críticos para os efeitos ansiolíticos e antidepressivos dessa vitamina.

Tabela 1 – Estudos pré-clínicos do efeito da vitamina D em modelos animais de depressão e ansiedade

Estudo	Modelo animal	Tratamento	Alterações comportamentais	Alterações bioquímicas
Fedotova et al., 2016	Ratas <i>Wistar</i> ovariectomizadas	Colecalciferol (5 mg/kg por 14 dias; s.c.)	Efeito tipo-antidepressivo (FST)	Não avaliado
Fedotova et al., 2017	Ratas <i>Wistar</i> ovariectomizadas	Colecalciferol (5 mg/kg por 14 dias; s.c.)	Efeito tipo-ansiolítico (EPM e LDT)	Não avaliado
Fedotova, 2019	Ratas <i>Wistar</i> ovariectomizadas	Colecalciferol (5 mg/kg por 14 dias; s.c.)	Efeito tipo-ansiolítico (EPM e LDT)	Não avaliado
Camargo et al., 2018	Corticosterona (21 dias) – camundongos machos <i>Swiss</i>	Colecalciferol (2.5 µg/kg, por 7 dias; p.o.)	Efeito tipo-antidepressivo (splash test e TST)	↓ níveis de carbonilação e nitritos
da Silva Souza et al., 2020	Corticosterona (21 dias) – camundongos fêmea <i>Swiss</i>	Colecalciferol (100 UI/kg, p.o.) por 7 dias	Efeito tipo-antidepressivo (TST)	↓ EROs
Camargo et al., 2020	Corticosterona (21 dias) – camundongos machos <i>Swiss</i>	Colecalciferol (2.5 µg/kg, p.o.) por 7 dias	Efeito tipo-antidepressivo (splash test e TST)	↓ ASC, caspase-1, and TXNIP

Neis et al., 2022	CUMS em camundongos <i>Swiss</i> fêmeas	Colecalciferol (2.5 µg/kg, p.o.) por 7 dias	Efeito tipo-antidepressivo (TST)	↑ níveis de serotonina no córtex pré-frontal
Zhang et al., 2020	Ratas fêmeas ovariectomizadas <i>Sprague-Dawley</i>	Calcitriol (100 ng/kg, p.o.) por 10 semanas	Efeito tipo-antidepressivo (FST e alimentação suprimida pela novidade)	↓ IL-1β, IL-6, and TNF-α, iNOS and COX-2
Bakhtiari-Dovvombaygi et al., 2021	CUMS ratos machos <i>Wistar</i>	Vitamina D <sub>3</sub> (10.000 UI/kg) por 28 dias	Efeitos tipo-antidepressivo e ansiolítico (EPM e FST)	↓ malondialdeído e IL-6 ↑ tióis totais, SOD e CAT
Jiang et al., 2013	CUMS (4 semanas) camundongos machos <i>Sprague-Dawley</i>	Sem tratamento	Comportamento tipo-depressivo (preferência por sacarose)	↑ 1,25(OH) <sub>2</sub> D e VDR
Koshkina et al., 2019	CUMS - ratas <i>Wistar</i> ovariectomizadas	Vitamina D <sub>3</sub> (5 mg/kg por 4 semanas; s.c.)	Efeito tipo-antidepressivo (FST e preferência por sacarose)	↑ BDNF e NT-3/NT-4
Xu and Liang, 2021	Modelo depressão pós-AVC (camundongos C57BL/6 machos)	Calcitriol (25 µg/kg/dia por 4 semanas; i.c.v.)	Efeito tipo-antidepressivo (FST e preferência por sacarose)	↑ VDR e BDNF

↓ diminuiu; ↑ aumentou; CUMS: estresse crônico leve imprevisível; EPM: labirinto em cruz elevado; FST: teste de natação forçada; LTD: teste caixa claro-escuro; TST: teste de suspensão pela cauda. A busca incluiu originais

manuscrtos e revisões contemporâneas publicados em inglês, avaliados por busca específica termos no título ou resumo dos manuscritos disponíveis no PubMed.

### 3. 5 ESTUDOS CLÍNICOS: EFEITOS DA VITAMINA D NA DEPRESSÃO E ANSIEDADE

Vários estudos relataram que a suplementação de vitamina D melhora os sintomas de depressão e ansiedade associados a outras condições médicas, incluindo diabetes tipo II, doença de Crohn, colite ulcerativa e obesidade (JORDE et al., 2008; NARULA et al., 2017; PENCKOFER et al., 2017; SHARIFI et al., 2019; YOSAEE et al., 2020).

Em relação aos indivíduos diagnosticados principalmente com depressão ou ansiedade, os resultados são divergentes. Por exemplo, a suplementação de vitamina D3 (1.600 UI por 6 meses) melhorou significativamente os sintomas de ansiedade, mas não os sintomas relacionados à depressão (ZHU et al., 2020). Da mesma forma, a suplementação com 2.800 UI de vitamina D3 em pacientes com depressão não promoveu redução significativa nos escores Hamilton D-17 (HANSEN et al., 2019). Contudo, em outro estudo, a suplementação de vitamina D3 (50.000 UI por 8 semanas) promoveu melhora nos sintomas depressivos de adultos com mais de 60 anos (ALAVI et al., 2019). A suplementação com esta mesma dose de colecalciferol por 2 semanas também foi capaz de melhorar a severidade da depressão avaliada pelo Inventário de Depressão de Beck-II (BDI-II), mas não foi capaz de promover alterações nos níveis de serotonina (KAVIANI et al., 2020). Entretanto, o tratamento com colecalciferol (50.000 UI por 3 meses) diminuiu os escores do BDI de mulheres com depressão moderada, grave e extrema por promover um aumento significativo nos níveis séricos de serotonina. Curiosamente, em relação ao sexo masculino, apenas homens diagnosticados com depressão grave apresentaram melhora significativa (ALGHAMDI et al., 2020). Destaca-se ainda que tratamentos envolvendo doses mais baixas de vitamina D3 (400 UI diariamente por 2 anos) não foram capazes de promover melhorias (BERTONE-JOHNSON et al., 2012). Em consonância com esta informação, estudos demonstraram que uma única dose injetada (300.000 UI) de vitamina D3 é uma intervenção eficaz e segura em pacientes depressivos que concomitantemente apresentam deficiência desta vitamina (MOZAFFARI-KHOSRAVI et al., 2013; VELLEKKATT et al., 2020).

Em relação aos tratamentos que associaram a administração da vitamina D ao tratamento farmacológico usual do paciente, verificou-se que a vitamina D pode se constituir uma estratégia de potencialização. Indivíduos depressivos, cujo tratamento (8 semanas)

envolvia vitamina D3 (1.500 UI) associado com 20 mg de fluoxetina, apresentaram melhora superior em relação aos sintomas quando comparado a indivíduos que receberam apenas fluoxetina (KHORAMINYA et al., 2013). Em outro estudo, relatou-se que a suplementação de vitamina D3 (50.000 UI uma vez/semana por 3 meses) associada ao tratamento usual, melhorou a gravidade da ansiedade em indivíduos diagnosticados com Transtorno de Ansiedade Generalizada. Além disso, esse tratamento promoveu um aumento nas concentrações de serotonina e diminuiu os níveis do biomarcador inflamatório neopterinina (EID et al., 2019). Em conjunto, embora haja evidências clínicas convincentes que apontam para benefícios da vitamina D no tratamento da depressão e ansiedade, é importante destacar que também foram obtidos resultados negativos (CASSEB; KASTER; RODRIGUES, 2019). Vários fatores podem contribuir para esses resultados discrepantes, incluindo diferenças nas doses de vitamina D usadas, tempo de tratamento, níveis séricos basais de 25-hidroxivitamina D, estado nutricional no início do tratamento, idade e sexo dos indivíduos, bem como a presença de comorbidades que pode influenciar a eficácia da suplementação de vitamina D. Além disso, a heterogeneidade observada em estudos clínicos também pode estar associada a polimorfismos genéticos que podem afetar a eficácia da vitamina D (VALDIVIELSO; FERNANDEZ, 2006; LYE et al., 2021; USATEGUI-MARTÍN et al., 2022).

### 3. 6 CONCLUSÕES E DIREÇÕES FUTURAS

Neste primeiro capítulo, abordamos as principais evidências que apontam para o potencial terapêutico da vitamina D no tratamento dos transtornos de depressão e ansiedade. De fato, majoritariamente os estudos pré-clínicos demonstraram benefícios de sua suplementação em modelos animais de depressão, sendo poucos os estudos que avaliaram suas propriedades ansiolíticas. De particular relevância, evidências convincentes indicaram que a vitamina D possui propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, pró-neurogênicas e neuromoduladoras, sugerindo que essa vitamina atua de forma semelhante aos antidepressivos. Nesse sentido, estudos têm investigado e evidenciado resultados promissores em relação aos possíveis efeitos benéficos sinérgicos ou aditivos da vitamina D associados à farmacoterapia atual para o manejo de depressão e ansiedade. Contudo, os estudos clínicos que avaliam a eficácia da suplementação de vitamina D no tratamento da depressão e da ansiedade ainda são

escassos e seus resultados são, muitas vezes, controversos. Os resultados discrepantes dos ensaios clínicos exigem a realização de estudos futuros, a fim de estabelecer um protocolo de suplementação de vitamina D que seja eficaz para prevenir ou atenuar sintomas depressivos e ansiosos. Portanto, ensaios clínicos adequadamente randomizados avaliando o potencial da vitamina D como coadjuvante para o tratamento desses transtornos psiquiátricos são necessários para averiguar o real potencial desta vitamina no contexto da depressão e ansiedade.

#### **4 CAPÍTULO II**

**Investigação dos efeitos antidepressivo e ansiolítico relacionados à ação pró-sinaptogênica da suplementação de colecalciferol em camundongos**



#### 4. 1 INTRODUÇÃO

A depressão é uma condição clínica altamente prevalente e incapacitante que pode se manifestar de forma concomitante à ansiedade (KAUFMAN; CHARNEY, 2000; OTTE et al., 2016). De fato, verifica-se que a depressão e a ansiedade compartilham diversos mecanismos fisiopatológicos em comum, particularmente disfunção na sinalização serotoninérgica e comprometimento da plasticidade sináptica (RESSLER; NEMEROFF, 2000; RIOS et al., 2001; MASI; BROVEDANI, 2011; LI et al., 2019a). Além disso, antidepressivos como ISRS são efetivos também no tratamento de transtornos de ansiedade, porém apresentam uma série de limitações, incluindo diversos efeitos colaterais (ANDRISANO; CHIESA; SERRETTI, 2013; DALE; BANG-ANDERSEN; SÁNCHEZ, 2015). Nesse sentido, a busca por novos compostos terapêuticos com propriedades antidepressivas e/ou ansiolíticas são relevantes para a clínica.

Estudos têm demonstrado que a vitamina D, um hormônio esteróide sintetizado endogenamente, possui propriedades semelhantes aos de antidepressivos, incluindo efeitos pró-neurogênicos e neuromoduladores (MORELLO et al., 2018; KOSHKINA et al., 2019). Em modelos de depressão verifica-se que esse composto é capaz de aumentar os níveis de neurotrofinas como BDNF e NT-3 (KOSHKINA et al., 2019; XU; LIANG, 2021). Essas neurotrofinas desempenham um papel fundamental na proliferação, migração e diferenciação de células neuronais e gliais (MASI; BROVEDANI, 2011). Particularmente, uma diminuição nos níveis de BDNF no soro ou plasma tem sido observada em pacientes com depressão (LEE; KIM, 2009) e ansiedade (SHEN et al., 2019), o que pode estar relacionado ao comprometimento da plasticidade sináptica nestes indivíduos. De fato, o BDNF é uma neurotrofina fundamental para a sinaptogênese, uma vez que sua interação com o receptor TrkB induz a ativação de vias que culminam na fosforilação e ativação de CREB e mTOR. A fosforilação de CREB é indispensável para a própria regulação positiva dessa neurotrofina e de seu receptor (PITTENGER; DUMAN, 2008; MASI; BROVEDANI, 2011; ESVALD et al., 2020). Além disso, a fosforilação de mTOR decorrente da ativação do receptor TrkB resulta na tradução de proteínas sinápticas, particularmente subunidades GluA1 do receptor AMPA, PSD-95 e sinapsina (SWIECH et al., 2008; HOEFFER; KLANN, 2010; LI et al., 2010; DUMAN et al., 2012; TAKEI; NAWA, 2014).

Apesar dessas evidências nenhum estudo explorou os possíveis efeitos pró-sinaptogênicos com a administração de vitamina D. Nesse contexto, este capítulo mostra os

resultados obtidos da investigação dos efeitos tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico da suplementação com colecalciferol e do seu possível efeito pró-sinaptogênico em camundongos, enfatizando uma possível modulação de proteínas sinápticas, particularmente CREB total, P-CREB/CREB, GluA1, PSD-95 e sinapsina no córtex pré-frontal e hipocampo.

#### 4. 2 OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito da administração repetida da vitamina D em testes comportamentais e averiguar se os seus possíveis efeitos antidepressivos e/ou ansiolíticos estão relacionados à indução de proteínas relacionadas à sinaptogênese.

#### 4. 3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Avaliar se a suplementação de colecalciferol durante 21 dias apresenta efeitos antidepressivos no teste de suspensão pela cauda.

b) Investigar se a administração de colecalciferol durante 21 dias apresenta efeitos ansiolíticos no teste do campo aberto.

c) Verificar se a administração de colecalciferol durante 21 dias é efetiva no teste da alimentação suprimida pela novidade.

d) Analisar o efeito da suplementação repetida de colecalciferol no imunoconteúdo de proteínas relacionadas à sinaptogênese, particularmente CREB, P-CREB, sinapsina, GluA1 e PSD-95 no córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos.

#### 4. 4 MATERIAIS E MÉTODOS

##### 4. 4. 1. Animais

Nesta pesquisa foram utilizados camundongos *Swiss* fêmeas (30-40 g) com 90 dias de idade. Os animais foram disponibilizados pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e posteriormente, mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Bioquímica sob condições ambientais controladas (20-22°C com livre acesso a água e comida, em ciclo

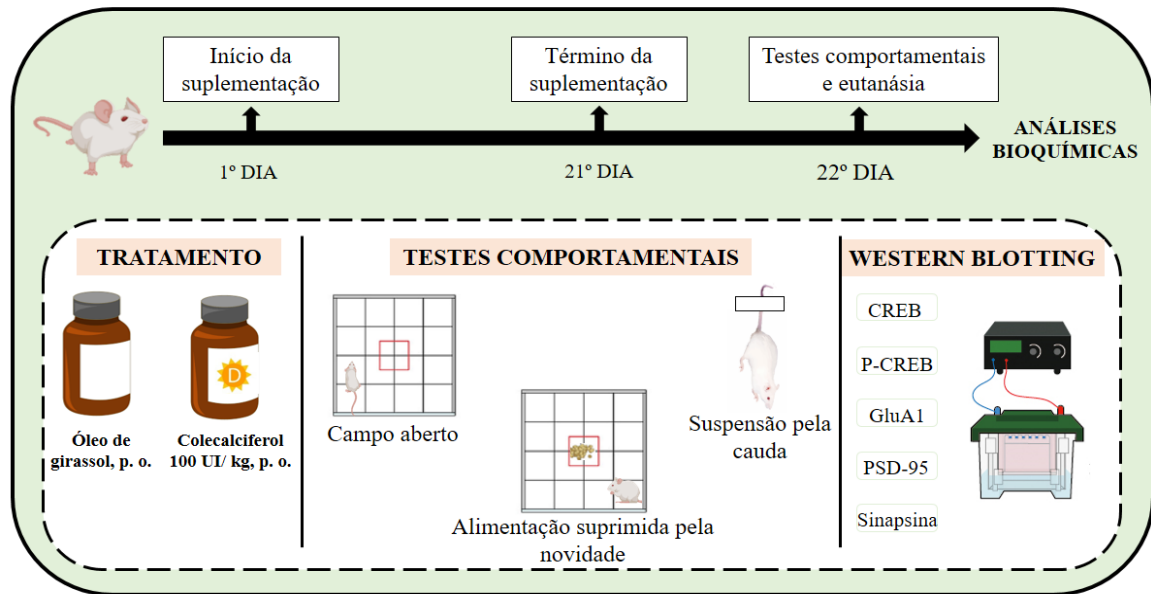
claro/escuro 12:12 h). Destaca-se que os animais foram agrupados com um total de 8 camundongos por cada caixa (dimensão 49 x 34 x 16 cm) e todas as manipulações foram realizadas entre às 9 h e 17 h. Ressalta-se ainda que 24 h antes da realização dos testes comportamentais, os animais foram colocados na sala de experimentação para aclimatação. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA) da UFSC, sob o protocolo 9317190221.

#### 4. 4. 2 Tratamento e delineamento experimental

Para a realização do experimento, os animais foram separados aleatoriamente em dois grupos: controle e colecalciferol (vitamina D). Os animais pertencentes ao grupo controle foram tratados oralmente (p.o.) com óleo de girassol, enquanto os animais correspondentes ao grupo vitamina D foram tratados oralmente com 100 UI/kg de colecalciferol (Addera®) previamente diluído em óleo de girassol. Ressalta-se que a dose de 100 UI/kg/dia foi determinada a partir de estudos anteriores (CAMARGO et al., 2018; DA SILVA SOUZA et al., 2020; CAMARGO et al., 2020) e o peso dos camundongos foi verificado diariamente para realização do cálculo da dose a ser administrada.

Durante 21 dias, os animais receberam os tratamentos respectivos a cada grupo e 24 horas após a última administração foram realizados os testes comportamentais de suspensão pela cauda, campo aberto e alimentação suprimida pela novidade, sendo este último realizado com um grupo independente. Ao término dos testes comportamentais, os animais foram eutanasiados. As estruturas encefálicas córtex pré-frontal e hipocampo foram dissecadas, rapidamente congeladas com nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C para posterior avaliação do imunoconteúdo de proteínas relacionadas à sinaptogênese (Figura 7).

Figura 7 – Delineamento experimental



O protocolo consistiu na administração repetida de vitamina D. Durante 21 dias, os camundongos receberam colecalciferol (100 IU/kg/dia) ou óleo de girassol, 24 horas após a última administração foram realizados os testes de suspensão pela cauda, campo aberto e alimentação suprimida pela novidade. Ao término dos testes comportamentais, os animais foram eutanasiados e as estruturas córtex pré-frontal e hipocampo foram dissecadas para posterior avaliação do imunoconteúdo de proteínas sinápticas por *Western Blotting*. Figura originada a partir de imagens do BioRender. Fonte: A autora.

#### 4. 4. 3 Teste de suspensão pela cauda

Neste teste, os camundongos foram suspensos pela cauda, 50 cm acima do chão por fita adesiva e a imobilidade foi registrada durante 6 minutos (STERU et al., 1985). Este teste baseia-se no princípio de que animais submetidos ao estresse inescapável desenvolvem uma postura de imobilidade. Um composto com efeito antidepressivo promove uma redução no tempo de imobilidade (NEIS et al., 2022).

#### 4. 4. 4 Teste do campo aberto

Este teste tem como objetivo avaliar a capacidade locomotora dos animais, com o intuito de se excluir a hipótese de que diferenças nos demais testes são decorrentes de uma alteração no sistema locomotor. O campo aberto consiste em uma caixa quadrada (40 x 60 x 50 cm altura) com o piso subdividido em quadrados menores iguais, na qual os camundongos foram colocados no canto esquerdo, podendo explorar livremente o ambiente durante 6 minutos. A

ambulação, determinada pelo número de cruzamentos realizados pelas quatro patas do animal foi o parâmetro avaliado (DE PAULA NASCIMENTO-CASTRO et al., 2018).

Além de parâmetros relacionados à atividade locomotora, este teste permite avaliar experimentalmente a ansiedade, uma vez que o campo aberto representa um ambiente novo e aversivo ao animal. O tempo total de autolimpeza rostral e corporal (*grooming*), o número total de bolos fecais e o tempo de permanência do animal nos quatro quadrantes centrais do aparato foram mensurados como parâmetros de ansiedade. Compostos ansiolíticos tendem a aumentar o tempo total de permanência dos animais no centro do aparato e diminuem o tempo de autolimpeza e número de bolos fecais (MACHADO et al., 2012; COLLA et al., 2015).

#### 4. 4. 5 Teste da alimentação suprimida pela novidade

O teste da alimentação suprimida pela novidade permite rastrear compostos com propriedades ansiolíticas e/ou antidepressivas após crônica administração. Os efeitos tipo-ansiolítico e/ou tipo-antidepressivo são avaliados através do período de latência para alimentação em um novo ambiente após a privação alimentar (BORSINI; PODHORNA; MARAZZITI, 2002; BELOVICOVA et al, 2017). Para a realização deste teste, toda a comida dos animais foi removida das gaiolas 24 horas antes da avaliação comportamental, porém a água continuou sendo fornecida. Após esse período de restrição alimentar, os camundongos foram colocados individualmente em uma caixa (40 × 60 cm e 50 cm de altura), a qual continha um *pellet* de ração no centro. O tempo do primeiro episódio alimentar foi registrado em até 10 minutos. Imediatamente após o animal começar a se alimentar, este foi colocado durante 5 minutos em uma gaiola com outro *pellet* de ração, cujo peso foi previamente determinando, e ao final desse período, a quantidade de alimento consumido foi mensurada através diferença entre o peso inicial e final do *pellet* (FRAGA et al, 2020).

Considera-se que uma substância possui efeito ansiolítico quando promove uma redução na latência do animal consumir o *pellet* de ração (STEDENFELD et al, 2011; GADOTTI et al, 2019).

#### 4. 4. 6 Imunodeteccão de proteínas por *Western Blotting*

A técnica *Western Blotting* foi realizada conforme descrito previamente (CAMARGO et al., 2020). Os tecidos encefálicos (hipocampo e córtex pré-frontal) foram homogeneizados mecanicamente em 400 e 300  $\mu$ L, respectivamente de tampão de homogeneização (Tris 50 mM pH 7,0, EDTA 1 mM, fluoreto de sódio 100 mM, PMSF 0,1 mM,  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  2 mM, Triton X-100 1%, glicerol 10% e Coquetel inibidor de proteases). O material lisado foi centrifugado (10000 x g por 10 min, a 4°C) e o sobrenadante (300  $\mu$ l) diluído 1/1 (v/v) em solução (Tris 100 mM pH 6,8, EDTA 4 mM, SDS 8%) foi aquecido a 100°C por 5 min. Após homogeneização, obteve-se o homogenato, do qual retirou-se uma alíquota para a dosagem de proteínas. O conteúdo de proteínas foi quantificado pelo método de Peterson (PETERSON, 1977), sendo utilizado como padrão albumina de soro bovino e a absorbância lida em espectrofotômetro a 595 nm. No homogenato adicionou-se em uma proporção de 25:100 (v/v) a solução de diluição de amostra (glicerol 40%, Tris 25mM e azul de bromofenol, pH 6,8) e  $\beta$ -mercaptoetanol 8%.

Após a preparação das amostras, as proteínas (60  $\mu$ g de proteína total/poço) foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (10%), sendo então transferidas para as membranas de nitrocelulose, sendo posteriormente coradas com Ponceau 0,5% em ácido acético 1% para verificar a eficiência do processo. Em seguida, as membranas foram bloqueadas durante 1 hora com albumina (5%). O imunoconteúdo das formas total e fosforilada de CREB (Ser<sup>133</sup>), bem como de PSD-95, GluA1, sinapsina e  $\beta$ -actina foram identificadas através do uso de anticorpos específicos (Cell Signaling, 1:1000) diluídos em TBT-T (10 mM Tris, 150 mM NaCl, 0.1% Tween-10, pH 7.5) contendo 2,5% de albumina. As membranas foram incubadas com o anticorpo *overnight* a 4°C sob agitação constante. No dia seguinte, as membranas foram incubadas por 1 hora com anticorpo secundário conjugado com peroxidase (1:5000) e a imunorreatividade das bandas foi revelada por quimiluminescência com o reagente ECL (GE Healthcare, Chicago, Illinois, EUA) e com o equipamento de revelação Chemidoc® (Bio-Rad Laboratories). Os níveis de fosforilação de CREB foram mensurados pela razão da densidade óptica (DO) da banda fosforilada sobre a DO da banda total. O imunoconteúdo de CREB total, PSD-95, GluA1 e sinapsina foi determinado pela razão da DO das bandas pela DO da banda de  $\beta$ -actina, utilizada como controle de carga. A DO das bandas foi quantificada usando Image Lab software® 4.1 (Bio-Rad Laboratories).

#### 4. 4. 7 Análises estatísticas

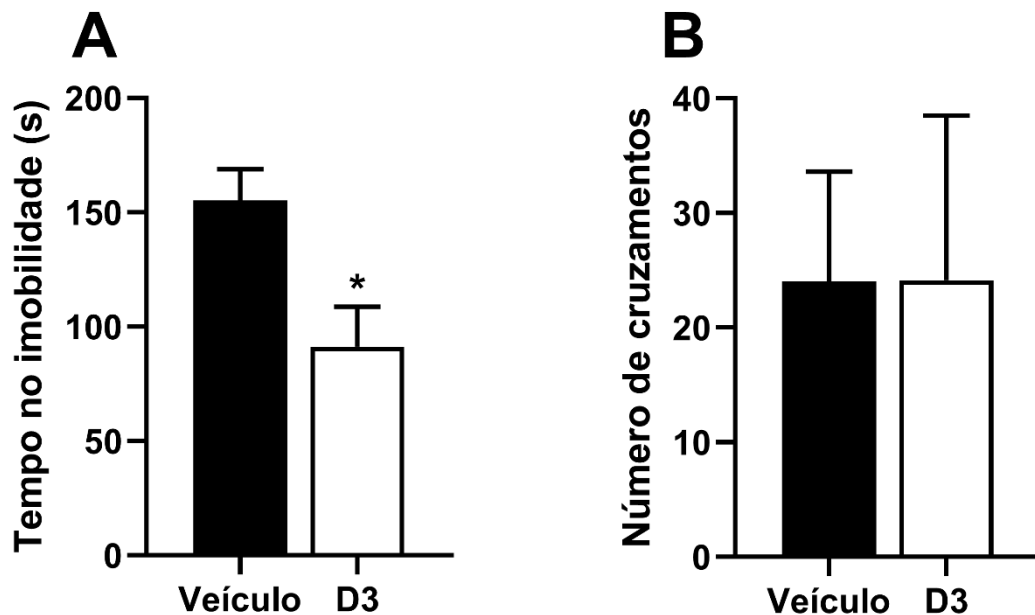
Os resultados foram avaliados estatisticamente através dos testes t não-pareado ou de Wilcoxon-Mann-Whitney, quando a distribuição dos dados não foi normal no teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Para tratamento dos dados foram utilizados os softwares GraphPad® versão 9.0 e Microsoft Excel® 2013, sendo considerados significativos os resultados com  $p < 0,05$ .

### 4. 5 RESULTADOS

#### 4. 5. 1 Efeito da administração de colecalciferol nos testes de suspensão pela cauda e campo aberto

Conforme pode ser observado na figura 8A, a administração repetida de colecalciferol (100 UI/kg durante 21 dias) foi capaz de diminuir significativamente o tempo de imobilidade dos animais, em relação ao controle no teste de suspensão pela cauda ( $t = 2,868$ ;  $p < 0,05$ ), sugerindo um efeito tipo-antidepressivo. A fim de se descartar a hipótese de que este efeito foi decorrente de uma alteração locomotora, a ambulação dos animais foi avaliada pelo teste do campo aberto. Como ilustrado na figura 8B, o tratamento com colecalciferol não promoveu uma alteração na locomoção dos camundongos, uma vez que não houve diferenças significativas entre os grupos em relação ao número de cruzamentos ( $t = 0,008264$ ;  $p = 0,993$ ).

Figura 8 - Efeito da administração de colecalciferol nos testes de suspensão pela cauda e campo aberto



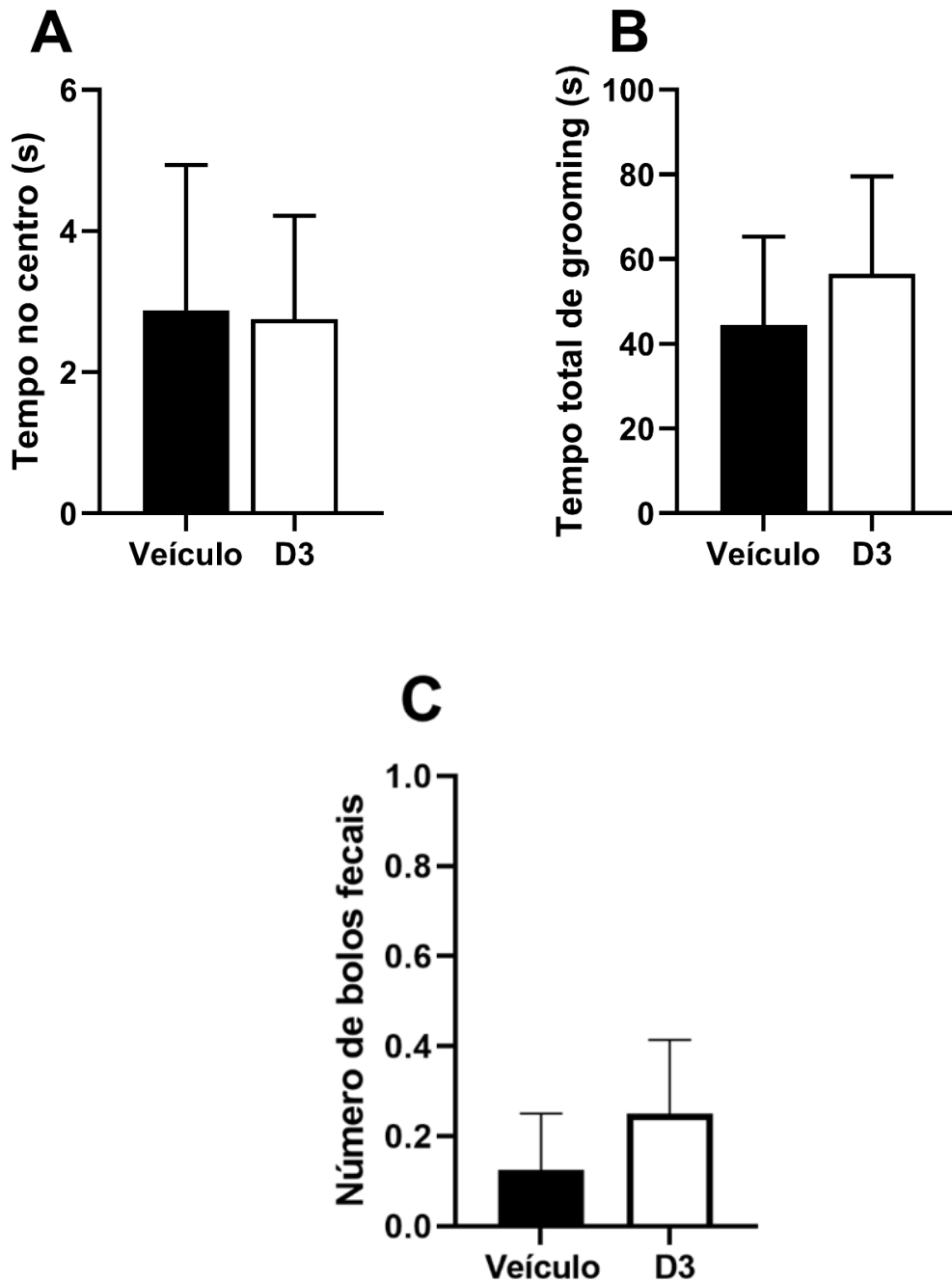
Efeito do tratamento com colecalciferol no tempo de imobilidade dos camundongos no teste de suspensão pela cauda (A) e no número de cruzamentos no teste do campo aberto (B). Os valores são expressos como médias  $\pm$  E.P.M ( $n = 7$ ). \*  $p < 0,05$  em comparação com o controle tratado com veículo. Os resultados foram avaliados pelo teste t de Student não-pareado. D3: colecalciferol.

#### 4. 5. 2 Efeito da administração de colecalciferol em parâmetros relacionados ao comportamento tipo-ansioso no teste do campo aberto

Com o intuito de se avaliar possíveis efeitos ansiolíticos do tratamento com colecalciferol, parâmetros relacionados ao tempo no centro, número de bolos fecais e tempo de *grooming* foram avaliados no teste do campo aberto. Conforme ilustrado na figura 9, a administração de vitamina D (100 UI/kg durante 21 dias) não foi capaz de promover um aumento significativo na permanência dos animais no centro do aparato em relação ao grupo controle ( $t = 0,04935$ ;  $p = 0,961$ ). Ao avaliar o tempo de *grooming*, não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos ( $t = 1,036$ ;  $p = 0,321$ ). Da mesma forma, não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao número de bolos fecais ( $p > 0,05$ ). Estes resultados em conjunto sugerem que a vitamina D não possui efeito tipo-ansiolítico em relação a este teste.



Figura 9 - Efeito da administração de colecalciferol em relação ao tempo no centro, *grooming* e número de bolos fecais no teste do campo aberto

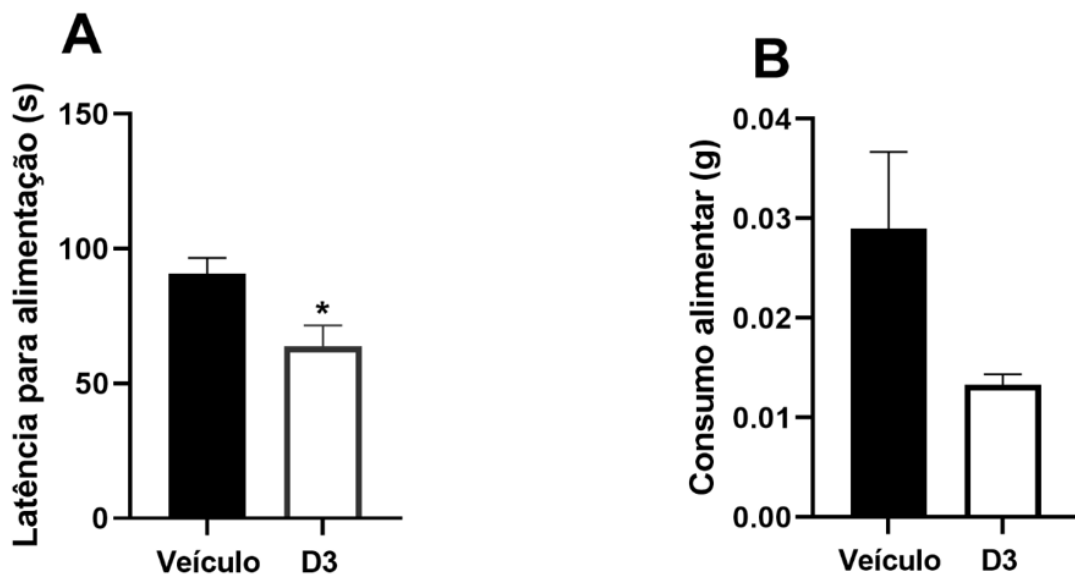


Efeito do tratamento com colecalciferol no tempo de permanência no centro do aparato (A), de *grooming* (B) e no número de bolos fecais (C) pelo teste do campo aberto. Os valores são expressos como médias  $\pm$  E.P.M. ( $n = 7$ ). Comparação entre o controle tratado com veículo. Os resultados foram avaliados pelos testes t de Student não-pareado (tempo no centro do aparato e *grooming*) e Mann-Whitney (número de bolos fecais). D3: colecalciferol.

#### 4. 5. 3 Efeito da administração de colecalciferol no teste da alimentação suprimida pela novidade

Conforme ilustrado na figura 10A, a administração de colecalciferol (100 UI/kg durante 21 dias) foi capaz de diminuir significativamente a latência do primeiro ato alimentar dos animais, em relação ao controle no teste da alimentação suprimida pela novidade ( $t = 2,766$ ;  $p < 0,05$ ), sugerindo um efeito tipo-ansiolítico e tipo-antidepressivo. A fim de se descartar a hipótese de que este efeito foi decorrente de uma interferência alimentar, o total de alimento consumido pelos animais também foi avaliado. Como ilustrado na figura 10B, o tratamento com colecalciferol não promoveu uma alteração no consumo alimentar, uma vez que não houve diferenças significativas entre os grupos em relação ao total de alimento ingerido ( $t = 1,734$ ;  $p = 0,108$ ).

Figura 10 - Efeito da administração de colecalciferol no teste da alimentação suprimida pela novidade

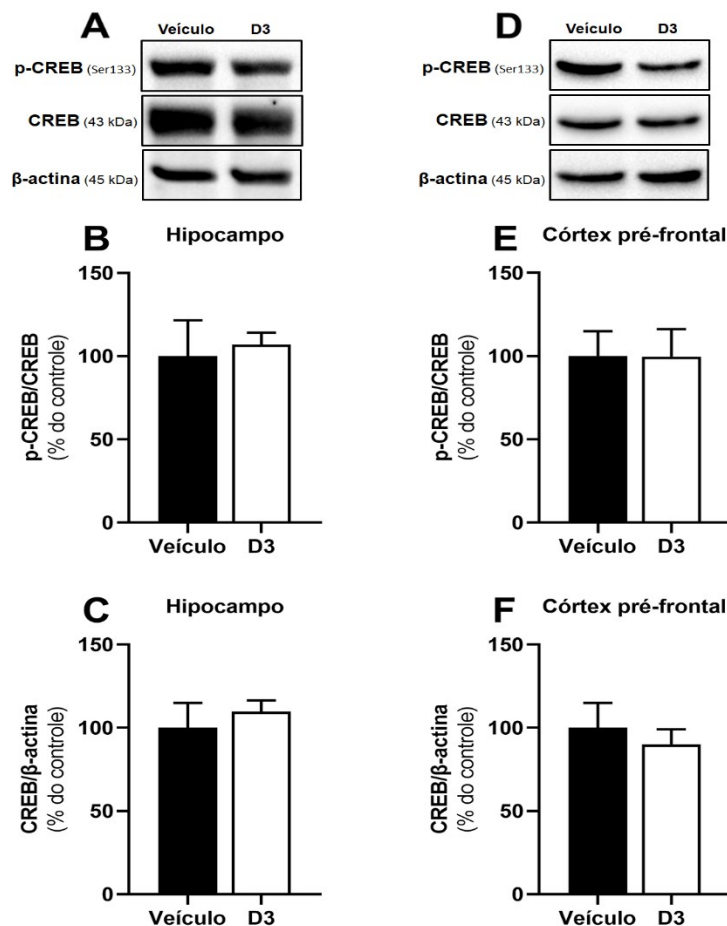


Efeito do tratamento com colecalciferol na latência para alimentação dos camundongos (A) e no total de alimento consumido no teste da alimentação suprimida pela novidade (B). Os valores são expressos como médias  $\pm$  E.P.M (n = 5). \*  $p < 0,05$  em comparação com o controle tratado com veículo. Os resultados foram avaliados pelo teste t de Student não-pareado. D3: colecalciferol.

#### 4. 5. 4 Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunoconteúdo de CREB total, P-CREB/CREB, PSD-95, GluA1 e sinapsina no córtex pré-frontal e hipocampo

Com o objetivo de avaliar se o tratamento com colecalciferol (100UI/kg por 21 dias) é capaz de promover a ativação de vias pró-neurogênicas e sinaptogênicas, avaliamos o imunoconteúdo proteico de PSD-95, GluA1, sinapsina, CREB total e a relação CREB/P-CREB. Como representado na figura 11, não houve diferença significativa no imunoconteúdo de CREB total no hipocampo [ $t = 0,5917$ ;  $p = 0,565$ ] e no córtex pré-frontal [ $t = 0,5730$ ;  $p = 0,577$ ]. Da mesma forma não foi possível verificar diferença significativa no imunoconteúdo de CREB fosforilado (Ser<sup>133</sup>) no hipocampo [ $t = 0,3056$ ;  $p = 0,765$ ] e no córtex pré-frontal [ $t = 0,01257$ ;  $p = 0,9902$ ].

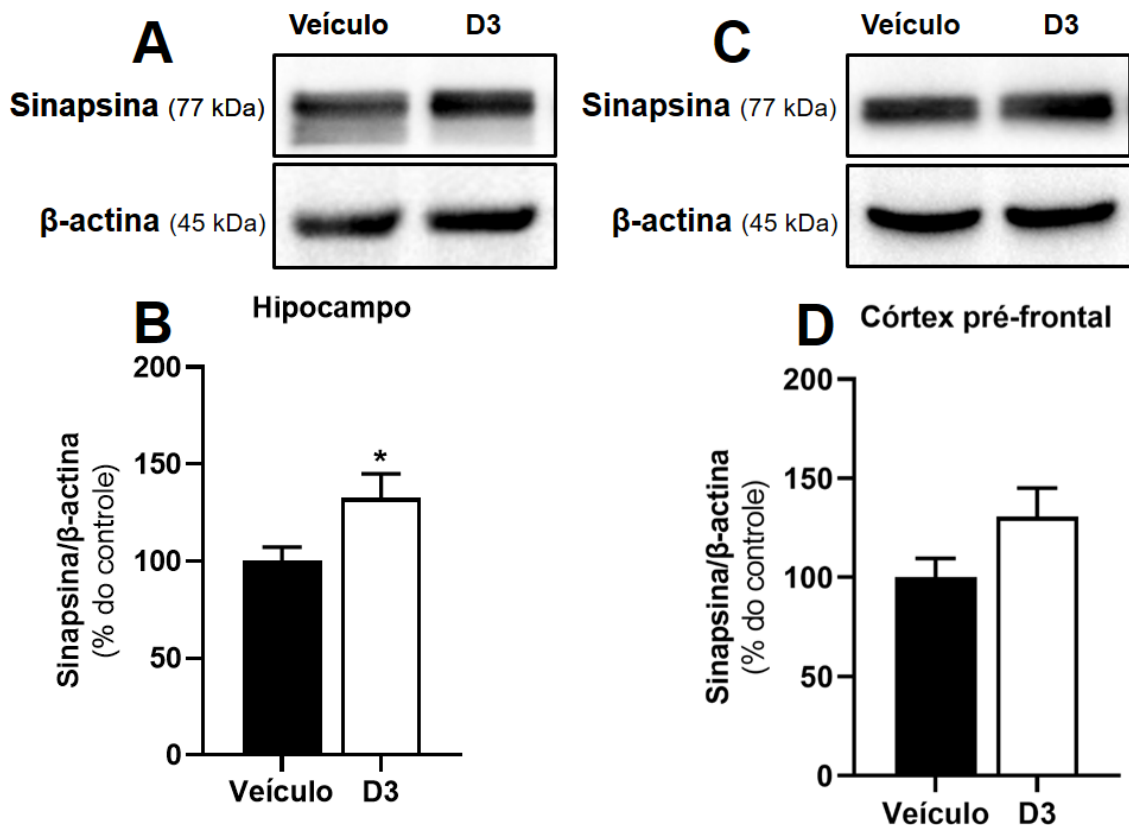
Figura 11 - Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunoconteúdo de CREB total, P-CREB/ CREB no hipocampo e córtex pré-frontal



Os valores são expressos como médias  $\pm$  E.P.M ( $n = 7$ ). Comparação entre o controle tratado com veículo. Os resultados foram avaliados pelo teste t de Student não-pareado. Figuras A e D: representativas. D3: colecalciferol.

Em relação às proteínas sinápticas, observa-se que o tratamento com colecalciferol promoveu um aumento significativo no imunocontéudo de sinapsina hipocampal [ $t = 2,191$ ;  $p < 0,05$ ], como ilustrado na figura 12B. Entretanto, esse aumento significativo não foi verificado no córtex pré-frontal [ $t = 1,753$ ;  $p = 0,105$ ] (Figura 12 D).

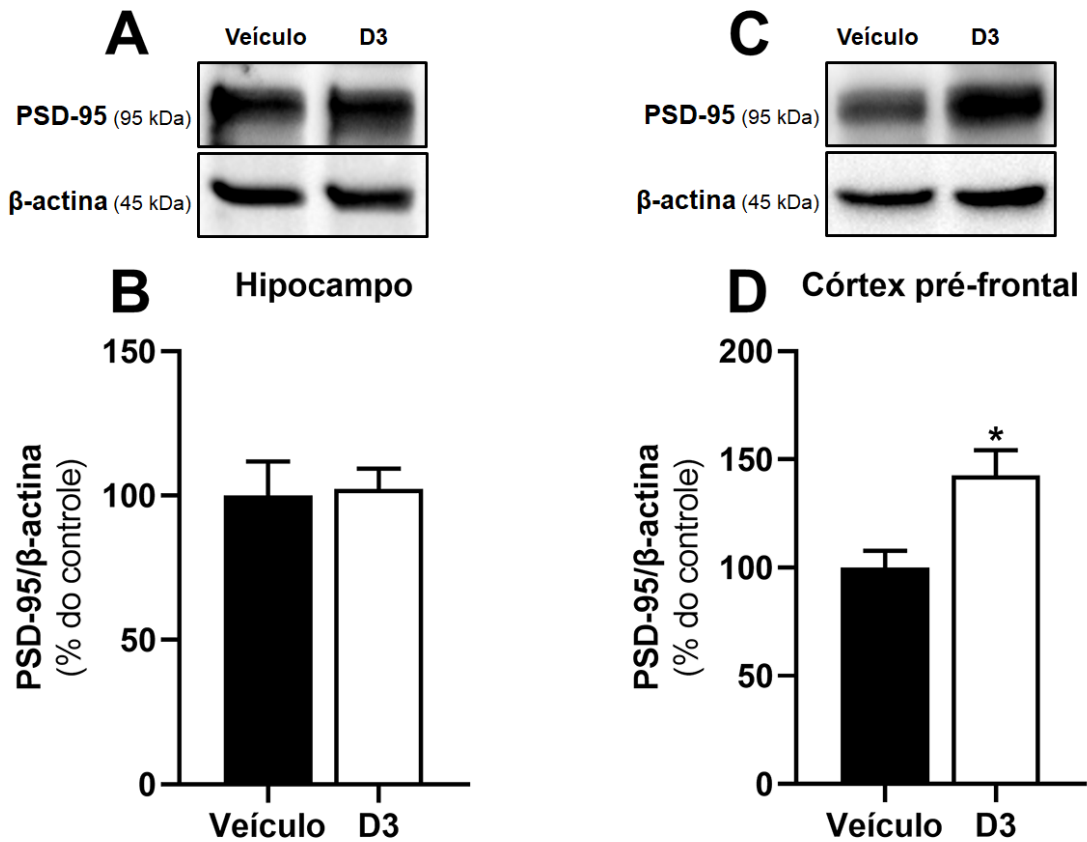
Figura 12 - Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunocontéudo de sinapsina no hipocampo e córtex pré-frontal



Os valores são expressos como médias  $\pm$  E.P.M ( $n = 7$ ). \*  $p < 0,05$  em comparação com o controle tratado com veículo. Os resultados foram avaliados pelo teste t de Student não-pareado. Figuras A e C: representativas. D3: colecalciferol.

A avaliação do imunocontéudo de PSD-95 mostrou um perfil diferente do observado com sinapsina, uma vez que a administração de colecalciferol causou um aumento significativo no imunocontéudo de PSD-95 no córtex pré-frontal [ $t = 3,047$ ;  $p < 0,05$ ], mas esse aumento não foi verificado no hipocampo [ $t = 0,1728$ ;  $p = 0,866$ ] (Figuras 13D e 13B, respectivamente).

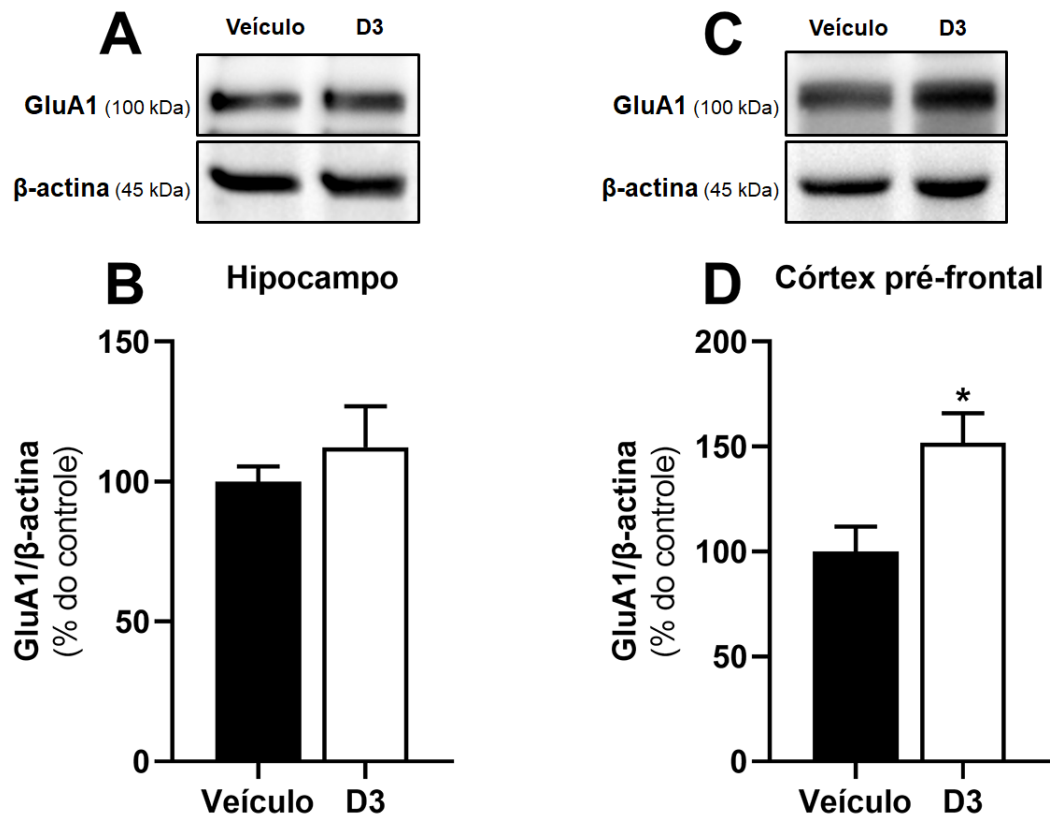
Figura 13 - Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunoconteúdo de PSD-95 no hipocampo e córtex pré-frontal



Os valores são expressos como médias  $\pm$  E.P.M ( $n = 7$ ). \*  $p < 0,05$  em comparação com o controle tratado com veículo. Os resultados foram avaliados pelo teste t de Student não-pareado. Figuras A e C: representativas. D3: colecalciferol.

É possível verificar que a administração de colecalciferol também promoveu um aumento significativo no imunoconteúdo de GluA1 no córtex pré-frontal [ $t = 2,819$ ;  $p < 0,05$ ]. Entretanto, de forma semelhante ao observado com a PSD-95, esse aumento não foi verificado no hipocampo [ $t = 0,7915$ ;  $p = 0,444$ ] (Figuras 14D e 14B, respectivamente).

Figura 14 - Efeito da administração de colecalciferol sobre o imunoconteúdo de GluA1 no hipocampo e córtex pré-frontal



Os valores são expressos como médias  $\pm$  E.P.M (n = 7). \*  $p < 0,05$  em comparação com o controle tratado com veículo. Os resultados foram avaliados pelo teste t de Student não-pareado. Figuras A e C: representativas. D3: colecalciferol.

Esses resultados sugerem que os efeitos tipo-antidepressivo e ansiolítico do colecalciferol estão relacionados ao aumento no imunoconteúdo de proteínas sinápticas relacionadas à sinaptogênese.

#### 4. 6 DISCUSSÃO

Nos últimos anos tem sido realizada uma intensa busca por novas estratégias terapêuticas que possam auxiliar no tratamento de transtornos de depressão e ansiedade, bem como suas formas comórbidas. Dentre os compostos que estão sendo estudados, a vitamina D tem ganhado destaque em diversos estudos pré-clínicos (FEDOTOVA et al., 2016; FEDOTOVA et al., 2017; FEDOTOVA, 2019; BAKHTIARI-DOVVOMBAYGI et al., 2021)

e clínicos (EID et al., 2019; ALGHAMDI et al., 2020; KAVIANI et al., 2020), se apresentando como uma potencial estratégia terapêutica para o manejo de transtornos de depressão e ansiedade.

Notavelmente, diversas pesquisas têm enfatizado que propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias da vitamina D são fundamentais para seus efeitos tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico (CAMARGO et al., 2018; DA SILVA SOUZA et al., 2020; ZHANG et al., 2020). Além disso, outras propriedades relacionadas à modulação de monoaminas e neurotrofinas, sugerem fortemente que esta vitamina atua por mecanismos semelhantes aos antidepressivos convencionais (SABIR et al., 2018; KOSHKINA et al., 2019). Portanto, o presente estudo explorou pela primeira vez os possíveis mecanismos pró-sinaptogênicos envolvidos nos efeitos tipo-ansiolítico e antidepressivo da vitamina D.

Neste trabalho 100 UI/kg de colecalciferol durante 21 dias não foi capaz de promover alterações significativas em parâmetros relacionados ao comportamento tipo-ansioso como respostas de autolimpeza, tempo no centro do aparato e número de bolos fecais no teste do campo aberto. Contudo, estudos anteriores reportaram propriedades tipo-ansiolíticas desse composto. Fedotova e colaboradores (2017) demonstraram pela primeira vez que a administração de 5 mg/kg de colecalciferol durante 14 dias foi capaz de promover um efeito tipo-ansiolítico nos testes do labirinto em cruz elevado e caixa-claro escuro em ratas ovariectomizadas (FEDOTOVA et al., 2017). De forma semelhante, outro estudo demonstrou que a administração de 10.000 UI/kg de vitamina D3 por 28 dias causou um efeito tipo-ansiolítico no teste do labirinto em cruz elevado em ratos machos submetidos a CUMS (BAKHTIARI-DOVVOMBAYGI et al., 2021). Destaca-se que testes como labirinto em cruz elevado e caixa claro-escuro são mais robustos em relação ao campo aberto para avaliar compostos ansiolíticos (RODGERS et al., 1997; HARRO, 2018). Portanto, são necessários estudos futuros que visem explorar o efeito do colecalciferol em outros testes comportamentais de ansiedade.

Embora não tenham sido observados efeitos do colecalciferol em relação a parâmetros de comportamento tipo-ansioso no campo aberto, esse trabalho demonstrou que o tratamento com esta vitamina causou um efeito tipo-antidepressivo no teste da suspensão pela cauda. A suplementação com 100 UI/kg de colecalciferol durante 21 dias promoveu uma diminuição significativa no tempo de imobilidade dos animais tratados em relação ao grupo controle, sem

alterar a atividade locomotora. Considerando que alguns compostos são capazes de promover hiperlocomção, a ausência de diferença no parâmetro de ambulação nesse estudo descarta a hipótese de um resultado falso-positivo no teste de suspensão pela cauda (DECKER et al., 2000). Em consonância com este resultado, nosso grupo de pesquisa reportou anteriormente que esse mesmo protocolo de administração (100 UI/kg de colecalciferol por 21 dias) em camundongos *Swiss* fêmeas induz um efeito tipo-antidepressivo semelhante ao da fluoxetina no teste de suspensão pela cauda (DA SILVA SOUZA et al., 2020). Ressalta-se que esse teste é utilizado para avaliar potenciais compostos antidepressivos que modulam o sistema monoaminérgico (CRYAN; VALENTINO; LUCKI, 2005). De fato, a vitamina D é capaz de aumentar os níveis de serotonina através do bloqueio de transportadores serotoninérgicos e por estimular a transcrição do gene da enzima triptofano hidroxilase (KANEKO et al., 2015; SABIR et al., 2018). A administração de PCPA, um inibidor seletivo da triptofano hidroxilase, aboliu o efeito tipo-antidepressivo do colecalciferol (NEIS et al., 2022). Além disso, baixos níveis de vitamina D estão relacionados a uma redução na concentração de serotonina cerebral de camundongos (WANG et al., 2020). Reforçando o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito tipo-antidepressivo do colecalciferol, a administração de colecalciferol (100 UI/kg de colecalciferol por 7 dias) foi efetivo em abolir a redução dos níveis de serotonina no córtex pré-frontal causado pelo estresse crônico imprevisível em camundongos (NEIS et al., 2022). Portanto, essas evidências sugerem que o efeito tipo-antidepressivo da vitamina D pode ser semelhante ao de ISRS.

Tem sido demonstrado que a administração aguda de ISRS bloqueia transportadores que promovem a recaptação de serotonina, induzindo assim um aumento desse neurotransmissor na fenda sináptica e nas proximidades dos autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub>. Entretanto, o aumento agudo de serotonina não é capaz de atenuar os sintomas depressivos em pacientes. Verifica-se que o aumento substancial dessa monoamina induz a ativação do 5-HT<sub>1A</sub>, promovendo uma hiperpolarização neuronal que culmina na diminuição das taxas de disparos sinápticos. Como consequência, a hiperpolarização impacta diretamente a liberação de neurotransmissores (serotonina e glutamato) e reduz massivamente a concentração de glutamato na fenda sináptica. Considerando que apenas 2-3 semanas após o tratamento, as taxas de disparos são restabelecidas, restaurando também o glutamato (FISCHER; JOCHAM; ULLSPERGER, 2014) e que apenas a administração crônica de antidepressivos convencionais induzem efeitos pró-sinaptogênicos (QI et al., 2008; POPOVA; CASTRÉN; TAIRA, 2017), optamos por realizar o



tratamento com colecalciferol durante 21 dias, embora seu efeito tipo-antidepressivo já tenha sido observado em 7 dias de administração (CAMARGO et al., 2018; CAMARGO et al., 2020).

É importante ressaltar que as evidências abordadas justificam o fato de ISRS promoverem uma melhora nos sintomas apenas 3-4 semanas após o início do tratamento (OTTE, 2016). Apesar desses fármacos não promoverem efeitos clínicos imediatos, dentre os antidepressivos convencionais, os ISRS estão entre os tratamentos mais efetivos e prescritos para pacientes com transtornos de depressão e ansiedade (ANDRISANO; CHIESA; SERRETTI, 2013; DALE; BANG-ANDERSEN; SÁNCHEZ, 2015). Neste contexto, o teste da alimentação suprimida pela novidade tem sido utilizado para avaliar a eficácia e potenciais propriedades ansiolíticas de drogas antidepressivas (BORSINI; PODHORNA; MARAZZITI, 2002; BECHTHOLT; HILL; LUCKI, 2007). Inicialmente, este teste foi proposto para rastrear compostos ansiolíticos, uma vez que fármacos benzodiazepínicos promovem uma redução na latência alimentar (SHEPHARD, 1982). Posteriormente, este teste também passou a ser empregado em estudos que avaliam potenciais propriedades ansiolíticas de antidepressivos convencionais (BODNOFF et al., 1988). Destaca-se que este teste não é sensível à administração aguda de antidepressivos como imipramina, fluoxetina e bupropiona (PAZINI et al., 2020). Contudo, animais submetidos ao tratamento crônico apresentam respostas tipo-ansiolíticas (BORSINI; PODHORNA; MARAZZITI, 2002; BECHTHOLT; HILL; LUCKI, 2007). Considerando que o teste de alimentação suprimida pela novidade mimetiza a janela terapêutica dos fármacos convencionais na clínica, este teste também tem sido utilizado para avaliar a eficácia de compostos com efeito antidepressivo, após administração crônica (BLASCO-SERRA et al., 2017).

No presente trabalho foi possível verificar que o tratamento com colecalciferol durante 21 dias causou uma menor latência alimentar quando comparado ao grupo controle no teste da alimentação suprimida pela novidade, sem promover diferença no total de alimento consumido entre os grupos, o que sugere um efeito tipo ansiolítico e/ou antidepressivo deste tratamento. A ausência de diferença no consumo de alimento descarta a hipótese de que a menor latência seria decorrente de uma interferência alimentar. De forma semelhante ao efeito do colecalciferol a administração crônica de fluoxetina foi efetiva neste teste (DULAWA; HEN, 2005). Destaca-se que devido às limitações relacionadas ao número amostral do presente trabalho, estudos futuros devem ser realizados a fim de confirmar tal efeito apresentado no teste da alimentação

suprimida pela novidade. Além disso, como abordado anteriormente, os potenciais efeitos tipo-ansiolíticos do colecalciferol devem ser melhor explorados em outros testes comportamentais.

Um dos mecanismos desencadeados pela administração de antidepressivos convencionais, incluindo ISRS, iMAO e TCA é o restabelecimento dos níveis séricos de BDNF (DUMAN; HENINGER; NESTLER, 1997; DWIVEDI; RIZAVI; PANDEY, 2006; MASI; BROVEDANI, 2011). De forma semelhante, estudos anteriores demonstraram que o tratamento crônico com vitamina D (4 semanas) promove um aumento nos níveis de neurotrofinas, particularmente BDNF em modelos animais de depressão (KOSHKINA et al., 2019; XU; LIANG, 2021). O BDNF ao interagir com receptores TrkB induz a ativação de várias vias de sinalização como MAPK, PLC e PI3K (REICHARDT, 2006; MASI; BROVEDANI, 2011), as quais promovem a fosforilação e ativação de CREB (Ser<sup>133</sup>). É importante destacar que a administração crônica de antidepressivos como a fluoxetina é capaz de induzir a fosforilação de CREB (HEINRICH et al., 2021). Uma vez ativado, o P-CREB se transloca para o núcleo, regulando positivamente a transcrição do próprio BDNF e TrkB. Portanto, a fosforilação seguida da ativação de CREB é de suma importância para a manutenção dos níveis dessas proteínas (PITTENGER; DUMAN, 2008; MASI; BROVEDANI, 2011; ESVALD et al., 2020).

Notavelmente, comprometimentos nas vias que promovem a ativação de CREB são evidenciados em indivíduos com depressão (DWIVEDI et al., 2006). Como consequência, uma menor ativação de CREB pode resultar em uma menor síntese de BDNF e TrkB. De fato, em análises *post-mortem* foi possível verificar que indivíduos diagnosticados com transtorno depressivo vítimas de suicídio apresentam uma diminuição nos níveis dessas proteínas no hipocampo e córtex pré-frontal (DWIVEDI et al., 2003; KAREGE et al., 2005). No soro ou plasma de indivíduos com depressão ou ansiedade também tem sido reportada uma diminuição nos níveis de BDNF (LEE; KIM, 2009; SHEN et al., 2019). A depleção dessas proteínas pode justificar o comprometimento da plasticidade sináptica evidenciado nesses transtornos (DUMAN et al., 2016), uma vez que a liberação de BDNF e sua posterior interação com receptores tirosina cinase é fundamental no processo da sinaptogênese (CITRI; MALENKA, 2008). Mais precisamente na fase tardia da LTP, a interação BDNF-TrkB pode induzir a ativação de vias como PI3K/Akt e ERK, que culminam na fosforilação de mTOR (CITRI; MALENKA, 2008; SWIECH et al., 2008; FORREST; PARNELL; PENZES, 2018). A mTOR fosforilada reprime através de fosforilação a 4E-BP e ativa a p70S6K, induzindo assim a tradução de proteínas sinápticas, particularmente subunidades GluA1 do receptor AMPA, PSD-

95 e sinapsina (SWIECH et al., 2008; HOEFFER; KLANN, 2010; LI et al., 2010; DUMAN et al., 2012; TAKEI; NAWA, 2014). É importante destacar que o tratamento com antidepressivos promove o aumento nos níveis dessas proteínas sinápticas (LI et al., 2010; POPOVA; CASTRÉN; TAIRA, 2017) e em modelos animais que apresentam comportamentos tipo-depressivo e/ou tipo-ansioso induzidos por estresse crônico, observa-se uma redução dessas proteínas no córtex pré-frontal e hipocampo (LI et al., 2011; ZHONG et al., 2014; LIU et al., 2017; ZHU et al., 2020). Nesse contexto, este estudo investigou se o aumento na fosforilação de CREB e no imunocontéudo de GluA1, PSD-95 e sinapsina está relacionado aos efeitos tipo-antidepressivo e ansiolítico evidenciados pela suplementação com colecalciferol.

Apesar das evidências abordadas, o presente trabalho não verificou uma alteração significativa no imunocontéudo de CREB total e da relação P-CREB/CREB nas regiões do córtex pré-frontal e hipocampo. Contudo, o tratamento com colecalciferol foi capaz de promover um aumento no imunocontéudo de proteínas sinápticas, sugerindo que pode ter ocorrido a fosforilação de CREB, com posterior desfosforilação, uma vez que a síntese de BDNF e TrkB, indispensáveis no processo de sinaptogênese, são dependentes da fosforilação dessa proteína. De fato, reporta-se que após a maturação neuronal ocorre uma rápida ativação de fosfatases que atuam no resíduo de Ser<sup>133</sup> de CREB (SALA; RUDOLPH-CORREIA; SHENG, 2000; ZHOU et al., 2009). Além disso, não podemos descartar a possibilidade que a via de sinalização intracelular mediada pela mTOR que leva ao estímulo da síntese de proteínas sinápticas tenha sido estimulada pelo colecalciferol. Portanto, futuros estudos são necessários a fim de se confirmar tal hipótese.

Em relação às proteínas sinápticas, esse trabalho demonstrou que a suplementação com colecalciferol promoveu um aumento significativo no imunocontéudo de sinapsina apenas no hipocampo. Destaca-se que a sinapsina exerce um papel fundamental na homeostase sináptica, por meio da regulação do tráfego de vesículas contendo neurotransmissores no terminal pré-sináptico (JOVANOVIĆ et al., 2000; ZHANG; AUGUSTINE, 2021). Reporta-se que a deficiência de sinapsina induz uma intensa excitabilidade neuronal no hipocampo que pode estar associada ao desequilíbrio de sinapses inibitórias e/ou excitatórias (CHIAPPALONE et al., 2009; BOIDO et al., 2010). De fato, verifica-se que a transmissão glutamatérgica é aumentada na região CA1 hipocampal em camundongos *knockout* sinapsina II, enquanto a transmissão GABAérgica é suprimida (FELICIANO; ANDRADE; BYKHOVSKAIA, 2013). Ressalta-se que a depressão e a ansiedade têm sido robustamente associadas à disfunção no

sistema glutamatérgico (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012; LI; YANG; LIN, 2018; NASIR et al., 2020). Além disso, um estudo recente demonstrou que o *knockout* de sinapsina em camundongos resulta em uma depleção nos níveis de serotonina no hipocampo (TASSAN MAZZOCCO et al., 2021). Portanto, essas evidências sugerem que o aumento de sinapsinas pode ser um mecanismo pelo qual o colecalciferol restabelece os níveis de neurotransmissores, e conseqüentemente a homeostase sináptica hipocampal.

Em relação às demais proteínas sinápticas, esse trabalho demonstrou que apenas no córtex pré-frontal ocorre um aumento significativo no imunocontéudo de GluA1 e PSD-95. A respeito de GluA1, tem sido reportado que além da sua tradução ocorrer posteriormente à ativação da via mTOR, ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas são capazes de se ligar e traduzir diretamente RNA mensageiro de GluA1, de forma independente da p70S6K (JUNG et al., 2020). Portanto, o mecanismo pelo qual o colecalciferol promoveu um aumento no imunocontéudo dessa proteína pode estar relacionado à estimulação dessas ribonucleoproteínas e não necessariamente à ativação de mTOR. Esta hipótese, no entanto, necessita ser confirmada em estudos futuros.

Receptores AMPA constituídos por subunidades GluA1 são indispensáveis no processo da sinaptogênese. A fosforilação promovida pela CaMKII da subunidade (Ser<sup>831</sup>) induz o aumento da condutância desses receptores, promovendo assim uma rápida despolarização neuronal (DERKACH; BARRIA; SODERLING, 1999; DERKACH et al., 2007; FORREST; PARNELL; PENZES, 2018). Esse mecanismo é necessário para ativação de vias que induzem a tradução de proteínas, as quais contribuem para a maturação dendrítica (CITRI; MALENKA, 2008; FORREST; PARNELL; PENZES, 2018). Sendo assim, a incorporação, por meio da PSD-95, de receptores AMPA constituídos por subunidades GluA1 na porção sináptica é fundamental para o aumento da força, estabilidade e conectividade das sinapses (CITRI; MALENKA, 2008; CHEN et al., 2015). Esse mecanismo é extremamente fundamental na melhora de sintomas depressivos, considerando que a gravidade desses sintomas está relacionada a uma menor densidade sináptica (HOLMES et al., 2019).

Vale destacar que neurônios serotoninérgicos presentes no núcleo dorsal da rafe recebem estímulos excitatórios de neurônios glutamatérgicos provenientes do córtex pré-frontal (POLLAK DOROCIC et al., 2014). A estimulação direta dos axônios ventromediais glutamatérgicos, que conectam essas duas regiões, induzem um fortalecimento sináptico

excitatório nos neurônios serotoninérgicos do núcleo dorsal da rafe, promovendo respostas antidepressivas (WARDEN et al., 2012). Portanto, sugere-se que o aumento na força e conectividade sináptica entre essas regiões, promoveria um aumento na liberação de serotonina que estaria relacionado a atenuação dos comportamentos tipo-depressivo e ansioso.

Esse compilado de evidências apresentado sugere que as propriedades antidepressivas e ansiolíticas do colecalciferol são semelhantes aos de antidepressivos convencionais, como ISRS. Considerando que estes fármacos possuem diversas limitações clínicas, os possíveis efeitos benéficos aditivos ou sinérgicos da vitamina D associados à farmacoterapia atual podem ser futuramente melhor explorados pela clínica. Nesse contexto, foi reportado que a vitamina D se apresenta como uma estratégia de potencialização, uma vez que indivíduos com o diagnóstico de depressão, cujo tratamento envolvia vitamina D3 (1.500 UI) em conjunto com 20 mg de fluoxetina, apresentaram melhora superior em relação aos sintomas quando comparado a indivíduos que receberam apenas fluoxetina (KHORAMINYA et al., 2013).

Coletivamente, os resultados apresentados demonstram que o aumento no imunocontéudo de sinapsina no hipocampo, de GluA1 e PSD-95 no córtex pré-frontal estão subjacentes ao efeito tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico da suplementação com colecalciferol. Entretanto, os mecanismos pelos quais o tratamento com vitamina D induz o aumento de proteínas sinápticas não foram explorados nesse trabalho, sendo necessários estudos futuros.

#### 4. 7 CONCLUSÃO

Em conclusão, esse trabalho verificou que a suplementação com colecalciferol (100 UI/kg durante 21 dias) apresenta um efeito tipo-antidepressivo no teste de suspensão pela cauda, sem alterar a atividade locomotora dos animais, reforçando evidências prévias. Além disso, o tratamento crônico com colecalciferol induziu uma resposta tipo-ansiolíticas e/ou antidepressiva no teste da alimentação suprimida pela novidade. Entretanto, não foi possível verificar uma resposta tipo-ansiolítica nos parâmetros de autolimpeza, tempo no centro do aparato e número de bolos fecais no teste do campo aberto. Com isso, estudos futuros são necessários para confirmar o efeito tipo-ansiolítico do colecalciferol.

Destaca-se que pela primeira vez foi demonstrado que o colecalciferol possui propriedades pró-sinaptogênicas que podem estar subjacentes ao seu efeito tipo-antidepressivo e ansiolítico, uma vez que sua suplementação resultou no aumento de proteínas sinápticas como sinapsina no hipocampo e GluA1 e PSD-95 no córtex pré-frontal.

Portanto, esse conjunto de resultados sugerem que a suplementação com colecalciferol pode ser uma estratégia terapêutica no tratamento da depressão e da ansiedade. Entretanto, estudos complementares são necessários para confirmar tal hipótese.

#### 4. 8 PERSPECTIVAS

- Avaliar se a suplementação com colecalciferol (100 UI/kg) durante 21 dias apresenta efeito tipo-ansiolítico em testes mais robustos como labirinto em cruz elevado, caixa claro-escuro e teste de enterrar esferas.
- Verificar o efeito da administração de colecalciferol sobre o nível de fosforilação de mTOR, p70S6K e 4E-BP, bem como o imunoconteúdo de GluA1, PSD95, sinapsina e BDNF no córtex pré-frontal e hipocampo de um modelo animal de depressão.
- Averiguar se os mecanismos pró-sinaptogênicos da administração crônica de colecalciferol são dependentes da disponibilidade de serotonina na fenda sináptica, o que pode ser investigado através da administração do inibidor da síntese de serotonina PCPA.
- Investigar se os efeitos tipo-antidepressivo e pró-sinaptogênico do colecalciferol é dependente da via de sinalização do BDNF/TrkB, por meio da administração de um antagonista do receptor TrkB (K-252a).
- Avaliar o efeito da administração crônica de colecalciferol na maturação dendrítica, por meio da investigação do número e formato dos espinhos dendríticos hipocampais e pré-corticais de animais submetidos a um modelo de depressão.

## 5 PUBLICAÇÕES REFERENTES AO PERÍODO DO MESTRADO

CAMARGO, A.; TORRÁ, A.C.N.C.; DALMAGRO, A.P.; VALVERDE, A.P.; KOUBA, B.R.; FRAGA, D.B.; ALVES, E.C.; RODRIGUES, A.L.S. **Prophylactic efficacy of ketamine, but not the low-trapping NMDA receptor antagonist AZD6765, against stress-induced maladaptive behavior and 4E-BP1-related synaptic protein synthesis impairment.** Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 115:110509, 2022.

KOUBA, B.R.; CAMARGO, A.; GIL-MOHAPEL, J.; RODRIGUES, A.L.S. **Molecular Basis Underlying the Therapeutic Potential of Vitamin D for the Treatment of Depression and Anxiety.** Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 7077. <https://doi.org/10.3390/ijms23137077>. (Artigo completo no Anexo).

Bruna R. Kouba, Joana Gil-Mohapel, Ana Lúcia S. Rodrigues. **NLRP3 Inflammasome as a Therapeutic Target for the Management of Major Depressive Disorder.** Capítulo de livro aceito para publicação na Advances in Health and Disease, Editora Nova Publishers, 2022.

Bruna R. Kouba, Anderson Camargo, Ana Lúcia S. Rodrigues. **Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Therapeutic potential of vitamin D.** Artigo em preparação para ser submetido ao periódico Metabolic Brain Disease.

Bruna R. Kouba, Joana Gil-Mohapel, Ana Lúcia S. Rodrigues. **NLRP3 inflammasome: from pathophysiology to therapeutic target in depression.** Artigo em preparação.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, C. G. et al. Ketamine and Rapid-Acting Antidepressants: A Window into a New Neurobiology for Mood Disorder Therapeutics. **Annual Review of Medicine**, v. 66, n. 1, p. 509–523, 2015.
- AGUS, A.; PLANCHAIS, J.; SOKOL, H. Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. **Cell Host & Microbe**, v. 23, n. 6, p. 716–724, 2018.
- ALAVI, N. M. et al. Effect of vitamin D supplementation on depression in elderly patients: A randomized clinical trial. **Clinical Nutrition**, v. 38, n. 5, p. 2065–2070, 2019.
- ALCOCER-GÓMEZ, E. et al. NLRP3 inflammasome is activated in mononuclear blood cells from patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 36, p. 111–117, 2014.
- ALCOCER-GÓMEZ, E. et al. Antidepressants induce autophagy dependent-NLRP3-inflammasome inhibition in Major depressive disorder. **Pharmacological Research**, v. 121, p. 114–121, 2017.
- ALGHAMDI, S. et al. Vitamin D Supplementation Ameliorates Severity of Major Depressive Disorder. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 70, n. 2, p. 230–235, 2020.
- ALI, A. et al. Vitamin D exerts neuroprotection via SIRT1/nrf-2/ NF-κB signaling pathways against D-galactose-induced memory impairment in adult mice. **Neurochemistry International**, v. 142, 2021.
- ALMERAS, L. et al. Developmental vitamin D deficiency alters brain protein expression in the adult rat: Implications for neuropsychiatric disorders. **PROTEOMICS**, v. 7, n. 5, p. 769–780, 2007.
- ALSHAHRANI, F.; ALJOHANI, N. Vitamin D: Deficiency, Sufficiency and Toxicity. **Nutrients**, v. 5, n. 9, p. 3605–3616, 2013.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition: DSM-5* (American Psychiatric Association, 2013).
- ANDRISANO, C.; CHIESA, A.; SERRETTI, A. Newer antidepressants and panic disorder: a meta-analysis. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 28, n. 1, p. 33–45, 2013.
- ARMADA-MOREIRA, A. et al. Going the Extra (Synaptic) Mile: Excitotoxicity as the Road Toward Neurodegenerative Diseases. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 14, p. 90, 2020.
- ASSA, A. et al. Vitamin D Deficiency Promotes Epithelial Barrier Dysfunction and Intestinal Inflammation. **Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. 8, p. 1296–1305, 2014.
- ATIF, F. et al. Combination treatment with progesterone and vitamin D hormone is more effective than monotherapy in ischemic stroke: The role of BDNF/TrkB/Erk1/2 signaling in neuroprotection. **Neuropharmacology**, v. 67, p. 78–87, 2013.



- AVENEVOLI, S. et al. Comorbidity of depression in children and adolescents: models and evidence from a prospective high-risk family study. **Biological Psychiatry**, v. 49, n. 12, p. 1071–1081, 2001.
- BAEKE, F. et al. Vitamin D: modulator of the immune system. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 10, n. 4, p. 482–496, 2010.
- BAKHTIARI-DOVVOMBAYGI, H. et al. Beneficial effects of vitamin D on anxiety and depression-like behaviors induced by unpredictable chronic mild stress by suppression of brain oxidative stress and neuroinflammation in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 394, n. 4, p. 655–667, 2021.
- BANOV, M. D. et al. Efficacy and safety of ketamine in the management of anxiety and anxiety spectrum disorders: a review of the literature. **CNS Spectrums**, v. 25, n. 3, p. 331–342, 2020.
- BANSAL, Y. et al. Quinolinic Acid and Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 in Depression: Role in Neuroprogression. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, p. 452, 2019.
- BARTON, G. M. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. **Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 2, p. 413–420, 2008.
- BECHTHOLT, A. J.; HILL, T. E.; LUCKI, I. Anxiolytic effect of serotonin depletion in the novelty-induced hypophagia test. **Psychopharmacology**, v. 190, n. 4, p. 531–540, 31 jan. 2007.
- BELOVICOVA, K.; BOGI, E.; CSATLOSOVA, K.; DUBOVICKY, M. Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. **Interdiscip Toxicol.** ed. 10, v.1, p. 40-43, 2017.
- BERMAN, R. M. et al. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. **Biological Psychiatry**, v. 47, n. 4, p. 351–354, 2000.
- BERTON, O.; NESTLER, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 2, p. 137–151, 2006.
- BERTONE-JOHNSON, E. R. et al. Vitamin D Supplementation and Depression in the Women's Health Initiative Calcium and Vitamin D Trial. **American Journal of Epidemiology**, v. 176, n. 1, p. 1–13, 2012.
- BLASCO-SERRA, A. et al. A standardization of the Novelty-Suppressed Feeding Test protocol in rats. **Neuroscience Letters**, v. 658, p. 73–78, 2017.
- BODNOFF, SHARIR. et al. The effects of chronic antidepressant treatment in an animal model of anxiety. **Psychopharmacology**, v. 95, n. 3, 1988.
- BOIDO, D. et al. Cortico-hippocampal hyperexcitability in synapsin I/II/III knockout mice: age-dependency and response to the antiepileptic drug levetiracetam. **Neuroscience**, v. 171, n. 1, p. 268–283, 2010.
- BOONTANRART, M. et al. Vitamin D3 alters microglia immune activation by an IL-10 dependent SOCS3 mechanism. **Journal of Neuroimmunology**, v. 292, p. 126–136, 2016.

- BORSINI, F.; PODHORNA, J.; MARAZZITI, D. Do animal models of anxiety predict anxiolytic-like effects of antidepressants? **Psychopharmacology**, v. 163, n. 2, p. 121–141, 2002.
- BRAIDY, N. et al. Effects of Kynurenine Pathway Metabolites on Intracellular NAD<sup>+</sup> Synthesis and Cell Death in Human Primary Astrocytes and Neurons. **International Journal of Tryptophan Research**, v. 2, 2009.
- BREWERTON, T. D. et al. CSF serotonin: Diagnostic and seasonal differences. **Biological Psychiatry**, v. 37, n. 9, p. 655, 1995.
- BROMET, E. et al. Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. **BMC Medicine**, v. 9, n. 1, p. 90, 2011.
- CALVELLO, R. et al. Vitamin D Treatment Attenuates Neuroinflammation and Dopaminergic Neurodegeneration in an Animal Model of Parkinson's Disease, Shifting M1 to M2 Microglia Responses. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 12, n. 2, p. 327–339, 2017.
- CAMARGO, A. et al. Cholecalciferol counteracts depressive-like behavior and oxidative stress induced by repeated corticosterone treatment in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 833, p. 451–461, 2018.
- CAMARGO, A. et al. Cholecalciferol abolishes depressive-like behavior and hippocampal glucocorticoid receptor impairment induced by chronic corticosterone administration in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 196, 2020.
- CAMARGO, A. et al. The resilient phenotype elicited by ketamine against inflammatory stressors-induced depressive-like behavior is associated with NLRP3-driven signaling pathway. **Journal of Psychiatric Research**, v. 144, p. 118–128, 2021.
- CARLESSI, A. S. et al. Gut microbiota-brain axis in depression: The role of neuroinflammation. **The European Journal of Neuroscience**, v. 53, n. 1, p. 222–235, 2021.
- CASAROTTO, P. C. et al. Antidepressant drugs act by directly binding to TRKB neurotrophin receptors. **Cell**, v. 184, n. 5, p. 1299–1313, 2021.
- CASSEB, G. A. S.; KASTER, M. P.; RODRIGUES, A. L. S. Potential Role of Vitamin D for the Management of Depression and Anxiety. **CNS Drugs**, v. 33, n. 7, p. 619–637, 2019.
- CHAROENNGAM, N.; SHIRVANI, A.; HOLICK, M. F. Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: What we should know. **Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma**, v. 10, n. 6, p. 1082–1093, 2019.
- CHEN, L.M. et al. Tryptophan-kynurenine metabolism: a link between the gut and brain for depression in inflammatory bowel disease. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n. 1, p. 135, 2021.
- CHEN, X. et al. PSD-95 family MAGUKs are essential for anchoring AMPA and NMDA receptor complexes at the postsynaptic density. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 50, p. 6983–6992, 2015.

CHESNEY, E.; GOODWIN, G. M.; FAZEL, S. Risks of all-cause and suicide mortality in mental disorders: a meta-review. **World Psychiatry**, v. 13, n. 2, p. 153–160, 2014.

CHIAPPALONE, M. et al. Opposite changes in glutamatergic and GABAergic transmission underlie the diffuse hyperexcitability of synapsin I-deficient cortical networks. **Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)**, v. 19, n. 6, p. 1422–1439, 2009.

CHRISTAKOS, S. et al. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. **Physiological Reviews**, v. 96, n. 1, p. 365–408, 2016.

CITRI, A.; MALENKA, R. C. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. **Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 1, p. 18–41, 2008.

COHEN-LAHAV, M. et al. Vitamin D decreases NFκB activity by increasing IκBα levels. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 21, n. 4, p. 889–897, 2006.

COLLA, A. R. S. et al. Anxiolytic-like effects of ursolic acid in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 758, p. 171–176, 2015.

COVID-19 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS. Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. **Lancet (London, England)**, v. 398, n. 10312, p. 1700–1712, 2021.

CRASKE, M. G. et al. Anxiety disorders. **Nature Reviews. Disease Primers**, v. 3, p. 17024, 2017.

CRASKE, M. G.; STEIN, M. B. Anxiety. **Lancet (London, England)**, v. 388, n. 10063, p. 3048–3059, 2016.

CRYAN, J. F.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4–5, p. 547–569, 2005.

CUI, C. et al. Vitamin D receptor activation regulates microglia polarization and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats and angiotensin II-exposed microglial cells: Role of renin-angiotensin system. **Redox Biology**, v. 26, p. 101295, 2019.

CUI, C. et al. Calcitriol confers neuroprotective effects in traumatic brain injury by activating Nrf2 signaling through an autophagy-mediated mechanism. **Molecular Medicine**, v. 27, n. 1, p. 118, 2021.

CUI, X. et al. Maternal vitamin D depletion alters neurogenesis in the developing rat brain. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 25, n. 4, p. 227–232, 2007.

CULPEPPER, L. Understanding the burden of depression. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 72, n. 6, p. 19, 2011.

DA SILVA SOUZA, S. V. et al. Effects of cholecalciferol on behavior and production of reactive oxygen species in female mice subjected to corticosterone-induced model of

depression. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 393, n. 1, p. 111–120, 2020.

DALE, E.; BANG-ANDERSEN, B.; SÁNCHEZ, C. Emerging mechanisms and treatments for depression beyond SSRIs and SNRIs. **Biochemical Pharmacology**, v. 95, n. 2, p. 81–97, 2015.

DALVA, M. B.; MCCLELLAND, A. C.; KAYSER, M. S. Cell adhesion molecules: signalling functions at the synapse. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 3, p. 206–220, 2007.

DECKER, S. et al. Open field is more sensitive than automated activity monitor in documenting ouabain-induced hyperlocomotion in the development of an animal model for bipolar illness. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 24, n. 3, p. 455–462, 2000.

DE PAULA NASCIMENTO-CASTRO, C. et al. Antidepressant Effects of Probucole on Early-Symptomatic YAC128 Transgenic Mice for Huntington's Disease. **Neural Plasticity**, v. 2018, p. 1–17, 2018.

DELGADO, P. L. Depression: the case for a monoamine deficiency. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 61 Suppl 6, p. 7–11, 2000.

DERKACH, V. A. et al. Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 2, p. 101–113, 2007.

DERKACH, V.; BARRIA, A.; SODERLING, T. R.  $Ca^{2+}$ /calmodulin-kinase II enhances channel conductance of  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 6, p. 3269–3274, 1999.

DULAWA, S. C.; HEN, R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: The novelty-induced hypophagia test. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4–5, p. 771–783, 2005.

DUMAN, R. S. Neuronal damage and protection in the pathophysiology and treatment of psychiatric illness: stress and depression. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 11, n. 3, p. 239–255, 2009.

DUMAN, R. S. et al. Signaling pathways underlying the rapid antidepressant actions of ketamine. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 35–41, 2012.

DUMAN, R. S. et al. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. **Nature Medicine**, v. 22, n. 3, p. 238–249, 2016.

DUMAN, R. S.; HENINGER, G. R.; NESTLER, E. J. A molecular and cellular theory of depression. **Archives of General Psychiatry**, v. 54, n. 7, p. 597–606, 1997.

DWIVEDI, Y. et al. Altered Gene Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Receptor Tyrosine Kinase B in Postmortem Brain of Suicide Subjects. **Archives of General Psychiatry**, v. 60, n. 8, p. 804, 2003.

- DWIVEDI, Y.; RIZAVI, H. S.; PANDEY, G. N. Antidepressants reverse corticosterone-mediated decrease in brain-derived neurotrophic factor expression: Differential regulation of specific exons by antidepressants and corticosterone. **Neuroscience**, v. 139, n. 3, p. 1017–1029, 2006.
- DWIVEDI, Y. et al. ERK MAP kinase signaling in post-mortem brain of suicide subjects: differential regulation of upstream Raf kinases Raf-1 and B-Raf. **Molecular Psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 86–98, 2006.
- EID, A. et al. Vitamin D supplementation ameliorates severity of generalized anxiety disorder (GAD). **Metabolic Brain Disease**, v. 34, n. 6, p. 1781–1786, 2019.
- ESVALD, E. E. et al. CREB Family Transcription Factors Are Major Mediators of BDNF Transcriptional Autoregulation in Cortical Neurons. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 40, n. 7, p. 1405–1426, 2020.
- EYLES, D. et al. Vitamin d3 and brain development. **Neuroscience**, v. 118, n. 3, p. 641–653, 2003.
- EYLES, D. et al. Developmental vitamin D deficiency alters the expression of genes encoding mitochondrial, cytoskeletal and synaptic proteins in the adult rat brain. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 103, n. 3–5, p. 538–545, 2007.
- EYLES, D. W. et al. Distribution of the Vitamin D receptor and 1 $\alpha$ -hydroxylase in human brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 29, n. 1, p. 21–30, 2005.
- FÃO, L.; MOTA, S. I.; REGO, A. C. Shaping the Nrf2-ARE-related pathways in Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Ageing Research Reviews**, v. 54, 2019.
- FARINA, C.; ALOISI, F.; MEINL, E. Astrocytes are active players in cerebral innate immunity. **Trends in Immunology**, v. 28, n. 3, p. 138–145, 2007.
- FEDOTOVA, J. et al. Different effects of vitamin D hormone treatment on depression-like behavior in the adult ovariectomized female rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, p. 1865–1872, 2016.
- FEDOTOVA, J. et al. Modulating Effects of Cholecalciferol Treatment on Estrogen Deficiency-Induced Anxiety-Like Behavior of Adult Female Rats. **Folia Medica**, v. 59, n. 2, p. 139–158, 2017.
- FEDOTOVA, J. O. Vitamin D3 treatment differentially affects anxiety-like behavior in the old ovariectomized female rats and old ovariectomized female rats treated with low dose of 17 $\beta$ -estradiol. **BMC Medical Genetics**, v. 20, n. S1, p. 49, 2019.
- FELICIANO, P.; ANDRADE, R.; BYKHOVSKAIA, M. Synapsin II and Rab3a cooperate in the regulation of epileptic and synaptic activity in the CA1 region of the hippocampus. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 33, n. 46, p. 18319–18330, 2013.

- FÉRON, F. et al. Developmental Vitamin D3 deficiency alters the adult rat brain. **Brain Research Bulletin**, v. 65, n. 2, p. 141–148, 2005.
- FISCHER, A. G.; JOCHAM, G.; ULLSPERGER, M. Dual serotonergic signals: a key to understanding paradoxical effects? **Trends in Cognitive Sciences**, 2014.
- FRAGA, D. B.; COSTA, A. P.; OLESCOWICZ, G. Ascorbic acid present rapid behavioral and hippocampal synaptic plasticity effects. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**. v. 96, p. 109757, 2020.
- FORREST, M. P.; PARNELL, E.; PENZES, P. Dendritic structural plasticity and neuropsychiatric disease. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 19, n. 4, p. 215–234, 2018.
- FULLERTON, J. N.; GILROY, D. W. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 15, n. 8, p. 551–567, 2016.
- GADOTTI, V. M.; ZAMPONI, G. W. Anxiolytic effects of the flavonoid luteolin in a mouse model of acute colitis. **Molecular Brain**. V. 12, p. 114, 2019.
- GRITTI, D. et al. Neuroinflammation in Major Depressive Disorder: A Review of PET Imaging Studies Examining the 18-kDa Translocator Protein. **Journal of Affective Disorders**, v. 292, p. 642–651, 2021.
- GROVES, N. J. et al. Behavioural Effects of Adult Vitamin D Deficiency in BALB/c Mice Are not Associated with Proliferation or Survival of Neurons in the Adult Hippocampus. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, 2016.
- HAMON, M.; BLIER, P. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 45, p. 54–63, 2013.
- HANSEN, J. P. et al. Vitamin D3 supplementation and treatment outcomes in patients with depression (D3-vit-dep). **BMC Research Notes**, v. 12, n. 1, p. 203, 2019.
- HAUSSLER, M. R. et al. Molecular Mechanisms of Vitamin D Action. **Calcified Tissue International**, v. 92, n. 2, p. 77–98, 2013.
- HEINRICH, I. A. et al. Neuronal activity regulated pentraxin (narp) and GluA4 subunit of AMPA receptor may be targets for fluoxetine modulation. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, n. 4, p. 711–722, 2021.
- HERMAN, F. J.; PASINETTI, G. M. Principles of inflammasome priming and inhibition: Implications for psychiatric disorders. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 73, p. 66–84, 2018.
- HOEFFER, C. A.; KLANN, E. mTOR signaling: At the crossroads of plasticity, memory and disease. **Trends in Neurosciences**, v. 33, n. 2, p. 67–75, 2010.
- HOLICK, M. F. Vitamin D Deficiency. **New England Journal of Medicine**, v. 357, n. 3, p. 266–281, 2007.

- HOLICK, M. F. Vitamin D: A D-Lightful Solution for Health. **Journal of Investigative Medicine**, v. 59, n. 6, p. 872–880, 2011.
- HOLMES, S. E. et al. Lower synaptic density is associated with depression severity and network alterations. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1529, 2019.
- HOOGENDIJK, W. J. G. et al. Depression Is Associated With Decreased 25-Hydroxyvitamin D and Increased Parathyroid Hormone Levels in Older Adults. **Archives of General Psychiatry**, v. 65, n. 5, p. 508, 2008.
- HOSSEIN-NEZHAD, A.; HOLICK, M. F. Vitamin D for Health: A Global Perspective. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 88, n. 7, p. 720–755, 2013.
- HUANG, H. et al. Vitamin D receptor interacts with NLRP3 to restrict the allergic response. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 194, n. 1, p. 17–26, 2018.
- JIANG, P. et al. Stress and vitamin D: Altered vitamin D metabolism in both the hippocampus and myocardium of chronic unpredictable mild stress exposed rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 10, p. 2091–2098, 2013.
- JIANG, P. et al. Neurochemical Effects of Chronic Administration of Calcitriol in Rats. **Nutrients**, v. 6, n. 12, p. 6048–6059, 2014.
- JIANG, S. et al. Vitamin D/VDR attenuate cisplatin-induced AKI by down-regulating NLRP3/Caspase-1/GSDMD pyroptosis pathway. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 206, 2021.
- JORDE, R. et al. Effects of vitamin D supplementation on symptoms of depression in overweight and obese subjects: randomized double blind trial. **Journal of Internal Medicine**, v. 264, n. 6, p. 599–609, 2008.
- JOVANOVIC, J. N. et al. Synapsins as mediators of BDNF-enhanced neurotransmitter release. **Nature Neuroscience**, v. 3, n. 4, p. 323–329, 2000.
- JUNG, Y. et al. BDNF-induced local translation of GluA1 is regulated by HNRNP A2/B1. **Science Advances**, v. 6, n. 47, 2020.
- KACZMAREK, L.; KOSSUT, M.; SKANGIEL-KRAMSKA, J. Glutamate receptors in cortical plasticity: molecular and cellular biology. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 1, p. 217–255, 1997.
- KANEKO, I. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D regulates expression of the tryptophan hydroxylase 2 and leptin genes: implication for behavioral influences of vitamin D. **The FASEB Journal**, v. 29, n. 9, p. 4023–4035, 2015.
- KAREGE, F. et al. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. **Molecular Brain Research**, v. 136, n. 1–2, p. 29–37, 2005.
- KAUFMAN, J.; CHARNEY, D. Comorbidity of mood and anxiety disorders. **Depression and Anxiety**, v. 12 Suppl 1, p. 69–76, 2000.

- KAUFMANN, F. N. et al. NLRP3 inflammasome-driven pathways in depression: Clinical and preclinical findings. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 64, p. 367–383, 2017.
- KAVIANI, M. et al. Effects of vitamin D supplementation on depression and some involved neurotransmitters. **Journal of Affective Disorders**, v. 269, p. 28–35, 2020.
- KELLEY, N. et al. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 13, p. 3328, 2019.
- KHAIRY, E. Y.; ATTIA, M. M. Protective effects of vitamin D on neurophysiologic alterations in brain aging: role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). **Nutritional Neuroscience**, v. 24, n. 8, p. 650–659, 2021.
- KHORAMINYA, N. et al. Therapeutic effects of vitamin D as adjunctive therapy to fluoxetine in patients with major depressive disorder. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 47, n. 3, p. 271–275, 2013.
- KIM, Y. K.; JEON, S. W. Neuroinflammation and the Immune-Kynurenine Pathway in Anxiety Disorders. **Current Neuropharmacology**, v. 16, n. 5, p. 574–582, 2018.
- KOSHKINA, A. et al. Effects of Vitamin D3 in Long-Term Ovariectomized Rats Subjected to Chronic Unpredictable Mild Stress: BDNF, NT-3, and NT-4 Implications. **Nutrients**, v. 11, n. 8, p. 1726, 2019.
- LEAL, R. B. et al. Lead-Stimulated p38MAPK-Dependent Hsp27 Phosphorylation. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 178, n. 1, p. 44–51, 2002.
- LEE, B. H.; KIM, Y. K. Reduced platelet BDNF level in patients with major depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 5, p. 849–853, 2009.
- LEFEBVRE D'HELLENCOURT, C. et al. Vitamin D3 inhibits proinflammatory cytokines and nitric oxide production by the EOC13 microglial cell line. **Journal of Neuroscience Research**, v. 71, n. 4, p. 575–582, 2003.
- LEUNER, B.; SHORS, T. J. Stress, anxiety, and dendritic spines: what are the connections? **Neuroscience**, v. 251, p. 108–119, 2013.
- LEWINSOHN, P. M. et al. Lifetime comorbidity among anxiety disorders and between anxiety disorders and other mental disorders in adolescents. **Journal of Anxiety Disorders**, v. 11, n. 4, p. 377–394, 1997.
- LI, C. T.; YANG, K. C.; LIN, W. C. Glutamatergic Dysfunction and Glutamatergic Compounds for Major Psychiatric Disorders: Evidence From Clinical Neuroimaging Studies. **Frontiers in Psychiatry**, v. 9, p. 767, 2018.
- LI, J. et al. Effects of corticosterone on the expression of mature brain-derived neurotrophic factor (mBDNF) and proBDNF in the hippocampal dentate gyrus. **Behavioural Brain Research**, v. 365, p. 150–156, 2019a.



- LI, J. M. et al. Ketamine may exert antidepressant effects via suppressing NLRP3 inflammasome to upregulate AMPA receptors. **Neuropharmacology**, v. 146, p. 149–153, 2019b.
- LI, N. et al. mTOR-Dependent Synapse Formation Underlies the Rapid Antidepressant Effects of NMDA Antagonists. **Science**, v. 329, n. 5994, p. 959–964, 2010.
- LI, N. et al. Glutamate N-methyl-D-aspartate Receptor Antagonists Rapidly Reverse Behavioral and Synaptic Deficits Caused by Chronic Stress Exposure. **Biological Psychiatry**, v. 69, n. 8, p. 754–761, 2011.
- LIDDELOW, S. A. et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. **Nature**, v. 541, n. 7638, p. 481–487, 2017.
- LIU, C. H. et al. Role of inflammation in depression relapse. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 90, 2019.
- LIU, X. et al. Nuclear Factor E2-Related Factor-2 Negatively Regulates NLRP3 Inflammasome Activity by Inhibiting Reactive Oxygen Species-Induced NLRP3 Priming. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 26, n. 1, p. 28–43, 2017.
- LIU, Y. M. et al. Elevation of synaptic protein is associated with the antidepressant-like effects of ferulic acid in a chronic model of depression. **Physiology & Behavior**, v. 169, p. 184–188, 2017.
- LIU, Y.; ZHAO, J.; GUO, W. Emotional Roles of Mono-Aminergic Neurotransmitters in Major Depressive Disorder and Anxiety Disorders. **Frontiers in Psychology**, v. 9, p. 2201, 2018.
- LU, B.; PANG, P. T.; WOO, N. H. The yin and yang of neurotrophin action. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 8, p. 603–614, 2005.
- LUTHOLD, R. V. et al. Gut microbiota interactions with the immunomodulatory role of vitamin D in normal individuals. **Metabolism**, v. 69, p. 76–86, 2017.
- LYE, M.S. et al. BsmI-ApaI-TaqI TAC (BA<sub>T</sub>) Haplotype of Vitamin D Receptor Gene Is Associated with Increased Risk of Major Depressive Disorder. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 71, n. 5, p. 981–990, 2021.
- MACHADO, D. G. et al. Fluoxetine reverses depressive-like behaviors and increases hippocampal acetylcholinesterase activity induced by olfactory bulbectomy. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 103, n. 2, p. 220–229, 2012.
- MAES, M. et al. Suppressant effects of dexamethasone on the availability of plasma L-tryptophan and tyrosine in healthy controls and in depressed patients. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 81, n. 1, p. 19–23, 1990.
- MAES, M. et al. The negative immunoregulatory effects of fluoxetine in relation to the cAMP-dependent PKA pathway. **International Immunopharmacology**, v. 5, n. 3, p. 609–618, 2005.
- MALHI, G. S.; MANN, J. J. Depression. **The Lancet**, v. 392, n. 10161, p. 2299–2312, 2018.

- MARTINOWICH, K.; MANJI, H.; LU, B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. **Nature Neuroscience**, v. 10, n. 9, p. 1089–1093, 2007.
- MASI, G.; BROVEDANI, P. The hippocampus, neurotrophic factors and depression: possible implications for the pharmacotherapy of depression. **CNS drugs**, v. 25, n. 11, p. 913–931, 2011.
- MAYER, M. L.; WESTBROOK, G. L.; GUTHRIE, P. B. Voltage-dependent block by Mg<sup>2+</sup> of NMDA responses in spinal cord neurones. **Nature**, v. 309, n. 5965, p. 261–263, 1984.
- MEHRABADI, S.; SADR, S. S. Administration of Vitamin D<sub>3</sub> and E supplements reduces neuronal loss and oxidative stress in a model of rats with Alzheimer's disease. **Neurological Research**, v. 42, n. 10, p. 862–868, 2020.
- MEIER, S. M. et al. Increased mortality among people with anxiety disorders: total population study. **British Journal of Psychiatry**, v. 209, n. 3, p. 216–221, 2016.
- MILLER, S. G.; KENNEDY, M. B. Regulation of brain type II Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase by autophosphorylation: a Ca<sup>2+</sup>-triggered molecular switch. **Cell**, v. 44, n. 6, p. 861–870, 1986.
- MORELLO, M. et al. Vitamin D Improves Neurogenesis and Cognition in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 8, p. 6463–6479, 2018.
- MORILAK, D. A.; FRAZER, A. Antidepressants and brain monoaminergic systems: a dimensional approach to understanding their behavioural effects in depression and anxiety disorders. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 7, n. 2, p. 193–218, 2004.
- MOZAFFARI-KHOSRAVI, H. et al. The Effect of 2 Different Single Injections of High Dose of Vitamin D on Improving the Depression in Depressed Patients With Vitamin D Deficiency: A Randomized Clinical Trial. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 33, n. 3, p. 378–385, 2013.
- NAKAJO, T. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> attenuates IL-1 $\beta$  secretion by suppressing NLRP1 inflammasome activation by upregulating the NRF2-HO-1 pathway in epidermal keratinocytes. **Redox Biology**, v. 48, 2021.
- NARULA, N. et al. Impact of High-Dose Vitamin D<sub>3</sub> Supplementation in Patients with Crohn's Disease in Remission: A Pilot Randomized Double-Blind Controlled Study. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 62, n. 2, p. 448–455, 2017.
- NASIR, M. et al. Glutamate Systems in DSM-5 Anxiety Disorders: Their Role and a Review of Glutamate and GABA Psychopharmacology. **Frontiers in Psychiatry**, v. 11, p. 548505, 2020.
- NAVEILHAN, P. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, an inducer of glial cell line-derived neurotrophic factor: **NeuroReport**, v. 7, n. 13, p. 2171–2175, 1996.

- NEIS, V. B. et al. Involvement of serotonergic neurotransmission in the antidepressant-like effect elicited by cholecalciferol in the chronic unpredictable stress model in mice. **Metabolic Brain Disease**, 2022.
- NEVEU, I. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates NT-3, NT-4 but not BDNF mRNA in astrocytes: **NeuroReport**, v. 6, n. 1, p. 124–126, 1994.
- NICIU, M. J.; KELMENDI, B.; SANACORA, G. Overview of glutamatergic neurotransmission in the nervous system. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 100, n. 4, p. 656–664, 2012.
- NICOLL, R. A. A Brief History of Long-Term Potentiation. **Neuron**, v. 93, n. 2, p. 281–290, 2017.
- NOWAK, L. et al. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. **Nature**, v. 307, n. 5950, p. 462–465, 1984.
- NUTT, D. J. Overview of Diagnosis and Drug Treatments of Anxiety Disorders. **CNS Spectrums**, v. 10, n. 1, p. 49–56, 2005.
- OHGI, Y.; FUTAMURA, T.; HASHIMOTO, K. Glutamate Signaling in Synaptogenesis and NMDA Receptors as Potential Therapeutic Targets for Psychiatric Disorders. **Current Molecular Medicine**, v. 15, n. 3, p. 206–221, 2015.
- OOI, J. H. et al. Vitamin D Regulates the Gut Microbiome and Protects Mice from Dextran Sodium Sulfate–Induced Colitis. **The Journal of Nutrition**, v. 143, n. 10, p. 1679–1686, 2013.
- ORIHUELA, R.; MCPHERSON, C. A.; HARRY, G. J. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states: Microglia bioenergetics with acute polarization. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 4, p. 649–665, 2016.
- OTTE, C. et al. Major depressive disorder. **Nature Reviews. Disease Primers**, v. 2, p. 16065, 2016.
- PAZINI, F. L. et al. mTORC1-dependent signaling pathway underlies the rapid effect of creatine and ketamine in the novelty-suppressed feeding test. **Chemico-Biological Interactions**, v. 332, p. 109281, 2020.
- PENCKOFER, S. et al. Vitamin D Supplementation Improves Mood in Women with Type 2 Diabetes. **Journal of Diabetes Research**, v. 2017, p. 1–11, 2017.
- PERTILE, R. A. N.; CUI, X.; EYLES, D. W. Vitamin D signaling and the differentiation of developing dopamine systems. **Neuroscience**, v. 333, p. 193–203, 2016.
- PETERSON, G. L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. **Analytical Biochemistry**, v. 83, n. 2, p. 346–356, 1977.
- PETZOLDT, A. G.; SIGRIST, S. J. Synaptogenesis. **Current biology: CB**, v. 24, n. 22, p. 1076-1080, 2014.

- PIEROZAN, P. et al. Quinolinic acid neurotoxicity: Differential roles of astrocytes and microglia via FGF-2-mediated signaling in redox-linked cytoskeletal changes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 12, p. 3001–3014, 2016.
- PITTENGER, C.; DUMAN, R. S. Stress, Depression, and Neuroplasticity: A Convergence of Mechanisms. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 1, p. 88–109, 2008.
- POLLAK DOROCIC, I. et al. A whole-brain atlas of inputs to serotonergic neurons of the dorsal and median raphe nuclei. **Neuron**, v. 83, n. 3, p. 663–678, 2014.
- POPOVA, D.; CASTRÉN, E.; TAIRA, T. Chronic fluoxetine administration enhances synaptic plasticity and increases functional dynamics in hippocampal CA3-CA1 synapses. **Neuropharmacology**, v. 126, p. 250–256, 2017.
- PU, D. et al. Prevalence of depression and anxiety in rheumatoid arthritis patients and their associations with serum vitamin D level. **Clinical Rheumatology**, v. 37, n. 1, p. 179–184, 2018.
- QI, X. et al. Fluoxetine increases the activity of the ERK-CREB signal system and alleviates the depressive-like behavior in rats exposed to chronic forced swim stress. **Neurobiology of Disease**, v. 31, n. 2, p. 278–285, 2008.
- RANA, T. et al. Elucidating the Possible Role of FoxO in Depression. **Neurochemical Research**, v. 46, n. 11, p. 2761–2775, 2021.
- RAO, Z. et al. Vitamin D Receptor Inhibits NLRP3 Activation by Impeding Its BRCC3-Mediated Deubiquitination. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2783, 2019.
- REICHARDT, L. F. Neurotrophin-regulated signalling pathways. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 361, n. 1473, p. 1545–1564, 2006.
- REINER, A.; LEVITZ, J. Glutamatergic Signaling in the Central Nervous System: Iontropic and Metabotropic Receptors in Concert. **Neuron**, v. 98, n. 6, p. 1080–1098, 2018.
- RESSLER, K. J.; NEMEROFF, C. B. Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. **Depression and Anxiety**, v. 12 Suppl 1, p. 2–19, 2000.
- RIOS, M. et al. Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity. **Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)**, v. 15, n. 10, p. 1748–1757, 2001.
- ROSSI, S. et al. Neuroinflammation drives anxiety and depression in relapsing-remitting multiple sclerosis. **Neurology**, v. 89, n. 13, p. 1338–1347, 2017.
- RUDZKI, L.; MAES, M. The Microbiota-Gut-Immune-Glia (MGIG) Axis in Major Depression. **Molecular Neurobiology**, v. 57, n. 10, p. 4269–4295, 2020.
- SABIR, M. S. et al. Optimal vitamin D spurs serotonin: 1,25-dihydroxyvitamin D represses serotonin reuptake transport (SERT) and degradation (MAO-A) gene expression in cultured rat serotonergic neuronal cell lines. **Genes & Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 19, 2018.

- SALA, C.; RUDOLPH-CORREIA, S.; SHENG, M. Developmentally regulated NMDA receptor-dependent dephosphorylation of cAMP response element-binding protein (CREB) in hippocampal neurons. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 20, n. 10, p. 3529–3536, 2000.
- SANACORA, G.; TRECCANI, G.; POPOLI, M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 63–77, 2012.
- SANDERS-BUSH, E.; HAZELWOO, L. 5-Hidroxitriptamina (serotonina) e dopamina. In: Brunton, L.L.; Chabner, B.A.; Knollmann, B.C. (organizadores). *As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman*. 12<sup>a</sup> ed., **McGraw Hill**, p.335-351, 2012.
- SEYEDI, M. et al. The Effect of Vitamin D3 Supplementation on Serum BDNF, Dopamine, and Serotonin in Children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 18, n. 6, p. 496–501, 2019.
- SHARIFI, A. et al. Vitamin D Decreases Beck Depression Inventory Score in Patients with Mild to Moderate Ulcerative Colitis: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial. **Journal of Dietary Supplements**, v. 16, n. 5, p. 541–549, 2019.
- SHEN, Z. et al. The roles of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in predicting treatment remission in a Chinese Han population with generalized anxiety disorder. **Psychiatry Research**, v. 271, p. 319–324, 2019.
- SHEPHARD, R. Effects of diazepam and of serotonin agonists on hyponeophagia in rats. **Neuropharmacology**, v. 21, n. 4, p. 337–340, 1982.
- SHINPO, K. et al. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on cultured mesencephalic dopaminergic neurons to the combined toxicity caused by L-buthionine sulfoximine and 1-methyl-4-phenylpyridine. **Journal of Neuroscience Research**, v. 62, n. 3, p. 374–382, 2000.
- SIOPI, E. et al. Changes in Gut Microbiota by Chronic Stress Impair the Efficacy of Fluoxetine. **Cell Reports**, v. 30, n. 11, p. 3682- 3690, 2020.
- SKAPER, S. D. et al. Synaptic Plasticity, Dementia and Alzheimer Disease. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 16, n. 3, p. 220–233, 2017.
- SONG, N.; LI, T. Regulation of NLRP3 Inflammasome by Phosphorylation. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 2305, 2018.
- STEDENFELD, K. A.; CLINTON, S. M.; KERMAN, I. A.; AKIL, H.; WATSON, S. J.; SVED, A. F. Novelty-seeking behavior predicts vulnerability in a rodent model of depression. **Physiol Behav.** v. 103 (2), p. 210-216, 2011.
- STERU, L. et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367–370, 1985.
- SÜDHOF, T. C. Towards an Understanding of Synapse Formation. **Neuron**, v. 100, n. 2, p. 276–293, 2018.

- SURGET, A. et al. Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. **Biological Psychiatry**, v. 64, n. 4, p. 293–301, 2008.
- SUTTERWALA, F. S.; HAASKEN, S.; CASSEL, S. L. Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1319, p. 82–95, 2014.
- SWIECH, L. et al. Role of mTOR in physiology and pathology of the nervous system. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1784, n. 1, p. 116–132, 2008.
- TAKEI, N.; NAWA, H. mTOR signaling and its roles in normal and abnormal brain development. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 7, p. 28, 2014.
- TASSAN MAZZOCCO, M. et al. Dysfunction of the serotonergic system in the brain of synapsin triple knockout mice is associated with behavioral abnormalities resembling synapsin-related human pathologies. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 105, p. 110135, 2021.
- TEJEDA, G.; DÍAZ-GUERRA, M. Integral Characterization of Defective BDNF/TrkB Signalling in Neurological and Psychiatric Disorders Leads the Way to New Therapies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 2, p. 268, 2017.
- THOMAS, G. M.; HUGANIR, R. L. MAPK cascade signalling and synaptic plasticity. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, n. 3, p. 173–183, 2004.
- TROUBAT, R. et al. Neuroinflammation and depression: A review. **European Journal of Neuroscience**, v. 53, n. 1, p. 151–171, 2021.
- USATEGUI-MARTÍN, R. et al. Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms Modify the Response to Vitamin D Supplementation: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 14, n. 2, p. 360, 2022.
- VALDIVIELSO, J. M.; FERNANDEZ, E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. **Clinica Chimica Acta**, v. 371, n. 1–2, p. 1–12, 2006.
- VASWANI, M.; LINDA, F. K.; RAMESH, S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 27, n. 1, p. 85–102. 2003.
- VELLEKKATT, F. et al. Effect of adjunctive single dose parenteral Vitamin D supplementation in major depressive disorder with concurrent vitamin D deficiency: A double-blind randomized placebo-controlled trial. **Journal of Psychiatric Research**, v. 129, p. 250–256, 2020.
- VERMA, R.; KIM, J. Y. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> facilitates M2 polarization and upregulates TLR10 expression on human microglial cells. **Neuroimmunomodulation**, v.23, p.75–80, 2016.
- VERMA, R.; JUNG, J. H.; KIM, J. Y. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> up-regulates TLR10 while down-regulating TLR2, 4, and 5 in human monocyte THP-1. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 141, p. 1–6, 2014.

WACKER, M.; HOLICK, M. Vitamin D — Effects on Skeletal and Extraskeletal Health and the Need for Supplementation. **Nutrients**, v. 5, n. 1, p. 111–148, 2013.

WANG, Y. et al. Low-vitamin-D diet lowers cerebral serotonin concentration in mature female mice. **Nutrition Research (New York, N.Y.)**, v. 81, p. 71–80, 2020.

WARDEN, M. R. et al. A prefrontal cortex–brainstem neuronal projection that controls response to behavioural challenge. **Nature**, v. 492, n. 7429, p. 428–432, 2012.

WHO. **Depression and other common mental disorders: global health estimates**. 2017.

WHO. **Depression and other common mental disorders: Global Health Estimates**. Disponível em: [www.who.int/tb/features\\_archive/whd2017\\_TB/en/](http://www.who.int/tb/features_archive/whd2017_TB/en/). Acesso em: 8 jun. 2020.

WONG, D. T.; PERRY, K. W.; BYMASTER, F. P. The Discovery of Fluoxetine Hydrochloride (Prozac). **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 9, p. 764–774, 2005.

WU, S. et al. Vitamin D Receptor Negatively Regulates Bacterial-Stimulated NF- $\kappa$ B Activity in Intestine. **The American Journal of Pathology**, v. 177, n. 2, p. 686–697, 2010.

XIA, Z.; DEPIERRE, J. W.; NÄSSBERGER, L. Tricyclic antidepressants inhibit IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  release in human blood monocytes and IL-2 and interferon- $\gamma$  in T cells. **Immunopharmacology**, v. 34, n. 1, p. 27–37, 1996.

XIN, L. et al. 1,25-Dihydroxy Vitamin D<sub>3</sub> Attenuates the Oxidative Stress-Mediated Inflammation Induced by PM<sub>2.5</sub> via the p38/NF- $\kappa$ B/NLRP3 Pathway. **Inflammation**, v. 42, n. 2, p. 702–713, 2019.

XU, X. et al. Nrf2/ARE pathway inhibits ROS-induced NLRP3 inflammasome activation in BV2 cells after cerebral ischemia reperfusion. **Inflammation Research**, v. 67, n. 1, p. 57–65, 2018.

XU, Y.; LIANG, L. Vitamin D<sub>3</sub>/vitamin D receptor signaling mitigates symptoms of post-stroke depression in mice by upregulating hippocampal BDNF expression. **Neuroscience Research**, v. 170, p. 306–313, 2021.

YAMINI, P.; RAY, R. S.; CHOPRA, K. Vitamin D<sub>3</sub> attenuates cognitive deficits and neuroinflammatory responses in ICV-STZ induced sporadic Alzheimer's disease. **Inflammopharmacology**, v. 26, n. 1, p. 39–55, 2018.

YANG, X. et al. Global, regional and national burden of anxiety disorders from 1990 to 2019: results from the Global Burden of Disease Study 2019. **Epidemiology and Psychiatric Sciences**, v. 30, p. 36, 2021.

YONG, H. Y. F. et al. The benefits of neuroinflammation for the repair of the injured central nervous system. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 16, n. 6, p. 540–546, 2019.

YOSAEE, S. et al. Effects of zinc, vitamin D, and their co-supplementation on mood, serum cortisol, and brain-derived neurotrophic factor in patients with obesity and mild to moderate depressive symptoms: A phase II, 12-wk, 2  $\times$  2 factorial design, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Nutrition**, v. 71, p. 110601, 2020.

ZAHID, A. et al. Pharmacological Inhibitors of the NLRP3 Inflammasome. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2538, 2019.

ZHANG, M.; AUGUSTINE, G. J. Synapsins and the Synaptic Vesicle Reserve Pool: Floats or Anchors? **Cells**, v. 10, n. 3, p. 658, 2021.

ZHANG, W. et al. Neuroprotective effects of vitamin D and 17 $\beta$ -estradiol against ovariectomy-induced neuroinflammation and depressive-like state: Role of the AMPK/NF- $\kappa$ B pathway. **International Immunopharmacology**, v. 86, p. 106734, 2020.

ZHONG, P. et al. Monoacylglycerol Lipase Inhibition Blocks Chronic Stress-Induced Depressive-Like Behaviors via Activation of mTOR Signaling. **Neuropsychopharmacology**, v. 39, n. 7, p. 1763–1776, 2014.

ZHOU, X. et al. N-methyl-D-aspartate-stimulated ERK1/2 signaling and the transcriptional up-regulation of plasticity-related genes are developmentally regulated following in vitro neuronal maturation. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, n. 12, p. 2632–2644, 2009.

ZHOU, Y.; DANBOLT, N. C. Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. **Journal of Neural Transmission**, v. 121, n. 8, p. 799–817, 2014.

ZHU, C. et al. Vitamin D supplementation improves anxiety but not depression symptoms in patients with vitamin D deficiency. **Brain and Behavior**, v. 10, n. 11, 2020.

ZHU, J.; DELUCA, H. F. Vitamin D 25-hydroxylase – Four decades of searching, are we there yet? **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 523, n. 1, p. 30–36, 2012.

ZHU, L. et al. nNOS-CAPON blockers produce anxiolytic effects by promoting synaptogenesis in chronic stress-induced animal models of anxiety. **British Journal of Pharmacology**, v. 177, n. 16, p. 3674–3690, 2020.




ZHU, Y. et al. Abnormal neurogenesis in the dentate gyrus of adult mice lacking 1,25-dihydroxy vitamin D3 (1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>). **Hippocampus**, v. 22, n. 3, p. 421–433, 2012.



## ANEXO

Review

## Molecular Basis Underlying the Therapeutic Potential of Vitamin D for the Treatment of Depression and Anxiety

 Bruna R. Kouba <sup>1</sup>, Anderson Camargo <sup>1</sup> , Joana Gil-Mohapel <sup>2,3,\*</sup>  and Ana Lúcia S. Rodrigues <sup>1,\*</sup> 

<sup>1</sup> Center of Biological Sciences, Department of Biochemistry, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis 88040-900, SC, Brazil; rkba.bruna@gmail.com (B.R.K.); camargo.andersonc@gmail.com (A.C.)  
<sup>2</sup> Island Medical Program, Faculty of Medicine, University of British Columbia, Victoria, BC V8P 5C2, Canada  
<sup>3</sup> Division of Medical Sciences, University of Victoria, Victoria, BC V8P 5C2, Canada  
 \* Correspondence: jgil@uvic.ca (J.G.-M.); ana.lrodrigues@ufsc.br (A.L.S.R.); Tel.: +1-250-721-6586 (J.G.-M.); +55-(48)-3721-5043 (A.L.S.R.)

**Abstract:** Major depressive disorder and anxiety disorders are common and disabling conditions that affect millions of people worldwide. Despite being different disorders, symptoms of depression and anxiety frequently overlap in individuals, making them difficult to diagnose and treat adequately. Therefore, compounds capable of exerting beneficial effects against both disorders are of special interest. Noteworthy, vitamin D deficiency has been associated with an increased risk of developing depression and anxiety, and individuals with these psychiatric conditions have low serum levels of this vitamin. Indeed, in the last few years, vitamin D has gained attention for its many functions that go beyond its effects on calcium–phosphorus metabolism. Particularly, antioxidant, anti-inflammatory, pro-neurogenic, and neuromodulatory properties seem to contribute to its antidepressant and anxiolytic effects. Therefore, in this review, we highlight the main mechanisms that may underlie the potential antidepressant and anxiolytic effects of vitamin D. In addition, we discuss preclinical and clinical studies that support the therapeutic potential of this vitamin for the management of these disorders.

**Keywords:** anti-inflammatory effect; anxiety; depression; neuromodulator; pro-neurogenic effect; vitamin D



**Citation:** Kouba, B.R.; Camargo, A.; Gil-Mohapel, J.; Rodrigues, A.L.S. Molecular Basis Underlying the Therapeutic Potential of Vitamin D for the Treatment of Depression and Anxiety. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 7077. <https://doi.org/10.3390/ijms23137077>

Academic Editors: Irena Nalepa and Agnieszka Zelek-Molik

Received: 31 May 2022

Accepted: 24 June 2022

Published: 25 June 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### 1. Introduction

Major depressive disorder (MDD) and anxiety disorders, which in this review will be referred to as depression and anxiety, are devastating and highly prevalent clinical entities that constitute one of the leading causes of disability worldwide [1,2]. These disorders often occur concomitantly and their symptoms frequently overlap in individuals, and patients with these two comorbidities often present with a higher severity and duration of symptoms [3]. Therefore, the diagnosis and treatment of these disorders remain a challenge in the clinical setting [1,4]. Despite being different disorders, the etiology of depression and anxiety involves similar factors, such as genetic predispositions, environmental aspects, and several biological mechanisms [1,2,5]. Among the main biological mechanisms implicated in the pathophysiology of these disorders, compelling evidence has pointed to neuroinflammation as a key factor in the onset and progression of these disorders [6]. Notably, other biological mechanisms that have been implicated in depression and anxiety, such as gut dysbiosis, impaired neurogenesis, and monoaminergic dysfunction, may be triggered by a neuroinflammatory process, opening new perspectives for studying molecular targets and neuroprotective agents against these mood disturbances [4,7–9]. In this regard, in recent years, vitamin D has gained prominence due to its antioxidant, anti-inflammatory, pro-neurogenic, and neuromodulatory properties that appear to be fundamental to its antidepressant and anxiolytic effects [10–13]. Given this background,

in this review, we highlight the main mechanisms that may underlie the potential antidepressant and anxiolytic effects of vitamin D. In addition, we discuss preclinical and clinical studies that support the therapeutic potential of this vitamin for the management of these mood disorders.

## 2. Literature Data Searching

This review presents a mechanistic overview of the clinical and preclinical research regarding the effects of vitamin D on depression and anxiety. The search included original manuscripts and contemporary reviews published in English, assessed by specific search terms in the title or abstract of the manuscripts available through PubMed. The search terms used were “vitamin D”, “calcitriol”, “cholecalciferol”, “calcidiol”, “anxiety”, “depression”, “major depressive disorder”, “neuroinflammation”, “inflammation”, “neurogenesis”, and “monoaminergic system”. We performed a specific screening of the clinical and preclinical studies that investigated the role of vitamin D in anxiety and depression. To review the molecular basis underlying the therapeutic potential of vitamin D for the treatment of depression and anxiety, we selected preclinical and clinical studies published over a 28-year period (1994 to 2022).

## 3. Neuroinflammation as a Key Pathophysiological Mechanism Related to Mood Disorders

Neuroinflammation is a complex process that comprises a defense mechanism in the central nervous system (CNS), protecting and restoring the structure and function of the brain against infection and injury, through the modulation of neurogenesis, axonal regeneration, and remyelination of neural cells [14]. However, chronic and exacerbated inflammatory responses can produce harmful effects in the brain. These inflammatory processes may involve inflammation-related signaling molecules, microbiota, as well as immune and brain cells [7,15].

Microglia, nervous-system-specific immune cells, are of special interest to neuroinflammatory responses. Under normal conditions, microglia assume a phenotype defined by a ramified morphology and highly motile processes for constant monitoring of the brain parenchyma (M2 phenotype). After an insult, promoted by pathogen-associated molecular patterns and/or damage-associated molecular patterns that interact with pattern recognition receptors (PRRs), such as Toll-like receptors (TLRs), microglia retract their processes and adopt an amoeboid form (M1 phenotype) [16–19]. In addition to morphological changes, the binding of these molecular patterns to these receptors induces the priming of NLRP3 [nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-, leucine-rich repeats (LRR)- and pyrin domain-containing protein 3] and pro-interleukin (IL)-1 $\beta$  expression via nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) and myeloid differentiation primary response 88 (Myd88) pathways [17,20,21]. Noteworthy, the expression of NLRP3 may be inhibited under certain conditions, particularly upon activation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), the main regulator of the antioxidant response [22,23]. Subsequently, different stimuli capable of promoting mitochondrial dysfunction, calcium and potassium ion flux, reactive oxygen species (ROS) production, and lysosomal damage activate the NLRP3 inflammasome, promoting the autoproteolytic activation of pro-caspase-1 [20]. Caspase-1 can subsequently cleave pro-interleukin-1 $\beta$  and pro-interleukin-18 into their active forms, interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and interleukin-18 (IL-18), respectively [17,24]. In addition, activation of NLRP3 can lead to gasdermin D-mediated formation of membrane pores and subsequently pyroptosis [17].

Mediators released by activated microglia induce astrocyte polarization [25]. This polarization contributes to the impairment of signaling pathways that play a crucial role in neuronal survival and synaptic plasticity, such as the brain-derived neurotrophic factor (BDNF)/tropomyosin-related kinase B (TrkB) signaling pathway [26]. Chronic activation of astrocytes also results in increased levels of chemokines, such as chemokine ligand 2, which interact with peripheral immune cell receptors to induce infiltration of macrophages

and monocytes from the circulation into the CNS and resulting in increased blood–brain barrier permeability [27,28].

Interestingly, neuroinflammatory-process-derived pro-inflammatory cytokines, such as interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), cause an increase in the activity of the enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase in astrocytes, microglia, and inflammatory cells. The activation of this enzyme increases the formation of quinolinic acid, an *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor agonist, through the kynurenine pathway, contributing to glutamatergic system disturbance and compromising the synthesis of serotonin by depleting tryptophan [8,29–31]. Within this scenario, it is worth noting that more than 90% of the body's serotonin is produced in the gut, particularly by enterochromaffin cells, and alterations in the intestinal microbiota triggered by inflammatory processes have been shown to directly compromise the synthesis of this monoamine [32,33]. Indeed, it is important to note that changes in gut microbiota have been reported to impair the efficacy of antidepressants, such as fluoxetine [34].

In summary, neuroinflammation results from intrinsic communication among peripheral immune cells, gut microbiota, and immune cells present in the brain, and these interactions culminate in glutamatergic dysregulation, as well as reduced synaptic plasticity and monoamine synthesis. Together, these factors contribute to the atrophy and neuronal loss seen in patients with chronic depression and anxiety disorders [35]. In this regard, compounds with anti-inflammatory, pro-neurogenic, and neuromodulatory properties, such as vitamin D, are of special interest for the treatment of these mood disorders.

#### 4. Metabolism and Biological Functions of Vitamin D

Vitamin D is a steroid hormone that can be obtained from the diet in two forms: (i) vitamin D<sub>2</sub> (ergocalciferol) found in yeast, mushrooms, as well as plants, and (ii) vitamin D<sub>3</sub> (cholecalciferol) found in foods of animal origin, such as cod liver oil and oily fish [36]. However, the main source of vitamin D is cholecalciferol synthesized endogenously through solar ultraviolet B (UVB) radiation at wavelengths of 290–315 nm [36,37]. Through this process, UVB photons penetrate into the dermis and are absorbed by 7-dehydrocholesterol, which is then converted into previtamin D<sub>3</sub> [37]. Previtamin D<sub>3</sub> subsequently isomerizes into vitamin D<sub>3</sub>, which is then transported in the circulation by vitamin D-binding protein (DBP) [37]. In the liver, vitamin D<sub>3</sub> is hydroxylated at C-25 by 25-hydroxylase, mainly by cytochrome P450 Family 2 Subfamily R Member 1 (CYP2R1), to produce 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>) [38,39]. Following this, 25(OH)D<sub>3</sub> can be stored or can undergo a second hydroxylation in the kidneys by 25-hydroxyvitamin D-1 $\alpha$ -hydroxylase (Cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1; CYP27B1), forming its biologically active form, 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), also known as calcitriol [40]. It is estimated that humans can synthesize quantities equivalent to the oral intake of 20,000 IU of this vitamin [38].

Vitamin D is widely known to play critical roles in calcium–phosphorus metabolism, acting in the maintenance of bone homeostasis [38]. In addition, vitamin D also exerts pleiotropic functions that have gained increased attention in the last few years [41]. These biological actions of calcitriol are mediated by vitamin D receptors (VDRs) [42]. The interaction between calcitriol and VDR allows other transcription factors, such as the retinoid X receptor (RXR), to interact with this complex, forming a heterodimer [42]. This heterodimer can then bind to vitamin D-responsive elements (VDREs), and by recruiting complexes of either co-activators or co-repressors, it can modulate gene expression [42,43]. It is estimated that 200 to 2000 genes are modulated directly or indirectly by vitamin D [42]. Due to the numerous biological actions mediated by vitamin D, the measurement of its serum concentration becomes indispensable. In this regard, the Endocrine Society's Clinical Practice Guideline defines vitamin D deficiency as values <20 ng/mL; insufficiency between 21–29 ng/mL; and sufficiency between 30–100 ng/mL [36,40]. However, reference values for vitamin D remain a matter of debate [44].



#### 4.1. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Vitamin D

Neurons and glial cells express VDR and vitamin D-metabolizing enzymes in various regions, such as the prefrontal cortex and hippocampus, suggesting a possible role for vitamin D in depression and anxiety disorders [45]. In line with this, several studies have suggested an inverse association between serum vitamin D levels and symptoms related to depression and anxiety [46–48]. In addition to glial cells, VDRs and CYP27B1 are also expressed in several other immune cells, such as CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells, B cells, macrophages, neutrophils, and dendritic cells [49]. Notably, it has been shown that calcitriol is capable of modulating innate and adaptive immune responses [49]. Furthermore, the positive modulation of antioxidant enzymes by calcitriol is known to contribute to redox homeostasis and, consequently, to the attenuation of the neuroinflammatory process [50,51]. For example, calcitriol has been shown to inhibit the synthesis of interleukin-6 (IL-6), TNF- $\alpha$ , and nitric oxide (NO) by activated microglia [12]. Likewise, it has been shown to decrease the expression of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and inducible nitric oxide synthase (iNOS), the enzyme responsible for the synthesis of NO under inflammatory conditions, in the prefrontal cortex of rats [52].

In addition to IL-6 and TNF- $\alpha$ , vitamin D<sub>3</sub> has also been shown to reduce the expression of interleukin-12 (IL-12) and increase the expression of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 (IL-10) [53]. Furthermore, vitamin D was shown to up-regulate the expression of other anti-inflammatory cytokines, including interleukin-14 (IL-14), and transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) [54]. Calcitriol is also capable of up-regulating TLR10 while down-regulating TLR2 and TLR4, reinforcing its role in attenuating microglial activation [55,56].

In this context, it has been reported that vitamin D mitigates the activation of the NLRP3 inflammasome [57,58]. Although a study by Camargo et al. (2020) did not find changes in NLRP3 expression in mice treated for 7 days with cholecalciferol, this treatment reduced the immunocontent of other inflammasome-related proteins, including ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain), TXNIP (thioredoxin interacting protein), and caspase-1 in the hippocampus of mice. However, Xin et al. (2019) showed that calcitriol attenuated NLRP3 expression by inhibiting the NF- $\kappa$ B pathway in human bronchial epithelial cells. Likewise, treatment with a VDR agonist (paricalcitol) was able to attenuate the expression of NLRP3, gasdermin D, caspase-1, and IL-1 $\beta$ , proteins related to the NF- $\kappa$ B-mediated pyroptosis process in cisplatin-induced acute kidney injury models [59]. One of the possible mechanisms by which vitamin D may reduce the activation of NF- $\kappa$ B is by up-regulating the NF- $\kappa$ B inhibitor I $\kappa$ B $\alpha$  (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha) [60]. In addition, it has been reported that VDR can bind NLRP3, inhibiting the activation of this complex [61,62].

Calcitriol is also able of suppressing NLRP1 inflammasome activation by up-regulating the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway [50]. Indeed, the ability of calcitriol to activate Nrf2 signaling seems to be directly associated with its neuroprotective properties [63]. Once activated, Nrf2 promotes the transcription of several antioxidant enzymes [64]. In line with this, studies have shown that vitamin D is able to induce the expression of heme oxygenase-1 (HO-1), catalase, superoxide dismutase (SOD), and glutamate-cysteine ligase (the rate-limiting enzyme in the synthesis of glutathione, an endogenous antioxidant), thereby inhibiting ROS accumulation in the brain [51,65–67].

#### 4.2. Pro-Neurogenic and Neuromodulatory Properties of Vitamin D

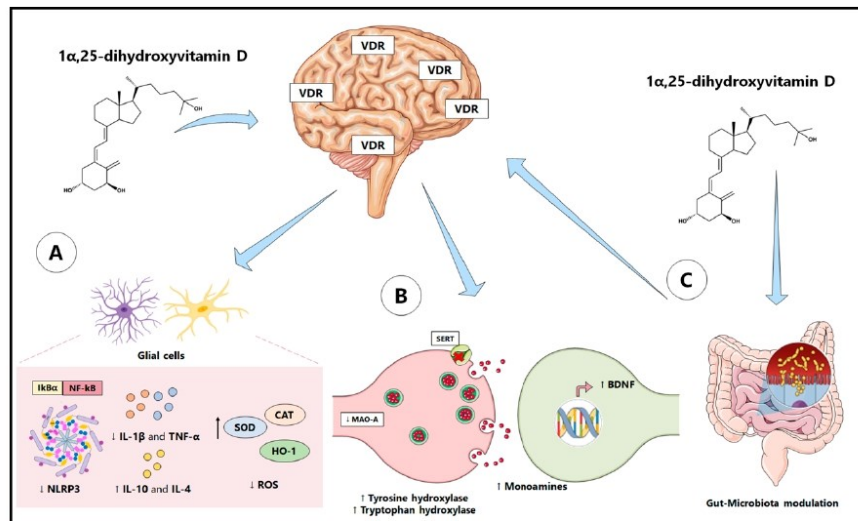
Vitamin D deficiency during pregnancy has been demonstrated to directly affect brain development in the offspring [68–70]. Vitamin D-deficient offspring exhibit a thinner cortex, reduced expression of genes and proteins related to cytoskeleton maintenance, synaptic plasticity, neurotransmission, cell proliferation, and growth, as well as decreased levels of nerve growth factor (NGF) [70–73]. Although no alterations in BDNF and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) levels were found in vitamin D-deficient offspring, different lines of evidence have shown that this vitamin is effective in inducing

the synthesis of these neurotrophins [74,75]. In addition, vitamin D also participates in the synthesis of the neurotrophin NT-3, a key regulator of survival, growth, and differentiation of neurons [76,77].

Indeed, neurotrophins bind to receptor tyrosine kinases (Trk), which, in turn, contribute to promoting the survival and growth of neurons as well as synaptogenesis [78]. In this regard, a study by Atif et al. showed that a combined treatment with progesterone and vitamin D was effective in activating the BDNF/TrkB signaling pathway [79]. Although this study did not explore the mechanisms underlying this, it is known that activated TrkB can phosphorylate and activate the mammalian target of rapamycin (mTOR), resulting in the translation of synaptic proteins, including postsynaptic density protein-95 kDa (PSD-95), glutamate  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptor subunit 1 (GluA1), and synapsin [80,81]. Noteworthy, synapsins can increase neurotransmitter release in the synaptic cleft [82]. Interestingly, vitamin D supplementation has been shown to promote an increase in serum serotonin in individuals suffering from depression [83] as well as serum dopamine levels in children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) [84]. Within this scenario, it has been shown that vitamin D can directly increase the biosynthesis of monoamines by augmenting the expression of the enzymes tyrosine hydroxylase and tryptophan hydroxylase, which mediate the synthesis of dopamine/noradrenaline and serotonin, respectively, particularly in the prefrontal cortex [85]. In addition, VDR overexpression has been shown to increase dopaminergic neuron differentiation, and consequently, dopamine production [86]. Moreover, Morello et al. (2018) showed that calcitriol can cause neuronal proliferation in primary cultures of murine neural progenitor cells and improve neurogenesis in transgenic Alzheimer's disease (AD)-like mice [5XFAD model, which expresses human amyloid precursor protein (APP) and presenilin 1 (PSEN1) transgenes with a total of five AD-linked mutations: the Swedish (K670N/M671L), Florida (I716V), and London (V717I) mutations in APP, and the M146L and L286V mutations in PSEN1). Finally, calcitriol was also able to inhibit serotonin reuptake transport and the expression of the monoamine oxidase-A (MAO-A) gene, suggesting that this vitamin and antidepressants may share common mechanisms of action [87].

#### 4.3. Vitamin D: Modulation of Gut Microbiota

The immunological and neuromodulatory role of vitamin D occurs, in part, through its interaction with the gut microbiota [88]. Indeed, serum vitamin D concentration may contribute to changes in the composition of gut microbiota. Furthermore, vitamin D deficiency, VDR, or CYP27B1 depletion have been shown to result in an increase in the Bacteroidetes and Proteobacteria phyla, triggering epithelial barrier dysfunction and intestinal inflammation [89,90]. Interestingly, VDR has been shown to negatively regulate bacteria-induced intestinal NF- $\kappa$ B activation, attenuating inflammatory responses. Therefore, VDR is an important contributor to intestinal homeostasis and bacterial infection protection [91]. The main neuromodulatory, anti-inflammatory, and antioxidant properties of vitamin D are illustrated in Figure 1.



**Figure 1.** Antioxidant, anti-inflammatory, and neuromodulatory properties of vitamin D. Neurons and glial cells are able to express VDR in regions such as the prefrontal cortex and hippocampus. In these regions, the positive modulation of antioxidant enzymes, such as HO-1, CAT, and SOD, by calcitriol contributes to redox homeostasis and, consequently, to the attenuation of the neuroinflammatory process. Calcitriol is also able to increase the expression of IκBα, thus, inhibiting the nuclear translocation of NF-κB. As a consequence, less synthesis, oligomerization, and activation of the NLRP3 inflammasome occurs, resulting in attenuation of pro-inflammatory cytokines (such as IL-1β and TNF-α) and an increase in anti-inflammatory cytokines (such as IL-10 and IL-4) (A). In addition, vitamin D has also been shown to modulate the intestinal microbiota (C). Finally, vitamin D actively regulates the synthesis of monoamines and BDNF, thus, favoring the process of synaptic plasticity (B). Abbreviations: ↓: decreased; ↑: increased; BDNF: brain-derived neurotrophic factor; CAT: catalase; HO-1: heme oxygenase-1; IL-1β: interleukin-1β; IL-4: interleukin-4; IL-10: interleukin-10; IκBα: nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha; MAO: monoamine oxidase; NF-κB: nuclear factor kappa B; NLRP3: NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3; ROS: reactive oxygen species; SERT: serotonin transporters; SOD: superoxide dismutase; TNF-α: tumor necrosis factor-alpha; VDR: vitamin D receptor.

### 5. Preclinical Studies: Effects of Vitamin D in Models of Depression and Anxiety

In recent years, several preclinical studies have been conducted to investigate the possible antidepressant and anxiolytic effects of vitamin D (Table 1).

Of note, chronic administration of cholecalciferol [5 mg/kg for 14 days; subcutaneous (s.c.) administration] elicited an antidepressant-like effect in the forced swim test in ovariectomized Wistar rats [92]. In addition, cholecalciferol supplementation (5 mg/kg for 14 days; s.c.) was capable of attenuating anxiety-like behaviors in the elevated plus-maze and the light–dark box tests in ovariectomized Wistar rats [10,93]. Based on these findings, further studies have been conducted to better understand the mechanisms underlying the anxiolytic and antidepressant effects of vitamin D in animal models [94,98].

Camargo et al. (2018) reported that cholecalciferol [2.5 μg/kg, orally by mouth (p.o.)], administered once a day in the last 7 days of chronic corticosterone administration (20 mg/kg, p.o., for 21 days), exerted an antidepressant-like effect in male mice subjected to the splash test and tail suspension test. Additionally, in this study, cholecalciferol treatment attenuated the increase in protein carbonyl and nitrite levels induced by corticosterone in the brain, suggesting that vitamin D<sub>3</sub> has an antidepressant-like effect by, in part, modulat-



ing oxidative stress [94]. The administration of cholecalciferol (100 IU/kg, p.o.) for 7 days also abolished the depressive-like behavior in the tail suspension test induced by chronic corticosterone administration in female mice [95]. In this study, a significant decrease in ROS production in the hippocampus was observed after treatment with cholecalciferol, both in control and corticosterone-exposed mice, reinforcing the notion that the antidepressant-like effect of this vitamin may involve the modulation of oxidative stress [95]. More recently, a study by Neis et al. (2022) showed that repeated administration of cholecalciferol for 7 days (2.5 µg/kg, p.o.) abolished chronic unpredictable stress-induced depressive-like behavior in the tail suspension test, as well as a reduction in serotonin levels in the prefrontal cortex of female mice. Moreover, reinforcing the involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of cholecalciferol, in this study, the administration of the serotonin synthesis inhibitor *p*-chlorophenylalanine methyl ester was effective in abolishing the reduction in immobility time in the tail suspension test elicited by cholecalciferol [96].

**Table 1.** Preclinical studies on effects of vitamin D in models of depression and anxiety.

Study	Animal Model	Treatment	Behavioral Alterations	Biochemical Alterations
Fedotova et al., 2016 [92]	Ovariectomized Wistar rats	Cholecalciferol (5 mg/kg for 14 days; s.c.)	Antidepressant-like effect in the FST	Not evaluated
Fedotova et al., 2017 [10]	Ovariectomized Wistar rats	Cholecalciferol (5 mg/kg for 14 days; s.c.)	Anxiolytic-like effect in EPM and LDT	Not evaluated
Fedotova 2019 [93]	Ovariectomized Wistar rats	Cholecalciferol (5 mg/kg for 14 days; s.c.)	Anxiolytic-like effect in EPM and LDT	Not evaluated
Camargo et al., 2018 [94]	Corticosterone (21 days) in male Swiss mice	Cholecalciferol (2.5 µg/kg, for 7 days; p.o.)	Antidepressant-like effect in the splash test and TST	↓ Protein carbonyl and nitrite levels
da Silva Souza et al., 2020 [95]	Corticosterone (21 days) in female Swiss mice	Cholecalciferol (100 IU/kg, p.o.) for 7 days	Antidepressant-like effect in the TST	↓ ROS
Camargo et al., 2020 [57]	Corticosterone (21 days) in male Swiss mice	Cholecalciferol (2.5 µg/kg, p.o.) for 7 days	Antidepressant-like effect in the TST and splash test	↓ ASC, caspase-1, and TXNIP
Neis et al., 2022 [96]	CUMS in female Swiss mice	Cholecalciferol (2.5 µg/kg, p.o.) for 7 days	Antidepressant-like effect in the TST	↑ serotonin levels in the prefrontal cortex
Zhang et al., 2020 [97]	Ovariectomized female Sprague-Dawley rats	Calcitriol (100 ng/kg, p.o.) for 10 weeks	Antidepressant-like effect in the FST and novelty-suppressed feeding test	↓ IL-1β, IL-6, and TNF-α, iNOS and COX-2
Bakhtiani-Dovvombaygi et al., 2021 [98]	CUMS in male Wistar rats	Vitamin D <sub>3</sub> (10,000 IU/kg) for 28 days	Anxiolytic and antidepressant-like effect in EPM and FST	↓ Malondialdehyde and IL-6 ↑ Total thiols, SOD, and CAT
Jiang et al., 2013 [99]	CUMS (4 weeks) in male Sprague-Dawley rats	Without treatment	Depressive-like behavior in sucrose preference test	↑ 1,25(OH) <sub>2</sub> D and VDR
Koshkina et al., 2019 [76]	CUMS in ovariectomized Wistar rat	Vitamin D <sub>3</sub> (5 mg/kg for 4 weeks; s.c.)	Antidepressant-like effect in FST and sucrose preference test	↑ BDNF and NT-3/NT-4
Xu and Liang 2021 [75]	post-stroke depression model (male C57BL/6 mice)	Calcitriol (25 µg/kg/day for 4 weeks; i.c.v.)	Antidepressant-like effect in FST and sucrose preference test	↑ VDR and BDNF

↓ decreased; ↑ increased; ASC: apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (CARD); BDNF: brain-derived neurotrophic factor; CAT: catalase; COX-2: cyclooxygenase-2; CUMS: chronic unpredictable mild stress; EPM: elevated plus maze; FST: forced swimming test; i.c.v.: intracerebroventricular; IL-1β: interleukin-1β; IL-6: interleukin-6; iNOS: inducible nitric oxide synthase; LDT: light-dark box test; p.o.: by mouth (orally); ROS, reactive oxygen species; s.c.: subcutaneous; SOD: superoxide dismutase; TNF-α: tumor necrosis factor-alpha; TST: tail suspension test; TXNIP: thioredoxin-interacting protein; VDR: vitamin D receptor.

The repeated administration of a low dose of cholecalciferol (2.5 µg/kg, p.o.) also caused an antidepressant-like effect and was effective in reducing the immuncontent of proteins that form the NLRP3 inflammasome, such as ASC [apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (CARD)], caspase-1, and thioredoxin-interacting protein (TXNIP) in the hippocampus of male mice [57]. Calcitriol treatment (100 ng/kg, p.o.) for 10 weeks in ovariectomized female Sprague-Dawley rats was also effective in producing neuroprotective effects by regulating the adenosine monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK)/NF-κB signaling pathway. Moreover, calcitriol treatment reduced the pro-inflammatory cytokines IL-1β, IL-6, and TNF-α, as well as iNOS

and cyclooxygenase-2 (COX-2) levels in the hippocampus [97]. This suggests that the modulation of the NLRP3 inflammasome-driven pathway may underlie, at least in part, the antidepressant-like effect of this vitamin.

More recently, Bakhtiari-Dovvombaygi et al. (2021) also reported that the anti-inflammatory and antioxidant effects displayed by pretreatment with vitamin D<sub>3</sub> (10,000 IU/kg for 28 days) in male rats underlie the ability of this vitamin to abrogate anxiety- and depressive-like behaviors induced by chronic unpredictable mild stress (CUMS) in the elevated plus-maze and forced swimming test. Indeed, these protective effects of vitamin D were accompanied by a decrease in cortical malondialdehyde and IL-6 levels, as well as an increase in total thiol levels and enhanced SOD and catalase activity [98]. Interestingly, another study observed that following 4 weeks of CUMS, the occurrence of depressive-like behaviors was associated with an increase in 1,25(OH)<sub>2</sub>D and VDR expression in the hippocampus of rats, suggesting a compensatory mechanism, by which vitamin D may protect against the development of depressive-like behaviors [99].

In addition to attenuating depressive- and anxiety-like behaviors through its anti-inflammatory and antioxidant properties, the modulation of neurotrophic factors has also been shown to contribute to the protective properties of vitamin D [76]. Xu et al. used male C57BL/6 mice to show that calcitriol (25 µg/kg/day for 4 weeks; i.c.v.) is effective in acting as an antidepressant in a post-stroke depression model by up-regulating VDR and BDNF expression [75]. In an ovariectomized Wistar rat model of depression induced by CUMS, vitamin D<sub>3</sub> (5 mg/kg for 4 weeks; s.c.) treatment was able to reverse depression-like behaviors in the sucrose preference test and the forced swimming test by increasing BDNF and NT-3/NT-4 levels in the hippocampus [76]. Although these studies showed that vitamin D supplementation results in an increase in pro-neurogenic neurotrophins, such as BDNF, Groves et al. observed that vitamin D deficiency in BALB/c mice was associated with depressive-like behaviors without compromising hippocampal neurogenesis [100]. Therefore, further studies are needed to elucidate whether neurogenesis is critical for the anxiolytic and antidepressant effects of this vitamin.

## 6. Clinical Studies: Effects of Vitamin D in Depression and Anxiety

Several studies have reported that vitamin D supplementation improves symptoms of depression and anxiety associated with various medical conditions, including type II diabetes, Crohn's disease, ulcerative colitis, and obesity [101–105].

However, the potential therapeutic effects of vitamin D in individuals primarily diagnosed with depression or anxiety remain controversial. For example, vitamin D supplementation (1600 IU for 6 months) was shown to significantly improve anxiety symptoms, but not depressive symptoms, in patients with vitamin D deficiency [106]. Likewise, supplementation with 2800 IU of vitamin D in patients with depression did not promote a significant reduction in Hamilton D-17 scores [107]. On the other hand, supplementation with 50,000 IU of vitamin D for 2 weeks was able to improve depression severity, as assessed with the Beck Depression Inventory-II (BDI-II), although no changes in serotonin levels were detected [108]. However, in another study, cholecalciferol treatment (50,000 IU for 3 months) significantly increased serum serotonin levels, while decreasing BDI scores in women with moderate, severe, and extreme depression. Interestingly, among men, an improvement in the severity of depressive symptoms with vitamin D supplementation was only observed in those diagnosed with severe depression [83]. Beneficial effects of vitamin D (50,000 IU for 8 weeks) supplementation have also been observed in older adults (over 60 years of age) with depression [109]. However, lower doses of vitamin D (400 IU daily for 2 years) were not able to improve depressive symptoms [110]. Finally, a single dose of vitamin D (300,000 IU) was reported as an effective and safe intervention in MDD with concurrent vitamin D deficiency [111,112]. In patients with depression, the daily administration of 1500 IU vitamin D<sub>3</sub> plus 20 mg fluoxetine for 8 weeks was superior to fluoxetine alone [113]. Another study reported that vitamin D supplementation (50,000 IU once/week for 3 months) in combination with standard of care improved the



severity of anxiety in individuals diagnosed with Generalized Anxiety Disorder by increasing serotonin concentrations and decreasing the levels of the inflammatory biomarker neopterin [114]. Overall, although there is compelling clinical evidence pointing to the benefits of vitamin D for the management of depression and anxiety, it is important to note that divergent results have also been obtained [46]. Multiple factors may contribute to these discrepant results, including differences in the doses of vitamin D used, treatment time, serum 25-hydroxyvitamin D levels at baseline, nutritional condition at the onset of the treatment, age and sex of the individuals, as well as the presence of comorbidities that may influence the efficacy of vitamin D supplementation. Additionally, the heterogeneity observed in clinical studies may also be associated with genetic polymorphisms that may affect vitamin D efficacy [115–117].

## 7. Conclusions and Future Directions

In this review, we discussed the main evidence underlining the therapeutic potential of vitamin D in the management of depression and anxiety disorders. Of particular relevance, compelling evidence suggests that vitamin D possesses antioxidant, anti-inflammatory, pro-neurogenic, and neuromodulatory properties, and, thus, may act in a similar manner to classic antidepressants. In support, several preclinical studies have shown the beneficial effects of vitamin D supplementation in animal models of these mood disorders. Given this, some studies have investigated the possible synergistic or additive beneficial effects of vitamin D and current pharmacotherapy for the management of anxiety and depression. However, the clinical studies that assess the efficacy of vitamin D supplementation in the treatment of depression and anxiety are still scarce and their results are, at times, controversial. The discrepant results from clinical trials call for the need to conduct future studies, so as to establish a protocol for vitamin D supplementation that is effective in preventing or attenuating depressive and anxiety symptoms. Therefore, appropriately randomized clinical trials assessing the potential of vitamin D as co-adjuvant for the treatment of these mood disorders are warranted, so as to ascertain the true therapeutic value of this vitamin in the context of depression and anxiety.

**Author Contributions:** B.R.K.: conceptualization and writing of original manuscript draft. A.C.: writing of original manuscript draft. J.G.-M.: review and editing of the manuscript and funding acquisition for manuscript publication. A.L.S.R.: conceptualization, supervision, review and editing of the manuscript, and funding acquisition. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** The authors acknowledge funding from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; #421143/2018-5 and #312215/2021-5) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). J.G.M. acknowledges funding from the University of Victoria (UVic, Victoria, BC, Canada)—São Paulo Research Foundation (FAPESP, São Paulo, SP, Brazil) SPRINT partnership (UVic-FAPESP SPRINT 1/2018 Grant). A.L.S.R. is CNPq Research Fellow.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Craske, M.G.; Stein, M.B.; Eley, T.C.; Milad, M.R.; Holmes, A.; Rapee, R.M.; Wittchen, H.U. Anxiety Disorders. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2017**, *3*, 17024. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Otte, C.; Gold, S.M.; Penninx, B.W.; Pariante, C.M.; Etkin, A.; Fava, M.; Mohr, D.C.; Schatzberg, A.F. Major Depressive Disorder. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2016**, *2*, 16065. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Lamers, F.; Van Oppen, P.; Comijs, H.C.; Smit, J.H.; Spinhoven, P.; van Balkom, A.J.L.M.; Nolen, W.A.; Zitman, F.G.; Beekman, A.T.F.; Penninx, B.W.J.H. Comorbidity Patterns of Anxiety and Depressive Disorders in a Large Cohort Study: The Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *J. Clin. Psychiatry* **2011**, *72*, 341–348. [[CrossRef](#)]
4. Malhi, G.S.; Mann, J.J. Depression. *Lancet* **2018**, *392*, 2299–2312. [[CrossRef](#)]

5. Schiele, M.A.; Domschke, K. Epigenetics at the Crossroads between Genes, Environment and Resilience in Anxiety Disorders: Epigenetics in Anxiety Disorders. *Genes Brain Behav.* **2018**, *17*, e12423. [[CrossRef](#)]
6. De Haan, P.; Klein, H.C.; 't Hart, B.A. Autoimmune Aspects of Neurodegenerative and Psychiatric Diseases: A Template for Innovative Therapy. *Front. Psychiatry* **2017**, *8*, 46. [[CrossRef](#)]
7. Carlessi, A.S.; Borba, L.A.; Zugno, A.I.; Quevedo, J.; Réus, G.Z. Gut Microbiota-Brain Axis in Depression: The Role of Neuroinflammation. *Eur. J. Neurosci.* **2021**, *53*, 222–235. [[CrossRef](#)]
8. Kim, Y.K.; Jeon, S.W. Neuroinflammation and the Immune-Kynurenine Pathway in Anxiety Disorders. *Curr. Neuropharmacol.* **2018**, *16*, 574–582. [[CrossRef](#)]
9. Stevens, B.R.; Goel, R.; Seungbum, K.; Richards, E.M.; Holbert, R.C.; Pepine, C.J.; Raizada, M.K. Increased Human Intestinal Barrier Permeability Plasma Biomarkers Zonulin and FABP2 Correlated with Plasma LPS and Altered Gut Microbiome in Anxiety or Depression. *Gut* **2018**, *67*, 1555–1557. [[CrossRef](#)]
10. Fedotova, J.; Zarembo, D.; Dragasek, J.; Caprnda, M.; Kruzliak, P.; Dudnichenko, T. Modulating Effects of Cholecalciferol Treatment on Estrogen Deficiency-Induced Anxiety-Like Behavior of Adult Female Rats. *Folia Med.* **2017**, *59*, 139–158. [[CrossRef](#)]
11. Khairy, E.Y.; Attia, M.M. Protective Effects of Vitamin D on Neurophysiologic Alterations in Brain Aging: Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). *Nutr. Neurosci.* **2021**, *24*, 650–659. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Lefebvre d'Hellencourt, C.; Montero-Menei, C.N.; Bernard, R.; Couez, D. Vitamin D3 Inhibits Proinflammatory Cytokines and Nitric Oxide Production by the EOC13 Microglial Cell Line. *J. Neurosci. Res.* **2003**, *71*, 575–582. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Morello, M.; Landel, V.; Lacassagne, E.; Baranger, K.; Annweiler, C.; Féron, F.; Millet, P. Vitamin D Improves Neurogenesis and Cognition in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Mol. Neurobiol.* **2018**, *55*, 6463–6479. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Yong, H.Y.F.; Rawji, K.S.; Ghorbani, S.; Xue, M.; Yong, V.W. The Benefits of Neuroinflammation for the Repair of the Injured Central Nervous System. *Cell. Mol. Immunol.* **2019**, *16*, 540–546. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Fullerton, J.N.; Gilroy, D.W. Resolution of Inflammation: A New Therapeutic Frontier. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2016**, *15*, 551–567. [[CrossRef](#)]
16. Barton, G.M. A Calculated Response: Control of Inflammation by the Innate Immune System. *J. Clin. Investig.* **2008**, *118*, 413–420. [[CrossRef](#)]
17. Herman, F.J.; Pasinetti, G.M. Principles of Inflammasome Priming and Inhibition: Implications for Psychiatric Disorders. *Brain. Behav. Immun.* **2018**, *73*, 66–84. [[CrossRef](#)]
18. Orihuela, R.; McPherson, C.A.; Harry, G.J. Microglial M1/M2 Polarization and Metabolic States: Microglia Bioenergetics with Acute Polarization. *Br. J. Pharmacol.* **2016**, *173*, 649–665. [[CrossRef](#)]
19. Rudzki, L.; Maes, M. The Microbiota-Gut-Immune-Glia (MGIG) Axis in Major Depression. *Mol. Neurobiol.* **2020**, *57*, 4269–4295. [[CrossRef](#)]
20. Kelley, N.; Jeltema, D.; Duan, Y.; He, Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 3328. [[CrossRef](#)]
21. Song, N.; Li, T. Regulation of NLRP3 Inflammasome by Phosphorylation. *Front. Immunol.* **2018**, *9*, 2305. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Liu, X.; Zhang, X.; Ding, Y.; Zhou, W.; Tao, L.; Lu, P.; Wang, Y.; Hu, R. Nuclear Factor E2-Related Factor-2 Negatively Regulates NLRP3 Inflammasome Activity by Inhibiting Reactive Oxygen Species-Induced NLRP3 Priming. *Antioxid. Redox Signal.* **2017**, *26*, 28–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Xu, X.; Zhang, L.; Ye, X.; Hao, Q.; Zhang, T.; Cui, G.; Yu, M. Nrf2/ARE Pathway Inhibits ROS-Induced NLRP3 Inflammasome Activation in BV2 Cells after Cerebral Ischemia Reperfusion. *Inflamm. Res.* **2018**, *67*, 57–65. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Sutterwala, F.S.; Haasken, S.; Cassel, S.L. Mechanism of NLRP3 Inflammasome Activation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2014**, *1319*, 82–95. [[CrossRef](#)]
25. Liddelow, S.A.; Guttenplan, K.A.; Clarke, L.E.; Bennett, F.C.; Bohlen, C.J.; Schirmer, L.; Bennett, M.L.; Münch, A.E.; Chung, W.S.; Peterson, T.C.; et al. Neurotoxic Reactive Astrocytes Are Induced by Activated Microglia. *Nature* **2017**, *541*, 481–487. [[CrossRef](#)]
26. Tejada, G.; Díaz-Guerra, M. Integral Characterization of Defective BDNF/TrkB Signalling in Neurological and Psychiatric Disorders Leads the Way to New Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 268. [[CrossRef](#)]
27. Farina, C.; Aloisi, F.; Meinl, E. Astrocytes Are Active Players in Cerebral Innate Immunity. *Trends Immunol.* **2007**, *28*, 138–145. [[CrossRef](#)]
28. Troubat, R.; Barone, P.; Leman, S.; Desmidt, T.; Cressant, A.; Atanasova, B.; Brizard, B.; El Hage, W.; Surget, A.; Belzung, C.; et al. Neuroinflammation and Depression: A Review. *Eur. J. Neurosci.* **2021**, *53*, 151–171. [[CrossRef](#)]
29. Bansal, Y.; Singh, R.; Parhar, I.; Kuhad, A.; Soga, T. Quinolinic Acid and Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 in Depression: Role in Neuroprogression. *Front. Pharmacol.* **2019**, *10*, 452. [[CrossRef](#)]
30. Braidy, N.; Grant, R.; Brew, B.J.; Adams, S.; Jayasena, T.; Guillemin, G.J. Effects of Kynurenine Pathway Metabolites on Intracellular NAD<sup>+</sup> Synthesis and Cell Death in Human Primary Astrocytes and Neurons. *Int. J. Tryptophan Res.* **2009**, *2*, 61–69. [[CrossRef](#)]
31. Pierozan, P.; Biasibetti, H.; Schmitz, F.; Ávila, H.; Parisi, M.M.; Barbe-Tuana, F.; Wyse, A.T.S.; Pessoa-Pureur, R. Quinolinic Acid Neurotoxicity: Differential Roles of Astrocytes and Microglia via FGF-2-Mediated Signaling in Redox-Linked Cytoskeletal Changes. *Biochim. Biophys. Acta BBA-Mol. Cell Res.* **2016**, *1863*, 3001–3014. [[CrossRef](#)]
32. Agus, A.; Planchais, J.; Sokol, H. Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. *Cell Host Microbe* **2018**, *23*, 716–724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



33. Chen, L.M.; Bao, C.H.; Wu, Y.; Liang, S.H.; Wang, D.; Wu, L.Y.; Huang, Y.; Liu, H.R.; Wu, H.G. Tryptophan-Kynurenine Metabolism: A Link between the Gut and Brain for Depression in Inflammatory Bowel Disease. *J. Neuroinflammation* **2021**, *18*, 135. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Siopi, E.; Chevalier, G.; Katsimpardi, L.; Saha, S.; Bigot, M.; Moigneu, C.; Eberl, G.; Lledo, P.M. Changes in Gut Microbiota by Chronic Stress Impair the Efficacy of Fluoxetine. *Cell Rep.* **2020**, *30*, 3682–3690.e6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Duman, R.S. Neuronal Damage and Protection in the Pathophysiology and Treatment of Psychiatric Illness: Stress and Depression. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2009**, *11*, 239–255. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Charoenngam, N.; Shirvani, A.; Holick, M.F. Vitamin D for Skeletal and Non-Skeletal Health: What We Should Know. *J. Clin. Orthop. Trauma* **2019**, *10*, 1082–1093. [[CrossRef](#)]
37. Holick, M.F. Vitamin D: A D-Lightful Solution for Health. *J. Investig. Med.* **2011**, *59*, 872–880. [[CrossRef](#)]
38. Holick, M.F. Vitamin D Deficiency. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *357*, 266–281. [[CrossRef](#)]
39. Zhu, J.; DeLuca, H.F. Vitamin D 25-Hydroxylase—Four Decades of Searching, Are We There Yet? *Arch. Biochem. Biophys.* **2012**, *523*, 30–36. [[CrossRef](#)]
40. Hossein-nezhad, A.; Holick, M.F. Vitamin D for Health: A Global Perspective. *Mayo Clin. Proc.* **2013**, *88*, 720–755. [[CrossRef](#)]
41. Christakos, S.; Dhawan, P.; Verstuyf, A.; Verlinden, L.; Carmeliet, G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol. Rev.* **2016**, *96*, 365–408. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Wacker, M.; Holick, M. Vitamin D—Effects on Skeletal and Extraskeletal Health and the Need for Supplementation. *Nutrients* **2013**, *5*, 111–148. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Haussler, M.R.; Whitfield, G.K.; Kaneko, I.; Haussler, C.A.; Hsieh, D.; Hsieh, J.-C.; Jurutka, P.W. Molecular Mechanisms of Vitamin D Action. *Calcif. Tissue Int.* **2013**, *92*, 77–98. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Alshahrani, F.; Aljohani, N. Vitamin D: Deficiency, Sufficiency and Toxicity. *Nutrients* **2013**, *5*, 3605–3616. [[CrossRef](#)]
45. Eyles, D.W.; Smith, S.; Kinobe, R.; Hewison, M.; McGrath, J.J. Distribution of the Vitamin D Receptor and 1 $\alpha$ -Hydroxylase in Human Brain. *J. Chem. Neuroanat.* **2005**, *29*, 21–30. [[CrossRef](#)]
46. Casseb, G.A.S.; Kaster, M.P.; Rodrigues, A.L.S. Potential Role of Vitamin D for the Management of Depression and Anxiety. *CNS Drugs* **2019**, *33*, 619–637. [[CrossRef](#)]
47. Hoogendijk, W.J.G.; Lips, P.; Dik, M.G.; Deeg, D.J.H.; Beekman, A.T.F.; Penninx, B.W.J.H. Depression Is Associated With Decreased 25-Hydroxyvitamin D and Increased Parathyroid Hormone Levels in Older Adults. *Arch. Gen. Psychiatry* **2008**, *65*, 508. [[CrossRef](#)]
48. Pu, D.; Luo, J.; Wang, Y.; Ju, B.; Lv, X.; Fan, P.; He, L. Prevalence of Depression and Anxiety in Rheumatoid Arthritis Patients and Their Associations with Serum Vitamin D Level. *Clin. Rheumatol.* **2018**, *37*, 179–184. [[CrossRef](#)]
49. Baeke, F.; Takiishi, T.; Korf, H.; Gysemans, C.; Mathieu, C. Vitamin D: Modulator of the Immune System. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2010**, *10*, 482–496. [[CrossRef](#)]
50. Nakajo, T.; Katayoshi, T.; Kitajima, N.; Tsuji-Naito, K. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> Attenuates IL-1 $\beta$  Secretion by Suppressing NLRP1 Inflammation Activation by Upregulating the NRF2-HO-1 Pathway in Epidermal Keratinocytes. *Redox Biol.* **2021**, *48*, 102203. [[CrossRef](#)]
51. Yamini, P.; Ray, R.S.; Chopra, K. Vitamin D<sub>3</sub> Attenuates Cognitive Deficits and Neuroinflammatory Responses in ICV-STZ Induced Sporadic Alzheimer's Disease. *Inflammopharmacology* **2018**, *26*, 39–55. [[CrossRef](#)]
52. Cui, C.; Xu, P.; Li, G.; Qiao, Y.; Han, W.; Geng, C.; Liao, D.; Yang, M.; Chen, D.; Jiang, P. Vitamin D Receptor Activation Regulates Microglia Polarization and Oxidative Stress in Spontaneously Hypertensive Rats and Angiotensin II-Exposed Microglial Cells: Role of Renin-Angiotensin System. *Redox Biol.* **2019**, *26*, 101295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Boontanrart, M.; Hall, S.D.; Spanier, J.A.; Hayes, C.E.; Olson, J.K. Vitamin D<sub>3</sub> Alters Microglia Immune Activation by an IL-10 Dependent SOCS3 Mechanism. *J. Neuroimmunol.* **2016**, *292*, 126–136. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Calvello, R.; Cianciulli, A.; Nicolardi, G.; De Nuccio, F.; Giannotti, L.; Salvatore, R.; Porro, C.; Trotta, T.; Panaro, M.A.; Lofrumento, D.D. Vitamin D Treatment Attenuates Neuroinflammation and Dopaminergic Neurodegeneration in an Animal Model of Parkinson's Disease, Shifting M1 to M2 Microglia Responses. *J. Neuroimmune Pharmacol.* **2017**, *12*, 327–339. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Verma, R.; Jung, J.H.; Kim, J.Y. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> up-Regulates TLR10 While down-Regulating TLR2, 4, and 5 in Human Monocyte THP-1. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2014**, *141*, 1–6. [[CrossRef](#)]
56. Verma, R.; Kim, J.Y. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> Facilitates M2 Polarization and Upregulates TLR10 Expression on Human Microglial Cells. *Neuroimmunomodulation* **2016**, *23*, 75–80. [[CrossRef](#)]
57. Camargo, A.; Dalmagro, A.P.; Platt, N.; Rosado, A.F.; Neis, V.B.; Zeni, A.L.B.; Kaster, M.P.; Rodrigues, A.L.S. Cholecalciferol Abolishes Depressive-like Behavior and Hippocampal Glucocorticoid Receptor Impairment Induced by Chronic Corticosterone Administration in Mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2020**, *196*, 172971. [[CrossRef](#)]
58. Xin, L.; Che, B.; Zhai, B.; Luo, Q.; Zhang, C.; Wang, J.; Wang, S.; Fan, G.; Liu, Z.; Feng, J.; et al. 1,25-Dihydroxy Vitamin D<sub>3</sub> Attenuates the Oxidative Stress-Mediated Inflammation Induced by PM2.5 via the P38/NF-KB/NLRP3 Pathway. *Inflammation* **2019**, *42*, 702–713. [[CrossRef](#)]
59. Jiang, S.; Zhang, H.; Li, X.; Yi, B.; Huang, L.; Hu, Z.; Li, A.; Du, J.; Li, Y.; Zhang, W. Vitamin D/VDR Attenuate Cisplatin-Induced AKI by down-Regulating NLRP3/Caspase-1/GSDMD Pyroptosis Pathway. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2021**, *206*, 105789. [[CrossRef](#)]
60. Cohen-Lahav, M.; Shany, S.; Tobvin, D.; Chaimovitz, C.; Douvdevani, A. Vitamin D Decreases NF $\kappa$ B Activity by Increasing I $\kappa$ B $\alpha$  Levels. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2006**, *21*, 889–897. [[CrossRef](#)]

61. Huang, H.; Hong, J.Y.; Wu, Y.J.; Wang, E.Y.; Liu, Z.Q.; Cheng, B.H.; Mei, L.; Liu, Z.G.; Yang, P.C.; Zheng, P.Y. Vitamin D Receptor Interacts with NLRP3 to Restrict the Allergic Response. *Clin. Exp. Immunol.* **2018**, *194*, 17–26. [[CrossRef](#)]
62. Rao, Z.; Chen, X.; Wu, J.; Xiao, M.; Zhang, J.; Wang, B.; Fang, L.; Zhang, H.; Wang, X.; Yang, S.; et al. Vitamin D Receptor Inhibits NLRP3 Activation by Impeding Its BRCC3-Mediated Deubiquitination. *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 2783. [[CrossRef](#)]
63. Cui, C.; Wang, C.; Jin, F.; Yang, M.; Kong, L.; Han, W.; Jiang, P. Calcitriol Confers Neuroprotective Effects in Traumatic Brain Injury by Activating Nrf2 Signaling through an Autophagy-Mediated Mechanism. *Mol. Med.* **2021**, *27*, 118. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Fão, L.; Mota, S.I.; Rego, A.C. Shaping the Nrf2-ARE-Related Pathways in Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *Ageing Res. Rev.* **2019**, *54*, 100942. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Ali, A.; Shah, S.A.; Zaman, N.; Uddin, M.N.; Khan, W.; Ali, A.; Riaz, M.; Kamil, A. Vitamin D Exerts Neuroprotection via SIRT1/Nrf-2/NF-KB Signaling Pathways against D-Galactose-Induced Memory Impairment in Adult Mice. *Neurochem. Int.* **2021**, *142*, 104893. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Mehrabadi, S.; Sadr, S.S. Administration of Vitamin D<sub>3</sub> and E Supplements Reduces Neuronal Loss and Oxidative Stress in a Model of Rats with Alzheimer's Disease. *Neurol. Res.* **2020**, *42*, 862–868. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Shinpo, K.; Kikuchi, S.; Sasaki, H.; Moriwaka, F.; Tashiro, K. Effect of 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on Cultured Mesencephalic Dopaminergic Neurons to the Combined Toxicity Caused by L-Buthionine Sulfoximine and 1-Methyl-4-Phenylpyridine. *J. Neurosci. Res.* **2000**, *62*, 374–382. [[CrossRef](#)]
68. Cui, X.; McGrath, J.J.; Burne, T.H.J.; Mackay-Sim, A.; Eyles, D.W. Maternal Vitamin D Depletion Alters Neurogenesis in the Developing Rat Brain. *Int. J. Dev. Neurosci.* **2007**, *25*, 227–232. [[CrossRef](#)]
69. Zhu, Y.; Zhou, R.; Yang, R.; Zhang, Z.; Bai, Y.; Chang, F.; Li, L.; Sokabe, M.; Goltzman, D.; Miao, D.; et al. Abnormal Neurogenesis in the Dentate Gyrus of Adult Mice Lacking 1,25-Dihydroxy Vitamin D<sub>3</sub> (1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>). *Hippocampus* **2012**, *22*, 421–433. [[CrossRef](#)]
70. Eyles, D.; Almeras, L.; Benech, P.; Patatian, A.; Mackay-Sim, A.; McGrath, J.; Féron, F. Developmental Vitamin D Deficiency Alters the Expression of Genes Encoding Mitochondrial, Cytoskeletal and Synaptic Proteins in the Adult Rat Brain. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2007**, *103*, 538–545. [[CrossRef](#)]
71. Almeras, L.; Eyles, D.; Benech, P.; Laffite, D.; Villard, C.; Patatian, A.; Boucraut, J.; Mackay-Sim, A.; McGrath, J.; Féron, F. Developmental Vitamin D Deficiency Alters Brain Protein Expression in the Adult Rat: Implications for Neuropsychiatric Disorders. *PROTEOMICS* **2007**, *7*, 769–780. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Eyles, D.; Brown, J.; Mackay-Sim, A.; McGrath, J.; Féron, F. Vitamin D<sub>3</sub> and Brain Development. *Neuroscience* **2003**, *118*, 641–653. [[CrossRef](#)]
73. Féron, F.; Burne, T.H.J.; Brown, J.; Smith, E.; McGrath, J.J.; Mackay-Sim, A.; Eyles, D.W. Developmental Vitamin D<sub>3</sub> Deficiency Alters the Adult Rat Brain. *Brain Res. Bull.* **2005**, *65*, 141–148. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Naveilhan, P.; Neveu, I.; Wion, D.; Brachet, P. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, an Inducer of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. *NeuroReport* **1996**, *7*, 2171–2175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Xu, Y.; Liang, L. Vitamin D<sub>3</sub>/Vitamin D Receptor Signaling Mitigates Symptoms of Post-Stroke Depression in Mice by Upregulating Hippocampal BDNF Expression. *Neurosci. Res.* **2021**, *170*, 306–313. [[CrossRef](#)]
76. Koshkina, A.; Dudnichenko, T.; Baranenko, D.; Fedotova, J.; Drago, F. Effects of Vitamin D<sub>3</sub> in Long-Term Ovariectomized Rats Subjected to Chronic Unpredictable Mild Stress: BDNF, NT-3, and NT-4 Implications. *Nutrients* **2019**, *11*, 1726. [[CrossRef](#)]
77. Neveu, I.; Naveilhan, P.; Baudet, C.; Brachet, P.; Metsis, M. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> Regulates NT-3, NT-4 but Not BDNF mRNA in Astrocytes. *NeuroReport* **1994**, *6*, 124–126. [[CrossRef](#)]
78. Scott-Solomon, E.; Kuruvilla, R. Mechanisms of Neurotrophin Trafficking via Trk Receptors. *Mol. Cell. Neurosci.* **2018**, *91*, 25–33. [[CrossRef](#)]
79. Atif, F.; Yousuf, S.; Sayeed, I.; Ishrat, T.; Hua, F.; Stein, D.G. Combination Treatment with Progesterone and Vitamin D Hormone Is More Effective than Monotherapy in Ischemic Stroke: The Role of BDNF/TrkB/Erk1/2 Signaling in Neuroprotection. *Neuropharmacology* **2013**, *67*, 78–87. [[CrossRef](#)]
80. Abdallah, C.G.; Sanacora, G.; Duman, R.S.; Krystal, J.H. Ketamine and Rapid-Acting Antidepressants: A Window into a New Neurobiology for Mood Disorder Therapeutics. *Annu. Rev. Med.* **2015**, *66*, 509–523. [[CrossRef](#)]
81. Li, N.; Lee, B.; Liu, R.J.; Banasr, M.; Dwyer, J.M.; Iwata, M.; Li, X.Y.; Aghajanian, G.; Duman, R.S. MTOR-Dependent Synapse Formation Underlies the Rapid Antidepressant Effects of NMDA Antagonists. *Science* **2010**, *329*, 959–964. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Jovanovic, J.N.; Czernik, A.J.; Fienberg, A.A.; Greengard, P.; Sihra, T.S. Synapsins as Mediators of BDNF-Enhanced Neurotransmitter Release. *Nat. Neurosci.* **2000**, *3*, 323–329. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Alghamdi, S.; Alsulami, N.; Khoja, S.; Alsufiani, H.; Tayeb, H.O.; Tarazi, F.I. Vitamin D Supplementation Ameliorates Severity of Major Depressive Disorder. *J. Mol. Neurosci.* **2020**, *70*, 230–235. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Seyedi, M.; Gholami, F.; Samadi, M.; Djalali, M.; Effatpanah, M.; Yekaninejad, M.S.; Hashemi, R.; Abdolahi, M.; Chamari, M.; Honarvar, N.M. The Effect of Vitamin D<sub>3</sub> Supplementation on Serum BDNF, Dopamine, and Serotonin in Children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *CNS Neurol. Disord.-Drug Targets* **2019**, *18*, 496–501. [[CrossRef](#)]
85. Jiang, P.; Zhang, L.H.; Cai, H.L.; Li, H.D.; Liu, Y.P.; Tang, M.M.; Dang, R.L.; Zhu, W.Y.; Xue, Y.; He, X. Neurochemical Effects of Chronic Administration of Calcitriol in Rats. *Nutrients* **2014**, *6*, 6048–6059. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Pertile, R.A.N.; Cui, X.; Eyles, D.W. Vitamin D Signaling and the Differentiation of Developing Dopamine Systems. *Neuroscience* **2016**, *333*, 193–203. [[CrossRef](#)]



87. Sabir, M.S.; Haussler, M.R.; Mallick, S.; Kaneko, I.; Lucas, D.A.; Haussler, C.A.; Whitfield, G.K.; Jurutka, P.W. Optimal Vitamin D Spurs Serotonin: 1,25-Dihydroxyvitamin D Represses Serotonin Reuptake Transport (SERT) and Degradation (MAO-A) Gene Expression in Cultured Rat Serotonergic Neuronal Cell Lines. *Genes Nutr.* **2018**, *13*, 19. [[CrossRef](#)]
88. Luthold, R.V.; Fernandes, G.R.; Franco-de-Moraes, A.C.; Folchetti, L.G.D.; Ferreira, S.R.G. Gut Microbiota Interactions with the Immunomodulatory Role of Vitamin D in Normal Individuals. *Metabolism* **2017**, *69*, 76–86. [[CrossRef](#)]
89. Assa, A.; Vong, L.; Pinnell, L.J.; Avitzur, N.; Johnson-Henry, K.C.; Sherman, P.M. Vitamin D Deficiency Promotes Epithelial Barrier Dysfunction and Intestinal Inflammation. *J. Infect. Dis.* **2014**, *210*, 1296–1305. [[CrossRef](#)]
90. Ooi, J.H.; Li, Y.; Rogers, C.J.; Cantorna, M.T. Vitamin D Regulates the Gut Microbiome and Protects Mice from Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis. *J. Nutr.* **2013**, *143*, 1679–1686. [[CrossRef](#)]
91. Wu, S.; Liao, A.P.; Xia, Y.; Chun Li, Y.; Li, J.D.; Sartor, R.B.; Sun, J. Vitamin D Receptor Negatively Regulates Bacterial-Stimulated NF-KB Activity in Intestine. *Am. J. Pathol.* **2010**, *177*, 686–697. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Fedotova, J.; Dudnichenko, T.; Kruzliak, P.; Puchavskaya, Z. Different Effects of Vitamin D Hormone Treatment on Depression-like Behavior in the Adult Ovariectomized Female Rats. *Biomed. Pharmacother.* **2016**, *84*, 1865–1872. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Fedotova, J.O. Vitamin D3 Treatment Differentially Affects Anxiety-like Behavior in the Old Ovariectomized Female Rats and Old Ovariectomized Female Rats Treated with Low Dose of 17 $\beta$ -Estradiol. *BMC Med. Genet.* **2019**, *20*, 49. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
94. Camargo, A.; Dalmagro, A.P.; Rikel, L.; da Silva, E.B.; Simão da Silva, K.A.B.; Zeni, A.L.B. Cholecalciferol Counteracts Depressive-like Behavior and Oxidative Stress Induced by Repeated Corticosterone Treatment in Mice. *Eur. J. Pharmacol.* **2018**, *833*, 451–461. [[CrossRef](#)]
95. Da Silva Souza, S.V.; da Rosa, P.B.; Neis, V.B.; Moreira, J.D.; Rodrigues, A.L.S.; Moretti, M. Effects of Cholecalciferol on Behavior and Production of Reactive Oxygen Species in Female Mice Subjected to Corticosterone-Induced Model of Depression. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2020**, *393*, 111–120. [[CrossRef](#)]
96. Neis, V.B.; Werle, L.; Moretti, M.; Rosa, P.B.; Camargo, A.; Dalsenter, Y.D.O.; Platt, N.; Rosado, A.F.; Engel, W.D.; de Almeida, G.R.L.; et al. Involvement of Serotonergic Neurotransmission in the Antidepressant-like Effect Elicited by Cholecalciferol in the Chronic Unpredictable Stress Model in Mice. *Metab. Brain Dis.* **2022**, *37*, 1597–1608. [[CrossRef](#)]
97. Zhang, W.; Guo, Y.; Wang, K.; Chen, L.; Jiang, P. Neuroprotective Effects of Vitamin D and 17 $\beta$ -Estradiol against Ovariectomy-Induced Neuroinflammation and Depressive-like State: Role of the AMPK/NF-KB Pathway. *Int. Immunopharmacol.* **2020**, *86*, 106734. [[CrossRef](#)]
98. Bakhtiari-Dovvombaygi, H.; Izadi, S.; Zare Moghaddam, M.; Hashemzahi, M.; Hosseini, M.; Azhdari-Zarmehri, H.; Dinpanah, H.; Beheshti, F. Beneficial Effects of Vitamin D on Anxiety and Depression-like Behaviors Induced by Unpredictable Chronic Mild Stress by Suppression of Brain Oxidative Stress and Neuroinflammation in Rats. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2021**, *394*, 655–667. [[CrossRef](#)]
99. Jiang, P.; Zhang, W.Y.; Li, H.D.; Cai, H.L.; Liu, Y.P.; Chen, L.Y. Stress and Vitamin D: Altered Vitamin D Metabolism in Both the Hippocampus and Myocardium of Chronic Unpredictable Mild Stress Exposed Rats. *Psychoneuroendocrinology* **2013**, *38*, 2091–2098. [[CrossRef](#)]
100. Groves, N.J.; Bradford, D.; Sullivan, R.K.P.; Conn, K.A.; Aljelaifi, R.F.; McGrath, J.J.; Burne, T.H.J. Behavioural Effects of Adult Vitamin D Deficiency in BALB/c Mice Are Not Associated with Proliferation or Survival of Neurons in the Adult Hippocampus. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0152328. [[CrossRef](#)]
101. Jorde, R.; Sneve, M.; Figenschau, Y.; Svartberg, J.; Waterloo, K. Effects of Vitamin D Supplementation on Symptoms of Depression in Overweight and Obese Subjects: Randomized Double-Blind Trial. *J. Intern. Med.* **2008**, *264*, 599–609. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
102. Narula, N.; Cooray, M.; Anglin, R.; Muqtadir, Z.; Narula, A.; Marshall, J.K. Impact of High-Dose Vitamin D3 Supplementation in Patients with Crohn's Disease in Remission: A Pilot Randomized Double-Blind Controlled Study. *Dig. Dis. Sci.* **2017**, *62*, 448–455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Penckofer, S.; Byrn, M.; Adams, W.; Emanuele, M.A.; Mumbly, P.; Kouba, J.; Wallis, D.E. Vitamin D Supplementation Improves Mood in Women with Type 2 Diabetes. *J. Diabetes Res.* **2017**, *2017*, 8232863. [[CrossRef](#)]
104. Sharifi, A.; Vahedi, H.; Nedjat, S.; Mohamadkhani, A.; Hosseinzadeh Attar, M.J. Vitamin D Decreases Beck Depression Inventory Score in Patients with Mild to Moderate Ulcerative Colitis: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial. *J. Diet. Suppl.* **2019**, *16*, 541–549. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
105. Yosae, S.; Soltani, S.; Esteghamati, A.; Motevalian, S.A.; Tehrani-Doost, M.; Clark, C.C.T.; Jazayeri, S. Effects of Zinc, Vitamin D, and Their Co-Supplementation on Mood, Serum Cortisol, and Brain-Derived Neurotrophic Factor in Patients with Obesity and Mild to Moderate Depressive Symptoms: A Phase II, 12-Week, 2  $\times$  2 Factorial Design, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Nutrition* **2020**, *71*, 110601. [[CrossRef](#)]
106. Zhu, C.; Zhang, Y.; Wang, T.; Lin, Y.; Yu, J.; Xia, Q.; Zhu, P.; Zhu, D. Vitamin D Supplementation Improves Anxiety but Not Depression Symptoms in Patients with Vitamin D Deficiency. *Brain Behav.* **2020**, *10*, e01760. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
107. Hansen, J.P.; Pareek, M.; Hvolby, A.; Schmedes, A.; Toft, T.; Dahl, E.; Nielsen, C.T. Vitamin D3 Supplementation and Treatment Outcomes in Patients with Depression (D3-Vit-Dep). *BMC Res. Notes* **2019**, *12*, 203. [[CrossRef](#)]
108. Kaviani, M.; Nikooyeh, B.; Zand, H.; Yaghmaei, P.; Neyestani, T.R. Effects of Vitamin D Supplementation on Depression and Some Involved Neurotransmitters. *J. Affect. Disord.* **2020**, *269*, 28–35. [[CrossRef](#)]
109. Alavi, N.M.; Khademalhosseini, S.; Vakili, Z.; Assarian, F. Effect of Vitamin D Supplementation on Depression in Elderly Patients: A Randomized Clinical Trial. *Clin. Nutr.* **2019**, *38*, 2065–2070. [[CrossRef](#)]

110. Bertone-Johnson, E.R.; Powers, S.I.; Spangler, L.; Larson, J.; Michael, Y.L.; Millen, A.E.; Bueche, M.N.; Salmoirago-Blotcher, E.; Wassertheil-Smoller, S.; Brunner, R.L.; et al. Vitamin D Supplementation and Depression in the Women's Health Initiative Calcium and Vitamin D Trial. *Am. J. Epidemiol.* **2012**, *176*, 1–13. [[CrossRef](#)]
111. Mozaffari-Khosravi, H.; Nabizade, L.; Yassini-Ardakani, S.M.; Hadinedoushan, H.; Barzegar, K. The Effect of 2 Different Single Injections of High Dose of Vitamin D on Improving the Depression in Depressed Patients With Vitamin D Deficiency: A Randomized Clinical Trial. *J. Clin. Psychopharmacol.* **2013**, *33*, 378–385. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
112. Vellekkatt, F.; Menon, V.; Rajappa, M.; Sahoo, J. Effect of Adjunctive Single Dose Parenteral Vitamin D Supplementation in Major Depressive Disorder with Concurrent Vitamin D Deficiency: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial. *J. Psychiatr. Res.* **2020**, *129*, 250–256. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
113. Khoraminy, N.; Tehrani-Doost, M.; Jazayeri, S.; Hosseini, A.; Djazayeri, A. Therapeutic Effects of Vitamin D as Adjunctive Therapy to Fluoxetine in Patients with Major Depressive Disorder. *Aust. N. Z. J. Psychiatry* **2013**, *47*, 271–275. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
114. Eid, A.; Khoja, S.; AlGhamdi, S.; Alsufiani, H.; Alzeben, F.; Alhejaili, N.; Tayeb, H.O.; Tarazi, F.I. Vitamin D Supplementation Ameliorates Severity of Generalized Anxiety Disorder (GAD). *Metab. Brain Dis.* **2019**, *34*, 1781–1786. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
115. Valdivielso, J.M.; Fernandez, E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin. Chim. Acta* **2006**, *371*, 1–12. [[CrossRef](#)]
116. Lye, M.S.; Tor, Y.S.; Tey, Y.Y.; Shahabudin, A.; Loh, S.P.; Ibrahim, N.; Stanslas, J.; Rosli, R.; Ling, K.H. BsmI-ApaI-TaqI TAC (BAT) Haplotype of Vitamin D Receptor Gene Is Associated with Increased Risk of Major Depressive Disorder. *J. Mol. Neurosci.* **2020**, *71*, 981–990. [[CrossRef](#)]
117. Usategui-Martín, R.; De Luis-Román, D.A.; Fernández-Gómez, J.M.; Ruiz-Mambrilla, M.; Pérez-Castrillón, J.L. Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms Modify the Response to Vitamin D Supplementation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* **2022**, *14*, 360. [[CrossRef](#)]