

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Centro de Biotecnologia
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

Dissertação de mestrado

Investigação do papel do RNA circular circSTAG1 como potencial biomarcador de tratamento e de resistência à Depressão Maior em ratos submetidos ao Estresse Crônico Moderado e Imprevisível

Luiz Filipe Bastos Mendes

Porto Alegre
Maio de 2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Centro de Biotecnologia

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

Dissertação de mestrado

Investigação do papel do RNA circular circSTAG1 como potencial biomarcador de tratamento e de resistência à Depressão Maior em ratos submetidos ao Estresse Crônico Moderado e Imprevisível

Luiz Filipe Bastos Mendes

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia da UFRGS como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Dr. José Cláudio Fonseca Moreira

Porto Alegre

Maio de 2024

CIP - Catalogação na Publicação

Bastos Mendes, Luiz Filipe

Investigação do papel do RNA circular circSTAG1 como potencial biomarcador de tratamento e de resistência à Depressão Maior em ratos submetidos ao Estresse Crônico Moderado e Imprevisível / Luiz Filipe Bastos Mendes. -- 2024.

77 f.

Orientador: José Cláudio Fonseca Moreira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. Biomarcadores. 2. Cetamina. 3. Transtorno Depressivo Maior. 4. RNA circular. I. Fonseca Moreira, José Cláudio, orient. II. Título.

*Dedico este trabalho aos meus pais Rosa
Maria e Fernando, e aos meus irmãos
Luiz Fernando, Leonardo e Letícia*

Agradecimentos

Peço perdão, pois aqui faço uma ousada afirmação. Mesmo dentre as mais avançadas funções cognitivas, proponho a gratidão como um dos mais altos atos de afirmação do ser. Tornar consciente e exposto o amor nutrido por aqueles que temos ao nosso redor se faz árduo, não pela falta do que dizer, mas sim pela falta de palavras para expressar. Exige humildade e coragem, por vezes ambos escassa, de abrir tanto a mente, quanto o coração para permitir aos espectadores uma visão dos mais íntimos e irracionais sentimentos por eles. Dessa forma, uso essa página como carta aberta a aqueles que amo. Se aqui o que digo não parece conter o ardor de quem ama sem restrições, faço questão de afirmar que essas emoções queimam ardentemente em meu coração.

Primeiramente, gostaria de agradecer, com todo o meu ser, aos meus pais, Fernando e Rosa Maria. A vocês devo não somente a vida, mas também caráter, coragem e decência. Levo de vocês não somente a consanguinidade, como o senso de realidade, responsabilidade e confraternidade. Deram-me amor, carinho, segurança, oportunidades e por isso, mas não somente, sou extremamente grato.

Aos meus irmãos, Luiz Fernando, Leonardo e Letícia, aos meus primos, Vitor, Lires, Mozart, João Vitor e Joice, ao meu tio, Victor Hugo, e tia, Tânia. Apesar da distância que mantermos, apesar de que alguns mais próximos que outros, nunca esqueço o quão importante são para mim e o que representam no desenvolvimento da minha pessoa. Os tenho em mim, independente de tempo e espaço.

Aos meus queridos amigos, seja de onde vierem, seja onde estiverem. O tempo passado com vocês é infinitamente longo em minhas memórias, apesar de parecer infinitamente curto enquanto os vivemos. Devo a vocês incontáveis sorrisos e momentos de alegria que regam minha alma mesmo na sua ausência. Os ter ao meu lado, seja de corpo ou de espírito, afaga o âmago do meu ser.

Aos meus amigos e colegas de Centro de Estudos de Estresse Oxidativo. Foi um longo período que vocês ajudaram imensamente a aliviar. Entre tantos e longos suspiros, as conversas, as risadas e até os momentos de silêncio se fazem de grande importância para mim nessa trajetória que compartilhamos. Espero ter contribuído a vocês tanto o quanto contribuíram a mim.

Agradeço imensamente ao meu professor orientador José Cláudio Moreira. O senhor me ofereceu uma segunda casa, que chamo de laboratório, e acesso ao conhecimento que

aparenta não ter fim. Você é uma grande inspiração para mim, tanto como cientista, quanto como pessoa. Espero poder retornar, nem que parcialmente, o valor da confiança que depositou em mim, e um dia me tornar parte pesquisador que você é.

Por último, gostaria de agradecer aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular pelas oportunidades e ensinamentos que me propuseram ao longo do mestrado.

Sumário

Resumo.....	7
Abstract	8
Lista de abreviaturas	9
1. Introdução.....	10
1.1. Transtorno Depressivo Maior	10
1.2. Estresse Crônico Moderado Imprevisível.....	12
1.3. RNAs circulares.....	14
2. Objetivos	17
2.1. Objetivo geral.....	17
2.2. Objetivos específicos.....	17
3. Capítulo I	18
4. Capítulo II	20
5. Discussão	22
6. Conclusão	24
7. Referências.....	26

Resumo

Os RNAs circulares (circRNAs), uma nova classe de RNAs não codificadores caracterizados por suas estruturas de loop fechado, têm atraído cada vez mais atenção por sua função em vários processos biológicos, incluindo desenvolvimento, homeostase e progressão de doenças, como o Transtorno Depressivo Maior (TDM). Essas moléculas são expressas de forma ubíqua em organismos eucarióticos e apresentam regulação específica em tecidos, tipos de célula e estágios de desenvolvimento. Suas funções são diversas, variando da captura de microRNAs à ligação a DNA e proteínas, regulando assim diversos processos celulares. O estresse crônico é um fator de risco conhecido para o desenvolvimento de TDM, afetando circuitos neurais e processos bioquímicos. A resiliência ao estresse, onde indivíduos não desenvolvem o transtorno apesar da exposição ao estresse, é um fenótipo pouco explorado no contexto dos circRNAs. De forma similar, faltam estudos sobre o comportamento dessas moléculas em animais estressados tratados com antidepressivos. Nesse sentido, usamos o modelo de Estresse Crônico Moderado Imprevisível (ECMI) em ratos Wistar para investigar três variantes circSTAG1 e o transcrito linear STAG1 no hipocampo de animais suscetíveis e resilientes ao desenvolvimento de comportamento tipo-depressão, avaliando também o impacto da cetamina em animais resistentes ao tratamento farmacológico para depressão. Os resultados preliminares sugerem que a circSTAG1 é regulada de forma distinta em animais suscetíveis e resilientes, possivelmente contribuindo para os mecanismos de resiliência à depressão. Além disso, animais saudáveis tratados com cetamina apresentam níveis de expressão de circSTAG1 similares aos animais submetidos ao estresse, indicando uma possível relação entre essas moléculas e os efeitos deletérios da cetamina no seu uso como droga de abuso. Ao integrar revisões abrangentes com análises experimentais focadas, esta dissertação sugere um papel complexo dos circRNAs na origem e no tratamento do TDM, propondo novos caminhos para a compreensão e a utilização dessas moléculas em ambientes clínicos.

Palavras-chave: Biomarcadores; Cetamina; Epigenética; Transtorno Depressivo Maior; RNA circular

Abstract

Circular RNAs (circRNAs), a new class of non-coding RNAs characterized by their closed-loop structures, have garnered increasing attention for their roles in various biological processes, including development, homeostasis, and disease progression, such as Major Depressive Disorder (MDD). These molecules are ubiquitously expressed in eukaryotic organisms and exhibit specific regulation in tissues, cell types, and developmental stages. Their functions are diverse, ranging from microRNA capture to binding to DNA and proteins, thereby regulating various cellular processes. Chronic stress is a known risk factor for the development of MDD, affecting neural circuits and biochemical processes. Stress resilience, where individuals do not develop the disorder despite exposure to stress, is a phenotype that is underexplored in the context of circRNAs. Similarly, there is a lack of studies on the behavior of these molecules in stressed animals treated with antidepressants. In this context, we used the Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) model in Wistar rats to investigate three circSTAG1 variants and the linear transcript STAG1 in the hippocampus of animals susceptible and resilient to the development of depression-like behavior, also evaluating the impact of ketamine in animals resistant to pharmacological treatment for depression. Preliminary results suggest that circSTAG1 is differentially regulated in susceptible and resilient animals, possibly contributing to the mechanisms of resilience to depression. Furthermore, healthy animals treated with ketamine exhibit circSTAG1 expression levels similar to stressed animals, indicating a possible relationship between these molecules and the deleterious effects of ketamine in its use as an abuse drug. By integrating comprehensive reviews with focused experimental analyses, this dissertation suggests a complex role for circRNAs in the origin and treatment of MDD, proposing new pathways for understanding and utilizing these molecules in clinical settings.

Keywords: Biomarkers; Circular RNA; Epigenetics; Ketamine; Major Depressive Disorder

Lista de abreviaturas

ALKBH5	Alkylation B Homolog 5
circRNAs	RNAs circulares
DALYs	Disability-Adjusted Life Years
DSM-5	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
ECMI	Estresse Crônico Moderado Imprevisível
FAAH	Fatty Acid Amide Hydrolase
GBD	Estudo de Carga Global de Doenças
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
miRNAs	Micro RNAs
mRNA	RNA mensageiro
ncRNAs	RNAs não codificantes
STAG1	Stromal Antigen 1
TDM	Transtorno Depressivo Maior

1. Introdução

1.1. Transtorno Depressivo Maior

Os transtornos psiquiátricos, mentais e comportamentais são doenças associadas com perturbação bioquímicas e estruturais no Sistema Nervoso Central, bem como em outro sistemas do corpo, levando a alterações em diversas funções cognitivas (Lee et al., 2019; Lee; Feng; Smoller, 2021). Dentre elas, o Transtorno Depressivo Maior (TDM) se destaca como uma condição psiquiátrica com alto impacto social e econômico, recebendo assim grande atenção da comunidade científica mundial. De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), esse transtorno é caracterizado por humor deprimido por longos períodos, anedonia, sentimento de culpa ou inutilidade, falta de atenção, alterações no peso e apetite, alterações de sono, pensamentos suicidas, entre outros sintomas (American Psychiatric Association, 2013). O diagnóstico clínico requer a presença de cinco ou mais sintomas mencionados durante um período de duas semanas, levando a alterações na capacidade do indivíduo de executar funções normalmente. Porém, a depressão é uma doença com alta heterogeneidade, possuindo pelo menos 256 apresentações de sintomas que atendem os critérios para diagnóstico (Buch; Liston, 2021).

Segundo o Estudo de Carga Global de Doenças (GBD) de 2019, o TDM é o maior causador de incapacidade entre os transtornos psiquiátricos, estando classificado como a 13ª maior causa de carga mundial em 2019 (Vos et al., 2020). Projeções da prevalência de TDM na população global estimavam que 246 milhões de pessoas foram afetadas por esse transtorno em 2020, após ajustes pela pandemia do Coronavírus, resultando em um total de 49.4 milhões de anos de vida ajustados por incapacidade (Disability-Adjusted Life Years, DALYs), que representam a pedra de anos de vida saudável devido a incapacidades (Santomauro et al., 2021). Segundo a Pesquisa Nacional de Saúde do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2019, aproximadamente 10,2% dos brasileiros com mais de 18 anos relataram ter sido diagnosticadas com depressão, totalizando 16.3 milhões de pessoas (IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2020).

Como descrito anteriormente, o TDM se caracteriza por causar prejuízos nas execuções de funções cotidianas, porém em casos mais graves está associada com altas taxas de comportamento suicida e mortalidade. Dados indicam que a depressão é o transtorno psiquiátrico mais comum entre aqueles que cometem suicídio, com riscos específicos associados a episódios graves, desesperança, tentativa anteriores de suicídio, e abuso de álcool e outras drogas (Hawton et al., 2013). Um estudo de meta-análise que examinou a prevalência

de tentativa de suicídio em pacientes acometidos pelo TDM encontrou que a prevalência ao longo da vida foi de 31%, a prevalência em um período de 1 ano foi de 8% e a prevalência em um período de 1 mês foi de 24% (Dong et al., 2019). Outra revisão sistemática demonstrou que indivíduos com TDM têm probabilidade significativamente mais altas para diversos parâmetros de comportamento suicida, incluindo ideação, planejamento e tentativa suicida, em comparação com indivíduos não depressivos (Cai et al., 2021). De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), processados e disponibilizados pelo portal *Our World in Data*, cerca de 703.220 pessoas faleceram por suicídio em todo o mundo, incluindo 14.540 casos no Brasil, sendo uma das principais causas de morte em jovens de 15 a 29 anos em todo o mundo (Dattani et al., 2023). Dessa forma, a ligação entre suicídio e depressão enfatizam a importância estratégica no estudo do TDM, como o desenvolvimento de medidas preventivas e tratamentos para o transtorno.

Um dos principais métodos de tratamento para TDM é o uso de fármacos denominados antidepressivos. Embora os tratamentos atuais sejam bastante promissores, apresentando eficácia média variando entre 42% e 53% na redução de pelo menos 50% dos escores utilizados (Taliaz *et al.*, 2021), existem consideráveis desafios no seu uso. Antidepressivos apresentam um longo período de adaptação para que as primeiras melhoras no quadro sejam observadas, podendo levar várias semanas até ser atingido o nível máximo de benefício clínico (Levinstein; Samuels, 2014). Além disso, estudos indicam que de 10% a 20% dos pacientes com o transtorno mantêm mantêm sintomatologia apesar de tratamento sequencial por 2 anos ou mais (Voineskos; Daskalakis; Blumberger, 2020). (Taliaz *et al.*, 2021) Portanto, apesar dos avanços e da eficácia significativa dos tratamentos antidepressivos, a necessidade de abordagens adicionais permanece crítica para atender todos os pacientes de maneira eficaz. Nesse sentido, a cetamina tem sido estudada como um antidepressivo de ação rápida, mostrando efeito horas após tratamento, e efetiva em casos de depressão resistente a tratamento (Berman *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2015). As taxas de remissão e resposta da cetamina intravenosa no tratamento da depressão resistente ao tratamento variam de acordo com o desenho do estudo e a dosagem. Estudos de dose única mostram taxas de remissão em torno de 34% e taxas de resposta de cerca de 48% (Salloum *et al.*, 2020). Estudos com doses múltiplas e análises do mundo real mostram taxas de remissão que variam de 13% a 50,5% e taxas de resposta de 27% a 68% (McInnes *et al.*, 2022; McIntyre *et al.*, 2020; Zheng *et al.*, 2018, 2019). Assim, o estudo dos mecanismos moleculares associados com a resposta a tratamentos se mantém de grande interesse social e econômico.

A literatura robusta sobre depressão revela que seu desenvolvimento está vinculado a uma combinação de fatores genéticos, clínicos e ambientais, correlacionando-se também com aspectos estruturais, imunológicos, endócrinos, metabólicos e eletrofisiológicos (Flint, 2023; He *et al.*, 2023; Marazziti *et al.*, 2023; Min *et al.*, 2023; Park *et al.*, 2019; Réus *et al.*, 2018; Vahid-Ansari; Albert, 2021). Atualmente, uma das principais hipóteses para o desenvolvimento do TDM é a disfunção do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal (HPA), que desempenha um papel crucial na regulação da resposta ao estresse (Cui *et al.*, 2024). O estresse crônico pode levar à ativação persistente do eixo HPA, resultando em níveis elevados de cortisol, o hormônio do estresse, que pode causar alterações na neuroplasticidade e na função sináptica. Este aumento crônico de cortisol está associado à disfunção imunológica e inflamatória, contribuindo para o desenvolvimento e a manutenção dos sintomas depressivos. Dentre esses fatores, o estresse emerge como um ponto central, influenciando significativamente a patogênese da depressão devido ao seu impacto sobre o sistema neuroendócrino e a resposta imunológica (Belleau; Treadway; Pizzagalli, 2019; Park *et al.*, 2019).

Dentre os diversos aspectos intrigantes associados ao TDM, está o fato de que alguns indivíduos não desenvolvem o transtorno após exposição a tais fatores, sendo este fenótipo conhecido como resiliência (Réus *et al.*, 2018). A resiliência é definida como a manutenção adaptativa da fisiologia, desenvolvimento e comportamento normal perante exposição a estresse e adversidade (Navrady *et al.*, 2018; Handbook of adult resilience, 2010). Esse fenótipo é provavelmente resultado da resposta bem-sucedida do corpo ao se adaptar ao estresse, permitindo assim a manutenção da homeostase através de processos biológicos coletivamente denominados alostase (Berton; Hahn; Thase, 2012; Réus *et al.*, 2018). Esse processo envolve o recrutamento de mediadores inflamatórios, metabólicos e neuromoduladores que interagem entre si para promover a adaptação e a manutenção do comportamento saudável (Pearson-Leary *et al.*, 2017; Zapater-Fajará *et al.*, 2021). Assim, pode-se inferir que uma das etiologias do TDM é o resultado de múltiplas interações entre o efeito de estressores físicos e ambientais e fatores individuais de vulnerabilidade.

1.2. Estresse Crônico Moderado Imprevisível

Com o propósito de investigar os mecanismos biológicos ligados ao TDM, empregam-se modelos animais que replicam os efeitos do estresse observado em seres humanos como Estresse Crônico Imprevisível, Estresse Crônico Moderado Imprevisível (ECMI), Separação Materna, Desesperança Aprendida, Derrota Social, Estresse de Restrição Crônica, modelo de

exposição a glicocorticoides/corticosterona (Wang *et al.*, 2017). Esses modelos permitem o estudo da base biológica da susceptibilidade ao estresse no desenvolvimento do TDM, bem como os mecanismos de ação associados com os tratamentos farmacológicos.

O ECMI é um modelo experimental, amplamente utilizado em roedores, desenvolvido para mimetizar o estresse cotidiano enfrentado pelos seres humanos. Os estressores utilizados neste modelo, embora muitas vezes sejam de menor magnitude individualmente, ganham relevância devido à sua imprevisibilidade e variação contínua, configurando-se como eventos inesperados. Ao submeter os animais a diversos estressores imprevisíveis ao longo do tempo, o ECMI procura replicar a heterogeneidade e a sensação de falta de controle que caracterizam o estresse crônico em humanos, possibilitando a investigação de como esses fatores podem acarretar ou colaborar para o desenvolvimento de transtornos de humor como a depressão.

O ECMI consiste em expor repetidamente os animais a estressores moderados, variados e imprevisíveis, expondo-os a uma série de “microestimuladores”, o que torna o modelo de estresse crônico mais ético, sem aplicar estressores dolorosos ao animal, como usado por Katz e aperfeiçoado por Willner (Katz, 1982; Willner, 2005). Diversos estudos publicados indicam que o ECMI é capaz de mimetizar em roedores muitos dos parâmetros observados em pacientes acometidos pela depressão (Alqurashi *et al.*, 2022; Belleau; Treadway; Pizzagalli, 2019; Czéh *et al.*, 2016; Du Preez *et al.*, 2021; Hill *et al.*, 2012; Nollet, 2021). Os efeitos desse modelo são frequentemente monitorados pela medida da redução de preferência ou consumo de sacarose, assumido como uma deficiência no processamento de recompensa, que é a base do diagnóstico de anedonia, um sintoma central da depressão maior (American Psychiatric Association, 2013; Hill *et al.*, 2012). Esse modelo é também capaz de mimetizar o fenótipo de resiliência, sendo obtidos animais que não apresentam comportamento depressivo ou ansioso após a ECMI (Liao *et al.*, 2021; Zurawek *et al.*, 2019).

Compreender os efeitos do ECMI e sua correlação com o TDM em modelos animais é fundamental para o avanço de novas abordagens terapêuticas e estratégias de tratamento. Este modelo é vital na pesquisa translacional, pois facilita a transição das descobertas pré-clínicas para aplicações clínicas e aprimora nosso entendimento dos mecanismos biológicos que fundamentam o TDM. A utilização do ECMI permite uma exploração mais profunda de como o estresse crônico afeta os processos fisiológicos e psicológicos, contribuindo significativamente para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e direcionados.

1.3. RNAs circulares

Estudos têm demonstrado que mecanismos epigenéticos como regulação de RNAs não codificantes (ncRNAs), metilação de DNA, modificação de histonas e remodelação da cromatina estão associados com o desenvolvimento da depressão, bem como no efeito terapêutico da cetamina e outros antidepressivos clássico, como fluoxetina, escitalopram e desvenlafaxina (Choi *et al.*, 2015; Engelmann *et al.*, 2022; Fila *et al.*, 2022; Fiori *et al.*, 2017; Park *et al.*, 2019; Penner-Goeke; Binder, 2019; Xu *et al.*, 2019). Dentro os diversos ncRNAs produzidos por eucariotos, os RNAs circulares (circRNAs) vêm atraído grande interesse da comunidade científica, uma vez que um crescente corpo de evidências demonstra que estão associados com o desenvolvimento de diversas patologias, incluindo câncer, depressão, esquizofrenia, bipolaridade, diabetes mellitus e doenças cardiovasculares (An *et al.*, 2019; Gan *et al.*, 2021; Holdt *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2020; Meng *et al.*, 2017).

Os circRNAs compõem um novo e grande grupo de ncRNA produzidos por vias não canônicas. Essas moléculas são caracterizadas por serem RNAs de fita simples com estrutura de loop fechado deficientes de *cap* 5' e cauda poli(a), formadas a partir da ligação covalente das terminações 5' e 3' de RNAs mensageiros prematuros em um processo denominado *backsplicing* (Kristensen *et al.*, 2019; Li; Yang; Chen, 2018). Assim como RNAs mensageiros, um único gene pode gerar múltiplas isoformas de circRNAs, cada um composto por diversas combinações de exons, introns ou fragmentos de ambos, através de processamento co- e pós-transcricional (Liu *et al.*, 2020; Rahimi *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2020).

Essas moléculas têm sido observadas em células eucarióticas há décadas, porém foram consideradas artefatos de processamento errôneo de RNA mensageiro (mRNA), sem significância biológica determinada (Cocquerelle *et al.*, 1993; Hsu; Coca-Prados, 1979; Nigro *et al.*, 1991). Porém, através de sequenciamento de RNA em grande escala (RNA-seq) e ferramentas de bioinformática específicas para detecção de circRNAs, não somente milhares dessas moléculas já foram identificadas e anotadas em protistas, fungos, insetos, peixes, vermes, plantas e mamíferos, bem como foi comprovada que a expressão dessas moléculas é altamente regulada, apresentando padrões expressão específicos para tipo celular, tecido e fase do desenvolvimento (Ivanov *et al.*, 2015; Kristensen *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2014). Essas moléculas também são naturalmente abundantes e estáveis em exossomos, nanopartículas de bicamada fosfolipídica, através dos quais podem atuar em células próximas e distantes do local onde foram expressas, além de permitir a sua detecção em diversos fluidos corporais, como

sangue, saliva e leite materno, servindo assim como potenciais biomarcadores (Fanale *et al.*, 2018; Geng *et al.*, 2020).

Diversos mecanismos de ação de circRNAs já foram identificados em animais, como por exemplo: esponja de microRNAs (miRNAs); regulação da expressão gênica; esponja de proteínas; modulação da função de proteínas; recrutamento de proteínas para localizações celulares específicas; tradução de proteínas (Kristensen *et al.*, 2019; Li; Yang; Chen, 2018). Estudos demonstram que os circRNAs estão associados com o funcionamento neuronal, resposta imune inata, proliferação celular e pluripotência (Gan *et al.*, 2021; Li; Yang; Chen, 2018). Há evidências de que são induzidas durante a neurogênese e são significativamente mais enriquecidas do que suas formas lineares durante a sinaptogênese (Dong *et al.*, 2023; Ji *et al.*, 2019; Seeler *et al.*, 2023). Além disso, circRNAs apresentam grande acúmulo no cérebro de mamíferos, linhagens celulares neurais e tecidos neural de moscas, bem como atuam na regulação de funções astrocitárias e microgliais, sugerindo que essa classe possui papéis importantes na saúde cerebral e no desenvolvimento de doenças neurológicas, incluindo doenças neuropsiquiátricas (Dong *et al.*, 2023; Mehta; Dempsey; Vemuganti, 2020; Seeler *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2023)..

Possivelmente devido ao fato dessa ser uma área que surgiu recentemente e ainda está sendo estabelecida, até o presente momento, existem poucos estudos disponíveis na literatura que associem circRNAs com o desenvolvimento e modulação da severidade de sintomas depressivos, e não foram encontrados estudos que associem essas moléculas com o fenótipo de resiliência. Estudos demonstram, que assim como outros ncRNAs, os níveis de expressão de circRNAs são alterados pela indução de comportamentos depressivos em modelos animais, de forma independente do mRNA linear do mesmo gene, demonstrando que essas moléculas são alteradas pela interação do indivíduo com o ambiente (Huang *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2019). Existem evidências de que circRNAs específicos, com ao menos um mecanismo de ação descrito, possam estar associados com o desenvolvimento de TMD, como por exemplo o circSTAG1. Segundo Huang e colaboradores (2020), o circSTAG1 é um circRNA altamente expresso no cérebro, derivado dos éxons 2, 3, 4 e 5 do gene Stromal Antigen 1 (*STAG1*), associado com a manutenção da função astrocitária e redução do comportamento tipo-depressivo (Huang *et al.*, 2020). Esse circRNA apresentou expressão reduzida no hipocampo, plasma e sangue total de camundongos com comportamento tipo-depressivo, além de apresentarem menores níveis em pacientes humanos depressivos, quando comparado com controles saudáveis (Huang *et al.*, 2020). A indução a super-expressão dessa molécula no

hipocampo de camundongos levou a recuperação da função astrocitária na região e redução do comportamento tipo-depressivo, através da inibição da translocação da RNA demetilase *Alkylation B Homolog 5* (ALKBH5) do citoplasma para o núcleo. Essa interação inibe a atividade demetilase da ALKBH5 sobre o mRNA do gene *Fatty Acid Amide Hydrolase* (FAAH), aumentando sua degradação e diminuindo os níveis do produto proteico (Huang *et al.*, 2020). A FAAH regula a sinalização endocanabinóide, que é conhecida por modular humor e respostas a estresse (Rafiei; Kolla, 2021).

Porém, o estudo da expressão de circRNAs em associação com o TMD em modelos de ratos é escasso. Não somente diferentes isoformas de circRNAs derivados de um mesmo gene podem apresentar regulação diferencial, como também demonstrar padrões de expressão espécie-específicos, como por exemplo, devido a diferenças em sequências flanqueadoras (Dong *et al.*, 2017). Camundongos e ratos são modelos muito utilizados para estudar transtornos associados ao estresse, sendo amplamente utilizados na pesquisa neuropsiquiátrica pré-clínica (Czéh *et al.*, 2016). Apesar do seu uso comum, diferenças genéticas entre espécies podem levar a diferenças funcionais e regulatórias de circRNAs (Czéh *et al.*, 2016). Essas diferenças genéticas poderiam então demonstrar respostas moleculares distintas ao estresse, sugerindo a importância de estudos entre espécies para elucidar o papel de ncRNAs no estresse e na resposta a medicamentos.

Neste contexto, levando em consideração a necessidade de aprofundar os conhecimentos sobre o TDM com relação ao papel de circRNAs no desenvolvimento de fenótipos de resiliência e vulnerabilidade, bem como a determinação dos mesmos como possíveis biomarcadores para diagnóstico e tratamento desse transtorno, torna-se fundamental o entendimento da função e regulação dessas moléculas. Dessa forma, realizamos uma revisão de literatura buscando compilar dados recentes relativos aos fatores regulatórios da biogênese e degradação de circRNAs, suas diversas funções descritas e os principais circRNAs associados com a resposta a estresse e desenvolvimento de TDM.

Além disso, utilizamos o modelo animal de comportamento tipo depressivo induzido pelo ECMI em ratos, investigamos a expressão de diferentes isoformas do circSTAG1 em exposição a ECMI e ao tratamento crônico com cetamina. Assim, investigamos não somente a diferença da expressão dessas isoformas, como também a diferença regulatória entre espécies, uma vez que o circSTAG1 havia sido estudado exclusivamente em camundongos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Correlacionar os níveis da expressão do RNA circular circSTAG1 em associação com o desenvolvimento de comportamento tipo-depressivo e resposta ao tratamento crônico com cetamina em ratos Wistar submetidos ao modelo do ECMI.

2.2. Objetivos específicos

- Investigar em ratos Wistar o efeito do ECMI nos parâmetros comportamentais relacionados com o comportamento tipo-depressivo;
- Investigar nos diferentes grupos experimentais (controle, depressivo e resilientes) de ratos Wistar o efeito do ECMI na expressão de circSTAG1 no hipocampo desses animais;
- Investigar os parâmetros supracitados em animais tratados com cetamina

3. Capítulo I

Revisão bibliográfica sobre circRNAs e o TDM

REVIEW ARTICLE

CIRCULAR RNA: THEIR BIOGENESIS, FUNCTION AND ROLE IN MAJOR DEPRESSIVE DISORDER

Luiz Filipe Bastos Mendes^{ab*}, Daniel Pens Gelain^{ac}, José Cláudio Fonseca Moreira^{ac}

^a Center of Oxidative Stress Studies, Department of Biochemistry, Institute of Basic Health Sciences - Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, Brazil

^b Graduate Program in Molecular and Cellular Biology, Biosciences Institute, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^c Department of Biochemistry, Institute of Basic Health Sciences - Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, Brazil

***Corresponding author at:** Center of Oxidative Stress Studies, Department of Biochemistry, Institute of Basic Health Sciences - Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, Brazil

E-mail address: luizfbmendes@gmail.com

Abstract

Circular RNAs (circRNAs) represent a novel class of non-coding RNA that, in recent years, has been increasingly associated with development, homeostasis, and progression of various disorders, including Major Depressive Disorder (MDD). These molecules are expressed across all eukaryotic organisms studied, demonstrating specific regulation and functions tied to tissue, cell type, developmental stage, and responses to both internal and external stimuli. Due to their closed structure, circRNAs are highly stable, accumulating at higher rates than their linear counterparts and requiring specialized mechanisms for turnover. While there is no universal function performed by all circRNAs, various roles have been identified, including sponging microRNAs, directly interacting with proteins to alter their localization and activity, binding to genomic DNA, and influencing transcription factors to affect gene expression. Recent studies

have demonstrated the strong correlation between specific circRNAs and MDD, evidenced not only by their differential expression in both brain tissues and blood samples, but also description of their action mechanisms in this disorder. Consequently, circRNAs hold significant promise as peripheral biomarkers for diagnosing and new therapeutic targets. This review will explore the cis- and trans-regulatory mechanisms associated with circRNA expression, their documented functions, known degradation pathways, and specific circRNAs implicated in the development of MDD.

Keywords: circular RNA; Epigenetics; Major Depressive Disorder; Biomarkers

4. Capítulo II

Artigo científico

RESEARCH ARTICLE

Effect of Chronic Unpredictable Moderate Stress (CUMS) and Ketamine Treatment on circSTAG1 Expression in Rat Hippocampus

Luiz Filipe Bastos Mendes^{ab*}, Lucas dos Santos da Silva^{ab}, Fernanda dos Santos Petry^{ac}, Luiza Marques Prates Behrens^{ab}, Danielle de Oliveira Martins^a, Nicole Thaís Fröhlich^a, Luana dos Reis Possa^a, Daniel Pens Gelain^{ac}, José Cláudio Fonseca Moreira^{ac}

^a Center of Oxidative Stress Studies, Department of Biochemistry, Institute of Basic Health Sciences - Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, Brazil

^b Graduate Program in Molecular and Cellular Biology, Biosciences Institute, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^c Department of Biochemistry, Institute of Basic Health Sciences - Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, Brazil

***Corresponding author at:** Center of Oxidative Stress Studies, Department of Biochemistry, Institute of Basic Health Sciences - Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre, Brazil

E-mail address: luizfbmendes@gmail.com (L. Mendes)

Abstract

Major Depressive Disorder (MDD) stands out as a global psychiatric condition with profound social and economic repercussions, garnering substantial attention within the scientific community. Emerging research hints at the pivotal involvement of circular RNAs (circRNAs) in the pathogenesis of depression and the intriguing resilience phenomenon, where individuals remain impervious to depressive symptoms despite exposure to stressors. CircRNAs has also been shown to be associated with the response rate to ketamine, a novel quick acting

antidepressive. We used the Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS) model in Wistar rats to study three circSTAG variants and the STAG1 linear transcript in hippocampus of animals with depressive-like behavior and resilience phenotype, also assessing ketamine's impact on treatment-resistant cases. We found that circSTAG1 isoforms and STAG1 mRNA present slightly different correlation to sucrose consumption and differential expression regulation, especially in untreated susceptible animals. It suggests that those isoforms have different regulation mechanisms. Thus, circSTAG1 is altered in susceptible untreated animals but not resilient ones, suggesting its role in depressive-like behavior development. Additionally, circSTAG1 isoforms are modulated by ketamine, displaying differential modulation in susceptible treatment-resistant animals and healthy controls.

Keywords: circular RNA; Epigenetics; Major Depressive Disorder; Biomarkers; Ketamine

5. Discussão

Esta dissertação se concentrou principalmente na exploração do papel do circRNA circSTAG1 no desenvolvimento do TDM. Incluímos um artigo de revisão de literatura que busca descrever os mecanismos regulatórios da expressão de circRNAs, os mecanismos associados com a degradação dessas moléculas, as diversas funções moleculares específicas descritas para essa classe e os circRNAs específicos associados com o desenvolvimento de TDM, enfatizando o seu papel regulatório na doença. Foi produzido também um artigo experimental que examina o impacto do ECMI e tratamento crônico com cetamina na expressão de diferentes isoformas do circSTAG1 no hipocampo de ratos Wistar adultos.

Os mecanismos regulatórios por trás da biogênese de circRNAs ainda estão sendo elucidados. O consenso na literatura demonstra que os principais fatores associados com esse processo são a presença de motivos regulatórios em sequências flanqueadoras e a interação com proteínas que interagem com RNA, podendo afetar positivamente ou negativamente a eficiência de processamento. Além disso, a velocidade de transcrição, alterações na maquinaria de processamento, e presença de modificações de DNA e RNA também são capazes de alterar o perfil de expressão de circRNAs tanto em homeostase quanto em distúrbios. Todos esses aspectos regulatórios podem sofrer alterações de forma espécie- e célula-específica, assim o estudo da diferença de padrões de expressão dessa molécula em diferentes contextos, pode ajudar elucidar o seu papel no desenvolvimento de distúrbios.

O TDM é um transtorno complexo associado com a interação de fatores externos, como o estresse, e fatores internos, como mecanismos biológicos de resposta a esses estressores. De forma similar, a resposta a tratamentos farmacológicos também está sujeita a modulação de fatores internos, dificultando o desenvolvimento de tratamentos com baixas taxas de resistência e remissão. Nossos resultados demonstram pela primeira vez a relação complexa entre a cetamina, expressão ao estresse e regulação do transcrito linear e isoformas circulares do STAG1 no modelo de ECMI em ratos.

Observamos nesse estudo que a superexpressão das isoformas de circSTAG1 em animais controles saudáveis aparentam estar diretamente correlacionada com a expressão aumentada de STAG1 nesses animais, enquanto aparentam possuir regulação independente do transcrito linear nos animais suscetíveis. Infelizmente, nossos dados não permitem determinar se a alteração nos níveis de circSTAG1 estão associadas com aumento da expressão ou redução da degradação, aspectos particularmente relevantes para circRNAs, devido a sua alta estabilidade.

O STAG1 é um componente central do complexo coesina, que não somente está associado com o controle da segregação cromossomal, como também apresenta função na regulação da expressão gênica e reparo ao dano no DNA (Nasmyth; Haering, 2009; Saitta *et al.*, 2022). Nós acreditamos que a cetamina cause um efeito diferencial em relação a exposição com estresse. Em animais não estressados, a cetamina parece estimular a transcrição gênica do STAG1, aumentando a expressão das suas formas lineares e circulares, o que pode estar associado com o efeito de dano ao DNA já demonstrado desse fármaco (Leffa *et al.*, 2016; Wojtas *et al.*, 2022). A normoexpressão do STAG1 nos animais suscetíveis tratados e não tratados pode demonstrar uma alteração da capacidade de animais estressados a responder ao dano no DNA. Trabalhos anteriores do nosso laboratório demonstraram que animais suscetíveis ao ECMI apresentam redução na velocidade de reparo de DNA (Santos *et al.*, 2024). Um aumento na taxa de circularização do STAG1, desviando a formação de transcritos lineares, pode causar a estagnação dos níveis da proteína STAG1, resultando em uma resposta a dano menos eficiente.

Um importante aspecto deste trabalho foi demonstrar a diferença regulatória entre indivíduos saudáveis e indivíduos suscetíveis. A capacidade da cetamina de causar alterações em indivíduos saudáveis, aproximando-os do nível de expressão de indivíduos suscetíveis demonstra um caráter dual do tratamento farmacológicos que deve ser enfatizado. Nossos resultados demonstram que o papel regulatório da cetamina é contexto dependente e pode causar danos a indivíduos que não apresentam alterações induzidas por estresse. Isso se torna particularmente importante uma vez que a cetamina é uma droga com alto potencial de abuso e seu uso crônico já foi associado com danos ao organismo (Liu *et al.*, 2016; Pappachan *et al.*, 2014).

Como citado anteriormente, o estudo realizado por Huang e colaboradores (2020) observou uma redução na expressão de uma isoforma de circSTAG1 em camundongos que passaram pelo protocolo de estresse (Huang *et al.*, 2020), diferentemente do que observamos em ratos. Essa discrepância na direção da regulação pode estar associada a alguns fatores, incluindo o tempo e diferenças genéticas entre as espécies. Os dois estudos diferem no tempo de exposição ao estresse crônico, uma vez que utilizamos 6 semanas de estresse seguidas de 4 semanas de estresse de manutenção correspondente ao tratamento com cetamina, enquanto o estudo supracitado utilizou um protocolo de 4 semanas de estresse. Isso pode indicar uma possível característica tempo-dependente da regulação do circSTAG1 em relação ao estresse. Além disso, embora os circRNAs sejam conservados entre espécies, sua regulação é fortemente

influenciada pelas sequências flanqueadoras da sequência interna do circRNA maduro, bem como pela interação de proteínas que se ligam a essa molécula durante seu processamento (Ji *et al.*, 2019). Dessa forma, é possível que exista uma diferença na regulação das isoformas do circSTAG1 entre espécies, devido a alterações nas sequências do gene e à interação com proteínas que regulam o seu processamento.

6. Conclusão

Nesta dissertação, foi conduzido um estudo em modelo experimental de depressão utilizando um protocolo indutor altamente translacional conhecido como ECMI, associado com o tratamento crônico com cetamina. Este modelo é capaz de mimetizar estressores ambientais semelhantes aos enfrentados pelos seres humanos no dia a dia, caracterizados pela cronicidade, imprevisibilidade e repetição. Assim, avaliamos a expressão do principal transcrito linear e 3 transcritos circulares do STAG1 nesse modelo.

Nossos resultados sugerem uma regulação diferencial do circSTAG1 em resposta à cetamina, com um padrão distinto observado entre animais de controle e expostos ao estresse, apontando para uma possível função na resiliência ao estresse e na patologia do Transtorno Depressivo Maior (TDM). Apesar das limitações, essas percepções abrem caminhos para novos alvos terapêuticos e enfatizam a necessidade de biomarcadores para adaptar o tratamento com cetamina, garantindo a eficácia e minimizando os efeitos adversos. Pesquisas futuras devem explorar ainda mais os papéis funcionais do circSTAG1 e sua interação com a cetamina, aprimorando nossa compreensão e o tratamento do TDM. A discrepância entre os nossos resultados e os resultados presentes na literatura podem indicar uma distinção temporal e regulação espécie-específica da expressão de isoformas do circSTAG1 em relação ao desenvolvimento do comportamento tipo-depressivo. Dessa forma, esse trabalho pode reforçar a necessidade de estudo da regulação da expressão RNAs circulares, com o intuito de melhor entender seu comportamento em contextos de homeostase e patologia.

Este estudo alcançou seu objetivo geral de investigar a regulação da expressão de um circRNA, o circSTAG1 e suas isoformas, em associação com o desenvolvimento de comportamento tipo-depressivo e resposta ao tratamento crônico com cetamina em ratos Wistar submetidos ao modelo do Estresse Crônico Moderado Imprevisível (ECMI), assim como seus objetivos específicos relevantes à investigação dos parâmetros comportamentais e expressão dos transcritos do STAG1 no hipocampo desses animais. Podemos observar a expressão

diferencial das 3 isoformas do circSTAG1 nos animais controle e suscetíveis tratados com cetamina, bem como dos animais resilientes não tratados.

Em suma, os resultados obtidos cumpriram os objetivos propostos, contribuindo para uma compreensão mais abrangente da interação entre o ECMI e o tratamento crônico com cetamina, nos parâmetros comportamentais e na expressão dos transcritos circulares do STAG1.

7. Referências

- ALQURASHI, G. K. *et al.* The Impact of Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depression on Spatial, Recognition and Reference Memory Tasks in Mice: Behavioral and Histological Study. **Behavioral Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 166, 2022.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (org.). **Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5**. 5th eded. Washington, D.C: American Psychiatric Association, 2013.
- AN, T. *et al.* Relationships of Non-coding RNA with diabetes and depression. **Scientific reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 10707, 2019.
- BELLEAU, E. L.; TREADWAY, M. T.; PIZZAGALLI, D. A. The Impact of Stress and Major Depressive Disorder on Hippocampal and Medial Prefrontal Cortex Morphology. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 85, n. 6, Revisiting the Neural Circuitry of Depression, p. 443–453, 2019.
- BERMAN, R. M. *et al.* Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 351–354, 2000.
- BERTON, O.; HAHN, C.-G.; THASE, M. E. Are We Getting Closer to Valid Translational Models for Major Depression?. **Science**, [s. l.], v. 338, n. 6103, p. 75–79, 2012.
- BUCH, A. M.; LISTON, C. Dissecting diagnostic heterogeneity in depression by integrating neuroimaging and genetics. **Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 156–175, 2021.
- CAI, H. *et al.* Prevalence of Suicidality in Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis of Comparative Studies. **Frontiers in Psychiatry**, [s. l.], v. 12, p. 690130, 2021.
- CHOI, M. *et al.* Ketamine produces antidepressant-like effects through phosphorylation-dependent nuclear export of histone deacetylase 5 (HDAC5) in rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 112, n. 51, p. 15755–15760, 2015.
- COCQUERELLE, C. *et al.* Mis-splicing yields circular RNA molecules. **The FASEB Journal**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 155–160, 1993.
- CUI, L. *et al.* Major depressive disorder: hypothesis, mechanism, prevention and treatment. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–32, 2024.
- CZÉH, B. *et al.* Animal models of major depression and their clinical implications. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 64, p. 293–310, 2016.
- DATTANI, S. *et al.* Suicides. **Our World in Data**, [s. l.], 2023.
- DONG, X. *et al.* Circular RNAs in the human brain are tailored to neuron identity and neuropsychiatric disease. **Nature Communications**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 5327, 2023.
- DONG, R. *et al.* Increased complexity of circRNA expression during species evolution. **RNA Biology**, [s. l.], 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15476286.2016.1269999>. Acesso em: 5 mar. 2024.
- DONG, M. *et al.* Prevalence of suicide attempt in individuals with major depressive disorder: a meta-analysis of observational surveys. **Psychological Medicine**, [s. l.], v. 49, n. 10, p. 1691–1704, 2019.

DU PREEZ, A. *et al.* Chronic stress followed by social isolation promotes depressive-like behaviour, alters microglial and astrocyte biology and reduces hippocampal neurogenesis in male mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s. l.], v. 91, p. 24–47, 2021.

ENGELMANN, J. *et al.* Epigenetic signatures in antidepressant treatment response: a methylome-wide association study in the EMC trial. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 1–9, 2022.

FANALE, D. *et al.* Circular RNA in Exosomes. In: XIAO, J. (org.). **Circular RNAs: Biogenesis and Functions**. Singapore: Springer, 2018. (Advances in Experimental Medicine and Biology). p. 109–117. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-13-1426-1_9. Acesso em: 29 maio 2021.

FILA, M. *et al.* Epigenetic Connection of the Calcitonin Gene-Related Peptide and Its Potential in Migraine. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 11, p. 6151, 2022.

FIORI, L. M. *et al.* Investigation of miR-1202, miR-135a, and miR-16 in Major Depressive Disorder and Antidepressant Response. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 20, n. 8, p. 619–623, 2017.

FLINT, J. The genetic basis of major depressive disorder. **Molecular Psychiatry**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 2254–2265, 2023.

GAN, H. *et al.* Circular RNAs in depression: Biogenesis, function, expression, and therapeutic potential. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 137, p. 111244, 2021.

GENG, X. *et al.* Exosomal circular RNA sorting mechanisms and their function in promoting or inhibiting cancer (Review). **Oncology Letters**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 3369–3380, 2020.

REICH, J. W.; ZAUTRA, A. J.; HALL, J. S. (ed.). **Handbook of adult resilience**. New York, NY, US: The Guilford Press, 2010. (Handbook of adult resilience). p. xix, 540

HAWTON, K. *et al.* Risk factors for suicide in individuals with depression: A systematic review. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 147, n. 1, p. 17–28, 2013.

HE, J.-G. *et al.* Dysfunction of Glutamatergic Synaptic Transmission in Depression: Focus on AMPA Receptor Trafficking. **Biological Psychiatry Global Open Science**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 187–196, 2023.

HILL, M. N. *et al.* Neurobiology of chronic mild stress: Parallels to major depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 36, n. 9, p. 2085–2117, 2012.

HOLDT, L. M. *et al.* Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans. **Nature Communications**, [s. l.], v. 7, p. 12429, 2016.

HSU, M.-T.; COCA-PRADOS, M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells. **Nature**, [s. l.], v. 280, n. 5720, p. 339–340, 1979.

HUANG, R. *et al.* N(6)-Methyladenosine Modification of Fatty Acid Amide Hydrolase Messenger RNA in Circular RNA STAG1-Regulated Astrocyte Dysfunction and Depressive-like Behaviors. **Biological psychiatry**, United States, v. 88, n. 5, p. 392–404, 2020.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Nacional de Saúde 2019: Percepção do estado de saúde, estilos de vida, doenças crônicas e saúde bucal: Brasil e Grandes Regiões**. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pns/pns-2019>. Acesso em: 2 abr. 2024.

IVANOV, A. *et al.* Analysis of Intron Sequences Reveals Hallmarks of Circular RNA Biogenesis in Animals. **Cell Reports**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 170–177, 2015.

Jl, P. *et al.* Expanded Expression Landscape and Prioritization of Circular RNAs in Mammals. **Cell Reports**, [s. l.], v. 26, n. 12, p. 3444-3460.e5, 2019.

KATZ, R. J. Animal model of depression: Pharmacological sensitivity of a hedonic deficit. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s. l.], v. 16, n. 6, p. 965–968, 1982.

KRISTENSEN, L. S. *et al.* The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. **Nature Reviews Genetics**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 675–691, 2019.

LEE, P. H. *et al.* Genomic Relationships, Novel Loci, and Pleiotropic Mechanisms across Eight Psychiatric Disorders. **Cell**, [s. l.], v. 179, n. 7, p. 1469-1482.e11, 2019.

LEE, P. H.; FENG, Y.-C. A.; SMOLLER, J. W. Pleiotropy and Cross-Disorder Genetics Among Psychiatric Disorders. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 89, n. 1, p. 20–31, 2021.

LEFFA, D. D. *et al.* Anesthetic Ketamine-Induced DNA Damage in Different Cell Types In Vivo. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 53, n. 8, p. 5575–5581, 2016.

LEVINSTEIN, M. R.; SAMUELS, B. A. Mechanisms underlying the antidepressant response and treatment resistance. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [s. l.], v. 8, 2014. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnbeh.2014.00208>. Acesso em: 6 mar. 2024.

LI, X. *et al.* CircDYM ameliorates CUMS mice depressive-like behavior and inhibits hippocampal neurons injury via miR-497a-5p/NR3C1 axis. **Brain research**, Netherlands, v. 1787, p. 147911, 2022.

LI, Z. *et al.* Circular RNA in Schizophrenia and Depression. **Frontiers in psychiatry**, [s. l.], v. 11, p. 392, 2020.

LI, X.; YANG, L.; CHEN, L.-L. The Biogenesis, Functions, and Challenges of Circular RNAs. **Molecular Cell**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 428–442, 2018.

LIAO, W. *et al.* Chronic mild stress-induced protein dysregulations correlated with susceptibility and resiliency to depression or anxiety revealed by quantitative proteomics of the rat prefrontal cortex. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–10, 2021.

LIU, X. *et al.* Interior circular RNA. **RNA Biology**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 87–97, 2020.

LIU, Y. *et al.* Ketamine abuse potential and use disorder. **Brain Research Bulletin**, [s. l.], v. 126, Neurobiology of emerging psychoactive drugs, p. 68–73, 2016.

MARAZZITI, D. *et al.* The Wicked Relationship between Depression and Metabolic Syndrome. **Clinical Neuropsychiatry**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 100–108, 2023.

MCINNES, L. A. *et al.* A retrospective analysis of ketamine intravenous therapy for depression in real-world care settings. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 301, p. 486–495, 2022.

MCINTYRE, R. S. *et al.* The effectiveness of repeated intravenous ketamine on depressive symptoms, suicidal ideation and functional disability in adults with major depressive disorder and bipolar disorder: Results from the Canadian Rapid Treatment Center of Excellence. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 274, p. 903–910, 2020.

MEHTA, S. L.; DEMPSEY, R. J.; VEMUGANTI, R. Role of Circular RNAs in Brain Development and CNS Diseases. **Progress in neurobiology**, [s. l.], v. 186, p. 101746, 2020.

MENG, S. *et al.* CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 94, 2017.

MIN, X. *et al.* Association between inflammatory cytokines and symptoms of major depressive disorder in adults. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 14, p. 1110775, 2023.

NASMYTH, K.; HAERING, C. H. Cohesin: Its Roles and Mechanisms. **Annual Review of Genetics**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 525–558, 2009.

NAVRADY, L. B. *et al.* Genetic risk of major depressive disorder: the moderating and mediating effects of neuroticism and psychological resilience on clinical and self-reported depression. **Psychological Medicine**, [s. l.], v. 48, n. 11, p. 1890–1899, 2018.

NIGRO, J. M. *et al.* Scrambled exons. **Cell**, [s. l.], v. 64, n. 3, p. 607–613, 1991.

NOLLET, M. Models of Depression: Unpredictable Chronic Mild Stress in Mice. **Current Protocols**, [s. l.], v. 1, n. 8, p. e208, 2021.

PAPPACHAN, J. M. *et al.* Multiorgan dysfunction related to chronic ketamine abuse. **Proceedings (Baylor University. Medical Center)**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 223–225, 2014.

PARK, C. *et al.* Stress, epigenetics and depression: A systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 102, p. 139–152, 2019.

PEARSON-LEARY, J. *et al.* Inflammation and vascular remodeling in the ventral hippocampus contributes to vulnerability to stress. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. e1160–e1160, 2017.

PENNER-GOEKE, S.; BINDER, E. B. Epigenetics and depression. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 397–405, 2019.

RAFIEI, D.; KOLLA, N. J. Elevated Brain Fatty Acid Amide Hydrolase Induces Depressive-Like Phenotypes in Rodent Models: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 1047, 2021.

RAHIMI, K. *et al.* Nanopore sequencing of brain-derived full-length circRNAs reveals circRNA-specific exon usage, intron retention and microexons. **Nature Communications**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 4825, 2021.

RÉUS, G. Z. *et al.* Resilience Dysregulation in Major Depressive Disorder: Focus on Glutamatergic Imbalance and Microglial Activation. **Current Neuropharmacology**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 297–307, 2018.

SAITTA, C. *et al.* Potential role of STAG1 mutations in genetic predisposition to childhood hematological malignancies. **Blood Cancer Journal**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 1–4, 2022.

SALLOUM, N. C. *et al.* Time to relapse after a single administration of intravenous ketamine augmentation in unipolar treatment-resistant depression. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 260, p. 131–139, 2020.

- SANTOMAURO, D. F. *et al.* Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. **The Lancet**, [s. l.], v. 398, n. 10312, p. 1700–1712, 2021.
- SANTOS, L. *et al.* Histone 3 Trimethylation Patterns are Associated with Resilience or Stress Susceptibility in a Rat Model of Major Depression Disorder. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12035-024-03912-3>. Acesso em: 23 fev. 2024.
- SEELER, S. *et al.* A Circular RNA Expressed from the FAT3 Locus Regulates Neural Development. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 60, n. 6, p. 3239–3260, 2023.
- TALIAZ, D. *et al.* Optimizing prediction of response to antidepressant medications using machine learning and integrated genetic, clinical, and demographic data. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–9, 2021.
- VAHID-ANSARI, F.; ALBERT, P. R. Rewiring of the Serotonin System in Major Depression. **Frontiers in Psychiatry**, [s. l.], v. 12, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/psychiatry/articles/10.3389/fpsy.2021.802581>. Acesso em: 4 mar. 2024.
- VOINESKOS, D.; DASKALAKIS, Z. J.; BLUMBERGER, D. M. Management of Treatment-Resistant Depression: Challenges and Strategies. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, [s. l.], v. 16, p. 221–234, 2020.
- VOS, T. *et al.* Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, [s. l.], v. 396, n. 10258, p. 1204–1222, 2020.
- WANG, P. L. *et al.* Circular RNA Is Expressed across the Eukaryotic Tree of Life. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. e90859, 2014.
- WANG, Q. *et al.* The recent progress in animal models of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 77, p. 99–109, 2017.
- WILLNER, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. **Neurobiology**, [s. l.], v. 52, n. 2, p. 90–110, 2005.
- WOJTAS, A. *et al.* Effect of Psilocybin and Ketamine on Brain Neurotransmitters, Glutamate Receptors, DNA and Rat Behavior. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 12, p. 6713, 2022.
- WU, D.-P. *et al.* Circular RNAs: emerging players in brain aging and neurodegenerative diseases. **The Journal of Pathology**, [s. l.], v. 259, n. 1, p. 1–9, 2023.
- XU, Y.-Y. *et al.* MicroRNA-Based Biomarkers in the Diagnosis and Monitoring of Therapeutic Response in Patients with Depression. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, [s. l.], v. 15, p. 3583–3597, 2019.
- ZAPATER-FAJARÍ, M. *et al.* Resilience and Psychobiological Response to Stress in Older People: The Mediating Role of Coping Strategies. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [s. l.], v. 13, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnagi.2021.632141>. Acesso em: 22 abr. 2024.

ZHANG, P. *et al.* Comprehensive identification of alternative back-splicing in human tissue transcriptomes. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 1779–1789, 2020.

ZHANG, Y. *et al.* Gut microbiota from NLRP3-deficient mice ameliorates depressive-like behaviors by regulating astrocyte dysfunction via circHIPK2. **Microbiome**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 116, 2019.

ZHENG, W. *et al.* Investigation of medical effect of multiple ketamine infusions on patients with major depressive disorder. **Journal of Psychopharmacology**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 494–501, 2019.

ZHENG, W. *et al.* Rapid and longer-term antidepressant effects of repeated-dose intravenous ketamine for patients with unipolar and bipolar depression. **Journal of Psychiatric Research**, [s. l.], v. 106, p. 61–68, 2018.

ZURAWEK, D. *et al.* Resilient Phenotype in Chronic Mild Stress Paradigm Is Associated with Altered Expression Levels of miR-18a-5p and Serotonin 5-HT1a Receptor in Dorsal Part of the Hippocampus. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 56, n. 11, p. 7680–7693, 2019.

ANEXO
CURRICULUM VITÆ resumido
Mendes, L. F.

1. DADOS PESSOAIS

Nome: Luiz Filipe Bastos Mendes

Local e data de nascimento: Porto Alegre, RS, Brasil. 29 de outubro de 1999.

Endereço profissional: Instituto de Ciências Básicas de Saúde, Departamento de Bioquímica, Rua Ramiro Barcelos, 2600-Prédio Anexo – Santa Cecília, Porto Alegre – RS, 90035-003

Telefone profissional: (51) 3308-5539

E-mail: luizfbmendes@gmail.com

2. FORMAÇÃO

2021-Presente: Mestrado em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.

2017-2021: Bacharelado em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Brasil.

3. ESTÁGIOS

2018-2021: Iniciação científica no Laboratório de Neurociências Clínicas da Universidade Católica de Pelotas. Supervisora: Profa. Dra. Gabriele Cordenonzi Ghislenti. Atividades desenvolvidas: Processamento de amostras de sangue, incluindo separação e preparo de seus componentes para subseqüentes análises; qPCR; Western Blot; análises de bioinformática.

4. PRÊMIOS E DISTINÇÕES

2021: Menção honrosa no Bacharelado em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, UFRGS, Brasil.

5. EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL OU DIDÁTICA ANTERIOR

2017-2019: Monitoria em bioquímica, Universidade Feral de Pelotas

6. ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS

GELAIN, D. P. *et al.* RAGE Against the Glycation Machine in Synucleinopathies: Time to Explore New Questions. **Journal of Parkinson's Disease**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 717–728.

7. RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

MENDES, L. F., *et al.* Impact of CUMS and ketamine on circRNA expression profiles in rat hippocampus. Apresentado em: Proxima Symposium, Porto Alegre, Brasil. Dezembro de 2023.

MENDES, L. F., *et al.* Effect of chronic unpredictable mild stress (CUMS) and ketamine treatment on circRNAs expression in rat hippocampus. Apresentado em: 2023 International Society of Neurochemistry Biennial Meeting. Porto, Portugal. Agosto de 2023.

MENDES, L. F., *et al.* Exploring Potential Biomarkers for COVID-19: A Comprehensive Analysis of Inflammation Markers and Their Impact on Clinical Prediction. Apresentado em: Escola Gaucha de Bioninformática. Porto Alegre, Brasil. Setembro de 2023.

MENDES, L. F., *et al.* Biogênese e mecanismos de ação de RNAs circulares em plantas. XXX Congresso de Iniciação Científica da 7ª SIIPE. Pelotas, Brasil. Outubro de 2021.

MENDES, L. F., *et al.* Associação entre o polimorfismo rs2254298 no gene do receptor de ocitocina (OXTR) com o Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) em crianças. VI Simpósio de Biotecnologia, II Mostra Acadêmica. Pelotas, Brasil. Julho de 2018.