

EFEITO DO SELENILINDOL NA REVERSÃO DO COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO INDUZIDO POR LIPOPOLISSACARÍDEO

ANGELA MARIA CASARIL¹; MICAELA DOMINGUES²; BEATRIZ VIEIRA³; EDER JOÃO LENARDÃO³; LUCIELLI SAVEGNAGO¹

¹Universidade Federal de Pelotas; Programa de Pós Graduação em Biotecnologia; Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia – angela.casaril@gmail.com; luciellisavegnago@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Pelotas; Graduação em Biotecnologia; Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia - micaela_domingues@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – Laboratório de Síntese Orgânica Limpa – biamvieira14@hotmail.com; elenardao@uol.com.br

1. INTRODUÇÃO

A depressão maior (DM) é a principal doença neuropsiquiátrica que leva a incapacidade em todo o mundo, afetando atualmente 350 milhões de indivíduos (JO et al., 2015). A DM não tem tratamento eficiente, sendo que 30% dos pacientes não respondem aos medicamentos existentes (MILLER, 2009). Embora a patofisiologia da DM não esteja completamente elucidada, sabe-se que há o envolvimento da neuroinflamação, do estresse oxidativo e do desequilíbrio da neurotransmissão monoaminérgica (SCHIEPERS et al., 2005). Além disso, níveis reduzidos de selênio (Se) no cérebro estão associados com declínio cognitivo e maior risco de desenvolvimento da DM (CONNER et al., 2015). Nesse sentido, os compostos orgânicos de Se tem se destacado por apresentarem ação antioxidante (MARTINEZ, et al., 2015) e antidepressiva (BROD, et al., 2016). Similarmente, os indois constituem uma classe importante de moléculas bioativas, sendo encontrados por exemplo na estrutura da serotonina (KAUSHIK et al., 2013).

Diante da busca por novos tratamento, o lipopolissacarídeo (LPS) vem sendo utilizado nas pesquisas pré-clínicas como um indutor do comportamento tipo-depressivo, acarretando em alterações neuroquímicas, comportamentais e neuroendócrinas similares às encontradas em pacientes depressivos (SCHIEPERS et al., 2005).

Portanto, sabendo-se que a união de duas ou mais porções bioativas em uma única molécula é uma estratégia interessante para o desenvolvimento de novos fármacos (MARTINEZ, et al., 2015), o objetivo do presente trabalho foi o de avaliar o efeito de um selenilindol na reversão do comportamento tipo-depressivo induzido por LPS em camundongos.

2. METODOLOGIA

2.1. Compostos

O composto 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol (CFSeMI) (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas e diluído em óleo de canola para administração pela via oral (v.o.). O LPS de *Escherichia coli*, sorotipo 0127:B8 foi obtido da Sigma-Aldrich., St Louis USA e diluído em salina para administração pela via intraperitoneal (i.p.). Todas as moléculas foram administradas na dose constante de 10 ml/Kg de peso corporal.

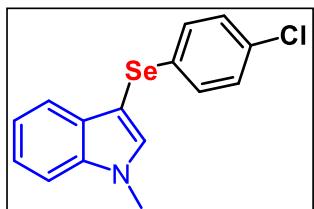


Figura 2. Estrutura do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol.

2.2. Animais

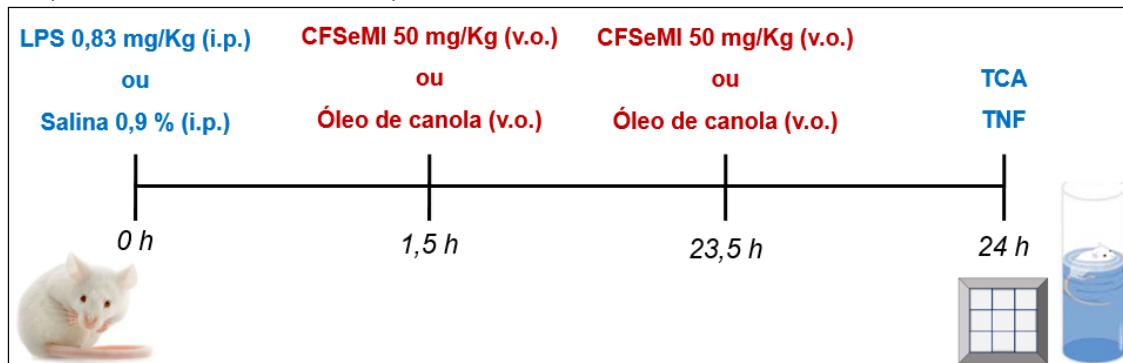
Foram utilizados camundongos Swiss machos adultos (25-30 g), mantidos sob condições ambientais padrão (22 ± 1 °C e ciclo claro/escuro de 12 h), com livre acesso a água e comida. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA/UFPel nº 7034-2015).

2.3. Protocolo experimental

A capacidade do CFSeMI em reverter o comportamento tipo-depressivo induzido por LPS foi avaliada de acordo com o protocolo ilustrado na Figura 2. Os camundongos foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais:

- (I) Salina 0,9% (i.p.) + óleo de canola (v.o.) 1,5 h depois.
- (II) LPS 0,83 mg/Kg (i.p.) + óleo de canola (v.o.) 1,5 h depois.
- (III) LPS 0,83 mg/Kg (i.p.) + CFSeMI 50 mg/Kg (v.o.) 1,5 h depois.
- (IV) LPS 0,83 mg/Kg (i.p.) + CFSeMI 50 mg/Kg (v.o.) 23,5 h depois.

Totalizando 24 h após a administração de LPS, todos os camundongos foram submetidos sequencialmente ao teste do campo aberto (TCA) e teste do nado forçado (TNF). A dose do CFSeMI foi selecionada de acordo com estudos prévios do nosso grupo de pesquisa (CASARIL, 2015). Considerando-se que o LPS induz um comportamento doentio (*sickness behavior*) aproximadamente 2 h após sua administração (HUANG et al., 2008), o CFSeMI foi administrado 1,5 h após o LPS. O tempo de 23,5 h foi selecionado considerando-se que compostos orgânicos de Se apresentam atividade farmacológica significativa 30 min após sua administração (CASARIL et al., 2015; MARTINEZ et al., 2015; BROD et al., 2016). Nas duas situações os testes comportamentais foram realizados 24 h após a administração do LPS, uma vez que esse é o tempo necessário para indução do comportamento tipo-depressivo, validado como um modelo animal para estudo da DM (CUSTÓDIO et al., 2013).

**Figura 2.** Diagrama esquemático do protocolo experimental utilizado no estudo. TCA: teste do campo aberto. TNF: teste do nado forçado

2.4. Testes comportamentais

2.4.1. Teste do campo aberto

Os animais foram individualmente colocados no centro de uma caixa (30 x 30 x 15 cm) dividida em nove quadrantes iguais, e observados por 6 min para avaliar a sua atividade locomotora (número de quadrantes cruzados) e exploratória (número de elevações) (WALSH E CUMMINS, 1976).

2.4.2. Teste do nado forçado

Cada camundongo é colocado individualmente em um cilindro (15 cm de diâmetro, 25 cm de altura) contendo 40 cm de água a aproximadamente 25 °C. O total de tempo que o animal permanece sem nadar durante 6 min foi observado e anotado como tempo de imobilidade (PORSOLT et al., 1977).

2.5. Análise estatística

Os resultados foram analisados por Análise de Variância ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls, através do software GraphPad Prism 5.0. Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão e considerados significativos quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo sugere que o CFSeMI pode ser um promissor candidato para o tratamento da DM, uma vez que é capaz de reverter o efeito tipo-depressivo causado pela administração de LPS, como evidenciado na FIGURA 3A. Vale destacar que o composto não causa alterações locomotoras e exploratórias nos animais (FIGURA 3B/3C), indicando que o efeito tipo-antidepressivo não ocorre devido a um estímulo geral da atividade motora.

Estudos demonstram que o comportamento imóvel dos camundongos tratados com LPS no TNF é um indicativo do seu estado tipo-depressivo, o qual pode ser reduzido com a administração de compostos com efeito do tipo-antidepressivo (SHCHIEPERS et al., 2005). Diante disso, pode-se notar que o CFSeMI exerce ação tipo-antidepressiva por reduzir o tempo de imobilidade dos animais quando administrado em 1,5 h ou 23,5 h após o desafio com LPS. Ressalta-se que o composto administrado sem indução do comportamento tipo-depressivo por LPS não exerce atividade farmacológica quando comparado ao controle (CASARIL et al., 2015).

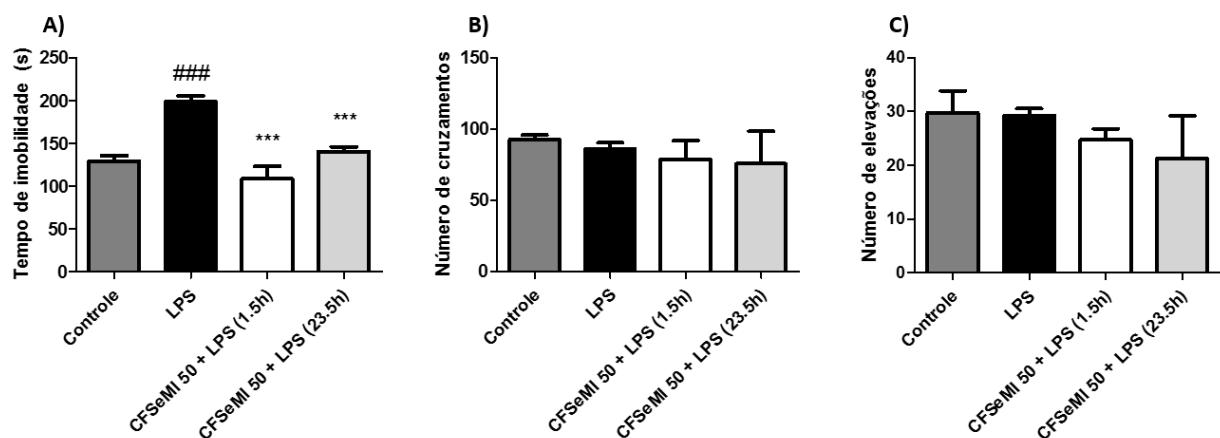


Figura 3. Efeito do CFSeMI (50 mg/Kg) administrado em camundongos com comportamento tipo-depressivo induzido por LPS (0,83 mg/Kg). (A) tempo de imobilidade no teste do nado forçado; (B) número de cruzamentos e (C) número de elevações no teste do campo aberto. Resultados são expressos como média ± desvio padrão. As análises foram feitas por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls. (***): $p < 0,001$ quando comparado ao grupo LPS; (###): $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle.

A partir dos resultados obtidos, sugere-se que o efeito tipo-antidepressivo do CFSeMI administrado 1,5 h após o LPS ocorre devido a modulações em eventos neuroquímicos no processo depressivo induzido pela endotoxina. Adicionalmente, a atividade tipo-antidepressiva do composto administrado 23,5 h após o LPS restaura as alterações neuroquímicas provocadas pelo mesmo.

4. CONCLUSÕES

Nesse trabalho demonstrou-se que a administração de CFSeMI em diferentes tempos foi capaz de reverter o efeito tipo-antidepressivo induzido por LPS. Esse resultado é bastante promissor, uma vez que a reversão da DM requer grande potencial terapêutico da molécula, juntamente com a modulação de diferentes vias envolvidas com a doença, o que nos impulsiona a seguir investigando o mecanismo de ação desse selenilindol.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROD, L. M. P.; FRONZA, M. G.; VARGAS, J. P.; LUDTKE, D. S.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A.; SAVEGNAGO, L. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of (octylseleno)-xylofuranoside in the mouse tail suspension test. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, v. 65, p. 201-207, 2016.
- CASARIL, A.M. **Efeito do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol no comportamento tipo- depressivo induzido pelo lipopolissacárido em camundongos.** 2015. 75f. Monografia (Bacharelado em Biotecnologia) – Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas.
- CONNER, T. S.; RICHARDSON, A. C.; MILLE, J. C. Optimal Serum Selenium Concentrations Are Associated with Lower Depressive Symptoms and Negative Mood among Young Adults. *J. Nutr.*, v. 45 p. 59-65, 2015.
- CUSTODIO, C.S.; MELLO, B.S.; CORDEIRO, R.C.; DE ARAUJO, F.Y.; CHAVES, J.H.; VASCONCELOS, S.M.; NOBRE JÚNIOR, H.V.; de SOUZA, F.C.; VALE, M.L.; CARVALHO, A.F.; MACÊDO, D.S. Time course of the effects of lipopolysaccharide on prepulse inhibition and brain nitrite content in mice. *Europ. J. Pharmacol.*, v. 9, p. 31-38, 2013.
- HUANG, Y.; HENRY, C.J.; DANTZER, R.; JOHNSON, R.W.; GODBOUT, J.P. Exaggerated sickness behavior and brain proinflammatory cytokine expression in aged mice in response to intracerebroventricular lipopolysaccharide. *Neurobiol. Aging*, v. 29, p. 1744-1753, 2008.
- JO, W.K.; ZHANG, Y.; EMRICH, H.M.; DIETRICH, D.E. Glia in the cytokine-mediated onset of depression: fine tuning the immune response. *Front. Cell. Neurosci.*, v. 9, p. 268, 2015.
- KAUSHIK, N. K.; KAUSHIK, N.; ATTRI, P.; KUMAR, N.; KIM, C. H.; VERMA, A. K.; CHOI, E. H. Biomedical importance of indoles. *Molecules*, v. 18, p. 6620-6662, 2013.
- MARTINEZ, D.M.; BARCELLOS, A.M.; CASARIL, A.M.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; SCHIESSER, C.H.; CALLAGHAN, K.L.; LENARDÃO, E.J. Twice acting antioxidants: synthesis and antioxidant properties of selenium and sulphur-containing zingerone derivatives. *Tetrahedron Lett.*, v.56, p.2243-2246, 2015.
- MILLER, A. H.; MALETIC, V.; RAISON, C. Inflammation and its discontents: The role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol. Psychiatry*, v. 65, p. 732-741, 2009.
- PORSOLT, R. D.; LEPICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, v. 2, p. 266-270, 1977.
- SCHIEPERS, O. J G.; WICHERS, M. C.; MAES, M. Cytokines and major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, v. 29, p. 201-217, 2005.
- WALSH, R.N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: a critical review. *Psychol. Bull.*, v. 83, p. 482-504, 1976.