

UM COMPOSTO ORGANICO DE SELENIO REVERTE O COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO EM CAMUNDONGOS PORTADORES DE TUMOR

ANGELA MARIA CASARIL¹; THIAGO SMANIOTTO²; DARLING DE ANDRADE LOURENCO²; TIAGO COLLARES²; FABIANA SEIXAS²; LUCIELLI SAVEGNAGO³

¹Universidade Federal de Pelotas – angela.casaril@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – atsmaniotto@hotmail.com; darlinglourengo@gmail.com; collares.t@gmail.com; seixas.fk@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – lucellisavegnago@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o câncer mais comum entre as mulheres, e 20 a 30% delas experienciam sintomas depressivos ao longo da progressão da doença (BOWER, 2008). Células cancerígenas liberam citocinas pro-inflamatórias e padrões moleculares associados ao perigo (DAMPs) que estimulam o sistema imune. Através do eixo sistema imune-cérebro, o sistema nervoso central monitora as respostas imunes periféricas resultando na produção de citocinas pro-inflamatórias pela micróglia, evento esse que está associado com a presença de sintomas depressivos.

Uma das consequências da sinalização de citocinas e DAMPs no sistema nervoso central é a ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B). Sua ativação induz a expressão de citocinas pro-inflamatórias, como a interleucina 1 beta (IL-1 β) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), e enzimas produtoras de espécies reativas, como a oxido nítrico sintase induzível (iNOS). Essas citocinas pro-inflamatórias e espécies reativas participam de um ciclo vicioso de produção através de um mecanismo de *feedforward*, acarretando na produção excessiva de ambas. O excesso de espécies reativas, quando não neutralizadas pelas defesas antioxidantes, é particularmente prejudicial pois pode levar a danos em biomoléculas, como proteínas, lipídeos e DNA. Vale destacar que, tanto o estresse oxidativo quanto a neuroinflamação são características de pacientes depressivos.

Embora a comunicação do sistema imune-cérebro tem sido explorada no contexto do câncer, há poucos estudos investigando possíveis terapias para o tratamento dos sintomas psiquiátricos que surgem no decorrer da doença. Portanto, tendo em vista a prevalência de sintomas psiquiátricos em pacientes com câncer e o papel da sinalização pró-inflamatória e do estresse oxidativo no curso da depressão, hipotetizou-se que o composto 3-((4-clorofenil)selanil)-1-metil-1H-indol (CMI) seria capaz de reverter o comportamento tipo-depressão em um modelo heterotópico de carcinoma mamário de camundongo. O CMI é um composto antioxidante contendo selênio que também é capaz de reverter o comportamento tipo-depressivo em camundongos submetidos ao estresse agudo de restrição (CASARIL et al., 2019). Além disso, o CMI inibe os oxidantes associados à inflamação, como o peroxinitrito e peróxido de hidrogênio, destacando seu perfil antioxidante e imunomodulador (CASARIL et al., 2017). Abordar o efeito antidepressivo do CMI em camundongos portadores de tumor fornece pistas para uma nova estratégia terapêutica adjuvante visando a modulação do sistema antioxidante e da neuroinflamação para o manejo de sintomas psiquiátricos relacionados ao câncer.

2. METODOLOGIA

2.1. Animais

Foram utilizados camundongos BALB/c fêmeas (5 semanas) obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais foram mantidos em condições padrões de temperatura e umidade com livre acesso a água e comida. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da mesma universidade (CEEAA 8373).

2.2. CMI

O CMI (Figura 1) foi sintetizado de acordo com VIEIRA et al. (2017), diluído em óleo de canola e administrado pela via oral na dose de 10 mg/Kg.

2.3. Linhagem tumoral

As células murinas de carcinoma mamário 4T1 são derivadas de tumores mamários de origem espontânea em camundongos BALB/c e foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro. As células foram cultivadas em meio RPMI-1640 modificado e mantidas a 37 °C e 5% de CO₂ em uma estufa umidificada. As células foram ressuspensas em tampão fosfato-salina (PBS) para injeção e os animais controles receberam o mesmo volume de PBS.

2.4. Design experimental

O diagrama experimental utilizado para o presente trabalho está representado na Figura 1. No dia 0, os animais receberam injeção subcutânea de 1×10^5 células 4T1 ou PBS no flanco direito (modelo tumoral heterotópico). No dia 7, os tumores tornaram-se palpáveis. Entre os dias 14 até 21, os animais foram tratados uma vez ao dia com o CMI 10 mg/kg ou óleo de canola pela via oral. O tamanho do tumor foi mensurado nos dias 0, 7, 14 e 21. Os testes comportamentais e a eutanásia foram realizados no dia 21.

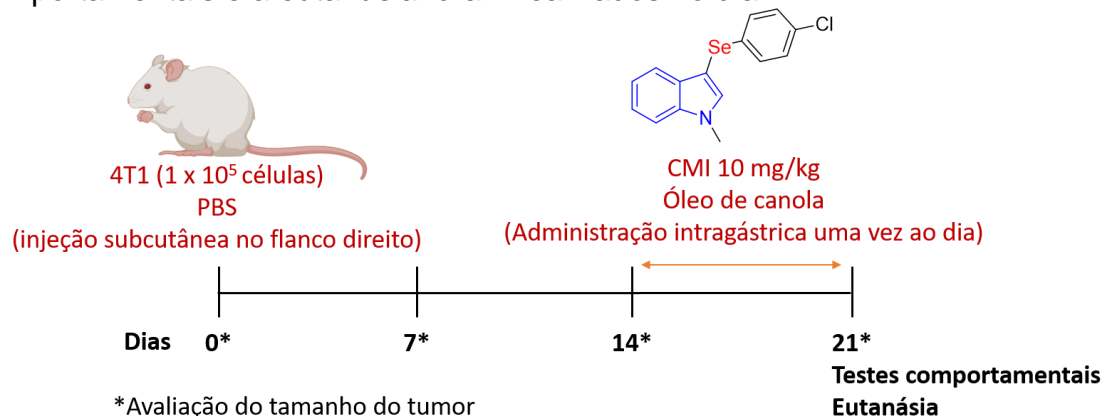


Figura 1. Representação do protocolo experimental utilizado no estudo.

2.5. Testes comportamentais

No dia 21, os animais foram inicialmente submetidos ao teste do campo aberto (TCA) para avaliação de possíveis alterações psicocomportamentais e exploratórias decorrentes do tratamento. Na sequência, os animais foram submetidos ao teste de suspensão (TSC) da cauda para a avaliação do comportamento tipo-depressivo.

2.6. Testes bioquímicos

Ao término dos ensaios comportamentais, os animais foram eutanasiados para a remoção do cérebro e coleta dos dois hemisférios do hipocampo para a

realização das análises bioquímicas. Os hemisférios esquerdos foram utilizados para a avaliação da expressão genica (NF- κ B, IL-1 β , TNF- α e iNOS) através de PCR da transcrição reversa (RT-PCR), enquanto que os hemisférios direitos foram utilizados para a determinação dos níveis de espécies reativas (ER) e peroxidação lipídica através da determinação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico.

2.7. Análise estatística

A análise de comparação do tamanho do tumor entre os camundongos com e sem tratamento com CMI foi realizada por teste de *t*. Os demais dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias seguido pelo teste *post hoc* de Tukey. Todos os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média. Os valores foram considerados significativos quando $p \leq 0.05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação das células 4T1 em camundongos BALB/c fêmeas desencadeou o crescimento tumoral, o qual foi consistente entre os animais até o dia 21. O teste de *t* comparando o tamanho tumoral dos camundongos com e sem tratamento com CMI não revelou diferença estatística nos dias 7, 14, e 21, indicando que o tratamento com CMI não influenciou o crescimento tumoral (dados não mostrados).

Em relação as análises comportamentais, o número de cruzamentos e elevações avaliados no TCA não foi alterado pela inoculação do tumor ou pelo tratamento com CMI, excluindo possíveis alterações psicocomotoras que possam influenciar no TSC. Por sua vez, o TSC revelou que os animais portadores de tumor apresentaram maior tempo de imobilidade (indicando o estado tipo-depressivo), o qual foi revertido pela administração de CMI, sugerindo seu efeito tipo-antidepressivo (Figura 2A).

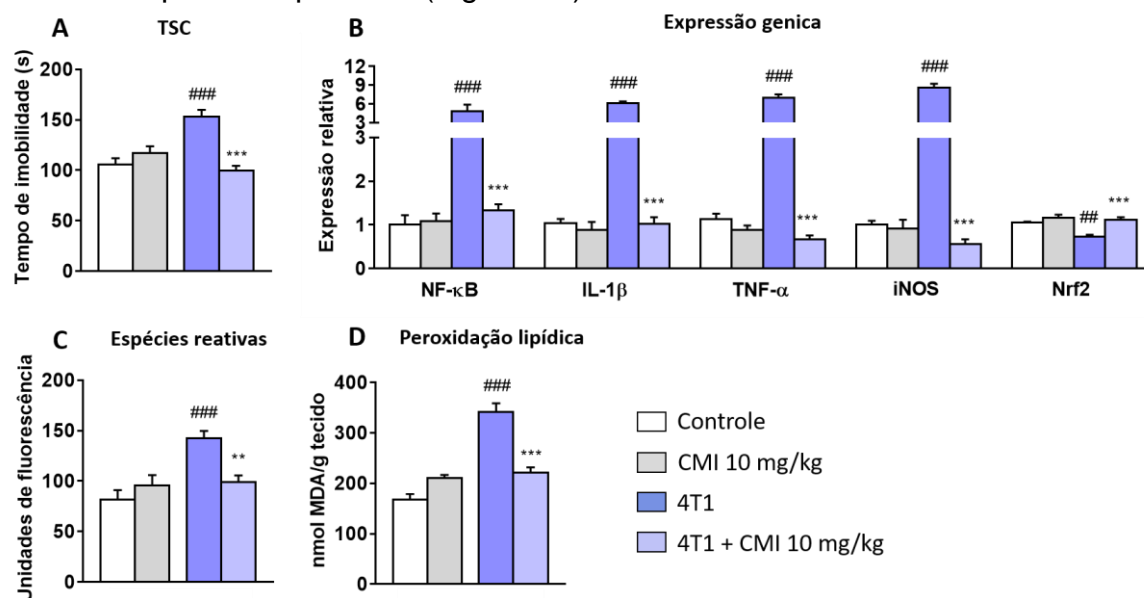


Figura 2. Efeito do CMI na reversão das alterações comportamentais e neuroquímicas em camundongos portadores de tumor. (A) Teste de suspensão da cauda (TSC). (B) Quantificação dos níveis de espécies reativas (ER). (C) Peroxidação lipídica. (D) Expressão dos genes NF- κ B, IL-1 β , TNF- α e iNOS. ## $p < 0,01$ e ### $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle. ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparado aos animais inoculados com células 4T1.

Ao mesmo tempo em que o CMI apresentou efeito tipo-antidepressivo, ele também foi capaz de reverter o aumento na expressão do NF- κ B, IL-1 β , TNF- α e iNOS no hipocampo dos animais portadores de tumor (Figura 2B). Essas alterações foram acompanhadas pela redução nos níveis de ER (Figura 2C) e peroxidação lipídica (Figura 2D) no hipocampo dos animais portadores de tumor. O tratamento com CMI nos animais que não receberam a inoculação de células tumorais não alterou nenhum dos parâmetros avaliados, reforçando a segurança no uso dessa molécula. Considerando-se que alterações morfológicas e funcionais tem sido frequentemente encontradas no hipocampo de pacientes depressivos, a reversão da neuroinflamação e do estresse oxidativo no hipocampo de camundongos portadores de tumor ajuda a explicar o efeito tipo-antidepressivo do CMI.

Através dos resultados encontrados, podemos sugerir que o CMI reverte o comportamento tipo-depressivo induzido pela presença de um tumor mamário em camundongos fêmeas. Mecanicamente, acreditamos que o CMI apresenta efeito tipo-antidepressivo por ser capaz de reverter a neuroinflamação e o estresse oxidativo no hipocampo dos animais portadores de tumor, possivelmente pela modulação da expressão do fator de transcrição NF- κ B e da neuroinflamação e estresse oxidativo subsequente.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que o CMI apresenta efeito tipo-antidepressivo em camundongos portadores de tumor mamário, e ao mesmo tempo, reverte a neuroinflamação e o estresse oxidativo hipocampal. O CMI não teve efeito no crescimento do tumor, portanto não deve ser tratado como um medicamento quimioterápico, mas como uma terapia adjuvante para melhorar os sintomas depressivos. O uso da quimioterapia adjuvante é amplamente reconhecido como um componente importante do tratamento multimodal, e encontrar medicamentos para tratar a depressão induzida pelo câncer seria um avanço notável no sentido de melhorar a qualidade de vida dos pacientes com câncer.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOWER, J.E. Behavioral symptoms in patients with breast cancer and survivors, **Journal of Clinical Oncology**, 26:768–777, 2008.
- CASARIL, A.M.; DOMINGUES, M.; BAMPI, S.R.; LOURENCO, D.; PADILHA, N.B.; LENARDÃO, E.J.; SONEGO, M.; SEIXAS, F.K.; COLLARES, T.; NOGUEIRA, C.W.; DANTZER, R.; SAVEGNAGO, L. The selenium-containing compound 3-((4-chlorophenyl)selenyl)-1-methyl-1H-indole reverses depressive-like behavior induced by acute restraint stress in mice: modulation of oxidonitrosative stress and inflammatory pathway. **Psychopharmacology**, doi:10.1007/s00213-018-5151-x, 2019.
- CASARIL, A.M.; IGNASIAK, M.T.; CHUANG, C.Y.; VIEIRA, B.; PADILHA, N.; CARROLL, L.; LENARDÃO, E.J.; SAVEGNAGO, L.; DAVIES, M. Selenium-containing indolyl compounds: kinetics of reaction with inflammation-associated oxidants and protective effect against oxidation of extracellular matrix proteins, **Free Radical Biology Medicine**, 113: 395-405.
- VIEIRA, B.M.; THUROW, S.; DA COSTA, M.; CASARIL, A.M.; DOMINGUES, M.; SCHUMACHER, R.F.; PERIN, G.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; LENARDÃO, E.J. Ultrasound-Assisted Synthesis and Antioxidant Activity of 3-Selenyl-1 H-indole and 3-Selenylimidazo[1,2-a]pyridine Derivatives. **Asian Journal of Organic Chemistry**, 6:1635-1646, 2017.