

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

**ANGELA MARIA CASARIL**<sup>1</sup>; **THIAGO SMANIOTTO**<sup>2</sup>; **DARLING DE ANDRADE LOURENCO**<sup>2</sup>; **TIAGO COLLARES**<sup>2</sup>; **FABIANA SEIXAS**<sup>2</sup>; **LUCIELLI SAVENAGA**<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – angelacasaril@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – atsmaniotto@hotmail.com; darlinglourenco@gmail.com; collares.t@gmail.com; seixas.fk@gmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – lucielisavenaga@yahoo.com.br*

### 1. INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o câncer mais comum entre as mulheres, e 20 a 30% delas expericiham 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 micrógia, 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-κB). Sua ativação induz a expressão de citocinas pro-inflamatórias, como a interleucina 1 beta (IL-1β) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), e enzimas produtoras de espécies reativas, como a óxido 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 (CEEA 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 CO<sub>2</sub> 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 x 10<sup>5</sup> 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.

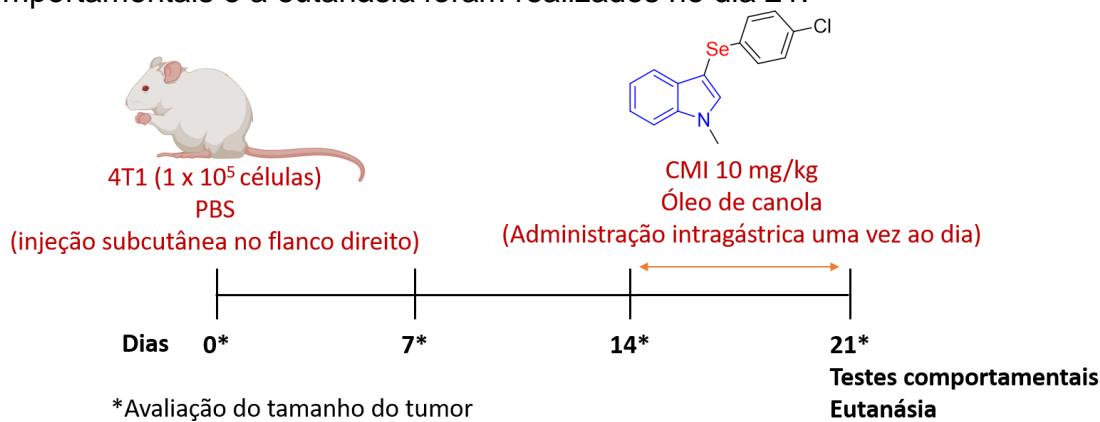


Figura 1. Representação do protocolo experimental utilizado no estudo.

### 2.5. Testes comportamentais

No dia 21, os animais foram inicialmente submetidos ao teste do campo aberto (TCA) para avaliação de possíveis alterações psicolocomotoras 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 genética (NF-κB, IL-1β, 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 ± 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 às 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 psicolocomotoras 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).

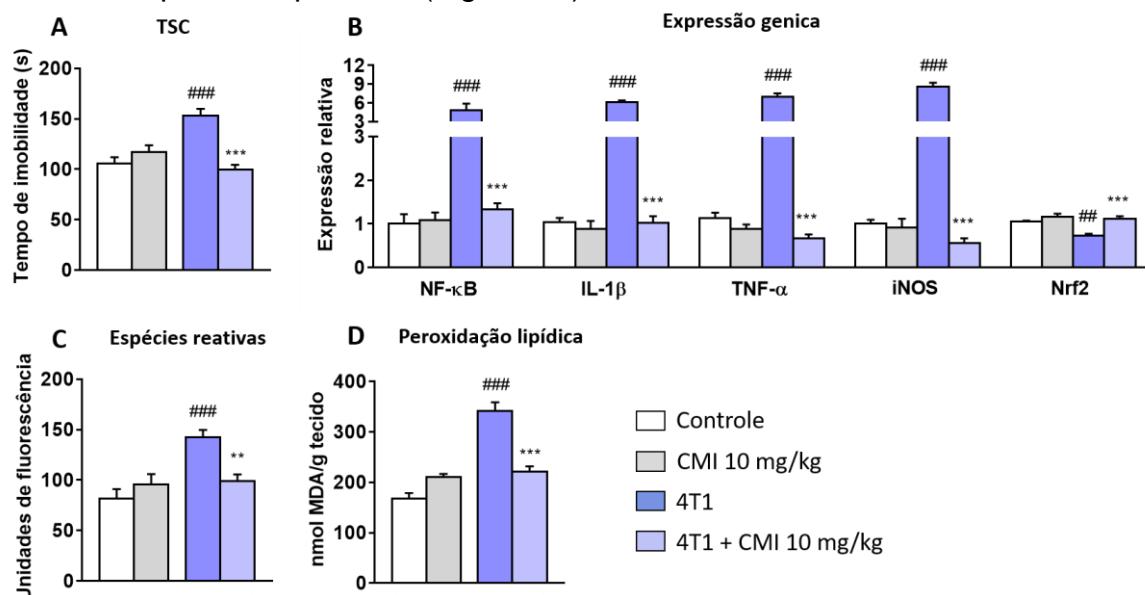


Figura 2. Efeito do CMI na reversão das alterações comportamentais e neuroquímicas em camundongos portadores de tumor. (A) Teste de suspensão da cauda (TSC). (B) Quantificação dos níveis de espécies reativas (ER). (C) Peroxidação lipídica. (D) Expressão dos genes NF-κB, IL-1β, TNF-α e iNOS. <sup>##</sup>p<0,01 e <sup>###</sup>p<0,001 quando comparado ao grupo controle. <sup>\*\*</sup>p<0,01 e <sup>\*\*\*</sup>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-κB, IL-1β, 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-κB 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)selanyl)-1-methyl-1H-indole reverses depressive-like behavior induced by acute restraint stress in mice: modulation of oxido-nitrosative 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-Selanyl-1 H-indole and 3-Selanylimidazo[1,2-a]pyridine Derivatives. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 6:1635-1646, 2017.