

EFEITO TIPO-ANTIDEPRESSIVO DE UMA TRIAZOIL-ZIDOVUDINA

THIAGO Â. SMANIOTTO¹; MICAELA DOMINGUES²; CAROLINA GOMES³;
ANGELA MARIA CASARIL³; DIEGO ALVES³; LUCIELLI SAVEGNAGO⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – tasmaniotto@hotmail.com

²Johannes Gutenberg University – micaela_domingues@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – carolgomes.estrela@hotmail.com; angela.casaril@gmail.com;
diego.alves@ufpel.edu.br

⁴ Universidade Federal de Pelotas – luciellisavegnago@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A depressão é caracterizada como um dos transtornos neuropsicológicos que mais afetam a população mundial. Os sintomas que se manifestam são aflição, indecisão, culpa, autoflagelação e mutilação (WHO, 2017). Acredita-se que o estresse diário seja um dos fatores que leve ao desenvolvimento deste transtorno neuropsiquiátrico, o qual origina alterações neuroquímicas e neuroinflamatórias.

A fim de descobrir novos fármacos com efeito antidepressivo, o modelo animal de indução pelo estresse crônico e imprevisível e moderado (ECIM) vem sendo utilizado como indutor de comportamento tipo-depressivo. O ECIM é um modelo de estudo de depressão bastante validado pois promove alterações neuroquímicas e comportamentais semelhantes a de humanos (SONG et al., 2018).

Umas das alterações ocasionadas pelo estresse é a produção excessiva de espécies reativas (ER) de oxigênio e nitrogênio. Quando o excesso dessas ER não é neutralizado, elas causam danos às biomoléculas, como DNA, lipídios e proteínas. No entanto, os danos oxidativos podem ser revertidos por substâncias que apresentam atividade antioxidante. Esse aumento excessivo de ER e/ou a diminuição das defesas antioxidantes é chamado de estresse oxidativo (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1995).

Através dessa perspectiva, o objetivo foi avaliar a capacidade tipo-antidepressiva do composto 5-(4-fluorofenil)-1-(2-(hidroximetil)-5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidina-1-(2H)-il)tetra-hidrofuran-3-il)-1H-1,2,3-triazol-4-carbonitril (4-FTzCNAZT) no modelo de ECIM, através do teste de suspensão da cauda (TSC) e teste do nado forçado (TNF), bem como avaliação do efeito antioxidante nos ensaios de determinação dos níveis de espécies reativas (ER) e ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

2. METODOLOGIA

2.1 MOLÉCULA

O 4-FTzCNAZT (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas. O 4-FTzCNAZT foi diluído em óleo de canola e administrado na dose de 1 mg/Kg pela via oral (no volume de 10 mL/Kg).

2.2. ECIM

Foram utilizados camundongos Swiss machos (25–35 g) obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da mesma universidade (19193).

O ECIM é um modelo utilizado para induzir o comportamento tipo depressivo em camundongos, que consiste em aplicar durante 28 dias, diferentes

tipos de estressores, tais como: restrição hídrica (24 h), restrição alimentar (24 h), pressão na cauda (10 min) 1x ao dia, restrição dos movimentos em falcons fenestrado (2 h) e caixa inclinada com maravilhosa umedecida (24 h). Após os 28 dias de estresse, os animais passam por 24 horas sem nenhum estressor. Decorrido esse tempo, os camundongos recebem a administração do composto 4-FTzCNAZT na dose de 1mg/kg (ou óleo de canola), e 30 min após foram realizados os testes comportamentais seguidos de eutanásia. Os animais não submetidos ao estresse permaneceram em suas caixas durante todo o período do protocolo.

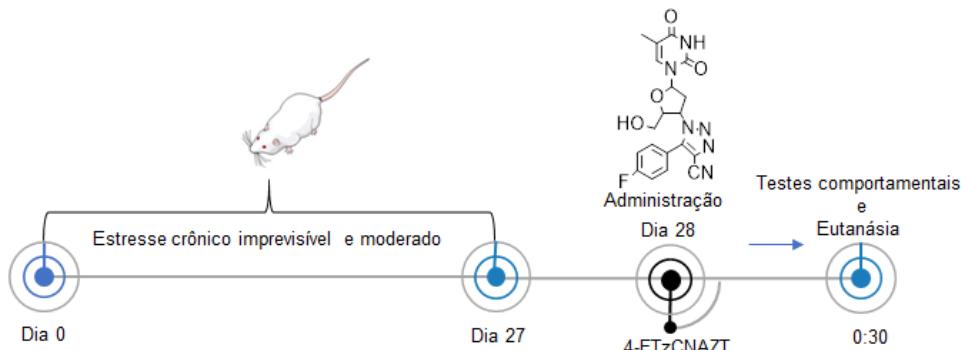


Figura 1: Linha do tempo.

2.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

2.3.1 Teste da suspensão da cauda (TSC)

O teste de suspensão da cauda, foi utilizado para avaliar o comportamento tipo-depressivo dos camundongos submetidos ao ECIM. O método utilizado foi de acordo com STERU et al. (1985), onde cada camundongo foi suspenso pela cauda com uma fita (aproximadamente 50 cm do chão) para análise do tempo de imobilidade do animal durante os 4 min finais de uma sessão de 6 min (os primeiros 2 min são para ambientação).

2.3.2 Teste do nado forçado (TNF)

De acordo com PORSOLOT; LE PICHON; JALFRE (1977), um elevado tempo de imobilidade apresentado no teste do nado forçado evidencia que o camundongo apresenta comportamento tipo-depressivo. Nesse teste, os camundongos foram colocados em um cilindro de 25 cm de altura, e 10cm de diâmetro, com aproximadamente 18 cm de água (mantida a 25°C). O tempo de imobilidade dos animais foi avaliado durante os 4 min finais de uma sessão de 6 min (os primeiros 2 min são para ambientação).

2.4 TESTES BIOQUÍMICOS

Após os ensaios comportamentais, os camundongos foram eutanasiados por overdose de isoflurano para remoção do cérebro e coleta do córtex pré-frontal e do hipocampo para as análises bioquímicas. Os tecidos foram homogeneizados em tampão Tris HCl 50 mM pH 7,4, centrifugados a 2500 g e o sobrenadante foi coletado para as análises.

2.4.1 Ensaio das espécies reativas (ER)

Os níveis de ER foram determinados espectrofluorimetricamente no córtex pré-frontal e no hipocampo dos camundongos (LOETCHUTINAT et al., 2005). O protocolo é baseado na observação de que ER são capazes de emitir fluorescência ao reagirem com a diclorofluoresceína, lidas com emissão a 520 nm e excitação de 488 nm.

2.4.2 Ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O ensaio de TBARS foi realizado para avaliar os níveis de peroxidação lipídica no córtex pré-frontal e no hipocampo dos camundongos (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICAS

Os resultados obtidos foram analisados pela análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguido de posterior teste *post hoc* de Tukey, utilizando o programa GraphPad 7.0. Todos os resultados estão expressos com média \pm desvio padrão, e considerados significativos quando $p<0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstram que o ECIM induziu o comportamento tipo-depressivo nos camundongos. Além disso, o tratamento com o 4-FTzCNAZT foi capaz de reverter o aumento no tempo de imobilidade no TSC (Figura 2A) e no TNF (Figura 2B), indicando seu efeito tipo-antidepressivo.

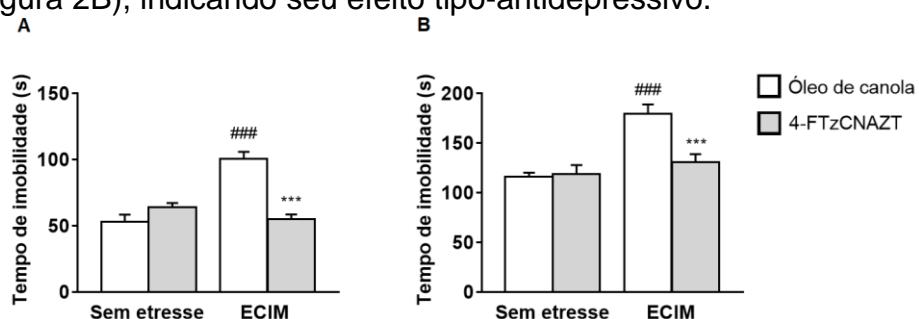


Figura 2: Efeito do 4-FTzCNAZT no tempo de imobilidade no TSC (A) e no TNF (B) em camundongos submetidos ou não ao ECIM. Os dados são expressos em média \pm desvio padrão ($n=8$). $###p<0,001$ quando comparado com o grupo controle. $***p<0,001$ quando comparado com o grupo estressado.

Além do efeito tipo-antidepressivo, pode-se observar que o 4-FTzCNAZT reverteu o aumento na formação de ER no córtex pré-frontal (Figura 3A) e no hipocampo (Figura 3B) dos camundongos submetidos ao ECIM. De modo similar, o tratamento com o 4-FTzCNAZT reverteu o aumento da peroxidação lipídica no córtex pré-frontal (Figura 4A) e no hipocampo (Figura 4B) dos camundongos com comportamento tipo-depressivo.

Sabendo-se que o estresse oxidativo está presente em pacientes depressivos, a capacidade do 4-FTzCNAZT em reverter os marcadores de estresse oxidativo nas estruturas cerebrais dos animais submetidos ao ECIM pode ajudar a explicar o efeito tipo-antidepressivo apresentado pela molécula.

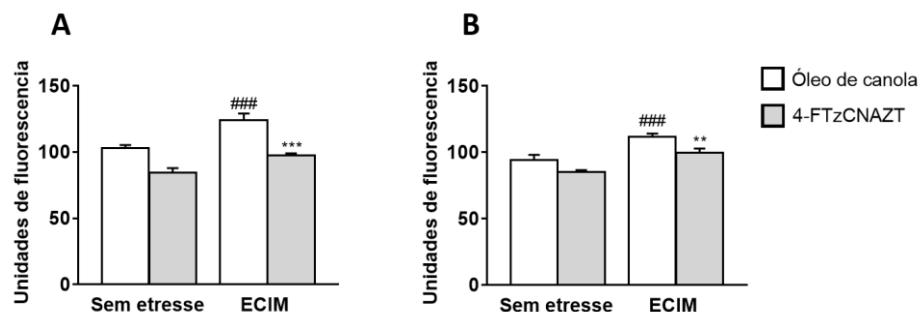


Figura 3: Efeito do 4-FTzCNAZT em neutralizar as espécies reativas no córtex pré-frontal (Figura 3A) e no hipocampo (Figura 3B) de camundongos submetidos ou não ao ECIM. Os dados são

expressos em média \pm desvio padrão (n=8). $###p<0,001$ quando comparado com o grupo controle. $**p<0,001$ e $^{**}p<0,01$ quando comparado com o grupo estressado.

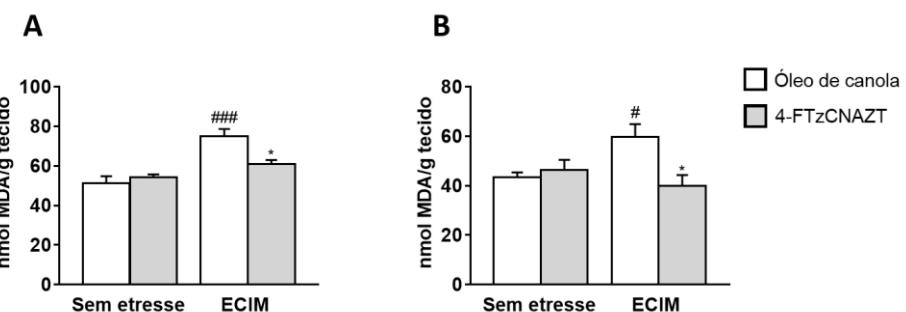


Figura 4: Efeito do 4-FTzCNAZT em reverter a peroxidação lipídica no córtex pré-frontal (Figura 4A) e no hipocampo (Figura 4B) de camundongos submetidos ou não ao ECIM. Os dados são expressos em média \pm desvio padrão (n=8). $###p<0,001$ e $^{*}p<0,05$ quando comparado com o grupo controle. $^{**}p<0,05$ quando comparado com o grupo estressado.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o 4-FTzCNAZT apresenta efeito tipo-antidepressivo em camundongos submetidos ao ECIM, além de reverter o estresse oxidativo no córtex pré-frontal e hipocampo desses animais, indicando que a molécula apresenta propriedades antioxidantes promissoras. Novos testes devem ser efetuados para uma melhor análise das propriedades farmacológicas da molécula para o tratamento da depressão.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biol. Med.*, v. 18, p. 125-126, 1995.
- LOETCHUTINAT, C. et al. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2',7'-dichlorofluorescein diacetate assay. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 72, n. 2-3, p. 323-331, 2005.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.
- PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.
- SONG, Y. et al. Perilla aldehyde attenuates CUMS-induced depressive-like behaviors via regulating TXNIP/TRX/NLRP3 pathway in rats. *Life Sciences*, v. 206, n. May, p. 117-124, 2018.
- STERU, L. et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*, v. 85, n. 3, p. 367-370, 1985.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depression: Let's Talk. Campaign Essentials. **Campaign essentials World Health day**, 2017.