

## **AValiação DO ENVOlvIMENTO DA VIA GLUTAMATéRGICA ATRAVéS DE RECEPTORES NMDA NA AÇÃO DO TIPO ANTIDEPRESSIVA DO 2-FENIL-3-(FENILSELANIL)BENZOFURANO EM CAMUNDONGOS**

**TAÍS DA SILVA TEIXEIRA RECH<sup>1</sup>; AMÁLIA GONÇALVES ALVES<sup>2</sup>;  
EDIANDRA TISSOT CASTRO<sup>2</sup>; LETÍCIA DEVANTIER KRÜGER<sup>2</sup>; RAFAELA  
GONÇALVES RIBEIRO LUCAS<sup>2</sup>; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPeI) – Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) – [taisteixeira.r@gmail.com](mailto:taisteixeira.r@gmail.com), [amaliaalvs@gmail.com](mailto:amaliaalvs@gmail.com), [tissotediandra@gmail.com](mailto:tissotediandra@gmail.com), [leticiadevantier@hotmail.com](mailto:leticiadevantier@hotmail.com), [rafaelagribeiro@gmail.com](mailto:rafaelagribeiro@gmail.com), [cbortolato@gmail.com](mailto:cbortolato@gmail.com).

### **1. INTRODUÇÃO**

De acordo com as últimas estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 4,4% da população mundial sofre de depressão, representando mais de 300 milhões de pessoas, sendo a doença que mais contribui para a carga global de doenças (7,5%) e que mais leva a casos de morte por suicídio (CHAND e ARIF, 2020). A etiologia da depressão é influenciada por diferentes variantes, como fatores genéticos, biológicos, psicossociais e ambientais. Por ser a depressão uma doença multifatorial e heterogênea, sua fisiopatologia ainda não é bem estabelecida, mas evidências apontam que a disfunção na disponibilidade de neurotransmissores, diminuição da neurogênese e neuroplasticidade, inflamação e estresse estejam envolvidos neste transtorno (BAINS e ABDIJADID, 2021).

Estudos são consistentes em demonstrar anormalidade no sistema glutamatérgico em indivíduos com diagnóstico de depressão. Quando observados *post-mortem* o líquido cefalorraquidiano e o cérebro de pacientes com depressão, e realizada a medida do nível de glutamato em animais com comportamento do tipo depressivo, os níveis deste neurotransmissor se apresentaram alterados (ABDEL, 2020). Anormalidades também foram observadas na expressão e função de subunidades do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA, receptor ionotrópico de glutamato). Atualmente, a farmacoterapia disponível para tratar as desordens decorrentes da depressão tem como principal base o uso de fármacos antidepressivos envolvidos no sistema monoaminérgico, entretanto, estes apresentam efeitos adversos relevantes que limitam a sua prescrição (LORIGOOINI, *et al.*, 2019).

Diante disso, nosso grupo de pesquisa trabalha com o composto 2-fenil-3-(fenilselanil)benzofurano (SeBZF1) que apresenta atividade antioxidante e ação do tipo antidepressiva com capacidade de modular as vias serotoninérgica (GALL, *et al.*, 2020) e dopaminérgica (RECH *et al.*, 2021) em testes preditivos realizados em camundongos, não apresentando toxicidade nos parâmetros testados. Tendo em vista a necessidade do desenvolvimento de novas moléculas para o tratamento da depressão, e considerando as propriedades que o composto SeBZF1 apresenta, este trabalho tem por objetivo investigar se o SeBZF1 exerce seu efeito do tipo antidepressivo pela modulação do sistema glutamatérgico através de receptores NMDA.

### **2. METODOLOGIA**

O SeBZF1 (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese de Derivados de Selênio e Telúrio (LabSelen), da Universidade Federal de Santa Catarina. Foram utilizados camundongos Swiss machos, pesando entre 25 e 35 gramas, e todos protocolos seguiram as normas estabelecidas pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Os procedimentos realizados foram aprovados pelo COCEPE sob o código 14064-2019. Foram utilizados de 8 a 10 camundongos por grupo.



**Figura 1.** Estrutura química do SeBZF1.

Em estudos anteriores, o composto SeBZF1 apresentou efeito do tipo antidepressivo no teste de suspensão pela cauda (TSC) em camundongos (GALL *et al.*, 2020). O TSC é baseado no comportamento de desespero do camundongo, no qual o animal se encontra em uma situação desconfortável da qual seja impossível escapar, (STERU *et al.*, 1985). O animal é colocado suspenso preso pela cauda a uma barra horizontal com uma fita adesiva. Durante o período de 6 minutos de TSC são avaliados o tempo de latência, que corresponde a primeira vez em que o animal permaneceu imóvel, e o tempo total de imobilidade. Assim, a imobilidade é relacionada a um comportamento semelhante ao depressivo, e é reduzida por antidepressivos.

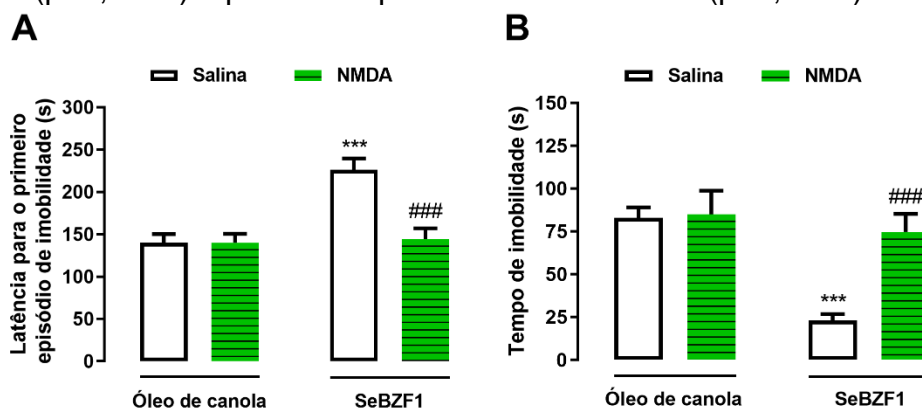
Para a avaliação do envolvimento do sistema glutamatérgico pela modulação de receptores NMDA no efeito do tipo antidepressivo do SeBZF1, os animais foram tratados com NMDA (0,1 pmol/sítio, intracerebroventricular, i.c.v., um agonista de receptores NMDA) (solução salina 0,9 %); ou D-serina (30 µmol/sítio, i.c.v., um coagonista dos receptores NMDA) ou veículo (1% dimetilsulfoxido + solução salina 0,9 %). Após 15 minutos os animais receberam uma dose efetiva de SeBZF1 (50 mg/kg, via intragástrica, i.g.) e, depois de 30 minutos, foram submetidos ao TSC. Imediatamente antes do TSC, os animais passaram pelo teste do campo aberto (TCA) durante 4 min para a avaliação da atividade locomotora e exploratória (WALSH e CUMMINS, 1976).

A análise estatística foi realizada através do *software* GraphPad Prism versão 8.2.0, sendo realizado o teste de D'Agostino Pearson Omnibus para testar a normalidade dos resultados; os dados que não apresentaram uma distribuição normal foram normalizados e todos foram padronizados no Excel. Os dados obtidos foram analisados através de análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguido do teste *post hoc* de Tukey. Os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$  e expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

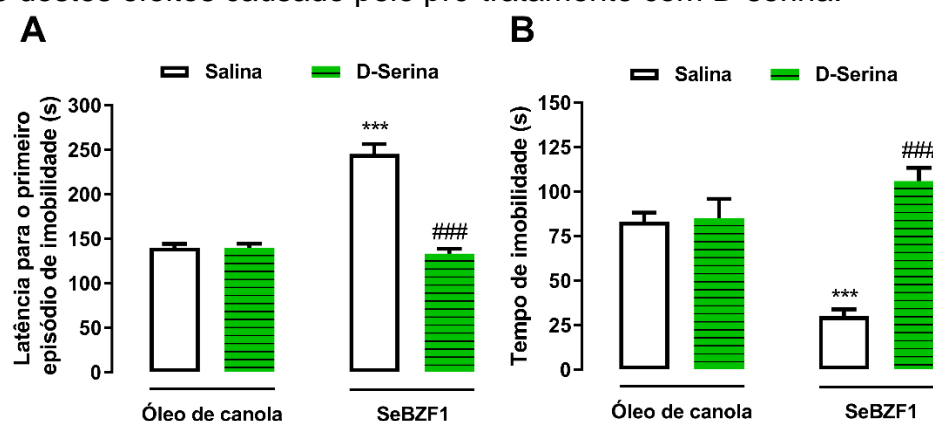
Os dados referentes ao tratamento com o NMDA (0,1 pmol/sítio, i.c.v.) e SeBZF1 (50 mg/kg, i.g.) em camundongos no TSC são apresentados na Figura 2. A ANOVA de duas vias revelou uma interação entre NMDA e SeBZF1 quando o primeiro episódio de imobilidade [ $F_{(1,32)}=11,06$ ;  $p=0,0022$ ] e o tempo total de imobilidade [ $F_{(1,32)}=7,883$ ;  $p=0,0084$ ] foram avaliados. O teste *post hoc* de Tukey

demonstrou que o NMDA bloqueou o efeito do tipo antidepressivo do SeBZF1 para a latência ( $p<0,0001$ ) e para o tempo total de imobilidade ( $p=0,0001$ ).



**Figura 2.** Efeitos do pré-tratamento com NMDA (0,1 pmol/sítio, i.c.v) e de SeBZF1 (50 mg/kg, i.g.) em camundongos submetidos ao TSC. **(2A)** Tempo de latência para o primeiro episódio de imobilidade; **(2B)** Tempo total de imobilidade. Valores expressos como média  $\pm$  E.P.M. ( $n=8-10$  animais/grupo), analisados pelo teste ANOVA de duas vias seguido por Tukey. \*\*\*  $p<0,001$  quando comparado ao grupo controle (salina + óleo de canola) e ###  $p<0,001$  quando comparado ao grupo SeBZF1 (salina + composto).

A análise ANOVA de duas vias demonstrou uma significativa interação entre D-serina e SeBZF1 quando o tempo de latência [ $F_{(1,34)}=58,56$ ;  $p<0,0001$ ] o tempo total de imobilidade [ $F_{(1,34)}=29,56$ ;  $p<0,0001$ ] foram avaliados. A comparação entre os grupos realizada pelo teste *post hoc* de Tukey revelou um aumento para o primeiro episódio de imobilidade e uma diminuição no tempo total de imobilidade causado pela administração com SeBZF1 (50 mg/kg) (ambos  $p<0,0001$ ) e um bloqueio destes efeitos causado pelo pré-tratamento com D-serina.



**Figura 3.** Efeitos do pré-tratamento com D-Serina (30  $\mu$ mol/sítio, i.c.v) e de SeBZF1 (50 mg/kg, i.g.) em camundongos submetidos ao TSC. **(2A)** Tempo de latência para o primeiro episódio de imobilidade; **(2B)** Tempo total de imobilidade. Valores expressos como média  $\pm$  E.P.M. ( $n=8-10$  animais/grupo), analisados pelo teste ANOVA de duas vias seguido por Tukey. \*\*\*  $p<0,001$  quando comparado ao grupo controle (salina + óleo de canola) e ###  $p<0,001$  quando comparado ao grupo SeBZF1 (salina + composto).

Não foram observadas alterações nas atividades locomotora e exploratória dos animais, quando submetidos ao TCA (Tabela 1).

**Tabela 1.** Efeito dos tratamentos no TCA.

Tratamento	Grupos	Nº de cruzamentos	Nº de levantamentos sobre as patas posteriores
NMDA x SeBZF1	Controle	81,70 ± 18,26	20,80 ± 4,15
	NMDA 750 mg/kg	76,14 ± 6,62	17,00 ± 5,18
	SeBZF1 50 mg/kg	70,78 ± 15,12	24,44 ± 4,27
	NMDA + SeBZF1	66,30 ± 14,72	24,70 ± 5,39
D-serina x SeBZF1	Controle	71,82 ± 13,44	24,73 ± 4,80
	D-serina 0,001	60,50 ± 11,67	18,00 ± 4,37
	SeBZF1 1 mg/kg	64,50 ± 11,22	23,50 ± 3,77
	D-serina + SeBZF1	80,22 ± 15,46	21,89 ± 5,29

Análise ANOVA de duas vias.

#### 4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados encontrados, pode-se inferir que o sistema glutamatérgico possa estar envolvido no mecanismo pelo qual o composto SeBZF1 exerce seu efeito do tipo antidepressivo no TSC em camundongos. Ainda, através das ferramentas farmacológicas utilizadas, supõe-se que tal modulação se dê através do antagonismo dos receptores NMDA. Porém, são necessários testes complementares para elucidação da possível interação deste composto com a via estudada.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL, N. M.; RABAH, A.M.; RASHED, L.A, *et al.* Glutamate and Nitric Oxide as biomarkers for disease activity in patients with multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, Cairo, v. 38, n.1, 2020.
- BAINS, N.; ABDIJADID, S. Major Depressive Disorder. **StatPearls**, 2021.
- CHAND, S.P.; ARIF, H. Depression. **StatPearls**, Treasure Island, 2020.
- GALL, J.I.; GONCALVES, A. A.; CARRARO JUNIOR, L.R., *et al.* Insights into serotonergic and antioxidant mechanisms involved in antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in mice. **Progress in Neuropsychopharmacol & Biological Psychiatry**, Pelotas, v. 102, n. 1, 2020.
- LORIGOOINI, Z.; SALIMI, N.; SOLTANI, A, *et al.* Implication of NMDA-NO pathway in the antidepressant-like effect of ellagic acid in male mice. **Neuropeptides**, Shahrekord, 2019.
- RECH, T. S. T.; ALVES, A. G.; STRELOW, D. N., *et al.*, 2-Phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran elicits acute antidepressant-like action in male Swiss mice mediated by modulation of the dopaminergic system and reveals therapeutic efficacy in both sexes. **Psychopharmacology**, Pelotas, 2021.
- STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B., *et al.* The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, Strasbourg, v. 85, n.3, p.367–370, 1985.
- WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The Open-Field test: a critical review. **Psychological Bulletin**, Brisbane, v. 83, n. 3, p. 482-504, 1976.