

EFEITO DO TIPO ANTIDEPRESSIVO DA 1-(FENILSELANIL)-2-(*P*-TOLIL)INDOLIZINA EM UM MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDA POR LIPOPOLISSACRÍDEO EM CAMUNDONGOS

MARCIA JUCIELE DA ROCHA¹; MARCELO HEINEMANN PRESA²; GUSTAVO D'ÁVILA NUNES³; ÉDER JOÃO LENARDÃO⁴; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁵; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁶

¹*Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) - Universidade Federal de Pelotas – marciajr_15@hotmail.com;*

²*Universidade Federal de Pelotas – marcelopresa123@gmail.com;*

³*Universidade Federal de Pelotas – gustavodnunes@gmail.com;*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – elenardao@uol.com.br;*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – cbortolatto@gmail.com;*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – cabruning@yahoo.com.br.*

1. INTRODUÇÃO

A depressão é uma desordem comum, que afeta ao menos 280 milhões de pessoas no mundo (OMS, 2021). A hipótese das monoaminas explicou a fisiopatologia da depressão ao longo de várias décadas, porém hoje sabe-se que há outras vias envolvidas, como por exemplo, a inflamatória. Esta hipótese enfatiza o papel das disfunções psiconeuroimunológicas, na qual as citocinas pró-inflamatórias alteram a produção de neurotransmissores, afetam o crescimento neuronal e a sua sobrevivência e podem provocar a desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (ZUNSZAIN; HEPGUL; PARIANTE, 2013).

Como muitos pacientes não respondem de forma ideal aos antidepressivos convencionais a busca de novos fármacos que consigam atuar na ação moduladora da resposta inflamatória a nível de sistema nervoso central (SNC) em paralelo com a regulação da liberação ou recaptação das monoaminas torna-se cada vez mais emergente. As indolizinas apresentam uma ampla gama de propriedades farmacológicas descritas, tais como, antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, anti-inflamatórias, anti-histamínica, entre outras (DAWOOD; ABBAS, 2020). Paralelamente, os compostos orgânicos de selênio também se destacam em aplicações medicinais, entre elas o efeito do tipo antidepressivo (NOGUEIRA; BARBOSA; ROCHA, 2021). Porém, há poucos relatos que demonstram o papel biológico e o mecanismo de ação de compostos contendo indolizinas e selênio associados (GARCIA *et al.*, 2022). Além disso, a 1-(fenilselanil)-2-(*p*-tolil)indolizina (MeSel) apresentou efeito *per se* na ação antidepressiva nos testes de suspensão da cauda (TSC) e teste do nado forçado (TNF) em camundongos (ROCHA *et al.*, 2021; GARCIA *et al.*, 2021).

Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito antidepressivo do composto MeSel no modelo de depressão induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em camundongos.

2. METODOLOGIA

Para a realização do protocolo experimental foram utilizados camundongos Swiss machos adultos (25-35g) sob temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, mantidos em um ciclo de 12h claro/12h escuro e com água e comida *ad libitum* (CEUA 030811/2021-26).

O composto 1-(fenilselanil)-2-(*p*-tolil)indolizina (MeSel) (Figura 01) foi preparado e caracterizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) (PENTADO *et al.*, 2019). O MeSel foi dissolvido em óleo de canola e administrado por via intragástrica (i.g.) na dose de 10

mg/kg. O LPS (*E. coli*, L-3129, serotipo 0127:B8) foi diluído em salina e administrado intraperitonealmente (i.p.) na dose de 0,83 mg/kg (O'CONNOR *et al.*, 2009). A fluoxetina foi utilizada para validar os testes comportamentais (20 mg/kg, i.p.) (LIU *et al.*, 2020).

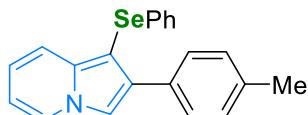


Figura 01: Estrutura química da 1-(fenilselanil)-2-(p-tolil)indolizina (MeSel)

Os camundongos foram divididos aleatoriamente em cinco grupos ($n = 8-9$ animais por grupo): veículo (salina 0,9% e óleo de canola, 10 mL/kg), MeSel (salina 0,9% - 10 mL/kg e MeSel - 10 mg/kg), LPS (LPS - 0,83 mg/kg e óleo de canola - 10 mL/kg), LPS+MeSel (LPS - 0,83 mg/kg e MeSel - 10 mg/kg) e LPS+fluoxetina (LPS - 0,83 mg/kg e fluoxetina – 20 mg/kg). Os animais foram tratados com o composto MeSel, óleo de canola ou fluoxetina 30 minutos antes da administração de LPS ou seu veículo. Então, após 24 horas da administração de LPS os animais foram submetidos ao teste da suspensão da cauda (TSC) e ao teste da borrifagem de sacarose (TBS) para avaliar o comportamento do tipo depressivo. Além disso, teste do campo aberto (TCA) também foi realizado para avaliar a atividade locomotora e exploratória dos camundongos.

O TSC foi realizado para avaliar o comportamento de desespero (STERU *et al.*, 1985). O tempo de imobilidade nesta condição foi registrado durante os últimos 4 minutos de uma sessão de 6 minutos, no qual os dois primeiros minutos serviram apenas para habituar o animal. Imediatamente após o TSC, os animais foram submetidos ao TBS para avaliação do comportamento de autocuidado e motivação (LIU *et al.*, 2018). O comportamento de autolimpeza foi registrado por 5 minutos após a pulverização de uma solução de sacarose a 10% na camada dorsal dos camundongos. No TCA, o número de quadrantes que os camundongos atravessaram e o número de elevações foram contabilizados em um tempo total de 4 minutos (WALSH; CUMMINS, 1976).

Os resultados experimentais foram expressos como a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) onde $p < 0,05$ foi considerado significativo. A análise estatística foi realizada através do software GraphPad Prism 8.0.2 (San Diego, CA, EUA), através do teste de ANOVA de uma via, seguido do teste *post hoc* de Newman-Keuls. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste D'Agostino e Pearson.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito do LPS no comportamento do tipo depressivo em camundongos foi avaliado no TSC e no TBS. Primeiro foi realizado o TSC para avaliar o comportamento de desespero, um dos sintomas da depressão (ZENG *et al.*, 2021). O tratamento com LPS aumentou o tempo de imobilidade no TSC em comparação com o grupo veículo (Fig 2A, $F_{(4, 37)} = 12,29, p < 0,0001$). Em relação aos animais tratados com salina e óleo de canola (grupo veículo), os camundongos tratados com LPS também apresentaram uma diminuição no tempo total de autolimpeza no TBS (Fig 2B, $F_{(4, 37)} = 10,99, p < 0,0001$). Esse teste é utilizado para examinar o fenótipo de autocuidado e o comportamento motivacional dos animais (ZENG *et al.*, 2021). Juntos, os resultados sugerem que o tratamento agudo com LPS induziu o comportamento do tipo depressivo nos camundongos.

Por outro lado, o tratamento com MeSel (10 mg/kg, i.g.) associado com a administração do LPS previu esse efeito em ambos os testes, TSC e TBS (Fig

2A e 2B, $p < 0,0001$), evidenciando sua propriedade do tipo antidepressiva em camundongos. No TCA não houve diferença significativa na atividade locomotora e exploratória dos animais nos cinco grupos (dados não apresentados).

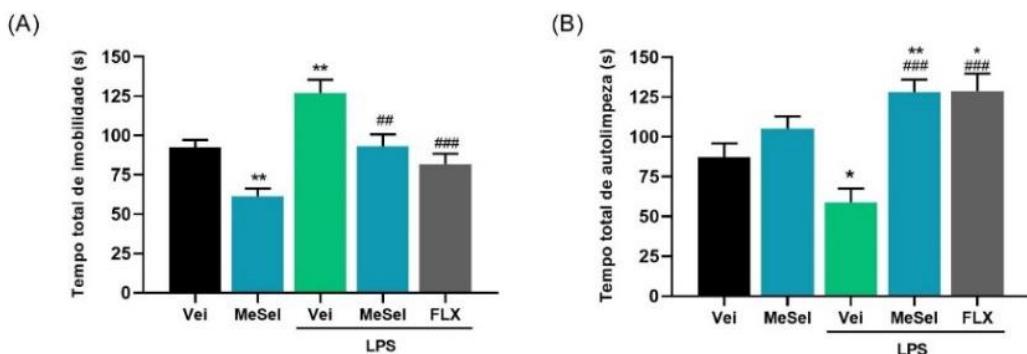


Figura 02: Efeito do MeSel no comportamento do tipo depressivo induzido por LPS em camundongos. (A) Tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda. (B) Tempo total de autolimpeza no teste de borrifagem de sacarose. Valores expressos em média \pm E.P.M ($n = 8-9$ animais por grupo) e analizados pelo teste ANOVA de uma via seguido pelo teste de *post hoc* Newman-Keuls. (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$ e (****) $p < 0,001$ quando comparado com o grupo controle. (##) $p = 0,01$ e (###) $p = 0,001$ quando comparado com o grupo LPS. MeSel: 1-(fenilselanil)-2-(p-tolil)indolizina; LPS: lipopolissacarídeo; Vei: veículo; FLX: fluoxetina.

Vários mecanismos têm sido apontados como fatores causais envolvidos no processo patológico da depressão. O LPS é considerado um agente estimulador do processo inflamatório e a inflamação induzida por essa endotoxina no sistema nervoso central (SNC) está associada ao desenvolvimento de comportamento do tipo depressivo. Diferentes trabalhos apoiam a associação entre inflamação e transtorno depressivo, sugerindo inclusive que a ativação imunológica pode ser ainda mais acentuada em pacientes suicidas (BRUNDIN *et al.*, 2015; ZUNSZAIN; HEPGUL; PARIANTE; 2013).

O comportamento do tipo depressivo induzido por LPS foi observado nos testes TSC e TBS. Em contraste, o MeSel demonstrou efeito do tipo antidepressivo reduzindo o tempo de imobilidade no TSC e aumentando o tempo de autolimpeza no TBS, sugerindo seu potencial farmacológico para o tratamento da depressão. Esses resultados corroboraram com estudos anteriores, no qual compostos contendo selênio exibiram atividade do tipo antidepressiva em modelos agudos de depressão induzidos por LPS (CASARIL *et al.*, 2019; SOUSA *et al.*, 2019).

Vale ressaltar que, o MeSel apresenta um núcleo indolizínico em sua composição. Essa estrutura química, constituinte de produtos naturais ou sintéticos, apresenta diferentes propriedades farmacológicas, como por exemplo, anti-inflamatória, antioxidante e antidepressiva (DAWOOD; ABBAS, 2020; GARCIA *et al.*, 2022). Anteriormente, a selenoindolizina MeSel apresentou atividade *per se* do tipo antidepressiva nas doses de 1, 10 e 50 mg/kg (i.g.) em testes comportamentais realizados em camundongos (ROCHA *et al.*, 2021; GARCIA *et al.*, 2021). Além disso, o estudo de GARCIA *et al.* (2022) demonstrou o efeito do tipo antidepressivo de 2-fenil-1-(fenilselanil)indolizina em camundongos através do envolvimento dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A/2C}.

4. CONCLUSÕES

O estudo revela que o MeSel previne o comportamento depressivo induzido por LPS em camundongos. Portanto, o MeSel pode ser uma ferramenta promissora no tratamento da depressão.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUNDIN, L. et al. The role of inflammation in suicidal behaviour. *Acta psychiatica Scandinavica*, v. 132, n. 3, p. 192–203, 2015.
- CASARIL, A. M. et al. Depression- and anxiogenic-like behaviors induced by lipopolysaccharide in mice are reversed by a selenium-containing indolyl compound: Behavioral, neurochemical and computational insights involving the serotonergic system. *Journal of psychiatric research*, v. 115, p. 1–12, 2019.
- DAWOOD, K. M.; ABBAS, A. A. Inhibitory activities of indolizine derivatives: a patent review. *Expert opinion on therapeutic patents*, v. 30, n. 9, p. 695–714, 2020.
- GARCIA, C. et al. **Investigação do efeito do tipo antidepressivo de uma selenoindolizina em camundongos: análises comportamentais no teste de suspensão pela cauda.** Disponível em: <https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2021/CB_01939.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2022.
- GARCIA, C. S. et al. Antidepressant-like effect of a selenoindolizine in mice: In vivo and in silico evidence for the involvement of the serotonergic 5-HT2A/C receptors. *ACS chemical neuroscience*, v. 13, n. 12, p. 1746–1755, 2022.
- LIU, M.-Y. et al. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nature protocols*, v. 13, n. 7, p. 1686–1698, 2018.
- NOGUEIRA, C. W.; BARBOSA, N. V.; ROCHA, J. B. T. Toxicology and pharmacology of synthetic organoselenium compounds: an update. *Archives of toxicology*, v. 95, n. 4, p. 1179–1226, 2021.
- O'CONNOR, J. C. et al. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Molecular psychiatry*, v. 14, n. 5, p. 511–522, 2009.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Depression.** Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em: 19 jul. 2022.
- PENTEADO, F. et al. Regioselective synthesis of 1-sulfanyl- and 1-selanylindolizines. *The Journal of organic chemistry*, v. 84, n. 11, p. 7189–7198, 2019.
- ROCHA, M. et al. **Investigação do efeito do tipo antidepressivo da 1-(fenilselanyl)-2-(p-tolil)indolizina no teste do nado forçado em camundongos.** Disponível em: <https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2021/CB_02804.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2022.
- SOUSA, F. S. et al. Lipopolysaccharide-induced depressive-like, anxiogenic-like and hyperalgesic behavior is attenuated by acute administration of α -(phenylselenyl) acetophenone in mice. *Neuropharmacology*, v. 146, p. 128–137, 2019.
- 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.
- WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The Open-Field Test: a critical review. *Psychological bulletin*, v. 83, n. 3, p. 482–504, 1976.
- ZHENG, Z.-H. et al. Neuroinflammation induces anxiety- and depressive-like behavior by modulating neuronal plasticity in the basolateral amygdala. *Brain, behavior, and immunity*, v. 91, p. 505–518, 2021.
- ZUNZAIN, P. A.; HEPGUL, N.; PARIANTE, C. M. Inflammation and depression. *Current topics in behavioral neurosciences*, v. 14, p. 135–151, 2013.