

## **ENVOLVIMENTO DA VIA L-ARGININA-ÓXIDO NÍTRICO-GUANOSINA MONOFOSFATO CÍCLICO NO EFEITO DO TIPO ANTIDEPRESSIVO DO COMPOSTO 2-FENIL-3-(FENILSELANIL)BENZOFURANO EM CAMUNDONGOS**

TAÍS DA SILVA TEIXEIRA RECH<sup>1</sup>; RAFAELA GONÇALVES RIBEIRO LUCAS<sup>2</sup>; JOSÉ SEBASTIÃO SANTOS NETO<sup>3</sup>, CÉSAR AUGUSTO BRÜNING<sup>4</sup>; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – taisteixeira.r@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – rafaelaglribeiro@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Santa Catarina - zeneto.qmc@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – cabruning@yahoo.com.br

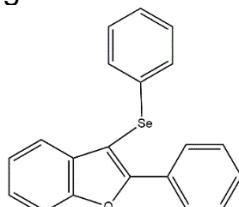
<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – cbortolatto@gmail.com.

### **1. INTRODUÇÃO**

O transtorno depressivo maior (TDM) afeta mais de 300 milhões de pessoas no mundo, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), sendo considerado o transtorno psiquiátrico mais comum e incapacitante. O TDM é um transtorno de origem multifatorial complexa, e sua etiologia envolve fatores genéticos, sociais e ambientais, que juntos interferem na susceptibilidade ao transtorno. Diversos mecanismos parecem estar envolvidos na fisiopatologia da depressão, incluindo alterações sobre em sistemas de neurotransmissão como, por exemplo, os sistemas monoaminérgico e glutamatérgicos, aumento da inflamação e estresse (Dean and Keshavan, 2017).

O óxido nítrico (NO, do inglês *nitric oxide*) é uma molécula sinalizadora no cérebro e tem sido implicado na fisiopatologia da depressão. Foi demonstrado que a redução dos níveis de NO em estruturas cerebrais envolvidas neste transtorno psiquiátrico pode induzir efeitos semelhantes aos antidepressivos (Amidfar et al., 2019). A enzima óxido nítrico sintase (NOS, do inglês *nitric oxide synthase*) está envolvida em sua produção. Algumas das ações fisiológicas do NO são mediadas através da enzima guanilato ciclase solúvel (GCs) com o consequente aumento nos níveis de guanosina monofosfato cíclico (GMPc). Estas substâncias participam de um *feedback* positivo, sendo uma forma de degradação do GMPc feita pela enzima fosfodiesterase V (PDE5, do inglês *phosphodiesterase 5*) (Pochwat et al., 2019).

Visto que a ocorrência do TDM é crônica e mais de 50% dos indivíduos que possuem depressão não têm responsividade ao tratamento resultando, muitas vezes, na não remissão completa dos sintomas (Dean and Keshavan, 2017), ressalta-se a importância da busca por novos alvos terapêuticos. Nossa grupo de pesquisa tem estudado o composto 2-fenil-3-(fenilselanil)benzofurano (SeBZF1) (Figura 1), e este apresentou efeitos do tipo antidepressivo em testes preditivos de ação antidepressiva (Rech et al., 2021). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar a investigação do envolvimento da via L-ARG-NO-GMPc na ação do tipo antidepressiva do composto SeBZF1, através do emprego do teste da suspensão pela cauda (TSC) em camundongos Swiss machos.



## Figura 1. Estrutura química do SeBZF1

### 2. METODOLOGIA

O composto SeBZF1 foi sintetizado no Laboratório de Síntese de Derivados de Selênio e Telúrio (LabSelen) da Universidade Federal de Santa Catarina (Gay et al., 2010). Conforme estudos anteriores, as doses de 1 mg/kg via oral, v.o. e 50 mg/kg, v.o. foram utilizadas (doses subefetiva e efetiva, respectivamente). As demais substâncias foram adquiridas através da Sigma Aldrich ou de fornecedor comercial local. Todos os compostos foram administrados em um volume fixo de 10 ml/kg.

Foram utilizados camundongos Swiss machos adultos pesando entre 25-35g (8-10 animais/grupo), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), e o projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel (14064-2019).

Foram administradas aos animais as substâncias Azul de Metileno (AM, 10 mg/kg, intraperitoneal, i.p., um inibidor de NOS e de GCs); 1H[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-ona (ODQ, 30 pmol/sítio, intracerebroventricular, i.c.v., um inibidor de GCs); sildenafile (5 mg/kg, i.p., um inibidor seletivo de PDE5); ou veículo (solução salina 0,9%) (Sasaki-Hamada et al., 2019). Após 15 minutos da administração de AM ou ODQ, e 30 minutos de sildenafile, os animais foram submetidos por 6 minutos ao TSC, no qual foram avaliados os parâmetros de tempo de latência para o primeiro episódio de imobilidade e tempo total de imobilidade (Steru et al., 1985). Imediatamente antes do TSC, os animais foram submetidos ao teste do campo aberto (TCA) por 4 minutos, a fim de avaliar a locomoção (cruzamentos) e atividade exploratória dos animais (levantamentos sobre as patas posteriores) (Walsh and Cummins, 1976).

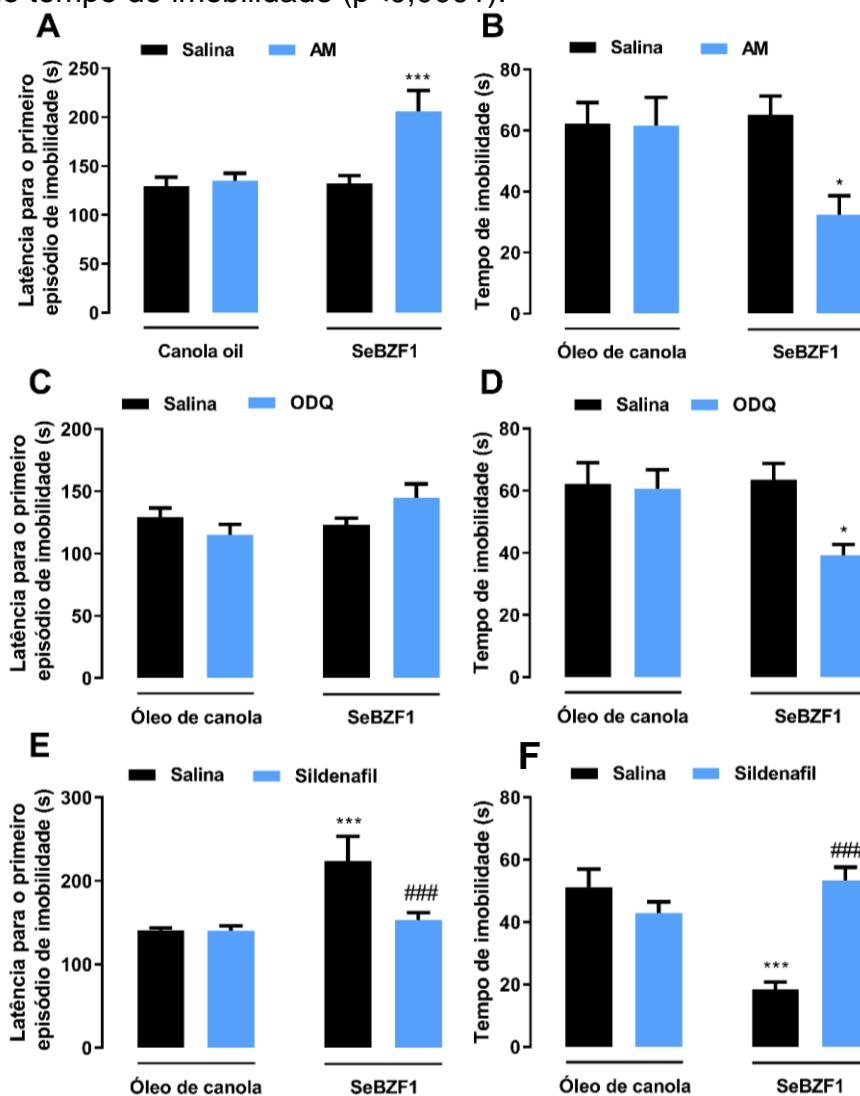
A análise estatística foi realizada através do software GraphPad Prism 8.2.0. Foi verificada a normalidade dos dados através do teste D'Agostino Pearson Omnibus. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Tukey, sendo expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.), sendo considerados significativos quando  $p<0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 2A-B apresentam os resultados referentes a coadministração de AM (um inibidor de NOS e GCs) e SeBZF1 em dose subefetiva no TSC. A ANOVA de duas vias revelou a interação entre os tratamentos nos parâmetros de latência para o primeiro episódio de imobilidade [ $F_{(1,32)}=7,02$ ;  $p=0,0124$ ] e também no tempo total de imobilidade [ $F_{(1,32)}=4,91$ ;  $p=0,0340$ ]. Os resultados do teste *post hoc* demonstraram que coadministração de doses subefetivas de AM e SeBZF1 produziu significante ação do tipo antidepressiva, evidenciada por um aumento no tempo de latência ( $p=0,001$ ) bem como uma diminuição no tempo total de imobilidade ( $p=0,0317$ ) em relação ao grupo controle.

Os efeitos da administração de SeBZF1 e ODQ (um inibidor de GCs) sob esquema de doses subefetivas estão demonstrados nas Figuras 2C-D. A ANOVA de duas vias revelou que a coadministração das substâncias apresentou interação para o tempo de latência [ $F_{(1,32)}=4,51$ ;  $p=0,0415$ ] e para o tempo total de imobilidade [ $F_{(1,32)}=7,45$ ;  $p=0,0102$ ]. O teste *post hoc* revelou uma diminuição no tempo total de imobilidade ( $p=0,0372$ ) do grupo ODQ x SeBZF1 em relação ao grupo controle, e não houve diferença estatística para o tempo de latência ( $p=0,7334$ ).

Conforme demonstrado nas Figuras 2E-F, a ANOVA de duas vias revelou interação entre sildenafil (um inibidor seletivo de PDE5) e SeBZF1 para o tempo de latência [ $F_{(1,35)}=15,89$ ;  $p=0,0003$ ] e para o tempo total de imobilidade [ $F_{(1,35)}=33,99$ ;  $p<0,0001$ ]. Como esperado, o composto em sua dose efetiva apresentou efeito do tipo antidepressivo, observado através do aumento do tempo de latência ( $p<0,0001$ ) e redução do tempo de imobilidade ( $p=0,0003$ ). Porém, o pré-tratamento dos animais com sildenafil bloqueou os efeitos do tipo antidepressivo do SeBZF1 em sua dose efetiva (50 mg/kg, v.o.) tanto no tempo de latência ( $p=0,0002$ ) como no tempo de imobilidade ( $p<0,0001$ ).



**Figura 2.** Efeitos da administração de azul de metileno (AM, 10 mg/kg, i.p., um inibidor de NOS e GCs) em combinação com uma dose subefetiva de SeBZF1 (1 mg/kg, v.o.) (A-B); ODQ (30 pmol/ local, i.c.v., um inibidor de GCs) em combinação com uma dose subefetiva de SeBZF1 (1 mg/kg, v.o.) (C-D); pré-tratamento com sildenafil (5 mg/kg, i.p., um inibidor seletivo de PDE5) na ação do tipo antidepressivo SeBZF1 (50 mg/kg, v.o.) (E-F) em camundongos submetidos ao TSC. Nos painéis esquerdos estão representados os dados de latência para o primeiro episódio de imobilidade e nos painéis da direita estão os dados de tempo total de imobilidade. Os valores são expressos como média  $\pm$  E.P.M. ( $n=8-10$  animais/grupo) analisados por ANOVA de duas vias seguida por teste de Tukey. \* $p<0,05$  e \*\*\* $p<0,001$  em relação ao grupo controle; ### $p<0,001$  comparado com o grupo SeBZF1.

Os tratamentos não afetaram o comportamento exploratório e a atividade locomotora dos animais, como demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Efeitos dos diferentes tratamentos no TCA.

Tratamento	Grupos	Número de cruzamentos	Número de levantamento sobre as paras posteriores
AM 10 mg/kg	Controle	61,00 ± 5,57	34,67 ± 3,69
	AM	54,33 ± 4,32	28,56 ± 3,10
	SeBZF1	52,33 ± 4,62	26,44 ± 2,95
	AM + SeBZF1	66,00 ± 5,13	31,22 ± 4,47
ODQ 30 pmol/site	Controle	88,50 ± 17,33	20,89 ± 3,72
	ODQ	96,09 ± 10,68	32,60 ± 4,92
	SeBZF1	68,22 ± 15,31	31,13 ± 7,57
	ODQ + SeBZF1	87,67 ± 13,84	32,22 ± 5,81
Sildenafil 5 mg/kg	Controle	71,82 ± 13,44	24,73 ± 4,80
	Sildenafil	60,50 ± 11,67	18,00 ± 4,37
	SeBZF1	64,50 ± 11,22	23,50 ± 3,77
	Sildenafil + SeBZF1	80,22 ± 15,46	21,89 ± 5,29

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos, pode-se inferir que a via L-ARG-NO-GMPc possa estar envolvida no mecanismo pelo qual o SeBZF1 causa seu efeito do tipo antidepressivo no TSC em camundongos. Porém, mais estudos são necessários para elucidar outros possíveis mecanismos de ação exercidos pelo composto.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amidfar, M., Woelfer, M., Reus, G.Z., et al., 2019. The role of NMDA receptor in neurobiology and treatment of major depressive disorder: Evidence from translational research. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 94, 109668.
- Dean, J., Keshavan, M., 2017. The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian J Psychiatr* 27, 101-111. doi:10.1016/j.ajp.2017.01.025.
- Gay, R.M., Manarin, F., Schneider, C.C., et al., 2010. FeCl(3)-Diorganyl dichalcogenides promoted cyclization of 2-alkynylanisoles to 3-chalcogen benzo[b]furans. *J Org Chem* 75(16), 5701-5706.
- Pochwat, B., Nowak, G., Szewczyk, B., 2019. An update on NMDA antagonists in depression. *Expert Rev Neurother* 19(11), 1055-1067.
- Rech, T.S.T., Alves, A.G., Strelow, D.N., et al., 2021. 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 (Berl)*.
- Sasaki-Hamada, S., Nakamura, Y., Koizumi, K., et al., 2019. Pharmacological evidence for the relationship between the NMDA receptor and nitric oxide pathway and the antidepressant-like effects of glucagon-like peptide-2 in the mouse forced-swim test. *Behav Brain Res* 364, 162-166.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Simon, P., 1985. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 85(3), 367-370.
- Walsh, R.N., Cummins, R.A., 1976. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull* 83(3), 482-504.