

O ENVOLVIMENTO DO SISTEMA GLUTAMATÉRGICO MEDIADO PELO RECEPTOR NMDA NO EFEITO DO TIPO ANTIDEPRESSIVO DA 1-(FENILSELANIL)-2-(P-TOLIL)INDOLIZINA (MeSel)

MARCIA JUCIELE DA ROCHA¹; MARCELO HEINEMANN PRESA²; KAUANE NAYARA BAHR LEDEBUHR³; ÉDER JOÃO LENARDÃO⁴; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁵; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁶

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 – kauaneledebuhr@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 um transtorno mental comum e recorrente que afeta negativamente a vida das pessoas. Mais de 280 milhões de indivíduos sofrem de depressão, o que corresponde a quase 4% da população (OMS, 2021). Diversos mecanismos têm sido propostos para explicar a fisiopatologia da depressão, e evidências indicam que a neurotransmissão glutamatérgica desempenha um papel importante nesse processo. Alguns desses mecanismos incluem o aumento dos níveis de glutamato em pacientes deprimidos, variações genéticas relacionadas ao glutamato e à depressão, alterações nos receptores ionotrópicos e nas atividades de recaptação de glutamato pelos astrócitos (JESULOLA; MICALOS; BAGULEY, 2018).

Nos últimos anos, buscou-se novos alvos farmacológicos para o tratamento da depressão e os receptores glutamatérgicos se destacam entre eles. Nesse contexto, a cetamina surgiu como um novo antidepressivo, atuando principalmente na inibição direta e indireta do receptor N-metil D-aspartato (NMDA) e estimulação dos receptores pós-sinápticos ácido α-amino-3-hidroxila-5-metil-4-isoxazolapropriônico (AMPA) (KADRIU et al., 2019; NIKAYIN et al., 2022). Apesar disso, os medicamentos mais recentes ainda apresentam efeitos adversos semelhantes aos antidepressivos tradicionais (SOWA-KUĆMA, 2022). Nesse contexto, a busca por um fármaco inovador, que ofereça segurança e eficácia, é de extrema importância. Entre os novos compostos sintéticos estudados, destacam-se as selenoindolizinas (GARCIA et al., 2022; ROCHA et al., 2022). Recentemente, um estudo realizado por ROCHA e colaboradores (2023) demonstrou que a 1-(fenilselanil)-2-(p-tolil)indolizina (MeSel) possui propriedades antidepressivas em camundongos, agindo por meio da modulação do sistema serotoninérgico. Dessa forma, para continuar a elucidar o mecanismo de ação desse composto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o envolvimento do sistema glutamatérgico no efeito do tipo antidepressivo da MeSel em camundongos.

2. METODOLOGIA

Para o protocolo experimental, foram empregados camundongos Swiss machos adultos (25-30g). Os animais foram mantidos em uma temperatura controlada de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, um ciclo de iluminação de 12 horas claro/12 horas escuro e tiveram acesso livre a água e comida (CEUA 018994/2022-92).

A MeSel (Figura 01) foi sintetizada no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) (PENTEADO et al., 2019). A indolizina foi dissolvida em óleo de canola e administrada por via

intragastrica (i.g.) nas doses de 0,5 e 50 mg/kg, dose sub-efetiva e efetiva, respectivamente. Os fármacos arcaína, cetamina e NMDA foram diluídos em solução salina e administrados por via intraperitoneal (i.p.) ou intracerebroventricular (i.c.v.) (CUNHA et al. 2015; GONCALVES et al. 2017).

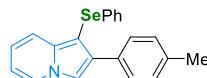


Figura 01: Estrutura química da 1-(fenilselanil)-2-(p-tolil)indolizina (MeSel)

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos ($n = 7-10$ animais): I) grupo controle (salina e óleo de canola); II) grupo antagonista ou agonista (arcaína, cetamina ou NMDA e óleo de canola); III) grupo MeSel (salina e MeSel) e IV) grupo interação (antagonistas ou agonista e MeSel). Para esse protocolo experimental, os animais foram pré-tratados com arcaína (agonista do sítio de ligação da poliamina no receptor NMDA, 1 mg/kg, i.p.) ou cetamina (antagonista não seletivo do receptor NMDA - 0,01 mg/kg, i.p.) 30 minutos antes da administração da MeSel (50 e 0,5 mg/kg, i.g., respectivamente). Além disso, os camundongos foram pré-tratados com NMDA (agonista do receptor tipo NMDA - 0,1 pmol/sítio, i.c.v.) 15 minutos antes da administração da MeSel (50 mg/kg, i.g.). Após 30 minutos da administração da selenoindolizina foi realizado o teste do nado forçado (TNF) e 4 minutos antes os animais foram expostos ao teste do campo aberto (TCA).

O TNF permite avaliar o comportamento do tipo antidepressivo em animais, analisando o tempo de imobilidade como ausência de comportamento de fuga. Para a investigação, os camundongos foram avaliados durante 6 minutos e foram registradas a latência para o primeiro episódio de imobilidade e o tempo total de imobilidade do animal (PORSOLT et al., 1997). O TCA permite avaliar a atividade locomotora (número de quadrantes) e exploratória (número de elevações) dos animais durante 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 duas 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

Atualmente, a disfunção da rede e conectividade dos neurônios excitatórios do SNC é relacionada a gênese da depressão. Por isso, fármacos destinados ao antagonismo dos receptores ionotrópicos NMDA têm se mostrado promissores em estudos pré-clínicos por seus efeitos do tipo antidepressivo de ação rápida. A cetamina, antagonista dos receptores NMDA, aumenta rapidamente as conexões sinápticas no córtex cerebral e reverte os prejuízos causados pela excitotoxicidade glutamatérgica e pelo estresse crônico (KHOODORUTH et al., 2022; GERHARD et al., 2016). Nesse sentido, a figura 02 demonstra que a selenoindolizina MeSel apresenta sua ação do tipo antidepressiva em animais a partir da modulação dos receptores ionotrópicos glutamatérgicos NMDA.

Nas figuras 2a e 2b estão descritos os resultados obtidos do tratamento com a arcaína, um antagonista do sítio de ligação da poliamina no receptor NMDA. O pré-tratamento com arcaína (1 mg/kg, i.p.) não bloqueou o efeito do tipo antidepressivo da MeSel (50 mg/kg, i.g.) no TNF em camundongos. Porém houve um *main effect* no tratamento com MeSel no tempo de latência para o primeiro

episódio de imobilidade (Fig. 2a; $F_{1,27} = 4.980$, $p = 0,0341$) e no tempo total de imobilidade (Fig. 2b; $F_{1,27} = 2.738$, $p = 0,0161$). Após, as figuras 2c e 2d mostram o efeito sinérgico da combinação de doses sub-efetivas da cetamina (antagonista não seletivo do receptor NMDA - 0,01 mg/kg, i.p.) e da MeSel (0,5 mg/kg, i.g.). A ANOVA de duas vias demonstrou uma interação significativa entre as doses sub-efetivas da cetamina e MeSel no tempo para o primeiro episódio de imobilidade (Fig. 2c; $F_{1,28} = 8.708$; $p = 0,0063$) e no tempo total de imobilidade (Fig. 2d; $F_{1,28} = 11.57$; $p = 0,0020$) no TNF. Por fim, como mostra as figuras 2e e 2f o pré-tratamento dos camundongos com NMDA (agonista do receptor tipo NMDA - 0,1 pmol/sítio, i.c.v.) bloqueou a ação do tipo antidepressiva da MeSel (50 mg/kg, i.g.) apenas no tempo total de imobilidade (Fig 2f; $F_{1,27} = 6,430$; $p = 0,0173$) no TNF. No TCA não houve diferença significativa na atividade locomotora e exploratória dos animais (dados não apresentados).

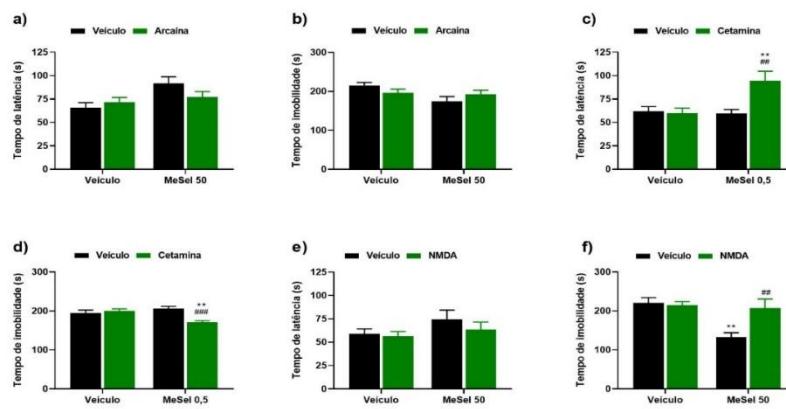


Figura 02: Efeito do pré-tratamento com (a e b) arcaína (1 mg/kg, i.p.), (c e d) cetamina (0,01 mg/kg, i.p.) e (e e f) NMDA (0,1 pmol/sítio, i.c.v.) no efeito do tipo antidepressivo da MeSel (0,5 ou 50 mg/kg, i.g.) em camundongos no FST. Os valores foram expressos em média \pm erro padrão da média (E.P.M.) ($n=7-10$ animais/grupo). Dados analisados por ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Newman-Keuls. (**) $p < 0,05$ comparado com o grupo controle; (##) $p < 0,01$ e (###) $p < 0,001$ comparado com o grupo MeSel.

Dentre os receptores ionotrópicos glutamatérgicos (NMDA; AMPA; cainato), os receptores NMDA têm maior afinidade pelo neurotransmissor glutamato. Dessa forma, os antagonismos direto e indireto do receptor NMDA são hipóteses estudadas para novos antidepressivos (KADRIU et al., 2019; RECH et al., 2023). Nesse sentido, quando a cetamina e a MeSel, em doses sub-efetivas, foram administradas em combinação, foi observado uma ação sinérgica no efeito anti-imobilidade no TNF. Esses resultados sugerem que o efeito do tipo antidepressivo da MeSel pode estar relacionado à modulação dos receptores NMDA. Além disso, outro resultado que reforça a modulação dessa via de neurotransmissão é o pré-tratamento com NMDA, que bloqueou a ação do tipo antidepressiva do composto em camundongos submetidos ao TNF. Diante desse resultado, sugere-se um antagonismo da MeSel nos receptores NMDA.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, os resultados obtidos demonstram que há relação entre o sistema glutamatérgico e o efeito do tipo antidepressivo da MeSel no TNF em camundongos, possivelmente mediada pela modulação dos receptores NMDA.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CUNHA, M. et al. The modulation of NMDA receptors and L-arginine/nitric oxide pathway is implicated in the anti-immobility effect of creatine in the tail suspension test. **Amino Acids**, v. 47, n. 4, p. 795-811, 2015.
- 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.
- GERHARD, D. M. et al. Emerging treatment mechanisms for depression: focus on glutamate and synaptic plasticity. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 3, p. 454-64, 2016.
- GONÇALVES, F. et al. Glutamatergic system and mTOR-signaling pathway participate in the antidepressant-like effect of inosine in the tail suspension test. **Journal of Neural Transmission (Vienna)**, v. 124, n. 10, p. 1227-37, 2017.
- JESULOLA, E.; MICALOS, P.; BAGULEY, I. J. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? **Behavioural Brain Research**, v. 341, p. 79-90, 2018.
- KADRIU, B. et al. Glutamatergic Neurotransmission: Pathway to Developing Novel Rapid-Acting Antidepressant Treatments. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 119-35, 2019.
- KHOODORUTH et al. Glutamatergic System in Depression and Its Role in Neuromodulatory Techniques Optimization. **Frontiers in Psychiatry**, v. 13, p. 886918, 2022.
- NIKAYIN, S. et al. Long-term safety of ketamine and esketamine in treatment of depression. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 21, n. 6, p. 777-87, 2022.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Depression**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em: 13 jul. 2023.
- 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.
- PORSOLT, R.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie**, v. 229, n. 2, p. 327-36, 1977.
- RECH, T. et al. Pharmacological evidence for glutamatergic pathway involvement in the antidepressant-like effects of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in male Swiss mice. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, online, 2023.
- ROCHA, M. et al. **Efeito do tipo antidepressivo da 1-(fenilselanil)-2-(p-tolil)indolizina em um modelo de depressão induzida por lipopolissacárido em camundongos**. Disponível em: <https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2022/CB_01811.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2023.
- ROCHA, M. et al. Involvement of the serotonergic system in the antidepressive-like effect of 1-(phenylselanyl)-2-(p-tolyl)indolizine in mice. **Psychopharmacology**, v. 240, p. 373-389, 2023.
- STACHOWICZ, K.; SOWA-KUĆMA, M. The treatment of depression - searching for new ideas. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 988648-58, 2022.
- WALSH, R.; CUMMINS, R. The Open-Field Test: a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482-504, 1976.