

MODULAÇÃO DAS SUBUNIDADES GluN1 E GluN2A DO RECEPTOR GLUTAMATÉRGICO NMDA NO EFEITO DO TIPO ANTIDEPRESSIVO DA 1-(FENILSELANIL)-2-(*p*-TOLIL)INDOLIZINA (MeSel)

MARCIA JUCIELE DA ROCHA¹; MARCELO HEINEMANN PRESA²; NARRYMAN PINTO ZUGE³; 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 – narrymanzuge@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

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central (SNC) e desempenha um papel importante na modulação da plasticidade e transmissão sináptica, além de ser o precursor do neurotransmissor inibitório ácido gama-amino-butírico (GABA). Ele exerce sua ação por meio de receptores glutamatérgicos ionotrópicos (receptor N-metil-D-aspartato – NMDAR; receptor α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico – AMPA; receptor cainato) e metabotrópicos (ONAOLAPO; ONAOLAPO, 2021).

Atualmente, sabe-se que o sistema glutamatérgico desempenha um papel fundamental na fisiopatologia e tratamento da depressão. A desregulação desse sistema normalmente desencadeia excitotoxicidade e morte celular resultando na perda da neuroplasticidade cerebral e, consequentemente, o surgimento de sintomas depressivos. Dessa forma, a regulação da sinalização do glutamato, principalmente através do NMDAR e AMPAR tem sido apontada como um mecanismo importante para o desenvolvimento de novos tratamentos para a depressão. Fármacos como a cetamina que atuam como antagonistas direto ou indireto do NMDAR, bem como moduladores dos AMPAR produzem efeitos rápidos e sustentados na plasticidade sináptica promovendo ação antidepressiva (HENTER; PARK; ZARATE, 2021; WANG et al. 2021).

No entanto, a terapia com os agentes disponíveis que modulam o sistema glutamatérgico é limitada, ressaltando a necessidade de explorar novas moléculas antidepressivas. Nesse contexto, a 1-(fenilselanil)-2-(*p*-tolil)indolizina (MeSel), que já demonstrou ter efeito do tipo-antidepressivo através da modulação do sistema monoaminérgico em estudos pré-clínicos anteriores, vem ganhando espaço na investigação mecanicista de sua ação (da ROCHA et al. 2023a; da ROCHA et al. 2024). Anteriormente, da ROCHA et al. (2023b) demonstraram que o efeito do tipo antidepressivo da MeSel está associado à modulação do receptor NMDA e o presente trabalho tem como objetivo aprofundar a compreensão do papel do sistema glutamatérgico na ação do tipo antidepressiva desse composto.

2. METODOLOGIA

Para o protocolo experimental, foram empregados camundongos Swiss machos adultos (25-30g fornecidos pelo Biotério Central da UFPel, os quais foram mantidos em condições padrões de alojamento (CEUA 018994/2022-92).

A MeSel (Figura 01) foi sintetizada de acordo com PENTEADO et al. (2019) e dissolvida em óleo de canola. A dose subefetiva de 0,5 mg/kg e a dose efetiva de 50 mg/kg foram empregadas no protocolo experimental e administradas por via intragástrica (i.g.). Para investigar o envolvimento do sistema glutamatérgico no efeito do tipo antidepressivo da MeSel foram empregados os seguintes fármacos: MK-801 (antagonista do NMDAR, 0,001 mg/kg, via intraperitoneal – i.p.), D-serina (agonista do sítio da glicina do NMDAR, 30 µg/sítio, via intracerebroventricular – i.c.v.) e 6,7-dinitroquinoxalina-2,3(1H,4H) -diona (DNQX) (antagonista do AMPAR, 2,5 µg/sítio, i.c.v.) (RECH et al. 2023). A dose da MeSel de 0,5 mg/kg foi administrada nos camundongos no protocolo experimental do antagonista MK-801 e a dose de 50 mg/kg nos demais protocolos.



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

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos independentes (n = 7-9 animais/grupo): a) grupo controle, b) grupo agonista ou antagonista, c) grupo MeSel, d) grupo interação. Primeiramente, os animais foram pré-tratados com MK-801 (0,001 mg/kg, i.p.), D-serina (30 µg/sítio, i.c.v.), ou DNQX (2,5 µg/sítio, i.c.v.) 15 minutos antes da administração da MeSel (0,5 ou 50 mg/kg, i.g.). Após 30 minutos da administração do composto foi realizado o teste do nado forçado (TNF), e, 4 minutos antes, os animais foram expostos ao teste do campo aberto (TCA).

O TNF foi utilizado para investigar o papel do sistema glutamatérgico no efeito antidepressivo da MeSel, medindo o tempo de imobilidade como indicador de comportamento depressivo em camundongos durante 6 minutos. A latência até a primeira imobilidade e o tempo total de imobilidade foram registrados (PORSOLT et al. 1997). O TCA avaliou a atividade locomotora e exploratória dos animais, observando o número de quadrantes atravessados e o número de vezes que os camundongos ficaram sobre as patas traseiras em um período de 4 minutos (WALSH; CUMMINS, 1976).

Os resultados experimentais foram expressos como a média ± erro padrão da média (E.P.M.), onde $p < 0,05$ foi considerado significativo. A análise estatística foi realizada utilizando o software GraphPad Prism 8.0.2 (San Diego, CA, EUA) para realizar a ANOVA de duas vias, seguida do teste post hoc de Newman-Keuls. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste D'Agostino e Pearson.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo forneceu evidências de que a modulação do NMDAR está envolvida no efeito do tipo antidepressivo da MeSel no FST em camundongos, sem envolver os AMPAR. Esses resultados estão de acordo com dados da literatura, que demonstram que a pesquisa de novos antidepressivos que modulam o sistema glutamatérgico atuam principalmente antagonizando o NMDAR (RECH et al. 2023; WANG et al. 2022).

Conforme mostrado nas Figuras 2A e 2B, a administração simultânea de MK-801 (0,001 mg/kg, i.p.), um antagonista do NMDAR, e MeSel (0,5 mg/kg, i.g.) produziu efeito do tipo antidepressivo no FST. O tratamento combinado aumentou a latência para o primeiro episódio de imobilidade (Fig. 2a; $F_{(1,28)} = 5,902$; $p = 0,0218$) e reduziu o tempo total de imobilidade (Fig. 2b; $F_{(1,28)} = 7,560$; $p = 0,0103$),

indicando um efeito sinérgico no TNF em camundongos. O MK-801 bloqueia o canal do NMDAR através da subunidade GluN2A (SU et al. 2023), corroborando achados anteriores (da ROCHA et al. 2023b) de que o efeito antidepressivo da MeSel está associado à modulação dessa subunidade.

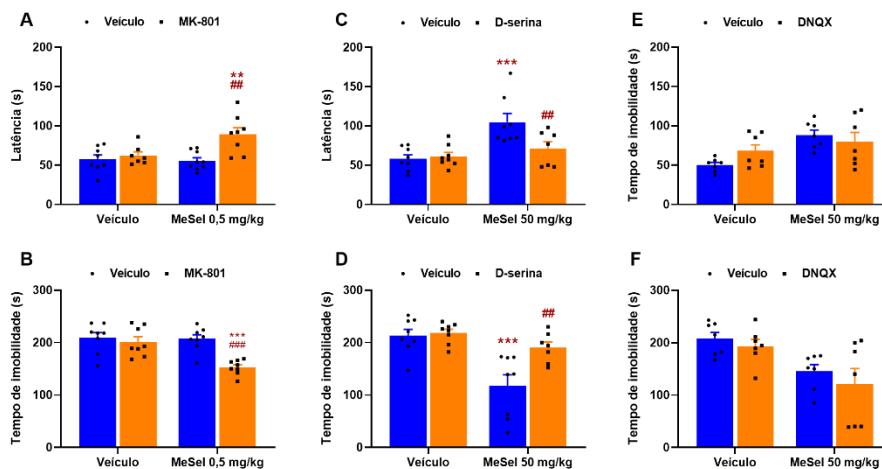


Figura 2: Efeito do pré-tratamento com (A / B) MK-801 (0,001 mg/kg, i.p.), (C / D) D-serina (30 µg/sítio, i.c.v.) e (E / F) DNQX (2,5 µg/sítio, i.c.v.) no efeito do tipo antidepressivo da MeSel (0,5 ou 50 mg/kg, i.g.) em camundongos no FST. Os valores foram expressos em média ± erro padrão da média (E.P.M.) ($n=7-9$ animais/grupo). Dados analisados por ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Newman-Keuls. (**) $p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$ comparado com o grupo controle; (##) $p < 0,01$ e (###) $p < 0,001$ comparado com o grupo MeSel.

Na etapa seguinte, os animais foram pré-tratados com D-serina (30 µg/sítio, i.c.v.), um agonista do sítio de glicina do NMDAR, antes de receberem MeSel (50 mg/kg, i.g.). Como ilustrado na Figura 2C, o pré-tratamento com D-serina bloqueou o aumento da latência para o primeiro episódio de imobilidade ($F_{(1,27)} = 5,573$; $p = 0,0257$), e na Figura 2D, bloqueou também a redução do tempo total de imobilidade ($F_{(1,27)} = 5,888$; $p = 0,0222$) induzidos pelo tratamento da MeSel. Esses resultados reforçam a hipótese de que a MeSel atua bloqueando o NMDAR, uma vez que a ligação do co-agonista D-serina na subunidade GluN1 (PEYROVIAN et al. 2019), impediu a ação do tipo antidepressiva do composto.

Por fim, as Figuras 2E e 2F ilustram que o pré-tratamento com DNQX (2,5 µg/sítio, i.c.v.), um antagonista do AMPAR, não bloqueou o efeito do tipo antidepressivo da MeSel (50 mg/kg, i.g.) no FST, como indicado pela latência para o primeiro episódio de imobilidade ($F_{(1,24)} = 2,669$; $p = 0,1154$) e a diminuição do tempo total de imobilidade ($F_{(1,24)} = 13,37$; $p = 0,0012$). Não houve diferença significativa na locomoção e na atividade exploratória dos animais no TCA após os tratamentos (dados não mostrados). A modulação dos AMPAR pode induzir efeitos antidepressivos através da neuroplasticidade sináptica, embora a margem de segurança desses potencializadores do AMPAR seja baixa, bem como apresentam uma curva dose-resposta estreita dificultando sua aceitação na comunidade científica (SUZUKI et al. 2022).

4. CONCLUSÕES

O estudo demonstrou que a selenoindolizina MeSel tem um efeito do tipo antidepressivo em camundongos através da modulação do sistema glutamatérgico,

principalmente pela modulação das subunidades GluN1 e GluN2A do NMDAR. Porém, mais estudos são necessários para comprovar essa hipótese.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- da ROCHA, M.J. et al. 1-(Phenylselanyl)-2-(p-tolyl)indolizine: A selenoindolizine with potential antidepressant-like activity in mice mediated by the modulation of dopaminergic and noradrenergic systems. **Brain research**, v. 1834, p. 148904, 2024.
- da ROCHA, M.J. et al. O envolvimento do sistema glutamatérgico mediado pelo receptor NMDA no efeito do tipo antidepressivo da 1-(fenilselanil)-2-(p-tolil)indolizina (MeSel). In: **XXV ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO – 9º SEMANA INTEGRADA DA UFPEL**, Pelotas, 2023, **Anais 2023**. Pelotas: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação e Inovação, 2023b.
- da ROCHA, M.J. et al. Involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of 1-(phenylselanyl)-2-(p-tolyl)indolizine in mice. **Psychopharmacology**, v. 204, n. 2, p. 373-389, 2023a.
- HENTER, I.D.; PARK, L.T.; ZARATE, C.A. Novel Glutamatergic Modulators for the Treatment of Mood Disorders: Current Status. **CNS drugs**, v. 35, n. 5, p. 527-543, 2021.
- ONAOLAPO, A.Y.; ONAOLAPO, O.J. Glutamate and depression: Reflecting a deepening knowledge of the gut and brain effects of a ubiquitous molecule. **World Journal of Psychiatry**, v. 11, n. 7, p. 297-315, 2021.
- PENTEADO, F. et al. Regioselective Synthesis of 1-Sulfanyl- and 1-Selanylindolizines. **Journal of Organic Chemistry**, v. 84, n. 11, p. 7189-7198, 2019.
- PEYROVIAN, B. et al. The glycine site of NMDA receptors: A target for cognitive enhancement in psychiatric disorders. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 92, p. 387-404, 2019.
- PORSOLT, R.D. et al. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie**, v. 229, n. 2, p. 327-336, 1977.
- RECH, T.D.S.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**, v. 396, n. 11, p. 3033-3044, 2023.
- SU, T. et al. GluN2A mediates ketamine-induced rapid antidepressant-like responses. **Nature neuroscience**, v. 26, n. 10, p. 1751-1761, 2023.
- SUZUKI, A. et al. Role of the AMPA receptor in antidepressant effects of ketamine and potential of AMPA receptor potentiators as a novel antidepressant. **Neuropharmacology**, v. 222, p. 109308, 2023.
- WALSH, R.N.; CUMMINS, R.A. The Open-Field Test: a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482-504, 1976.
- WANG, S. et al. Rapid-acting antidepressants targeting modulation of the glutamatergic system: clinical and preclinical evidence and mechanisms. **General psychiatry**, v. 35, n. 6, p. e100922, 2022.
- WANG, Y.T. et al. Novel rapid-acting glutamatergic modulators: Targeting the synaptic plasticity in depression. **Pharmacological research**, v. 171, p. 105761, 2021.