

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TIPO ANTIDEPRESSIVO DO 2-FENIL3(FENILSELANIL)BENZOFURANO EM UM MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

TAÍS DA SILVA TEIXEIRA RECH¹; MARIANA PARRON PAIM²; NATALIA GONÇALVES TAVARES³; JOSÉ SEBASTIÃO SANTOS NETO⁴; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁵; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – taisteixeira.r@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – maa_paim@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – natalia10.g.tavares@gmail.com

³ Universidade Federal de Goiás – zeneto.qmc@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – natalia10.g.tavares@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – cabruning@yahoo.com.br

⁶ Universidade Federal de Pelotas – cbortolatto@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo maior (TDM) é um dos transtornos psiquiátricos mais comuns e incapacitantes, resultando da interação entre fatores genéticos e ambientais. Esse transtorno afeta a cognição, a memória, o controle emocional, a motivação, entre outros aspectos. A prevalência do TDM é maior no sexo feminino, e a resposta aos antidepressivos é diferente entre os sexos. Os antidepressivos atualmente disponíveis possuem limitações devido à resposta lenta, ineficácia em alguns casos e diversos efeitos colaterais (BAINS e ABDIJADID, 2023).

Embora tenham ocorrido avanços recentes no entendimento da neurobiologia do TDM, muitos aspectos ainda permanecem sem compreensão. Entre as teorias aceitas para explicar a fisiopatologia do TDM está a hipótese monoaminérgica, que sugere alterações nos níveis de monoaminas, como serotonina (5-HT), dopamina (DA) e norepinefrina (NE), e a neuroinflamação. O sistema imunológico desempenha um papel fundamental na produção de citocinas, importantes na mediação das respostas inflamatórias e imunes. A demonstração de que as moléculas imunes são capazes de influenciar as respostas comportamentais levantaram a questão sobre a ligação entre as citocinas e os transtornos depressivos (TROUBAT et al. 2021).

Diante disso, é importante a realização de estudos que busquem novas alternativas terapêuticas para o TDM. Nesse sentido, o composto 2-fenil3(fenilselanil)benzofurano (SeBZF1), vem sendo estudado por nosso grupo de pesquisa, e tem se destacado por seu efeito do tipo antidepressivo em diferentes testes comportamentais (GALL et al. 2020; RECH et al. 2023; STRELOW et al. 2023). Sendo assim, o objetivo desse estudo foi investigar o efeito protetor do SeBZF1 frente às alterações comportamentais em um modelo de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS) em camundongos fêmeas, bem como avaliar a atividade hipocampal da enzima monoamina oxidase (MAO).

2. METODOLOGIA

2.1 Substâncias químicas

O composto SeBZF1 (Figura 1) foi sintetizado e caracterizado por um método previamente descrito (BLÖDORN et al., 2022). A administração do SeBZF1 foi feita por via oral (v.o.) na dose de 50 mg/kg, diluído em óleo de canola. O LPS de *Escherichia coli* (sorotipo 0127) foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) na dose de 0,83 mg/kg, diluído em solução salina. A fluoxetina foi utilizada como

controle positivo na dose de 20 mg/kg (i.p.), também diluída em solução salina. Todas as substâncias foram administradas em um volume fixo de 10 ml/kg de peso corporal.

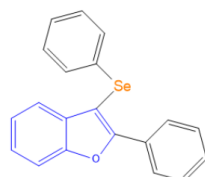


Figura 1. Representação da estrutura do composto SeBZF1.

2.2 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas (25-35 g) (n=9-10), provenientes do Biotério Central da UFPEL. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPEL (046112/2022). As condições padrões do biotério foram utilizadas para o bem-estar animal (temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, ciclo de luz de 12 horas claro/escuro, com acesso livre à água e comida).

2.3 Protocolo experimental

Os camundongos foram tratados com SeBZF1, óleo de canola ou fluoxetina. Trinta minutos após, os animais receberam o LPS ou seu veículo. Vinte e quatro horas após a administração do LPS, foram realizados testes comportamentais nos animais. Os testes empregados foram o teste do campo aberto (TCA) e o teste de suspensão pela cauda (TSC). O TSC foi usado para avaliar os comportamentos de fuga ou imobilidade passiva ao longo do tempo (STERU, et al. 1985), registrando o período de imobilidade durante os últimos 6 minutos do teste. Antes do TSC, os animais passaram pelo TCA durante 5 minutos (WALSH e CUMMINS, 1976) para a avaliação da atividade locomotora e exploratória. Após os testes, os animais foram eutanasiados e o hipocampo foi removido para a dosagem da MAO.

2.4 Atividade da enzima MAO

A atividade da MAO em suas duas isoformas A e B foi determinada conforme a metodologia descrita por KRAJL (1965), com algumas modificações propostas por SOTO-OTERO et al. (2001). Os sobrenadantes de hipocampo foram incubados a 37°C por 5 minutos em uma solução tampão contendo pargilina (inibidor da MAO-B) ou clorgilina (inibidor da MAO-A). Em seguida, adicionou-se quinuramina como substrato, e a mistura foi novamente incubada. A reação foi interrompida com a adição de ácido tricloroacético a 10%. Após resfriamento e centrifugação, uma alíquota do sobrenadante foi misturada com NaOH 1M. A intensidade da fluorescência foi medida usando um fluorímetro. A atividade da enzima foi expressa em nmol de 4-hidroxiquinolina por mg de proteína por minuto.

2.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o *software* GraphPad Prism (8.2.0). Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) unidirecional e teste *post hoc* de Newman-Keuls. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$ e apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na Figura 2 demonstram que o tratamento agudo com SeBZF1 apresentou efeitos preventivos sobre o comportamento tipo depressivo induzido pelo LPS em camundongos fêmeas quando submetidos ao TSC. Os

resultados indicam que há uma alteração nos parâmetros de latência para o primeiro episódio de imobilidade [$F_{(4,41)}=12,00$; $p<0,0001$] e imobilidade total [$F_{(4,41)}=11,18$; $p<0,0001$]. Pode-se observar que a administração do composto reverteu a diminuição no tempo de latência e o aumento no tempo de imobilidade causados pela administração do LPS ($p<0,001$). A administração de fluoxetina (20 mg/kg, i.p.) também demonstrou efeito, como esperado, aumentando o tempo de latência e reduzindo o tempo de imobilidade ($p<0,001$), validando os testes comportamentais. Sendo assim, o LPS foi capaz de induzir efeitos do tipo depressivos nos animais, que foram protegidos com o pré-tratamento com SeBZF1. Os dados referentes ao TCA (não mostrados) revelaram que não há alterações locomotoras ou exploratórias em nenhum dos grupos experimentais quando avaliado a locomoção [$F_{(4,41)}=0,7274$; $p<0,5784$] e atividade exploratória [$F_{(4,41)}=0,4000$; $p<0,8075$].

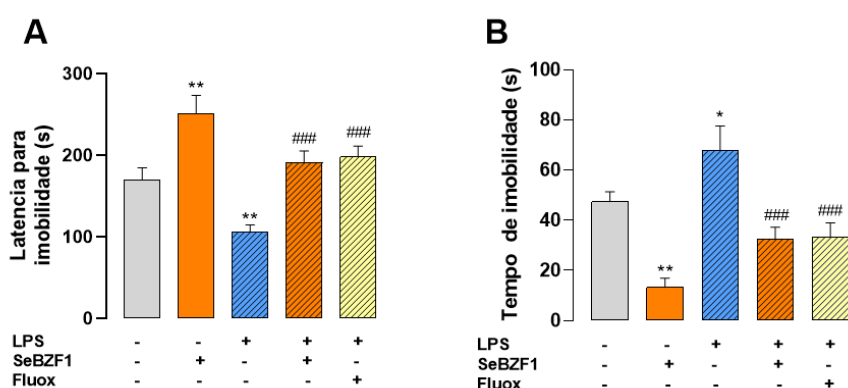


Figura 2. Efeito do pré-tratamento com SeBZF1 (50 mg/kg, i.g.) e fluoxetina (Fluox, 20 mg/kg, i.p.) no comportamento do tipo depressivo induzido por LPS no TSC em camundongos fêmeas. Os dados são expressos como média \pm E.P.M. *** $p<0,001$ comparado ao grupo controle; e ### $p<0,001$ quando comparado ao grupo LPS (ANOVA de uma via/Newman-Keuls, $n = 9-10$).

Os resultados apresentados na Figura 3 são relativos à dosagem da atividade da enzima MAO. A ANOVA revelou diferença entre os grupos experimentais para a isoforma MAO-A [$F_{(3, 27)}=5,379$; $p=0,0049$] e para MAO-B [$F_{(3, 27)}=4,123$; $p=0,0157$]. O grupo LPS apresentou um aumento da atividade da enzima para ambas isoformas ($p<0,01$ e $p<0,05$, respectivamente). Em contrapartida, o pré-tratamento com o composto foi capaz de reverter esse aumento da atividade enzimática, com $p<0,01$ para MAO-A e $p<0,01$ para MAO-B.

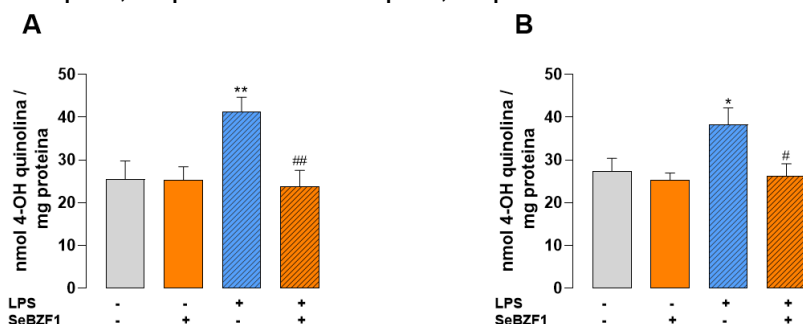


Figura 3. Efeito do pré-tratamento com SeBZF1 sobre a atividade das isoformas MAO-A (A) e MAO-B (B) em hipocampo de camundongos expostos ao LPS. Os dados são expressos como média \pm E.P.M. * $p<0,05$ e ** $p<0,01$ comparado ao

grupo controle; e $^{\#}p<0,05$ e $^{\#\#}p<0,01$ quando comparado ao grupo LPS (ANOVA de uma via/Newman-Keuls, $n=7-8$).

Os antidepressivos clássicos como fluoxetina, paroxetina e amitriptilina são capazes de prevenir as alterações a nível de neuroinflamação, agindo na micróglia, atuando nas alterações induzidas pelo LPS. Além disso, alguns antidepressivos interferem também na produção de marcadores inflamatórios, sugerindo que os antidepressivos podem modular a neuroinflamação. É também proposto que os inibidores da MAO são responsáveis por diminuir a neuroinflamação devido a redução dos danos oxidativos (PARK, et al. 2020). Estes achados demonstram o potencial do composto em proteger contra os efeitos deletérios induzidos pelo LPS em fêmeas e evidenciam sua eficácia terapêutica para depressão.

4. CONCLUSÕES

Através do modelo de depressão induzido por LPS em camundongos fêmeas, demonstramos que o composto SeBZF1 exerceu um efeito protetor contra as alterações comportamentais e bioquímicas provocadas por esse agente inflamatório, resultando em melhora nos sintomas tipo depressivos e restauração da atividade das enzimas MAO-A e MAO-B em hipocampo. Portanto, este estudo evidencia o seu potencial como uma intervenção terapêutica promissora no tratamento da depressão associada à neuroinflamação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAINS, N. and ABDIJADID, S. Major Depressive Disorder. **StatPearls**. 2023.
- BLÖDORN, G. B. et al. Trichloroisocyanuric acid (TCCA): a suitable reagent for the synthesis of selanyl-benzo [b] chalcogenophenes. **EurJOC**. 2022.
- GALL, J. I. et al. Insights into serotonergic and antioxidant mechanisms involved in antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 102, p. 109956, 2020.
- KRAJL, M. A rapid microfluorimetric determination of monoamine oxidase. **Biochem Pharmacol**, 4(11):1684-6, 1965.
- PARK, H. et al. The MAO Inhibitor Tranylcypromine Alters LPS- and A β -Mediated Neuroinflammatory Responses in Wild-type Mice and a Mouse Model of AD. **Cells**, 28;9(9):1982, 2020.
- RECH, T. 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**. 2023.
- STERU, L. et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 85(3): 367-370, 1985.
- SOTO-OTERO, R. et al. Inhibition of brain monoamine oxidase activity by the generation of hydroxyl radicals: potential implications in relation to oxidative stress. **Life Sci**, 13;69(8):879-89, 2001.
- STRELOW, D. N. et al. Depressive-like behavior and cognitive impairment induced by acute administration of dexamethasone: Pharmacological effects of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in female Swiss mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. 2023
- TROUBAT, R. et al. Neuroinflammation and depression: A review. **Eur J Neurosci**, 53(1): 151-171, 2021.
- Walsh, R. N. and R. A. Cummins. The Open-Field Test: a critical review. **Psychol Bull**, 83(3): 482-504, 1976.