

EFEITOS DO COMPOSTO 2-(((4-FLUOROFENIL(SELANIL)METIL)-2,3-DIIDROBENZOFURANO FRENTE A DANOS DE MEMÓRIA INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA EM CAMUNDONGOS SWISS MACHOS

TÁCIA KATIANE HALL¹; MARIANA PARRON PAIM²; JOSÉ SEBASTIÃO SANTOS NETO³; VANESSA NASCIMENTO⁴; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁵; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – taciahall26@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – maa_paim@hotmail.com

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

⁴Universidade Federal Fluminense – nascimentovanessa@id.uff.br

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

⁶Universidade Federal de Pelotas - cbortolatto@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência, afetando cerca de 55 milhões de pessoas em todo o mundo (ALZHEIMER'S ASSOCIATION REPORT, 2022). Caracterizada pelo acúmulo de placas de β -amilóide e emaranhados neurofibrilares de proteína tau, a DA causa perda progressiva de sinapses e morte celular, resultando em um declínio cognitivo severo que compromete profundamente a qualidade de vida dos pacientes (HAMPEL *et al.*, 2021). Embora avanços tenham sido feitos na compreensão dos mecanismos subjacentes à DA, as terapias disponíveis atualmente apenas aliviam os sintomas de forma temporária, sem interferir significativamente a progressão da doença (CUMMINGS *et al.*, 2019). Esse cenário destaca a necessidade de desenvolver novas abordagens terapêuticas que possam alterar o curso da DA.

Para o desenvolvimento dessas novas terapias, modelos experimentais são essenciais. Um dos modelos muito utilizados é a administração intracerebroventricular (i.c.v) de estreptozotocina (STZ) em roedores, que induz resistência à insulina no cérebro e reproduz características patológicas semelhantes às observadas na DA, incluindo disfunções cognitivas e neuroquímicas. Esse modelo é uma ferramenta valiosa para investigar não apenas a fisiopatologia da DA, mas também para testar potenciais agentes terapêuticos (COSTA *et al.*, 2016).

Nesse contexto, compostos orgânicos contendo selênio têm ganhado destaque devido às suas propriedades neuroprotetoras comprovadas (DA SILVA TEIXEIRA RECH *et al.*, 2021; GALL *et al.*, 2020). O selênio, um micronutriente essencial, é fundamental na defesa antioxidante, combatendo o estresse oxidativo, um fator chave na neurodegeneração na DA (BARCHIELLI *et al.*, 2022). Diante disso, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos do composto 2-(((4-fluorofenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano (nomeado **7D**), sobre a memória de animais submetidos à administração i.c.v de STZ, com o intuito de avaliar seu potencial de melhora da memória em testes comportamentais.

2. METODOLOGIA

Os procedimentos com animais foram autorizados pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA-UFPEL), sob o número de aprovação 032391/2023-84. Os animais foram mantidos em condições de temperatura controlada ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$), em um ciclo claro/escuro de 12h e livre acesso

à água e comida. O composto **7D** foi sintetizado no laboratório SupraSelen da Universidade Federal Fluminense (UFF), dissolvido em óleo de canola e administrado por via intragástrica (i.g) em um volume fixo de 10 ml/kg. O STZ e a memantina foram dissolvidos em solução salina 0,9% e administrados por via i.c.v e i.g., respectivamente.

Protocolo experimental: Camundongos Swiss machos foram distribuídos em seis grupos experimentais: Naive, Sham, STZ, STZ + **7D** 1 mg/kg, STZ + **7D** 5 mg/kg e STZ + Memantina 10 mg/kg. Nos dias 1 e 3 do protocolo, o grupo Sham recebeu solução salina 0,9% por via i.c.v, e todos os outros grupos, exceto Naive, receberam injeções bilaterais de STZ 3 mg/kg via i.c.v em um volume fixo de 3 µL. Entre os dias 4 e 25, os grupos tratados com o composto **7D** e o controle positivo (memantina, um antagonista de receptores NMDA) receberam administração i.g. dos respectivos tratamentos, enquanto os grupos Sham e STZ receberam apenas o veículo do composto de estudo (óleo de canola). O Grupo Naive não passou pelo procedimento de injeção i.c.v e não recebeu nenhum tratamento durante todo o protocolo. Entre os dias 20 e 24, os animais foram submetidos a testes comportamentais para avaliar parâmetros locomotores e de memória

Testes comportamentais: O teste do campo aberto avaliou a atividade locomotora dos camundongos (HALL, 1934). No teste de reconhecimento de objetos, realizado 24 horas após a exposição a dois objetos idênticos, foram medidos o tempo total de exploração e o tempo dedicado ao objeto novo para avaliar a memória de reconhecimento (ENNACEUR e DELACOUR, 1988). No teste de esquiva passiva, os camundongos foram treinados em uma plataforma e receberam choques leves ao descer, com a latência de descida registrada durante o treino e 24 horas depois, no teste (DENOBLE *et al.*, 1986).

A análise estatística foi realizada no GraphPad Prism (versão 8.2.0) usando ANOVA de uma via seguida do teste post hoc de Newman-Keuls. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.), com $p<0,05$ considerado significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste do campo aberto, a análise de variância ANOVA não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em relação ao número de cruzamentos [$F_{(5,57)} = 0,2015$; $p=0,9606$] e ao número de levantamentos sobre as patas posteriores [$F_{(5,39)} = 0,3570$; $p=0,8746$] (dados não mostrados). Esses resultados indicam que a atividade locomotora dos animais não foi afetada pelos tratamentos, o que reforça que as diferenças observadas nos testes cognitivos não estão relacionadas a alterações na função motora.

No teste de reconhecimento de objetos, a análise estatística revelou que não houve diferença significativa entre os grupos no tempo total de exploração [$F_{(5,39)} = 0,6799$; $p=0,6413$], indicando que todos os grupos mantiveram um nível semelhante de interesse e motivação para explorar (Fig. 2). No entanto, ao analisar o comportamento de exploração do objeto novo, observou-se que o grupo STZ explorou significativamente menos o objeto novo em comparação aos grupos Naive e Sham, sugerindo uma diminuição na capacidade de reconhecimento. Além disso, o índice de discriminação apresentou uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos [$F_{(5,39)} = 57,70$; $p<0,0001$]. O grupo STZ foi o único a apresentar um índice de discriminação negativo, indicando uma incapacidade de diferenciar entre o objeto novo e o familiar, refletindo um comprometimento na memória de reconhecimento. A análise post hoc de Newman-Keuls revelou que os grupos

tratados com o composto **7D** (1 mg/kg e 5 mg/kg), assim como o grupo tratado com memantina (10 mg/kg), apresentaram índices de discriminação significativamente superiores ao grupo STZ ($p < 0,0001$). Esses grupos mostraram valores positivos no índice de discriminação, indicando que o composto **7D**, assim como a memantina, foi eficaz em melhorar a memória de reconhecimento nos animais, sugerindo um potencial efeito neuroprotetor contra os déficits de memória induzidos pela STZ.

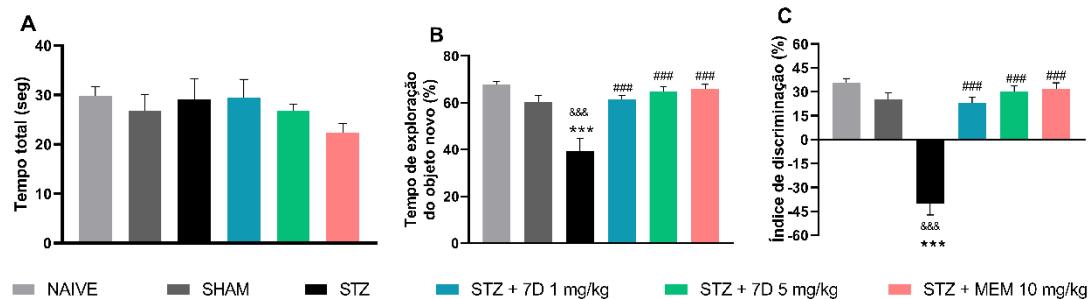


Figura 1. Avaliação dos efeitos composto **7D** no teste de reconhecimento de objetos. (A) Tempo total de exploração durante o teste; (B) Tempo de exploração do objeto novo; (C) Índice de discriminação. Os dados são expressos como média \pm E.P.M. && $p<0,001$ comparado ao grupo Naive; *** $p<0,001$ comparado ao grupo Sham; # $p<0,001$ comparado ao grupo STZ. N=7-8 animais por grupo. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Newman–Keuls.

Em relação ao teste de esquiva passiva, a análise revelou que não houve diferença significativa entre os grupos na latência para descida da plataforma durante o treino [$F_{(5,39)}=0,1402$; $p=0,9818$] indicando que todos os grupos obtiveram resultado semelhante no treino inicial. Contudo, no teste, realizado após 24 horas, uma diferença estatisticamente significativa foi observada na latência para descida da plataforma [$F_{(5,39)}=6,096$; $p < 0,0003$]. O teste *post hoc* de Newman-Keuls revelou que o grupo STZ desceu significativamente mais rápido que os grupos naive e sham ($p<0,001$), evidenciando comprometimento da memória aversiva. Em contrapartida, os grupos tratados com **7D** (1 mg/kg e 5 mg/kg) mostraram tempos de latência significativamente maiores em comparação ao grupo STZ ($p<0,05$ e $p<0,001$, respectivamente), sugerindo que esses tratamentos foram eficazes em preservar a memória (Fig. 3).

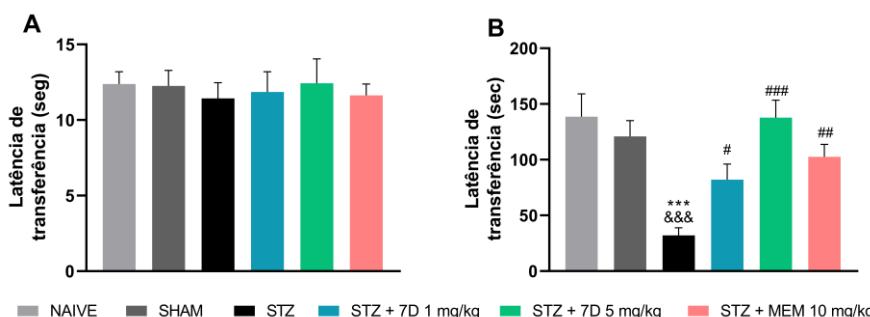


Figura 2. Avaliação dos efeitos do composto **7D** no teste da esquiva passiva (A) durante o treino e (B) após 24h (teste). Os dados são expressos como média \pm E.P.M. && $p<0,001$ comparado ao grupo Naive; *** $p<0,001$ comparado ao grupo

Sham; $\#p<0,05$; $\#\#p<0,01$ e $\#\#\#p<0,001$ comparado ao grupo STZ. N=7-8 animais por grupo. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Newman–Keuls.

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que o composto **7D**, em ambas as doses, protegeu contra déficits de memória induzidos por STZ em camundongos Swiss machos, evidenciado pela melhora dos aspectos comportamentais no teste de reconhecimento de objetos e no teste da esquiva passiva. Além disso, a atividade locomotora permaneceu inalterada. Esses resultados indicam que o composto **7D** pode servir como um candidato promissor para futuras investigações pré-clínicas acerca da neuroproteção.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARCHIELLI, G.; CAPPERUCCI, A.; TANINI, D. The Role of Selenium in Pathologies: An Updated Review. **Antioxidants (Basel)**, 11, n. 2, Jan 27 2022.
- COSTA, M.; BERNARDI, J.; FIUZA, T.; COSTA, L. *et al.* N-acetylcysteine protects memory decline induced by streptozotocin in mice. **Chem Biol Interact**, 253, p. 10-17, Jun 25 2016.
- CUMMINGS, J.; LEE, G.; RITTER, A.; SABBAGH, M. *et al.* Alzheimer's disease drug development pipeline: 2019. **Alzheimers Dement (N Y)**, 5, p. 272-293, 2019.
- DA SILVA TEIXEIRA RECH, T.; GONCALVES ALVES, A.; NORNBERG STRELOW, D.; DEVANTIER KRUGER, L. *et al.* 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)**, 238, n. 10, p. 3013-3024, Oct 2021.
- DENOBLE, V. J.; REPETTI, S. J.; GELPK, L. W.; WOOD, L. M. *et al.* Vinpocetine: nootropic effects on scopolamine-induced and hypoxia-induced retrieval deficits of a step-through passive avoidance response in rats. **Pharmacol Biochem Behav**, 24, n. 4, p. 1123-1128, Apr 1986.
- ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behav Brain Res**, 31, n. 1, p. 47-59, Nov 1 1988.
- GALL, J. I.; GONCALVES ALVES, A.; CARRARO JUNIOR, L. R.; DA SILVA TEIXEIRA RECH, T. *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, Aug 30 2020.
- HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, 18, n. (3), p. 385-403, 1934.
- HAMPEL, H.; HARDY, J.; BLENNOW, K.; CHEN, C. *et al.* The Amyloid-beta Pathway in Alzheimer's Disease. **Mol Psychiatry**, 26, n. 10, p. 5481-5503, Oct 2021.
- REPORT, A. S. A. 2022 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimers Dement**, 18, n. 4, p. 700-789, Apr 2022.