

REVERSÃO DO FENÓTIPO DEPRESSIVO INDUZIDO POR NEUROINFLAMAÇÃO EM CAMUNDONGOS PELA ADMINISTRAÇÃO DA BENZAMIDA *N*-(3-(FENILSELENIL)PROP-2-IN-1-ÍLICA: ANÁLISES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICAS

EVELYN MIANES BESCOW¹; MARCIA JUCIELE DA ROCHA¹; CAMILA
SIMÕES PIRES¹; BENHUR GODOI²; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO¹;
CÉSAR AUGUSTO BRÜNING¹

¹Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) – Universidade Federal de Pelotas – evy591@gmail.com; marciajr725@gmail.com; simoespirescamila@gmail.com; cbortolato@gmail.com; cabruning@yahoo.com.br

²Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos – Universidade Federal da Fronteira Sul – benhur.godoi@uffs.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) é um composto orgânico sintético que combina um átomo de selênio com um núcleo benzamida (BESCKOW et al., 2020). Estudos pré-clínicos têm mostrado que a SePB apresenta resultados promissores, com efeitos terapêuticos tipo antidepressivos em camundongos machos e fêmeas (BESCKOW et al., 2020). Esses efeitos parecem estar associados à modulação do sistema serotoninérgico, mediada pelos receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/2C} e 5-HT₃, bem como pelos receptores dopaminérgicos D₁, D₂ e D₃ (BESCKOW et al., 2020; BESCKOW et al., 2024). A crescente prevalência de resistência a tratamentos farmacológicos para a depressão, torna interessante o desenvolvimento de novos fármacos antidepressivos multi-alvos (AKIL et al., 2018).

Para superar as limitações dos fármacos existentes, é necessário explorar novos mecanismos subjacentes à depressão. Estudos recentes sugerem que a neuroinflamação pode resultar em comportamento tipo depressivo, associado à diminuição da concentração de serotonina no cérebro (BROWN et al., 2018). Através do modelo pré-clínico de depressão induzida por LPS, tem sido possível investigar a relação entre citocinas pró-inflamatórias como, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6) e o comportamento tipo depressivo (ZHENG et al., 2021). Dessa forma, a inflamação sistêmica induzida pela injeção periférica de lipopolissacarídeo (LPS) é um modelo animal amplamente aceito para investigar a relação entre neuroinflamação e sintomas depressivos.

Dado o potencial antidepressivo previamente demonstrado pela SePB, aliado a uma perspectiva inovadora que aborda a etiologia da depressão em termos de neuroinflamação, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito tipo antidepressivo da SePB em um modelo de depressão induzida por LPS em camundongos. Isso foi realizado por meio de ensaios comportamentais e análises neuroquímicas.

2. METODOLOGIA

2.1 Composto: A SePB (Fig. 1) foi sintetizada no Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos (NUSAACOI) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) - Campus Cerro Largo. Foi diluída em óleo de canola para administração intragástrica (i.g.) na dose de 10 mg/kg. O LPS (*E. coli*, L-3129, serotipo 0127:B8) foi adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, EUA), diluído em solução salina 0,9% e administrado intraperitonealmente (i.p.) na dose

de 0,83 mg/kg (O'CONNOR et al., 2009). A fluoxetina foi utilizada para validar os testes comportamentais (20 mg/kg, i.p.) (LIU et al., 2020).

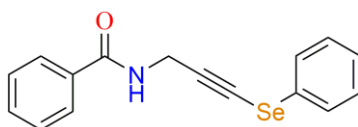


Figura 1. Estrutura química da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB)

2.2 Animais: Os testes comportamentais foram realizados em camundongos adultos machos (30 dias) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas do Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFPel (CEUA 037725/2022-25). Os grupos de animais foram acondicionados em caixas separadas, sob temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e mantidos em um ciclo de 12h claro/12h escuro. A dieta foi constituída de ração comercial (GUABI, RS, Brasil) e água fresca ad libitum.

2.3 Procedimentos experimentais: Para investigar um possível efeito protetor da SePB diante da indução de comportamento tipo depressivo em camundongos através da indução de neuroinflamação, camundongos adultos machos foram submetidos a pré-tratamento com SePB (10 mg/kg, i.g.) ou óleo de canola (10 ml/kg, i.g.). Após um período de 30 minutos, os animais receberam LPS (0,83 mg/kg, i.p.) ou solução salina (10 ml/kg, i.g.). Após 24 horas, os camundongos foram avaliados no teste do nado forçado (TNF), conforme PORSOLT; LE PICHON; JALFRE (1977). Posteriormente, os animais foram anestesiados e o hipocampo (HC) foi retirado para avaliação de parâmetros bioquímicos de neuroinflamação (IL-6 e TNF- α).

2.4 Parâmetros bioquímicos de neuroinflamação: O mRNA total foi extraído do hipocampo de camundongos utilizando TRIzol, seguido de sua quantificação. A síntese de cDNA foi realizada utilizando um kit de transcrição reversa de cDNA de alta capacidade de acordo com o protocolo do fabricante. A amplificação foi feita com o GoTaq® qPCR Master Mix usando o Stratagene Mx3005P real-time PCR. As expressões gênicas foram normalizadas usando o *primer* GAPDH como gene de referência (DOMINGUES et al., 2019).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio do TNF, foi possível evidenciar um efeito protetor da SePB em relação ao comportamento tipo depressivo induzido pelo LPS. A latência para imobilidade aumentou no grupo de camundongos que receberam SePB, SePB + LPS e FLX + LPS, enquanto diminuiu no grupo que recebeu somente LPS (V) [F (4, 55) = 53,97; $p > 0,0001$] (Fig.2A), quando comparados aos camundongos controles.

Na Figura 2B, é possível observar uma diminuição no tempo total de imobilidade nos camundongos que receberam SePB, SePB + LPS e FLX + LPS enquanto diminuiu no grupo que recebeu somente LPS (V) [F (4, 55) = 26,01; $p > 0,0001$], quando comparados aos camundongos controles. Esses resultados revelam que os camundongos do grupo V manifestaram um comportamento tipo depressivo induzido pelo LPS.

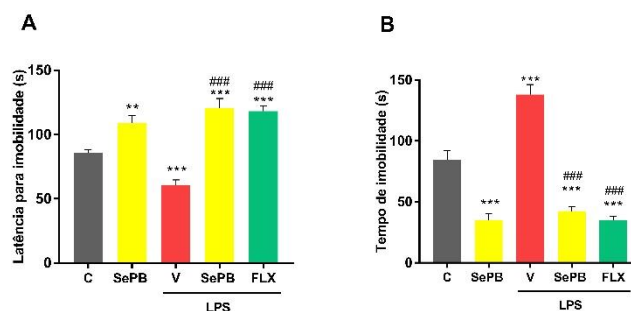


Figura 2. Efeito da SePB (10 mg/kg, i.g.) no comportamento do tipo depressivo induzido por LPS em camundongos no TNF. (A) Latência para imobilidade (B) Tempo de imobilidade. Valores expressos em média \pm E.P.M (n = 9-11 animais por grupo). (***) p < 0,01 e (***) p < 0,001 quando comparado ao grupo controle. (###) p < 0,001 quando comparado ao grupo LPS.

Adicionalmente, os tratamentos com SePB + LPS e FLX + LPS conseguiram reverter o comportamento tipo depressivo observado nos camundongos do grupo V, aumentando a latência para imobilidade e diminuindo o tempo total de imobilidade. Essa observação sugere que o efeito tipo antidepressivo evidenciado pela SePB pode decorrer de uma neuroinflamação central.

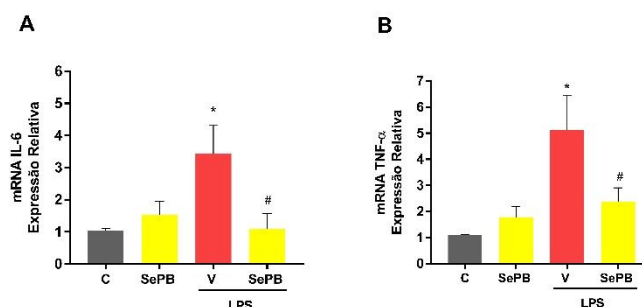


Figura 3. Efeito da SePB (10 mg/kg, i.g.) na expressão de mRNA de genes alvo em HP de camundongos. (A) Expressão de IL-6 (B) Expressão de TNF- α . Valores expressos em média \pm E.P.M (n = 3-4). (*) p < 0,05 quando comparado ao grupo controle. (#) p < 0,05 quando comparado ao grupo LPS.

O tratamento com a SePB reverteu a expressão aumentada das citocinas pró-inflamatórias IL-6 [F(3, 11) = 4,236; p = 0,0322] e TNF- α [F(3, 11) = 5,318; p = 0,0165], que foi induzida por LPS no hipocampo (HC) de camundongos. O grupo de animais que recebeu apenas LPS demonstrou níveis elevados de mRNA para IL-6 e TNF- α em comparação ao grupo controle. Por outro lado, os grupos tratados com SePB, SePB + LPS e FLX + LPS apresentaram uma redução na expressão do mRNA de IL-6 e TNF- α . Esses resultados são significativos porque sugerem que o efeito tipo antidepressivo observado após o tratamento com a SePB pode estar associado à diminuição da neuroinflamação, evidenciada pela redução da expressão de mRNA de IL-6 e TNF- α no HC. Estudos clínicos mostram níveis elevados dessas citocinas em pacientes com depressão (OBERMANN et al., 2021). Esses achados corroboram os resultados do nosso estudo e oferecem

novas perspectivas para explorar mecanismos adicionais relacionados à etiologia da depressão.

4. CONCLUSÕES

Utilizando um modelo de depressão induzida por LPS, observou-se que a SePB foi eficaz em proteger os camundongos contra comportamentos depressivos associados à neuroinflamação. Além disso, esses efeitos comportamentais parecem estar relacionados à regulação negativa da expressão de IL-6 e TNF- α no HC de camundongos. Esses achados sugerem que a SePB pode oferecer novas opções terapêuticas para a depressão, uma vez que sua ação parece estar vinculada à redução da neuroinflamação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIL, H.; GORDON, J.; HEN, R.; JAVITCH, J.; MAYBERG, H.; MCEWEN, B.; MEANEY, M. J.; NESTLER, E. J. Treatment resistant depression: A multi-scale, systems biology approach. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 84, n., p. 272-288, 2018.
- BESCKOW, E. M.; NONEMACHER, N. T.; GARCIA, C. S.; DA SILVA ESPINDOLA, C. N.; BALBOM, E. B.; GRITZENCO, F.; SAVEGNAGO, L.; GODOI, B.; BORTOLATTO, C. F.; BRUNING, C. A. Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice: involvement of the serotonergic system. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 237, n. 10, p. 3149-3159, 2020.
- BESCKOW, E. M.; LEDEBUHR, K. N. B.; PIRES, C. S.; ROCHA, M. J. D.; KUNTZ, N. E. B.; GODOI, B.; BORTOLATTO, C. F.; BRUNING, C. A. Dopaminergic Modulation and Computational ADMET Insights for the Antidepressant-like Effect of N-(3-(Phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide. **ACS Chem Neurosci**, v. 15, n. 9, p. 1904-1914, 2024.
- BROWN, E.; MC VEIGH, C. J.; SANTOS, L.; GOGARTY, M.; MULLER, H. K.; ELFVING, B.; BRAYDEN, D. J.; HAASE, J. TNF α -dependent anhedonia and upregulation of hippocampal serotonin transporter activity in a mouse model of collagen-induced arthritis. **Neuropharmacology**, v. 137, n., p. 211-220, 2018.
- DOMINGUES, M.; CASARIL, A. M.; BIRMANN, P. T.; BAMPI, S. R.; LOURENCO, D. A.; VIEIRA, B. M.; DAPPER, L. H.; LENARDAO, E. J.; SONEGO, M.; COLLARES, T.; SEIXAS, F. K.; BRUNING, C. A.; SAVEGNAGO, L. Effects of a selanylimidazopyridine on the acute restraint stress-induced depressive- and anxiety-like behaviors and biological changes in mice. **Behav Brain Res**, v. 366, n., p. 96-107, 2019.
- O'CONNOR, J. C.; LAWSON, M. A.; ANDRE, C.; MOREAU, M.; LESTAGE, J.; CASTANON, N.; KELLEY, K. W.; DANTZER, R. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. **Mol Psychiatry**, v. 14, n. 5, p. 511-522, 2009.
- PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.
- ZHENG, Z. H.; TU, J. L.; LI, X. H.; HUA, Q.; LIU, W. Z.; LIU, Y.; PAN, B. X.; HU, P.; ZHANG, W. H. Neuroinflammation induces anxiety- and depressive-like behavior by modulating neuronal plasticity in the basolateral amygdala. **Brain Behav Immun**, v. 91, n., p. 505-518, 2021.