

MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO, NEUROINFLAMAÇÃO E NEUROPLASTICIDADE POR 1-(2-(4-(4-ETILFENIL)-1H-1,2,3-TRIAZOL-1-IL)FENIL)ETAN-1-ONA EM UM MODELO DE ESTRESSE CRÔNICO EM CAMUNDONGOS C57BL/6

MARCELO HEINEMANN PRESA¹; KAUANE NAYARA BAHR LEDEBUHR²;
VINICIUS FARIAS CAMPOS³; DIEGO ALVES⁴; CRISTIANI FOLHARINI
BORTOLATTO⁵; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁶;

¹Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular, Universidade Federal de Pelotas – marcelopresa123@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - knayara10@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – campos.vinicius@ufpel.edu.br

⁴Laboratório de Síntese Orgânica Limpa - diego.alves@ufpel.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas - cbortolato@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - cabruning@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A depressão é um transtorno multifatorial e uma das principais causas de incapacidade global, caracterizada por alterações comportamentais e disfunções neurobiológicas complexas (WHO, 2022). Sua fisiopatologia envolve múltiplos mecanismos, o que contribui para a resposta limitada aos fármacos atualmente disponíveis e justifica a busca por novas estratégias terapêuticas (Mcintyre *et al.*, 2023). Compostos contendo o núcleo 1,2,3-triazol têm demonstrado potencial farmacológico em distúrbios neuropsiquiátricos (Deswal *et al.*, 2022; Fallah *et al.*, 2022). Estudos prévios de nosso grupo de pesquisa identificaram que a molécula 1-(2-(4-(4-etilfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)etan-1-ona (ETAP)(Figura 1) apresenta efeito do tipo antidepressivo, parcialmente mediado pelo sistema monoaminérgico (Presa *et al.*, 2025; Presa *et al.*, 2023). Além disso, demonstramos, através de testes comportamentais frequentemente utilizados na triagem de novas drogas, que o tratamento crônico com ETAP foi eficaz na proteção da indução do fenótipo depressivo em animais submetidos a um modelo de estresse crônico (Presa *et al.*, 2024). No presente trabalho, investigamos, por PCR quantitativa, a expressão de biomarcadores associados ao estresse oxidativo, à neuroinflamação e à neuroplasticidade em modelo pré-clínico de depressão induzida por estresse crônico moderado imprevisível.

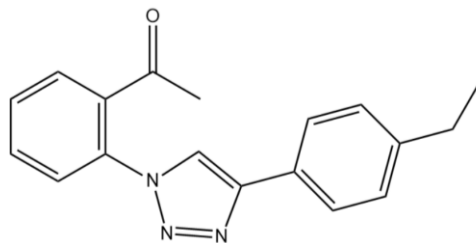


Figura 1. Estrutura química da 1-(2-(4-(4-etilfenil)-1h-1,2,3-triazolo-1-il)fenil)etan-1-ona.

2. METODOLOGIA

Camundongos C57BL/6 machos (20 - 25 g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), submetidos a protocolo de estresse crônico, foram utilizados neste estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPEL (protocolo CEUA - 037700/2022-21). A ETAP, sintetizada pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL), foi dissolvida em óleo de canola e administrada por via intragástrica (i.g.) na dose de 1 mg/kg, em

volume constante de 10 mL/kg. Ao longo de 35 dias, os animais receberam tratamento de acordo com seus grupos experimentais e, simultaneamente, foram submetidos a estressores diários para a indução do fenótipo depressivo. Os tratamentos foram administrados previamente a exposição ao estressor, com o objetivo de avaliar o potencial efeito preventivo de ETAP. Após a finalização do protocolo, os animais foram eutanasiados com excesso de isoflurano e as amostras foram dissecadas e armazenadas em freezer -80°C até o momento da análise. Para análise da expressão gênica, o RNA total foi extraído do córtex pré-frontal e do hipocampo com TRIzol®, seguido de tratamento com DNase I e quantificação por espectrofotometria. A síntese de cDNA foi realizada com o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription, e a amplificação por qPCR conduzida no sistema QuantStudio™ 3, utilizando primers específicos para β -Actina, Nrf2, IL-1 β e BDNF (Fukuchi *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2004). A expressão gênica relativa foi determinada pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$, com β -Actina como gene de referência (Livak; Schmittgen, 2001). Os dados foram analisados no GraphPad Prism 8.0.1, e a normalidade verificada pelo teste de D'Agostino & Pearson. A comparação entre os grupos experimentais foi realizada por ANOVA unidirecional, seguida do teste post hoc de Newman-Keuls, quando apropriado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A expressão gênica de Nrf2 foi significativamente modulada no córtex pré-frontal (CPF) e no hipocampo (HC), com efeitos estatisticamente significativos dos tratamentos no CPF [$F_{(3,20)} = 26,31$; $p = 0,0001$] (Figura 2A) e no HC [$F_{(3,20)} = 13,71$; $p = 0,0001$] (Figura 2B). Em condições de estresse oxidativo, a ativação do fator de transcrição Nrf2 implica na liberação de defesas antioxidantes endógenas, permitindo a proteção celular contra danos oxidativos e neuroinflamatório. A redução observada de Nrf2 no grupo Induzido em ambas as regiões indica um comprometimento dos mecanismos antioxidantes devido ao estresse crônico, evidenciando um cenário favorável à oxidação celular. O aumento da expressão de Nrf2 promovido pelo ETAP, especialmente no CPF independentemente da exposição ao estresse, sugere que o composto possui ação antioxidante direta, capaz de estimular a via de defesa celular contra o estresse oxidativo, o que pode ser fundamental para sua atividade neuroprotetora (Li *et al.*, 2025).

A análise da expressão de interleucina 1 β (IL-1 β), uma citocina pró-inflamatória, revelou efeito significativo no CPF [$F_{(3,20)} = 4,137$; $p = 0,0196$] (Figura 2C), embora sem diferenças marcantes entre os grupos, e efeito robusto no HC [$F_{(3,20)} = 18,95$; $p = 0,0001$] (Figura 2D), com aumento no grupo Induzido e redução no grupo Interação. Esses dados indicam que o estresse crônico desencadeia uma resposta inflamatória pronunciada, especialmente no hipocampo, região sensível a danos inflamatórios. A capacidade de ETAP em reduzir a expressão de IL-1 β sugere que seu efeito antidepressivo pode envolver a modulação da neuroinflamação, contribuindo para a restauração do equilíbrio imunológico cerebral (Li *et al.*, 2024).

Quanto ao fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), a ANOVA mostrou efeito significativo dos tratamentos no CPF [$F_{(3,20)} = 8,418$; $p = 0,0008$] (Figura 2E), com redução acentuada no grupo Induzido, refletindo a comprometida neuroplasticidade associada ao estresse crônico. O ETAP atenuou parcialmente essa redução, além de aumentar a expressão de BDNF em animais não estressados, indicando um possível efeito pro-cognitivo e trófico do composto. No hipocampo, a ausência de diferenças significativas [$F_{(3,20)} = 0,3364$; $p = 0,7992$] (Figura 2F) pode refletir uma regulação regional distinta da neuroplasticidade, ou

limitação do modelo em afetar essa região especificamente, reforçando a importância do córtex pré-frontal como alvo sensível do ETAP (Gong *et al.*, 2023; Han *et al.*, 2025).

Em conjunto, os resultados apontam que o ETAP exerce efeitos neuroprotetores por meio da modulação de mecanismos antioxidantes, anti-inflamatórios e de promoção da neuroplasticidade, especialmente no córtex pré-frontal, região crítica para os processos afetivos e cognitivos envolvidos na depressão.

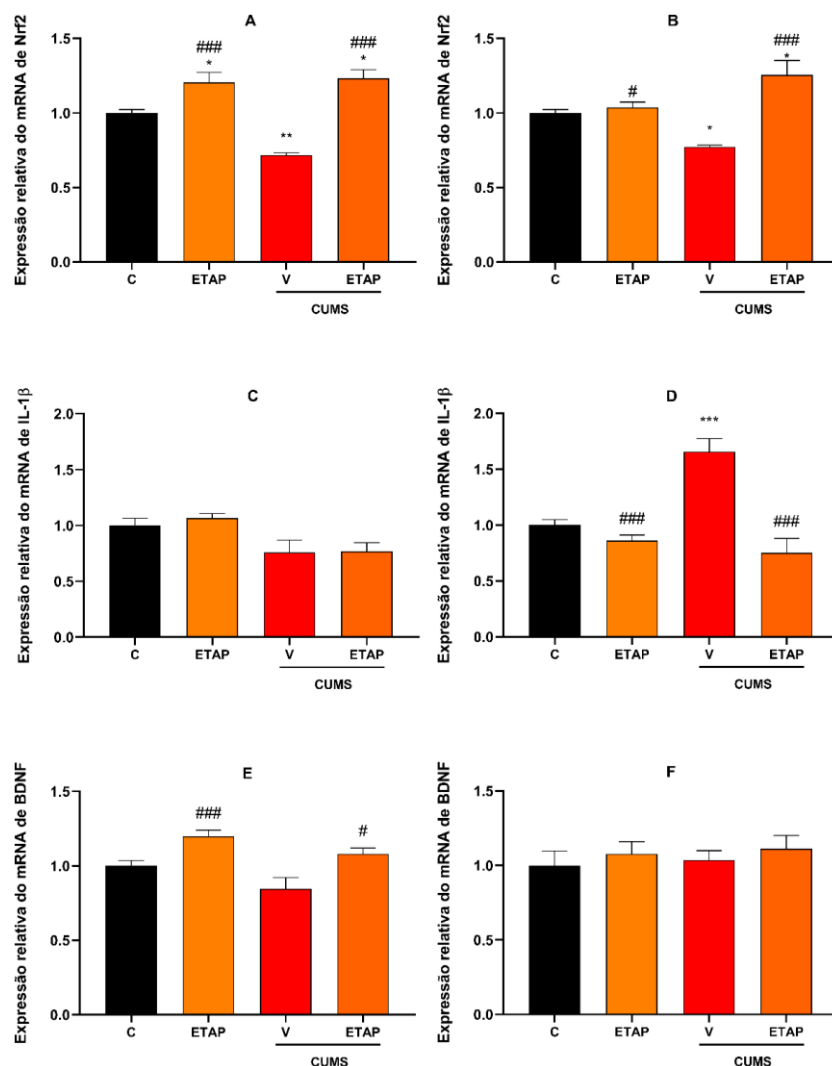


Figura 2. Expressão gênica de Nrf2, IL-1 β e BDNF no córtex pré-frontal (CPF – A, C e E, respectivamente) e hipocampo (HC – B, D e F, respectivamente) de camundongos submetidos a estresse crônico moderado e imprevisível (CUMS) e tratados com ETAP. Valores expressos como média \pm erro padrão de 6 amostras por grupo. Análise de normalidade pelo teste de D'Agostino & Pearson. (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; e (***) $p < 0,001$ vs. controle. (#) $p < 0,05$; e (###) $p < 0,001$ vs. grupo V + CUMS (ANOVA one-way com post-hoc Newman-Keuls).

4. CONCLUSÕES

Em suma, o ETAP demonstrou capacidade de modular positivamente a expressão gênica relacionada ao estresse oxidativo, à neuroinflamação e à neuroplasticidade em áreas cerebrais críticas para a fisiopatologia da depressão. Esses resultados reforçam o potencial terapêutico do composto como agente neuroprotetor e antidepressivo, justificando investigações futuras para aprofundar seus mecanismos de ação e aplicação clínica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DESWAL, L.; VERMA, V.; KIRAR, J. S.; KUMAR, D. *et al.* Benzimidazole-1, 2, 3-triazole-piperazine hybrids: design, synthesis, antidiabetic evaluation and molecular modelling studies. **Research on Chemical Intermediates**, p. 1-25, 2022.
- FALLAH, Z.; TAJBAKHS, M.; ALIKHANI, M.; LARIJANI, B. *et al.* A review on synthesis, mechanism of action, and structure-activity relationships of 1, 2, 3-triazole-based α -glucosidase inhibitors as promising anti-diabetic agents. **Journal of Molecular Structure**, p. 132469, 2022.
- FUKUCHI, M.; IZUMI, H.; MORI, H.; KIYAMA, M. *et al.* Visualizing changes in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression using bioluminescence imaging in living mice. **Scientific reports**, 7, n. 1, p. 4949, 2017.
- GONG, M.; WANG, J.; SONG, L.; WU, X. *et al.* Role of BDNF–TrkB signaling in the antidepressant-like actions of loganin, the main active compound of Corni Fructus. **CNS neuroscience & therapeutics**, 29, n. 12, p. 3842-3853, 2023.
- HAN, M.; ZENG, D.; TAN, W.; CHEN, X. *et al.* Brain region-specific roles of brain-derived neurotrophic factor in social stress-induced depressive-like behavior. **Neural Regener Res** 20: 159–173. 2025.
- LI, C.; GE, H.; HUANG, J.; SI, L. *et al.* Resveratrol alleviates depression-like behaviors by inhibiting ferroptosis via AKT/NRF2 pathway. **Brain Research Bulletin**, 220, p. 111136, 2025.
- LI, L.; FEI, Z.; REN, J.; SUN, R. *et al.* Functional imaging of interleukin 1 beta expression in inflammatory process using bioluminescence imaging in transgenic mice. **Bmc Immunology**, 9, p. 1-9, 2008.
- LI, N.; ALAM, J.; VENKATESAN, M. I.; EIGUREN-FERNANDEZ, A. *et al.* Nrf2 is a key transcription factor that regulates antioxidant defense in macrophages and epithelial cells: protecting against the proinflammatory and oxidizing effects of diesel exhaust chemicals. **The Journal of Immunology**, 173, n. 5, p. 3467-3481, 2004.
- LI, S.; SHAO, H.; SUN, T.; GUO, X. *et al.* Anti-neuroinflammatory effect of hydroxytyrosol: a potential strategy for anti-depressant development. **Frontiers in Pharmacology**, 15, p. 1366683, 2024.
- LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ $\Delta\Delta$ CT method. **methods**, 25, n. 4, p. 402-408, 2001.
- MCINTYRE, R. S.; ALSUWAIDAN, M.; BAUNE, B. T.; BERK, M. *et al.* Treatment-resistant depression: definition, prevalence, detection, management, and investigational interventions. **World psychiatry**, 22, n. 3, p. 394-412, 2023.
- PRESA, M. H.; DA ROCHA, M. J.; LEDEBUHR, K. N. B.; ZUGE, N. P. *et al.* Exploring the contribution of the dopaminergic and noradrenergic systems in the antidepressant-like action of 1-(2-(4-(4-ethylphenyl)-1H-1, 2, 3-triazol-1-yl) phenyl) ethanone in mice. **Behavioural Brain Research**, 480, p. 115390, 2025.
- PRESA, M. H.; DA ROCHA, M. J.; ZUGE, N. P.; ALVES, D. *et al.* EFEITO DO TIPO ANTIDEPRESSIVO DE 1-(2-(4-(4-ETILFENIL)-1H-1, 2, 3-TRIAZOLO-1-IL) FENIL) ETAN-1-ONA EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A UM MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR ESTRESSE CRÔNICO.
- PRESA, M. H.; ROCHA, M. J. D.; PIRES, C. S.; LEDEBUHR, K. N. B. *et al.* Antidepressant-like Effect of 1-(2-(4-(4-Ethylphenyl)-1 H-1, 2, 3-triazol-1-yl) phenyl) ethan-1-one in Mice: Evidence of the Contribution of the Serotonergic System. **ACS Chemical Neuroscience**, 2023.
- WHO. World Health Organization, Depression. 2022.