

EFEITO DO EXTRATO DE MIRTILO E DO CARBONATO DE LÍTIO SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS SUBMETIDOS AO MODELO EXPERIMENTAL DE MANIA

BRUNA MATTOS¹; GABRIELA DEBOM²; MAYARA SOARES²; CLAITON LENCINA²; MARTA GAZAL²; ROSELIA MARIA SPANEVELLO³

¹Universidade Federal de Pelotas – bruna.mtt@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – gabriela.debom@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Transtorno de Humor Bipolar (THB) é uma doença psiquiátrica caracterizada tipicamente por episódios que variam de fases de mania até depressão, associada a uma alta taxa de comorbidades médicas e psiquiátricas (BUDNI et al., 2013). Estudos demonstram que o estresse oxidativo, está intimamente ligado às complicações associadas com o THB (MACHADO- VIEIRA et al., 2005).

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre os níveis de espécies reativas e a capacidade antioxidante celular (HALLIWELL, 2011). A alta produção de espécies reativas é responsável por várias ações deletérias no organismo, tais como aumento nos níveis da peroxidação lipídica das membranas, aumento na carbonilação de proteínas e danos ao DNA (HALLIWELL, 2011). A suscetibilidade das células ao dano oxidativo depende do estado da sua defesa antioxidante, a qual é formada por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. A defesa antioxidante enzimática é representada principalmente pela superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, enquanto as defesas antioxidantes não enzimáticas incluem as vitaminas C e E e os compostos orgânicos contendo grupos sulfidril (SH) que são denominados de tióis (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

O tratamento farmacológico utilizado para amenizar as crises decorrentes da THB, é na maioria das vezes feito com carbonato de lítio, um fármaco estabilizador do humor (RANG & DALE, 2011). Entretanto, as terapias à base de plantas podem ser alternativas eficazes no tratamento dos transtornos de humor por apresentarem compostos com potentes atividades antioxidantes. O mirtilo (*Vaccinium* sp.) é uma pequena fruta que quando madura adquire coloração azul arroxeada e sabor doce-ácido. Também conhecido com a “fruta da longevidade” o mirtilo possui várias propriedades terapêuticas importantes dentre estas pode-se destacar a ação antioxidante (FARIA et al; 2005) e neuroprotetora (GALLI et al., 2006).

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do extrato de mirtilo e do carbonato de lítio sobre parâmetros de estresse oxidativo em córtex cerebral de ratos submetidos a um modelo experimental de mania induzido por cetamina.

2. METODOLOGIA

2.1 Animais

Foram utilizados ratos machos Wistar (60 dias) obtidos do Biotério da UFPel os quais foram mantidos em ambiente com temperatura (20 - 24°C) e

umidade (40 - 60%) controladas, água e alimento ad libitum, e ciclo claro/escuro de 12 horas. O protocolo experimental desse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA 9026).

2.2 Modelo experimental de mania e tratamento

O extrato de mirtilo usado no estudo foi preparado de acordo com Bordignon et al. (2009) sendo que os frutos de mirtilo (*Vaccinium virgatum* Aiton), foram coletados em área cultivada pelo Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia na UFPel, Pelotas/RS.

Os animais foram divididos em seis grupos: I (controle), II (Lítio), III (Extrato de Mirtilo), IV (Cetamina), V (Cetamina + Lítio) e VI (Cetamina + Extrato de Mirtilo). Os animais foram tratados de acordo com um protocolo de prevenção onde os animais dos grupos III e VI receberam extrato de mirtilo na dose de 200mg/kg e os animais dos grupos II e V receberam carbonato de lítio (45mg/kg via oral por via oral do 1^o até o 14^o dia. Os animais dos grupos I e IV receberam o mesmo volume de solução salina. A partir do 8^o dia os animais dos grupos IV, V e VI receberam também uma dose de cetamina (25 mg/kg) por via intraperitoneal uma vez ao dia. Ao final do tratamento, no 15^o dia, os animais receberam uma única dose de cetamina e após 30 minutos a atividade locomotora foi avaliada utilizando teste de campo aberto.

2.3 Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo

Logo após o teste de campo aberto, os animais foram submetidos à eutanásia. O córtex cerebral foi coletado e homogeneizado em tampão fosfato de sódio 20 mM contendo 140 mM de KCl (pH 7,4), centrifugado e o sobrenadante foi usado para avaliar os níveis de peroxidação lipídica, conteúdo tiólico total e atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase. O nível de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi avaliado segundo o método de ESTERBAUER & CHEESEMAN (1990) o qual mede a formação de malondialdeído. O conteúdo tiólico total foi determinado pelo método de AKSENOV e MARKESBERY (2001). A atividade da enzima catalase foi realizada conforme o método descrito por AEBI (1984) e da superóxido dismutase (SOD) segundo método de SPITZ & OBERLEY (1989).

2.3 Análise estatística

Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias (two-way ANOVA), seguida do teste de post-hoc de Bonferroni. Os resultados foram considerados significantes quando $P \leq 0.05$ sendo expressos como média \pm desvio padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que houve um aumento significativo nos níveis de TBARS e uma diminuição no conteúdo tiólico total em córtex cerebral de ratos tratados somente com cetamina (Grupo IV, $P < 0.05$). Os tratamentos com extrato de mirtilo bem como com carbonato de lítio foram capazes de prevenir essas alterações ($P < 0.05$; Figura 1 e 2). Em relação às enzimas antioxidantes os resultados obtidos demonstraram uma diminuição na atividade da catalase e da superóxido dismutase em córtex cerebral de ratos tratados somente com cetamina ($P < 0.05$), sendo que o tratamento com extrato de mirtilo e lítio também foram capazes de prevenir esse efeito (Figura 3 e 4).

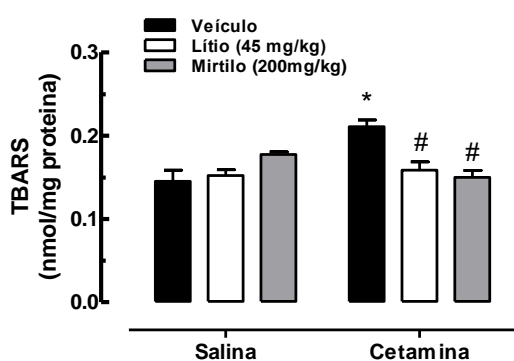


Figura 1: Níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em córtex total de ratos submetidos a um modelo experimental de mania e tratados com extrato de mirtilo ou lítio. *Diferente do grupo salina/salina para $P < 0,05$. #Diferente do grupo cetamina/salina para $P < 0,05$.

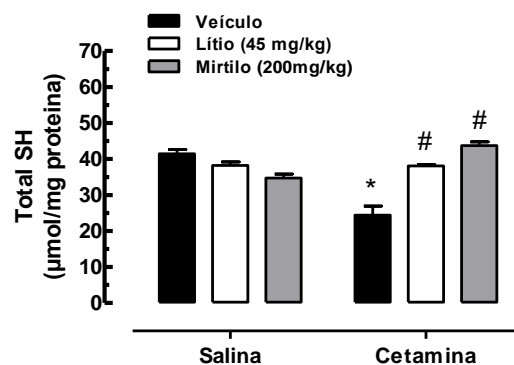


Figura 2: Conteúdo tiólico total em córtex total de ratos submetidos a um modelo experimental de mania e tratados com extrato de mirtilo ou lítio. *Diferente do grupo salina/salina para $P < 0,05$. #Diferente do grupo cetamina/salina para $P < 0,05$.

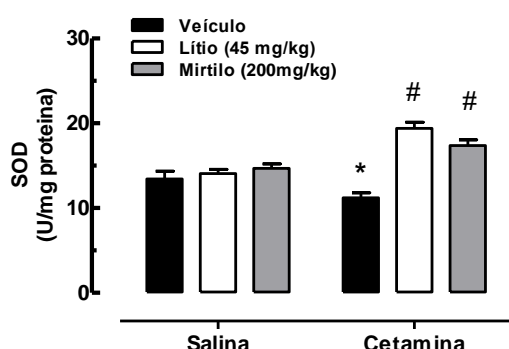


Figura 4: Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em córtex total de ratos submetidos a um modelo experimental de mania e tratados com extrato de mirtilo ou lítio. *Diferente do grupo salina/salina para $P < 0,05$. #Diferente do grupo cetamina/salina para $P < 0,05$.

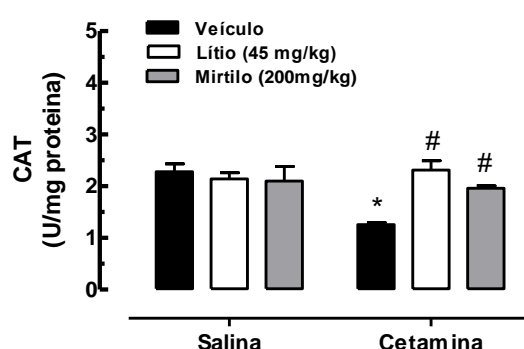


Figura 3: Atividade da enzima catalase (CAT) em córtex total de ratos submetidos a um modelo experimental de mania e tratados com extrato de mirtilo ou lítio. *Diferente do grupo salina/salina para $P < 0,05$. #Diferente do grupo cetamina/salina para $P < 0,05$.

A cetamina vem sendo usada para induzir episódios maníacos em ratos, os quais são evidenciados por um aumento na hiperlocomoção através do teste de campo aberto (GHEDIM et al., 2012; GAZAL et al., 2014). Neste estudo a cetamina na dose de 25mg/kg também induziu hiperlocomoção nos animais corroborando com os achados dos estudos citados.

No presente trabalho a mania induzida por cetamina levou um aumento nos níveis de TBARS e uma diminuição no conteúdo tiólico total em córtex cerebral. Estes resultados, em conjunto com a diminuição da atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase indicam um aumento do caráter oxidativo em episódios maníacos. GAZAL e colaboradores (2014) avaliaram parâmetros oxidativos em ratos submetidos ao mesmo modelo, e obtiveram resultados semelhantes aos demonstrados no presente trabalho. De acordo com esses resultados, é possível inferir que o estresse oxidativo poderia estar envolvido nas alterações neuroquímicas relacionadas com a progressão dos transtornos de humor.

O extrato de mirtilo foi capaz de prevenir o estresse oxidativo causado pela mania. Esse benefício do mirtilo pode ser associado aos compostos naturais encontrados na fruta, principalmente as antocianinas. As antocianinas são flavonoides que apresentam em sua estrutura grupamentos químicos que podem atuar como potentes agentes antioxidantes.

4. CONCLUSÕES

A administração do extrato de mirtilo preveniu o estresse oxidativo induzido por cetamina em ratos. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos com carbonato de lítio, sugerindo assim um potencial terapêutico do extrato de mirtilo na prevenção da recorrência de novos episódios maníacos, porém mais estudos são necessários para comprovar este efeito benéfico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v.105, p.121-126, 1984.

AKSENOV MY, MARKESBERY WR. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, p.141-145, 2001.

BORDIGNON J.; FRANCESCATTI, V.; NIENOW, A.; CALVETE, E.; REGINATTO, F.H. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p.183-188, 2009.

BUDNI, J.; VALVASSORI, S.; QUEVEDO, J. Biological mechanisms underlying neuroprogression in bipolar disorder. **Revista Brasileira de Psiquiatria** v.35, p.1-2, 2013.

ESTERBAUER, H, CHEESEMAN KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, vol.186, p.407-421, 1990.

FARIA, A.; OLIVEIRA, J.; NEVES, P.; SANTOS-BUELGA, C.; FREITAS, V.; MATEUS, V. Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.53, p.6896-6902, 2005.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista de Associação Médica Brasileira** v.43, p.61-68, 1997.

GALLI, R.; BIELINSKI, D.; SZPRENGIEL, A.; SHUKITTI-HALE, B.; JOSEPH, J. Blueberry supplement diet reverses age related decline in hippocampal HSP70 neuroprotection. **Neurobiology of aging** v.27, p.344-35, 2006.

GAZAL, M.; VALENTE, M.; ACOSTA, B.; KAUFMANN, F.; BRAGANHOL, E.; LENCINA, C.; STEFANELLO, F.; GHISLENI, G.; KASTER, M. Neuroprotective and antioxidant effects of curcumin in a ketamine-induced model of mania in rats. **European Journal of Pharmacology**. v.724, p.132-139, 2014.

GHEDIM, F.; FRAGA, D.; DEROZA, P.; OLIVEIRA, M.; VALVASSORI, S.; STECKERT, A.; BUDNI, J.; DAL-PIZZOL, F.; QUEVEDO, J.; ZUGNO, A. Evaluation of behavioral and neurochemical changes induced by ketamine in rats: Implications as an animal model of mania. **Journal of Psychiatric Research**. v.46, p.1569-1575, 2012.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants – quo vadis? **Trends in Pharmacological Sciences**. v.32, n.3, p.125-130, 2011.

MACHADO-VIEIRA, R.; BRESSAN, R.; FREY, B.; SOARES J.C. Neurobiological Basis of Bipolar Disorder. **Revista de Psiquiatria Clínica**. v.32, p.28-33, 2005.

RANG, H.P; DALE, M.M. Fármacos antidepressivos. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. Cap.46, p.581-582.

SPITZ D.R., OBERLEY L.W. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. **Analytical Biochemistry**, v.179, p.8-18, 1989.