

## EFEITOS DO EXTRATO DE AMORA *Rubus sp.* NO COMPORTAMENTO LOCOMOTOR E EM PARAMETROS REDOX EM CÓRTEX PRÉ - FRONTAL DE RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO EXPERIMENTAL DE MANIA

BRUNA DA SILVERA MATTOS<sup>1</sup>, LUIZA SPOHR<sup>2</sup>; MAYARA SANDRIELLY PEREIRA SOARES<sup>3</sup>; VITOR CLASEN CHAVES<sup>4</sup>; FRANCIELI MORO STEFANELLO<sup>5</sup>; ROSELIA MARIA SPANEVELLO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil – bruna.mtt@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil – luizaspohr@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil – mspereirasoares@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Santa Catarina, SC, Brasil – chavesvc@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil – fmstefanello@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil – rspanevello@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O Transtorno de Humor Bipolar (THB) é caracterizado pela alternância de episódios depressivos e maníacos. A mudança cíclica entre estes polos opostos de humor distinguem esta patologia de outras desordens psiquiátricas como esquizofrenia e depressão maior (GHANIZADEH E BERK, 2013). O tratamento farmacológico utilizado é na maioria das vezes, feito com carbonato de lítio, um fármaco estabilizador do humor (SOUZA et al., 2014). Entretanto, o uso do lítio pode causar vários efeitos colaterais os quais limitam a sua tolerabilidade, dificultando a adesão do paciente ao tratamento, e ao fim levando a uma maior taxa de recaídas e novos episódios.

Dados da literatura têm sugerido que o estresse oxidativo, o qual consiste em um desequilíbrio entre os níveis de pró-oxidantes e o potencial antioxidante do organismo, vem sendo associado às disfunções neurológicas tanto em episódios maníacos quanto depressivos dos THB (GHANIZADEH E BERK, 2013; SOUSA et al., 2014). Desta forma, diversos compostos derivados de plantas têm sido estudados, por possuírem fitoquímicos com potentes atividades antioxidantes. A amora preta (*Rubus sp.*) é um fruto pertencente à família *Rosaceae*. Várias atividades biológicas têm sido descritas para extratos de amora preta as quais podem ser atribuídas aos altos níveis de compostos fenólicos (FERREIRA et al., 2010). Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito preventivo do tratamento com extrato de amora preta na hiperlocomoção e em parâmetros de estresse oxidativo em córtex pré - frontal de ratos submetidos a um modelo experimental de mania induzida por cetamina.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Preparação do extrato de amora preta

Os frutos foram coletados em área de cultivo pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Clima Temperado na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil os quais foram cortados em pedaços e submetidos à extração em banho de ultrassom. O líquido extrator utilizado foi metanol P.A na proporção de 1 grama de fruto fresco para 60 mL de solvente. O extrato foi concentrado em evaporador rotatório para a eliminação do líquido extrator e após solubilizado em água e congelado a - 20°C. Posteriormente, o material foi submetido ao processo de liofilização para a completa secagem.

## 2.2 Protocolo de mania e tratamento com extrato de amora

O protocolo experimental deste trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA 4609) da UFPel. Foram utilizados 50 ratos machos *Wistar* adultos (60 dias) os quais foram divididos em cinco grupos experimentais: I (salina + salina); II (salina + extrato de amora); III (salina + cetamina); IV (cetamina + lítio) e V (cetamina + extrato de amora). O protocolo experimental teve duração de quinze dias. Nos primeiros sete dias, os animais dos grupos II e V receberam por gavagem o extrato de amora (200 mg/kg) enquanto que os animais do grupo IV receberam lítio (45 mg/kg duas vezes ao dia) e os animais dos grupos I e III receberam solução salina. Entre o 8º e 14º dia, os animais dos grupos III, IV e V receberam também cetamina (25 mg/kg) e os animais dos grupos I e II receberam salina por via intraperitoneal. No 15º dia os animais receberam uma única dose de cetamina e após 30 minutos a atividade locomotora foi avaliada utilizando o teste de campo aberto. Após este teste comportamental, os animais foram submetidos à eutanásia e o córtex pré-frontal foi retirado, homogeneizado em tampão fosfato contendo KCl pH 7,4 (1:10) e centrifugado. O sobrenadante foi utilizado para análises bioquímicas.

## 2.3 Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram avaliadas segundo o método de ESTERBAUER (1990), o qual mede a formação de malondialdeído sendo os resultados expressos como nmol de TBARS por mg de proteína. O conteúdo tiólico total foi determinado pelo método de AKSENOV e MARKESBERRY (2001), o qual se baseia na redução do ácido ditionitrobenzóico (DTNB) por tióis. Os resultados foram expressos como nmol TNB por mg de proteína. Já os níveis de nitrito foram determinados segundo STUEHR et al. (1989) e expressos como µmol de nitrito por mg de proteína.

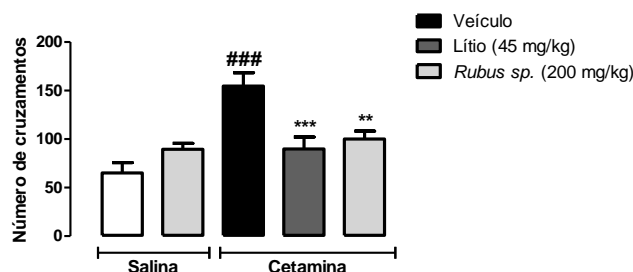
A atividade da SOD foi mensurada de acordo com MISRA & FRIDOVICH (1972). Este método baseia-se na inibição da auto-oxidação de adrenalina dependente de superóxido em um espectrofotômetro a 480 nm sendo que a atividade da SOD foi expressa como unidades por mg de proteína. A atividade da CAT foi determinada de acordo com AEBI (1984), baseada na decomposição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 240 nm e expressa como unidades por mg de proteína. A atividade da GPx foi mensurada usando um kit comercial (RANSEL®; Randox Lab, Antrim, Reino Unido) e expressa como unidades por mg de proteína.

## 2.5 Análise estatística

Os resultados obtidos foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido do teste de Tukey. Os resultados foram considerados significativos para  $P < 0.05$ .

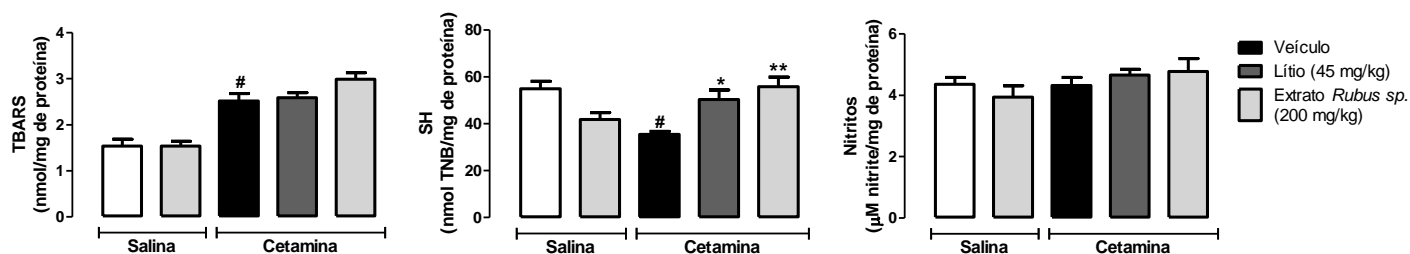
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A administração de cetamina induziu um comportamento do tipo maníaco observado através do aumento da atividade locomotora dos animais no teste de campo aberto. O tratamento com lítio e com o extrato de amora foi capaz de prevenir esta alteração (Figura 1).



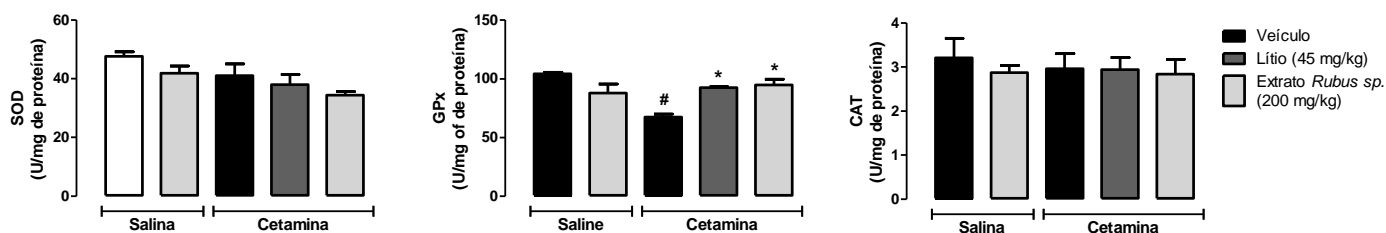
**Figura 1.** Efeitos da administração de extrato de *Rubus sp.* (200 mg/kg) e lítio (45 mg/kg 2x ao dia) na atividade locomotora de ratos submetidos ao modelo animal de mania induzido com cetamina. (###)  $P<0.001$  quando comparado com o grupo veículo/salina. (\*\*)  $P<0.01$  e (\*\*\*)  $P<0.001$  quando comparado com o grupo veículo/cetamina.

A administração de cetamina induziu um aumento nos níveis de TBARS em córtex pré-frontal, entretanto nem o lítio nem o extrato de amora preta foram capazes de prevenir esta alteração. Em relação aos níveis de conteúdo sulfidrílico, houve uma redução no grupo tratado somente com cetamina, e o pré-tratamento com lítio e com o extrato preveniram esta redução. Nenhuma alteração foi observada nos níveis de nitritos (Figura 2).



**Figura 2:** Efeito do extrato de *Rubus sp.* (200 mg/kg) e do lítio (45 mg/kg 2x ao dia) nos níveis de TBARS, conteúdo tiólico (SH) e nitritos em córtex pré-frontal de ratos tratados com cetamina. # Diferente do grupo salina/veículo para  $P<0.05$ . \*Diferente do grupo cetamina/veículo para  $P<0.05$ . \*\*Diferente do grupo cetamina/veículo para  $P<0.01$ .

Em relação à atividade das enzimas antioxidantes, não foram observadas alterações na atividade da SOD e da CAT em nenhum grupo experimental. Entretanto, a cetamina foi capaz de reduzir a atividade da enzima GPx, enquanto que o pré-tratamento com lítio e com o extrato de amora foram capazes de prevenir esta alteração (Figura 3).



**Figura 3:** Efeito do extrato de *Rubus sp.* (200 mg/kg) e do lítio (45 mg/kg 2x ao dia) na atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) em córtex pré-frontal de ratos tratados com cetamina. # Diferente do grupo salina/veículo para  $P<0.05$ . \*Diferente do grupo cetamina/veículo para  $P<0.05$ .

O modelo experimental de mania induzido por cetamina tem sido descrito na literatura (GAZAL et al., 2014). A cetamina é um antagonista não-competitivo de receptores NMDA capaz de causar um comportamento tipo maníaco o qual pode ser evidenciado pelo aumento na hiperlocomução dos animais no teste do campo aberto.

O córtex pré-frontal desempenha um papel importante nos processos cognitivos, e alterações anatômicas e funcionais nesta região cerebral já tem sido descritas em pacientes com THB. A cetamina causou um aumento nos níveis de TBARS e uma diminuição no conteúdo tiólico total e na atividade da GPx em córtex pré-frontal sugerindo que o estresse oxidativo pode estar envolvido nas alterações neuroquímicas no córtex pré-frontal nos episódios maníacos. O extrato de amora preta foi capaz de prevenir a hiperlocomoção e aumentar os níveis de tióis bem como a atividade da GPx, sendo esses efeitos semelhantes aos obtidos com o carbonato de lítio. Isto sugere que os compostos presentes no extrato de amora podem estar contribuindo para um aumento nas defesas antioxidantes do organismo nesta situação experimental.

#### 4. CONCLUSÕES

O tratamento com extrato de amora preta foi capaz de prevenir a hiperlocomoção e a diminuição dos níveis de tióis totais e a atividade da GPx em córtex pré-frontal em um modelo experimental de mania. Estes resultados sugerem que este extrato pode ter um potencial terapêutico na prevenção de episódios maníacos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v.105, p.121–126, 1984.
- AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W.R. Change in thiol content and expression of glutathione redox system gene in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v.302, n.2-3, p.141-145, 2001.
- ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v.186, p.407–421, 1990.
- FERREIRA, D.; ROSSO, V.; MERCADANTE, A. Compostos Bioativos presentes na amora preta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 664-674, 2010.
- GAZAL, M.; VALENTE, M.R.; ACOSTA, B.A.; KAUFMANN, F.N.; BRAGANHOL, E.; LENCINA, C.L.; STEFANELLO, F.M.; GHISLENI, G.; KASTER, M.P. Neuroprotective and antioxidant effects of curcumin in a ketamine-induced model of mania in rats. **European Journal of Pharmacology**, v.5, p.132-139, 2014.
- GHANIZADEH, A.; BERK, M. Molecular hydrogen: an overview of its neurobiological effects and therapeutical potential for bipolar disorder and schizophrenia. **Medical Gas Research**, v.11, n.3, p. 1-6, 2013.
- MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of Biological of Chemistry**, v.247, p.3170–3175, 1972.
- SOUSA, R.T.; ZARATE JR., C.A.; ZANETTI, M.V.; COSTA, A.C.; TALIB, L.L.; GATTAZ, W.F.; MACHADO-VIEIRA, R. Oxidative stress in early stage Bipolar Disorder and the association with response to lithium. **Journal of Psychiatric Research**, v.50, n.1, p.36-41, 2014.
- STUEHR, D. J.; NATHAN, C. F. Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 169, p. 1543–1555, 1989.