

## EXTRATO DE MIRTILO PREVINE COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM HIPOCAMPO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A UM MODELO DE DEPRESSÃO

LUIZA SPOHR<sup>1</sup>; KARINA PEREIRA LUDUVICO<sup>2</sup>; MAYARA SANDRIELLY PEREIRA SOARES<sup>3</sup>; NATÁLIA PONTES BONA<sup>4</sup>; JÚLIA EISENHARDT DE MELLO<sup>5</sup>; ROSELIA MARIA SPANEVELLO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – luizaspoehr@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – karina\_luduvico@outlook.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – mspsoares@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – natinhabona@hotmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – julia\_eisenhardt@hotmail.com

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

### 1. INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo maior (TDM) é uma doença psiquiátrica crônica e debilitante, caracterizada por apresentar sintomas como humor deprimido, anedonia, alterações neurovegetativas e pensamentos recorrentes de suicídio (TACIAK et al., 2017). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2018), essa patologia acomete aproximadamente 300 milhões de pessoas no mundo. Dentre os fármacos comumente usados para tratar essa doença, encontram-se os que atuam na neurotransmissão monoaminérgica, como por exemplo, a fluoxetina. No entanto, existem algumas desvantagens quanto ao uso desses medicamentos, como a incidência de efeitos adversos e a ineficácia (HUANG et al., 2017).

Diversas teorias têm sido demonstradas para tentar explicar a neurobiologia desse transtorno, dentre elas, encontra-se a hipótese do estresse oxidativo (MAES et al., 2011). Essa situação se caracteriza por um desequilíbrio entre a produção de oxidantes e as defesas antioxidantes endógenas, o que pode provocar danos às macromoléculas vitais, como lipídeos de membrana, proteínas e DNA, acarretando em morte neuronal (HALLIWELL, 2012).

Considerando que o estresse oxidativo faz parte da fisiopatologia do TDM, bem como a necessidade de buscar novas alternativas terapêuticas, destaca-se o mirtilo. Este se apresenta como uma excelente fonte de compostos bioativos, como as antocianinas, as quais são conhecidas por sua ação antioxidante (SINELLI et al., 2008). Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato de mirtilo frente ao teste da suspensão da cauda, bem como aos parâmetros de estresse oxidativo avaliados em hipocampo de camundongos submetidos ao modelo de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS).

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1. Preparação do extrato de mirtilo

Os frutos de mirtilo *Vaccinium virgatum* foram obtidos da Embrapa Clima Temperado, localizada no município de Pelotas/RS. Estes foram armazenados a uma temperatura de -20°C e o extrato foi preparado de acordo com a metodologia descrita por Bordignon e colaboradores (2009). Os extratos foram filtrados, rotaevaporados e liofilizados.

#### 2.2. Modelo animal de depressão e protocolo de prevenção com extrato de mirtilo

Foram utilizados camundongos *Swiss* adultos, os quais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas e mantidos em condições experimentais controladas. Esses animais foram divididos em cinco grupos: I (controle), II (LPS), III (LPS + fluoxetina 20 mg/kg), IV (LPS + extrato de mirtilo 100 mg/kg) e V (LPS + extrato de mirtilo 200 mg/kg). Durante sete dias, esses animais foram submetidos à administração de fluoxetina, extrato de mirtilo ou veículo por via oral. No 7º dia de tratamento, também receberam salina ou LPS via intraperitoneal de maneira a induzir o episódio tipo-depressivo. No dia seguinte, foram submetidos ao teste da suspensão da cauda e em seguida à eutanásia, onde o hipocampo foi coletado para as posteriores análises bioquímicas (CEEA nº 3781/2017).

### 2.3. Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo

#### 2.3.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Avaliado segundo o método descrito por ESTERBAUER; CHEESEMAN (1990), o qual mede a formação de malondialdeído.

#### 2.3.2 Conteúdo tiólico total

Mensurado pelo método de AKSENOV; MARKESBERY (2001), baseado na redução do ácido ditionitrobenzóico (DTNB) por tióis, gerando um derivado amarelo.

#### 2.3.3 Atividade da enzima Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada de acordo com AEBI (1984), baseada na decomposição de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a 240 nm.

### 2.4. Análise estatística dos dados

Os resultados obtidos foram avaliados através de ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando  $P < 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no teste da suspensão da cauda, o qual avalia o comportamento tipo-depressivo e a eficácia de compostos frente a esta alteração, estão demonstrados na Figura 1. Pode-se observar que a administração de LPS causou um aumento no tempo de imobilidade dos animais ( $P < 0,001$ ), alteração que foi prevenida pela administração de fluoxetina e ambas as doses de extrato de mirtilo ( $P < 0,01$ ).

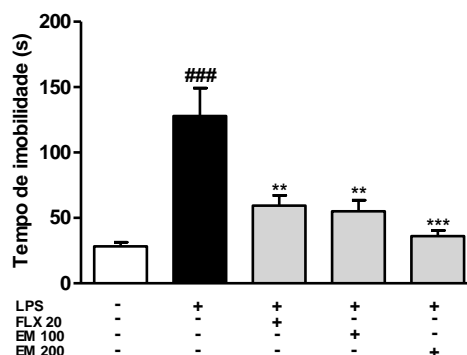


Figura 1 – Efeito do pré-tratamento com extrato de mirtilo (EM) ou fluoxetina (FLX) no tempo de imobilidade no teste da suspensão da cauda em um modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS). (###) Denota  $P < 0,001$  comparado com o grupo controle. (\*\*)  $P < 0,01$  e (\*\*\*)  $P < 0,001$  comparado com o grupo LPS.

Na Figura 2 estão demonstrados os resultados referentes aos parâmetros de estresse oxidativo avaliados. Como pode-se observar, houve um aumento significativo nos níveis de TBARS no grupo LPS quando comparado com o grupo controle ( $P<0,01$ ), alteração que foi prevenida pela administração de fluoxetina e ambas as doses de extrato de mirtilo ( $P<0,01$ ). Quanto à enzima catalase, foi possível verificar uma redução na atividade da mesma no grupo LPS quando comparado com o respectivo grupo controle ( $P<0,05$ ). Quanto ao conteúdo tiólico total, não foram observadas alterações significativas ( $P>0,05$ ).

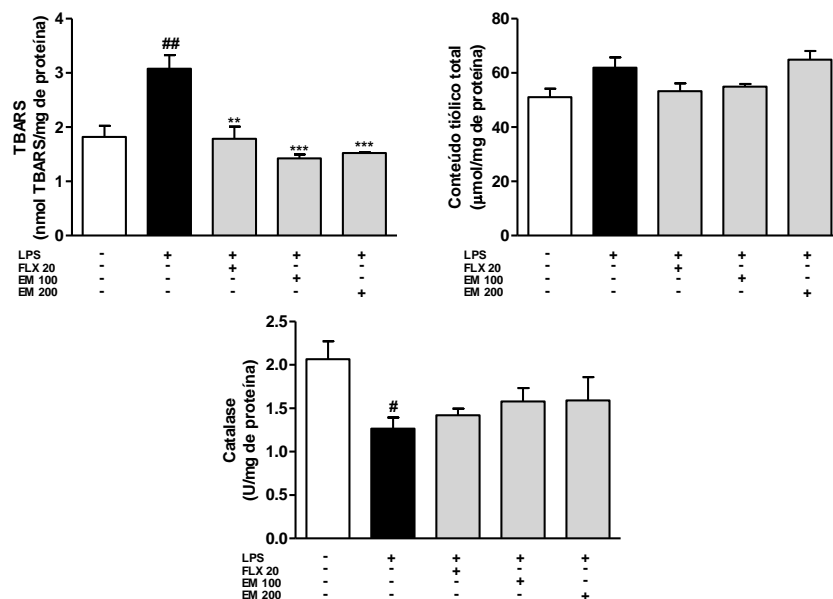


Figura 2 – Efeito do pré-tratamento com extrato de mirtilo (EM) ou fluoxetina (FLX) nos níveis de TBARS, conteúdo tiólico total e atividade da enzima catalase em hipocampo de camundongos submetidos ao modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS). (#) Denota  $P<0,05$  e (##)  $P<0,01$  comparado com o grupo controle. (\*\*)  $P<0,01$  e (\*\*\*)  $P<0,001$  comparado com o grupo LPS.

Nesse estudo, a estrutura cerebral avaliada foi o hipocampo, o qual parece ter uma relação intrínseca com a patologia em questão, uma vez que já foi evidenciada uma redução volumétrica dessa região em indivíduos com TDM (LORENZETTI et al., 2009). Quanto aos parâmetros de estresse oxidativo avaliados, cabe destacar que a enzima catalase catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Considerando a reduzida atividade dessa enzima, pode-se sugerir que esteja acontecendo um acúmulo de peróxido de hidrogênio, o que poderia estar levando a peroxidação lipídica demonstrada pelos níveis elevados de TBARS (HALLIWELL, 2012).

Ainda, foi observada uma prevenção da peroxidação lipídica pelo extrato de mirtilo, de forma similar ao fármaco usado na clínica. Cabe destacar que o mirtilo apresenta flavonoides em sua composição, como as antocianinas, as quais são conhecidas por atuarem na eliminação de espécies reativas, exercendo assim neuroproteção (ZAFRA-STONE et al., 2007).

#### 4. CONCLUSÕES

O tratamento com extrato de mirtilo foi capaz de prevenir o comportamento tipo-depressivo e o aumento nos níveis de TBARS, de forma similar ao fármaco fluoxetina. Considerando o exposto, pode-se concluir que o extrato de mirtilo apresenta potencial efeito frente às disfunções encontradas durante o episódio depressivo.

#### 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, p.141-145, 2001.

BORDIGNON JR., C.L.; FRANCESCATTO, V.; NIENOW, A.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.

DEAN, J.; KESHAVAN, M. The neurobiology of depression: An integrated view. **Asian Journal of Psychiatry**, v.27, p.101-111, 2017.

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

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v.70, p.257-265, 2012.

HUANG, Y.; LANE, H.; LIN, C. New treatment strategies of depression: based on mechanisms related to neuroplasticity. **Neural Plasticity**, v.2017, p.1-11, 2017.

LORENZETTI, V.; ALLEN, N.B.; FORNITO, A.; YÜCEL, M. Structural brain abnormalities in major depressive disorder: a selective review of recent MRI studies. **Journal of Affective Disorders**, v.117, p.1-17, 2009.

MAES, M.; GALECKI, P.; CHANG, Y.S.; BERK, M. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.35, p.676-692, 2011.

SINELLI, N.; SPINARDI, A.; DI EGIDIO, V.; MIGNANI, I.; CASIRAGHI, E. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries by near and mid-infrared spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**, v.50, p.31-36, 2008.

TACIAK, P.P.; LYSENKO, N.; MAZUREK, A.P. Drugs which influence serotonin transporter and serotonergic receptors: Pharmacological and clinical properties in the treatment of Depression. **Pharmacological Reports**, v. 70, p.37-46, 2017.

ZAFRA-STONE, S.; YASMIN, T.; BAGCHI, M.; CHATTERJEE, A.; VINSON, J.A.; BAGCHI, D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, p. 675-683, 2007.