

## CAPACIDADE NEUROPROTETORA DE TANINOS NO ESTRIADO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO MODELO DE COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO INDUZIDO POR LPS

KARINA PEREIRA LUDUVICO<sup>1</sup>; JULIANE TORCHELSSEN SARAIVA<sup>2</sup>;  
NATÁLIA PONTES BONA<sup>2</sup>; FERNANDA CARDOSO TEIXEIRA<sup>2</sup>; FRANCIELI DA  
SILVA DOS SANTOS<sup>2</sup>; FRANCIELI MORO STEFANELLO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – karina\_luduvico@outlook.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – nataliapbona@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – fe.t@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com

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

### 1. INTRODUÇÃO

O estriado divide-se em duas partes principais, o núcleo caudado e o putâmen, e é uma estrutura cerebral conhecida por seu envolvimento na coordenação motora (Glenn & Yang, 2012). Entretanto, pesquisas apontam um papel relacionado também a diversos comportamentos complexos e cognitivos, incluindo recompensas e aprendizagem motivada. A comunicação ocorre também com outras estruturas, como o hipocampo e córtex pré-frontal (Shohamy, 2011; Glenn & Yang, 2012). Estudos de imagem mostram anormalidades em conexões entre essas estruturas, e que estão relacionadas a doenças psiquiátricas como a depressão e transtorno obsessivo-compulsivo (Haber et al., 2019).

O transtorno depressivo maior (TDM) é uma patologia de alta complexidade e prevalência na população mundial. Os sintomas são diversos e incluem problemas no apetite, sono e cognição, além de sentimentos negativos podendo levar a ideação suicida (Jesulola et al., 2017). O estresse oxidativo e a inflamação são dois fatores reconhecidos que contribuem para a manutenção dessa patologia (Kiecolt-Glaser et al., 2015; Maurya et al., 2016). Citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), podem agir em diferentes receptores no cérebro e promover o chamado comportamento doentio, através de alterações cognitivas e psicológicas (Jesulola et al., 2017). O desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e o acúmulo de moléculas oxidantes, como as espécies reativas de oxigênio, pode causar dano a macromoléculas e morte celular (Maurya et al., 2016).

O lipopolissacarídeo (LPS) é uma endotoxina ligante de receptor Toll-like 4 (TLR-4) utilizado para a indução de comportamento tipo-depressivo em animais. A administração periférica é um modelo bem estabelecido para a investigação do TDM em animais e possíveis alvos terapêuticos (O'Connor et al., 2009; Zhu et al., 2016).

O ácido tânico (AT) é um polifenol do grupo dos taninos hidrolisáveis, cuja capacidade antioxidante é descrita na literatura (Lopes et al., 1999). Relatos prévios mostram seu efeito anti-inflamatório através da supressão de inflamassoma NLRP3 e bloqueio do fator de transcrição NF- $\kappa$ B em macrófagos e microglia (Song et al., 2018; Wu et al., 2019). Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar marcadores de estresse oxidativo e níveis de TNF- $\alpha$  em estriado de camundongos submetidos ao modelo de comportamento tipo-depressivo induzido por LPS e pré-tratados com AT.

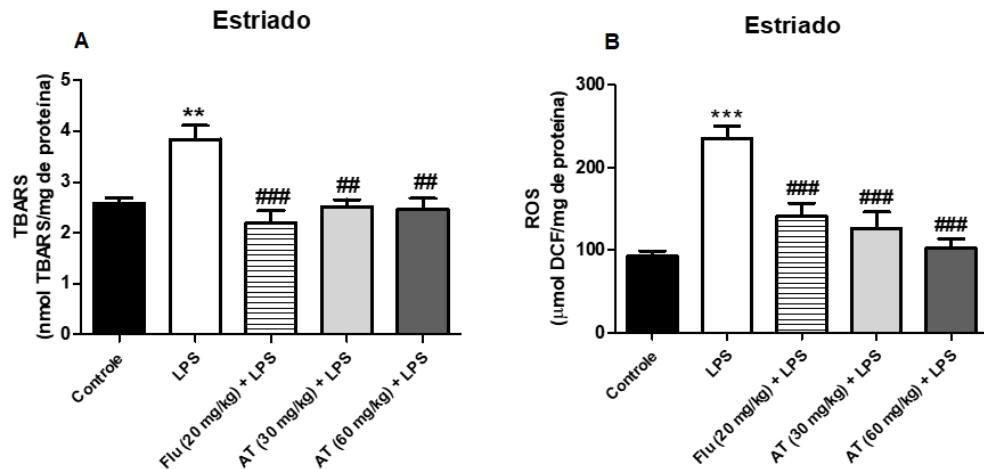
### 2. METODOLOGIA

Foram utilizados camundongos Swiss machos (60 dias de idade), divididos nos seguintes grupos: I – Controle (Salina); II – Salina + LPS; III – Fluoxetina (20

mg/kg) + LPS; IV – Ácido Tântico (30 mg/kg) + LPS; V – Ácido Tântico (60 mg/kg) + LPS. Os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA nº 32979/2019). Os animais foram pré-tratados durante 7 dias pela via intragástrica, sendo no sétimo dia feita a indução do comportamento tipo-depressivo utilizando o LPS (0,83 mg/kg) pela via intraperitoneal. 24 horas após, os animais foram eutanasiados para a remoção do estriado. O AT e o LPS (proveniente de *E. coli*, cepa O55:B5) foram obtidos comercialmente da Sigma-Aldrich. Os tecidos foram homogenizados para a avaliação dos níveis de espécies reativas de oxigênio (Ali et al., 1992), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (Esterbauer & Cheeseman, 1990), além da atividade das enzimas catalase (Aebi, 1984) e superóxido dismutase (Misra & Fridovich, 1972). Os níveis de TNF- $\alpha$  foram determinados de acordo com protocolo do kit comercial BD Biosciences Laboratory. Os dados foram analisados por 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

Na figura 1A é possível observar um aumento significativo nos níveis de TBARS no grupo que recebeu LPS ( $P<0,01$ ). Assim, inferimos que houve um aumento na peroxidação lipídica, gerando danos a estruturas celulares (Maurya et al., 2016). Entretanto, o controle positivo fluoxetina ( $P<0,001$ ) foi capaz de prevenir essa alteração, assim como o pré-tratamento com AT nas duas doses (30 e 60 mg/kg) ( $P<0,01$ ). A figura 1B demonstra que houve um aumento significativo de ROS no estriado dos animais pertencentes ao grupo LPS ( $P<0,001$ ). Todavia, a fluoxetina e o AT nas duas doses reduziram os níveis dessas espécies ( $P<0,001$ ). O excesso na geração de ROS está relacionado a diversas doenças e amplamente associado a disfunção mitocondrial. Desse modo, contribui para a fisiopatologia do TDM (Maurya et al., 2016).



**Figura 1:** Efeito do tratamento com ácido tântico na avaliação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, A) e espécies reativas de oxigênio (ROS, B) no estriado dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido pelo LPS. Dados expressos como média ± erro médio padrão. (\*\*)  $P<0,01$  e (\*\*\* )  $P<0,001$  comparado ao grupo controle. (##)  $P<0,01$  e (###)  $P<0,001$  comparado ao grupo LPS.

Na tabela 1 observamos uma diminuição na atividade da CAT no estriado dos animais desafiados com LPS ( $P<0,001$ ). A fluoxetina ( $P<0,001$ ) e o AT em ambas as doses foram capazes de aumentar a atividade dessa enzima ( $P<0,01$ ). Não observamos diferenças significativas em relação a atividade da SOD. O aumento de espécies oxidantes associado a diminuição da CAT indicam um

processo de estresse oxidativo no cérebro dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido por LPS.

	Controle	LPS	Flu + LPS	AT 30 + LPS	AT 60 + LPS
SOD estriado	39,60 ± 5,618	26,89 ± 1,547	36,48 ± 2,675	30,50 ± 1,674	29,90 ± 3,667
CAT estriado	1,816 ± 0,094	0,704 ± 0,028 ***	1,708 ± 0,141 ***	1,651 ± 0,246 ##	1,490 ± 0,187 ##

**Tabela 1:** Efeito do tratamento com ácido tântico na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) no estriado dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido por LPS. Dados expressos como média ± erro médio padrão. (\*\*\* )  $P<0,001$  comparado ao grupo controle. (##)  $P<0,01$  e (###)  $P<0,001$  comparado ao grupo LPS.

Na tabela 2 pode-se observar um aumento significativo nos níveis de marcador pró-inflamatório TNF- $\alpha$  no grupo LPS ( $P<0,05$ ). Entretanto, a fluoxetina e o AT na dose de 60 mg/kg não foram capazes de prevenir esse aumento. A inflamação e a depressão estão muito relacionadas, pois sabe-se que a depressão facilita o processo inflamatório, e que indivíduos portadores de patologias relacionadas a inflamação como síndrome metabólica e artrite reumatoide podem desenvolver depressão como comorbidade (Kiecolt-Glaser et al., 2015).

	Controle	LPS	Flu + LPS	AT 60 + LPS
TNF- $\alpha$ estriado	129,0 ± 25,03	318,6 ± 67,42 *	271,2 ± 10,69	327,1 ± 41,67

**Tabela 2:** Efeito do tratamento com ácido tântico nos níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) no estriado dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido por LPS. Dados expressos como média ± erro médio padrão. (\*)  $P<0,05$  comparado ao grupo controle.

#### 4. CONCLUSÕES

O AT demonstrou um papel antioxidante frente as alterações promovidas pela administração de LPS. O efeito neuroprotector no estriado contribui para prevenir e/ou atenuar alterações presentes na depressão. Sendo assim, o AT pode ser considerado uma estratégia terapêutica. Estudos são necessários para melhor caracterizar os mecanismos de ação desse polifenol.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

O'CONNOR, JC; LAWSON, MA; ANDRÉ, C; MOREAU, M; LESTAGE, J; CASTANON, N; KELLEY, KW; DANTZER, R. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice. *Molecular Psychiatry*, v. 14, n. 5, p. 511-522, 2009.

ZHU, L; NANG, C; LUO, F; PAN, H; ZHANG, K; LIU, J; ZHOU, R; GAO, J; CHANG, X; HE, H; QIU, Y; WANG, J; LONG, H; LIU, Y; YAN, T. Esculetin attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammatory processes and depressive-like behavior in mice. **Physiology Behavior**, v. 163, p. 184-192, 2016.

YAN, W; LIANMEI, Z; ZERAN, Y; JUNHUI, Q. Anti-neuroinflammatory effects of tannic acid against lipopolysaccharide-induced BV2 microglial cells via inhibition of NF-κB activation. **Drug Development Research**, v. 80, n. 2, p. 262-268, 2019.

SONG, D; ZHAO, J; DENG, W; LIAO, Y; HONG, X; HOU, J. Tannic acid inhibits NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 $\beta$  production via blocking NF-κB signaling in macrophages. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 503, n. 4, p. 3078-3085, 2018.

JESULOLA, E; MICALOS, P; BAGULEY, IJ. Understanding the Pathophysiology of Depression: From Monoamines to the Neurogenesis Hypothesis model - are we there yet? **Behavioural Brain Research**, v. 341, p. 79-90, 2018.

KIECOLT-GLASER, JC; DERRY, HM; FAGUNDES, CP. Inflammation: Depression Fans the Flames and Feasts on the Heat. **American Journal of Psychiatry**, v. 172, n. 11, p. 1075-1091, 2015.

MAURYA, PK; NOTO, C; RIZZO, LB; RIOS, AC; NUNES, SOV; BARBOSA, DS; SETHI, S; ZENI, M; MANSUR, RB; MAES, M; BRIETZKE, E. The role of oxidative and nitrosative stress in accelerated aging and major depressive disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 65, p. 134-144, 2016.

HABER, SN; TANG, W; CHOI, EY; YENDIKI, A; LIU, H; JBABDI, S; VERSACE, A; PHILLIPS, M. Circuits, networks, and neuropsychiatric disease: transitioning from anatomy to imaging. **Biological Psychiatry**, v. 87, n. 4, p. 318-327, 2020.

GLENN, AL; YANG, Y. The Potential Role of the Striatum in Antisocial Behavior and Psychopathy. **Biological Psychiatry**, v. 72, n. 10, p. 817-822, 2012.

SHOHAMY, D. Learning and motivation in the human striatum. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 21, p. 408-414, 2011.

ALI, SF; LEBEL, CP; BONDY, SC. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v. 13, p. 637-648, 1992.

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

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

MISRA, HP; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170-3175, 1972.