

## EXTRATO DE MIRTILO PREVINE COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO E AUMENTO DOS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO INDUZIDO POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM HIPOCAMPO DE CAMUNDONGOS

SARA KESKE<sup>1</sup>; LUIZA SPOHR<sup>1</sup>; KARINA PEREIRA LUDUVICO<sup>2</sup>; NATÁLIA PONTES BONA<sup>2</sup>; MAYARA SANDRIELLY PEREIRA SOARES<sup>1</sup>; ROSELIA SPANEVELLO<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Neuroquímica, Inflamação e Câncer - UFPel – saarakeske@gmail.com

<sup>1</sup>Laboratório de Neuroquímica, Inflamação e Câncer - UFPel – luizaspohr@hotmail.com

<sup>2</sup>Laboratório de Biomarcadores - UFPel – karina\_luduvico@outlook.com

<sup>2</sup>Laboratório de Biomarcadores - UFPel – natinhabona@hotmail.com

<sup>1</sup>Laboratório de Neuroquímica, Inflamação e Câncer - UFPel – mspereirasoares@gmail.com

<sup>1,3</sup>Laboratório de Neuroquímica, Inflamação e Câncer - UFPel – rspanevello@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo maior (TDM), comumente chamado de depressão, é uma doença psiquiátrica que acomete cerca de 300 milhões de pessoas no mundo (OMS, 2017). De acordo com a American Psychiatric Association (2013), esta patologia está relacionada com sintomas como anedonia, insônia, sentimentos de insegurança, pensamentos relacionados ao suicídio, entre outros.

A fisiopatologia do TDM permanece pouco elucidada, porém acredita-se que a condição pode estar associada ao estresse oxidativo (BLACK et al. 2015). Um desequilíbrio significativo entre pró oxidantes e antioxidantes caracteriza o estresse oxidativo, podendo levar à disfunção mitocondrial, resultando em alterações em mecanismos como o da neuroplasticidade (BANSAL; KUHAD 2016).

Dentre os tratamentos disponíveis está a psicoterapia e a utilização de medicamentos psicotrópicos. Contudo, a terapia farmacológica apresenta efeitos colaterais, constituindo uma das principais causas da baixa adesão dos pacientes ao tratamento (IBANEZ et al. 2014). Portanto há uma busca por novas alternativas terapêuticas. Neste sentido, destaca-se o mirtilo, fruto nativo da Europa, rico em compostos fenólicos, como antocianinas e ácido ascórbico, conferindo ao fruto grande potencial antioxidante (CHU et al. 2011).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade preventiva do extrato de mirtilo frente ao episódio tipo-depressivo e em parâmetros de estresse oxidativo em hipocampo de camundongos submetidos ao lipopolissacarídeo (LPS).

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Preparação do extrato de mirtilo

Os frutos de mirtilo utilizados são da espécie *Vaccinium virgatum*. A preparação do extrato seguiu a metodologia descrita por BORDIGNON et al. (2009). Os extratos foram filtrados, rotaevaporados e liofilizados até a secura.

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

Utilizou-se camundongos *Swiss* adultos, os quais foram 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). Nos primeiros sete dias, os animais foram pré-tratados com veículo, fluoxetina ou extrato de mirtilo por via oral uma vez ao dia. No sétimo dia também receberam salina ou LPS via intraperitoneal (JIANG et al. 2017). No oitavo dia, foram submetidos ao teste de suspensão da cauda e em seguida à eutanásia, onde o hipocampo foi coletado para posterior análise bioquímica (CEEA nº 32979-2019).

### 2.3 Teste de suspensão da cauda

O teste de suspensão da cauda foi conduzido de acordo com a metodologia descrita por STERU et al. (1985) objetivando avaliar o comportamento tipo-depressivo. Os animais foram suspensos pela cauda, cerca de 50 cm do chão. O tempo total de suspensão foi de seis minutos, onde são dois minutos de adaptação e os quatro últimos para mensuração de movimentos realizados pelos animais.

### 2.4 Análises bioquímicas

Foram mensurados os níveis de nitrito, descrito por HUANG et al. (2009), de espécies reativas de oxigênio (ERO), com metodologia descrita por o ALI et al. (1992) e a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), utilizando a metodologia descrita por MISRA & FRIDOVICH (1972).

### 2.5 Análise estatística dos dados

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

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 pode-se observar o resultado referente ao teste de suspensão da cauda. O grupo LPS obteve maior tempo de imobilidade em relação ao grupo controle. Não obstante, nota-se que o grupo pré-tratado com extrato de mirtilo na dose 100 mg/kg teve tempo de imobilidade significativamente menor que o grupo tipo-depressivo, assemelhando-se aos resultados do grupo fluoxetina. Já na dose de 200 mg/kg, o extrato de mirtilo promoveu tempo de imobilidade ainda menor.

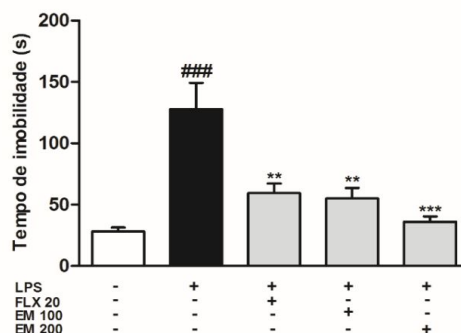


Figura 1: Efeito do pré-tratamento com fluoxetina ou extrato de mirtilo no comportamento tipo-depressivo induzido por LPS obtido através do teste da suspensão da cauda. (###) Denota  $P < 0,001$  em comparação com o grupo controle. (\*\*)  $P < 0,01$  e (\*\*\*)  $P < 0,001$  quando comparado com o grupo LPS.

Quanto aos resultados bioquímicos, realizou-se análises no hipocampo, uma vez que essa estrutura cerebral está relacionada com o TDM. Isso, porque além da

estrutura estar envolvida no desenvolvimento de emoções, memória e aprendizado (FANSELOW; DONG 2010), há alterações de volume, como revisado por SHELIN et al. (2019) em pacientes com a patologia.

Dentre os parâmetros analisados, observaram-se níveis significativamente menores de espécies reativas de oxigênio (EROs) nos grupos tratados com extrato de mirtilo quando comparado com o grupo LPS. Não obstante, DRISCOLL et al. (2019) e SPOHR et al. (2018) observaram que o extrato de mirtilo preveniu o aumento de EROs, *in vitro* e *in vivo*, respectivamente. Sendo assim, como o hipocampo é conhecido por auxiliar no humor, a redução de fatores oxidantes, como EROs, conhecido por alterar a função neural através de danos à proteínas e ao DNA, peroxidação lipídica e disfunção mitocondrial, revisado por GRIMM (2017), pode estar relacionado com a alteração do comportamento, observado no teste de suspensão da cauda. Por fim, contudo, comparado ao grupo LPS, não houve aumento significativo da enzima superóxido dismutase, assim como não houve redução significativa nos níveis de nitrito, como encontrado por LUDUVICO et al. (2020) utilizando mesmo modelo, porém pré-tratado com ácido tânico.

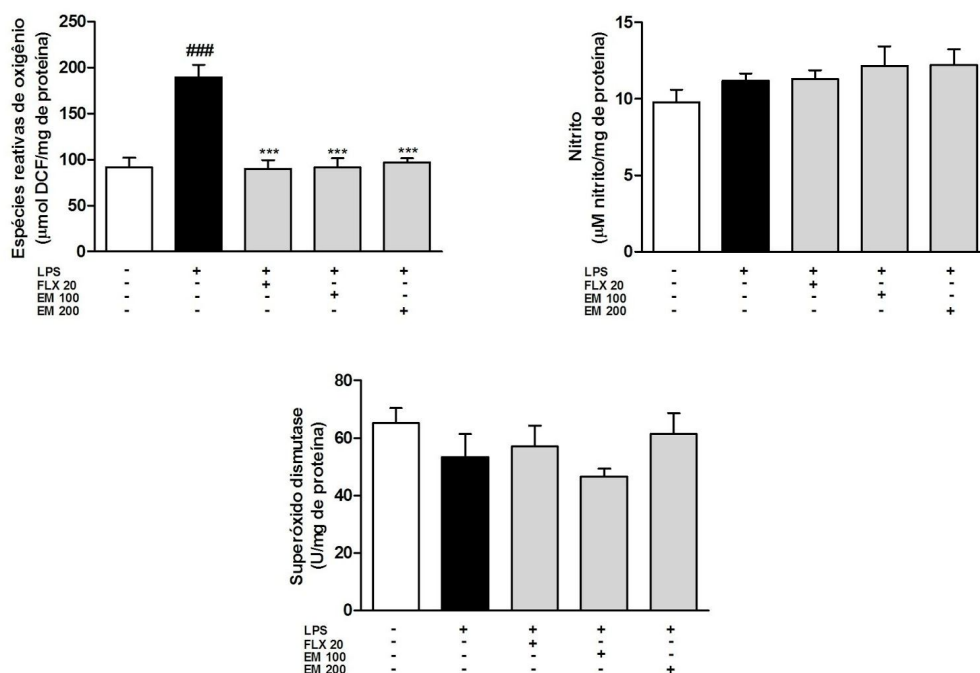


Figura 2: Efeito do pré-tratamento com fluoxetina ou extrato de mirtilo nos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), nitrito e atividade da superóxido dismutase (SOD) no hipocampo de camundongos. (###) Denota  $P < 0,001$  em comparação com o grupo controle. (\*\*\*) Denota  $P < 0,001$  quando comparado com o grupo LPS.

#### 4. CONCLUSÃO

Portanto, conclui-se que o extrato de mirtilo, por prevenir o aumento no tempo de imobilidade e o aumento de espécies reativas de oxigênio, pode ser uma alternativa promissora na prevenção episódios depressivos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI S.F.; LEBEL C.P.; BONDY S.C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methyl mercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v. 13, p. 637–648, 1992.
- American Psychiatric Association. **What Is Depression?** Washington, jan. 2017. Acessado em 21 set. 2020. Disponível em: <https://www.psychiatry.org/patients-families/depression/what-is-depression>
- BANSAL, Y.; KUHAD, A. Mitochondrial Dysfunction in Depression. **Current Neuroparmacology**, v.14, n.6, p.610-618, 2016.
- BLACK, C.N.; BOT M.; SCHEFFER, P.G.; CUIJPERS, P.; PENNINX, B.W.; Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v.51, p.164–175, 2015
- DRISCOLL, K.; DESHPANDE, A.; DATTA, R.; RAMAKRISHNA, W.; Anti-inflammatory Effects of Northern Highbush Blueberry Extract on an In Vitro Inflammatory Bowel Disease Model. **Nutrition and Cancer**, vol. 72, n.7, p.1178-1190, 2019.
- FANSELOW, M.S.; DONG, H.W. Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? **Neuron**, v. 65, n.1, p. 7–19, 2010.
- GRIMM, A.; ECKERT A. Brain aging and neurodegeneration: from a mitochondrial point of view. **Journal of neurochemistry**, v. 143, n.4, p.418-431, 2017
- HUANG, W.C.; LIN, Y.S.; WANG, C. Y.; TSAI, C.C.; TSENG, H.C.; CHEN, C.L.; LU, P.J.; CHEN, P.S.; QIAN, L.; HONG, J.S., LIN, C.F. Glycogen synthase kinase-3 negatively regulates anti-inflammatory interleukin-10 for lipopolysaccharide-induced iNOS/NO biosynthesis and RANTES production in microglial cells. **Immunology**, v. 128, n.1, p.275–286, 2009.
- IBANEZ, G.; MERCEDES, B.P.C.; VEDANA, K.G.G.; MIASSO, A.I. Adesão e dificuldades relacionadas ao tratamento medicamentoso em pacientes com depressão. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.67, n.4, p.556-562, 2014.
- LUDUVICO, K. P.; SPOHR, L.; SOARES, M. S. P.; TEIXEIRA, F. C.; DE FARIAS, A. S.; BONA, N. P.; PEDRA, N. S.; DE OLIVEIRA, A. C. F.; SPANEVELLO, R. M.; STEFANELLO, F. M. Antidepressant Effect and Modulation of the Redox System Mediated by Tannic Acid on Lipopolysaccharide-Induced Depressive and Inflammatory Changes in Mice. **Neurochemical Research**, v. 45, p. 2032-2043, 2020.
- MISRA H.P.; 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.
- SHELINE, Y.I.; LISTON, C.; MCEWEN, B.S. Parsing the Hippocampus in Depression: Chronic Stress, Hippocampal Volume, and Major Depressive Disorder. **Biological Psychiatry**, vol. 85, n.6, p.436-438, 2019.
- SPOHR, L.; SOARES, M.S.P.; OLIVEIRA, P.S.; DA SILVEIRA DE MATTOS, B.; BONA, N.P.; PEDRA, N.S.; TEIXEIRA, F.C.; DO COUTO, C.A.T.; CHAVES, V.C.; REGINATTO, F.H.; LISBOA, M.T.; RIBEIRO, A.S., LENCINA, C.L.; STEFANELLO, F.M.; SPANEVELLO, R.M. Combined actions of blueberry extract and lithium on neurochemical changes observed in an experimental model of mania: exploiting possible synergistic effects. **Metabolic Brain Disease**. vol. 34, n.2, p.605-619, 2018.
- World Health Organization. **Depression and Other Common Mental Disorders**. Global Health Estimates, Geneva, 2017.