

EXTRATO DE MIRTILO ATENUA O COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO E MODULA A ATIVIDADE DA MONOAMINA OXIDASE-A EM ESTRUTURAS CEREBRAIS DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A UM MODELO EXPERIMENTAL DE DEPRESSÃO

LUIZA SPOHR¹; KARINA PEREIRA LUDUVICO²; AMÁLIA GONÇALVES ALVES³; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁴; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁵; ROSELIA SPANEVELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – luizaspohr@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – karina_luduvico@outlook.com

³Universidade Federal de Pelotas – amaliaalvs@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – cbortolato@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – cabruning@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo maior (TDM) é uma doença psiquiátrica grave de alta prevalência na população mundial. Essa patologia se caracteriza por sintomas como humor deprimido, perda de interesse e ideação suicida (OTTE et al. 2016). Dentre os tratamentos disponíveis para pacientes com TDM encontram-se os fármacos moduladores da neurotransmissão monoaminérgica, no entanto, essa farmacoterapia ainda é considerada limitada (HUANG et al. 2017).

Apesar dos avanços recentes acerca da neurobiologia do TDM, ela ainda não está elucidada. Dentre as hipóteses aceitas para explicar a fisiopatologia do TDM encontra-se a teoria monoaminérgica, a qual aponta para alterações nos níveis das monoaminas, como serotonina (5-HT), dopamina (DA) e norepinefrina (NE). A enzima monoamina oxidase (MAO) apresenta duas isoformas e é responsável por metabolizar as monoaminas, sendo que a MAO-A metaboliza preferencialmente a 5-HT e a NE (DEAN; KESHAVAN, 2017; TIPTON, 2018).

Diante do exposto, se torna essencial o desenvolvimento de estudos visando à busca por alternativas terapêuticas. Nesse contexto, destaca-se o mirtilo, fruta que pertence ao gênero *Vaccinium* e se apresenta como uma excelente fonte de compostos bioativos (LI et al. 2017). Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do extrato de mirtilo frente ao comportamento tipo-depressivo e a atividade da MAO-A em córtex cerebral, hipocampo e estriado 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 experimental de depressão e protocolo de prevenção com extrato de mirtilo

Camundongos Swiss adultos foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas e mantidos em condições experimentais

controladas. Os 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, os animais foram submetidos à administração de fluoxetina, extrato de mirtilo ou veículo por via oral. No 7º dia, também receberam salina ou LPS via intraperitoneal de maneira a induzir o episódio tipo-depressivo. No dia seguinte, foram submetidos ao teste do nado forçado e em seguida à eutanásia, onde o córtex cerebral, hipocampo e estriado foram coletados para mensurar a atividade da MAO-A (CEEA nº 32979-2019).

2.3 Atividade da enzima MAO-A

A atividade da MAO-A foi determinada de acordo com metodologia descrita por KRAJL (1965) com algumas modificações de MATSUMOTO et al. (1984). Os sobrenadantes foram incubados a 37°C por 5 minutos em solução tampão e inibidor específico da MAO-B. Em seguida, foi adicionado quinuramina dihidrobrometo como substrato e a mistura foi incubada. Para terminar a reação, foi adicionado ácido tricloroacético 10%. Após o resfriamento e a centrifugação, uma alíquota de sobrenadante foi adicionado a 1M de NaOH. A intensidade da fluorescência foi detectada através de espectrofotômetro. A atividade da enzima foi expressa como nmol de 4-hidroxiquinolina/mg de proteína/min.

2.4 Análise estatística

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

O resultado obtido no teste do nado forçado, o qual avalia o comportamento tipo-depressivo e a eficácia de compostos, está demonstrado na Figura 1. Pode-se observar que a administração de LPS causou um aumento no tempo de imobilidade dos animais ($P < 0,001$), sendo que esta alteração foi prevenida pela administração de fluoxetina ($P < 0,001$) e extrato de mirtilo (200 mg/kg) ($P < 0,05$).

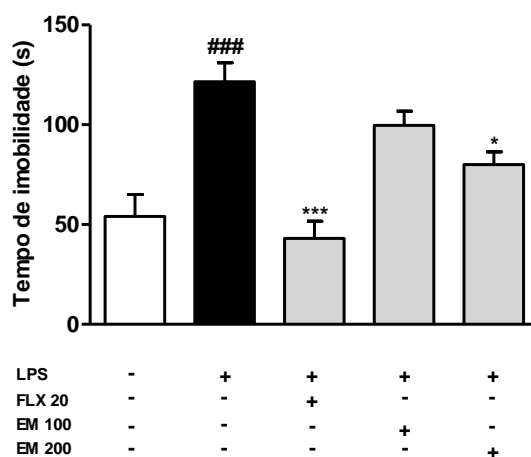


Figura 1 – Efeito do pré-tratamento com extrato de mirtilo (EM) ou fluoxetina (FLX) no tempo de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos submetidos a modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS).

(###) Denota $P < 0,001$ comparado com o grupo controle. (*) $P < 0,05$ e (***) $P < 0,001$ comparado com o grupo LPS.

Quanto aos resultados referentes à MAO-A, pode-se observar na figura 2 que a administração de LPS causou uma redução na atividade dessa enzima em hipocampo e estriado ($P < 0,05$). No entanto, a administração de fluoxetina e ambas as doses de extrato de mirtilo preveniram essa alteração ($P < 0,05$). Já em estriado, somente o extrato de mirtilo (100 e 200 mg/kg) foi capaz de prevenir a alteração induzida pela administração de LPS ($P < 0,05$) (Figura 2).

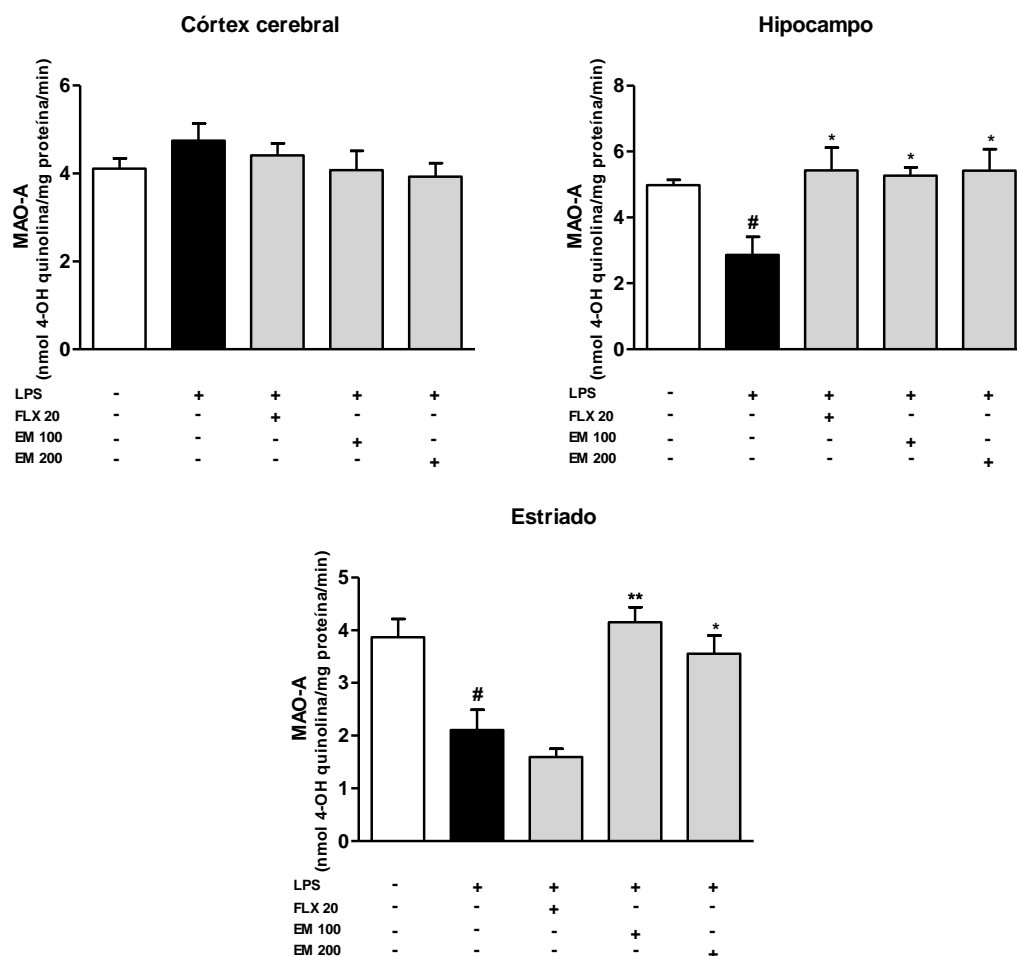


Figura 2 – Efeito do pré-tratamento com extrato de mirtilo (EM) ou fluoxetina (FLX) na atividade da enzima MAO-A em córtex cerebral, hipocampo e estriado de camundongos submetidos ao modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS) (#) Denota $P < 0,05$ comparado com o grupo controle. (*) $P < 0,05$ e (**) $P < 0,01$ comparado com o grupo LPS.

Como observamos, a administração de LPS reduziu a atividade da MAO-A, enzima que é capaz de metabolizar a 5-HT, que é sintetizada a partir do triptofano. A redução na atividade dessa enzima pode ser devido ao mecanismo de ação do LPS, que ao se ligar ao receptor do tipo toll-like 4, leva a ativação de uma cascata de sinalização que culmina na expressão de citocinas pró-inflamatórias. Essas moléculas, por sua vez, levam a redução dos níveis de 5-HT, pois ativam a enzima indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO), a qual cataboliza o triptofano em quinureninas. Além disso, o comportamento tipo-depressivo

induzido pelo LPS pode ser devido à formação das quinureninas, uma vez que apresentam potencial depressogênico (DANTZER et al. 2011; MAES et al. 2011).

Interessantemente, o extrato de mirtilo atenuou as alterações induzidas pelo LPS, tanto o comportamento tipo-depressivo, como a redução da atividade da MAO-A, efeito que pode ser devido à presença das antocianinas na sua composição. Estudo anterior demonstrou que extrato purificado de antocianinas de *Myrica rubra* reduz a expressão do receptor toll-like 4 em cérebro de camundongos (CUI et al. 2018), o que poderia reduzir o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e, conseqüentemente, os níveis de serotonina.

4. CONCLUSÕES

O extrato de mirtilo apresentou uma atividade tipo-antidepressiva no teste do nado forçado, bem como modulou a atividade da MAO-A em estruturas cerebrais de camundongos submetidos ao modelo experimental de depressão induzido por lipopolissacarídeo. Sendo assim, o extrato de mirtilo se apresenta como uma interessante ferramenta terapêutica para prevenir as disfunções encontradas na patologia da depressão.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORDIGNON JR., C.L.; FRANCESCOTTO, 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.
- 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.
- OTTE, C.; GOLD, S.M.; PENNINX, B.W.; PARIANTE, C.M.; ETKIN, A.; FAVA, M.; MOHR, D.C.; SCHATZBERG, A.F. Major depressive disorder. **Nature Reviews Disease Primers**, v.2, p.16065, 2016.
- DEAN, J.; KESHAVAN, M. The neurobiology of depression: An integrated view. **Asian Journal of Psychiatry**, v.27, p.101-111, 2017.
- TIPTON, K.F. 90 years of monoamine oxidase: some progress and some confusion. **Journal of Neural Transmission**, v.125, p.1519-1551, 2018.
- LI, D.; LI, B.; MA, Y.; SUN, X.; LIN, Y.; MENG, X. Polyphenols, anthocyanins, and flavonoids contents and the antioxidant capacity of various cultivars of highbush and halfhigh blueberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.62, p.84-93, 2017.
- DANTZER, R.; CONNOR, J.C.O.; LAWSON, M.A.; KELLEY, K.W. Inflammation-associated depression: from serotonin to kynurenine. **Psychoneuroendocrinology**, v.36, p.426-436, 2011.
- MAES, M.; LEONARD, B.E.; MYINT, M.; KUBERA, M.; VERKERK, R. The new “5-HT” hypothesis of depression: cell-mediated immune activation induces indoleamine 2,3-dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites (TRYCATs), both of which contribute to the onset of depression. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.35, p.702-721, 2011.
- CUI, H.X.; CHEN, J.H.; LI, J.W.; CHENG, F.R.; YUAN, K. Protection of anthocyanin from myrica rubra against cerebral ischemia-reperfusion injury via modulation of the TLR4/NFκB and NLRP3 pathways. **Molecules**, v.23, p.1-12, 2018.