

## EFEITO DO EXTRATO DE AMORA-PRETA SOBRE OS NÍVEIS DE CITOCINAS EM CÓRTEX CEREBRAL, HIPOCAMPO E ESTRIADO DE RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO DO TIPO-MANÍACO

SOLANGE VEGA CUSTÓDIO<sup>1,2</sup>; LUIZA SPOHR<sup>2</sup>; LARISSA MENEZES DA SILVEIRA<sup>3</sup>, ANITA ÁVILA DE SOUZA<sup>3</sup>, FRANCIELI MORO STEFANELLO<sup>3</sup>; MAYARA SANDRIELLY PEREIRA SOARES<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas – [solangevegacustodio@gmail.com](mailto:solangevegacustodio@gmail.com)

<sup>2</sup>Laboratório de Neuroquímica, Inflamação e Câncer, Universidade Federal de Pelotas – [luizaspohr@hotmail.com](mailto:luizaspohr@hotmail.com); [larissamenezes1999@gmail.com](mailto:larissamenezes1999@gmail.com); [anita\\_avila@hotmail.com](mailto:anita_avila@hotmail.com); [fmstefanello@gmail.com](mailto:fmstefanello@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [mspereirasoares@gmail.com](mailto:mspereirasoares@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O Trastorno Bipolar (TB) é uma doença psiquiátrica crônica caracterizada por graves oscilações de humor entre episódios de mania e depressão (HIRSCHFELD, 2014). Apesar da fisiopatologia pouco elucidada, pesquisas apontam para alterações no sistema imunológico, principalmente nos níveis de citocinas, sugerindo que existe um estado pró-inflamatório associado com o TB (BARBOSA et al., 2009).

O tratamento para o TB consiste no uso de estabilizadores de humor, como o lítio, que apresenta diversos efeitos adversos, colaborando para a diminuição de adesão ao tratamento (ALDA, 2015; MCKNIGHT et al., 2012). Portanto, a busca por novas alternativas terapêuticas é de extrema importância. Nesse contexto, os produtos de origem natural ricos em compostos bioativos são relevantes alvos de estudo.

A amora-preta (*Rubus* sp.) possui propriedades terapêuticas antiinflamatórias, e antioxidantes, especialmente associadas às antocianinas (RAMIREZ et al., 2011). Assim, considerando as opções limitadas para a prevenção e o tratamento do TB, este estudo tem como objetivo avaliar o efeito do pré-tratamento com extrato de amora-preta sobre os níveis de IL-6 e IL-10 em córtex cerebral, hipocampo e estriado de ratos submetidos a um modelo do topo-maníaco induzido por cetamina.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Protocolo experimental

Após a aprovação pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) (CEEA 4609), ratos *Wistar* machos adultos foram obtidos no Biotério Central de Animais da instituição. O modelo experimental de episódio maníaco e protocolo de prevenção com extrato de amora-preta teve duração de 15 dias. Durante 14 dias, os animais foram pré-tratados por via oral com extrato metanólico de amora-preta (200 mg / kg, uma vez ao dia), cloreto de lítio (45 mg / kg, duas vezes ao dia) ou solução salina. Entre o 8º e 14º dias, os animais receberam injeção intraperitoneal de cetamina (25 mg / kg) ou solução salina. No 15º dia, os animais receberam uma injeção de cetamina e foram submetidos ao teste do campo aberto para avaliação do comportamento do tipo-maníaco. Após os experimentos, os animais foram submetidos à eutanásia e o

córtex cerebral, hipocampo e estriado foram removidos, congelados e armazenados para as análises neuroquímicas dos níveis de IL-6 e IL-10.

## 2.2 Teste de campo aberto

O aparelho de campo aberto consistia em uma caixa de madeira medindo 72 x 72 x 33 cm. O chão da arena foi dividido em 16 quadrados iguais (18 x 18 cm) e a caixa foi colocada em uma sala livre de som. Os animais foram colocados no quadrado esquerdo posterior e deixados para explorar a caixa livremente por 5 min. O número total de quadrados cruzados com todas as patas (cruzamento) foi medido manualmente para avaliar o comportamento ambulatorial (DEBOM et al., 2016).

## 2.3 Níveis de citocinas

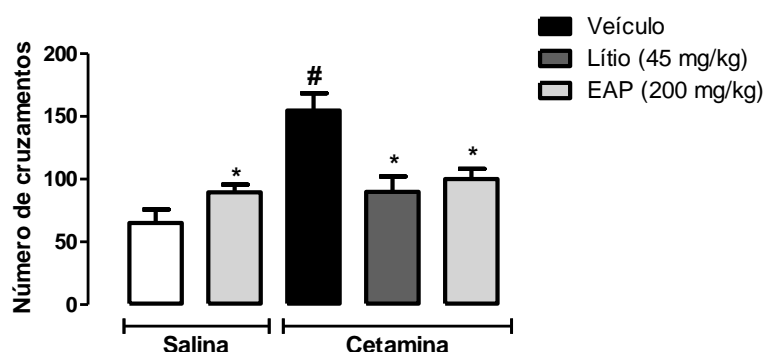
Os níveis de IL-6 e IL-10 foram medidos usando kits de imunoenensaio (DuoSet ELISA Development, R&D Systems, Inc., USA) de acordo com as instruções do fabricante.

## 2.4 Análise estatística

Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Bonferroni e do teste de Kruskal Wallis, com o teste post-hoc de Dunn para dados não paramétricos. Um valor de  $P \leq 0,05$  foi considerado como diferença estatisticamente significativa. Todos os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1, pode-se observar que o pré-tratamento com lítio e com o extrato de amor-preta ( $P < 0.05$ ) foi capaz de prevenir o comportamento do tipo-maníaco induzido pela cetamina ( $P < 0.05$ ), observado através da hiperlocomução dos animais.



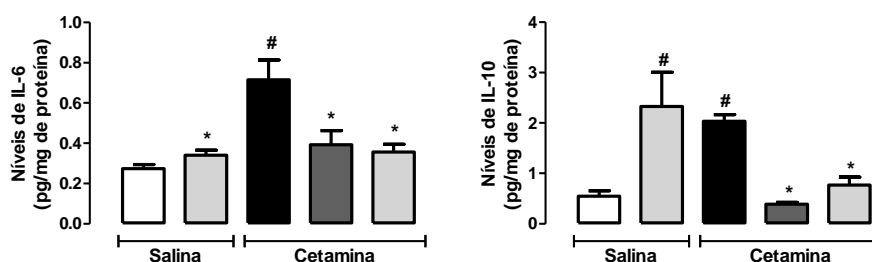
**Figura 1:** Efeito do pré-tratamento com extrato metanólico de amora-preta (200 mg/kg) e lítio (45 mg/kg) sob a hiperlocomução de animais submetidos a comportamento tipo-maníaco induzido por cetamina. Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão. # $p < 0,05$  em comparação com o grupo veículo/salina. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo veículo/cetamina. (n = 8-10).

Ademais, foi observado que o pré-tratamento com extrato de amora-preta bem como com lítio foram capazes de prevenir o aumento de IL-6 no córtex cerebral

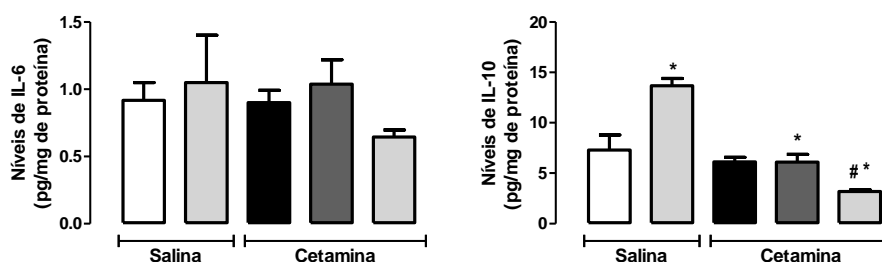
induzido pela cetamina ( $P < 0.05$ ). Também houve aumento desta citocina no estriado no grupo cetamina+lítio em comparação com o grupo salina, no entanto, no grupo cetamina+ amora-preta houve redução dos níveis de IL-6 em relação ao grupo cetamina ( $P < 0.05$ ). Não foram observadas alterações no hipocampo ( $P > 0.05$ , Figura 2). Esses resultados estão de acordo com os de estudos anteriores, que encontraram níveis mais altos de IL-6, uma potente citocina pró-inflamatória, em episódios maníacos (BERK et al., 2011; DEBOM et al., 2016).

De forma interessante, no córtex cerebral os níveis de IL-10 aumentaram nos grupos da amora e da cetamina em comparação ao grupo controle, enquanto o pré-tratamento com lítio ou extrato de amora-preta reduziu os níveis de IL-10 ( $P < 0.05$ ). No estriado, a IL-10 foi aumentada no grupo cetamina + amora em comparação com o grupo controle ( $P, 0.05$ ). Além disso, em hipocampo, observou-se um aumento da IL-10 no grupo salina + extrato de amora-preta ( $P < 0.05$ ) comparado ao grupo controle (Figura 2). É importante destacar que a IL-10 é uma potente citocina anti-inflamatória, a qual atua na regulação do sistema imune, pois inibe expressão e/ou a produção de citocinas pró-inflamatórias (VOLP et al., 2008).

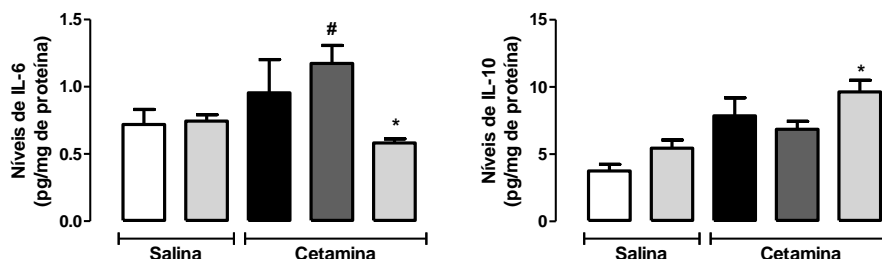
### Córtex Cerebral



### Hipocampo



### Estriado



■ Veículo    ■ Lítio (45 mg/kg)    ■ EAP (200 mg/kg)

**Figura :** Efeito do pré-tratamento com extrato metanólico de amora-preta (200 mg/kg) e lítio (45 mg/kg) em níveis cerebrais de IL-6 e IL-10 de animais submetidos a comportamento maníaco induzido por cetamina. Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão. #p <0,05 em comparação com o grupo veículo/salina. \*p <0,05 em comparação ao grupo veículo/cetamina. (n = 4-8).

#### 4. CONCLUSÕES

Estes resultados demonstram que o pré-tratamento com extrato de amora-preta foi eficaz na redução de IL-6 e aumento dos níveis de IL-10 no estriado e no córtex cerebral, demonstrando um efeito antiinflamatório da amora-preta nestas estruturas cerebrais, o qual sugere potencial efeito na prevenção de alterações presentes no episódio maníaco.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDA, M. Lithium in the treatment of bipolar disorder: pharmacology and pharmacogenetics. **Molecular Psychiatry**, v. 20, n. 6, p. 661-670, 2015.

BERK, M.; KAPCZINSKI, F.; ANDREAZZA, A.C.; DEAN, O.M.; GIORLANDO, F.; MAES, M.; YUCEL, M.; GAMA, C.S.; DODD, S.; DEAN, B.; MAGALHÃES, P.V.S.; AMMINGER, P.; MCGORRY, P.; MALHI, G.S. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. **Neurosci**, v. 3, n. 3, p.804-17, 2011.

DEBOM, G.; GAZAL, M.; SOARES, M.S.P.; COUTO, C.A.T.; MATTOS, B.; LENCINA, C.; KASTER, M.P.; GHISLENI, G.C.; TAVARES, R.; BRAGANHOL, E.; CHAVES, V.C.; REGINATTO, F.H.; STEFANELLO, F.; SPANEVELLO, R.M. Preventive effects of blueberry on behavioral and biochemical dysfunctions in rats submitted to a model of manic behavior induced by ketamine. **Brain Res Bull**, v.127, p.260-269, 2016.

HIRSCHFELD, R. M. Differential diagnosis of bipolar disorder and major depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, v. 169, n. 1, p. 12-16, 2014.

MCKNIGHT, R. F.; ADIDA, M.; BUDGE, K.; STOCKTON, S.; GOODWIN, G. M.; GEDDES, J. R. Lithium toxicity profile: a systematic review and meta-analysis. **Lancet**, v. 379, n. 9817, p. 721-728, 2012.

RAMIREZ, M.R.; APEL, M.A.; RASEIRA, M.C.B. Polyphenol content and evaluation of antichemotactic, antiedematogenic and antioxidant activities of *Rubus* sp. cultivars. **J Food Biochem.**, v. 35, n. 5, p.1389-1397, 2011.

VOLP, A.C.P.; ALFENAS, R.C.G.; COSTA, N.M.B.; MINIM, V.P.R.; STRINGUETA, P.C.; BRESSAN, J. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, n. 3, p. 537-549, 2008.