

AVALIAÇÃO DO EXTRATO DE AMORA PRETA NA ATIVIDADE DA CADEIA RESPIRATÓRIA E NO STATUS REDOX EM CÓRTEX CEREBRAL DE CAMUNDONGOS FÊMEAS EM UM MODELO DE COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO

SOLANGE VEGA CUSTÓDIO¹; RAPHAELA CASSOL PICCOLI²; KELEN CRISTIANE MACHADO GOULARTE³; ANITA AVILA DE SOUZA⁴; MAYARA SANDRIELLY SOARES DE AGUIAR⁵; ROSELIA MARIA SPANEVELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – solangevegacustodio@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – raphaelacassol@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – kelenqf@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – anita_a_avila@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – mspereirasoares@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Com uma prevalência global de aproximadamente 280 milhões de pessoas, o Transtorno Depressivo Maior (TDM) é uma condição psicoafetiva grave e altamente incapacitante, com fatores múltiplos influenciando sua etiologia e fisiopatologia, o que torna o diagnóstico e tratamento desafiadores (WHO, 2022). As mulheres apresentam uma prevalência cerca de duas vezes maior do que os homens, destacando o gênero como um fator relevante na compreensão e tratamento do TDM (PARKER e BROTHIE, 2010).

Sob a perspectiva do estresse oxidativo (EO), é importante observar que quando a produção de substâncias oxidantes excede a capacidade dos sistemas de defesa antioxidante, isso pode causar danos as células neuronais desencadeando sintomas associados ao TDM (BHATT et al., 2020). Além disso, a função mitocondrial, essencial para a produção de energia através da fosforilação oxidativa, é afetada pelo EO, resultando em uma redução da produção de adenosina trifosfato. Esse comprometimento da função mitocondrial pode influenciar negativamente processos bioenergéticos e a homeostase celular, contribuindo para a patogênese do TDM (BANSAL; KUHAD, 2016).

Cerca de 30% dos pacientes com TDM não respondem ao tratamento convencional. Ainda, o uso de antidepressivos pode gerar efeitos adversos que comprometem a adesão ao tratamento destacando assim a necessidade de abordagens terapêuticas mais eficazes (DAVID e GOURION, 2016). Nesse cenário, a bioprospecção da amora-preta (*Rubus sp.*), uma fruta rica em compostos fenólicos, incluindo antocianinas, destaca-se como uma possível fonte para o desenvolvimento de novos tratamentos, devido às suas ações antioxidantes e neuroprotetoras já descritas na literatura (MELLO et al., 2023; SOARES et al., 2021; CHAVES et al., 2020).

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do extrato de *Rubus sp.* no comportamento tipo-depressivo, parâmetros de EO e na atividade dos complexos mitocondriais no córtex cerebral de camundongos fêmeas em um modelo de depressão induzida por lipopolissacarídeo (LPS).

2. METODOLOGIA

Os frutos de *Rubus sp.* foram obtidos na Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS e o extrato metanólico foi preparado de acordo com Chaves e colaboradores (2020). Todos os procedimentos envolvendo os animais foram

aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPEL (CEEAA 023259/2021-10).

Os camundongos Swiss fêmeas (2-3 meses) foram divididos em cinco grupos: I - controle, II - LPS (0,83 mg/kg), III - LPS + fluoxetina (20 mg/kg), IV - LPS + extrato de *Rubus sp.* (100 mg/kg) e V - LPS + extrato de *Rubus sp.* (200 mg/kg). Durante sete dias, os animais foram tratados com água, fluoxetina ou extrato de *Rubus sp.* por via oral. No 7º dia, os animais receberam também solução salina 0,9% ou LPS por via intraperitoneal para induzir o comportamento tipo-depressivo. Após 24 horas, os animais foram submetidos ao teste de nado forçado (TNF) e, em seguida, à eutanásia. O córtex cerebral foi coletado para mensurar os níveis de espécies reativas (ALI et al., 1992), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (ESTERBAUER e CHEESEMAN, 1990), tióis totais (SH) (AKSENOV e MARKESBERRY, 2001) e atividade da superóxido dismutase (SOD) (MISRA e FRIDOVICH, 1972) e dos complexos mitocondriais I, II, III e IV da cadeia respiratória (SPINAZZI et al., 2012).

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 $P < 0,05$. Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado do TNF, um teste preditivo de comportamento tipo-depressivo, muito útil na triagem de potenciais compostos antidepressivos, está demonstrado na Figura 1. Pode-se observar que a administração de LPS aumentou significativamente o tempo de imobilidade dos animais ($P < 0,01$) em comparação ao grupo controle. Entretanto, a administração de fluoxetina e extrato de *Rubus sp.* na concentração de 200 mg/kg ($P < 0,01$) foram capazes de prevenir esse aumento.

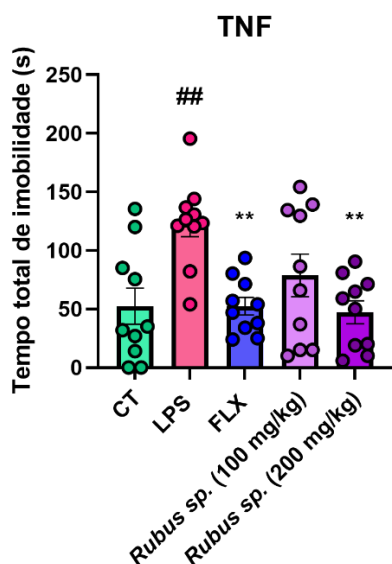


Figura 1: Efeito do pré-tratamento com fluoxetina (FLX 20 mg/kg) ou extrato de *Rubus sp.* (100 ou 200 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade no teste de nado forçado em camundongos submetidos ao modelo de comportamento tipo-depressivo induzido por LPS. (##) $P < 0,01$ comparado com o grupo controle; (**) $P < 0,01$ comparado com o grupo LPS.

Na Figura 2, observa-se que a administração de LPS aumentou os níveis de espécies reativas e, ao mesmo tempo, reduziu significativamente a atividade da SOD no córtex cerebral em comparação com o grupo controle ($P < 0,01$). No entanto, a administração de fluoxetina e de ambas as doses do extrato de *Rubus sp.* conseguiu prevenir apenas o aumento dos níveis de espécies reativas ($P < 0,0001$). Não foram observadas alterações nos níveis de SH, TBARS e na atividade dos complexos I, II, III e IV da cadeia respiratória em nenhum dos grupos avaliados neste trabalho.

O extrato de *Rubus sp* foi previamente caracterizado pelo nosso grupo de pesquisa e possui em sua composição antocianinas como a cianidina-O-galactosídeo, cianidina-O-rutinosídeo, pelargonidina-O-glicosídeo e cianidina-O-malonilhexosídeo (CHAVES et al., 2020). Dados da literatura já relataram que as antocianinas possuem ações antioxidantes cujos mecanismos estão associados a regulação negativa de enzimas produtoras de espécies reativas, eliminação de radicais livres, capacidade de se ligar a metais e de aumentar as defesas antioxidantes. Ademais, quando as antocianinas são oxidadas por espécies reativas, formam quinonas eletrofílicas que ativam o fator Nrf2, o qual estimula a transcrição de diversos genes que codificam enzimas antioxidantes e proteínas de defesa celular. Isso ocorre ao modificar a proteína Keap1, evitando a degradação do Nrf2 e estimulando a expressão de genes de defesa celular e antioxidantes. (AMIN et al., 2017; CATORCE e GEVORKIAN, 2016).

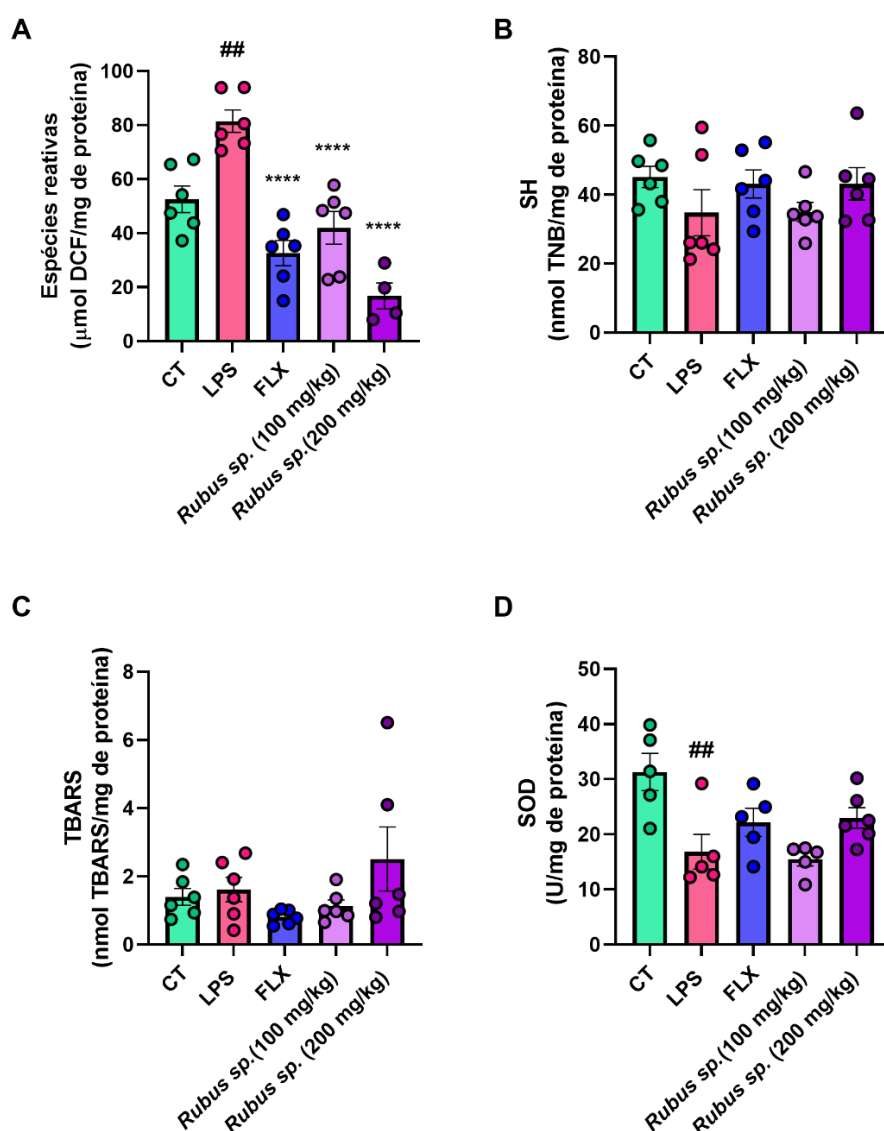


Figura 2: Efeito do pré-tratamento com fluoxetina (FLX 20 mg/kg) ou extrato de *Rubus sp.* (100 ou 200 mg/kg) sobre os níveis de espécies reativas, SH, TBARS e atividade da enzima SOD em córtex cerebral de camundongos submetidos ao modelo de comportamento tipo-depressivo induzido por LPS. (##) $P < 0,01$ comparado com o grupo controle; (****) $P < 0,0001$ comparado com o grupo LPS.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, nossos resultados ressaltam o potencial do extrato de *Rubus sp.* como um agente inovador que combina propriedades antidepressivas e antioxidantes, apresentando uma abordagem promissora para o tratamento do TDM em indivíduos do sexo feminino.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W.R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**. v. 302, n. 2-3, p. 141-5, 2001.
- ALI, S. F.; LEBEL, C.P.; BONDY, S. C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**. v.13, 2000.
- AMIN, et al. Anthocyanins encapsulated by PLGA@PEG nanoparticles potentially improved its free radical scavenging capabilities via p38/JNK pathway against A β 1-42-induced oxidative stress. **Journal of Nanobiotechnology**. v. 15, p. 12, 2017.
- BANSAL, Y.; KUHAD, A. Mitochondrial Dysfunction in Depression. **Current Neuropharmacology**. v. 14, n. 6, p. 610-8, 2016.
- BHATT, S.; NAGAPPA, A.N.; PATIL, C.R. Role of oxidative stress in depression. **Drug Discovery Today**. v. 25, p. 1270-1276, 2020.
- CATORCE, M.N.; GEVORKIAN, G. LPS-induced murine neuroinflammation model: main features and suitability for pre-clinical assessment of nutraceuticals. **Current Neuropharmacology**. v. 14, n. 2, p. 155-64, 2016.
- CHAVES, et al. Blackberry extract improves behavioral and neurochemical dysfunctions in a ketamine-induced rat model of mania. **Neuroscience Letters**. v. 714, 2020.
- DAVID, D.J.; GOURION, D. Antidepressant and tolerance: Determinants and management of major side effects. **L'Encéphale**. v. 42, p. 553-561, 2016.
- ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**. v. 186, p. 407-21, 1990.
- MELLO, et al. Therapeutic potential of blackberry extract in the preventing memory deficits and neurochemical alterations in the cerebral cortex, hippocampus and cerebellum of a rat model with amnesia. **Metabolic Brain Disease**. v. 38, n. 4, p. 1261-1272, 2023.
- MISRA, H.P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J Biol Chem**. v. 247, n. 10, p. 3170-5, 1972.
- PARKER, G.; BROTHIE, H. Gender differences in depression. **International Review of Psychiatry**. v. 22, n. 5, p. 429-36, 2010.
- SOARES, et al. The Protective Action of *Rubus sp.* Fruit Extract Against Oxidative Damage in Mice Exposed to Lipopolysaccharide. **Neurochemical Research**. v. 46, n. 5, p. 1129-1140, 2021.
- SPINAZZI, et al. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. **Nature Protocols**. v. 7, p. 1235-1246, 2012.
- WHO. **World mental health report: transforming mental health for all**. Executive summary. Geneva: World Health Organization; 2022. Acessado em 21 set. 2023. Online. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240050860>