

FUNÇÃO DA EPIGENÉTICA INTERGERACIONAL, ENVELHECIMENTO CELULAR E COMPORTAMENTOS TIPO DEPRESSIVOS A PARTIR DO ESTRESSE NA INFÂNCIA – POTENCIAL TERAPÊUTICO DE COMPOSTOS DA *CENTELLA ASIATICA*

JESIEL DE MEDEIROS ^{1,2*}, MAIQUELI EDUARDA DAMA MINGOTI ³, BRUNNA VARELA DA SILVA ⁴, GABRIELA SANDRI DALLA NORA ⁵, ZULEIDE MARIA IGNÁCIO ⁶

1 Introdução

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) possui uma etiologia multifatorial, envolvendo eventos traumáticos e estresse crônico na infância e vida adulta. A TDM está ligada a alta morbidade e mortalidade, causando impactos econômicos e sociais significativos (Nemeroff; Owens, 2002). Tratar a depressão é um desafio, já que antidepressivos convencionais geralmente focam em mecanismos neuroquímicos ou neurobiológicos (Kupfer; Frank; Phillips, 2012), remetindo sintomas em menos da metade dos pacientes (Zhao et al., 2020). Eventos estressores na infância, como maus-tratos, conflitos interpessoais e traumas, contribuem para distúrbios mentais, incluindo o TDM, com efeitos duradouros na vida adulta e possivelmente em gerações futuras (Franklin et al., 2010; Varela et al., 2022).

O Estresse de privação materna (PM) está associado ao desequilíbrio oxidativo, resultando em estresse oxidativo em áreas do cérebro ligadas à depressão (Réus et al., 2015). O desequilíbrio oxidativo é implicado na patogênese do TDM (Maes, 2011). Pacientes com TDM apresentam marcadores de estresse oxidativo alterados (Rawdin et al., 2013). Dessa forma, promover defesas antioxidantes para neutralizar o estresse oxidativo pode ser uma nova estratégia de tratamento para condições psiquiátricas como a depressão (Pandya; Howell; Pillai, 2013).

Estudos preliminares mostram potencial antioxidante na *Centella asiatica* e seus compostos, reduzindo parâmetros de estresse oxidativo em testes in vitro e in vivo (Lokanathan

¹ Aluno de graduação em Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Chapecó*, contato: jesiel.medeiros@estudante.uffs.edu.br

² Grupo de Pesquisa: Neurociências Translacional, Clínica e Epidemiológica - NeuroTCE

³ Enfermeira. Aluna do mestrado em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Chapecó*

⁴ Biomédica. Aluna do mestrado em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Chapecó*

⁵ Aluno de graduação em Enfermagem, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Chapecó*

⁶ Doutora em ciências da saúde, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Chapecó*. **Orientadora.**

et al., 2016; Nalini et al., 1992; Veerendra Kumar; Gupta, 2002). Isso reforça a necessidade de investigar mecanismos biológicos e possíveis alvos terapêuticos para a depressão.

2 Objetivos

Avaliar o efeito do tratamento com extratos e compostos ativos de *Centella asiatica* nos comportamentos tipo depressivos e em marcadores oxidativos subjacentes a variações epigenéticas em ratos que sofreram estresse no início da vida.

3 Metodologia

Este estudo adota uma abordagem experimental quantitativa e analítica. A pesquisa, aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), seguiu as diretrizes da Lei Arouca e do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Foram coletados materiais vegetais de *Centella asiatica* em Chapecó (SC, Brasil) e identificados no Herbário da UNOCHAPECÓ. Os extratos hidroalcoólicos foram obtidos por maceração. O ácido madecássico foi obtido em forma cristalina com pureza >95%, através da empresa Cayman Chemical dos Estados Unidos. O Escitalopram foi adquirido na Laborsan Farmácia de Manipulação apresentando pureza >95%.

Cinquenta ratos machos da linhagem Wistar foram utilizados no estudo. A PM envolveu a retirada dos filhotes da mãe por 3h diárias durante 10 dias após o nascimento. Após esse período, os filhotes voltavam à gaiola compartilhada com a mãe. O grupo de controle permaneceu imperturbável na gaiola original com a mãe. Após completarem 21 dias de vida, todos os filhotes foram desmamados e transferidos para novas gaiolas, com grupos de até cinco animais por gaiola, segregados por sexo. O ambiente manteve um ciclo de luz/escuridão de 12h, com luzes ligadas às 07h e desligadas às 19h, além de acesso livre a comida e água. A temperatura ambiente foi mantida a $23 \pm 1^\circ\text{C}$.

Aos sessenta dias de idade, os animais deram início ao tratamento farmacológico e fitoterápico de forma crônica, por um período de catorze dias através do método de administração por gavagem. Os cinquenta animais (N=50) foram distribuídos em cinco grupos (n=10 em cada grupo). O grupo controle sem estresse foi submetido ao tratamento com veículo salina (solução salina a 0,9%). O grupo estresse + tratamento controle também recebeu o tratamento com salina. O grupo estresse + tratamento controle positivo foi administrado com escitalopram na dose de 10 mg/kg. Enquanto o grupo estresse + *Centella asiatica* recebeu uma dose de 30 mg/kg do extrato de *Centella asiatica*. Finalmente, o grupo estresse + ácido madecássico foi submetido ao tratamento com ácido madecássico na dose de 10 mg/kg.

Os animais foram sacrificados por decapitação, coletando sangue e o hipocampo para análises. O estresse oxidativo dos animais foi avaliado por meio da determinação de mieloperoxidase (MPO) e as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os dados foram analisados usando uma ANOVA one-way, seguida de um teste posthoc de Tukey. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4 Resultados e Discussão

A análise de variância (ANOVA) mostrou interação significativa nos níveis de MPO ($F=11,2807$; $p < 0,001$) entre os grupos séricos.

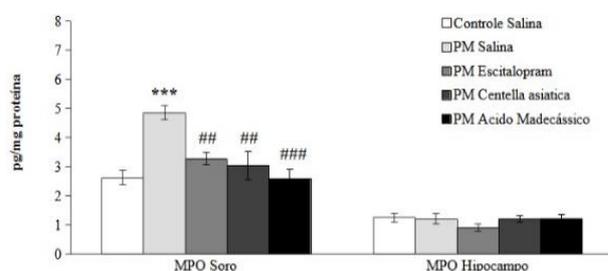


Fig. 1. Atividade da MPO no soro e no hipocampo. O grupo estressado por PM sem tratamento (PM Salina) exibiu aumento significativo da atividade de MPO no soro em comparação com o grupo controle ($p < 0,001$), enquanto os grupos estressados por PM com tratamento com escitalopram, *Centella asiatica* e ácido madecássico conseguiram reverter o efeito estressor da PM na atividade de MPO.

Os efeitos da PM e dos tratamentos com *Centella asiatica* (30 mg/kg), ácido madecássico (10 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg) nos níveis de TBARS foram avaliados. A análise de variância (ANOVA) mostrou interações significativas nos níveis de TBARS nos grupos séricos ($F = 8,2847$; $p < 0,001$). O grupo estressado por PM sem tratamento (PM salina) apresentou maiores níveis de TBARS no soro em comparação com o grupo controle sem estresse ($p < 0,01$), enquanto os grupos tratados com escitalopram e ácido madecássico parecem ter revertido esse efeito ($p < 0,05$). No hipocampo, também houve uma interação significativa entre os grupos experimentais ($F=4,77$; $p < 0,01$).

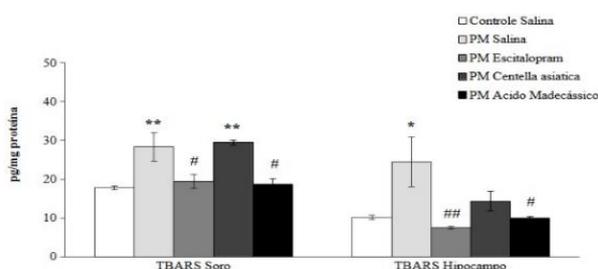


Fig. 2. Atividade do TBARS no soro e no hipocampo. O grupo PM salina mostrou níveis elevados de TBARS em comparação ao grupo controle ($p < 0,05$), e os grupos tratados com escitalopram e ácido madecássico também parecem ter revertido o efeito da PM ($p < 0,05$). Porém, o tratamento com *Centella asiatica* não demonstrou reversão significativa do estresse oxidativo.

A PM causou aumento nos níveis de MPO e TBARS em animais não tratados. Escitalopram, *Centella asiatica* e ácido madecássico revertem o aumento de MPO. Escitalopram e ácido madecássico também revertem os aumentos de TBARS no soro e hipocampo. O extrato de *Centella asiatica* não reverteu as alterações significativamente, é possível levantar a hipótese que a ausência de reversão do aumento de TBARS pelo extrato de *Centella asiatica* se deve à possibilidade de insuficiência de ácido madecássico, o composto ativo, já que este demonstrou impactos positivos nos níveis de TBARS (YIN et al., 2012).

5 Conclusão

Os animais submetidos ao estresse PM exibiram aumentos significativos nos biomarcadores de estresse oxidativo em comparação com o grupo controle. Esses aumentos foram observados nos níveis de TBARS e atividade da MPO no soro, assim como nos níveis de TBARS no hipocampo, indicando que o estresse na infância pode induzir estresse oxidativo ao longo da vida, possivelmente relacionado ao desenvolvimento do TDM.

A *Centella asiatica* mostrou eficácia na reversão da atividade da MPO no soro, mas não teve impacto significativo nos níveis de TBARS. Em contrapartida, o ácido madecássico foi capaz de reverter a atividade da MPO no soro e reduzir os níveis de TBARS tanto no soro quanto no hipocampo. Em conjunto, esses resultados apontam para o potencial antidepressivo da *Centella asiatica* e de seu composto ativo, sugerindo que a redução do estresse oxidativo no soro e no hipocampo pode estar envolvida nos efeitos antidepressivos observados.

Referências Bibliográficas

FRANKLIN, Tamara B.; RUSSIG, Holger; WEISS, Isabelle C.; GRÄFF, Johannes; LINDER, Natacha; MICHALON, Aubin; VIZI, Sandor; MANSUY, Isabelle M. Epigenetic Transmission of the Impact of Early Stress Across Generations. **Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 68, n. 5, p. 408–415, 2010. Disponível em: [10.1016/j.biopsych.2010.05.036](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.05.036). Acesso em: 26 ago. 2023.

KUPFER, David J.; FRANK, Ellen; PHILLIPS, Mary L. Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. **The Lancet**, [S. l.], v. 379, n. 9820, p. 1045–1055, 2012. Disponível em: [10.1016/S0140-6736\(11\)60602-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60602-8). Acesso em: 26 ago. 2023.

LOKANATHAN, Yogeswaran; OMAR, Norazzila; AHMAD PUZI, Nur Nabilah; SAIM, Amnuddin; HJ IDRUS, Ruzzymah. Recent Updates in Neuroprotective and Neuroregenerative Potential of *Centella asiatica*. **The Malaysian journal of medical sciences: MJMS**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 4–14, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4975583/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

MAES, Michael. Depression is an inflammatory disease, but cell-mediated immune activation is the key component of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 35, n. 3, p. 664–675, 2011. Disponível em: [10.1016/j.pnpbp.2010.06.014](https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.06.014). Acesso em: 26 ago. 2023.

NALINI, K.; AROOR, A. R.; RAO, Ashwini; KARANTH, K. Sudhakar. Effect of *Centella asiatica* fresh leaf aqueous extract on learning and memory and biogenic amine turnover in albino rats. **Fitoterapia**, [S. l.], v. 63, p. 232–237, 1992. Disponível em: <https://researcher.manipal.edu/en/publications/effect-of-centella-asiatica-fresh-leaf-aqueous-extract-on-learnin> Acesso em: 6 fev. 2023.

NEMEROFF, Charles B.; OWENS, Michael J. Treatment of mood disorders. **Nature Neuroscience**, [S. l.], v. 5, n. S11, p. 1068–1070, 2002. Disponível em: 10.1038/nn943. Acesso em: 26 ago. 2023.

PANDYA, Chirayu D.; HOWELL, Kristy R.; PILLAI, Anilkumar. Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 46, p. 214–223, 2013. Disponível em: 10.1016/j.pnpbp.2012.10.017. Acesso em: 26 ago. 2023.

RAWDIN, B. J. et al. Dysregulated relationship of inflammation and oxidative stress in major depression. **Brain, Behavior, and Immunity**, [S. l.], v. 31, p. 143–152, 2013. Disponível em: 10.1016/j.bbi.2012.11.011. Acesso em: 26 ago. 2023.

RÉUS, Gislaïne Z. et al. A single dose of S-ketamine induces long-term antidepressant effects and decreases oxidative stress in adulthood rats following maternal deprivation: Long Antidepressant Effects of Ketamine. **Developmental Neurobiology**, [S. l.], v. 75, n. 11, p. 1268–1281, 2015. Disponível em: 10.1002/dneu.22283. Acesso em: 26 ago. 2023.

VARELA, Roger B.; CARARO, José Henrique; TYE, Susannah J.; CARVALHO, Andre F.; VALVASSORI, Samira S.; FRIES, Gabriel R.; QUEVEDO, João. Contributions of epigenetic inheritance to the predisposition of major psychiatric disorders: Theoretical framework, evidence, and implications. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S. l.], v. 135, p. 104579, 2022. Disponível em: 10.1016/j.neubiorev.2022.104579. Acesso em: 26 ago. 2023.

VEERENDRA KUMAR, M. H.; GUPTA, Y. K. Effect of different extracts of *Centella asiatica* on cognition and markers of oxidative stress in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 79, n. 2, p. 253–260, 2002. Disponível em: 10.1016/S0378-8741(01)00394-4. Acesso em: 26 ago. 2023.

YIN, Mei-Chin; LIN, Ming-Cheng; MONG, Mei-Chin; LIN, Chia-Yu. Bioavailability, Distribution, and Antioxidative Effects of Selected Triterpenes in Mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 60, n. 31, p. 7697–7701, 2012. Disponível em: 10.1021/jf302529x. Acesso em: 26 fev. 2023.

ZHAO, Fan; ZHANG, Chenyiyu; XIAO, Dong; ZHANG, Weihua; ZHOU, Liping; GU, Simeng; QU, Rong. Radix Scutellariae Ameliorates Stress-Induced Depressive-Like Behaviors via Protecting Neurons through the TGFβ3-Smad2/3-Nedd9 Signaling Pathway. **Neural Plasticity**, [S. l.], v. 2020, p. 1–13, 2020. Disponível em: 10.1155/2020/8886715. Acesso em: 26 ago. 2023.

Palavras-chave: transtorno depressivo maior; estresse oxidativo; privação maternal; *Centella asiatica*; ácido madecássico.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2022-0452

Financiamento: UFFS e da FAPESC

Bolsa: CNPq