

## NEUROINFLAMAÇÃO E COMPORTAMENTOS TIPO DEPRESSIVOS EM RATOS ADULTOS SUBMETIDOS A ESTRESSE NA INFÂNCIA - EFEITOS DA *Centella asiatica* e COMPOSTO ATIVO ÁCIDO MADECÁSSICO

**Amanda Gollo Bertollo**  
Universidade Federal da Fronteira Sul  
amandagollo@gmail.com

**Lilian C. Bohnen**  
UNOCHAPECÓ  
lilianbohnen@unochapeco.edu.br

**Walter A. Roman Junior**  
UNOCHAPECÓ  
romanwa@unochapeco.edu.br

**Zuleide Maria Ignácio**  
Universidade Federal da Fronteira Sul  
zuleideignacio@gmail.com

**Eixo 04: Ciências da Saúde**

**Resumo:** O transtorno depressivo maior é uma doença mental prevalente. Objetivou-se avaliar o efeito do estresse de PM em comportamentos tipo depressivos e na neuroinflamação hipocampal, e o efeito do tratamento com o extrato de *C. asiatica* e composto ativo nos comportamentos tipo depressivos e possível neuroinflamação. Os animais foram submetidos à PM, tratamento crônico conforme grupo experimental e testes comportamentais e de citocinas inflamatórias. A PM induziu comportamentos tipo depressivos e aumento de citocinas inflamatórias no hipocampo. Os tratamentos reverteram ou reduziram as alterações.

**Palavras-chave:** Transtorno Depressivo Maior. Privação Maternal. Neuroinflamação. *Centella asiatica*. Ácido madecássico.

### Introdução

Estatísticas da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que o Transtorno Depressivo Maior (TDM) afetava, em 2017, mais de 300 milhões de pessoas em todo o mundo e contribuiu para a maior porcentagem de incapacidades (WHO, 2017). O transtorno depressivo maior (TDM) é um transtorno grave e que causa enorme perda da qualidade de vida das pes-

soas, sendo uma das formas mais prevalentes de doença mental (NEMEROFF; OWENS, 2002).

Entre os fatores mais relevantes subjacentes ao TDM está o estresse na infância. A privação maternal (PM) em roedores é um modelo comportamental que mimetiza os traumas no início da vida das pessoas (IGNÁCIO et al., 2014). Em indivíduos com TDM, alguns estudos vêm observando um aumento de liberação de citocinas inflamatórias no sistema nervoso central (SONG et al., 2020). A espécie medicinal *Centella asiatica* (*C. asiatica*) vem sendo estudada por seu potencial efeito neuroprotetor e antidepressivo (WANG et al., 2020).

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento com extrato de folhas da espécie *C. asiatica* e seu composto ativo ácido madecássico sobre comportamentos tipo depressivos e mecanismos pró-inflamatórios em ratos submetidos a estresse de PM nos primeiros dias de vida.

## Metodologia

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da UNOCHAPECÓ, SC, sob o protocolo 002/CEUA/2021 e desenvolvida em parceria entre a UNOCHAPECÓ e a Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

Os animais foram submetidos ao protocolo de PM nos dez primeiros dias de vida. Quando atingiram 60 dias de vida, os animais foram submetidos a um tratamento crônico de extrato de *C. asiatica* e ácido madecássico por 14 dias. A administração foi feita pelo método de gavagem. Os 60 animais foram divididas em 6 grupos (N = 10 cada grupo): Controle sem estresse + veículo (Controle sem estresse); PM + veículo (Estresse + Tratamento controle); PM + Escitalopram (Estresse + Tratamento controle positivo) 10 mg/kg; PM + Extrato de *C. asiatica* 30 mg/kg; PM + ácido madecássico 10 mg/kg.

Foi realizado o teste de campo aberto, que avalia a atividade motora exploratória (RÉUS et al., 2013) e o teste de natação forçada que avalia o comportamento depressivo (PORSOLT et al., 2000). Após o último teste comportamental os animais foram submetidos à eutanásia por decapitação. Após a extração do cérebro, o hipocampo foi separado com base na descrição histológica de Paxinos e Watson (1986). Os níveis de IL-1 $\beta$  e IL-6 no hipocampo foram analisados através de kits ELISA de acordo com os protocolos dos fabricantes dos kits.

Os resultados foram analisados através de ANOVA one-way, seguido do teste post-hoc de Tukey. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

## Resultados e discussão

Os efeitos da PM e dos tratamentos com *C. asiatica*, ácido madecássico e escitalopram nos parâmetros avaliados no teste de natação forçada estão ilustrados na figura 1. No protocolo de natação forçada a ANOVA de uma via revelou uma interação significativa no tempo de imobilidade, entre os grupos sem estresse e os grupos privados matematicamente e entre os tratamentos ( $F=9,4344$ ;  $p < 0,0001$ ). O teste Post hoc de Tukey revelou as seguintes diferenças estatísticas: A PM elevou significativamente o tempo de imobilidade ( $p < 0,002$ ) no teste de natação forçada e os tratamentos com *C. asiatica* ( $p < 0,0007$ ), ácido madecássico ( $p < 0,0002$ ) e escitalopram ( $p < 0,002$ ) reverteram o efeito da PM. A PM apresentou uma tendência de diminuição do tempo de natação, porém não houve diferença estatística significativa entre os grupos ( $F=3,15$ ;  $p < 0,024784$ ). Em relação ao tempo de natação foi indicado que o grupo PM apresentou menor tempo de natação em comparação ao grupo tratado com ácido madecássico ( $p < 0,03$ ). Quanto à escalada no nado forçado, não houve diferença estatística significativa entre os grupos ( $F=0,59$ ;  $p > 0,05$ ).

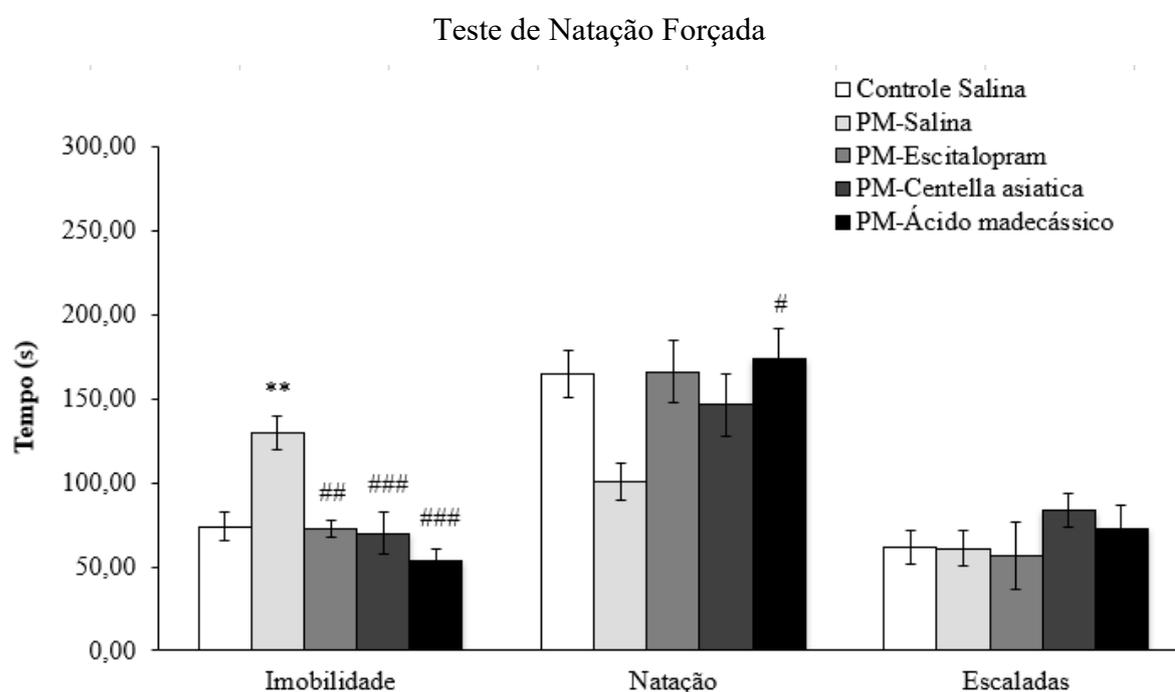


Figura 1 - Efeitos do estresse de PM e dos tratamentos com *C. asiatica* (30 mg/kg), ácido madecássico (10 mg/kg) escitalopram (10 mg/kg) sobre a os parâmetros de mobilidade no teste de natação forçada. Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. \*\*diferença estatística entre o Controle Salina e o PM Salina ( $p < 0,01$ ); #diferente do PM Salina ( $p < 0,05$ ); ##diferente do PM Salina ( $p < 0,01$ ); ###diferente do PM Salina ( $p < 0,001$ ).

Como previsto, a PM exerceu efeito tipo depressivo nos animais, corroborando com a literatura científica (IGNÁCIO et al., 2017), e os tratamentos reverteram os comportamentos tipo depressivos no teste de natação forçada. Foi identificado que o grupo PM apresentou uma diminuição do tempo de nado em comparação ao grupo controle, porém esta diferença não teve significância estatística. O ácido madecássico aumentou significativamente o tempo de natação, quando comparado ao grupo PM salina. O ácido madecássico foi o tratamento que induziu o maior aumento no tempo natação.

A PM e os tratamentos com *C. asiatica*, ácido madecássico e escitalopram não alteraram os parâmetros avaliados no teste de campo aberto. Tanto a PM quanto os tratamentos não induziram alterações significativas na atividade locomotora, avaliada através dos números de cruzamentos ( $F=1,89$ ;  $p > 0,05$ ) e levantamentos ( $F=1,14$ ;  $p > 0,05$ ) no teste do campo aberto. A atividade locomotora avaliada neste teste é um marcador importante do efeito sedativo ou estimulante dos tratamentos (GOULD; DAO; KOVACSICS, 2009), portanto este resultado indica que os fármacos não induziram efeitos sedativo ou estimulante importantes que poderia interferir nos comportamentos de mobilidade dos animais.

Os efeitos da PM e dos tratamentos com *C. asiatica*, ácido madecássico e escitalopram nos níveis da IL-1 $\beta$  e IL-6 no hipocampo estão ilustrados na figura 2. Houve uma interação significativa nos níveis de IL-1 $\beta$  ( $F=5,98$  e  $p < 0,05$ ) e IL-6 ( $F=6,06$  e  $p < 0,01$ ) entre os grupos. A PM elevou significativamente os níveis de IL-1 $\beta$  em comparação ao grupo controle ( $p < 0,02$ ) e o tratamento com escitalopram ( $p < 0,007$ ) e ácido madecássico ( $p < 0,05$ ) reverteu o efeito da PM. O tratamento com *C. asiatica* diminuiu os níveis de IL-1 $\beta$  em comparação ao grupo PM-salina, porém não houve diferença estatística significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Quanto ao nível de IL-6 o teste Post hoc de Tukey revelou as seguintes diferenças estatísticas: A PM elevou significativamente os níveis de IL-6 em comparação ao grupo controle ( $p < 0,009$ ) e os tratamentos com *C. asiatica* ( $p < 0,02$ ), ácido madecássico ( $p < 0,02$ ) e antidepressivo clássico escitalopram ( $p < 0,009$ ) reverteu o efeito da PM.

#### Atividade da IL-1 $\beta$ e IL-6 no Hipocampo

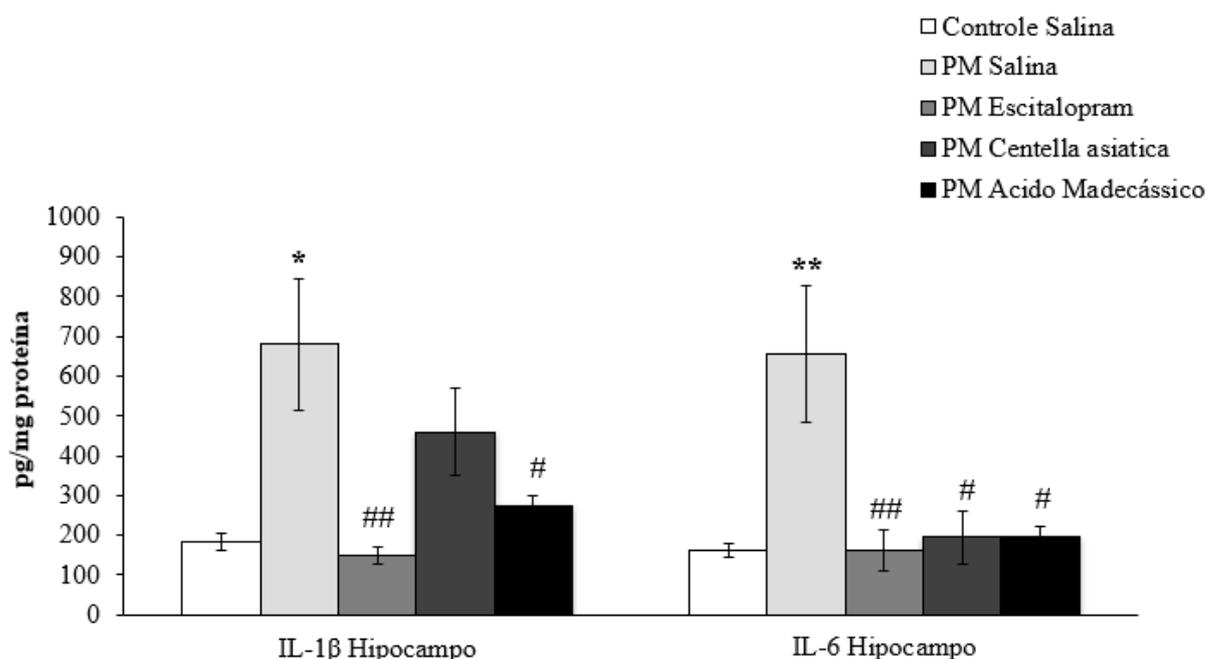


Figura 2 - Efeito da PM e dos tratamentos com *C. asiatica* (30 mg/kg), ácido madecássico (10 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg) sobre os níveis de IL-1 $\beta$  e IL-6 no hipocampo. Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. \*diferença estatística entre Controle Salina e PM Salina ( $p < 0,05$ ); \*\*diferença estatística entre Controle Salina e PM Salina ( $p < 0,01$ ); #diferente do PM salina ( $p < 0,05$ ); ##diferente do PM salina ( $p < 0,01$ ); ###diferente do PM salina ( $p < 0,001$ ).

A PM elevou significativamente os níveis de IL-1 $\beta$  em comparação ao grupo controle. Os tratamentos com escitalopram e ácido madecássico reverteram o efeito da PM. O tratamento com *C. asiatica* diminuiu os níveis de IL-1 $\beta$  em comparação ao grupo PM-salina, porém o resultado não chegou a um nível de significância estatística. De forma similar, a PM elevou significativamente os níveis de IL-6 em comparação ao grupo controle e os tratamentos com escitalopram, *C. asiatica* e ácido madecássico reverteram o efeito da PM.

Os resultados comportamentais e nos marcadores inflamatórios observados no presente estudo assim como os resultados na literatura científica sobre as ações biológicas da espécie *C. asiatica* e seu composto ativo ácido madecássico destacam a importância da continuidade nas análises sobre o perfil antiinflamatório e antidepressivo.

## Conclusão ou Considerações Finais

O estresse de privação maternal nos primeiros dias de vida induziu um aumento significativo de comportamentos tipo depressivos na vida adulta. Os animais submetidos ao estresse de PM apresentaram um aumento significativo de citocinas inflamatórias, IL-1 $\beta$  e IL-6, no hipocampo, sugerindo que o estresse na infância induz neuroinflamação ao longo da vida. Os tratamentos com extrato da *C. asiatica* e composto ativo ácido madecássico, bem como o anti-

depressivo escitalopram revertem ou reduzem os comportamentos tipo depressivos e os níveis das citocinas inflamatórias no hipocampo.

Esses resultados sugerem fortemente que a espécie medicinal *C. asiatica* e seu composto ativo apresentam potencial antidepressivo e que a redução da neuroinflamação hipocampal é um mecanismo envolvido no efeito tipo antidepressivo da espécie.

## Referências

GOULD, T. D.; DAO, D. T.; KOVACSICS, C. E. The Open Field Test. In T. D. Gould (Ed.), *Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests*. **Humana Press**. p. 1–20, 2009.

IGNÁCIO, Z.M. et al. Epigenetic and epistatic interactions between serotonin transporter and brain-derived neurotrophic factor genetic polymorphism: insights in depression. **Neuroscience**, v. 275, p. 455-468, 2014.

IGNÁCIO, Z. M. et al. Quetiapine treatment reverses depressive-like behavior and reduces DNA methyltransferase activity induced by maternal deprivation. **Behav Brain Res.**, 2017.

NEMEROFF, C. B.; OWENS, M. J. Treatment of mood disorders. **Nat Neurosci**, v. 5, p. 1068-1070, 2002.

PAXINOS, G.; WATSON, C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. **Academic Press**, 1986.

PORSOLT, R. D. Animals Models of Depression: Utility for Transgenic Research. **Reviews in the Neurosciences**, 2000.

REUS, G. Z. et al. Ketamine and imipramine in the 48 nucleus accumbens regulate histone deacetylation induced by maternal deprivation and are critical for associated behaviors. **Behav Brain Res.**, v. 256, p. 451-456, 2013.

SONG, Z. et al. Calpain inhibition ameliorates depression-like behaviors by reducing inflammation and promoting synaptic protein expression in the hippocampus. **Neuropharmacology**, v. 174, p. 108175, set. 2020.

WANG, L. et al. Asiaticoside produces an antidepressant-like effect in a chronic unpredictable mild stress model of depression in mice, involving reversion of inflammation and the PKA/pCREB/BDNF signaling pathway. **Mol Med Rep.**, v. 22, n. 3, p. 2364-2372, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Mental health of older adults**. 2017. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/mental-health-of-older-adults>. Acesso em: 11 mar. 2021.