

AVALIAÇÃO DE COMPORTAMENTOS TIPO DEPRESSIVOS E MARCADORES DE INFLAMAÇÃO EM TECIDO HOPOCAMPAL EM RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO MATERNA NA INFÂNCIA E TRATADOS COM O EXTRATO DA ESPÉCIE MEDICINAL *Aloysia citriodora*

Silvio José Batista Soares

Universidade Federal da Fronteira Sul

Silvio_sth@hotmail.com

Severina Silva do Amaral

Universidade Federal da Fronteira Sul

sevesamaral@gmail.com

Amanda Gollo Bertollo

Universidade Federal da Fronteira Sul

amandagollo@gmail.com

Zuleide Maria Ignácio

Universidade Federal da Fronteira Sul

zuleideignacio@gmail.com

Eixo 04: Ciências da Saúde

Resumo: O Transtorno Depressivo Maior (TDM), tem etiologia multifatorial e é considerado um problema de saúde pública. Essa pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito do estresse de Privação Maternal (PM) em relação aos comportamentos tipo depressivos e neuroinflamação no hipocampo e o efeito exercido pelo tratamento com o extrato da *A. citriodora*. Os animais foram submetidos ao protocolo de PM, tratamento crônico, testes comportamentais e avaliação de citocinas inflamatórias. Foi observado que a PM induziu comportamentos tipo depressivos e aumento de citocinas inflamatórias na região do hipocampo. Os animais tratados com o extrato reverteram ou reduziram essas alterações.

Palavras-chave: Transtorno depressivo maior. Privação materna. Neuroinflamação. *Aloysia citriodora*.

Introdução

De acordo com a Organização mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 4,4% da população mundial sofre com depressão e o TDM é considerado o maior responsável por

incapacidades ao longo da vida e de suicídio no mundo (OMS, 2017). O TDM é um dos transtornos psiquiátricos mais prevalentes e envolve sintomas clínicos como humor deprimido, anedonia, fadiga, perda de energia, sensação de inutilidade, etc. (LARSEN *et al.*, 2010). Devido a essa heterogeneidade, os tratamentos ainda são bastante inconsistentes e muitos pacientes não apresentam melhoras ao uso de antidepressivos clássicos (BELMAKER; AGAM, 2008).

Estudos clínicos e experimentais indicam que o estresse e a depressão estão associados ao aumento da atividade do sistema imune na inflamação, incluindo a função de alguns leucócitos e o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (DINAN, 2009). As citocinas também interagem com as vias relacionadas ao TDM, incluindo o metabolismo dos neurotransmissores, funções neuroendócrinas e plasticidade neural (DANTZER *et al.*, 2008). Pacientes com depressão apresentam níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como interleucinas (IL) (IL-1, IL-2 e IL-6) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (DOWLATI *et al.*, 2010).

Estudos com plantas medicinais tem sido realizados para tratar TDM. Entre muitas espécies já estudadas com relação aos efeitos antidepressivos, encontra-se a espécie *A. citriodora*, pertencente à família Verbenaceae (ERAM *et al.*, 2012). Dessa forma, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito do tratamento crônico com extrato hidroalcoólico da espécie *A. citriodora* sobre comportamentos tipo depressivos e mecanismos neuroinflamatórios e neuroprotetores, em ratos submetidos a estresse de privação maternal nos primeiros dias de vida.

Metodologia

A pesquisa foi desenvolvida em parceria entre a UNOCHAPECÓ e a Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Teve aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da UNOCHAPECÓ, SC, sob o protocolo 002/CEUA/2021. Foram utilizados 40 animais divididos em 4 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 *A. citriodora* 30 mg/kg.

Os animais foram submetidos ao protocolo de PM nos dez primeiros dias de vida. O tratamento crônico com o extrato de *A. citriodora* foi iniciado quando os animais completaram 60 dias de vida e durou 14 dias usando o método de gavagem. Ao final do tratamento, foram realizados testes comportamentais com a finalidade de observar os

comportamentos tipo depressivo por meio do teste de natação forçada (PORSOLT et al., 2000), e avaliar possíveis efeitos sedativo dos tratamentos, através do teste de campo aberto, (RÉUS et al., 2013).

Ao final dos testes de comportamento os animais foram eutanasiados por meio de decapitação. Realizou-se a extração do encéfalo e as estruturas hipocampais foram separadas de acordo com o método de Paxinos e Watson (1986). Por meio de kits ELIZA, realizou-se a análise dos níveis das interleucinas inflamatórias IL-1 β e IL-6 presentes no hipocampo.

Por fim, para a análise dos resultados, utilizou-se a ANOVA one-way, seguido do teste post-hoc de Tukey. Foram considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$.

Resultados e discussão

No teste de natação forçada, A ANOVA de uma via mostrou interação significativa no tempo de imobilidade entre os grupos sem estresse e os grupos PM e entre os tratamentos ($F= 5,03377$; $P: 0,004727$). O teste Post hoc de Tukey mostrou que a PM elevou significativamente o tempo de imobilidade ($p < 0,02$). Os tratamentos com *A. citriodora* e Esc reverteram o efeito da PM, ambos com ($p < 0,02$). No que diz respeito ao tempo de natação, observou-se na ANOVA que a PM apresentou uma significativa diminuição desse comportamento ($F= 5,1787$; $P < 0,005471$). O teste de Post hoc de Tukey mostrou que o grupo PM apresentou menor tempo de natação em comparação ao grupo tratado com escitalopram ($p < 0,02$); controle salina ($p < 0,02$) e em relação ao grupo tratado com *A. citriodora* ($p < 0,04$). Por fim, no teste de escalada, do nado forçado, não houve diferença estatística significativa entre os grupos.

Teste de Natação Forçada

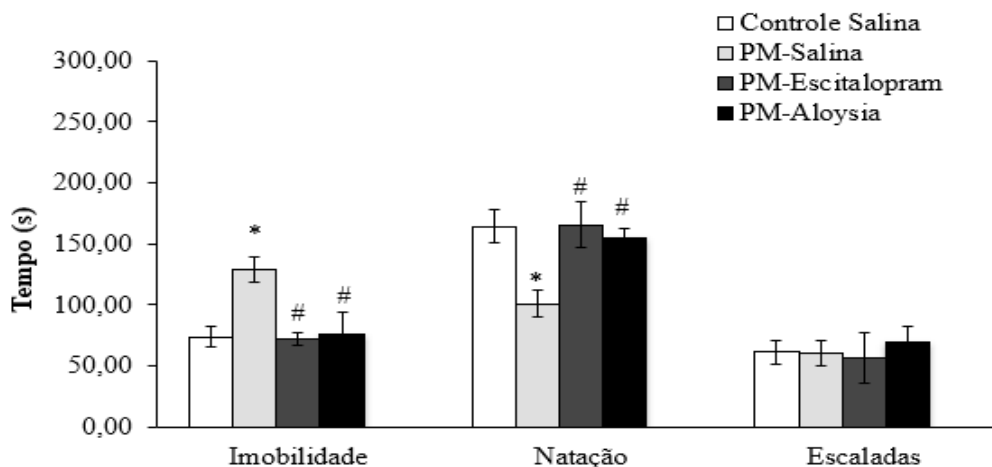


Figura 1 - Efeitos do estresse de PM e dos tratamentos com o extrato hidroalcoólico da *A. citriodora* (30 mg/kg), escitalopram (10 mg/kg). Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média. Sobre o parâmetro de mobilidade: *diferença estatística entre o Controle Salina e o PM Salina ($p < 0,05$); #diferente do PM Salina ($p < 0,05$). Sobre o parâmetro de natação: *diferença estatística entre o Controle Salina e o PM Salina ($p < 0,05$); #diferente do PM Salina ($p < 0,05$).

Observou-se que o grupo PM teve o parâmetro de imobilidade aumentado e o tempo de natação reduzido em relação ao grupo controle, indicando comportamentos do tipo depressivo. Já os grupos tratados com *A. citriodora* e escitalopram tiveram ambos os parâmetros similares ao grupo controle, corroborando com literatura científica acerca dos efeitos antidepressivos da *A. citriodora* e do escitalopram (ERAM et al. (2012); HARAGUCHI et al., (2018).

Com a finalidade de observar possíveis efeitos sedativos dos tratamentos, realizou-se o teste de campo aberto, que de acordo com Gould et al (2009), tem a finalidade de medir a atividade exploratória geral em roedores. No teste de campo aberto a ANOVA de uma via não revelou interação significativa entre os grupos sem estresse e os grupos de PM. Tanto a PM quanto os tratamentos não induziram alterações significativas na atividade locomotora, avaliada através dos números de cruzamentos ($F=2,40$; $p > 0,05$) e levantamentos ($F=2,11$; $p > 0,05$) no teste do campo aberto.

A ANOVA revelou interação significativa nos níveis de interleucinas entre os grupos. IL-1 β ($F=14,77$ e $p < 0,001$) e IL-6 ($F=12,23$ e $p < 0,001$). O teste Post hoc de Tukey mostrou que a PM induziu aumento significativo dos níveis de IL-1 β ($p < 0,05$). A *A. citriodora* ($p < 0,001$) e o escitalopram ($p < 0,01$) reverteram os níveis elevados de IL-1 β , induzidos pela PM. A PM

também induziu, de modo ainda mais significativo, os níveis de IL-6 ($p < 0,01$). Os tratamentos com *A. citriodora* ($p < 0,001$) e com escitalopram ($p < 0,01$) reverteram os níveis elevados de IL-6, induzidos pela PM.

Atividade da IL-1 β e IL-6 no Hipocampo

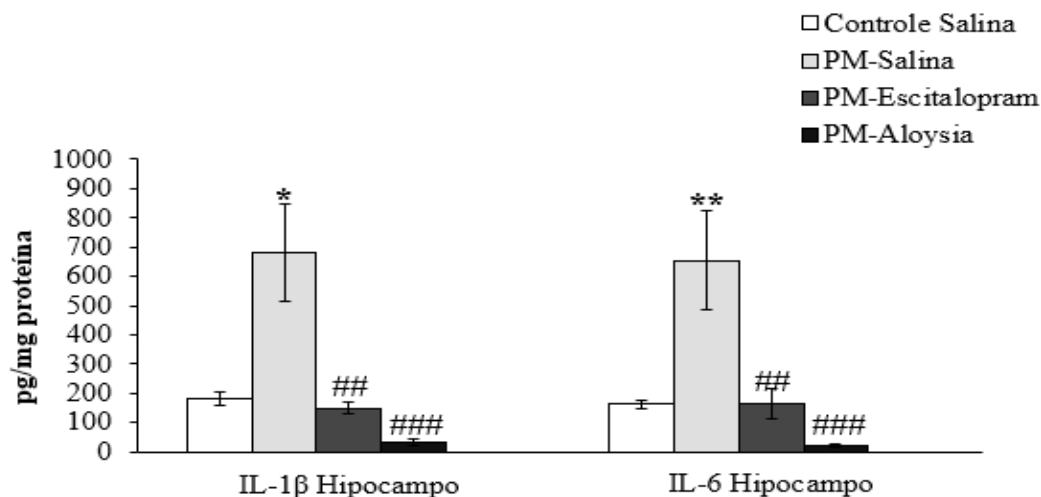


Figura 2 - Efeitos da PM e dos tratamentos com o extrato hidroalcoólico da *A. citriodora* (30 mg/kg), escitalopram (10 mg/kg) sobre os níveis de interleucinas inflamatórias IL-1 β e IL-6 no hipocampo. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média. *diferença estatística entre Controle Salina e PM Salina ($p < 0,05$); **diferença estatística entre Controle Salina e PM Salina ($p < 0,01$); ##diferente do PM salina ($p < 0,01$); ###diferente do PM salina ($p < 0,001$).

A partir dos resultados encontrados, observou-se que o protocolo PM teve uma elevação significativa nos marcadores de inflamação, IL-1 β e IL-6, em comparação ao grupo controle. O tratamento com o extrato de *A. citriodora* reverteu de forma estatisticamente significativa ($p < 0,05$) os parâmetros de inflamação do hipocampo. Nesse sentido, os resultados obtidos indicam o potencial terapêutico da planta no tratamento da depressão.

Conclusão ou Considerações Finais

O estresse causado pelo protocolo de privação materna em roedores culminou em um aumento significativo de comportamentos tipo depressivos na vida adulta e aumento na expressão de substâncias inflamatórias IL-1 β e IL-6 no hipocampo dos animais. O tratamento realizado com o extrato hidroalcoólico de *A. citriodora* reverteu os comportamentos tipo depressivos de forma similar ao grupo tratado com escitalopram. Sobre os marcadores de inflamação no tecido nervoso, observou-se que os animais tratados com *A. citriodora* tiveram

valores inferiores àqueles tratados com escitalopram e ao grupo controle, e ainda de modo mais significativo quando comparado ao grupo PM tratado com salina. Os resultados indicam que substâncias presentes na espécie *A. citriodora* apresentam potencial uso como antidepressivo e faz-se necessário mais pesquisas para entender os mecanismos de ação e compostos ativos presentes na planta.

Referências

BELMAKER, R. H.; AGAM, G. Major depressive disorder. **N Engl J Med.**, v. 358, 2008.

DANTZER, R. *et al.* From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nat Rev Neurosci.**, v. 9, 2008.

DINAN, T. G. Inflammatory markers in depression. **Curr Opin Psychiatry.**, v. 22, 2009.

DOWLATI, Y. *et al.* A meta-analysis of cytokines in major depression. **Biol Psychiatry.**, v. 67, n. 5, 2010.

ERAM, S. *et al.* Antidepressant activity of ethanolic extract, chloroform extract and aqueous extract of *Aloysia Triphylla* L. in the FST and in the TST in male mice. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 5, 2012.

GOULD, T. D. *et al.* 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.

HARAGUCHI, A. *et al.* Night eating model shows time-specific depression-like behavior in the forced swimming test. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1081, 18 dez. 2018.

LARSEN, M. H. *et al.* Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the chronic unpredictable stress rat model and the effects of chronic antidepressant treatment. **J Psychiatr Res.**, v. 44. 2010.

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.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Mental health of older adults**. 2017.