

# **EFEITO DO EXTRATO DE MIRTILO EM PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM ANIMAIS SUBMETIDOS AO MODELO EXPERIMENTAL DE MANIA**

GABRIELA NOGUEIRA DEBOM<sup>1</sup>, MAYARA SOARES<sup>1</sup>, FELIPE GIOVANINI GONÇALVES<sup>1</sup>, CLAITON LEONETI LENCINA<sup>1</sup>, MARTA GAZAL<sup>1</sup>, ROSELIA MARIA SPANEVELLO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [gabriela.debom@gmail.com](mailto:gabriela.debom@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rspanevello@gmail.com](mailto:rspanevello@gmail.com)

## **1. INTRODUÇÃO**

O Transtorno Bipolar (TB) é um transtorno psiquiátrico caracterizado por recorrentes e alternados episódios de mania e depressão, associados a uma alta taxa de comorbidades médicas e psiquiátricas (BUDNI, *et al.*, 2013). Devido a sua complexidade, o TB necessita de tratamento multifatorial, este podendo ser na forma de psicoterapia e conjuntamente com o tratamento farmacológico, sendo um o lítio um dos medicamentos utilizados (SOARES, 2002). Entretanto, a terapia farmacológica pode não ser eficiente em determinados pacientes, levando à recorrência de quadros maníacos ou depressivos.

Os mecanismos envolvidos na etiologia do TB ainda não estão totalmente elucidados. Neste contexto muitos estudos vêm demonstrando que o estresse oxidativo constitui um dos principais mecanismos associados aos processos neurodegenerativos nos transtornos psiquiátricos (GAZAL *et al.*, 2014). O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre os níveis de espécies reativas e status antioxidante celular. As espécies reativas de oxigênio podem causar danos a biomoléculas como lipídios e DNA contribuindo assim para os processos neurodegenerativos (BIRBEN, *et al.*, 2012).

O mirtilo é um fruto do gênero *Vaccinium*, família Ericaceae (FERNALD, 1950), de coloração arroxeada, ao qual têm sido associadas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Tais propriedades podem ser atribuídas à presença de compostos fenólicos presentes neste fruto, como as antocianinas.. Estudos vêm associando o consumo do mirtilo com a diminuição de parâmetros de estresse oxidativo em diversas patologias como câncer e doenças cardiovasculares (JESUS, 2013).

Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito preventivo do extrato de mirtilo em parâmetros de estresse oxidativo em hipocampo de ratos submetidos a um modelo experimental de mania induzida por cetamina.

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1 Animais**

Foram utilizados ratos machos Wistar (60 dias) obtidos do Biotério da UFPel os quais foram mantidos em ambiente com temperatura (20 - 24°C) e umidade (40 - 60%) controladas, água e alimento *ad libitum*, e ciclo claro/escuro de 12 horas durante todo o período. O protocolo experimental desse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA 9026).

## 2.2 Modelo experimental de mania e tratamento

Os animais foram divididos em seis grupos: I (controle), II (Lítio), III (Extrato de Mirtilo), IV (Cetamina), V (Cetamina + Lítio) e VI (Cetamina + Extrato de Mirtilo). Os animais foram tratados de acordo com um protocolo de prevenção onde os animais dos grupos III e VI receberam extrato de mirtilo na dose de 200mg/kg via oral) e os animais dos grupos II e V receberam carbonato de lítio (45mg/kg via oral) do dia 1<sup>o</sup> até o 14<sup>o</sup>. Os animais dos grupos I e IV receberam o mesmo volume de solução salina. A partir do 8<sup>o</sup> dia os animais dos grupos IV, V e VI receberam também uma dose de cetamina (25mg/kg) por via intraperitoneal uma vez ao dia. Ao final do tratamento, no 15<sup>o</sup> dia, os animais receberam uma única dose de cetamina e após 30 minutos a atividade locomotora foi avaliada utilizando teste de campo aberto.

## 2.3 Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo

Logo após o teste de campo aberto, os animais foram submetidos à eutanásia. O hipocampo destes animais foi coletado e homogeneizado em tampão fosfato e armazenado à -80°C para posteriores análises bioquímicas.

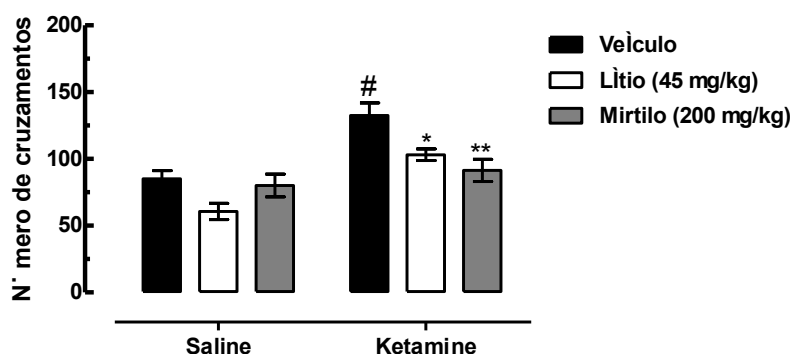
No hipocampo foram avaliados os níveis de peroxidação lipídica e a atividade da superóxido dismutase (SOD). A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada pelo método ESTERBAUER & CHEESEMAN (1990) o qual mede a formação de malondialdeído (produto da peroxidação lipídica). Os resultados foram expressos como nmol de TBARS/mg proteína. A atividade da SOD em hipocampo foi avaliada pelo método de SPITZ & OBERLEY (1989) e expressa em unidades de SOD/mg proteína.

## 2.4 Análise estatística dos dados

Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias (two-way ANOVA), seguida do teste de *post-hoc* de Bonferroni. Os resultados foram considerados significantes quando  $P \leq 0.05$  sendo expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

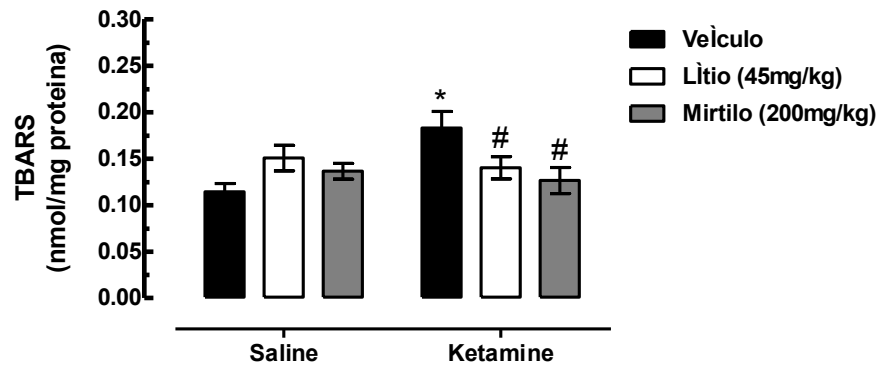
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com cetamina foi capaz de induzir a hiperlocomoção em ratos, avaliada pelo aumento do número de cruzamentos no teste de campo aberto, o que é uma indicação do episódio de mania (GAZAL *et al.*, 2014). O pré-tratamento com extrato de mirtilo (200mg/kg) e com lítio (45mg/kg) foram capazes de prevenir a hiperlocomoção induzida pela cetamina no teste do campo aberto (Figura 1).

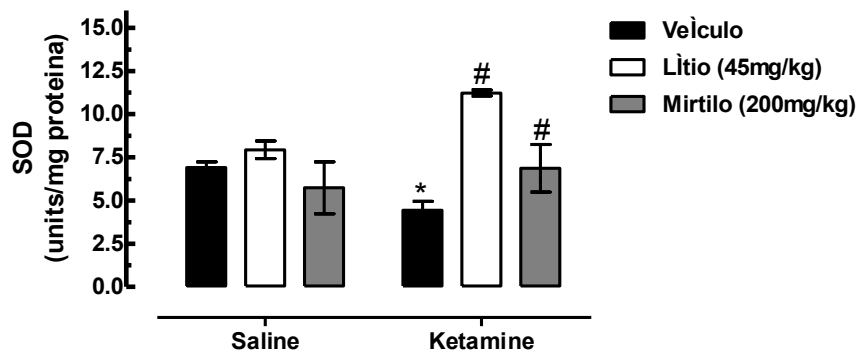


**Figura 1:** Efeito do extrato de mirtilo e de carbonato de lítio na hiperlocomoção induzida por cetamina. <sup>#</sup> Diferente do grupo controle para  $P < 0.05$ . <sup>\*</sup> Diferente do grupo cetamina/salina para  $P < 0.05$ . <sup>\*\*</sup> Diferente do grupo cetamina/salina para  $P < 0.01$ .

A fim de consolidar a hipótese de um efeito neuroprotetor do extrato de mirtilo no modelo de mania induzida pela cetamina, avaliamos o efeito do extrato de mirtilo e do lítio em parâmetros de estresse oxidativo em hipocampo. A figura 2 demonstra que o extrato de mirtilo e o lítio foram capazes de prevenir o aumento dos níveis de TBARS no hipocampo induzidos pela administração de cetamina ( $P < 0.05$ ). Na figura 3 pode-se observar uma diminuição na atividade da SOD em animais submetidos ao modelo de mania ( $P < 0.05$ ) sendo que o tratamento com extrato de mirtilo e lítio foram capazes de prevenir esse efeito.



**Figura 2:** Níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em hipocampo de ratos submetidos a um modelo experimental de mania e tratados com extrato de mirtilo ou lítio. \*Diferente do grupo controle para  $P < 0.01$ . # Diferente do grupo cetamina/salina  $P < 0.05$ .



**Figura 3:** Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em hipocampo de ratos submetidos a um modelo experimental de mania e tratados com extrato de mirtilo ou lítio. \* Diferente do grupo controle para  $P < 0.01$ . # Diferente do grupo cetamina/salina  $P < 0.05$ .

O sistema glutamatérgico parece estar envolvido na etiologia do TB, havendo uma diminuição na expressão de subunidades do receptor NMDA na região do hipocampo (GAZAL, *et al.*, 2014).

Um modelo experimental para o TB é a administração de cetamina em ratos, a qual pode levar a episódios maníacos, visualizados através da hiperlocomoção dos animais (GHEDIM *et al.*, 2012). A cetamina é um fármaco antagonista não-competitivo de receptores NMDA, conhecida por seus efeitos anestésicos, e quando administrada em doses específicas (25mg/kg) pode levar a essa hiperlocomoção.

Os resultados de estresse oxidativo obtido nesse estudo estão de acordo com outros trabalhos da literatura onde também foi observado que esse modelo experimental altera os níveis de TBARS e a atividade da SOD em hipocampo de

ratos (GAZAL et al., 2014). Sendo assim, é possível inferir que o estresse oxidativo tenha um importante papel nas alterações neurológicas observadas no TB.

O tratamento com o extrato de mirtilo foi capaz de prevenir a hiperlocomoção e o estresse oxidativo, apresentando resultados semelhantes ao tratamento com o carbonato de lítio, medicamento de escolha preferencial para o tratamento do TB.

#### 4. CONCLUSÕES

A descoberta de alternativas que possam prevenir o TB é de grande importância, visto que este apresenta um impacto desfavorável na população mundial. Nosso estudo demonstrou que a administração do extrato de mirtilo preveniu a hiperlocomoção bem como o estresse oxidativo induzido por cetamina em ratos. Estes resultados sugerem um potencial do extrato de mirtilo na prevenção da recorrência de novos episódios maníacos, porém mais estudos são necessários para comprovar este efeito benéfico.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GAZAL, M.; VALENTE, M.R.; ACOSTA, B.A.; KAUFMANN, F.N.; BRAGANHOL, E.; LENCINA, C.L.; STEFANELLO, F.M.; GHISLENI, G.; KASTER, M.P. Neuroprotective and antioxidant effects of curcumin in a ketamine-induced model of mania in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 724, n.1, p. 132-139, 2014.

GHEDIM, F.V.; FRAGA, D.B.; DEROZA, P.F.; OLIVEIRA, M.B.; VALVASSORI, S.S.; STECKERT, A.V.; BUDNI, J.; DAL-PIZZOL, F.; QUEVEDO, J.; ZUGNO, A. I. Evaluation of behavioral and neurochemical changes induced by ketamine in rats: Implications as an animal model of mania. **Journal of Psychiatric Research**.v. 46, n.12, p. 1569-1575, 2012.

BIRBEN, E.; SAHINER, U.M.; SACKESEN, C.; ERZURUM, S.; KALAYCI, O. Oxidative stress and antioxidant defense. **WAO Journal**, n1, v.5, p.9-19, 2012.

JESUS, T.F.P. **O mirtilo e suas propriedades terapêuticas**. 2013. Tese – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa.

BUDNI, J. Biological mechanisms underlying neuroprogression in bipolar disorder. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, n.1, v.35, p.001-002, 2013.

SOARES, JC. Pharmacologic treatment of bipolar disorder. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, n.5, v.3, p.109-110, 2002.

ESTERBAUER, H. and CHEESEMAN, KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonanal. **Methods in Enzymology**, n.1, v.186, p.407-421, 1990.

SPITZ, DR. and OBERLEY, LW. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. **Analytical Biochemistry**, n.1, v.179, p.8-18, 1989.

FERNALD, M.L. **Gray's Manual of Botany**. Nova Iorque, American Book Company, 1950, 1647 p.