

2.10.03 - Farmacologia / Neuropsicofarmacologia

**EFEITO DA QUETIAPINA E ANTIDEPRESSIVOS CLÁSSICOS SOBRE COMPORTAMENTOS TIPO DEPRESSIVOS E ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉREBRO E SORO DE RATOS SUBMETIDOS A ESTRESSE CRÔNICO NA VIDA ADULTA**

Roberta E. Grolli<sup>1\*</sup>, João P. Behenck<sup>2</sup>, Amanda G. Bertollo<sup>1</sup>, Laura de A. Borba<sup>2</sup>, Marcos E. Plissari<sup>1</sup>, Maria E. M. Botelho<sup>3</sup>, Silvio J. B. Soares<sup>4</sup>, Aline Manica<sup>5</sup>, Margarete D. Bagatini<sup>6</sup>, João Quevedo<sup>7,8</sup>, Gislaïne Z. Réus<sup>7</sup>, Zuleide M. Ignácio<sup>9</sup>

1. Estudante de IC do Curso de Enfermagem da UFFS
2. Estudante de IC do Curso de Biomedicina da UNESC
3. Estudante de IC do Curso de Medicina da UNESC
4. Estudante de IC do Curso de Medicina da UFFS
5. Doutoranda no Programa de Ciências Biológicas – Bioquímica Toxicológica, da UFMS
6. Professora Doutora – Lab de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da UFFS
7. Professor (a) Doutor (a) – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UNESC
8. Translational Psychiatry Program, Medical School – UTHealth, Houston, TX, USA
9. Professora Doutora – Lab de Fisiologia, Farmaco e Psicopatologia da UFFS/Orientadora

**Resumo**

O transtorno depressivo maior (TDM) envolve mecanismos fisiológicos, entre os quais está o estresse oxidativo. Alguns estudos evidenciaram que a quetiapina e antidepressivos clássicos reduzem ou revertem alguns prejuízos no balanço oxidativo. Assim, o objetivo desta proposta foi investigar o efeito da quetiapina e antidepressivos monoaminérgicos sobre comportamentos tipo depressivos e estresse oxidativo em ratos submetidos à estresse crônico moderado (ECM). Ratos adultos foram submetidos ao ECM e ao final foram tratados por 14 dias com quetiapina, Imipramina e escitalopram e passaram por testes para avaliação de comportamentos tipo depressivos. Após, os animais foram eutanasiados, retirado amostras cerebrais e soro para análise de balanço oxidativo. O ECM induziu comportamentos tipo depressivos e aumentou parâmetros do estresse oxidativo no soro dos animais. Os tratamentos reduziram os comportamentos tipo depressivos e parâmetros pró-oxidantes induzidos pelo ECM.

**Autorização legal:** CR 019/CEUA/UFFS/2018 - Comissão de Ética no Uso de Animais - CEU - UFFS.

**Palavras-chave:** Transtorno depressivo maior; Estresse crônico moderado; Balanço oxidativo.

**Apoio financeiro:** FAPESC; UFFS

**Introdução**

Na literatura científica já está bem definido que o transtorno depressivo maior (TDM) pode ser consequência da exposição a eventos crônicos de estresse durante a vida (IGNÁCIO et al., 2014). Muitos estudos têm destacado que alterações no balanço oxidativo a partir do estresse crônico são fenômenos importantes envolvidos na patogênese da depressão (STRECK et al., 2014; CHE et al., 2015; GARABADU et al. 2015). Alguns estudos apontam que ratos submetidos ao estresse crônico moderado tiveram aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o ânion superóxido, no hipocampo, córtex pré-frontal e córtex cerebral e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no córtex (LUCCA et al., 2009a).

Para a defesa do organismo há enzimas que participam do balanço EROs, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) e a glutathione S transferase (GST) (PANDYA et al., 2013). Um desequilíbrio na produção de EROs e as defesas antioxidantes, resulta em prejuízo para o organismo (FEDOROVA et al., 2014). O estresse oxidativo e a vulnerabilidade do cérebro, juntamente com as crescentes evidências de alterações degenerativas associadas com os transtornos psiquiátricos, indicam que o dano oxidativo está relevantemente envolvido nos transtornos de humor (IGNÁCIO et al., 2017).

Diante desses dados, pesquisas que envolvem estudos para o tratamento da depressão maior tornam-se cada vez mais necessárias e urgentes. Assim, o objetivo principal deste estudo foi: Investigar o efeito da quetiapina, Imipramina e escitalopram sobre possíveis comportamentos tipo depressivos e parâmetros relacionados ao balanço oxidativo em cérebro e no soro de ratos submetidos a estresse crônico moderado por 40 dias (ECM). Os objetivos específicos foram: - Avaliar o efeito do ECM sobre comportamentos tipo depressivos observados nos testes de anedonia (*splash test*) e natação forçada; - Avaliar o efeito do ECM sobre parâmetros bioquímicos relacionados ao balanço oxidativo no CPF, hipocampo, amígdala e NAc e no soro; - Avaliar o efeito do tratamento crônico com quetiapina, imipramina e escitalopram sobre as respostas comportamentais e parâmetros do balanço oxidativo dos animais submetidos ao ECM.

**Metodologia**

Neste estudo foram utilizados ratos machos Wistar, adultos com 50 dias de idade, procedentes do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense- UNESC. Os animais foram acondicionados em caixas com 5 ratos por caixa, com ciclo claro/escuro de 12 horas (07:00 às 19:00, com luz iniciando às 7:00), comida e água

*ad libitum*. O ambiente foi mantido à temperatura de 23 + 1°C. Os animais foram divididos nos seguintes grupos: ECM-Quetiapina, ECM-Imipramina, ECM-Escitalopram, ECM-Salina; Controle-Salina. Foi executado o ECM durante 40 dias. Os seguintes estressores foram utilizados: 24h de privação de comida, 24h de privação de água, 1-3h de contenção, 1.5-2h de contenção a 4°C, exposição à luz estroboscópica durante 120-210min, isolamento (2-3 dias). Um dia após o final do protocolo de ECM por 40 dias foi iniciado o tratamento com os seguintes fármacos: quetiapina (20 mg/kg), imipramina (30 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg). Cada um dos fármacos foi administrado uma vez ao dia, por via intraperitoneal, durante 14 dias. No 12º dia de aplicação dos fármacos os animais foram submetidos ao teste de atividade locomotora no campo aberto. Foi permitido a cada animal a exploração do ambiente por 5 minutos. Foi contabilizado o número de vezes que o animal cruzou uma das linhas pretas (cruzamentos) e o número de vezes que levantou, ficando apoiado nas patas traseiras a fim de explorar o ambiente (levantamentos). Cinco minutos após o teste de locomoção foi realizado o teste de anedonia (Splash test), quando os animais novamente foram colocados em um campo aberto, após a borrifação de uma solução com água e sacarose a 10% em seu dorso. No teste de anedonia foi avaliado o tempo de lambidas (grooming) durante 5 minutos. No 13º dia os ratos foram submetidos ao treino de nado forçado. Os animais foram colocados em tubos cilíndricos cheios de água que impediam que os mesmos colocassem as patas no fundo, precisando nadar ou boiar, durante 15 minutos. No 14º dia os animais foram submetidos ao teste de nado forçado durante 5 minutos, quando foram medidos o tempo que eles ficavam imóveis boiando ou nadando e tentando escapar dos tubos com água. Após o nado os animais foram eutanasiados através da guilhotina e foram retiradas as seguintes estruturas: Córtex Pré Frontal (CPF), Núcleo Accumbens (NAc), Hipocampus e Amígdala para análise de parâmetros bioquímicos relacionados ao estresse oxidativo. Além das estruturas cerebrais, foi coletado o soro dos animais para as análises bioquímicas sobre o estresse oxidativo. As análises bioquímicas ocorreram nos laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, campus Chapecó. As amostras foram homogêneas e foram avaliados parâmetros como: atividade das enzimas mieloperoxidase, ácido tiobarbitúrico, tióis protéicos e não protéicos, óxido nítrico e ácido ascórbico.

## Resultados e Discussão

O ECM aumentou significativamente o tempo de imobilidade no teste de natação forçada e, tanto a quetiapina quanto os tratamentos com os antidepressivos imipramina e escitalopram reverteram o efeito do ECM ( $F = 7.80$ ;  $p < 0.0001$ ). O ECM também reduziu significativamente o tempo de lambidas durante o teste de anedonia (Splash test) ( $F = 6.39$ ;  $p < 0.001$ ). Os tratamentos com quetiapina ( $p < 0,001$ ) e escitalopram ( $p < 0,01$ ) reverteram o efeito do ECM no teste de anedonia. No grupo tratado com imipramina houve um aumento do tempo de lambidas em relação ao ECM tratado com salina, porém o resultado não teve um nível de significância estatística.

Os resultados relacionados aos testes de natação forçada e de anedonia, indicam que o ECM induziu comportamentos tipo depressivos nos animais. Esses resultados estão de acordo com resultados descritos na literatura científica (GARCIA et al., 2009; FORTUNATO et al., 2010; FERNANDES E GUPTA, 2019).

Tanto o ECM, quanto os tratamentos farmacológicos não induziram alterações significativas na atividade locomotora avaliada, através dos números de cruzamentos e levantamentos no teste do campo aberto. Esses resultados sugerem que o ECM e os fármacos utilizados não induziram qualquer tipo de prejuízo função motora dos animais.

Com relação aos marcadores e parâmetros referentes ao balanço oxidativo, o ECM não exerceu alterações significativas no balanço oxidativo, as quais poderiam indicar estresse oxidativo nas estruturas cerebrais avaliadas. No soro dos animais submetidos ao ECM foi verificado um aumento significativo da enzima mieloperoxidase (MPO) ( $F = 3.66$ ;  $p < 0,05$ ). Os tratamentos com imipramina e quetiapina reduziram significativamente o aumento da MPO no soro dos animais estressados ( $p < 0,05$ ). O ECM não reduziu os níveis de tióis não protéicos, mas o tratamento com escitalopram aumentou significativamente os níveis no soro dos animais submetidos ao estresse ( $F = 4.56$ ;  $p < 0,01$ ).

Embora a função da quetiapina e de alguns antidepressivos clássicos sejam geralmente no sentido de promover o balanço oxidativo em regiões cerebrais envolvidas com o TDM (IGNÁCIO et al., 2017), neste estudo algumas ações foram registradas no soro dos animais. No entanto, o ECM também não induziu alterações significativas sobre os parâmetros relacionados ao balanço oxidativo nas regiões cerebrais avaliadas. Portanto, o efeito dos fármacos sobre os parâmetros avaliados deve estar refletindo também o efeito do ECM.

No soro dos animais, o ECM aumentou a atividade da MPO e os tratamentos com quetiapina e imipramina reverteram o efeito do ECM na MPO. A enzima MPO está presente em neutrófilos, monócitos e células microgliais (GALECKI et al., 2010), induz a produção de citocinas pró-inflamatórias (LEFKOWITZ & LEFKOWITZ 2008) as quais são aumentadas em pacientes TDM (HODES et al., 2014). Além disso, a atividade da MPO está relacionada a aumento de outros marcadores do estresse oxidativo (IGNÁCIO et al., 2017). Portanto, a reversão da atividade da MPO é uma importante função protetora do balanço oxidativo pelos fármacos quetiapina e imipramina.

## Conclusões

Os resultados deste estudo permitem concluir que o ECM induziu comportamento tipo depressivo nos animais e os fármacos, quetiapina, imipramina e escitalopram exerceram efeitos tipo antidepressivos nos animais estressados.

O ECM, ao aumentar a atividade da enzima mieloperoxidase, exerceu efeito pró oxidante no soro dos animais, enquanto os fármacos imipramina e quetiapina reduziram o efeito pró oxidante do ECM. Além disso,

embora o ECM não tenha alterado os níveis de tióis não protéicos, o escitalopram aumentou os níveis no soro dos animais, sugerindo um efeito antioxidante do escitalopram nesses parâmetros do balanço oxidativo.

### Referências bibliográficas

- CHE, Y. et al. Chronic unpredictable stress impairs endogenous antioxidant defense in rat brain. **Neurosci Lett.** [S.I.], v. 584, p. 208-13, 2015.
- FERNANDES J., GUPTA G.L. N-acetylcysteine attenuates neuroinflammation associated depressive behavior induced by chronic unpredictable mild stress in rat. **Behav Brain Res.** [S.I.], v.364, p. 356-365, 2019.
- FEDOROVA, M.; BOLLINENI, R.C.; HOFFMANN, R. Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: update of analytical strategies. **Mass Spectrom Rev.** [S.I.], v.33, n. 2, p. 79-97, 2014.
- FORTUNATO J.J. et al. Effects of beta-carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: further evidence of antidepressant properties. **Brain Res Bull.** [S.I.], v.81, n. 4-5, p. 491-496, 2010.
- GALECKI P., et al. Functional polymorphism of the myeloperoxidase gene (G-463A) in depressive patients. **Acta Neuropsychiatr.** [S.I.], v. 22, n. 5, p. 218-22, 2010.
- GARABADU, D.; AHMAD, A.; KRISHNAMURTY, S. Risperidone Attenuates Modified Stress-Re-stress Paradigm-Induced Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis in Rats Exhibiting Post-traumatic Stress Disorder-Like Symptoms. **J Mol Neurosci.** [S.I.], v.56, n. 2, p. 299-312, 2015.
- GARCIA, L. S. et al. Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** [S. I.], v. 33, n. 3, p. 450-455, 2009.
- HODES G. E. et al. Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress. **Proc Natl Acad Sci U S A.** [S. I.], v. 111, n. 45, p. 16136-41, 2014.
- IGNÁCIO, Z. M. et al. Epigenetic and epistatic interactions between serotonin transporter and brain-derived neurotrophic factor genetic polymorphism: insights in depression. **Neuroscience,** [S. I.], n. 275, p. 455-468, 2014.
- IGNÁCIO, Z. M. et al. Acute and chronic treatment with quetiapine induces antidepressant-like, behavior and exerts antioxidant effects in the rat brain. **Metab Brain Dis.** [S.I.], v.32, p. 1195-1208, 2017.
- LEFKOWITZ D. L., LEFKOWITZ S.S. Microglia and myeloperoxidase: a deadly partnership in neurodegenerative disease. **Free Radic Biol Med.** [S.I.], v. 45, n. 5 p. 726-31, 2008.
- LUCCA, G. et al.. Increased oxidative stress in submitochondrial particles into the brain of rats submitted to the chronic mild stress paradigm. **J Psychiatr Res.** [S.I.], v. 43, n. 9, p. 864-869, 2009.
- PANDYA, C. D., HOWELL K. R., PILLAI A. Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** [S.I.], v. 46, p. 214-23, 2013.
- STRECK, E. L. et al. Mitochondria and the central nervous system: searching for a pathophysiological basis of psychiatric disorders. **Rev Bras Psiquiatr.** [S.I.], v. 36, n. 2, p. 156-67, 2014.