TRABALHO COMPLETO
FULL PAPER
XXVII SEPE
Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão
Teaching, Research and Extension Symposium
24 A 26 DE OUTUBRO 2023
OCTOBER 24th to 26th, 2023
ISSN: 2316-9745
CIÊNCIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
SCIENCE AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT
UFN
https://doi.org/10.48195/sepe2023.27138

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO DO EXTRATO DE AÇAÍ LIVRE E NANOEMULSIONADO

***Tuyla Fontana[1]; Diulie Valente Souza[1]; Giovana Bonazza[1]; Amanda Kolinski Machado[1]; Gabriele Cheiran[2]; Elisa Piton[2]; Guilherme Vargas Bochi[2]; Alencar Kolinski Machado[1]**

RESUMO

Transtornos neuropsiquiátricos, incluindo depressão, são desafios globais de saúde pública com causas complexas e terapias limitadas. A administração crônica de corticosterona induz comportamento depressivo em animais. Esta pesquisa visou avaliar se o extrato de açaí livre e nanoestruturado possui efeito do tipo antidepressivo em camundongos expostos à corticosterona. Camundongos *Swiss* machos receberam corticosterona por 21 dias e nos últimos 7 dias foram tratados com extrato de açaí e como um controle positivo do efeito antidepressivo, foi utilizada a fluoxetina.Após os tratamentos, foram realizados testes comportamentais. O açaí, especialmente em forma nanoestruturada, apresentou potencial de reverter o efeito do tipo depressivo nos animais.

Palavras-chave: Depressão, produto natural, nanotecnologia.

ABSTRACT

Neuropsychiatric disorders, including depression, are global public health challenges with complex causes and limited therapies. Chronic administration of corticosterone induces depressive behavior in animals. This research aimed to assess whether free and nanostructured açaí extract has an antidepressant effect on mice exposed to corticosterone. Male Swiss mice will received corticosterone for 21 days, and in the last 7 days, they were treated with açaí extract. Fluoxetine was used as a positive control for the antidepressant effect. After the treatments, behavioral tests were conducted. Açaí, especially in the nanostructured form, presented the capacity of reversing the depressive effect in animals.

Keywords: Depression, natural product, nanotechnology.

Eixo Temático: Atenção Integral e Promoção à Saúde (AIPS)

[1] Tuyla Fontana – Universidade Franciscana / tuylafontana1@gmail.com
[2] Diulie Valente Souza - diully_desouza@hotmail.com /Giovana Bonazza - giovana.bonazza@ufn.edu.br/Amanda Kolinski Machado - amanda.kolinski@ufn.edu.br / Alencar Kolinski Machado - alencar.machado@ufn.edu.br - Integrantes da Universidade Franciscana
[3]Gabriele Cheiran - gabrielecheiran@gmail.com / Elisa Piton- elisax.piton@hotmail.com /Guilherme Vargas Bochi - guilherme.bochi@ufsm.br : Integrantes da Universidade Federal de Santa Maria

ISSN: 2316-9745
CIÊNCIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
SCIENCE AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT
UFN
Universidade Franciscana
Franciscan University

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que cerca de 450 milhões de pessoas em todo o mundo enfrentem transtornos mentais, resultando em custos substanciais para os acometidos, a sociedade e os sistemas de saúde pública. Cerca de 20% dos distúrbios mentais são atribuídos a transtornos neuropsiquiátricos, em grande parte devido à natureza crônica e incapacitante da depressão e de outros transtornos psiquiátricos comuns (OMS, 2017). O Brasil se destaca nesse cenário, liderando em doenças neuropsiquiátricas, especialmente em regiões de baixa e média renda. Além de fatores individuais, fatores sociais, econômicos, culturais, ambientais e políticos que desempenham um papel importante no desenvolvimento dessas condições (OMS, 2017).

A depressão maior é uma doença séria e prevalente que afeta negativamente a população. A prevalência ao longo da vida no Brasil é aproximadamente 15,5% (OMS, 2017). Caracterizada por tristeza e perda de interesse, a depressão pode levar a uma ampla gama de desafios emocionais e físicos, resultando em incapacidade geral (Nishida *et al.,* 2002). A depressão é tipicamente crônica e debilitante, com impactos adversos a longo prazo se não tratada (Smith, 2014). Embora a hipótese monoaminérgica da depressão tenha sido dominante nas últimas décadas, explicando-a em termos de deficiência de neurotransmissores como serotonina e noradrenalina, a origem da doença permanece incerta. Além disso, estão sendo consideradas hipóteses alternativas, como a participação dos sistemas endócrino, oxidativo e imune (Calil *et al.,* 2004). A depressão maior está associada à ativação de respostas imunoinflamatórias e disfunção mitocondrial, contribuindo para o estresse oxidativo (Czarny *et al.,* 2017). A elevação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-2, e desequilíbrio na resposta Th1/Th2 são sugestivos da fisiopatologia da depressão (Nishida *et al*., 2002). Além disso, redução do fator neurotrófico BDNF, importante para proteção neural, também é observada em indivíduos com depressão (Zhang *et al.,* 2016; Hu *et al.*, 2008).

A exposição crônica à corticosterona pode induzir efeitos depressivos e reduzir a expressão do BDNF (Pereira *et al.,* 2020). Nesse contexto, o açaí, conhecido por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, surge como uma possível alternativa

terapêutica. No entanto, ainda não há evidências suficientes de seus efeitos antidepressivos *in vivo* (Yoo *et al.,* 2014; de Souza *et al.,* 2019).

Ademais, a nanotecnologia pode solucionar desafios de biodisponibilidade e atravessar a barreira hematoencefálica associados ao uso do açaí. O estudo avalia o potencial antidepressivo do extrato hidroalcoólico de açaí livre e nanoestruturado, por meio de um modelo *in vivo* de depressão induzida por corticosterona. O objetivo deste estudo foi compreender melhor os efeitos do tipo antidepressivo do açaí e explorar a nanotecnologia como uma abordagem para otimizar seu uso terapêutico.

2. METODOLOGIA

Este estudo caracteriza-se como uma investigação experimental *in vivo*, onde será utilizado um modelo de indução de comportamento do tipo depressivo com base na administração crônica corticosterona (ACC). Após esta indução, serão conduzidos tratamentos utilizando o extrato de açaí livre e nanoestruturado em diferentes concentrações. Transcorridos os tratamentos, serão realizadas avaliações físicas e comportamentais dos animais. O estudo foi realizado nas dependências da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e da Universidade Franciscana (UFN).

2.1 Produção e caracterização do extrato de açaí

Inicialmente, foi produzido o extrato hidroalcoólico de açaí a partir de frutos provenientes de uma região de colheita do município de Manaus, estado do Amazonas (protocolo SisGen: AF1630A). Este extrato tem sido utilizado em nosso grupo de pesquisa já em outros estudos. Sua matriz química, caracterizada via cromatografia líquida de alta eficiência foi incluída na dissertação de mestrado de Souza (2020).

2.2 Produção e caracterização de uma nanoemulsão contendo o extrato de açaí

A produção e caracterização da nanoemulsão contendo o extrato de açaí foi desenvolvida durante um doutorado vinculado ao nosso grupo de pesquisa e está presente na tese de Godoi *et al* (2022).

ISSN: 2316-9745
CIÊNCIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
SCIENCE AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT
UFN
Universidade Franciscana
Franciscan University

2.3 Animais e condições de alojamento

Neste estudo foram utilizados camundongos *Swiss* machos, com 6 a 8 semanas de idade, pesando entre 20 a 30 g, provenientes do Biotério Central da UFSM. Os animais foram mantidos em condições padrão de biotério, com temperatura controlada (20 a 25ºC), ciclo claro/escuro de 12 horas e livre acesso à água filtrada e alimento (ração industrial). Como o presente projeto visa a indução de comportamento-tipo depressivo, não foi utilizado enriquecimento ambiental. Essa decisão é baseada na literatura, onde estudos já demostraram que a presença de enriquecimento ambiental pode exercer efeitos tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico, protegendo os animais das alterações comportamentais induzidas pelo estresse (Singhal *et al*., 2020; Huang *et al*., 2021; Rojas – carvajal, sequeira-cordero e brenes, 2021).

Os procedimentos utilizados neste estudo estão de acordo com os princípios éticos do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e todos os esforços foram feitos para minimizar o número de animais utilizados e o sofrimento dos mesmos. Todo o manejo experimental foi executado entre 7:00 e 17:00 horas e contou com a supervisão de um médico veterinário, responsável técnico do biotério do Prédio 21 da UFSM (CRMV-RS 10.675). Além disso, os animais foram previamente ambientados ao local de experimentação antes da realização dos testes comportamentais. Número da aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA): 2650021221.

2.4 Indução do comportamento do tipo depressivo e tratamentos

Esse protocolo foi realizado para avaliar o potencial efeito antidepressivo do extrato hidroalcoólico de açaí livre e nanoestruturado, via modelo *in vivo* de depressão induzida por ACC (Pereira *et al* 2020). Para isso, foram utilizados 140 animais, os animais foram segregados aleatoriamente nos grupos e submetidos a administração subcutânea (s.c.) de corticosterona (20 mg/kg/10 mL), dissolvida em salina com 0,2% de Tween 80 e 0,2% de DMSO) por 21 dias (Bai *et al.,* 2018; Lopes *et al*., 2018; Pereira *et al*., 2020). Os animais dos grupos veículo, receberam salina contendo 0,2% de Tween 80 e 0,2% de DMSO pela mesma via de administração e período. A fim de investigar o efeito antidepressivo do extrato de açaí livre ou nanoestruturado, os

tratamentos com cada um deles foram realizados nas doses de 0,5, 1,0 e 1,5 mg/kg/10 mL,por via oral (v.o.), uma vez ao dia, durante os últimos 7 dias do protocolo ACC. Como controle positivo do efeito antidepressivo, foi utilizada a fluoxetina, administrada na dose de 10 mg/kg/10 mL, uma vez ao dia, por via oral, durante os últimos 7 dias do protocolo. Os animais que não receberem nenhum tratamento receberam salina por via oral. Além disso, os animais foram pesados diariamente durante todo o protocolo experimental.

Após os devidos tratamentos, os animais foram avaliados quanto ao peso e via teste *splash*, conforme descrições a seguir.

2.5 Peso corporal

A cada intervalo de 7 dias, os animais foram submetidos a pesagens, e os valores correspondentes eram registrados, visto que o protocolo ACC pode induzir modificações significativas quanto ao peso corporal, conforme descrito em estudos prévios (Auvinen *et al*., 2013; Cassano *et al.,* 2012).

2.6 Teste *splash*

Este teste é utilizado para avaliar o comportamento de auto-limpeza (*grooming*) dos animais. Os animais foram expostos a sacarose a 10%, está solução foi borrifada no dorso do animal (Ducottet & Belzung, 2004). Quando animal apresenta a reação de *grooming* é indicativo de auto-limpeza. Neste teste, cada animal será colocado em um aparato (30 cm de diâmetro) cercado por paredes de 30 cm de altura. Durante 5 minutos, serão observados: i) a latência para o início da autolimpeza (*grooming*) e a autolimpeza; e ii) o tempo que o animal ficou se limpando (Isingrini *et al*,2010). Após a observação de cada animal, o aparato foi higienizado com uma solução de álcool á 10%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Produção caracterização do extrato de açaí

Como mencionado no item da metodologia, a caracterização do extrato utilizado nesta pesquisa faz parte das descrições presentes na dissertação de mestrado de Souza *et al(*2020). Tal extrato em pó apresentou aspecto homogêneo e

de coloração purpura. Via HPLC foram identificadas treze moléculas bioativas na composição da matriz química de tal extrato, sendo as mais abundantes: epicatequina, luteolina, apigenina e cianidina-3-O-rutinosídeo, respectivamente. A epicatequina é um flavonóide conhecido por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, sendo associada a benefícios para a saúde cardiovascular (Granja A *et al.,* 2017). A luteolina, também um flavonoide, possui atividades antioxidantes e anti-inflamatórias, além de demonstrar potencial anticancerígeno (Moraes GV *et al.,*2022). A apigenina, outro flavonoide presente no extrato, é reconhecida por suas propriedades antioxidantes e potencial efeito neuroprotetor (Moraes GV *et al.,*2022). Por fim, o cianidina-3-O-rutinosídeo é um composto fenólico que pertence à classe das antocianinas, responsáveis pela coloração arroxeada característica do açaí. Essa substância apresenta propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, e estudos indicam seu potencial na prevenção de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Moraes GV *et al.,* 2022).

3.2 Produção e caracterização da nanoemulsão contendo o extrato de açaí

A técnica de produção e caracterização de longo prazo da nanoemulsão contendo o extrato de açaí fazem parte da tese de doutorado de Godoi *et al (*2022). A nanoemulsão utilizada para o desenvolvimento dos tratamentos dos animais apresentaram tamanho médio de partícula de 160 ± 0,9 nm PDI de 0,146 ±0,01, potencial zeta de -12,0 ± 0,7 mV e pH de 8,6 ± 0,08 . Logo, os resultados obtidos demonstram que a nanoemulsão se apresentou condizente com materiais em nanoescala.

3.3 Determinação Peso corporal

A figura 1 traz os resultados obtidos para cada grupo de tratamento em relação ao peso corporal dos animais. Foi observado que a corticosterona causou uma redução significativa do peso corporal dos animais em relação ao controle negativo (figura 1A). A fluoxetina, um antidepressivo conhecido, não foi capaz de reverter/evitar essa condição. Adicionalmente, nenhuma das concentrações do extrato livre foi capaz de evitar a diminuição do peso dos animais (figura 1B). Por outro lado, especialmente

na exposição à concentração de 1,5 mg/kg de nanoemulsão contendo o extrato foi observado um mantimento do peso dos roedores a níveis semelhantes ao controle negativo, porém este dado não se mostrou significativo em relação ao controle positivo de corticosterona (figura 1C), como também a corticosterona causou redução do peso dos animais, porém este dado não se mostrou significativo em relação ao controle negativo (figura 1 B e C).

Figura 8: Análises do peso corporal

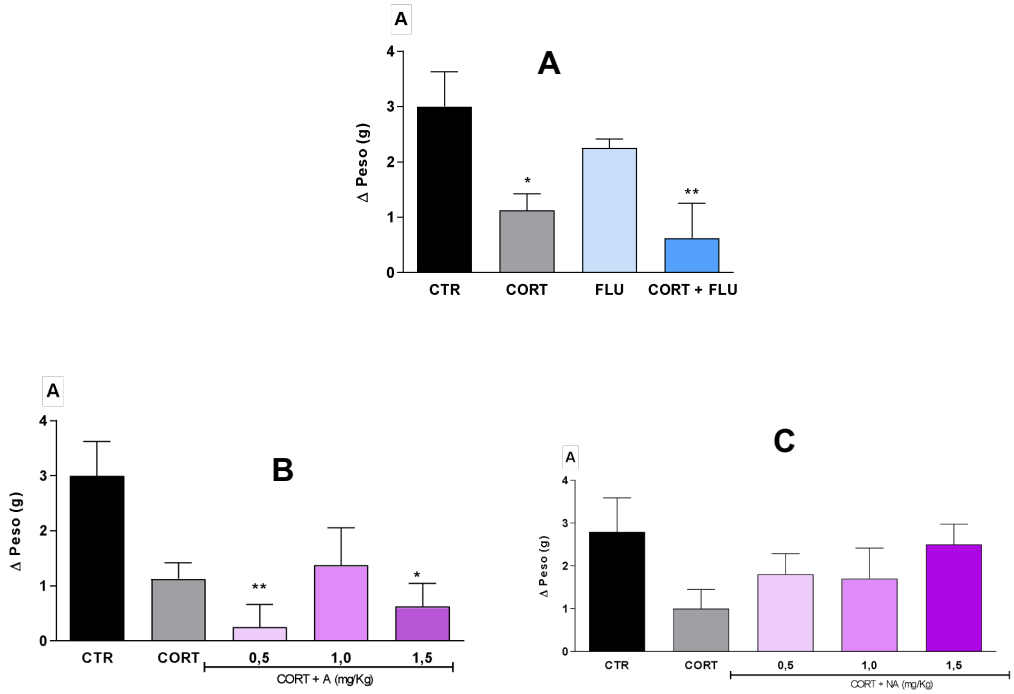


Figura 1: A) grupo controle (CTR), animais expostos corticostetona (20 mg/kg/10 mL) (CORT), fluoxetina (10 mg/kg/10 mL)(Flu), corticosterona e fluoxetina (cort+flu). **B)** animais expostos a corticosterona e tratados com as concentrações de 0,5 mg/Kg, 1,0 mg/Kg , 1,5mg/Kg do extrato de açaí. **C)** animais expostos a corticosterona e tratados com as concentrações de 0,5 mg/Kg, 1,0 mg/Kg , 1,5mg/Kg da nanoemulsão do extrato de açaí

3.4 Teste *Splash*

Os resultados apresentados na Figura 2 mostram que a administração de corticosterona apresenta resultados significativos na diminuição do tempo de auto-limpeza no teste de *splash* após 21 dias de tratamento crônico por via oral de doses

diárias de 20 mg/kg.Os tratamentos com a fluoxetina *per se* (figura 2A) aumentou o tempo de autolimpeza, porém quando foi submetido ao grupo CORT+ FLU este fármaco não conseguiu reverter o efeito do tipo depressivo. Já os tratamentos com a nanoestrutura do açaí nas concentrações de 1,0mg/kg e 1,5mg/kg foram capazes de reverter o comportamento do tipo depressivo (figura 2B), enquanto que o extrato livre não apresentou esta mesma eficácia (figura 2C).

Figura 2: Resultados do teste splash

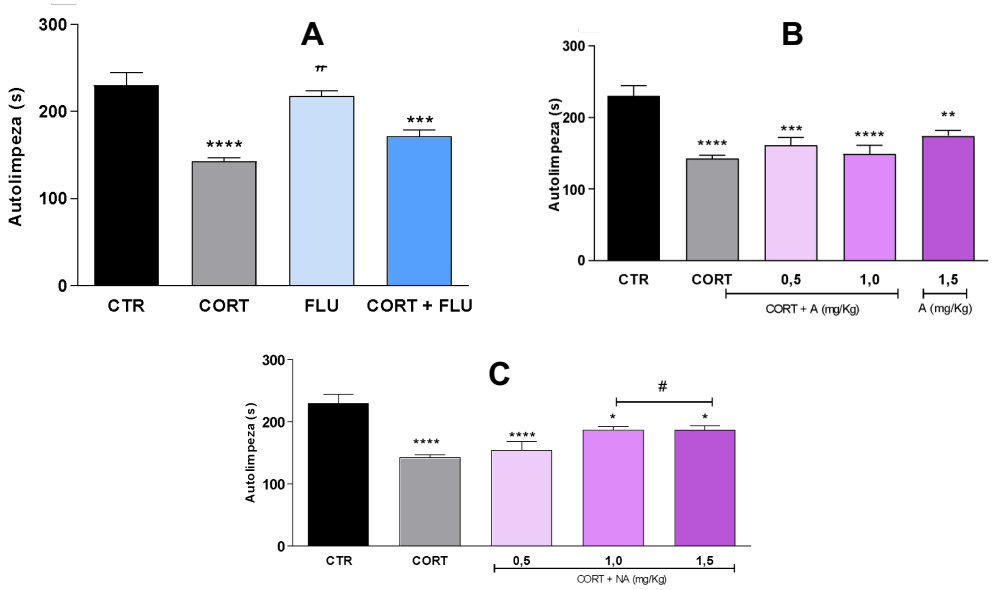


Figura 2: A) grupo controle (CTR), animais expostos corticostetona (20 mg/kg/10 mL) (CORT), fluoxetina (10 mg/kg/10 mL)((Flu), corticosterona e fluoxetina (cort+flu). **B)** animais expostos a corticosterona e tratados com as concentrações de 0,5 mg/Kg, 1,0 mg/Kg , 1,5mg/Kg do extrato de açaí. **C)** animais expostos a corticosterona e tratados com as concentrações de 0,5 mg/Kg, 1,0 mg/Kg , 1,5mg/Kg da nanoemulsão do extrato de açaí

4. CONCLUSÃO

Foi possível produzir e caracterizar um extrato hidroalcóolico de açaí. Tal extrato apresentou variadas moléculas bioativas em sua composição química. Adicionalmente, a nanoemulsão contendo o extrato apresentou características físico-químicas condizentes com materiais em nanoescala. O uso da corticosterona para indução do efeito do tipo depressivo foi eficaz, visto que os animais apresentaram

perfil comportamental coerente com a manifestação dos sintomas depressivos, enquanto especialmente na versão nanoemulsionada, o extrato de açaí se apresentou como um potencial agente capaz de reverter tais sintomas, parcial ou totalmente. Vale reforçar que estes são achados preliminares. O estudo ainda está em andamento e pretende realizar novas análises comportamentais que comprovem e reforcem os achados aqui descritos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Universidade Franciscana (UFN), a Universidade federal de Santa Maria (UFSM), ao Laboratório de Cultura Celular e Efeitos Bioativos (CultBio), ao Laboratório de Estudo da Depressão (LEDep) e ao Programa de Pós Graduação Nanociências.

4 REFERÊNCIAS

AUVINEN, H. E. et al. Both transient and continuous corticosterone excess inhibit atherosclerotic plaque formation in APOE*3-leiden.CETP mice. **PloS one,** v. 8, n. 5, p. e63882–e63882,2013.

CASSANO, A. et al. Anatomic, Hematologic, and Biochemical Features of C57BL/6NCrl Mice Maintained on Chronic Oral Corticosterone. **Biochemical.** v. 62 ,2012.

CZARNY, P. et al. The interplay between inflammation, oxidative stress, DNA damage, DNA repair and mitochondrial dysfunction in depression. Progress in Neuropsychopharmacology e **Biological Psychiatry,** v. 80, p. 309-321, 2018.Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28669580/>.DOI: 10.1016 / j.pnpbp.2017.06.036

DE SOUZA, D. et al. Acai (Euterpe oleracea Mart.) present anti-neuroinflammatory capacity in LPS-activated microglia cells. **Nutritional Neuroscience,** v. 10, p. 1- 12, 2020. Available in: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33170113/doi: 10.1080/1028415X.2020.1842044.

DUCOTTET, C., & Belzung, C. (2004). Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice. ***Physiology & behavior*****,** *81*(3), 417- 426

GRANJA A; Frias I; Neves AR; Pinheiro M; Reis S Therapeutic Potential of Epigallocatechin Gallate Nanodelivery Systems. **BioMed** Res. Int 2017, 2017, 5813793.

HUANG, H. et al. Effects of enriched environment on depression and anxiety-like behavior induced by early life stress: A comparison between different periods. **Behavioural Brain Research**, p. 113389, DOI: 10.1016/j.bbr.2021.113389.

MORAES, G. V.; JORGE, G. M.; GONZAGA, R. V.; SANTOS, D. A. dos. Antioxidant potential of flavonoids and therapeutic applications.**Research, Society and Development**, *[S. l.]*, v. 11, n. 14, p. e238111436225, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i14.36225. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/36225.

NISHIDA, A.; HISAOKA, K.; ZENSHO, H.; UCHITOMI, Y.; MORINOBU, S.; YAMAWAKI, S. Antidepressant drugs and cytokines in mood disorders. **International Immunopharmacology,** v. 2, n.12, p.1619-26, 2002. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12469936/>. DOI: 10.1016 / s1567-5769 (02) 00190-x.

PEREIRA, G. et al. Glucocorticoid and brain-derived neurotrophic factor relationship: a brief investigation into the model of depression by chronic administration of corticosterone. **Behaviour Pharmacology,** v. 31, p. 407-412, 2020. Disponível em: <https://journals.lww.com/behaviouralpharm/Abstract/2020/06000/Glucocorticoid_ and_ brain_derived_neurotrophic.10.aspx>. DOI: 10.1097 / FBP.0000000000000547

ROJAS-CARVAJAL, M.; SEQUEIRA-CORDERO, A.; BRENES, J. C. The environmental enrichment model revisited: A translatable paradigm to study the stress of our modern lifestyle. **European Journal of Neuroscience**, 2021.DOI: 10.1111/ejn.15160.

SINGHAL, G.et al. The effects of short-term and long-term environmental enrichment on locomotion, mood-like behavior, cognition and hippocampal gene expression.Behavioural Brain Research, v. 368, p. 111917, 2019. **Available** in:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31004685/>. doi: 10.1016/j.bbr.2019.111917.

World Health Organization (WHO). International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems – Eleventh Revision (ICD-11), São Paulo, EDUSP/ WHO Collaborating Center for Classification of Diseases and **Related Health Problems**, 2017.

YOO, H.; KU, S. K.; LEE, T.; BAE, J. S. Orientin inhibits HMGB1- induced inflammatory responses in HUVECs and in murine polymicrobial sepsis. **Inflammation,** v. 5, p.1705-17, 2014.

ZHANG, J.; YAO, W.; HASHIMOTO, K. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-TrkB signaling in inflammation-related depression and potential therapeutic targets. **Current Neuropharmacology** Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26786147/>. DOI: 10.2174 / 1570159x14666160119094646.