

## ENVOLVIMENTO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO CAUSADO PELO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *EUGENIA UNIFLORA* EM CAMUNDONGOS

**DE S. B., Arthur<sup>1</sup>; VICTORIA, Francine Novack<sup>2</sup>; ANVERSA, Roberta<sup>1</sup>; MARTINEZ, Débora Martins<sup>2</sup>; LENARDÃO, Eder João<sup>3</sup>; SAVEGNAGO, Lucielli<sup>1</sup>**  
arthurdsb@gmail.com

<sup>1</sup> Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Unidade Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, Brasil

<sup>2</sup> Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, DCTA, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, Brasil

<sup>3</sup> Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, Brasil

### 1 INTRODUÇÃO

A depressão é uma condição psicológica extremamente comum e caracterizada por alterações de humor, desinteresse em relação ao ambiente e um comportamento deficiente psicossocial (Aldous et al, 1963). Sendo um problema dessa magnitude é necessário encontrar moléculas capazes de reverter esse quadro de sintomas. Atualmente o tratamento padrão envolve o uso de medicamentos antidepressivos, porém os benefícios desses fármacos comparados com placebos podem ser mínimos ou nulos na maioria dos pacientes (Fournier et al, 2010). Logo, é necessário encontrar novos antidepressivos que apresentem uma taxa maior de eficácia e poucos, ou nenhum, efeitos adversos.

Sendo assim, vale ressaltar que várias moléculas de origem natural apresentam resultados promissores no tratamento de depressão, tanto em casos experimentais quanto em clínicos, especialmente os óleos essenciais extraídos de natural (Benhke et al, 2002). Nesse sentido, o óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora*, comumente conhecida como pitanga, pode representar uma nova alternativa terapêutica, pois apresenta atividade antioxidante e antimicrobiana sem causar toxicidade no fígado, rim e cérebro de camundongos (Victoria et al, 2012). Portanto, no intuito de estender o estudo sobre o óleo essencial de *E. uniflora*, nesse trabalho foi avaliado o envolvimento do serotoninérgico no efeito antidepressivo causado pelo óleo essencial das folhas de *E. uniflora* em camundongos.

### 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

#### 2.1 Animais

Neste estudo foram usados camundongos Swiss machos (25-35g), estes foram mantidos nas temperaturas entre 21-23°C ( $\pm 2$ ) com livre acesso a comida e água, em um ciclo de 12h claro/escuro, sendo cada animal usado apenas uma vez. Esses experimentos foram realizados com a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPEL e foram feitos esforços para minimizar o sofrimento.

#### 2.2 Extração do Óleo essencial das folhas *Eugenia uniflora*

As folhas foram coletadas de um pomar de pesquisa (Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil) em Fevereiro e Março de 2011 pelo período da

manhã. As folhas frescas (600 g) foram cortadas com tesoura e colocadas em um frasco extrator de 2000 mL, o óleo essencial foi extraído por hidrodestilação,. Após 3h de extração, a fase orgânica foi extraída e seca sob Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. As destilações foram realizadas em triplicata. A composição química do óleo essencial foi avaliada usando cromatografia de gás acoplada à espectrometria de massa (GC-MS).

### 2.3 Análise do envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo causado pelo óleo essencial de *Eugenia uniflora*

Para a realização desse ensaio, os animais foram pré-tratados pela via intraperitoneal com dois antagonistas serotoninérgicos, ondansetron (1 mg/Kg, antagonista seletivo de receptores serotoninérgicos, 5 – HT<sub>3</sub>) e ketanserina (5 mg/Kg, antagonista de receptores serotoninérgicos 5 – HT<sub>2A-2C</sub>) 15 minutos antes da administração do óleo essencial (10 mg/Kg, via oral) e do veículo (óleo de canola, 10 mL/kg). Após uma hora da administração dos compostos e do veículo os animais foram submetidos ao teste de suspensão da cauda, de acordo com a Figura 1.

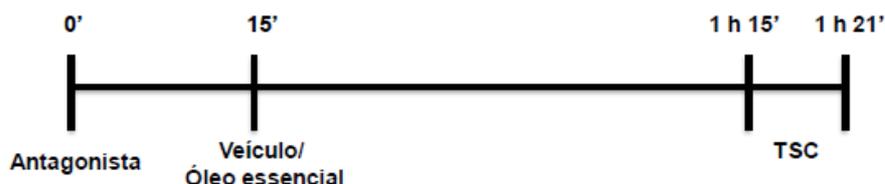


Figura 1: Protocolo experimental para avaliação do mecanismo de ação antidepressivo do óleo essencial de *E. uniflora*

O Teste da Suspensão da Cauda (TSC) é considerado padrão na análise da depressão. Neste ensaio os camundongos são suspensos pela cauda durante o tempo de 6 minutos, neste período é observado e cronometrado o tempo de imobilidade. A imobilidade é vista como a ausência de vontade de sair da situação atual e um sinal de depressão (Steru et al, 1985).

Para detectar uma relação entre a imobilidade no teste de suspensão da cauda e mudanças na atividade motora, os animais tratados com o óleo essencial e veículo e após uma hora foram submetidos ao Teste do Campo Aberto (TCA). Nesse ensaio, cada animal foi colocado no centro do aparato e observado durante 5 minutos, neste período foram avaliadas a atividade exploratória (número de vezes que o animal fica em posição bípede) e motora (quantidade de vezes que o animal cruza os segmentos delimitados no aparato) (Walsh et al, 1976).

### 2.4 Análise estatística

Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão e foram tratados por análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste de comparação múltipla de Newman-Keuls, quando necessário. Os valores foram considerados como significativos quando  $p < 0,05$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial *E. uniflora* foi obtido com um rendimento de 0,2 %. A análise dos compostos químicos do óleo essencial demonstrou a presença de sesquiterpenos oxigenados e não oxigenados, com a prevalência das espécies não

oxigenadas. Os principais componentes identificados foram germacrenos e óxido de selina-1,3,7-(11)-trien-8-ona. Esses resultados estão de acordo com outros trabalhos que descrevem a composição química deste óleo essencial (Amorim et al, 2009, Costa et al, 2010, Weyerstahl et al, 1988).

O teste de suspensão da cauda pode apresentar resultados falso-positivos para determinadas moléculas, como psicomotora-estimulantes, as quais podem reduzir o tempo de imobilidade por estimular a atividade locomotora (Borsini et al, 1988). Os resultados mostraram que a administração do óleo essencial de *E. uniflora* não alterou o comportamento locomotor e exploratório dos animais, quando comparado com o grupo controle (dados não mostrados)

De acordo com a Fig. 1 pode-se observar que o pré-tratamento dos camundongos com ondansetron (1 mg/kg, antagonista seletivo de receptores 5 – HT<sub>3</sub>) não bloqueou os efeitos do óleo essencial (Fig. 1A), a análise de variância de duas vias demonstrou que não houve interação entre o pré-tratamento e o tratamento dos camundongos (ondansetron x óleo essencial de *E. uniflora*, F(1,18)=0,01; p=0,9074). Porém, o pré-tratamento com ketanserina (5 mg/kg antagonista de receptores 5 – HT<sub>2A-2C</sub>) bloqueou o efeito antidepressivo do óleo essencial, como pode ser visto na Fig. 1B. A análise dos resultados revelou uma significativa interação entre o pré-tratamento e o tratamento (ketanserina x óleo essencial de *E. uniflora*, F(1,10)=8,66; p=0,0147).

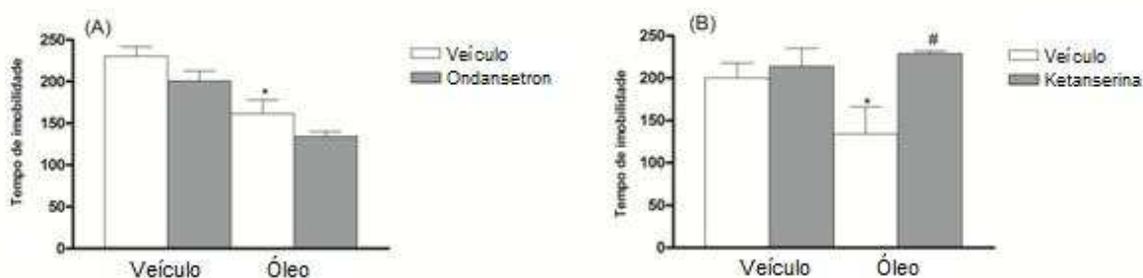


Figura 1: Efeito do pré-tratamento com (A) ondansetron e (B) ketanserina na ação antidepressiva do óleo essencial de *E. uniflora* no teste de suspensão da cauda. Os valores estão expressos como média ± desvio padrão (n=6), (\*) representa p < 0,05 comparado com o veículo e (#) representa p < 0,01 comparado com o antagonista.

Muitos estudos experimentais e clínicos demonstraram que o sistema 5 – HT é fortemente associado com a regulação neuronal do humor, evidências sugerem que anormalidades nos neurotransmissores desse sistema estão envolvidas na patofisiologia da depressão (Elhwuege et al, 2004). O papel da regulação dos receptores 5 – HT<sub>2</sub>, especialmente os subtipos 5 –HT<sub>2A-2C</sub>, emergiu quando alguns estudos demonstraram que a administração de alguns compostos antidepressivos causava uma diminuição na estimulação desses receptores (Deakin et al, 1998). Nesse estudo, o efeito anti-imobilidade do óleo essencial do *E. uniflora* foi bloqueado pela ketanserina, sugerindo que o efeito é mediado pela interação com receptores 5-HT<sub>2A-2C</sub>.

Apesar do envolvimento da neurotransmissão serotoninérgica na depressão, existem poucas evidências apoiando a participação de receptores 5-HT<sub>3</sub> na patofisiologia dessa condição. O envolvimento dos receptores 5-HT<sub>3</sub> no mecanismo da ação de antidepressivos é apoiado pelo fato que diferentes classes

de compostos antidepressivos agem como antagonistas funcionais desses receptores, sugerindo que essa inibição contribui para o efeito antidepressivo dessas drogas (Eisensamer et al, 2003). Neste estudo não foi observado envolvimento destes receptores no efeito antidepressivo do óleo essencial de *E. uniflora*.

#### 4 CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Eugenia uniflora* causou efeito antidepressivo no teste de suspensão da cauda em camundongos mediado pelo sistema serotoninérgico, especificamente os receptores 5 – HT<sub>2A</sub> e 5 – HT<sub>2C</sub>.

#### 5 REFERÊNCIAS

- Aldous, N.R., Mann, A.M. The Pathophysiology of Depression. **Can. Med. Assoc. J.**, v.89, p.937, 1963.
- Amorim, A.C.L., Lima, C.K.F., Hovell, A.M.C., Miranda, A.L.P., Rezende, C.M. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomed.**, v.16, p.923, 2009.
- Behnke, K., Jensen, G.S., Graubaum, H.J., Gruenwald, J. **Adv Ther**, v.19, p.43, 2002.
- Borsini, F., Meli, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? **Psychopharmacology**, v.94, p.147, 1988.
- Costa, D.P., Alves Filho, E.G., Silva, L.M.A., Santos, S.C., Passos, X.S., Silva, M.R.R., Seraphin, J.C., Ferri, P. Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *eugenia uniflora* leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.21, p.851, 2010.
- Deakin, J.F.W. The role of serotonin in depression and anxiety. **Eur Psychiatry**, v.13, p.57, 1998.
- Eisensamer, B., Hapfelmeier, G., Tredt, C., Haseneder, R., Zieglgänsberger, W., Rupprecht, R., et al. Co-expression of the 5-HT<sub>3B</sub> serotonin receptor subunit the biophysics of the 5-HT<sub>3B</sub> receptor. **Biophys J.**, v.84, p.1720, 2003.
- Elhwuegi, A.S. Central monoamines and their role in major depression. **Biol Psychiatry**, v.28, p.435, 2004.
- Fournier, J.C., DeRubeis, R.J., Hollon, S.D., et al. Antidepressant Drug Effects and Depression Severity: A Patient-Level Meta-analysis. **JAMA**. v.303, p.47, 2010.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Simon, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v.85, p.367, 1985.
- Victoria, F.N, Lenardão, E. J., Savegnago, L., Perin, G., Jacob, R. G., Alves, D., Silva, W. P., Motta, A. S., Nascente, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chem. Toxicol.**, v. 50, p. 2668, 2012.
- Walsh, R.N., Cummins, R.A. The open-field test: a critical review. **Psychol Bull**, v.83, p.482, 1976.
- Weyerstahl, P., Marschall-Weyerstahl, H., Christiansen, C., Oguntimein, O., Adeoye, A.O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil. **Planta Med.**, v.54, p.546. 1988.