



PROBIC/FAPERGS

Avaliação do extrato de semente de uva na atividade mitocondrial e neuroinflamação em células glias BV-2 tratadas com diferentes classes de antidepressivos

Dep-like

Laura Ferrazzi Finger, Marina Rigotti, Alencar Kolinski Machado, Scheila de Avila e Silva, Cátia dos Santos Branco



INTRODUÇÃO/OBJETIVO

A depressão é uma condição de fisiopatologia multifatorial e quadro clínico complexo reconhecida por alterações comportamentais e bioquímicas, como neuroinflamação e disfunção mitocondrial, associação que gera metabólitos neurotóxicos, como o ácido quinolínico, por meio da via da quinurenina, e ativação do inflamassoma NLRP3. O uso de fármacos antidepressivos já foi relacionado a alterações na função mitocondrial e mecanismos inflamatórios. Polifenóis são substâncias já descritas como neuroprotetoras e reguladoras da atividade mitocondrial presentes em compostos naturais, como o extrato de semente de uva (GSE). Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o papel do GSE em células glias BV-2 tratadas com os antidepressivos Bupropiona, Imipramina, Paroxetina, Trazodona e Venlafaxina na viabilidade celular, atividade dos complexos mitocondriais I e IV, geração de ATP bem como a expressão do inflamassoma para o GSE e o fármaco Paroxetina na presença ou ausência de ácido quinolínico.

MATERIAL E MÉTODOS

Células de micróglia BV-2

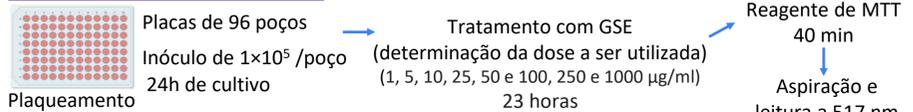
Cultivadas em garrafão
Meio RPMI: 10% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico
Mantidas a 37°C em atmosfera umidificada com 5% de CO₂

Extrato de semente de uva (GSE)

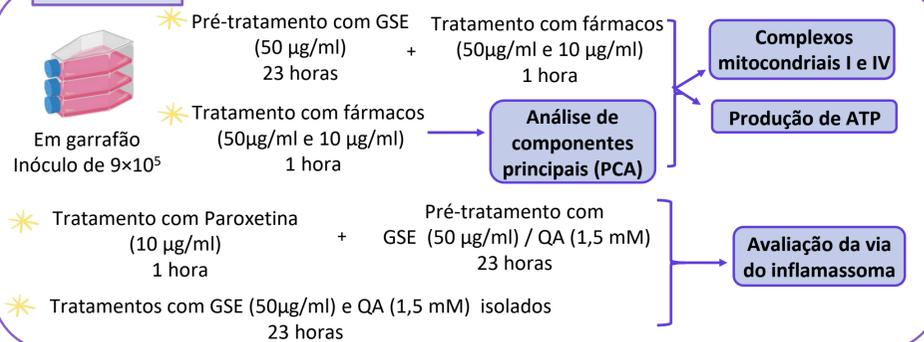
Solubilizados em Milli-Q

Ácido quinolínico (QA)

Ensaio de viabilidade celular

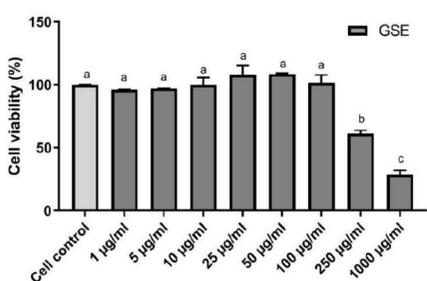


Tratamentos



Análise estatística: SPSS, versão 21.0 para Windows (Illinois, EUA) e os testes de Kolmogorov-Smirnov, post hoc de Tukey e Kruskal-Wallis. A significância estatística foi avaliada usando a ANOVA. Os resultados foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS



Na Figura 1 está demonstrado o tratamento com diferentes doses de GSE. Apenas as concentrações de 250 µg/ml e 1000 µg/ml de GSE reduziram a viabilidade celular. Então, com base nos resultados e em estudo prévio do grupo, a concentração escolhida para os tratamentos seguintes com fármacos antidepressivos foi de 50 µg/ml.

Figura 1. Efeito do tratamento com diferentes concentrações de GSE na viabilidade de células BV-2 tratadas por 23 h.

Em relação à atividade do complexo I (Figura 2), houve diminuição nos tratamentos com todos os fármacos isolados, aumento apenas com GSE e o tratamento conjunto amenizou a queda. Quanto à atividade do complexo IV, ela reduziu nos tratamentos com os fármacos Imipramina, Paroxetina, Trazodona e Venlafaxina e superestimulação no tratamento isolado com GSE. O tratamento associado de GSE e Bupropiona (Figura 2A) manteve a atividade estimulada. O pré-tratamento com GSE preveniu queda brusca quando associado à Imipramina (Figura 2B) e, em conjunto à Paroxetina (Figura 2C), Trazodona (Figura 2D) e Venlafaxina (Figura 2E), ela se manteve similar ao controle. Correspondente à geração de ATP (Figura 2F), houve redução desta após o tratamento isolado com os fármacos antidepressivos e aumento após os tratamentos apenas com GSE. Diante dos tratamentos associados, a geração de ATP manteve-se elevada em relação ao controle.

RESULTADOS

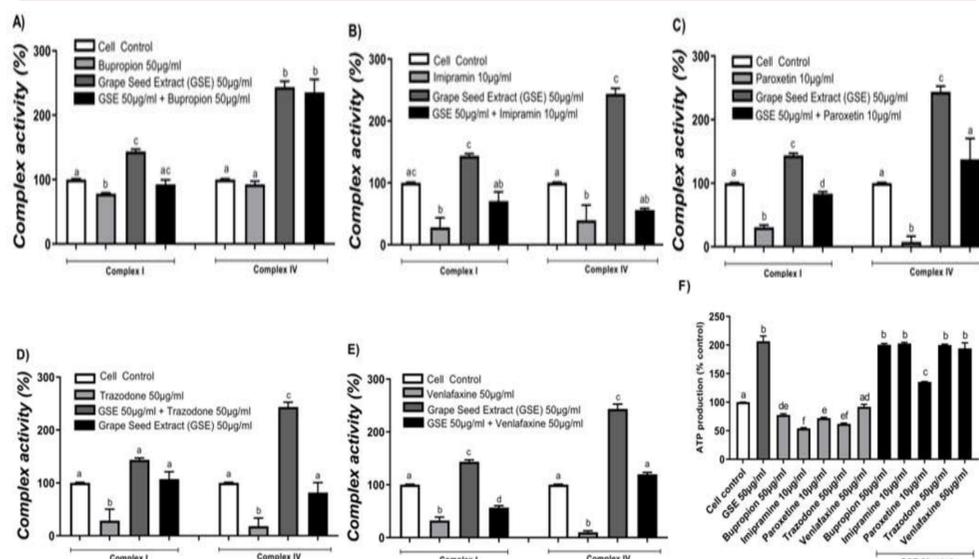


Figura 2. Atividade dos complexos mitocondriais I e IV de células BV-2 tratadas com GSE 50µg/ml por 24h seguido do tratamento com (A) BUP (50 µg/ml), (B) IMIP (10 µg/ml), (C) PAROX (10 µg/ml), (D) TRAZ (50 µg/ml) e (E) VENLA (50 µg/ml) por 1 hora. (F) Produção de ATP (F) de células tratadas GSE 50µg/ml por 23h e com fármacos por 1 h.

Na PCA (Figura 3), observa-se que a Bupropiona é o que mais se assemelha ao controle de células, pois formam um grupo em comum. Imipramina, Trazodona e Venlafaxina constituíram um grupo intermediário, enquanto que a Paroxetina constitui um grupo isolado.

Então, a Paroxetina foi escolhida para a análise de expressão de inflamassoma por qt-PCR, sendo associada ao QA a fim de simular comportamento depressivo *in vitro* (Figura 4).

Figura 3. Distribuição das variáveis de PCA mostrando uma separação específica em dois grupos: CAT e viabilidade à esquerda e marcadores de estresse oxidativo/inflamação à direita, bem como os padrões de proximidade dos diferentes tratamentos.

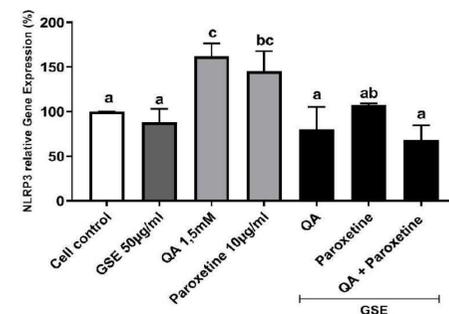
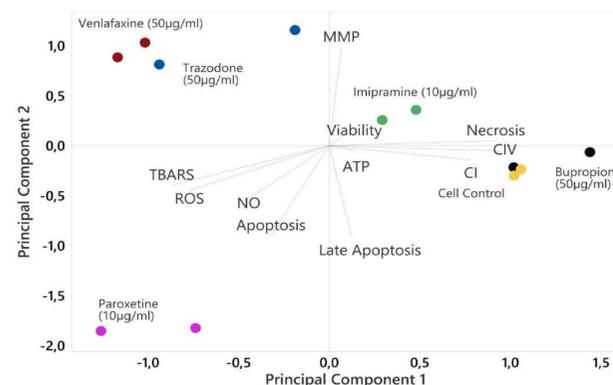


Figura 4. Expressão do gene em células BV-2 tratadas com GSE 50µg/ml e/ou QA 1,5 mM por 23h seguido pelo tratamento com Paroxetina 10µg/mL por 1h.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstram ação preventiva do GSE frente aos tratamentos com os antidepressivos, visto que ele foi capaz de amenizar a redução da atividade dos complexos I e IV causada pelos medicamentos e da ativação de NLRP3 causada pela Paroxetina. O GSE pode ser considerado uma abordagem complementar promissora ao tratamento da depressão diante dos efeitos colaterais causados pelos fármacos antidepressivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bansal Y, Kuhad A. Mitochondrial Dysfunction in Depression. *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(6):610-8. doi: 10.2174/1570159x14666160229114755. PMID: 26923778; PMCID: PMC4981740.7;

Bansal Y, Singh R, Sodhi RK, et al. Kynurenine monoxygenase inhibition and associated reduced quinolinic acid reverses depression-like behaviour by upregulating Nrf2/ARE pathway in mouse model of depression: In-vivo and In-silico studies. *Neuropharmacology*. 2022;215:109169. doi:10.1016/j.neuropharm.2022.109169;

Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods*. 1986 May 22;89(2):271-7. doi: 10.1016/0022-1759(86)90368-6. PMID: 3486233;

Hartmann A, Vila-Verde C, Guimarães FS, Joca SR, Lisboa SF. The NLRP3 Inflammasome in Stress Response: Another Target for the Promiscuous Cannabidiol. *Curr Neuropharmacol*. 2023;21(2):284-308. doi:10.2174/1570159x2066220411101217;

Jiang X, Liu J, Lin Q, et al. Proanthocyanidin prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice via neuroinflammatory pathway. *Brain Res Bull*. 2017;135:40-46. doi:10.1016/j.brainresbull.2017.09.010;

Mahdipour R, Ebrahimzadeh-Bideskan A, Hosseini M, et al. The benefits of grape seed extract in neurological disorders and brain aging. *Nutr Neurosci*. 2023;26(5):369-383. doi:10.1080/1028415X.2022.2051954;

Spinazzi M, Casarin A, Persegato V, Salviati L, Angelini C. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nat Protoc*. 2012 May 31;7(6):1235-46. doi: 10.1038/nprot.2012.058. PMID: 22653162.