

## **EFEITO DA CURCUMINA NA DEPRESSÃO INDUZIDA POR ESTRESSE CRÔNICO MODERADO E IMPREVISÍVEL EM CAMUNDONGOS**

Iasmine Berbigier<sup>1\*</sup>, Jéssica G. S. Marques<sup>2</sup>, Alessandra H. de Souza<sup>3</sup>

1. Estudante de IC do curso de Farmácia da ULBRA

2. Mestranda de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da ULBRA

3. Pesquisadora de Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da Ulbra/Orientador

### **Resumo:**

A curcumina possui propriedades e efeitos farmacológicos benéficos, sendo candidata na prevenção e tratamento de diversas patologias, dentre elas, a depressão, que atinge milhões de pessoas. Sendo assim, este estudo avaliou o efeito da curcumina sobre a depressão induzida por estresse, utilizando o modelo CUMS (chronic unpredictable mild stress), em testes de locomoção espontânea, ansiedade e depressão, onde 46 camundongos Swiss foram divididos em 4 grupos: controle placebo, controle curcumina, CUMS placebo e CUMS curcumina, com administração via oral por 28 dias. Os parâmetros comportamentais foram avaliados pelos testes de campo aberto, labirinto em cruz elevado e nado forçado. Para análises estatísticas utilizou-se ANOVA de uma via e teste Student-Newmann-Keuls (MÉDIA±EPM), considerando valores  $p \leq 0,05$ . Os resultados observados nos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado mostram ação ansiolítica da curcumina, e no teste do nado forçado, observou-se efeito antidepressivo.

**Autorização legal:** O projeto foi aprovado no Comitê de Ética ULBRA/Canoas sob nº 2015-63P.

**Palavras-chave:** curcumina; depressão; CUMS.

**Apoio financeiro:** FAPERGS e CNPq

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** ULBRA/Canoas

### **Introdução:**

A depressão é definida como um transtorno mental comum, caracterizado por tristeza, perda de interesse, ausência de prazer, oscilações entre sentimentos de culpa e baixa autoestima, além de distúrbios do sono ou do apetite, com a sensação de cansaço e falta de concentração, sendo o 4º problema médico mais diagnosticado no ocidente, e a

desordem psiquiátrica mais prevalente dos últimos 30 anos, afetando cerca de 350 milhões de pessoas em todo o mundo (OMS, 2016), devendo se tornar o transtorno mais incapacitante nos próximos 20 anos, gerando altos custos econômicos e sociais aos governos devido aos gastos com tratamentos e as perdas de produção (Alencastro, 2013).

O estresse é considerado o mal do século XXI, e o desenvolvimento de depressão e ansiedade, conforme já visto em diversos estudos, pode estar associado à ocorrência de eventos estressantes (Haider et al., 2015; Ding et al., 2014).

Nos últimos anos, estudos com alguns medicamentos a base de plantas medicinais buscam farmacoterapias eficazes no tratamento da depressão, dentre muitos compostos, a curcumina tem demonstrado potencial efeito antidepressivo em muitos estudos com modelos animais de depressão.

A curcumina é uma importante especiaria que foi introduzida ao mundo ocidental no século XIV, cujo uso segue até os dias de hoje.

Ensaios *in vitro* e *in vivo* demonstram que a curcumina possui efeitos farmacológicos benéficos, e devido as suas características químicas, é uma molécula altamente pleiotrópica, possui ação antioxidante, anti-inflamatória, imunomoduladora, neuroprotetora com potencial adaptogênico, apresentando uso seguro, com boa tolerabilidade e baixa toxicidade (Bhatia et al., 2011; Zhou et al., 2012; Noorafshan e Ashkani-Esfahani, 2013; Zhang et al., 2014).

Estudos com a curcumina em modelos de estresse agudo observaram que o composto preveniu a ansiedade e depressão nos animais expostos tratados em comparação aos não tratados, relacionando tal efeito a ação antioxidante (Haider et al., 2015).

Outros estudos revelam efeitos terapêuticos da curcumina sobre o sistema nervoso e pesquisadores afirmam que os efeitos benéficos potenciais na fisiopatologia da depressão podem estar relacionados à sua capacidade moduladora de substratos

neurobiológicos associados à doença (Noorafshan e Ashkani-Esfahani, 2013; Kaufmann et al., 2016).

Sendo assim, este estudo tem o objetivo de verificar o efeito da curcumina sobre a depressão, induzida por estresse.

### Metodologia:

Os experimentos foram realizados utilizando-se 46 camundongos Swiss machos (30-40g) divididos em 4 grupos, sendo controle placebo (CO, n=10), controle curcumina (COC, n=10), CUMS placebo (CUMS, n=13) e CUMS curcumina (CUMSC, n=13).

O modelo CUMS, “chronic unpredictable mild stress”, foi o escolhido para este experimento, que consiste em estresse crônico moderado e imprevisível, onde os camundongos são submetidos a diferentes tipos de estresse, baseado em procedimentos descritos inicialmente por Willner et al. (1987) com pequenas modificações.

Os animais foram submetidos a um cronograma de agentes estressores durante 28 dias consecutivos, aplicados aleatoriamente a fim de serem completamente imprevisíveis, podendo ser repetidos de duas a três vezes ao longo do cronograma. Todos os animais foram simultaneamente expostos aos mesmos estressores.

Os tratamentos foram administrados por gavagem oral em um volume de 50 ml/kg (Wang et al., 2014; He et al., 2012; Bhatia et al., 2011; Sanmukhani et al., 2011), 30 minutos antes da exposição ao estresse, uma vez por dia, durante os 28 dias de protocolo. A curcumina (Sigma) foi suspensa em carboximetilcelulose (PharmáciaAmphora) a 0,5% (p/v) diluída em água, conforme Nemmett et al. (2012) e o veículo foi administrado em via e quantidade idênticas (carboximetilcelulose a 0,5% p/v diluída em salina).

Após os 28 dias de protocolo, no 29º dia, foram aplicados testes comportamentais, onde os camundongos foram habituados à sala de teste por 1 hora e, em seguida, submetidos aos seguintes testes, individualmente:

Teste do campo aberto – Avalia os efeitos depressores ou estimulantes ao SNC, onde o aumento ou diminuição da locomoção espontânea reflete o estado de ansiedade (Broadhurst, 1960; Gould et al., 2009).

Teste do labirinto em cruz elevado – Avalia a ansiedade através da exploração dos braços abertos e fechados (Pellow et al., 1985).

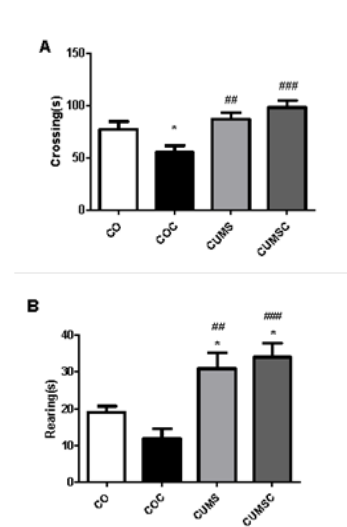
Teste do nado forçado – Considera o tempo de imobilidade como um índice do estado depressivo (Porsolt et al., 1977).

Após a realização dos testes, os animais foram eutanasiados, realizando coleta de amostras para testes histológicos e bioquímicos, realizados posteriormente.

Para análise estatística dos dados referentes aos testes comportamentais foram utilizados ANOVA de uma via e teste Student-Newmann-Keuls, no programa GraphPadPrism 5.0. Todos os dados foram expressos através da média  $\pm$  erro padrão, sendo considerados significativos os valores  $p \leq 0,05$ .

### Resultados e Discussão:

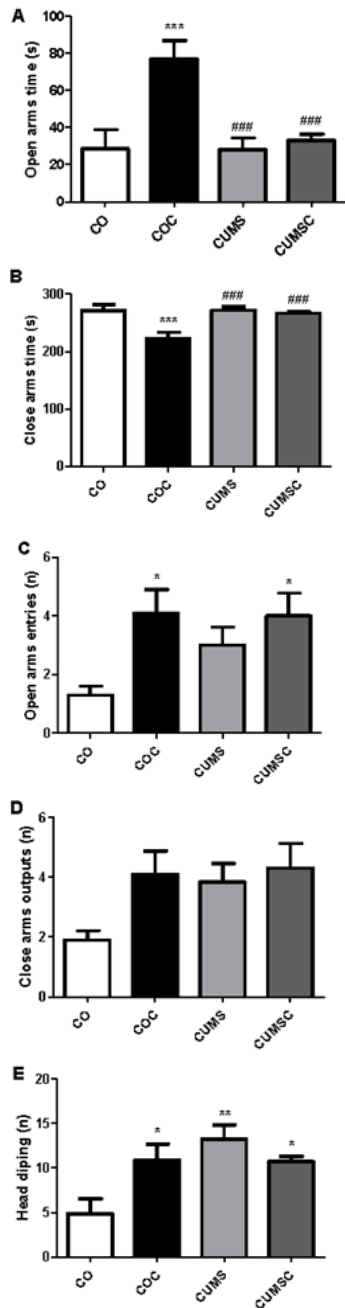
No teste de campo aberto, não houve diferença estatística entre o grupo CO e os grupos CUMS e CUMSC no parâmetro de locomoção motora horizontal (crossing), ao passo que o grupo COC apresentou locomoção motora horizontal diminuída em comparação aos demais (77,2 $\pm$ 7,6; 55,1 $\pm$ 6,5; 86,7 $\pm$ 6,4; 98 $\pm$ 6,8). Os grupos CUMS e CUMSC demonstram maior atividade motora vertical (rearing) em relação aos controles (19 $\pm$ 1,7; 11,9 $\pm$ 2,7; 30,9 $\pm$ 4,2; 34 $\pm$ 3,8), conforme gráficos abaixo:



**Figura 1.** Análise comportamental no teste do campo aberto. Número de crossings (A) e número de rearings (B). \* $p \leq 0,05$  comparados com CO. ## $p \leq 0,01$ , ### $p \leq 0,001$  comparados com COC. Estatística ANOVA de uma via seguida de teste Student-Newmann-Keuls. n=8-12.

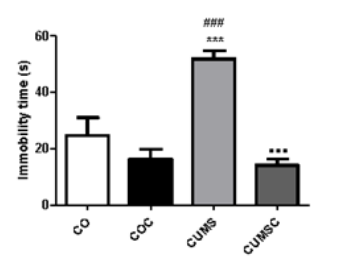
No teste do labirinto em cruz elevado, o grupo COC permaneceu maior tempo nos braços abertos (28,6 $\pm$ 10,4; 76,8 $\pm$ 10,1; 28,1 $\pm$ 6,3; 33,2 $\pm$ 3,3) frente aos demais grupos e apresentou maior número de entradas nos braços abertos frente aos grupos CO e CUMS, sugerindo efeito ansiolítico da curcumina em animais não estressados; da mesma forma, o grupo CUMSC entrou mais vezes nos braços abertos (1,3 $\pm$ 0,3; 4,1 $\pm$ 0,8; 3,0 $\pm$ 0,6; 4,0 $\pm$ 0,8). Os grupos COC, CUMS e CUMSC apresentaram atividade exploratória significativamente maior em relação ao CO,

considerando o número de espreitadas ( $4,9 \pm 1,7$ ;  $10,9 \pm 1,8$ ;  $13,2 \pm 1,6$ ;  $10,7 \pm 0,6$ ), conforme gráficos seguintes:



**Figura2.** Análise comportamental no teste do labirinto e cruz elevado. Tempo de permanência nos braços abertos (A) e tempo de permanência nos braços fechados (B) (em segundos), número de entradas nos braços abertos (C), número de entradas nos braços fechados (D) e número de espreitadas (F). \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,01$  \*\*\* $p \leq 0,001$  comparados com CO. #### $p \leq 0,001$ , comparados com COC. Estatística ANOVA de uma via seguida de teste Student-Newmann-Keuls.  $n=8-13$ .

No teste do nado forçado, o grupo CUMS apresentou tempo de imobilidade significativamente maior em relação aos demais, demonstrando comportamento semelhante ao depressivo. Não houve diferença estatística entre os grupos CO, COC e CUMSC, sugerindo papel adaptogênico da curcumina ao estresse ( $24,6 \pm 6,4$ ;  $16,1 \pm 3,7$ ;  $51,8 \pm 3$ ;  $14,1 \pm 2,2$ ), conforme gráfico seguinte:



**Figura3.** Análise comportamental no teste do nado forçado, sobre o tempo de imobilidade. \*\*\* $p \leq 0,001$  comparados com CO. #### $p \leq 0,001$ , comparados com COC. ■■■ $p \leq 0,001$  comparados com CUMS. Estatística ANOVA de uma via seguida de teste Student-Newmann-Keuls.  $n=9-11$ .

Os resultados não demonstram diferenças estatísticas entre o grupo CO e os grupos CUMS e CUMSC no parâmetro de locomoção motora horizontal, assim como em um experimento de Filho et. al. (2015), onde os dados estatísticos não revelaram diferença significativa entre animais submetidos ao protocolo CUMS, os controles e os tratados com fluoxetina no teste de campo aberto. Demonstraram, ainda, aumento da atividade motora vertical dos grupos CUMS e CUMSC em comparação aos controles, como Mineuret al. (2006) também observaram maior atividade dos animais expostos ao modelo CUMS, em comparação aos não expostos. Esse dado comprova que o tempo de imobilidade aumentado no grupo CUMS, visto no teste do nado forçado, está diretamente relacionado ao comportamento depressivo promovido pelo protocolo de estresse, o que pode ser confirmado citando os estudos de Xiaet al. (2007), que administraram curcumina em ratos durante 21 dias concomitantes à exposição a um modelo de estresse, na realização do teste do nado forçado, puderam constatar diminuição do tempo de flutuação.

Nesta análise, destaca-se potencial adaptogênico da curcumina no comportamento depressivo, já que não houve diferença estatística entre os grupos CO, COC e CUMSC no teste do nado forçado, confirmando, Bhatiaet al. (2011) sugerem que as propriedades antioxidantes da curcumina podem desempenhar um papel chave na adaptogênese. Esse dado também reforça que a curcumina não apresentou efeitos no sistema motor.

### Conclusões:

Os resultados reforçam que o estresse crônico moderado e imprevisível induz comportamento depressivo e ansioso e que a curcumina é um potente antioxidante, capaz de prevenir o comportamento depressivo e promover efeito ansiolítico em camundongos. Estes achados destacam o potencial adaptogênico do composto estudado.

## Referências bibliográficas

- Alencastro LS. **Relações entre narrativa, prosódia e movimento na depressão e seus subtipos melancólica e não melancólica.** UFRGS. Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Psicologia. Porto Alegre. 2012.
- Bhatia N, Jaggi AS, Singh N, Anand P, Dhawan R. Adaptogenic potential of curcumin in experimental chronic stress and chronic unpredictable stress-induced memory deficits and alterations in functional homeostasis. **J Nat Med.** 2011; 65:532-43.
- Broadhurst PL. Experiments in psychogenetics. In: Eysenck H.J. **Experiments in Personality.** London: Routledge and Kegan Paul, 1960.
- Ding L, Zhang C, Masood A, Li J, Sun J, Nadeem A, et al. Protective effects of phosphodiesterase 2 inhibitor on depression- and anxiety-like behaviors: Involvement of antioxidant and anti-apoptotic mechanisms. **Behav Brain Res.** 2014; 268:150-8.
- Filho CB, Jesse CR, Donato F, Giacomeli R, Del fabbro L, Antunes MS et al. Chronic unpredictable mild stress decreases BDNF and NGF levels and Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity in the hippocampus and prefrontal cortex of mice: antidepressant effect of chrysin. **Neuroscience.** 2015; 289:367-80.
- Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE. The open field test. In: mood and anxiety related phenotypes in mice. **Neuromethods.** 2009; 42:1-2.
- Haider S, Naqvi F, Batool Z, Tabassum S, Sadir S, Liaquat L, Naqvi F, Zuberi NA, Shakeel H, Perveen T. Pretreatment with curcumin attenuates anxiety while strengthens memory performance after one short stress experience in male rats. **Brain Res Bull.** 2015; 115:1-8.
- He HJ, Wang GY, Gao Y, Ling WH, Yu ZW, Jin TR. Curcumin attenuates Nrf2 signaling defect, oxidative stress in muscle and glucose intolerance in high fat diet-fed mice. **World J Diabetes.** 2012; 3(5):94-104.
- Kaufmann FN, Gazal M, Bastos CR, Kaster MP, Ghisleni G. Curcumin in depressive disorders: a novel view of potential mechanisms, pre-clinical and clinical findings. **Europ J Pharmacol.** 2016; 784:192-8.
- Mineur YS, Belzung C, Crusio WE. Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice. **Behav Brain Res.** 2006; 175:43-50.
- Nemmar A, Subramaniyan D, Ali BH. Protective effect of curcumin on pulmonary and cardiovascular effects induced by repeated exposure to Diesel Exhaust Particles in mice. **PLoS ONE.** 2012; 7(6):1-9.
- Noorafshan A, Ashkani-Esfahani S. A review of therapeutic effects of curcumin. **Curr Pharm Design.** 2013; 19:2032-46.
- OMS (2016). World Health Organization. Depression. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>.
- Pellow S, Chopin P, File S, Briley M. Validation of open: close arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J Neurosci Methods.** 1985; 14:149-67.
- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: A primary screening test for antidepressants. **Archiv Int Pharmacodyn Ther.** 1977; 229(2):327-36.
- Sanmukhani J, Anovadiya A, Tripathi CB. Evaluation of antidepressant like activity of curcumin and its combination with fluoxetine and imipramine: an acute and chronic study. **Acta Pol Pharm.** 2011; 68(5):769-75.
- Xia X, Cheng G, Pan Y, et al. Behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects of the ethanolic extract from *Curcuma longa* L. in the mouse forced swimming test. **J Ethnopharmacol.** 2007; 110:356-63.
- Wang Z, Zhang Q, Yuan L, Wang S, Liu L, Yang X, et al. The effects of curcumin on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Behav Brain Res.** 2014; 1(274):282-90.
- Zhou H, Beevers CS, Huang S. Targets of curcumin. **Curr Drug Targets.** 2012; 12(3):332-47.
- Zhang L, Luo J, Zhang M, Yao W, Ma X, Yu SY. Effects of curcumin on chronic, unpredictable, mild, stress-induced depressive-like behavior and structural plasticity in the lateral amygdala of rats. **Int J Neuropsychoph.** 2014; 17:793-806.