



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB  
FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE  
FARMÁCIA

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO INTRAPERITONIAL DE NEUROESTERÓIDES  
SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANIMAIS SUBMETIDOS AO MODELO DE  
NADO FORÇADO**

WELLEN FEITOSA CASTRO

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ EDUARDO PANDOSSIO

BRASÍLIA  
2013

WELLEN FEITOSA CASTRO

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO INTRAPERITONIAL DE NEUROESTERÓIDES  
SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANIMAIS SUBMETIDOS AO MODELO DE  
NADO FORÇADO**

Monografia de Graduação  
submetida à Faculdade de Ceilândia da  
Universidade de Brasília, como parte dos  
requisitos necessários à obtenção do  
Grau de Bacharel em Farmácia.

---

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ EDUARDO PANDOSSIO

BRASÍLIA  
2013

Nome: CASTRO, Wellen Feitosa

Título: Efeitos da administração intraperitoneal de neuroesteróides sobre o comportamento de animais submetidos ao modelo de nado forçado.

Monografia de Graduação  
submetida à Faculdade de Ceilândia da  
Universidade de Brasília, como parte dos  
requisitos necessários à obtenção do  
Grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### Banca Examinadora

Prof. Dr. José Eduardo Pandossio Julgamento:\_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília Assinatura:\_\_\_\_\_

Prof. Dra. Fabiane Hiratsuka V. de Souza Julgamento:\_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília Assinatura:\_\_\_\_\_

Prof. Dra. Graziela F. Scarpelli Ferreira Julgamento:\_\_\_\_\_

Instituição: Universidade Católica de Brasília Assinatura:\_\_\_\_\_

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, à minha família Luciedna, Manoel e Wendell pelo amor incondicional e por todo apoio e incentivo durante essa etapa de aprendizado.

Aos amigos Caio William, Camila Rufino, Izabela Carvalho, José Moreira, Juliana Gonçalves, Natálie Caetano e Raiane Diniz, pelo companheirismo e por todo o apoio durante esses anos de graduação.

Aos colegas de laboratório Jefferson Vasconcelos e Raphael Ribeiro por todo o suporte prestado ao longo desse período de experimentos.

À coordenadora do Laboratório de Processos Básicos em Psicologia da Universidade Católica de Brasília, Alessandra, por ter cedido gentilmente o espaço para a realização dos experimentos.

À prof<sup>a</sup> Dra. Graziela Scarpelli pelo auxílio nos procedimentos práticos desse trabalho.

Ao meu orientador Prof<sup>o</sup> Dr. José Eduardo Pandossio por toda dedicação, empenho e paciência durante a execução e elaboração desse trabalho e pela credibilidade e confiança depositada em mim para realizar um trabalho com qualidade de uma de suas linhas de pesquisa.

## RESUMO

A depressão é um transtorno psicopatológico caracterizado por sintomas emocionais, motivacionais, motores, etc. A principal teoria utilizada, do ponto de vista neuroquímico, para esclarecer as causas da depressão, está embasada na diminuição da neurotransmissão monoaminérgica. Com isso, várias drogas foram desenvolvidas a fim de reverter os sintomas depressivos como, por exemplo, a fluoxetina, um inibidor seletivo da recaptção de serotonina (ISRS). No entanto, muitos pacientes não apresentam uma boa resposta a essas drogas. Dessa forma, os neuroesteróides, hormônios endógenos sintetizados no sistema nervoso central (SNC), têm sido estudados a fim de serem utilizados como uma alternativa terapêutica para as drogas antidepressivas já existentes. Nesse sentido, pretendeu-se avaliar o efeito de neuroesteróides sobre o comportamento de animais submetidos ao nado forçado. Ratos Wistar machos (n = 36) foram divididos nos grupos salina, fluoxetina 20 e 30mg/kg, análogo de neuroesteróide (LDT-214) 10 e 30mg/kg, DHEA, imipramina, diosgenina e solasodina, todos com administração ip, verificando-se o tempo e a latência de imobilidade, além da frequência de bolos fecais. Os resultados obtidos mostraram que não houve efeito antidepressivo com o DHEA e o análogo em comparação com a diosgenina e a solasodina, sugerindo futuras investigações sobre a participação da serotonina em interação com os neuroesteróides.

Palavras-chave: Depressão, neuroesteróides, teste do nado forçado

## **ABSTRACT**

Depression is a psychopathological disorder characterized by emotional, motivational, motor symptoms, etc. The main theory, in a neurochemistry point of view, used to explain depression's causes is based on a decrease of monoaminergic neurotransmission. With this, several drugs were developed to reverse depressive symptoms, for example, the fluoxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI). However, many patients don't show a good response to these drugs. In this sense, neurosteroids, endogenous hormones synthesized on central nervous system (CNS), have been studied as a therapeutic alternative to the conventional antidepressant drugs. In this way, it intended to evaluate the neurosteroid effects on behavior of animals submitted to the forced swim test. Wistar male rats (n=36) were divided in the groups saline, fluoxetine 20 and 30mg/kg, neurosteroid analog (LDT-214), DHEA, imipramine, diosgenin and solasodine, all administered ip, verifying the time and latency for immobility, and also the faecal boli frequency. The results showed no antidepressant effect with DHEA and the analog compared to diosgenin and solasodine, suggesting future investigations involving the serotonin participation interacting with neurosteroids.

Keywords: Depression, neurosteroids, forced swim test

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efeito das variadas substâncias sobre o tempo de imobilidade (em s) para animais submetidos ao nado forçado.....	19
Figura 2 – Efeito das variadas substâncias sobre a latência para imobilidade (em s) para animais submetidos ao nado forçado.....	20
Figura 3 – Efeito das variadas substâncias sobre a frequência de bolos fecais para animais submetidos ao nado forçado.....	21

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Esquema de realização dos procedimentos com as drogas/doses e quantidade de animais utilizados para cada grupo, horários para administração de cada droga e comportamentos observados.....	18
---	----



## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA – Análise de Variância

5-HT – 5-hidróxi triptamina (Serotonina)

DHEA – Dehidroepiandrosterona

DHEA-S – Sulfato de dehidroepiandrosterona

DPA – 16-dehidropregnenolona

GABA – Ácido  $\gamma$  -amino-butírico

IMAO – Inibidor da Monoamina Oxidase

Ip - Intraperitoneal

IRND – Inibidor da Recaptação de Noradrenalina e Dopamina

ISRS – Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina

ISRN – Inibidor Seletivo da Recaptação de Noradrenalina

MAO – Monoamina Oxidase

SNC – Sistema Nervoso Central

# SUMÁRIO

<b>1. Introdução e Justificativa.....</b>	<b>11</b>
<b>2. Objetivos</b>	
2.1. Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
<b>3. Metodologia</b>	
3.1 Animais.....	16
3.2 Materiais.....	16
3.3 Drogas e doses.....	17
3.4 Procedimento.....	17
3.5 Análise dos dados.....	18
<b>4. Resultados.....</b>	<b>19</b>
<b>5. Discussão.....</b>	<b>22</b>
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>25</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>26</b>
<b>Comprovante de aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética.....</b>	<b>31</b>

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A depressão é um transtorno psicopatológico caracterizado clinicamente por uma intensa desesperança, associada com anedonia, alterações de sono, da concentração, do apetite, da libido, da psicomotricidade, além de comprometimento dos ritmos circadianos e pensamentos suicidas (ALBERT; BENKELFAT; DESCARRIES, 2012; BALDESSARINI, 2010).

Diversas teorias neuroquímicas foram propostas com a finalidade de esclarecer as possíveis causas da depressão, porém a mais aceita é a das monoaminas, em especial a que envolve a neurotransmissão serotoninérgica e noradrenérgica. Acredita-se que a explicação para esse transtorno encontra-se a partir de uma diminuição da neurotransmissão de 5-hidroxitriptamina – 5-HT (serotonina) devido a uma menor liberação ou a uma quantidade insuficiente de receptores dessa monoamina (MASSART; MONGEAU; LANFUMEY, 2012; MANN, 1999). Da mesma forma, a limitação da disponibilidade sináptica de noradrenalina também é um fator que está associado à depressão. No entanto, essa situação pode ser revertida por meio da inibição da recaptação dessa catecolamina a fim de que os níveis desse neurotransmissor aumentem, resultando em uma homeostasia funcional da noradrenalina no sistema nervoso central (BALDESSARINI, 2010).

Assim, foi relatado que a depressão apresenta uma frequência diferenciada dependendo do sexo, podendo ocorrer mais frequentemente em mulheres que em homens, devido a uma menor taxa de síntese de 5-HT no cérebro, além de uma maior taxa de depleção de triptofano (substrato de síntese da serotonina), o que acarreta, conseqüentemente, em uma redução da síntese desse neurotransmissor (BIRZNIECE et al., 2006). A incidência de depressão em mulheres também está relacionada ao aumento do estrogênio no início da puberdade, ocorrendo diminuição após a menopausa. Já nos homens, essa incidência também aumenta na puberdade, porém se mantém constante ao longo da vida (STAHL, 2010).

Os sintomas da depressão podem ser revertidos com o auxílio de variadas drogas existentes no mercado, cujas classes são denominadas de acordo com o mecanismo de ação que exercem, tais como: inibidores da monoamina oxidase (IMAO), inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), inibidores

seletivos da recaptação de noradrenalina (ISRN), inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN), inibidores da recaptação de noradrenalina e dopamina (IRND), antidepressivos tricíclicos, entre outros (MASSART; MONGEAU; LANFUMEY, 2012; JACOBSEN; MEDVEDEV; CARON, 2012).

Apesar da elevada quantidade disponível de antidepressivos, há pacientes que não se adaptam ou que não apresentam uma boa resposta a esses medicamentos. Dessa forma, há evidências de que outras substâncias e neurotransmissores têm associação com sintomas da depressão (DUBROVSKY, 2006).

Com isso, novos compostos são estudados com o intuito de melhorar os sintomas associados à neuropsicopatologias. Nesse sentido, os neuroesteróides são hormônios endógenos (sintetizados no sistema nervoso central e periférico) e também sintéticos, os quais têm potencial para atuar sobre transtornos neuropsiquiátricos, incluindo transtornos de humor e de sono, além de esquizofrenia, epilepsia e ansiedade. Essa atividade terapêutica é possível devido à capacidade dos neuroesteróides de modular dois dos principais neurotransmissores que atuam no Sistema Nervoso Central (SNC) – Glutamato (apresenta a maioria dos receptores excitatórios) e  $\gamma$ -ácido-amino-butírico (GABA) (apresenta a maioria dos receptores inibitórios). A relação da função gabaérgica com a depressão já foi apresentada em alguns estudos em que foram mensurados os níveis de GABA no córtex pré-frontal e, a partir disso, confirmaram que há uma diminuição desse neurotransmissor nesse tipo de psicopatologia (ZORUMSKI et al., 2013; VIEIRA et al., 2006).

Portanto, é possível notar que os neuroesteróides podem exercer uma atividade antidepressiva, além da sua função hormonal. A existência de receptores específicos para certas substâncias neuroesteróides no SNC, que podem aumentar ou diminuir os níveis de monoaminas, é uma outra explicação para a atividade antidepressiva desses compostos (ROSA E SILVA; SÁ, 2006; BIRZNIECE et al., 2006). Tal mecanismo de ação está mais diretamente ligado à melhora de sintomas depressivos do que aquele que envolve o sistema gabaérgico.

Dessa forma, esteróides sexuais como, por exemplo, o estrogênio, atuam estimulando ou inibindo a síntese de neurotransmissores (catecolaminas e serotonina), além de ter a capacidade de inibir a enzima monoamina oxidase

(MAO), que age degradando as monoaminas, o que eleva os níveis dessas substâncias no sistema nervoso central. Em contrapartida, a progesterona tem uma ação contrária ao estrogênio, ou seja, aumenta os níveis de MAO no cérebro, estimulando a degradação das monoaminas (ROSA E SILVA; SÁ, 2006).

Dentre os neuroesteróides com potencial terapêutico tem-se a solasodina, análogo nitrogenado da saponina esteroideal diosgenina, obtido naturalmente de plantas da família *Solanaceae*. Tanto a solasodina quanto a diosgenina são convertidos em acetato de 16-dehidropregnenolona (DPA), precursor utilizado na produção de anticoncepcionais e anti-inflamatórios esteroidais (MOLA; ARAÚJO; MAGALHÃES, 1997; WEISSENBERG, 2001). Com relação ao potencial psicotrópico dessas substâncias, dois estudos foram realizados com a finalidade de verificar a ação da solasodina e da diosgenina sobre o comportamento de animais submetidos aos modelos do nado forçado, labirinto em cruz elevado e campo aberto, delineando uma curva dose-resposta para essas substâncias e, assim, avaliando possíveis efeitos antidepressivos e ansiolíticos (SOUZA, 2009; DIAS, 2009).

Além dos neuroesteróides obtidos de plantas, também existem aqueles com potencial terapêutico para a depressão que têm origem endógena. São eles: DHEA (dehidroepiandrosterona), DHEA-S (seu derivado conjugado ao sulfato), alopregnenolona, entre outros. Os níveis de DHEA são mais elevados durante a infância, sendo um dos neuroesteróides mais abundantes no SNC, e apresentam um decréscimo substancial em faixas etárias mais elevadas (MORIGUCHI et al., 2013). Sabe-se que essa substância é altamente ativa no SNC, podendo ter relação com vários transtornos neuropsicopatológicos, como a depressão (KURITA et al., 2013). De acordo com Moriguchi et al. (2013), a administração intrahipocampal de DHEA em camundongos submetidos ao modelo do nado forçado contribuiu para uma diminuição da imobilidade, apresentando, assim, um potencial antidepressivo.

De acordo com estudos já mencionados (SOUZA, 2009; DIAS, 2009; MOGUCHI et al., 2013), uma variedade de sintomas observados em distúrbios psicopatológicos (ansiedade, esquizofrenia, depressão, entre outros) pode ser estudada em modelos animais, os quais têm a finalidade de mimetizar situações que ocorrem frequentemente nessas doenças. Para tanto, um modelo animal deve atender a três critérios, envolvendo a previsibilidade farmacológica (efeitos

semelhantes da mesma substância utilizada na clínica e no laboratório), a analogia (comportamentos/sintomas semelhantes observados na clínica e no laboratório) e a homologia (envolvimento dos mesmos substratos neurais de uma condição clínica e de uma condição experimental) (WILLNER, 1984; BELZUNG; LEMOINE, 2011).

Com isso, o modelo animal denominado nado forçado é útil para observar alguns comportamentos que estão relacionados com a depressão. Esse modelo baseia-se na observação de uma condição inescapável para o animal, onde é possível perceber uma intensa atividade no início do experimento, além de uma imobilidade subsequente. A redução de imobilidade, observada a partir da administração de certas drogas (tais como fluoxetina e imipramina), sugere que esse é um modelo em que se pode avaliar o potencial terapêutico dos antidepressivos (PORSOLT; LE PICHON; JALFRE, 1977; PORSOLT et al., 1979). A imipramina, mesmo exercendo um efeito antidepressivo em humanos somente após algumas semanas de uso, reduz o tempo de imobilidade dos animais após três injeções administradas antes do teste (GUTIÉRREZ-GARCIA; CONTRERAS, 2009).

Assim, o modelo de nado forçado apresenta como característica a mimetização de uma condição clínica denominada desamparo aprendido, na qual há uma diminuição de desempenho comportamental, por aprendizagem, quando o indivíduo é submetido a condição semelhante relacionada a situações aversivas/estressantes, experienciadas anteriormente. Nesse sentido, o desamparo aprendido é considerado um dos principais sintomas encontrados na depressão, assim como a sensação de impotência diante de condições aversivas incontroláveis. Baseado nesses pressupostos, o modelo do nado forçado é importante para avaliar novas substâncias com potencial antidepressivo (WILLNER, 1984).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo desse trabalho foi avaliar o comportamento dos animais submetidos ao modelo do nado forçado após a administração intraperitoneal de neuroesteróides.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a latência e o tempo de imobilidade, bem como a frequência de bolo fecal para o grupo de animais submetidos ao modelo de nado forçado após administração intraperitoneal de salina 0,9%.
- Avaliar a latência e o tempo de imobilidade, bem como a frequência de bolo fecal para o grupo de animais submetidos ao modelo de nado forçado após administração intraperitoneal de fluoxetina nas doses de 20mg/kg e 30mg/kg.
- Avaliar a latência e o tempo de imobilidade, bem como a frequência de bolo fecal para o grupo de animais submetidos ao modelo de nado forçado após administração intraperitoneal do análogo de neuroesteróide LDT-214 nas doses de 10mg/kg e 30mg/kg.
- Avaliar a latência e o tempo de imobilidade, bem como a frequência de bolo fecal para o grupo de animais submetidos ao modelo de nado forçado após administração intraperitoneal de dehidroepiandrosterona (DHEA) na dose de 30mg/kg.

### 3. METODOLOGIA

Os dados apresentados neste trabalho referentes à imipramina 30mg/kg, diosgenina 25mg/kg e solasodina 10mg/kg são provenientes do trabalho de Souza (2009) e foram adicionados à metodologia e à análise dos dados por este estudo representar a continuidade do projeto de pesquisa “Efeitos da administração intraperitoneal e local de neuroesteroides sobre o comportamento de animais submetidos a diversos modelos de psicopatologia”, iniciado pela autora supracitada.

#### 3.1 Animais

Os animais utilizados nesse trabalho eram da espécie *Rattus norvegicus*, pertencentes à linhagem Wistar, machos e experimentalmente ingênuos, pesando entre 170 e 360g. Tais animais foram provenientes do Biotério da Universidade Católica de Brasília e foram alojados em gaiolas, agrupados em 4, 5 ou 6, sob um ciclo claro-escuro de 12 horas (com realização do experimento na fase clara entre 6 às 18h), sob temperatura controlada ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e umidade do ar de 55% com livre acesso à água e alimento. Os testes foram realizados em um total de 36 animais divididos por grupo de droga, entre eles: salina, controle positivo antidepressivo (fluoxetina), análogo de neuroesteróide (LDT-214) e controle positivo de neuroesteróides (DHEA).

Os experimentos foram realizados em conformidade com as normas da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento (SBNeC), baseadas no National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals, sendo aprovados pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília (UnBDoc nº 98991/2011).

#### 3.2 Materiais

- Balança analítica (Filizola)
- Balde de plástico (medindo 50 cm de altura e 45 cm de diâmetro)
- Seringas de 1 ml (Plascalp – Unijet)
- Agulhas 13mm x 4,5mm (Plascalp – Unijet)
- Vortex – VTX 2500 (Biomixer – ADC Sample)



### 3.3 Drogas e doses

- Solução salina (Darrow - NaCl 0,9%)
- Cloridrato de fluoxetina (Eurofarma) – 20 e 30mg/kg, latência 30 min. (KAURAV et al., 2012)
- Cloridrato de imipramina – 30mg/kg
- Diosgenina – 25mg/kg
- Solasodina – 10mg/kg
- Análogo de neuroesteróide (LDT-214), sintetizado no laboratório de Química Farmacêutica da Universidade Católica de Brasília (Ladeter) a partir de neuroesteróides derivados de plantas – 10 e 30mg/kg
- Dehidroepiandrosterona (DHEA) – 30mg/kg (CAMERON; BRAUNSTEIN, 2005)

### 3.4 Procedimento

Os animais da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, foram submetidos ao modelo do nado forçado, onde foi possível analisar, em cada grupo – salina (controle), imipramina 30mg/kg e fluoxetina 20 e 30mg/kg (controles positivos – antidepressivo), DHEA 30mg/kg (controle positivo – neuroesteróide) e LDT-214 10 e 30mg/kg – parâmetros associados à depressão.

Os ratos foram pesados previamente ao experimento. Cada animal foi submetido ao modelo por dois dias consecutivos, respeitando o mesmo horário de exposição. Assim, o procedimento ocorreu da seguinte forma: o animal foi colocado em um balde de 50 cm de altura com 40 cm de água e 45 cm de diâmetro. No primeiro dia, considerado como treino, o animal permaneceu no experimento por 15 minutos. No segundo dia, em que realizou-se o teste, o animal permaneceu apenas 5 minutos na mesma condição. Foram administradas, em cada animal, três injeções ip com a respectiva substância relacionada a cada grupo, nos seguintes tempos: 24 horas, 5 horas e 1 hora antes do teste (PORSOLT; LE PICHON; JALFRE, 1977).

Foram mensurados, no dia do teste, o tempo de imobilidade e a latência para a imobilidade, ambos medidos em segundos, além da frequência de bolos fecais. A atividade natatória foi identificada por movimentos verticais de escalada com as patas dianteiras, enquanto a imobilidade consistiu na redução do nado,

caracterizada por pequenos movimentos das patas dianteiras com a finalidade de manutenção da cabeça acima do nível da água. A frequência de bolos fecais torna-se relevante à medida que representa a atividade neurovegetativa do animal frente à situação estressante (RANG & DALE, 2007). Após o experimento, tanto no treino como no teste, o animal foi devidamente secado e colocado em uma gaiola individual por 5 minutos. Em seguida, o animal foi reinserido junto aos outros animais da caixa. A tabela abaixo mostra o procedimento realizado de maneira esquemática.

		TREINO				TESTE
DROGAS	Nº ANIMAIS	IP1	IP2	IP3	COMPORTAMENTOS	
SALINA	10	24 horas*	5 horas*	1 hora*	Atividade natatória Latência de Imobilidade Tempo de Imobilidade	
FLUOXETINA	8					(4) – 20 mg/kg
						(4) – 30 mg/kg
LDT-214	12					(6) – 10 mg/kg
						(6) – 30 mg/kg
DHEA	6					
IMIPRAMINA	6					
SOLASODINA	6					
DIOSGENINA	6					
* Antes do início do teste IP = Injeção Intraperitoneal						

Tabela 1 – Esquema de realização dos procedimentos com as drogas/doses e quantidade de animais utilizados para cada grupo, horários para administração de cada droga e comportamentos observados.

### 3.5 Análise dos dados

A análise dos dados foi realizada através do software Sigma stat® versão 2.0 por meio da análise de variância de uma via (ANOVA One-way) e do teste post-hoc Student Newman-Keuls ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

Com relação ao tempo de imobilidade (em segundos), a análise de variância de uma via (ANOVA one-way) ( $F_{(8,48)} = 18,1$  e  $p < 0,0001$ ), seguida pelo teste de Student Newman-Keuls, mostrou que os grupos imipramina 30mg/kg (Média ( $\bar{x}$ ) = 119,3; Erro Padrão da Média (EPM) = 16,93), diosgenina 25mg/kg ( $\bar{x} = 110$ ; EPM = 26,58) e solasodina 10mg/kg ( $\bar{x} = 72,3$ ; EPM = 21,84) apresentaram diferença estatisticamente significativa (diminuição do tempo) com os demais grupos testados: salina 0,9% ( $\bar{x} = 193,9$ ; EPM = 11,92), fluoxetina 20 mg/kg ( $\bar{x} = 223,5$ ; EPM = 20,39), fluoxetina 30mg/kg ( $\bar{x} = 233,8$ ; EPM = 19,72), análogo 10mg/kg ( $\bar{x} = 199,8$ ; EPM = 9,05) e análogo 30mg/kg ( $\bar{x} = 189,3$ ; EPM = 18,8) (Figura 1).

Além das diferenças encontradas com os grupos citados anteriormente, o tempo de imobilidade verificado com o grupo solasodina 10mg/kg também apresentou diferença estatisticamente significativa (diminuição do tempo) em comparação com os grupos imipramina 30mg/kg e a diosgenina 25mg/kg.

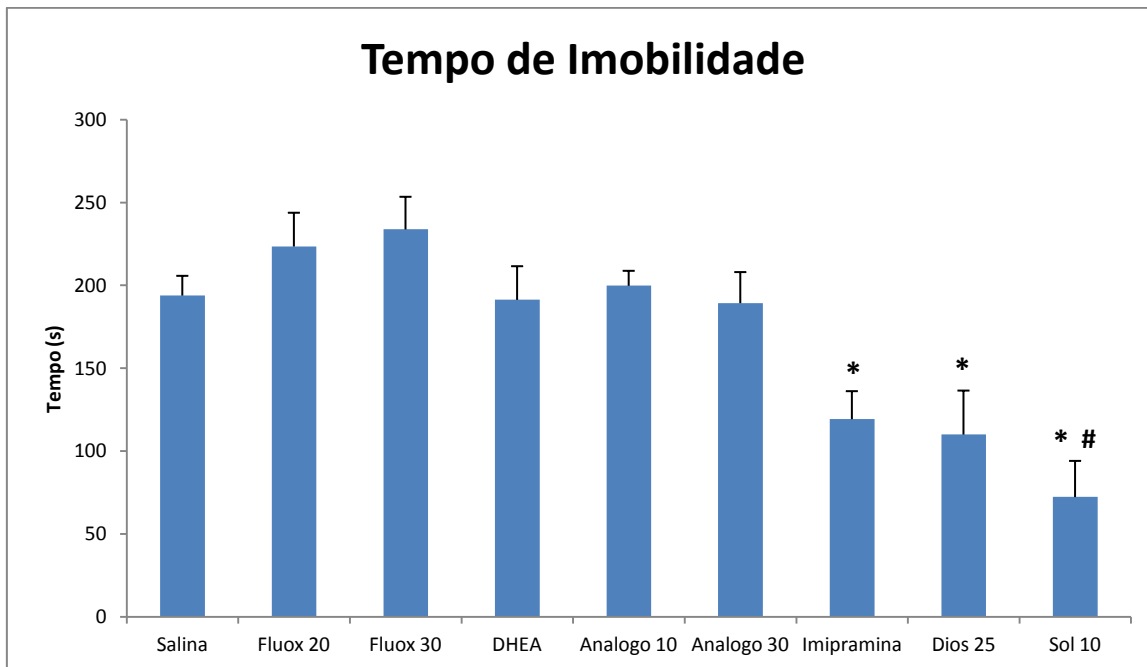


Figura 1 – Efeito das variadas substâncias sobre o tempo de imobilidade (s) para animais submetidos ao nado forçado. As colunas representam as médias e as barras o EPM.  $p < 0,0001$  de acordo com o teste de Student Newman-Keuls. \* Indica diferença significativa entre os grupos imipramina 30mg/kg ( $n = 6$ ), diosgenina 25mg/kg ( $n = 6$ ) e solasodina 10mg/kg ( $n = 6$ ) com os grupos salina 0,9% ( $n = 10$ ), fluoxetina 20mg/kg ( $n = 4$ ) e 30mg/kg ( $n = 4$ ) e o análogo 10mg/kg ( $n = 4$ ).

= 6) e 30mg/kg (n = 6). # Indica diferença significativa entre os grupos imipramina 30mg/kg e diosgenina 25mg/kg com a solasodina 10mg/kg.

Com relação à latência para imobilidade (em segundos), a análise de variância de uma via (ANOVA one-way) ( $F_{(8,48)} = 10,4$  e  $p < 0,0001$ ), seguida pelo teste de Student Newman-Keuls, mostrou que os grupos imipramina 30mg/kg ( $\bar{X} = 119,3$ ; EPM = 16,93), diosgenina 25mg/kg ( $\bar{X} = 110$ ; EPM = 26,58) e solasodina 10mg/kg ( $\bar{X} = 72,3$ ; EPM = 21,84) apresentaram diferença estatisticamente significativa (aumento da latência) com os demais grupos testados: salina 0,9% ( $\bar{X} = 193,9$ ; EPM = 11,92), fluoxetina 20mg/kg ( $\bar{X} = 223,5$ ; EPM = 20,39), fluoxetina 30mg/kg ( $\bar{X} = 233,8$ ; EPM = 19,72), análogo 10 mg/kg ( $\bar{X} = 199,8$ ; EPM = 9,05), análogo 30mg/kg ( $\bar{X} = 189,3$ ; EPM = 18,8) e DHEA 30mg/kg ( $\bar{X} = 191,3$ ; EPM = 20,33) (Figura 2).

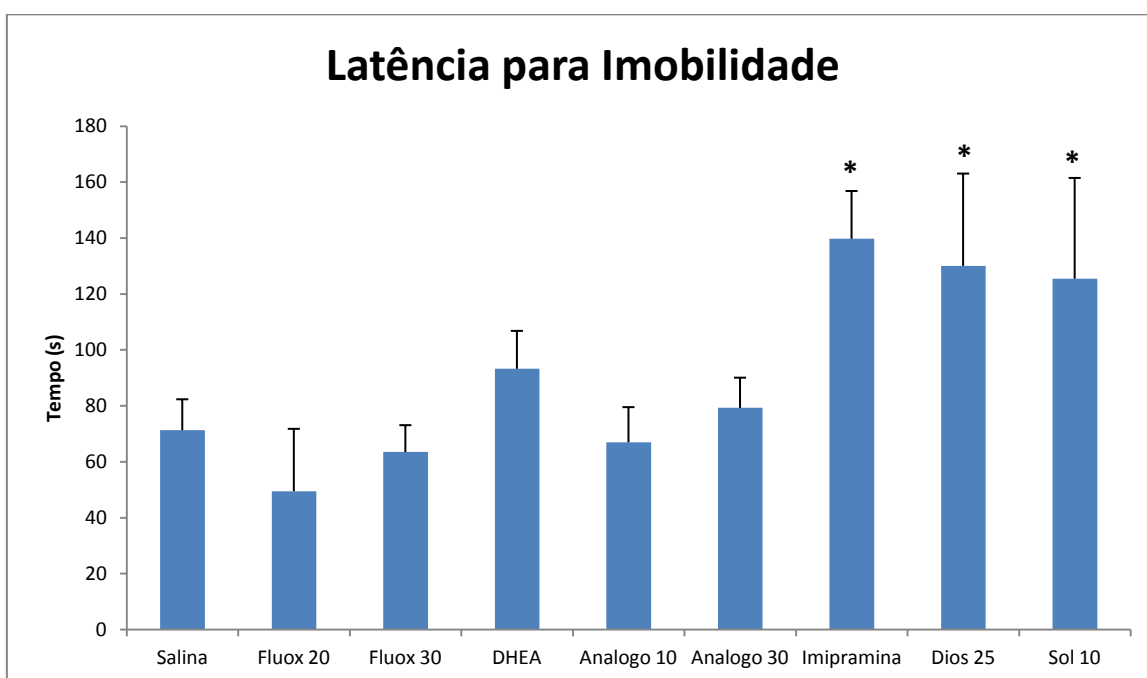


Figura 2 – Efeito das variadas substâncias sobre a latência para imobilidade (s) para animais submetidos ao nado forçado. As colunas representam as médias e as barras o EPM.  $p < 0,0001$  de acordo com o teste de Student Newman-Keuls. \* Indica diferença significativa entre os grupos imipramina 30mg/kg (n = 6), diosgenina 25mg/kg (n = 6) e solasodina 10mg/kg (n = 6) com os grupos salina 0,9% (n = 10), fluoxetina 20mg/kg (n = 4) e 30mg/kg (n = 4), análogo 10mg/mg (n = 6) e 30 mg/kg (n = 6) e DHEA 30mg/kg (n = 6).

Com relação aos bolos fecais (frequência), a análise de variância de uma via (ANOVA one-way) ( $F_{(5,30)} = 3,47$  e  $p < 0,01$ ), seguida pelo teste de Student Newman-Keuls, mostrou que o grupo fluoxetina 30mg/kg ( $\bar{x} = 233,8$ ; EPM = 19,72) apresentou diferença estatisticamente significativa (diminuição da frequência) com o grupo salina 0,9% ( $\bar{x} = 193,9$ ; EPM = 11,92) (Figura 3).

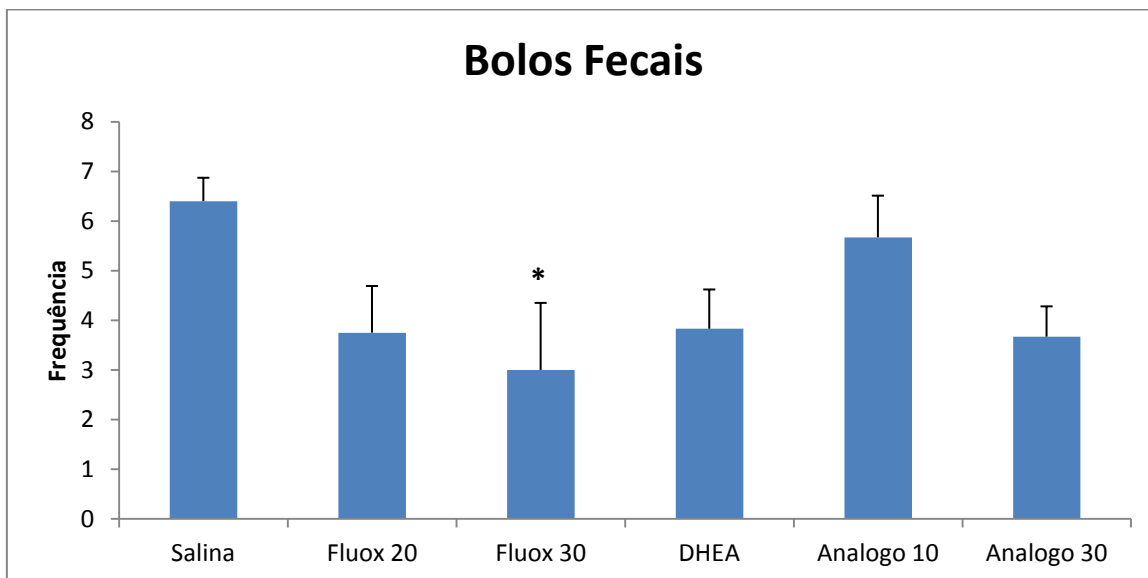


Figura 3 – Efeito das variadas substâncias sobre a frequência de bolos fecais para animais submetidos ao nado forçado. As colunas representam as médias e as barras o EPM.  $p < 0,0001$  de acordo com o teste de Student Newman-Keuls. \* Indica diferença significativa entre o grupo fluoxetina 30mg/kg ( $n = 4$ ) com o grupo salina 0,9% ( $n = 10$ ).

## 5. DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, pode-se avaliar o potencial antidepressivo das diferentes drogas utilizadas nos testes, bem como das respectivas doses administradas. Os grupos das substâncias testadas neste trabalho (salina 0,9%, fluoxetina 20 e 30mg/kg, análogo LDT-214 10 e 30mg/kg e DHEA 30mg/kg) não apresentaram um efeito antidepressivo, ou seja, não reduziram significativamente o tempo de imobilidade no experimento (Figura 1), ao mesmo tempo que não promoveram aumento da latência de imobilidade (Figura 2).

A fluoxetina, nas doses testadas neste trabalho, não induziram um efeito antidepressivo como a imipramina (30mg/kg) (SOUZA, 2009). Segundo Borsini (1995), a administração intraperitoneal de fluoxetina nas doses de 5, 15, 30 e 40 mg/kg não foi eficaz na redução do tempo total de imobilidade, aproximando-se mais do grupo controle, estando de acordo com os dados obtidos neste trabalho. Da mesma forma, outro estudo demonstra que tanto a fluoxetina como a imipramina diminuíram a atividade natatória dos animais durante os últimos 4 minutos de teste (DAVID et al., 2009). Contrapondo essa ideia, há evidência de que a fluoxetina administrada na dose de 10mg/kg resultou em uma diminuição da imobilidade e, conseqüentemente, aumentou a atividade natatória, se comparada à dose de 5 mg/kg (DE VRY et al., 1999; DULAWA et al., 2004).

A partir disso, a fluoxetina não representou, neste trabalho, um controle positivo para o efeito antidepressivo, sugerindo que a imipramina seria um fármaco mais adequado para alcançar esse objetivo. Isso pode ser explicado pelo mecanismo de ação da imipramina, pois inibe a recaptação de catecolaminas (noradrenalina e dopamina) e de serotonina, enquanto que a fluoxetina é um inibidor seletivo da recaptação mais específico para a serotonina. Essa ideia está de acordo com Porsolt et al. (1979) que, no nado forçado, mostraram que inibidores da recaptação de catecolaminas diminuíram a duração da imobilidade, enquanto que os inibidores da recaptação de serotonina, em geral, não apresentaram a mesma resposta.

Com relação ao DHEA, observou-se que, apesar de ter apresentado um resultado mais próximo dos grupos que demonstraram um potencial efeito antidepressivo quando comparado à fluoxetina, não apresentou diferença quanto

ao tempo de imobilidade em relação ao grupo controle com a dose utilizada (30 mg/kg), ou seja, não houve efeito antidepressivo. Porém, um estudo realizado com o nado forçado, utilizando o DHEA na dose de 60 mg/kg, concluiu que houve redução do tempo de imobilidade, contrastando com os resultados obtidos neste trabalho. Nesse sentido, é sugerido que a administração de elevadas doses de DHEA (30-200 mg/kg) *in vivo* diminui os níveis da monoamina oxidase (MAO), estabelecendo, assim, a relação desse neuroesteróide com a depressão (MORIGUCHI et al, 2013).

Do mesmo modo, o análogo testado nas doses de 10mg/kg e 30mg/kg não apresentou diferença significativa com o grupo controle (assim como o DHEA), isto é, não induziu efeito antidepressivo. Nesse sentido, o análogo LDT-214, utilizado nos experimentos, apresentou uma média do tempo de imobilidade bastante divergente (superior) daquelas observadas nos grupos imipramina 30mg/kg, diosgenina 25mg/kg e solasodina 10mg/kg (Figura 1), os quais apresentaram potencial antidepressivo.

Para a latência de imobilidade, observou-se que o grupo imipramina apresentou um aumento quando comparado às doses de fluoxetina de 20 e 30 mg/kg (Figura 2). Nesse sentido, Costa et al. (2013), utilizando animais submetidos ao nado forçado sob efeito de imipramina e fluoxetina, mostraram que a latência para imobilidade aumentou naqueles animais que receberam imipramina em comparação com os que receberam fluoxetina, indo ao encontro dos dados obtidos neste trabalho.

Em relação ao DHEA, pode-se perceber um aumento da latência para imobilidade em relação ao grupo controle, sendo diferente, porém, dos grupos imipramina 30mg/kg, diosgenina 25mg/kg e solasodina 10 mg/kg. Da mesma forma, o análogo LDT-214, nas duas doses utilizadas (10mg/kg e 30mg/kg), resultou em uma média mais próxima dos grupos fluoxetina (20mg/kg e 30mg/kg) e salina, não exercendo, portanto, um efeito antidepressivo, como estabelecido para a diosgenina e a solasodina.

A partir dos dados mostrados nas Figuras 1 e 2, percebe-se que os resultados obtidos com os neuroesteróides diosgenina 25 mg/kg e solasodina 10 mg/kg se aproximam mais dos resultados com a imipramina, tanto para a latência quanto para o tempo de imobilidade, em comparação com os grupos controle (Salina 0,9%) e controle positivo (fluoxetina 20 e 30mg/kg), demonstrando, assim,

um potencial efeito antidepressivo para a diosgenina e solasodina. Na literatura, já se utiliza a diosgenina para a produção exógena de neuroesteróides (progesterona e estrogênio) (HO et al., 2007). Porém, ainda não foi esclarecido qual o mecanismo de ação exato da diosgenina e da solasodina e com quais neuroesteróides teriam maior similaridade. Essa observação também aplica-se ao análogo utilizado (LDT-214), pois ainda não se sabe exatamente com qual neuroesteróide (diosgenina ou solasodina) essa substância se aproxima mais com relação ao mecanismo de ação.

Quanto à frequência de bolos fecais, o grupo fluoxetina 30mg/kg apresentou uma redução em comparação com o grupo salina 0,9%. Tal resultado pode ser explicado em relação a inibição de receptores envolvidos com a recaptação das monoaminas. Como a diferença obtida ocorreu apenas com a dose mais alta de fluoxetina (30mg/kg), é possível que tenha ocorrido o aumento na neurotransmissão de noradrenalina, justificando a redução da frequência de bolos fecais (indução de constipação). Apesar da fluoxetina ser um antidepressivo ISRS, pode haver uma porcentagem de ocupação de receptores pré-sinápticos envolvidos não somente com a recaptação de serotonina mas, também, de noradrenalina (GRAEFF, 2001). Além disso, o estresse associado às condições aversivas do nado forçado pode contribuir para o aumento da noradrenalina, potencializando o efeito constipante.

A partir deste trabalho, a utilização dos neuroesteróides avaliados (DHEA e o análogo LDT-214) não se mostrou efetiva como alternativa aos antidepressivos convencionais, levando à necessidade de novas investigações quanto à participação de outros sistemas de neurotransmissão envolvidos na depressão. Tomados em conjunto, esses dados apontam para a participação direta da noradrenalina em relação à serotonina na interação com neuroesteroides, pois a diosgenina e a solasodina apresentaram efeitos semelhantes à imipramina no teste do nado forçado, fármaco que promove o aumento da neurotransmissão de noradrenalina, serotonina e dopamina, enquanto que o DHEA e o análogo apresentaram semelhança com o efeito da fluoxetina, levando ao aumento específico de serotonina.



## 6. CONCLUSÕES

- O neuroesteróide DHEA e o análogo LDT-214 não apresentaram efeito antidepressivo neste trabalho, representado pela redução do tempo e aumento da latência de imobilidade no teste do nado forçado.
- As doses utilizadas dessas substâncias não se mostraram adequadas para a avaliação desse efeito antidepressivo, sugerindo a necessidade de doses mais e/ou menos elevadas, de acordo com a literatura, em futuras investigações.
- Sugere-se, também, a investigação com um número maior de animais por grupo, além de injeções locais no SNC, no sentido de ratificar o envolvimento pontual da serotonina na interação com os neuroesteroides.
- Este trabalho tem sua relevância à medida que propõe a investigação de drogas alternativas no tratamento da depressão, a partir da utilização de modelos experimentais, como o nado forçado, levando, com isso, à busca de outros modelos animais que auxiliem na compreensão dessa psicopatologia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERT, P. R.; BENKELFAT, C.; DESCARRIES, L. The neurobiology of depression – revisiting the serotonin hypothesis. I. Cellular and molecular mechanisms. **Philosophical transactions of the royal society**, Canadá, v.367, p. 2378-2381, 2012.

BALDESSARINI, R.J. Fármacos e o tratamento dos distúrbios psiquiátricos: Depressão e distúrbios de ansiedade. In\_\_\_\_\_. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11ª edição, ed. Artmed, cap. 19, p. 339-361, 2010.

BELZUNG, C; LEMOINE, M. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. **Biology of Mood & Anxiety Disorders**, França, v. 1, n. 9, p. 1-14, 2011.

BIRZNIECE, V.; BÄCKSTRÖM, T.; JOHANSSON, IM.; LINDBLAD, C. LUNDGREN, P.; LÖFGREN, M.; OLSSON, T.; RAGAGNIN, G.; TAUBE, M.; TURKMEN, S.; GÖRAN, W.; WANG, MD.; WIHLBÄCK, AC.; ZHU, D. Neuroactive steroid effects on cognitive functions with a focus on the serotonin and GABA systems. **Brain Research Reviews**, Estados Unidos, v. 51, n. 2, p. 212-239, 2006.

BORSINI, F. Role of the serotonergic system in the forced swimming test. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, Itália, v. 19, n. 3, p. 377-395, 1995.

CAMERON, D. R.; BRAUNSTEIN, G. D. The use of dehydroepiandrosterone therapy in clinical practice. **Treatments in Endocrinology**, v. 4, n. 2, p. 95-114, 2005.

COSTA, A. P. R.;VIEIRA, C; BOHNER, L.O.L.; SILVA, C.F.; SANTOS, E.C.S.; LIMA, T.C.N.; OLIVEIRA, C.L. A proposal for refining the forced swim test in Swiss mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, Brasil, v. 45, p. 150-155, 2013.

DAVID, D. J.; SAMUELS, B. A.; RAINER, Q.; WANG, J. W.; MARSTELLER, D.; MENDEZ, I.; DREW, M.; CRAIG, D. A.; GUIARD, B. P.; GUILLOUX, J. P.; ARTYMYSHIN, R. P.; GARDIER, A. M.; GERALD, C.; ANTONIJEVIC, I. A.; LEONARDO, E. D.; HEN, R. Neurogenesis - dependent and - independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. **Neuron**, n 62, p. 479–493, 2009.

DE VRY, J.; MAUREL, S.; SCHREIBER, R.; DE BEUN, R.; JENTZSCH, K. R. Comparison of hypericum extracts with imipramine and fluoxetine in animal models of depression and alcoholism. **European Neuropsychopharmacology**, Alemanha, v.9, p 461-468, 1999.

DIAS, S. L. R. Efeitos dos neuroesteróides diosgenina e solasodina sobre o comportamento de animais submetidos ao labirinto em cruz elevado. Monografia (Graduação em Psicologia), Brasília, Universidade Católica de Brasília, 2009, 22 p.

DUBROVSKY, B. O. Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**, Canadá, v. 29, n. 2, p. 169-192, 2005.

DULAWA, S. C.; HEN, R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Estados Unidos, v. 29, n. 4-5, p. 771-783, 2005.

GRAEFF, F. G. Antidepressivos. In: GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. (ed). **Fundamentos de psicofarmacologia**, São Paulo, Atheneu, cap. 3, p. 43-52, 2001.

GUTIÉRREZ-GARCIA, A. G.; CONTRERAS, C. M. Stressors can affect immobility time and response to imipramine in the rat forced swim test. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, México, v. 91, p. 542–548, 2009.

HO, Y. J.; WANG, C. F.; HSU, W. Y.; TSENG, T.; HSU, C. C.; KAO, M. D.; TSAI, Y. F. Psychoimmunological effects of dioscorea in ovariectomized rats: role of anxiety level. **Annals of General Psychiatry**, Reino Unido, v. 6, n. 21, p. 1-8, 2007.

JACOBSEN, J. P. R.; MEDVEDEV, I. O.; CARON, M. G. The 5-HT deficiency theory of depression: perspectives from a naturalist 5-HT model, the tryptophan hydroxylase 2<sup>Arg439His</sup> knockin mouse. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, Canadá, v.367, p.2444-2459, 2012.

KAURAV, B. P.; WANJARI, M. M.; CHANDEKAR, A.; CHAUHAN, N. S.; UPMANYU, N. Influence of *Withania somnifera* on obsessive compulsive disorder in mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, n. 5, p. 300-304, 2012.

KURITA, H.; MAESHIMA, H.; KIDA, S.; MARSUZAKA, H.; SHIMANO, T.; NAKANO, Y.; BABA, H.; SUZUKI, T.; ARAI, H. Serum dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA-sulfate (S) levels in medicated patients with major depressive disorder compared with controls. **Journal of Affective Disorders**, Japão, v. 146, n. 2, p. 205-212, 2013.

MANN, J. J. Role of the serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior. **Neuropsychopharmacology**, Estados Unidos, v. 21, p. 99-105, 1999.

MASSART, R.; MONGEAU, R.; LANFUMEY, L; Beyond the monoaminergic hypothesis: neuroplasticity and epigenetic changes in a transgenic mouse model of depression. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, Canadá, v. 367, p. 2485-2494, 2012.

MOLA, J.R.; ARAUJO, E. R. de.; MAGALHÃES, G. C. de. Solasodina em espécies de *Solanum* do cerrado do Distrito Federal. **Química Nova**, Brasil, v. 20, n. 5, p. 460-462, 1997.

MORIGUCHI, S. Stimulation of the sigma-1 receptor by DHEA enhances synaptic efficacy and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of olfactory bulbectomized mice. **Plos-One**, Japão, v.8, n.4, p. 1-10, 2013.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, Reino Unido, v. 266, p. 730-732, 1977.

PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; BLAVET, N.; DANIEL, N.; JALFRE, M. Imobility induced forced swimming in rats: Effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. **European Journal of Pharmacology**, North-Holland, v.57, p 201-210, 1979.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. Fármacos antidepressivos. In\_\_\_\_\_. **Farmacologia**, 6ª edição, Janeiro, Elsevier, cap. 39, p. 557-574, 2007.

ROSA E SILVA, A. A. C. J. S.; Sá, M. F. S. Efeitos dos esteróides sexuais sobre o humor e a cognição. **Revista de Psiquiatria Clínica**, Brasil, v. 33, n. 2, p. 60-67, 2006.

SACHDEV, P. S.; BRÜNE, M. Animal models of acute drug-induced akathisia – a review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Estados Unidos, v. 24, n. 3, p. 269-277, 2000.

SOUZA de, P. R. Avaliação do efeito dos neuroesteróides solasodina e diosgenina sobre o comportamento de animais submetidos ao teste do nado forçado. Monografia (Graduação em Psicologia), Brasília, Universidade Católica de Brasília, 2009, 23 p.

STAHL, S. M. Antidepressivos. In\_\_\_\_\_. **Psicofarmacologia: Bases neurocientíficas e aplicações práticas**. Rio de Janeiro, 3ª edição, ed. Guanabara koogan, cap. 12, p 337-444, 2010.

VIEIRA, D. S. S.; MAZACORATTI-NAFFAH, M. G.; ZUKERMAN, E.; SOARES, C. A. S.; ALONSO, E. O.; FAULHABER, M. H. W.; CAVALHEIRO, E. A.; PERES, M. F. P. Cerebrospinal fluid GABA levels in chronic migraine with and without depression. **Brain Research**, v. 1090, p. 197-201, 2006.

WEISSENBERG, M. Isolation of solasodine and other steroidal alkaloids and sapogenins by direct hydrolisis-extraction of Solanum plants or glycosides therefrom. **Phytochemistry**, v. 58, p. 501-508, 2001.

WILLNER, P. The validity of animal models of depression. **Psychopharmacology**, v. 83, n. 1, p. 1-16 1984.

YADID, G.; SUDAI, E.; MAAYAN, R.; GISPAN, I.; WEIZMAN, A. The role of dehydroepiandrosterone (DHEA) in drug-seeking behavior. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, Estados Unidos, v. 35, n. 2, p. 303-314, 2010.

ZORUMSKI, C. F.; PAULD, S. M.; IZUMIA, Y.; COVEYC, D. F.; MENNERICKA, S. Neurosteroids, stress and depression: potencial therapeutic opportunities. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, Estados Unidos, v 37, p. 109-122, 2013.

# COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO TRABALHO PELO COMITÊ DE ÉTICA

	<b>Universidade de Brasília</b> Instituto de Ciências Biológicas Comitê de Ética no Uso Animal
Brasília, 27 de setembro de 2011.	
	<b>DECLARAÇÃO</b>
Declaramos que o projeto intitulado "EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO LOCAL E INTRAPERITONIAL DE NEUROESTERÓIDES SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANIMAIS SUBMETIDOS A DIVERSOS MODELOS DE PSICOPATOLOGIA.", UnBDOC n.º 98991/2011, sob responsabilidade do Prof. José Eduardo Pandossio, foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.	
	 Profa. Aline Pic-Taylor Coordenadora do CEUA