



**CONFORME SOLICITAÇÃO DO AUTOR, ESTA
PRODUÇÃO INTELECTUAL POSSUI
RESTRIÇÃO DE ACESSO**

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA
VIDA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

INTERRELAÇÃO ENTRE INFLAMAÇÃO, ESTRESSE OXIDATIVO E
DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL NA DEPRESSÃO: DESENVOLVIMENTO DE
UM MODELO TIPO DEPRESSIVO *IN VITRO*

ANA PAULA VARGAS VISENTIN

Caxias do Sul

2021

ANA PAULA VARGAS VISENTIN

**Interrelação entre inflamação, estresse oxidativo e disfunção
mitocondrial na depressão: desenvolvimento de um modelo tipo
depressivo *in vitro***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul,
visando à obtenção do grau de Doutora em
Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mirian Salvador
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Cátia dos Santos Branco

Caxias do Sul, 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

V829i Visentin, Ana Paula Vargas

Interrelação entre inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial na depressão [recurso eletrônico] : desenvolvimento de um modelo tipo depressivo *in vitro* / Ana Paula Vargas Visentin. – 2021.

Dados eletrônicos.

Tese (Doutorado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2021.

Orientação: Mirian Salvador.

Coorientação: Cátia dos Santos Branco.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Depressão mental. 2. Mitocôndria. 3. Metabolismo. 4. Araucaria angustifolia. I. Salvador, Mirian, orient. II. Branco, Cátia dos Santos, coorient. III. Título.

CDU 2. ed.: 616.89-008.454

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

ANA PAULA VARGAS VISENTIN

Interrelação entre inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial na depressão: desenvolvimento de um modelo tipo depressivo *in vitro*

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de Doutora em Biotecnologia.

Aprovada em 24 de setembro de 2021.

Banca Examinadora

Orientador: Profa. Dra. Mirian Salvador
Universidade de Caxias do Sul

Coorientadora: Profa. Dra. Cátia dos Santos Branco
Universidade de Caxias do Sul

Profa. Dra. Profa. Lucielli Savegnago
Universidade Federal de Pelotas

Profa. Dra. Francine Cadoná
Universidade Franciscana

Prof. Dr. Rafael Colombo
Universidade de Caxias do Sul

*Dedico essa tese às pessoas mais especiais da minha vida:
meus pais Lola e José Luiz, ao meu sogro (in memoriam) Antônio,
meu esposo Gustavo,
e ao meu amado filho Germano que respousa em meu ventre.*

RESUMO

A depressão é uma desordem mental mundialmente reconhecida como um problema de saúde pública. Dentre os sintomas desse transtorno podemos citar distúrbios do sono, decréscimo de energia, ansiedade, tristeza profunda e perda de interesse na realização de atividades antes consideradas prazerosas. Recentes estudos demonstram uma relação entre inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial na fisiopatologia da depressão, gerando consequências fisiológicas, psicológicas e cognitivas. Uma das hipóteses que explica a associação entre esses processos é o metabolismo da quinurenina (KYN), o qual gera metabólitos neurotóxicos ao longo da via. Dessa forma, o desenvolvimento de um modelo tipo depressivo *in vitro*, é importante para auxiliar a compreender o mecanismo complexo deste transtorno e ainda minimizar o uso de animais em estudos que apresentam inúmeros vieses. Assim, o presente trabalho teve o objetivo de estudar a relação existente entre processos inflamatórios e alterações mitocondriais desencadeadas por metabólitos da via da quinurenina e desenvolver um modelo *in vitro* capaz de mimetizar algumas das alterações bioquímicas relatadas em pacientes depressivos. Além disso, após estabelecido o modelo, com o objetivo de testar novos fármacos que possam reduzir os índices de pacientes refratários e aumentar a adesão ao tratamento reduzindo os efeitos colaterais em relação aos medicamentos convencionais testou-se um extrato rico em compostos fenólicos obtido de *Araucaria angustifolia* (EAA). Para simular o quadro tipo-depressivo, células microgliais BV-2 foram tratadas com 10µg/mL de lipopolissacarídeo (LPS), associado à quinurenina, um catabólico tóxico, na concentração de 1000µM, pelo tempo de 24 horas. A associação de LPS + KYN reduziu a viabilidade celular e aumentou os índices de apoptose, além de gerar disfunção mitocondrial observada através de redução na atividades nos complexos I e IV da cadeia de transporte de elétrons, nos níveis de ATP e das proteínas mitocondriais SIRT1, SIRT3 e da subunidade NDUFS7 do complexo I. Observa-se ainda, aumento nos

níveis de NO, ERO intracelular e marcadores inflamatórios tais como COX, NF- κ B e p-NF- κ B , mimetizando assim alguns eventos bioquímicos e moleculares observados em uma parcela significativa de pacientes depressivos. O pré - tratamento das células com EAA evitou todas as alterações observadas no modelo tipo-depressivo (LPS + KYN), exceto em relação aos marcadores inflamatórios. Embora mais estudos sejam necessários, este trabalho mostra, pela primeira vez, um modelo tipo depressivo *in vitro* capaz de induzir inflamação, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e apoptose simultaneamente. Este modelo tem potencialidade de uso para buscar um maior entendimento da etiologia da depressão e também para o *screening* prévio de potenciais novos medicamentos ou suplementos para o tratamento da depressão.

Palavras- chave: Transtorno Depressivo Maior, mitocôndria, metabolismo redox, marcadores inflamatórios, *Araucaria angustifolia*

ABSTRACT

Depression is a mental disorder recognized worldwide as a public health problem. Among the symptoms, sleep disorders, decreased energy, anxiety, deep sadness, and loss of interest in performing activities that were previously considered pleasurable, stand out. Recent studies demonstrate a relationship between inflammation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of depression, generating physiological, psychological, and cognitive consequences. One of the hypotheses that explain the association between these processes is the kynurenine's metabolism. Thus, the development of an *in vitro* depressive-type model is important to help understand the complex mechanism of this disease, as well as to test new drugs that can reduce the rates of refractory patients and also minimize the use of animals in studies that present numerous biases. Thus, the present work aimed to study the relationship between inflammatory processes and mitochondrial alterations triggered by kynurenine catabolites and to develop an *in vitro* model capable of mimicking some of the biochemical alterations reported in depressive patients. In addition, after establishing the model, with the objective of testing new drugs that can reduce the rates of refractory patients and increase adherence to treatment, reducing side effects in relation to conventional drugs, an extract rich in phenolic compounds obtained from *Araucaria angustifolia* (AAE) was tested. (EAA). To simulate the depressive-like condition, BV-2 microglial cells were treated with 10µg/mL of lipopolysaccharide (LPS), associated with kynurenine (KYN), a toxic catabolic, at a concentration of 1000µM, for 24 hours. The association of LPS + KYN reduced cell viability and increased apoptosis rates, in addition to generating mitochondrial dysfunction observed through reduced activities in complexes I and IV of the electron transport chain, levels of ATP, and mitochondrial proteins SIRT1, SIRT3, and NDUFS7 complex I subunit. We also observed an increase in the levels of NO,

intracellular ROS and inflammatory markers such as COX, NF- κ B and p-NF- κ B, mimicking some biochemical and molecular events observed in a significant number of depressive patients. Pre-treatment of cells with EAA avoided all observed changes, except for inflammatory markers. Although more studies are needed, this work shows, for the first time, a depressive-like model capable of simultaneously inducing inflammation, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and apoptosis, *in vitro*. This model has the potential to be used to seek a greater understanding of the etiology of depression and also for the previous screening of potential new drugs or supplements for the treatment of depression.

Keywords: Major Depressive Disorder, mitochondria, redox metabolism, inflammatory markers, *Araucaria angustifolia*