



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

CARLA BRÍGIDA TEIXEIRA MAGALHÃES

EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DO ÁCIDO ACANTOICO
NO MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR CORTICOSTERONA EM
CAMUNDONGOS

FORTALEZA

2024

CARLA BRÍGIDA TEIXEIRA MAGALHÃES

EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DO ÁCIDO ACANTOICO NO
MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR CORTICOSTERONA EM
CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Farmacologia.

Orientadora: Prof. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos Patrocínio

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M165e Magalhães, Carla Brígida Teixeira.

Efeitos comportamentais e neuroquímicos do ácido acantoico no modelo de depressão induzido por corticosterona em camundongos / Carla Brígida Teixeira Magalhães. – 2024.
76 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Mestrado Profissional em Farmacologia Clínica, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Silvania Maria Mendes Vasconcelos Patrocínio s.

1. Corticosterona. 2. Depressão. 3. Estresse oxidativo. 4. Ansiedade. I. Título.

CDD 615.1

CARLA BRÍGIDA TEIXEIRA MAGALHÃES

EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DO ÁCIDO ACANTOICO NO
MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR CORTICOSTERONA EM
CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Farmacologia.

Orientadora: Prof. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos

Aprovada em: 02/12/2024

BANCA EXAMINADORA

Silvânia Maria Mendes Vasconcelos Patrocínio
(UFC)

Jamile Magalhães Ferreira (UNILAB)

Gislei Frota Aragão (UECE)

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua misericórdia e graça, por todos os dias me mostrar sua bondade e seu cuidado, por ser um Deus de detalhes.

Ao meu filho Tobias, que com sua vida me alegra, me motiva, me transforma. Ser sua mãe é indubitavelmente o papel mais desafiador e importante que eu poderia exercer, trocaria todos os títulos por esse.

Ao meu esposo Pedro Lima, pelo amor e companheirismo a cada dia, por sempre me incentivar a ir além do que imagino ser capaz, por ser o primeiro acreditar em mim e a me ajudar. Em todos os momentos, sou grata por dividir a vida com você. Te amo hoje mais que ontem.

Aos meus pais, Carlos e Silvânia que me ensinaram a acreditar na educação e fizeram dela uma prioridade na minha vida, que me apoiam e me deram asas para sonhar.

Aos colegas de laboratório, Morgana, Patrick, Carla, Valeska, Caio, Silveste, Adriana, Edna, Isabel e Lara que me acompanharam nessa jornada, durante, antes e após os experimentos, sou imensamente grata a cada um.

A minha orientadora Prof. Dra. Silvânia Vasconcelos, por me receber como sua aluna, pelas orientações acadêmicas e também pra vida.

Ao professor Dr. Eduardo Ribeiro, que me acompanha e orienta desde a graduação. Obrigada por me apresentar a neurociências.

Aos professores participantes da banca examinadora pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

A todos que de alguma forma contribuíram para minha pesquisa e trabalharam pra que ela fosse possível.

À Fundação de Apoio a Pesquisa Cearense (FUNCAP-CE) pelo apoio financeiro.

“Ninguém caminha sem aprender a caminhar,
sem aprender a fazer o caminho caminhando,
refazendo e retocando o sonho pelo qual se pôs
a caminhar.”

- Paulo Freire

RESUMO

A depressão é um transtorno que acomete mais de 300 milhões de indivíduos, dentre suas causas, sugere-se que a alta concentração de cortisol contribui diretamente em sua fisiopatologia. Assim o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial efeito antidepressivo do ácido acantoico (AA) em camundongos submetidos ao modelo de depressão induzido por administração repetida de corticosterona (CORT) por 21 dias e a partir do 14º foram tratados com ácido acantoico. Camundongos Swiss fêmeas foram divididos em oito grupos: controle (SAL), corticosterona (CORT 20mg/kg), SAL+AA10 (salina + ácido acantoico 10 mg/kg), SAL+AA20 (salina + ácido acantoico 20 mg/kg), CORT+AA10 (CORT 20mg/kg + ácido acantoico 10 mg/kg), CORT+AA20 (corticosterona + ácido acantoico 20mg/kg), SAL+DSV10 (Salina + Desvenlafaxina 10mg/kg), CORT+DSV10 (CORT 20mg/kg + Desvenlafaxina 10mg/kg). Após 1 hora do último tratamento, nos dias 20 e 21 de protocolo, foram realizados testes neurocomportamentais: campo aberto (CA), placa perfurada (PP), labirinto em cruz elevado (LCE), suspensão de cauda (SC) e nado forçado (NF). Por fim, os parâmetros do estresse oxidativo: níveis de malondialdeído (MDA), de nitrito (NO) e de glutathiona reduzida (GSH) foram dosados nas áreas cerebrais: córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE). Os testes comportamentais mostraram que a administração de CORT induziu um efeito comportamento depressivo similar pois aumentou o tempo de imobilidade em 229% na SC e 189% NF quando comparado ao grupo controle. Também foram observadas diminuição nos níveis de GSH de 61% no HC, aumentou os níveis de MDA nas três áreas estudadas (CPF: 71%, HC: 63% e CE: 43%) e de NO no HC (40%) e CE (78%) quando comparado aos grupos controles. O tratamento com AA mostrou um efeito antidepressivo, nos testes de SC e NF, como também seu efeito neuroprotetor sobre o estresse oxidativo, pela reversão da redução nos níveis de GSH, reversão do aumento de MDA e NO induzidos por CORT. Conclui-se que o AA apresentou efeito antidepressivo nos testes comportamentais, os quais parecem estar relacionados aos seus efeitos antioxidantes no modelo de depressão induzida por CORT.

Palavras-chave: Corticosterona; Depressão; Estresse Oxidativo; Ansiedade.

ABSTRACT

BEHAVIORAL AND NEUROCHEMICAL EFFECTS OF ACANTHOIC ACID IN THE CORTICOSTERONE-INDUCED DEPRESSION MODEL IN MICE

Depression is a disorder that affects more than 300 million individuals. Among its causes, it is suggested that high cortisol concentrations directly contribute to its pathophysiology. Thus, the present study aimed to evaluate the potential antidepressant effect of acanthoic acid (AA) in mice subjected to the depression model induced by repeated administration of corticosterone (CORT) for 21 days and from the 14th day they were treated with acanthoic acid. Female Swiss mice were divided into eight groups: control (SAL), corticosterone (CORT 20mg/kg), SAL+AA10 (saline + acanthoic acid 10 mg/kg), SAL+AA20 (saline + acanthoic acid 20 mg/kg), CORT+AA10 (CORT 20mg/kg + acanthoic acid 10 mg/kg), CORT+AA20 (corticosterone + acanthoic acid 20mg/kg), SAL+DSV10 (Saline + Desvenlafaxine 10mg/kg), CORT+DSV10 (CORT 20mg/kg + Desvenlafaxine 10mg/kg). After 1 hour of the last treatment, on days 20 and 21 of the protocol, neurobehavioral tests were performed: open field (AC), perforated plate (PP), elevated plus maze (EPM), tail suspension (SC) and forced swimming (FS). Finally, the oxidative stress parameters: malondialdehyde (MDA), nitrite (NO) and reduced glutathione (GSH) levels were measured in the brain areas: prefrontal cortex (PFC), hippocampus (HC) and striatum (CE). Behavioral tests showed that CORT administration induced a similar depressive-like behavioral effect as it increased the immobility time by 229% in SC and 189% in NF when compared to the control group. A decrease in GSH levels of 61% in HC was also observed, as well as an increase in MDA levels in the three areas studied (PFC: 71%, HC: 63% and CE: 43%) and NO in HC (40%) and CE (78%) when compared to the control groups. Treatment with AA showed an antidepressant effect in the SC and NF tests, as well its neuroprotective effect on oxidative stress, by reversing the reduction in GSH levels and reversing the increase in MDA and NO induced by CORT. It is concluded that AA showed an antidepressant effect in the behavioral tests, which seem to be related to its antioxidant effects in the CORT-induced depression model.

Keywords: Corticosterone; Depression; Oxidative stress; Anxiety.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Principais teorias da fisiopatologia da depressão.....	18
Figura 2- Áreas cerebrais envolvidas na depressão	21
Figura 3- Mecanismos de ação dos principais antidepressivos.....	24
Figura 4- Efeitos biológicos do ácido acantoico.....	26
Figura 5 - Disfunção do Eixo HHA	28
Figura 6 - Delineamento experimental.....	33
Figura 7- Campo aberto.....	34
Figura 8- Labirinto em cruz elevado.....	34
Figura 9- Placa perfurada.....	35
Figura 10 - Suspensão de Cauda	35
Figura 11- Nado forçado.....	36
Figura 12- Efeitos do tratamento com AA teste de Campo aberto: (A) número de cruzamentos, (B) número de grooming (C) e número de rearing em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.....	40
Figura 13- Efeitos do tratamento com AA no teste Labirinto em cruz elevada, em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.....	42
Figura 14- Efeitos do tratamento com AA no teste Placa Perfurada em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.....	43
Figura 15- Efeitos do tratamento com AA no teste Suspensão de Cauda em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.	44
Figura 16- Efeitos do tratamento com AA no teste Suspensão de Cauda em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT	45
Figura 17- Níveis de GSH (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT e submetidos, posteriormente, ao tratamento com AA.....	47

Figura 18- Níveis de MDA (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT e submetidos, posteriormente, ao tratamento com AA	49
Figura 19 -Níveis de NO (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT e submetidos, posteriormente, ao tratamento com AA	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Representação esquemática dos efeitos do AA e DVS sobre o comportamento e marcadores neuroquímicos de camundongos submetidos ao modelo de depressão induzido por corticosterona.....	52
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido acantoico
ADT	Antidepressivos Tricíclicos
CA	Campo aberto
CAT	Catalase
CE	Corpo Estriado
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal
CORT	Corticosterona
CPF	Córtex Pré-Frontal
CRH	Fator Liberador de Corticotrofina
DA	Dopamina
DMSO	Dimetilsufóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTNB	5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)
DVS	Desvenlafaxina
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
GSH	Gluatationa Reduzida
H2O2	Peróxido de hidrogênio
HC	Hipocampo
HCl	Ácido clorídrico
HHa	Hipotálamo- Hipófise- Adrenal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia Estatística
IMAOs	Inibidores da Monoaminoxidase
IRSN	Inibidores da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina
ISRS	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina
LCE	Labirinto em Cruz Elevada
MAO	Monoaminoxidase
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
MDA	Malondialdeído
NA	Noradrenalina
NaNO2	Nitrito de Sódio

NEBA	Número de entrada nos braços abertos
NEBF	Número de entradas nos braços fechados
NF	Nado Forçado
NO	Nitrito
NT3	Neurotrofina 3
OMS	Organização Mundial de Saúde
SC	Suspensão de Cauda
SOD	Superoxidodesmutase
TBARS	Espécies reativas do ácido tiobarbitúrico
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TEBA	Tempo de permanência nos braços abertos
TPBF	Tempo de permanência nos braços fechados
TrkA	Receptor de tropomiosina quinase A
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
UFC	Universidade Federal do Ceará
5-HT	Serotonina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Depressão	17
1.2	Fisiopatologia da depressão.....	17
1.3	Tratamento farmacológico.....	21
1.4	Ácido acantoico.....	25
1.5	Modelo de depressão induzida por corticosterona.....	26
2	RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	29
3	OBJETIVOS.....	30
3.1	Objetivo geral.....	30
3.2	Objetivo específico.....	30
4	METODOLOGIA.....	31
4.1	Animais	31
4.2	Modelo de depressão induzido por corticosterona.....	31
4.3	Ácido acantoico	31
4.4	Desvenlafaxina	31
4.5	Protocolo experimental	32
4.6	Testes comportamentais	33
4.6.1	Teste de campo aberto.....	33
4.6.2	Teste labirinto em cruz elevado	34
4.6.3	Teste placa perfurada	35
4.6.4	Teste de suspensão de cauda.....	35
4.6.5	Teste de nado forçado	36
4.7	Determinação de parâmetros de estresse oxidativo	36
4.7.1	Concentração de glutathiona reduzida.....	37
4.7.2	Avaliação da peroxidação lipídica	37
4.7.2	Concentração de nitrito.....	37
4.8	Análise estatística.....	38
5	RESULTADOS.....	39
5.1	Testes comportamentais.....	39
5.1.1	Efeitos da administração de CORT, AA ou DVS sobre a atividade locomotora de camundongos no teste de campo aberto	39

5.1.2	Efeitos da administração de CORT, AA ou DVS sobre o comportamento ansioso de camundongos no teste de labirinto em cruz levado.....	41
5.1.3	Efeitos da administração de CORT, AA ou DVS sobre a atividade exploratória no teste placa perfurada	43
5.1.4	Efeitos da administração de CORT, AA ou DVS sobre o tempo de imobilidade no teste de suspensão de cauda	44
5.1.5	Efeitos da administração de CORT, AA ou DVS sobre o tempo de imobilidade no teste de nado forçado.....	45
5.2	Análise dos parâmetros de estresse oxidativo.....	46
5.2.1	Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre a concentração de GSH no CPF, HC e CE de camundongos.....	46
5.2.2	Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre a concentração de MDA no CPF, HC e CE de camundongos.....	48
5.2.3	Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre a concentração de NO no CPF, HC e CE de camundongos.....	50
6	DISCUSSÃO.....	53
7	CONCLUSÃO.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62
	ANEXO A- CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA).....	80
	ANEXO- CG/EM DO ÁCIDO ACANTOICO.....	81

1 INTRODUÇÃO

1.1 Depressão

O mais recente Relatório Mundial de Saúde Mental, publicado em 2022 pela Organização Mundial de Saúde (OMS), mostrou um aumento nos casos de ansiedade e depressão em mais de 25% dentro de um período de um ano. É estimado que cerca de 300 milhões de pessoas sofram com depressão. E no Brasil, este número se aproxima dos 14 milhões. Ainda de acordo com a OMS, o transtorno depressivo maior (TDM) possui alta incidência e prevalência. Ademais, na Pesquisa Nacional de Saúde de 2019, conduzida pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), há maior prevalência do TDM em mulheres (14,7%) do que em homens (5,1%).

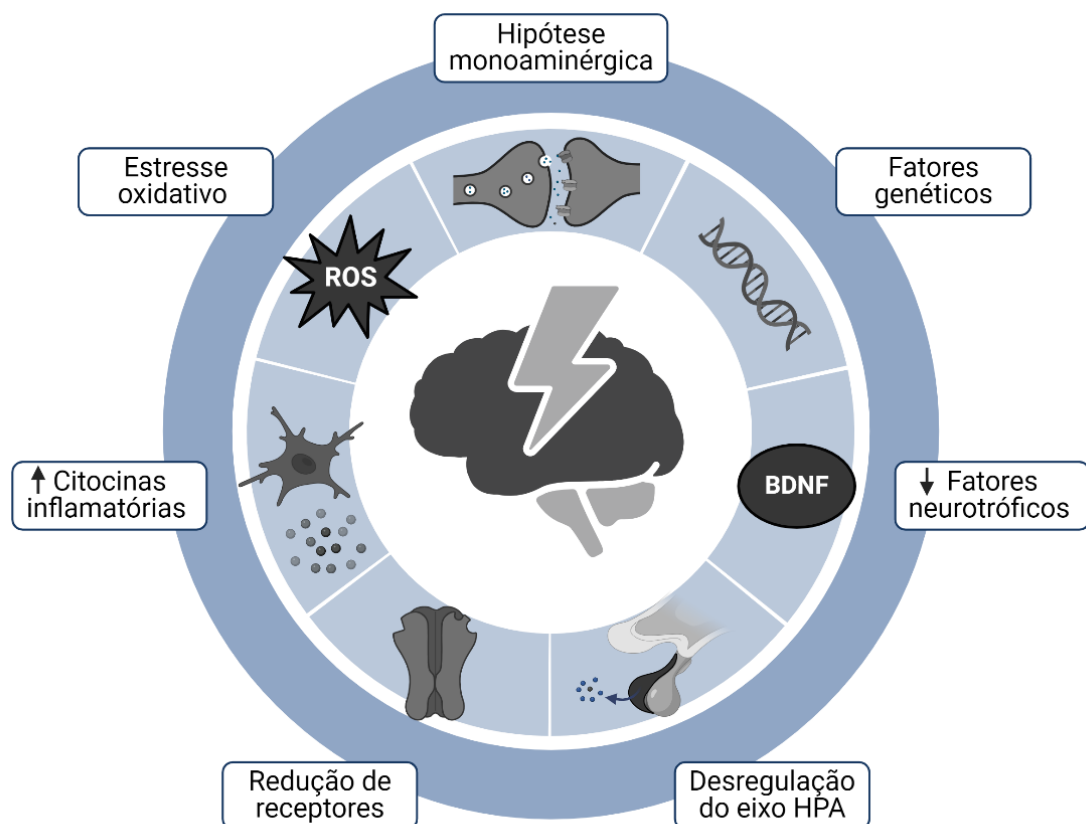
O TDM trata-se de uma condição incapacitante, dada as suas comorbidades, afetando negativamente pensamentos, atitudes e sentimentos dos acometidos, acompanhados de manifestações fisiológicas. Sintomas mais comuns são: irritação, fadiga, insônia, humor deprimido, anedonia (interesse diminuído ou perda de prazer para realizar as atividades de rotina), sensação de inutilidade ou culpa excessiva, dificuldade de concentração (habilidade frequentemente diminuída para pensar e concentrar-se), fadiga ou perda de energia, distúrbios do sono (insônia ou hipersonia), problemas psicomotores (agitação ou retardo psicomotor), perda ou ganho significativo de peso, ideias recorrentes de morte ou suicídio. Vale salientar que o suicídio ocupa o 2º lugar como causa de morte de pessoas na faixa etária de 19 a 25 anos em todo o mundo (Park; Zarate, 2019; Associação Americana de Psiquiatria, 2021; Organização Mundial de Saúde, 2022).

Desta forma, o transtorno tem se tornado um problema socioeconômico grave, uma vez que há prejuízo no funcionamento global dos indivíduos que sofrem dessa doença incapacitando-os para o trabalho e demais atividades cotidianas (Lakhan; Agrawal; Sharma, 2020). O cenário mundial pós pandemia do COVID-19, mostra uma preocupante epidemiologia, com aumento dos transtornos mentais (Mazza et al., 2022). A depressão é um problema de saúde pública, levantando o interesse científico, apesar de diversos estudos sua fisiopatologia e etiologia não são amplamente elucidadas. As teorias propostas para elucidar a fisiopatologia do TDM correlacionam desde fatores neurobiológicos a aspectos socioambientais, afetando indivíduos de todos os gêneros, idades e condições sociais (Alacevich et al., 2023).

1.2 Fisiopatologia da depressão

Definir as causas e fatores envolvidos na patogenia da depressão ainda é alvo de interesse da comunidade científica. Uma vez que são sugeridos diversos fatores genéticos e ambientais. Dentre as hipóteses que buscam esclarecer os mecanismos do transtorno depressivo podemos citar: hipóteses das monoaminas, alterações na neurotransmissão gabaérgica e glutamatérgica, hipótese receptor/neurotransmissor, desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), hipótese neurotrófica, via do óxido nítrico e estresse oxidativo (Alacevich et al., 2023) (Figura 1).

Figura 1. Principais teorias da fisiopatologia da depressão.



Fonte: Autoria própria, feito com Biorender.

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), composto pelo hipotálamo, hipófise e glândulas adrenais, desempenha um papel crucial na depressão. E está intimamente ligado a regiões cerebrais como o hipocampo e a amígdala do sistema límbico. O estresse atua como o principal fator de ativação do sistema HHA, resultando em um aumento nos níveis de cortisol

e uma hipertrofia da glândula pituitária. Esse aumento de cortisol tem sido associado ao surgimento de problemas cognitivos e uma desregulação sistema imunológico. De acordo com essa teoria, o estresse crônico impede que o cérebro regule adequadamente a atividade do sistema HHA (Liyanarachchi et al., 2017, Johnston et al., 2023).

O aumento de glicocorticoides em resposta ao estresse, suprimem a neurogênese, em áreas como o hipocampo e podem induzir morte neuronal. E ainda com a repetição e cronicidade da exposição a fatores estressores o eixo HHA torna se hiperativo. Estudos clínicos comprovam a relação do eixo HHA com a depressão. Dentre as evidências estão o aumento dos níveis do fator liberador de corticotrofina (CRH) no líquido cefalorraquidiano e aumento dos níveis de cortisol e aumento do cortisol livre na urina. Cabe ressaltar que em roedores a corticosterona corresponde ao cortisol nos humanos, como indicadores de estresse (Kandel et al., 2023).

Outro fator a ser destacado na fisiopatologia da depressão é o estresse oxidativo. Compreende-se como estresse oxidativo o desequilíbrio entre os sistemas de defesa antioxidante endógenos e a formação de radicais livres, estes podem ser derivados de oxigênio, classificando-se como espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) (Yoshikawa; Naito, 2002). O tecido cerebral possui alto teor lipídico, devido as membranas celulares, também há o consumo de grandes quantidades de oxigênio, tornando-o especialmente vulnerável ao dano oxidativo, onde diversos distúrbios neuropsiquiátricos têm sido associados a formação de radicais livres (Forte et al., 2023).

Radical livre se refere aos átomos ou grupos de átomos possuem um elétron desemparelhado na sua camada de valência, o que os torna extremamente reativos, contribuindo com o processo oxidativo, causando danos às estruturas celulares como proteínas, lipídeos e DNA, impulsionando processos danosos, entre eles, o envelhecimento, inflamação, neoplasias e a neurodegeneração (Gardès-Albert, 1991). Dessa maneira, tendo em vista a relação dos radicais livres com as patologias neuropsiquiátricas, no sentido de melhor entender a fisiopatologia destas condições o estresse oxidativo é alvo de estudo de diversas pesquisas (Bhatt, 2023).

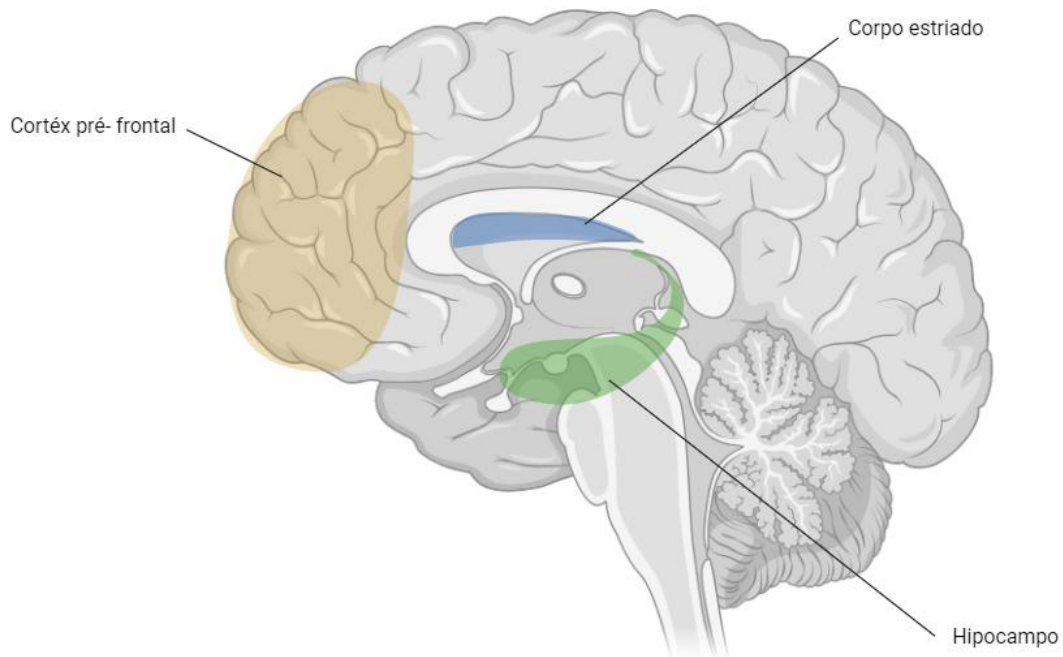
Ressalta-se que as ERO são elementos de difícil identificação experimental, o que se explica pela sua meia-vida de rápida duração. Os sistemas antioxidantes são de extrema importância para impedir os danos oxidativos e, desta forma, evitar o ataque aos lipídeos, proteínas e DNA celulares. As células combatem os radicais livres por meio de dois

mecanismos: impedindo a sua formação ou inativando-os diretamente (Finkel, 2011). Em pacientes deprimidos existem não só alterações nas enzimas antioxidantes, Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GSH-Px), mas também um aumento na peroxidação lipídica quando em comparação com indivíduos não deprimidos. A literatura tem relatado, de forma crescente, um aumento do dano oxidativo na depressão, sugerindo que impulsionar os sistemas de defesa antioxidante se faz de extrema importância na desordem (Lima, 2016; Sousa, 2022; Silva, 2024).

Ademais, estruturas cerebrais como o córtex pré-frontal, corpo estriado e hipocampo tem um importante papel no contexto da depressão (Tozzi et al., 2016) (Figura 2). O córtex pré-frontal uma das áreas do cérebro mais estudadas na biologia da depressão, está associado a funções importantes, como a resolução de problemas, análise, controle de impulsos, motivação, recompensas, respostas sociais, atenção seletiva, controle de emoção e memória de trabalho (Cai et al., 2013; Liu et al., 2017, Yan; Rein 2022). Foi relatado que a depressão evolui clinicamente com uma redução no tamanho do córtex pré-frontal, alterações na atividade, plasticidade neuronal e hemodinâmica (Sing; Gotlib, 2014; Liu et al., 2017). Assim, alterações nessa área são frequentemente associadas a perda de concentração e atenção, compulsão, déficits cognitivos e ideação suicida (Miller; Cohen, 2001; Young et al., 2016; Liu et al., 2017).

O hipocampo, por sua vez, é uma área do cérebro associada com sintomas como apatia, perda de interesse, alterações do sono, alterações no peso/apetite e déficit de memória, presentes em muitos pacientes deprimidos (Jayaweera et al., 2015; Liu et al., 2017, Zhang et al., 2023). Evidências mostram que o hipocampo é estritamente ligado à regulação do eixo HHA por apresentar expressão densa de receptores de glicocorticóides responsáveis pelo controle de feedback negativo (Sterner; Kalynchuk, 2010; Liu et al., 2017). O corpo estriado é outra área que tem relação com a depressão, atua principalmente na inibição das ações desencadeadas pelo córtex e estruturas associadas através das projeções GABAérgicas (Hollerman; Tremblay; Schultz, 2000). Dessa forma é possível observar que o TDM afeta a atividade de diversas áreas cerebrais. Há relatos na literatura de alterações em demais estruturas, como: hipotálamo, amígdala, córtex-cingulado anterior, córtex orbitofrontal, ínsula, córtex pré-frontal dorsolateral e gânglios da base, essas alterações afetam tanto a morfologia como na funcionalidade, mostrando uma heterogeneidade de mecanismos fisiopatológicos da depressão, e que a compreensão destes pode auxiliar no desenvolvimento de farmacoterapias eficazes (Rozenthal; Laks; Engelhardt, 2004; Zhang et al., 2023).

Figura 2. Áreas cerebrais envolvidas na depressão.



Fonte: Autoria própria, feito com Biorender.

1.2 Tratamento farmacológico

Na segunda metade do século XX surgem os antidepressivos. O desenvolvimento desta classe farmacológica constitui um avanço na indústria farmacêutica é decorrente da expansão industrial da época, uma vez que, além de gerar lucro para as empresas, contribuiu para minimizar e/ou tratar os problemas de saúde. Assim, através do desenvolvimento de pesquisas científicas e da prática clínica, foi observado que os medicamentos da classe dos antidepressivos, podem auxiliar no tratamento de pacientes, não só com sintomas depressivos, mas também nos que apresentavam distúrbios de ansiedade, por exemplo (Bittencourt; Caponi; Maluf, 2013).

Esses fármacos podem ser classificados de acordo com seus mecanismos de ação e características farmacológicas e químicas. Assim, podemos classificá-los em: Antidepressivos Tricíclicos, Inibidores da Monoaminoxidase, Inibidores da Recaptação Seletiva de Serotonina, e Inibidores da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina (Katzung; Masters; Trevor, 2024). As primeiras classes de fármacos para o tratamento da depressão foram os inibidores da monoaminoxidase (IMAO), tais como: Iproniazida, Nialamida, Iproclozida, Feniprazina e Isocarboxazida. Esses antidepressivos, descobertos em 1956, bloqueiam a enzima mitocondrial (MAO), presente no tecido nervoso, que provoca a inativação de alguns neurotransmissores

como norepinefrina, dopamina e serotonina.

Assim, os IMAOs impedem a destruição desses neurotransmissores, aumentando a sua concentração na sinapse. Essa enzima, presente no tecido nervoso, apresenta duas classes: MAO-A e MAO-B. A MAO-A metaboliza, de preferência, a serotonina (5-HT), mas também metaboliza noradrenalina (NA) e dopamina (DA); já a MAO-B metaboliza dopamina (DA) mais rápido do que Noradrenalina (NA) e serotonina (5-HT) (Gorenstein; Scavone, 1999). A inibição da MAO pode ser não-seletiva e irreversível (tranilcipromina e fenelzina) ou reversível e seletiva para MAO-A (moclobemida). Os efeitos colaterais mais importantes (mais comuns com os IMAO não-seletivos e irreversíveis) são: hipotensão ortostática, diarreia, edema periférico, taquicardia e ansiedade. Há risco de crises hipertensivas por interação com tiramina de alimentos e medicações simpatomiméticas, o que limita seu uso em idosos. O desenvolvimento dos inibidores de MAO-A, reversíveis e seletivos, ofereceu uma alternativa mais segura e bem tolerada, com resposta pressórica mínima à tiramina, minimizando a necessidade de restrições dietéticas (Katzung; Masters; Trevor, 2024).

As drogas Imipramina, Trimipramina, Amitriptilina, Nortriptilina e Doxepina compõem a classe dos antidepressivos tricíclicos (ADT). Dependendo da droga, apresentam diferentes mecanismos de ação, atuando no Bloqueio da Recaptação de Noradrenalina; Bloqueio parcial da captação e inativação de Serotonina; Bloqueio de Receptores Adrenérgicos Alfa-1; Bloqueio dos Receptores de Histamina H-1; Bloqueio dos Receptores Colinérgicos Muscarínicos M-1, como também no Bloqueio dos canais de sódio. A nomenclatura dos ADTs é decorrente da sua estrutura química, onde sua estrutura apresenta três anéis benzênicos (Katzung; Trevo, 2024). Os efeitos desejáveis são oriundos da inibição da recaptação de serotonina e noradrenalina; já as ações indesejáveis são oriundas do antagonismo alfa-1, causando tontura, hipotensão e sonolência nos pacientes; ações anti-histamínicas H-1, resultando em sonolência e ganho de peso; e ações anticolinérgicas muscarínicas M-1, causando constipação, visão turva, boca seca e sonolência. Assim, apesar de grande benefício para os sintomas depressivos, apresentam grandes efeitos adversos (Katzung; Masters; Trevor, 2024).

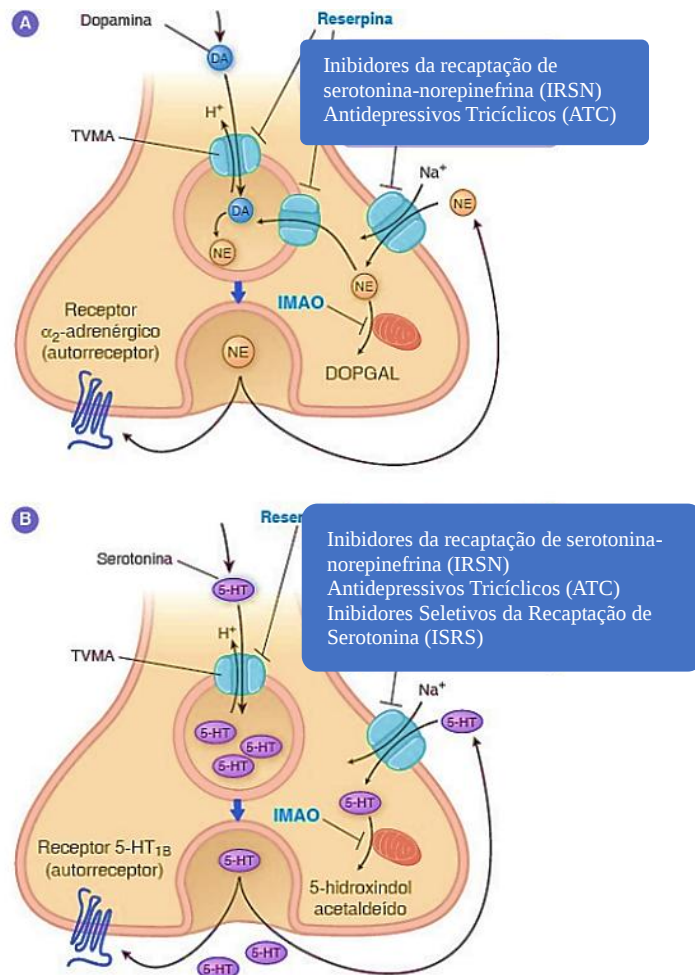
Apesar de terem surgido várias classes de antidepressivos na segunda metade do século XX, os antidepressivos inibidores da monoaminoxidase e os tricíclicos foram os únicos disponíveis por alguns anos. Isso dificultou o tratamento da depressão, uma vez que as drogas dessas classes de antidepressivos apresentam efeitos colaterais diversos entre os pacientes (Brasil, 2012). O surgimento dos medicamentos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), bem como os inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN),

contribuíram apresentando um grande avanço no tratamento médico da depressão, revolucionando-o, onde surgiram novas alternativas de tratamentos farmacológicos (Katzung; Masters; Trevor, 2024).

Drogas com ação unicamente sobre a serotonina, foram descobertas na década de 1980, como a Fluoxetina, Sertralina, Paroxetina, Escitalopram e Citalopram, atuam provocando um aumento da concentração de serotonina na fenda sináptica, intensificando a transmissão serotoninérgica. A serotonina atua em três receptores chaves de serotonina: receptor 5-HT-1A, 5-HT-2, e 5-HT-3. Uma parte do aumento de atividades dos receptores de serotonina, como o 5-HT 1A, é benéfica, sendo responsável pelas ações terapêuticas. Em contrapartida, aumentar os níveis de serotonina em outras vias e através de outros receptores como o 5-HT-2, e 5-HT-3, pode causar efeitos indesejáveis (Moreno, 1999). Já os Inibidores da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina (IRSN), onde se enquadram as drogas Venlafaxina, Desvenlafaxina, Duloxetina e Milnaciprano, por exemplo, atuam inibindo reversivelmente o processo de recaptação dos neurotransmissores envolvidos. Apresentam uma atividade fraca quanto à recaptação de dopamina, precursor dos outros neurotransmissores catecolamínicos (epinefrina e norepinefrina). São mais potentes do que os ISRS e apresentam menos efeitos colaterais do que os tricíclicos (Gorenstein; Scavone, 1999).

Embora existam vários fármacos atualmente disponíveis para o TDM, ainda se observa que existem muitos efeitos colaterais, que juntamente com a demora de início de efeitos, entre 4 a 8 semanas, podem levar a uma baixa adesão ao tratamento, bem como abandono de terapia. Outro ponto relevante é que 30% dos pacientes com depressão são resistentes a farmacoterapia. Assim, as problemáticas apresentadas acerca dos fármacos existentes, fazem persistente a pesquisa de novos compostos com potencial antidepressivo (Singh et al., 2017). O mecanismo de ação dos principais antidepressivos está ilustrado na Figura 3.

Figura 3: Mecanismos de ação dos principais antidepressivos.



Fonte: Adaptado de Golan 2010. Na figura, TVMA: Transportador vesicular de monoaminas; IMAO: Inibidor de monoamina oxidase.

1.4 Ácido acantoico

Diante da necessidade de encontrar substâncias com ação antidepressiva e menos efeitos colaterais, com início de reversão dos sintomas mais rápido e eficaz em pacientes resistentes, a pesquisa de produtos naturais e substâncias isolados emerge. O ácido acantóico, (-)-pimara-9-(11),15-dien-19-óico (AA), é um ácido carboxílico, do tipo diterpeno piramidino. Os diterpenos são um grupo de terpenoides encontrados como metabólitos secundários em organismos terrestres e marinhos. Eles ocorrem em uma estrutura C-20 onde unidades de isopreno se

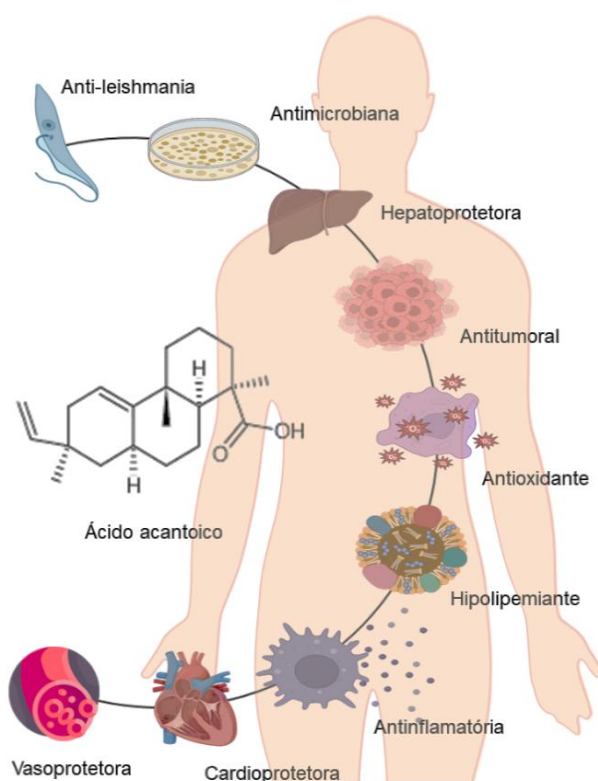
combinam em diferentes formas (Córdova-Guerrero et al., 2013). O ácido acantojico foi inicialmente descrito por Kim et al., (1988), a partir da casca do caule de *Acanthopanax koreanum*.

No trabalho de Pinheiro e colaboradores 2009, o ácido acantoico foi isolado da espécie brasileira *Annona amazonica* e seus efeitos anti-*leishmania* avaliados. Demais estudos revelam atividades biológicas do ácido acantóico, como anticâncer, anti-inflamatório, anti-hipoglicêmico, ação hepatoprotetora, proteção gastrointestinal e cardiovascular, ainda, alguns estudos se concentram na modificação estrutural do AA para melhorar suas atividades farmacológicas (Cai et al., 2003; Lam et al., 2003; Suh et al., 2004; Wu et al., 2010; Qiushi; Guanghua; Guangquan, 2015; Marinho et al., 2019; Kasemsuk et al., 2021) (Figura 4). Está presente também nas espécies *Mikania sp.* (Asteraceae), *Rollinia pittieri*, *R. exsucca* (Annonaceae), *Aralia racemosa* e *Croton oblongifolius* Roxb (Nunez et al., 2004).

Dentre os mecanismos responsáveis pelas ações farmacológicas do AA, estão a capacidade de inibir a secreção de fatores pró-inflamatórios, como a interleucina-1 (IL-1), o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e a interleucina-8 (IL-8). Como também a ativação das subunidades p110 γ e p110 δ da PI3K, que inibe a estimulação dependente de LPS de IKK/NF- κ B e p38 e ERK MAPKs (Kang et al., 2006; Través et al., 2014; Li et al., 2016). Além disso é agonista do receptor X do fígado (LXR), que regulam a fibrose hepática, lipogênese, doença cardiovascular e resposta inflamatória (Tontonoz; Mangelsdorf, 2003; Bai et al., 2014; Yao et al., 2017; Han et al., 2019). O AA ativa a via de sinalização receptores Toll-Like 4 (TLR4), fator nuclear-kappa B (NF- κ B), agindo na inflamação, assim como na via de sinalização da proteína quinase ativada por AMP (AMPK). Pode regular as atividades do óxido nítrico (NO) e COX-2, importantes na inflamação (Kang et al., 2006; Través et al., 2014; Li et al., 2016).

Portanto, o AA se destaca como um composto promissor de fonte vegetal e renovável no desenvolvimento de novos fármacos. No entanto, há uma ausência de pesquisas das ações do composto no SNC. Visto que há um potencial efeito antioxidante e anti-inflamatório do composto e estes fatores estão relacionados com a fisiopatologia da depressão, uma vez que a ação dos diterpenos no sistema nervoso central já foi relatada na literatura. Ademais, estudos relacionados aos seus parâmetros farmacocinéticos como absorção, distribuição, metabolização, excreção além da toxicidade ainda necessitam ser realizados (Wasowski; Marder, 2011; Costa et al., 2012; Costa et al., 2014; Ayatollahi et al., 2017).

Figura 4. Efeitos biológicos do ácido acantoico.



Fonte: Autoria própria, feito com Biorender.

1.5 Modelo de depressão induzido por corticosterona

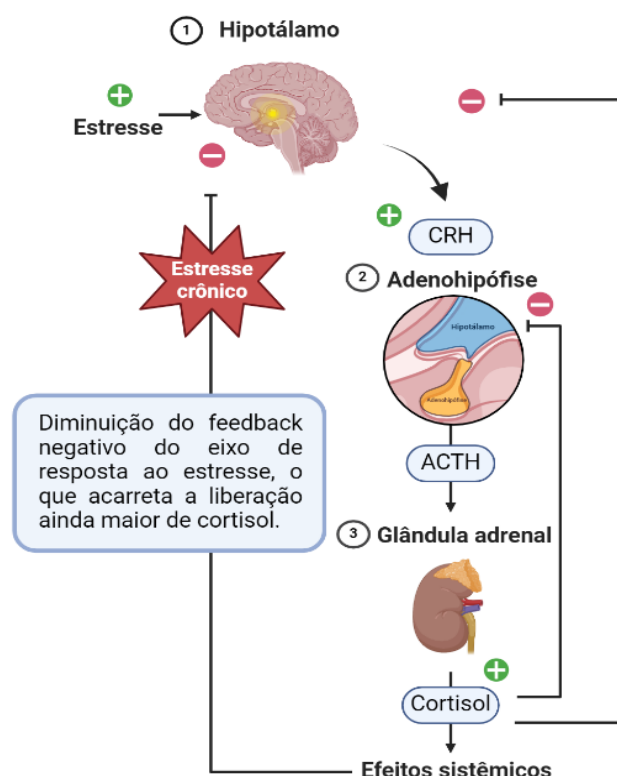
Diversos modelos animais foram propostos para investigar ação antidepressiva de fármacos e estudar a fisiopatologia da depressão (Gregus, 2005; Silva et al., 2013). Nos transtornos de humor, o estresse é considerado o fator de risco mais comum, sendo utilizado nos modelos animais vários estressores para induzir comportamentos semelhantes à depressão, incluindo estresse psicossocial (separação materna, desamparo aprendido, estresse crônico e isolamento social), lesão (bulbectomia olfatória), farmacológicos (reserpina, triptofano, abstinência de psicoestimulantes e corticosterona) e inflamatórios (lipopolissacarídeo) (Sousa, 2015).

O estresse crônico pode levar a um aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticoides: corticosterona em roedores e cortisol em humanos. A corticosterona (CORT) é o principal glicocorticoide sintetizado no córtex adrenal de roedores e secretado em resposta ao estresse.

Esse aumento é resultante de uma desregulação do eixo HHA (Figura 5) com consequente morte dos neurônios hipocampus (Zorn et al., 2017). A literatura relata em estudos clínicos e experimentais a hiperatividade do eixo HHA na patogênese da depressão (Sousa 2015; Menke et al., 2018).

A administração de doses repetidas de corticosterona é muito utilizada farmacologicamente como modelo pré-clínico de indução de comportamento tipo-depressivo, apresentando boa aceitação e de fácil reprodução nas experiências científicas, nosso grupo de pesquisa tem uma vasta experiência com o modelo (Sousa et al., 2015 2018; Oliveira et al., 2017, 2022; Silva et al., 2016, Torres, 2023). Como também tem se observado que o tratamento com antidepressivos reverte as alterações comportamentais (validação de face) e neurobiológicas (validação de constructo) produzidas pela corticosterona, legitimando a validade do referido modelo (Stern, Kalynchuk, 2010). A partir destas evidências, entende-se que o modelo de depressão animal, induzido por corticosterona, tem se mostrado útil na pesquisa em psiquiatria, fornecendo dados importantes para o desenvolvimento de novos agentes antidepressivos, como também para o desenvolvimento de estudos sobre os mecanismos fisiopatológicos da depressão (Stern; Kalynchuk, 2010).

Figura 5. Disfunção eixo HHA.



Fonte: Adaptado de McCarty (2016), feito com Biorender. Na figura: CRH: Hormônio Liberados de Corticotrofina; ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico.

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

A depressão é um transtorno crônico de alta incidência e prevalência. E de acordo com a OMS, afeta uma parcela significativa da população mundial (OMS, 2022). Apesar do número crescente de pesquisas acerca da neurobiologia da depressão e mecanismo de ação dos antidepressivos, o manejo farmacológico existente se baseia praticamente na clássica hipótese das monoaminas (Schildkraut, 1965; Racagni; Popoli, 2010). Um grande desafio para os medicamentos disponíveis atualmente, é que apenas 30% dos pacientes com depressão respondem à terapia com antidepressivos, juntamente com os índices de efeitos adversos que causam a não adesão destes fármacos e demora da melhora clínica (OMS, 2022). Para o estudo de depressão a nível pré-clínico são necessários modelos animais. O modelo animal de indução de depressão por corticosterona tem a vantagem por induzir depressão animal, e ainda alguns autores o reconhecem como um modelo de depressão resistente (Ago et al, 2013).

Devido o ácido acantoico apresentar um efeito antioxidante e anti-inflamatório, surge a necessidade de investigar seus efeitos em doenças neuropsiquiátricas, tais como a depressão. Diante do rico potencial terapêutico demonstrado pelo AA e da ausência na literatura de estudos acerca de seu efeito antidepressivo, faz-se relevante e necessário o presente estudo na tentativa de elucidar os possíveis mecanismos neuroprotetores do AA. Juntamente com a necessidade do desenvolvimento de fármacos que sejam eficazes e com o mínimo de efeitos adversos possível, proporcionando uma melhora da qualidade de vida dos pacientes (Tráves et al., 2014, Li et al., 2016). Nessa perspectiva, foi realizado um estudo acerca dos efeitos comportamentais e antioxidantes do ácido acantoico em modelo animal de depressão induzido por corticosterona.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar os efeitos do ácido acantoico nas alterações comportamentais e neuroquímicas no modelo animal de depressão induzida por corticosterona.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos do ácido acantoico na atividade locomotora e exploratória no teste de campo aberto do ácido acantoico em modelo animal de depressão induzida por corticosterona.
- Avaliar os efeitos do ácido acantoico no comportamento ansioso-símile nos testes de labirinto em cruz elevada e placa perfurada do ácido acantoico em modelo animal de depressão induzida por corticosterona.
- Avaliar os efeitos do ácido acantoico nos testes suspensão de cauda e nado forçado do ácido acantoico em modelo animal de depressão induzida por corticosterona
- Avaliar os efeitos do ácido acantoico nas concentrações de glutathione reduzida, malondialdeído e nitrito no córtex-pré-frontal, hipocampo e corpo estriado em modelo animal de depressão induzida por corticosterona.

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas, a fim de representar a prevalência epidemiológica do transtorno que acomete mais mulheres. Os animais possuíam entre 20-25g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$), com ciclo claro/escuro de doze horas e recebendo água e comida à vontade. Este estudo foi desenvolvido de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que estão em conformidade com as normas internacionais de pesquisas científicas envolvendo animais (NIH, 1996), sob aprovação de número 2616120523 da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFC), certificado de approve em Anexo A.

4.2 Modelo de depressão induzido por corticosterona

Depressão foi induzida pela injeção de CORT (corticosterona, 21 acetato, Sigma-Aldrich, U.S.A) suspensa em solução salina, contendo 0,1% de dimetil sulfoxido (DMSO) e Tween-80 0,3%. A administração foi diariamente, uma vez ao dia, na dose de 20 mg/kg, por via subcutânea (s.c) durante 21 dias conforme os estudos anteriores do nosso grupo (Sousa et al., 2015,2018; Silva et al., 2016; Oliveira et al., 2017, 2022; Torres, 2023).

4.3 Ácido acantoico

O diterpeno utilizado neste trabalho foi isolado de *Annona amazonica* (Annonaceae) conforme descrito por Pinheiro et al., (2009), em parceria com os autores da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIFVASF). Grau de pureza: 98%, demonstrados na Cromatografia Gasosa e Ressonância Magnética no Anexo B.

4.4 Desvenlafaxina

Succinato de desvenlafaxina monoidratada (DVS) (Lab. Wyeth) foi macerada e dissolvida em água destilada. A droga foi administrada por via oral (gavagem), durante 7 dias consecutivos na dose de 10mg/kg, em volume de 10ml/kg. A dose para DVS determinada com base em estudos anteriores (DE SOUSA et al., 2018; DE SOUSA., 2019).

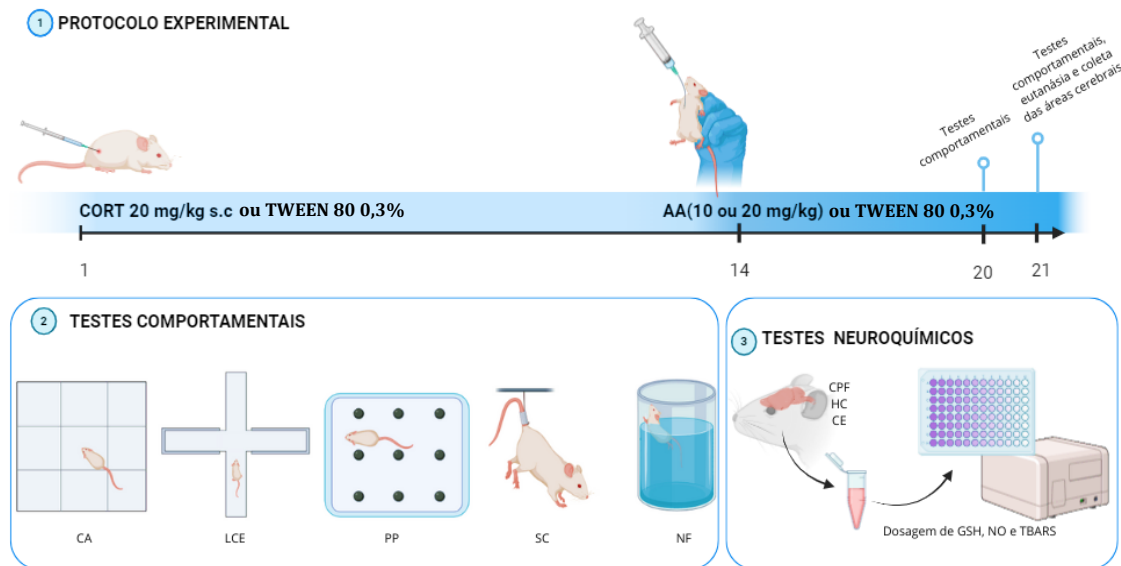
4.5 Protocolo experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em 8 grupos:

- Grupo SAL+SAL (Controle): Os animais receberam uma injeção diária de tween 80 0,3% diluído em salina (via subcutânea) durante 21 dias consecutivos, do 15º ao 21º dia receberam salina (via oral por gavagem).
- Grupo SAL+AA10: Os animais receberam uma injeção diária de tween 80 0,3% diluído em salina (via subcutânea) durante 21 dias consecutivos, do 15º ao 21º dia receberam AA 10 mg/kg (via oral por gavagem).
- Grupo SAL+AA20: Os animais receberam uma injeção diária de tween 80 0,3% diluído em salina (via subcutânea) durante 21 dias consecutivos, do 15º ao 21º dia receberam AA 20 mg/kg (via oral por gavagem).
- Grupo SAL+DSV10: Os animais receberam uma injeção diária de tween 80 0,3% diluído em salina (via subcutânea) durante 21 dias consecutivos, do 15º ao 21º dia receberam DSV 10 mg/kg (via oral por gavagem).
- Grupo CORT+SAL: Os animais receberam uma injeção diária de CORT 20mg/kg (via subcutânea) durante 21 dias consecutivos, do 15º ao 21º receberam tween 80 0,3% diluído em salina (via oral por gavagem).
- Grupo CORT+AA10: Os animais receberam uma injeção diária de CORT 20mg/kg (via subcutânea) durante 21 dias consecutivos, do 15º ao 21º dia receberam AA 10mg/kg (via oral por gavagem).
- Grupo CORT+AA20: Os animais receberam uma injeção diária de CORT 20mg/kg (via subcutânea) durante 21 dias consecutivos, do 15º ao 21º dia receberam AA 20mg/kg (via oral por gavagem).
- Grupo CORT+DVS: Os animais receberam uma injeção diária de CORT 20mg/kg (via subcutânea) durante 21 dias consecutivos, do 15º ao 21º dia receberam DVS 10mg/kg (via oral por gavagem).

Os testes comportamentais: campo aberto, placa perfurada, labirinto em cruz elevado, suspensão de cauda e nado forçado, seguidos da dissecação das áreas cerebrais: córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE), ocorreram no 20º e 21º dia de tratamento, após uma hora da última administração, conforme delineamento experimental ilustrado na figura 6. Os testes foram filmados e analisados posteriormente pelo software *Anymaze*.

Figura 6. Delineamento experimental.



Fonte:

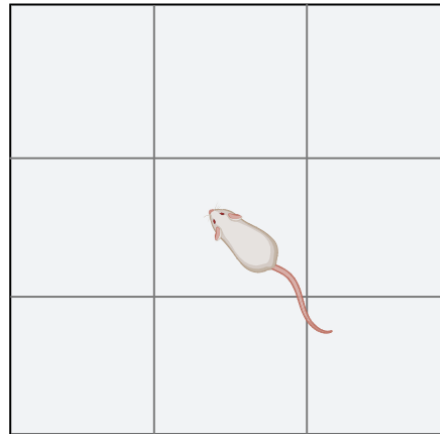
Autoria própria, feito com Biorender. Desenho experimental do protocolo realizado e drogas administradas por 21 dias consecutivos e os procedimentos ao final do protocolo. Legenda: CORT: Corticosterona; AA: Ácido acantóico; SAL: Salina; CA: Campo aberto; LCE: Labirinto em cruz elevado; PP: Placa perfurada; SC: Suspensão de cauda; NF: Nado forçado; CPF: Córtex pré-frontal; HC: Hipocampo; CE: Corpo estriado; GSH: Glutathiona reduzida; TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

4.6 Testes comportamentais

4.6.1 Teste de campo aberto

O aparato utilizado para a realização do teste de campo aberto (CA) com camundongos é feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm), é dividido em 9 quadrantes iguais, metodologia utilizada para avaliar a atividade exploratória do animal (Archer, 1973). Os parâmetros investigados foram: número de comportamentos de autolimpeza (grooming) e número de explorações verticais (rearing) número de cruzamentos, registrados após 1 minuto de habituação, por 5 minutos (Figura 7).

Figura 7. Campo aberto.

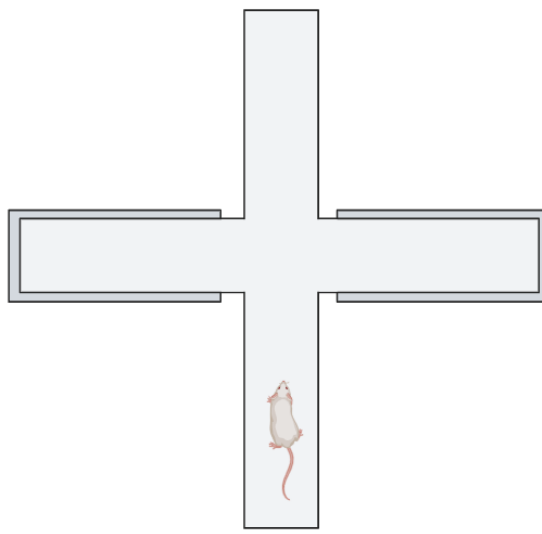


Fonte: Autoria própria, feito com Biorender.

4.6.2 Teste de labirinto em cruz elevado

Através do teste de labirinto em cruz elevado (LCE) o comportamento do tipo ansiedade pode ser avaliado (Lister, 1987). O aparato é composto de dois braços abertos e opostos (30 x 5 x 25 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25 cm), também opostos, em forma de cruz. Onde os braços abertos e fechados são conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm), elevados a uma altura de 45 cm do chão. Os camundongos foram colocados no centro do aparelho e cabeça voltada para um dos braços fechados. Foram registrados: frequência de entradas e o tempo despendido nos braços abertos e nos fechados, observados por 5 min (Figura 9).

Figura 9: Labirinto em cruz elevado.

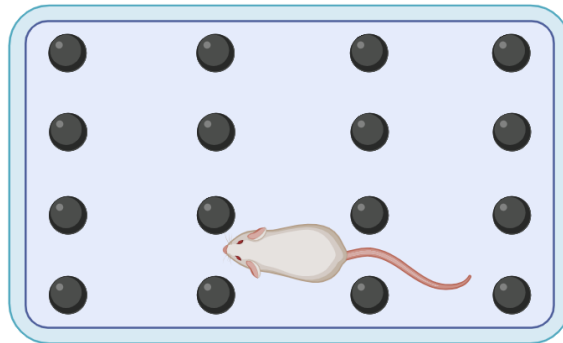


Fonte: Autoria própria, feito com Biorrender.

4.6.3 Teste da placa perfurada

O teste é utilizado para avaliar o comportamento ansioso-símile dos animais. O aparelho utilizado foi uma placa perfurada contendo 16 furos espaçados uniformemente (figura 8). O parâmetro utilizado para análise foi o número de vezes que o animal inseriu a cabeça nos orifícios (head-dips) durante o período de 5 min.

Figura 8: Placa perfurada.



Fonte: Autoria própria, feito com Biorrender.

4.6.4 Teste de suspensão de cauda

O teste de suspensão pela cauda é usado na triagem e desenvolvimento de antidepressivos (Steru et al., 1985). Os animais foram suspensos pela cauda a 50 cm do chão por uma fita fixada a 1 cm a partir da ponta da cauda e o tempo de imobilidade registrado durante os 5 minutos (Steru et al., 1985). Diante do conflito entre o estresse físico gerado pela tentativa de fuga sem sucesso e a motivação para continuar tentando e quando o estresse físico ultrapassa a motivação, os animais assumem uma postura imóvel característica (corpo e cabeça alongados, patas dianteiras unidas e traseiras separadas) (Cryan; Mombereau; Vassout, 2005), representado na figura 10.

Figura 10: Suspensão de cauda.

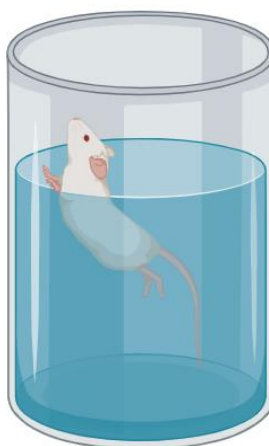


Fonte: Autoria própria, feito com Biorender.

4.6.5 Teste de nado forçado

Também chamado de teste de “desespero comportamental”, idealizado por Porsolt (1979) na avaliação da eficácia clínica de antidepressivos, é amplamente utilizado em pesquisa básica e na investigação de novos fármacos antidepressivos (Poleszak et al., 2020; Slattery; Cryan, 2012). Onde os animais foram colocados individualmente em cilindros de plástico de 24 cm de diâmetro e 35 cm de altura, com 13,5 cm de água por seis minutos, o tempo total de imobilidade de cada animal foi contado a partir do segundo minuto. Imobilidade é a movimentação mínima do animal para manter a cabeça fora da água (Porsolt, 1979), ilustrado na figura 11.

Figura 11: Nado forçado.



Fonte: Autoria própria, feito com Biorender.

4.7 Determinação de parâmetros de estresse oxidativo

Os animais foram sacrificados por decapitação e os cérebros retirados e imediatamente colocados sobre o papel alumínio em uma placa de Petri com gelo. Para a remoção das áreas cerebrais. Após o término da dissecação que foi conduzida sob o gelo, CPF, CE e HC foram colocados em microtubos tipo eppendorfs devidamente identificados, pesados e conservados a -20°C até serem utilizadas para testes neuroquímicos.

4.7.1 Determinação da concentração de glutatona reduzida

Os níveis de glutathiona reduzida (GSH) foram avaliados para estimar defesas endógenas contra o estresse oxidativo. O método é baseado na reação de reagente de Ellman (DTNB), com grupos tiol livres. As áreas cerebrais foram diluídas em tampão de 0,02 M de EDTA (10% p / v) e adicionadas a uma solução de ácido tricloroacético a 50%. Após centrifugação (3000 rpm/15 min), o sobrenadante do homogeneizado foi recolhido e os níveis de GSH foram determinados (Sedlak; Lindsay, 1968). As amostras foram misturadas com 0,4 M de tampão tris-HCl, pH 8,9 e 0,01 M de DTNB. Níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculada com base numa curva padrão de glutathiona e expressos como μg de GSH/g de tecido úmido.

4.7.2 Avaliação da peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi avaliada pela mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos homogenatos. As amostras foram homogenizadas com tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM pH 7,4 e 63 μL do homogenato foi misturado a 100 μL de ácido perclórico 35%, sendo estas novamente centrifugadas (7000 rpm/15 min). Logo em seguida, 150 μL do sobrenadante foram recuperados e misturados a 50 μL de ácido tiobarbitúrico 1,2%, sendo aquecidos em um banho de água fervente por 30 min. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada por absorbância a 535 nm e expressa como μg de MDA/g de tecido úmido (Ohkawa; Ohishi; Yagi, 1979).

4.7.3 Determinação da concentração de nitrito

Para avaliar os efeitos de tratamentos com as respectivas drogas na produção indireta de óxido nítrico, foram determinados os níveis de nitrito em homogenatos dos cérebros dos camundongos imediatamente após a decapitação em todos os grupos. Após centrifugação (800 $\times$ g/10 min), o sobrenadante do homogeneizado foi coletado e a produção de nitrito determinada com base na reação de Griess (Green; Tannenbaum; Goldman, 1981; Radenovic; Selakovic, 2005). Para essa quantificação, 100 μL do reativo de Griess (sulfanilamida a 1% / cloridrato de N-(1-naftil) - etilenediamina 0.1% / ácido fosfórico a 5% / água destilada, na proporção de 1:1:1:1) foi adicionado a 100 μL do sobrenadante do homogenato tecidual e incubado a temperatura ambiente por 10 min. A curva padrão foi elaborada com várias concentrações de NaNO_2 (variando de 0,75 a 100 mM) sob as mesmas condições e os brancos foram preparados pela adição de 100 μL do reativo de Griess a 100 μL do tampão usado para o homogenato. A absorbância foi medida em leitor de microplacas em 560 nm e expressa em μM de nitrito/g de tecido úmido.

4.9 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism 8, San Diego Califórnia, EUA. Inicialmente, os resultados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, para verificar a normalidade da amostra. Os resultados foram comparados através de Two-way ANOVA seguido pelo teste de Turkey (post hoc test) para comparações múltiplas. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas em $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Testes comportamentais

5.1.1 Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre a atividade locomotora de camundongos submetidos ao teste do Campo Aberto

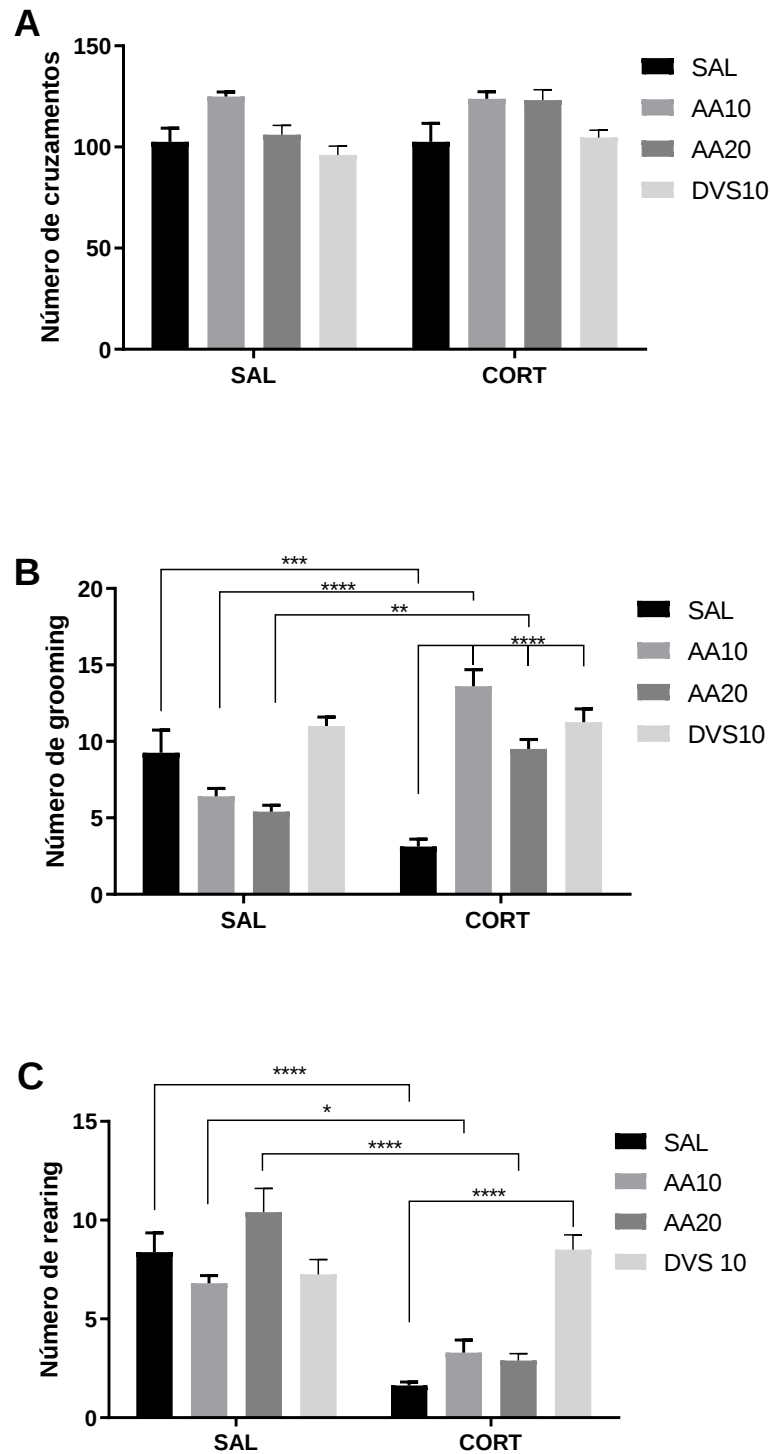
No resultado do campo aberto, conforme mostrado na Figura 12, no número de cruzamentos, não foi observada interação entre os fatores [$F(3,64)=1,484$; $P=0,2273$], assim como no modelo (Modelo CORT [$F(1,64)=2,885$; $P=0,0943$]). Entretanto, no fator tratamento foi observado efeito significativo [$F(3,64)=9,618$; $P<0,0001$]). No teste de comparações múltiplas, nenhum grupo apresentou diferença estatística no número de cruzamentos quando comparado ao controle (Figura 12A).

Em relação ao teste de grooming (Figura 12B), a análise Two-Way ANOVA demonstrou interação significativa nos fatores estudados [$F(3,64)=24,09$; $P<0,0001$]. Também foi observado efeito em cada fator isolado (Modelo CORT: [$F(1,64)=5,456$; $P=0,0226$]; Tratamento AA: [$F(3,64)=14,47$; $P<0,0001$]). No teste de comparações múltiplas, o grupo CORT apresentou diminuição no número de grooming quando comparado ao grupo SAL ($P<0,0001$). AA10 ($P<0,0001$) e AA20 ($P<0,0001$) e DVS ($P<0,0001$). Neste teste, também foi observado aumento no número de grooming nos animais que receberam AA associado ao CORT (CORT+AA10 e CORT+AA20) quando comparado ao grupo apenas com AA10 ($P<0,0001$) e AA20 ($P<0,0001$), respectivamente.

Ainda, no campo aberto, outro teste avaliado foi o rearing (Figura 12C) que demonstrou interação significativa nos fatores estudados [$F(3,64)=13,86$; $P<0,0001$]. Assim como em cada fator isolado [Modelo CORT: $F(1,64)=62,40$; $P<0,0001$ e Tratamento com AA: [$F(3,64)=6,729$; $P=0,0005$]]. No teste de comparações múltiplas, o CORT, sozinho ou associado ao AA, apresentou diminuição no número de rearings quando comparado aos grupos SAL ou AA (10 ou 20 mg/kg). Esse efeito da CORT foi revertido apenas na presença do DVS ($P<0,0001$). Outro resultado encontrado foi uma diminuição no número de rearing nos camundongos que receberam AA associado ao CORT (CORT+AA10 e CORT+AA20) quando comparados com AA10 ($P=0,0155$) e AA20 ($P<0,0001$), respectivamente.

Figura 12: Efeitos do tratamento com AA teste de Campo aberto: (A) número de

cruzamentos, (B) número de *grooming* (C) e número de *rearing* em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.



Efeitos do tratamento com AA nos parâmetros do teste de Campo Aberto: Número de cruzamento (A); Número de *grooming* (B); Número de *rearing* (C) em um modelo de depressão induzida por CORT. Os animais receberam CORT (20 mg/kg, subcutaneamente) por 21 dias. Do 15º ao 21º dia de tratamento, eles receberam SAL 0,9%, AA (10mg/kg ou 20mg/kg oralmente) ou DVS (10mg/kg). No 21º dia, os animais foram submetidos ao teste, 1 h após

administração das drogas. Cada coluna representa a média $\pm$ SEM ($n = 8 - 10$ animais/grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA bidirecional seguido pelo teste de Tukey para comparações múltiplas. Na figura, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$. Abreviações: SAL - solução salina; CORT - corticosterona; AA10 - ácido acantóico 10mg/kg; AA20 - ácido acantóico 20mg/kg; DVS- Desvenlafaxina (10mg/kg).

5.1.2 Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre o comportamento ansioso de camundongos submetidos ao teste de Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

Em relação aos parâmetros analisadas no teste de labirinto em cruz elevado, o número de entradas nos braços abertos (NEBA), não foi demonstrada interação significativa entre os grupos [$F(3,64) = 2,638$; $P = 0,0571$] e fatores isolados (Modelo CORT [$F(1,64) = 0,2451$; $P = 0,6223$] e Tratamento com AA [$F(3,64) = 2,521$; $P = 0,0657$]). No teste post hoc de Tukey, nenhum grupo apresentou diferença estatística, no NEBA, em relação ao controle (Figura 13A).

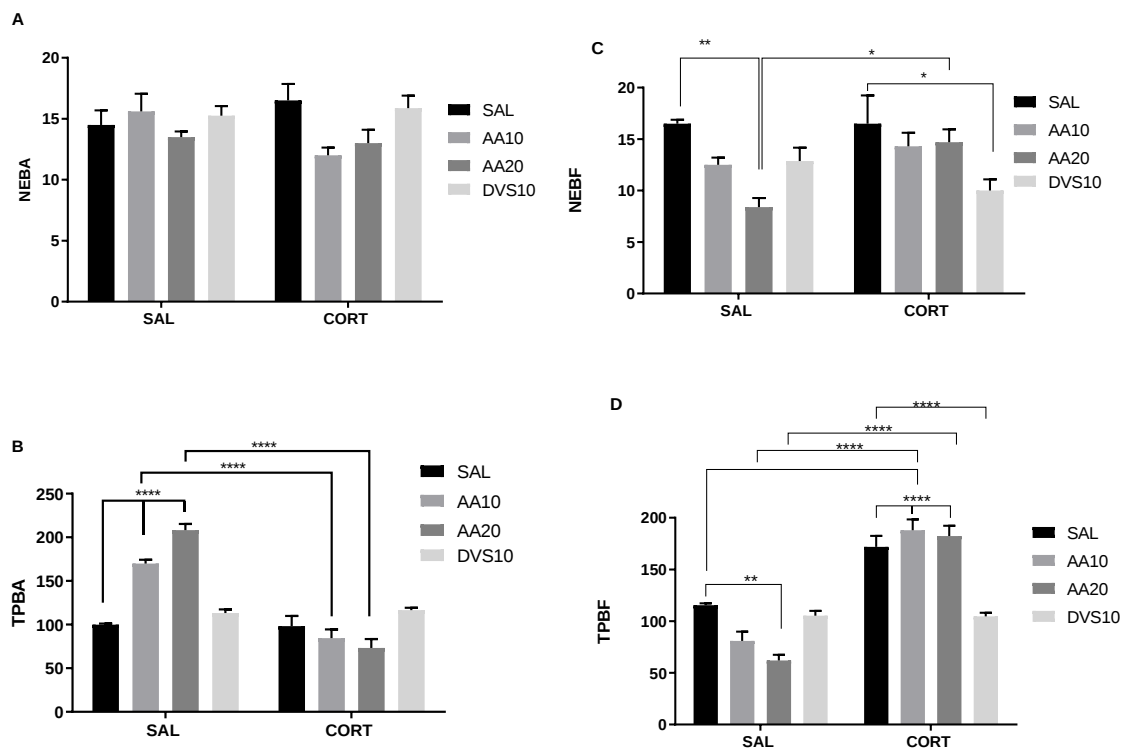
O tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) demonstrou através da análise Two-Way ANOVA, interação significativa nos fatores estudados [$F(3, 64) = 38,51$; $P < 0,0001$] como também foi observado, o efeito em cada fator isolado [Modelo CORT [$F(1, 64) = 100,5$; $P < 0,0001$ e Tratamento com AA [$F(3, 64) = 10,58$; $P < 0,0001$]]. No teste de comparações múltiplas os grupos que receberam CORT isoladamente ($P > 0,9999$) ou associado a AA (CORT + AA10 e CORT + AA20) ou desvenlafaxina (CORT+DVS10) não demonstraram alterações neste parâmetro em relação ao grupo SAL (Figura 13B). Entretanto, em ambas as doses, os animais que receberam apenas AA apresentaram aumento do TPBA em relação ao grupo SAL ou associado a CORT (CORT + AA10 e CORT + AA20).

Em relação ao número de entradas nos braços fechados (NEBF), observou-se interação entre os fatores [$F(3,64)=4,296$; $P=0,0080$] e efeito sobre os fatores isolados Tratamento [$F(3,64)=5,962$; $P=0,0012$]. Nos testes de comparações múltiplas, foi encontrada redução no NEBF dos animais que receberam AA20 quando comparados ao grupo controle ($P = 0,0013$) e aumento no NEBF quando o AA20 ($P = 0,0150$) foi associado ao CORT (CORT + AA20). Os animais que receberam CORT+DVS apresentaram redução no NEBF em relação aos animais tratados apenas com CORT ($P=0,0327$).

Por fim, houve interação entre os fatores estudados quanto ao tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) [$F(3,64)= 22,81$; $P < 0,0001$], assim como no fator do modelo CORT isolado [$F(1,64)= 153,9$; $P < 0,0001$] e Tratamento [$F(3,64)= 7,924$; $P = 0,0001$]. No teste post hoc, o grupo que recebeu apenas AA ($P = 0,0004$), na maior dose, reduziu o TPBF

em relação ao controle (Figura 13D). Por outro lado, foi observado aumento desse parâmetro nos animais tratados apenas com CORT ($P = 0,0004$) ou associados [CORT + AA10 ($P < 0,0001$) e CORT + AA20 ($P < 0,0001$)] quando comparados ao grupo controle. Da mesma forma, um aumento no TPBF também foi observado entre os grupos CORT+AA10 ($P < 0,0001$) e CORT+AA20 ($P < 0,0001$), quando comparados aos grupos que receberam apenas AA10 e AA20, respectivamente. No entanto, os animais que receberam DVS10 associado ao CORT (CORT+DVS10) obtiveram uma redução no TPBF em comparação aos animais que receberam apenas CORT ($P < 0,0001$).

Figura 13: Efeitos do tratamento com AA no teste Labirinto em cruz elevada, em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.



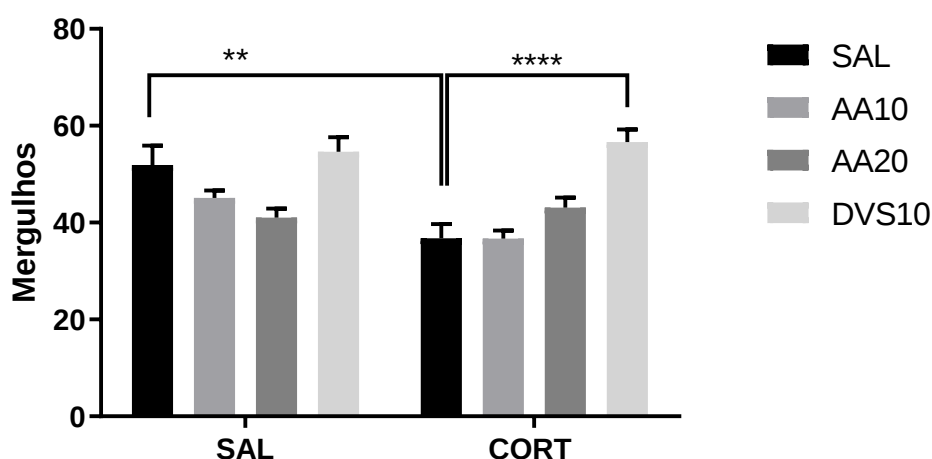
Efeitos do tratamento com AA nos parâmetros do teste do labirinto em cruz, NEBA (A); TPBA (B); NABF (C) e TPBF (D), em um modelo de depressão induzida por CORT. Os animais receberam CORT (20 mg/kg, subcutaneamente) por 21 dias. Do 15º ao 21º dia de tratamento, eles receberam SAL 0,9% ou AA (10mg/kg ou 20mg/kg oralmente). No 21º dia, os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado, 1 h após administração das drogas. Cada coluna representa a média $\pm$ SEM ($n = 8 - 10$ animais/grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Tukey para comparações múltiplas. Na figura, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; **** $P < 0,0001$. Abreviações: SAL - salina; CORT - corticosterona; AA10 - ácido acantoico 10mg/kg; AA20 - ácido acantoico 20mg/kg; DVS- Desvenlafaxina (10mg/kg); NABF: número de entradas em braços abertos; NEBF: número de entradas em braços fechados; TPBA: tempo de permanência em braços abertos; TPBF:

tempo de permanência em braços fechados

5.1.3 Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre a atividade exploratória de camundongos submetidos ao teste da placa perfurada

Uma interação significativa entre “modelo CORT” x “Tratamento” [$F(3, 64) = 5,687$; $P=0,0016$] com o efeito principal significativo de cada fator isoladamente [“modelo CORT”: $F(1, 64) = 7,827$; $P=0,0068$; “Tratamento”: $F(3, 64) = 14,44$; $P<0,0001$] foi observada na avaliação no teste de placa perfurada (Figura 14). De acordo com o teste de Tukey, o número de *head-dips* foi diminuído em animais expostos ao modelo CORT quando comparado ao controle ($P=0,0025$) e esse efeito foi revertido apenas em camundongos que receberam DSV10 (CORT+DVS10).

Figura 14: Efeitos do tratamento com AA no teste Placa Perfurada, em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.

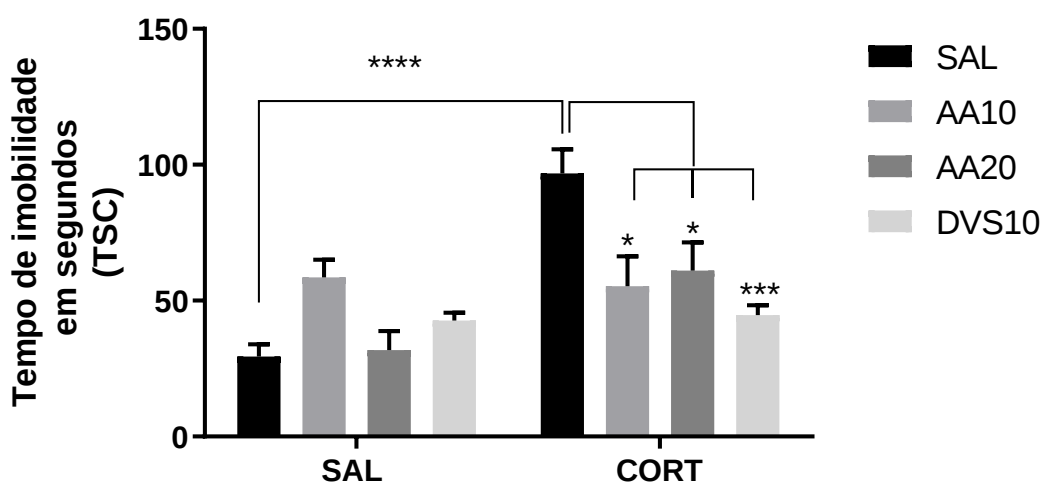


Efeitos do tratamento com AA no número de mergulhos na placa perfurada no modelo de depressão crônica induzida por CORT. Os animais receberam CORT (20 mg/kg, subcutânea) por 21 dias. Do 15º ao 21º dia de tratamento, receberam também SAL 0,9% ou AA (10mg/kg ou 20mg/kg via oral). No 21º dia, os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado, 1 h após a administração dos fármacos. Cada coluna representa a média $\pm$ EPM ($n = 8 - 10$ animais/grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas. Na figura, ** $P<0,01$; **** $P<0,0001$. Abreviações: SAL - salina; CORT - corticosterona; AA10 - ácido acantoico 10mg/kg; AA20 - ácido acantoico 20mg/kg; DVS- Desvenlafaxina (10mg/kg).

5.1.4 Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre o tempo de imobilidade de camundongos submetidos ao teste de suspensão de cauda.

A análise ANOVA bidirecional, no teste de suspensão da cauda, mostrou interação significativa entre os fatores [$F(3,64) = 7,941$; $P = 0,0001$], assim como no fator modelo [CORT ($F(1,64) = 18,11$; $P < 0,0001$], sem nenhuma alteração no fator tratamento [$F(3,64) = 2,492$; $P = 0,0680$]. Nos testes de comparações múltiplas (Figura 14), o grupo CORT apresentou aumento no tempo de imobilidade quando comparado ao controle de 229% ($P < 0,0001$), esse efeito foi revertido pela associação com AA, em ambas as doses [CORT+AA10 ($P = 0,0101$); CORT+AA20 ($P = 0,0441$)], e DVS [CORT + DVS10 ($P = 0,0010$)].

Figura 15: Efeitos do tratamento com AA no teste suspensão de cauda em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.



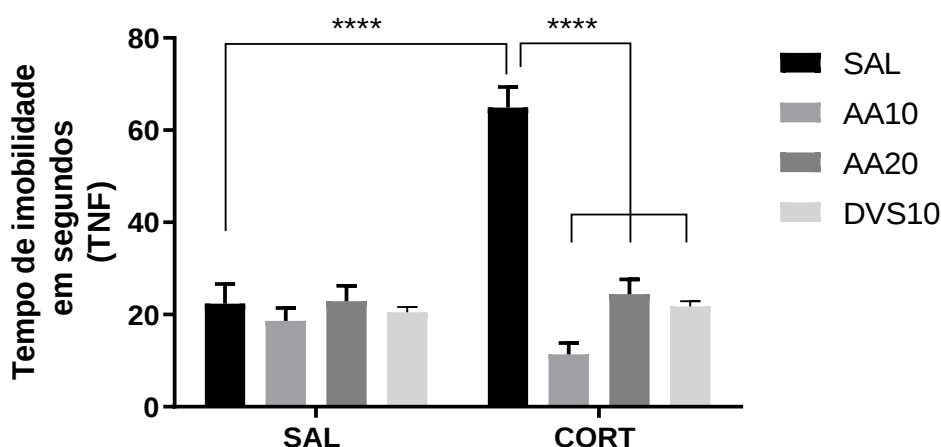
Efeitos do tratamento com AA no tempo de imobilidade no teste de suspensão de cauda em um modelo murino de depressão crônica induzida por CORT. Os animais receberam CORT (20 mg/kg, subcutâneo) por 21 dias. Do 15º ao 21º dia de tratamento, receberam também SAL 0,9% ou AA (10mg/kg ou 20mg/kg via oral). No 21º dia, os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado, 1 h após a administração dos fármacos. Cada coluna representa a média $\pm$ EPM ($n = 8 - 10$ animais/grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA bidirecional seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas. Na figura, * $P < 0,05$; *** $P < 0,001$ **** $P < 0,0001$. Abreviações: SAL - salina; CORT - corticosterona; AA10 - ácido acantoico 10mg/kg; AA20 - ácido acantoico 20mg/kg; DVS10- desvenlafaxina 10mg/kg;

5.1.5 Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre o tempo de imobilidade de camundongos submetidos ao teste de nado forçado.

No teste de nado forçado, foi encontrada interação significativa entre os fatores [$F(3,64) = 24,70$; $P < 0,0001$], assim como entre os fatores isolados (CORT [$F(1,64) = 18,83$; $P < 0,0001$] e

Tratamento [$F(3,64) = 30,64$; $P < 0,0001$]. Um efeito semelhante ao TST foi observado no teste de comparação múltipla. Os animais que receberam CORT apresentaram aumento no tempo de imobilidade quando comparados ao grupo controle de 189% ($P > 0,0001$), sendo esse efeito revertido pelo AA, em ambas as doses ou DVS10 quando administrado em combinação com CORT [CORT+AA ($P < 0,0001$) e CORT+DVS10 ($P < 0,0001$)], conforme mostrado na figura 16.

Figura 16: Efeitos do tratamento com AA no teste de nado forçado em um modelo de camundongo com depressão crônica induzida por CORT.



Efeitos do tratamento com AA no tempo de imobilidade no teste de nado forçado em um modelo de depressão crônica induzida por CORT. Os animais receberam CORT (20 mg/kg, subcutâneo) por 21 dias. Do 15º ao 21º dia de tratamento, receberam também SAL 0,9% ou AA (10mg/kg ou 20mg/kg via oral). No 21º dia, os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado, 1 h após a administração dos fármacos. Cada coluna representa a média $\pm$ EPM ($n = 8 - 10$ animais/grupo). Os resultados foram analisados por ANOVA bidirecional seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas. Na figura, **** $P < 0,0001$. Abreviações: SAL - salina; CORT - corticosterona; AA10 - ácido acantoico 10mg/kg; AA20 - ácido acantoico 20mg/kg; DVS10- desvenlafaxina 10mg/kg.

5.2 Análise dos parâmetros de estresse oxidativo

5.2.1 Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre concentração de GSH no CPF, HC E CE de camundongos.

Os resultados apresentados na figura 16A, 16B e 16C, referem-se aos níveis de GSH no CPF, HC e CE respectivamente.

No CPF, a análise Two-Way ANOVA propôs interação significativa entre os fatores

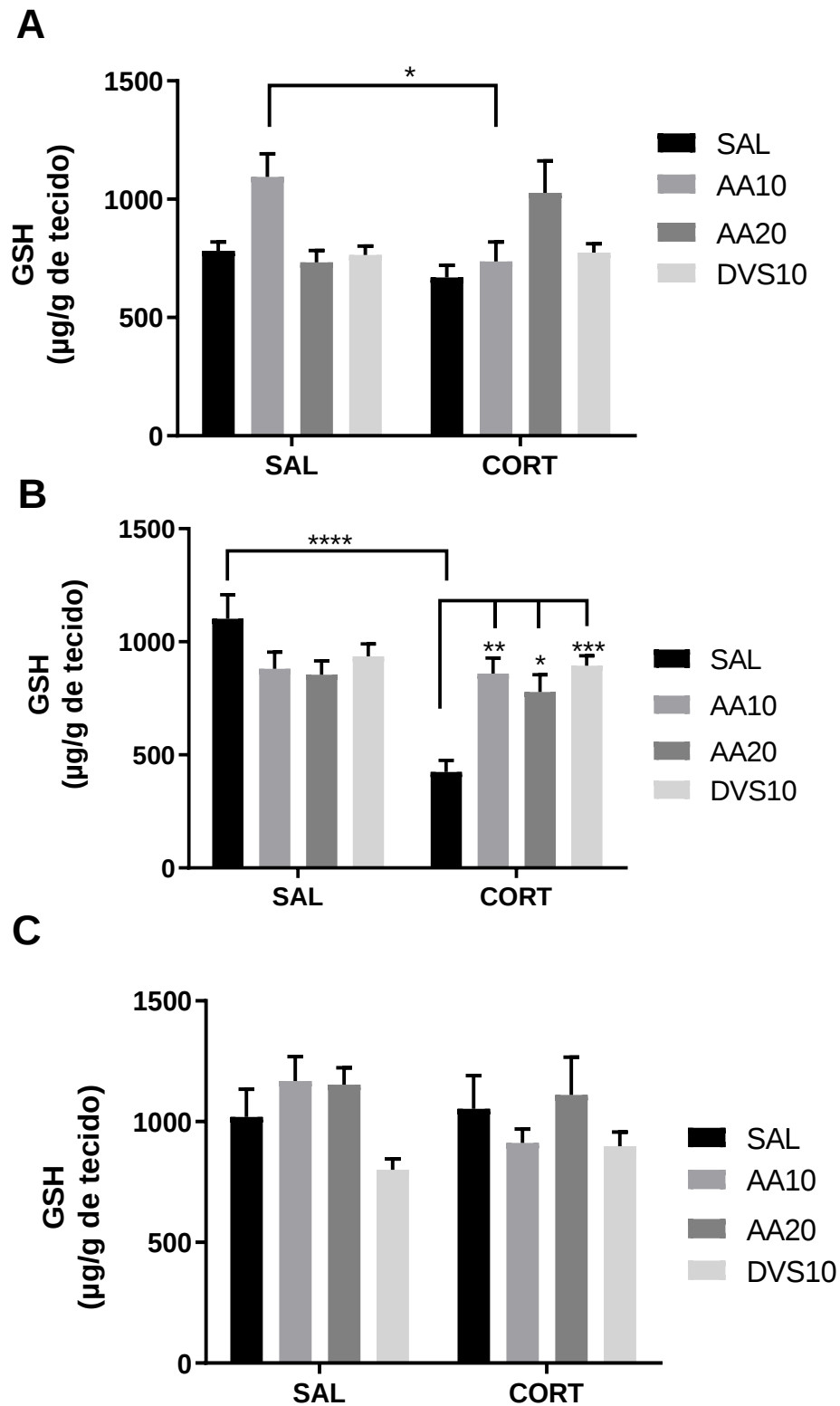
estudados [(3, 63)= 6,116; P=0,0010], mas sem efeito nos fatores do modelo [F (1, 63)= 0,5114; P=0,4772] e tratamento [F(3, 63)= 2,464; P=0,0705]. No teste post hoc, foi observado apenas aumento nos níveis de GSH nos animais que receberam AA10 em comparação ao grupo CORT+AA10 (P=0,0308), conforme figura 16A.

No HC, foi selecionada interação significativa nos fatores [F(3,64)=9,422; P<0,0001] e efeito no fator modelo (CORT F(1,64)=16,83; P=0,0001], mas não no Tratamento [F(3,64)=1,615; P=0,1946]. Nas comparações múltiplas (figura 15B), houve diminuição dos níveis de GSH nos animais que receberam CORT de 61%, quando comparados ao controle (P<0,0001). Tanto o AA como a DVS foram capazes de reverter o efeito do CORT [CORT+AA10 (P=0,0012); CORT+AA20(P=0,0156) e CORT+DVS10 (P=0,0008)].

No CE não foi observada interação entre os fatores [F(3,64)=1,170; P=0,3281], nem no modelo [F(1,64)=0,3328; P=0,5660) nem no tratamento [F(3,64)=2,607; P=0,0592] sozinho. No teste de comparações múltiplas, nenhum grupo apresentou diferença estatística nos níveis de GSH em relação ao grupo controle (figura 16C).

[

Figura 17. Níveis de GSH (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT e submetidos, posteriormente, ao tratamento com AA.



Efeitos do tratamento AA nos níveis de GSH (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos camundongos submetidos ao modelo CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com AA (10mg/kg e 20mg/kg via oral). Cada barra representa

a média $\pm$ EPM (n=8-10). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Tukey para múltiplas comparações. Na figura, * $P<0,05$; ** $P<0,01$, **** $P<0,0001$. Abreviações: SAL - solução salina; CORT – corticosterona; AA10- ácido acantoico 10mg/kg; AA20 ácido acantoico 20mg/kg; DVS10-desvenlafaxina 10mg/kg; GSH: Glutathione reduzida.

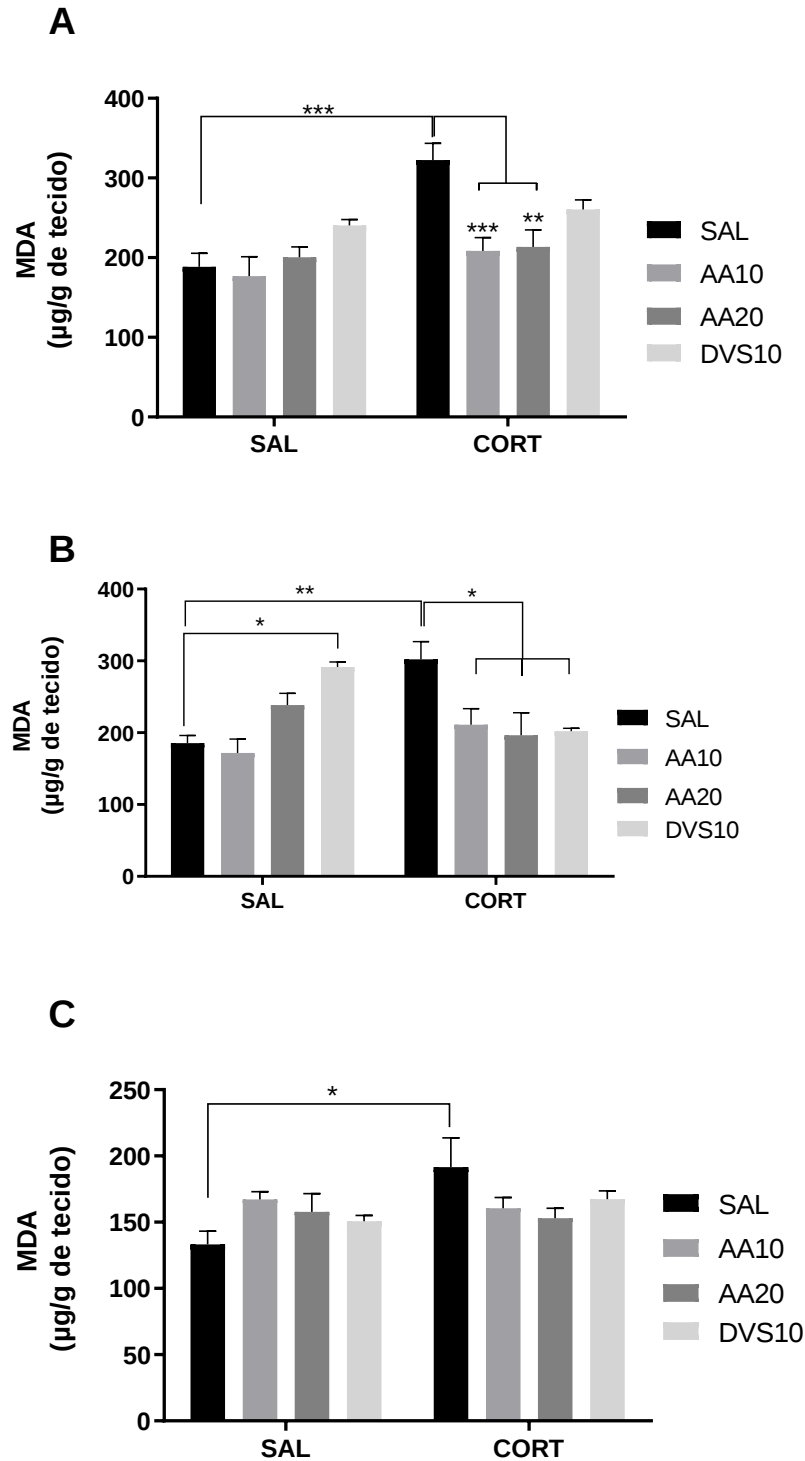
5.2.2 Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre os níveis de MDA no CPF, HC E CE de camundongos.

Os resultados apresentados na figura 17A, 17B e 17C, referem-se aos níveis de MDA no CPF, HC e CE respectivamente. Avaliação dos níveis de MDA no CPF (Figura 17A), observou-se interação significativa entre os fatores estudados [$F(3,64)=4,595$; $P=0,0056$], assim como no modelo CORT [$F(1,64)=15,09$; $P=0,0002$] e o fator Tratamento [$F(3,64)=5,992$; $P<0,0012$]. No teste de comparações múltiplas, os níveis de MDA aumentaram nos animais que receberam CORT em relação ao grupo SAL de 71% ($P<0,0001$). Esse efeito foi revertido pela associação com AA, em ambas as doses, (CORT+AA10 [$P=0,0009$] e CORT+AA20 [$P=0,0017$]), quando comparado ao grupo CORT.

Os níveis de malondialdeído na área HC (Figura 17B) apresentaram interação significativa entre os fatores [$F(3,64)=9,255$; $P<0,0001$], bem como no fator tratamento [$F(3,64)=3,285$; $P=0,0263$], sem alteração no fator do modelo [$F(1,64)=0,1850$; $P=0,6686$]. No teste de comparações múltiplas, foi observado aumento nos níveis de MDA no grupo CORT de 63% em comparação aos grupos SAL ($P=0,0064$). Esse efeito foi revertido na presença de AA [CORT+AA10 ($P=0,0468$) e CORT+AA20 ($P=0,0110$)] e desvenlafaxina [CORT+DVS10 ($P=0,0326$) em comparação ao grupo CORT. Também foi observado aumento no MDA nos animais que receberam apenas DVS10 ($P=0,0186$) em comparação ao grupo controle.

No CE (Figura 17C), os níveis de MDA demonstraram interação significativa entre os grupos [$F(3,64)=3,722$; $P=0,0157$], bem como no fator do modelo [$F(1,64)=4,270$; $P=0,0429$], sem efeito no fator de tratamento isolado [$F(3,64)=0,2657$; $P=0,8498$]. Nos testes de comparação múltipla, apenas foi observado aumento nas concentrações de MDA entre o grupo CORT de 43% ($P=0,0138$) e o controle.

Figura 18. Níveis de MDA (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT e submetidos, posteriormente, ao tratamento com AA.



Efeitos do tratamento AA nos níveis de GSH (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos camundongos submetidos ao modelo CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com AA (10mg/kg e 20mg/kg via oral). Cada barra representa a média $\pm$ EPM (n=8-10). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA de duas vias seguida pelo teste de

Tukey para múltiplas comparações. Na figura, * $P < 0,05$; *** $P < 0,001$. Abreviações: SAL - solução salina; CORT – corticosterona; AA10- ácido acantoico 10mg/kg; AA20 ácido acantoico 20mg/kg; DVS10- desvenlafaxina 10mg/kg; MDA- Malondialdeído.

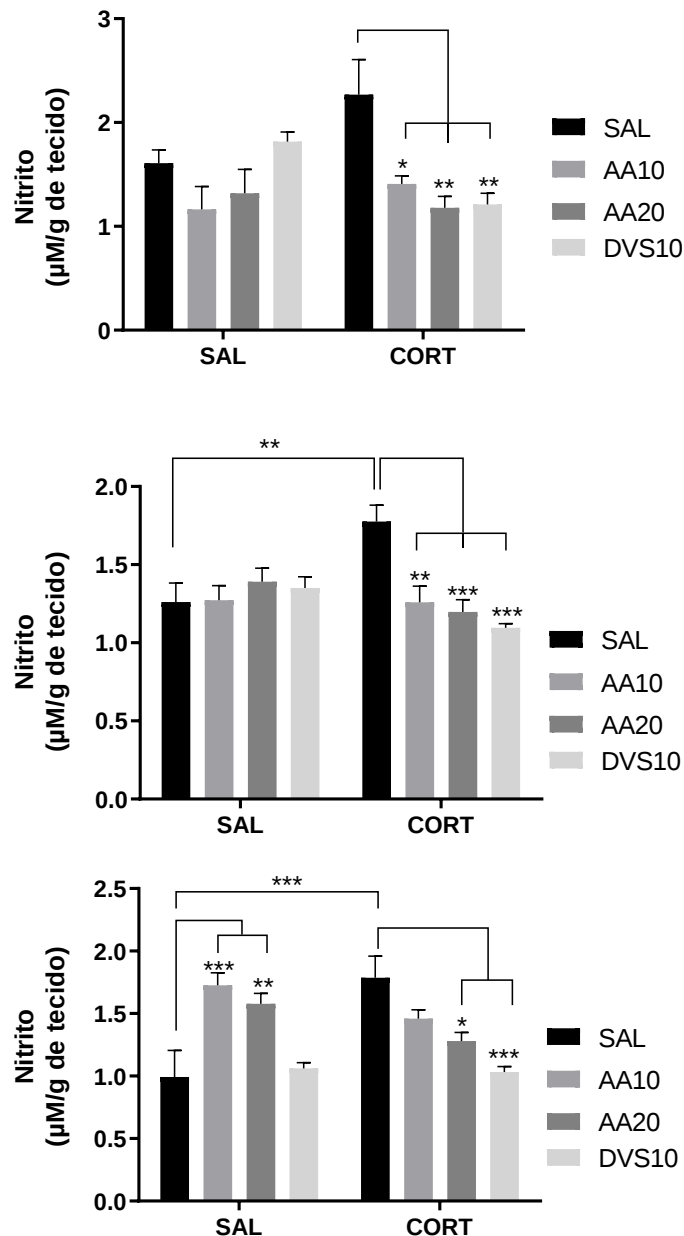
5.2.3 Efeito da administração de CORT, AA ou DVS sobre os níveis de NO no CPF, HC E CE de camundongos.

A análise ANOVA bidirecional para determinação dos níveis de nitrito no CPF (Figura 19A) demonstrou interação significativa entre os fatores estudados [$F(3,64) = 3,988$; $P = 0,0114$], bem como no fator de tratamento isolado [$F(3,64) = 5,820$; $P = 0,0014$], mas sem efeito no fator do modelo CORT [$F(1,64) = 0,09714$; $P = 0,7563$]. No teste de Tukey, foi observada redução dos níveis de nitrito nos grupos que receberam AA ou DVS10 associado ao CORT (CORT+AA10: $P = 0,0299$; CORT+AA20: $P = 0,0020$; CORT+DVS10: $P = 0,0059$) quando comparados ao CORT isoladamente.

No HC (Figura 19B) a análise Two-way ANOVA para determinar os níveis de nitrito também demonstrou interação significativa entre os fatores estudados [$F(3,64) = 6,736$; $P = 0,0005$], assim como no fator de tratamento isolado [$F(3,64) = 3,799$; $P = 0,0143$], mas sem efeito no fator modelo [$F(1,64) = 0,04379$; $P = 0,8349$]. No teste de comparações múltiplas, foi observado aumento nos níveis de nitrito no grupo CORT em comparação aos grupos SAL de 40% ($P = 0,0064$). Esse efeito foi revertido na presença de AA [CORT+AA10 ($P = 0,0040$) e CORT+AA20 ($P = 0,0009$)] ou desvenlafaxina [CORT+DVS10 ($P = 0,0001$) em comparação ao grupo CORT.

A investigação dos níveis de nitrito no CE (Figura 19C) também encontrou interação significativa entre os fatores estudados [$F(3,64) = 10,36$; $P < 0,0001$] e com efeito no fator de tratamento isolado [$F(3,64) = 8,476$; $P < 0,0001$], sem efeito no fator modelo [$F(1,64) = 0,4218$; $P = 0,5184$]. No teste post hoc, foi observado aumento nos níveis de nitrito nos animais que receberam CORT ($P = 0,0002$) em comparação ao grupo controle. Vale ressaltar que esse efeito foi revertido apenas na presença de AA, na maior dose ($P = 0,0346$) ou DSV ($P = 0,0005$) quando comparado ao grupo CORT de 78%. Outro efeito observado foi um aumento nos níveis de nitrito em animais que receberam apenas AA [AA10 ($P = 0,0003$) ou AA20 ($P = 0,0082$)] quando comparados ao controle.

Figura 19. Níveis de NO (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzido pela administração crônica de CORT e submetidos, posteriormente, ao tratamento com AA.



Efeitos do tratamento AA nos níveis de GSH (A) CPF, (B) HC, (C) CE dos camundongos submetidos ao modelo CORT e submetidos posteriormente ao tratamento com AA (10mg/kg e 20mg/kg via oral). Cada barra representa a média $\pm$ EPM (n=8-10). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Tukey para múltiplas comparações. Na figura, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$. Abreviações: SAL - solução salina; CORT - corticosterona; AA10- ácido acantoico 10mg/kg; AA20 ácido acantoico 20mg/kg; NO: Nitrito.

Quadro 1- Representação esquemática dos efeitos do AA e DVS sobre o comportamento e marcadores neuroquímicos de camundongos submetidos ao modelo de depressão induzido por corticosterona.

		S+AA10	S+AA20	S+DVS	CORT	C+AA10	C+AA20	C+DVS
CAMPO ABERTO	Nº DE TRAVESSIAS	-	-	-	-	-	-	-
	Nº DE <i>GROOMING</i>	-	-	-	-	-	↑	↓
	Nº DE <i>REARING</i>	-	-	-	↓	-	-	↓
LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	NEBA	-	-	-	-	-	-	-
	TPBA	↑	↑	-	-	-	-	-
	NEBF	-	↑	-	-	-	-	↓
	TPBF	-	↓	-	-	-	-	↓
PLACA PERFURADA	Nº DE <i>HEAD DIPS</i>	-	-	-	↓	-	-	↓
SUSPENSÃO DE CAUDA	IMOBILIDADE	-	-	-	↑	↓	↓	↓
NADO FORÇADO	IMOBILIDADE	-	-	-	↑	↓	↓	↓
GLUTATIONA REDUZIDA	CPF	-	-	-	-	-	-	-
	HC	-	-	-	↓	↑	↑	↑
	CE	-	-	-	-	-	-	-
MALONDIALDEIDO	CPF	-	-	-	↑	↓	↓	-
	HC	-	-	↑	↑	↓	↓	↓
	CE	-	-	-	↑	-	-	-
NITRITO	CPF	-	-	-	-	↓	↓	↓
	HC	-	-	-	↑	↓	↓	↓
	CE	↑	↑	-	↑	↓	↓	↓

AA: Ácido acantoico; NEBA: Número de entradas nos braços abertos; TPBA: Tempo de permanência nos braços abertos; NEBF: Número de entradas nos braços fechados; TPBF: Tempo de permanência nos braços fechados; CPF: Córtex-pré-frontal; HC: Hipocampo; CE: Corpo estriado; ↑: Aumento; ↓: Diminuição; -: Não significativo.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro a apresentar os efeitos do ácido acantoico no sistema nervoso central, por meio da demonstração de sua ação antidepressiva em um modelo neuroendócrino de depressão. Os principais efeitos encontrados nos estudos comportamentais de NF e SC evidenciaram que o AA reverteu o efeito depressor-*like* induzido pela administração de CORT de maneira semelhante a DVS, um antidepressivo já utilizado na clínica psiquiátrica. Na segunda parte do estudo, foi verificado que o AA apresentou uma redução no estresse oxidativo e nitrosativo nas áreas cerebrais estudadas, em animais submetidos a este modelo de depressão.

O primeiro teste realizado nesta pesquisa foi o de campo aberto. Este teste é importante, pois revela vários comportamentos em roedores, desde ligados aos motores a aspectos emocionais. Os resultados neste estudo não encontraram nenhuma alteração no número de travessias entre os grupos estudados, mostrando que não houve prejuízo motor nos animais. Segundo a literatura, uma alteração motora decorrente da administração de um fármaco ou composto químico, como por exemplo uma atividade psicoestimulante ou psicodpressora, poderia interferir nos demais testes comportamentais a serem realizados no mesmo animal (Prut; Belzung, 2003).

O segundo parâmetro analisado dentro do campo aberto foi o teste de *grooming*. *Grooming*, ou comportamento de autolimpeza, é um comportamento inato de animais que está envolvido em vários processos fisiológicos importantes, como a manutenção da higiene, a termorregulação, a comunicação social, despertar e emoções (Song; Berridge; Kalueff, 2016). Segundo Jia et al (2023) alterações na autolimpeza em camundongos foram relacionados ao estresse e transtornos psiquiátricos, como TEA e TOC (Kalueff et al., 2016; Fernandez-Teruel; Estanislau, 2016). Ainda nesta linha (Kalueff et al., 2016) demonstraram que aumento no número e duração de *grooming* estaria relacionado a ansiedade, enquanto na depressão os animais tendem a se manter inalterado ou diminuído (Kalueff et al., 2016). Também vale salientar que este comportamento tem forte envolvimento com a via dopaminérgica cerebral, sendo relacionado principalmente a receptores D1-símile. Dopamina é um neurotransmissor envolvido a várias funções cerebrais, como exemplo coordenação motora e motivação através de sua forte inervação na via nigroestriatal e mesolímbica, respectivamente (Salvatore, 2024., Eshel et al., 2024,

Volkow; Michaelides; Baler, 2019).

Resultados da presente pesquisa demonstraram que o modelo de corticosterona reduziu o comportamento de autolimpeza, sendo este efeito revertido tanto por AA quanto pela DVS na presença da CORT. Outro achado interessante foi a ausência de alteração no *grooming* quando o AA foi administrado sozinho. Em conjunto estes resultados demonstram que o AA tem ação protetora neste comportamento, porém somente na presença de um estímulo depressor, como no caso deste estudo, a CORT.

O último teste realizado dentro do campo aberto foi o teste de *rearing*. Este comportamento é capaz de medir vários parâmetros, como motricidade, reflexo e reação de medo. Segundo Starr e Starr, 1986, está relacionado diretamente com a neurotransmissão dopaminérgica e à presença de diferentes subtipos de receptores (D1 e D2-símile), principalmente a família dos receptores D2. Portanto, sendo importante para medir de maneira indireta a neurotransmissão mediada por dopamina.

Quanto aos resultados de *rearing*, foi observado que a administração da CORT reduziu este parâmetro. Entretanto, diferente do resultado no teste anterior o AA não reverteu este comportamento. Os autores acreditam que um dos fatores relacionados à ausência de ação do AA neste comportamento de *rearing* esteja relacionado à sua fraca ação em receptores dopaminérgicos do tipo D1.

O estudo comportamental em roedores é de extrema importância dentro da pesquisa básica e pré-clínica na área da neurociência e psiquiatria. Através destes testes podemos avaliar várias substâncias com potenciais ações ansiolítica, antidepressiva, antiesquizofrênicos e outras desordens. Assim, a presente pesquisa estudou também o efeito do AA em testes clássicos de ansiedade e depressão.

Nesse sentido, o teste de labirinto em cruz elevada foi performed, este teste avalia a ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor o número de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos, já na presença fármacos com ação ansiolíticos, o tempo gasto nos braços abertos assim como o tempo de permanência aumentam (Handley; Mithani, 1984; Pellow; File, 1986). O primeiro resultado encontrado neste estudo foi que a CORT causou efeito ansiogênico através do aumento no TPBF e somente a DVS foi

capaz de bloquear esta ação. Contudo, o AA administrado na ausência da CORT, principalmente na maior dose, apresentou um efeito ansiolítico em três parâmetros do *plus maze*. Através da análise destes resultados podemos sugerir que o AA apresenta um efeito ansiolítico, porém na presença do modelo de CORT não é capaz de manter este efeito. Este efeito pode ser explorado em demais modelos animais de ansiedade, como de estresse crônico imprevisível, mas no modelo de depressão induzida por CORT e nas condições do presente estudo não pode ser constatado. A DVS, como já relatado na literatura pelo nosso grupo (Silva et al., 2013; Sousa et al., 2022) tem ação ansiolítica em vários modelos animais.

Outro teste utilizado na avaliação do comportamento ansiolítico foi o de teste da placa perfurada, onde quanto menor o comportamento de ansiedade do camundongo maior a exploração, logo maior o número e tempo de inserções da cabeça do animal nos orifícios do aparato (Kamei et al., 2001). Em nossos resultados, a administração de CORT apresentou um efeito ansiogênico e somente a DVS, semelhante ao teste anterior, foi capaz de reverter este efeito. Contudo, um efeito que chamou a atenção foi a ausência de efeito ansiolítico do AA, quando administrado sozinho. Vale salientar que no teste de *plus maze*, o AA teve efeito ansiogênico.

Dentre os testes comportamentais com roedores no estudo da ansiedade, o LCE é o mais utilizado, baseado na aversão dos roedores a lugares abertos e elevados, e no instinto de explorar ambientes novos, gerando um conflito comportamental entre explorar e esquivar, além disso é capaz de prever tanto atividade ansiolítica quanto ansiogênica, além de produzir resultados mais confiáveis (Walf; Frye, 2007). Quanto ao teste placa perfurada, este é amplamente utilizado para estudar comportamentos relacionados à exploração, baseada na curiosidade natural dos animais. Embora existam na literatura diversos trabalhos que destacam sua utilidade e confiabilidade no estudo da ansiedade, há também estudos que questionam a validade do teste diante da susceptibilidade a interpretações erradas. Assim o estudo com mais de um teste pode fornecer a análise das mais completa das diversas alterações comportamentais na ansiedade, rebuscando a pesquisa pré-clínica na investigação de novos fármacos (D'isa; Comi; Leocani, 2021; Casarrubea et al., 2023).

Os diterpenos, assim como o ácido acantoico, possuem atividades neurobiológicas já

descritas na literatura, como ação em distúrbios neurológicos e doenças neurodegenerativas, acidente vascular cerebral, doença de Alzheimer e doença de Parkinson (Chang et al., 2007). No estudo de Costa et al., (2014), o fitol administrado nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg intraperitonalmente, exibiu efeito ansiolítico proeminente, bem como efeitos sedativos, em camundongos. Os autores ainda supõem que o efeito é proveniente da interação com o receptor GABA_A, bem descrito na literatura no envolvimento da farmacologia da ansiedade, acredita-se ainda que há uma interação nas subunidades que medeiam os efeitos benzodiazepínicos.

Assim como, na pesquisa de Wasowski e Marder, (2011) dois diterpenos foram isolados de *Aloysia virgata*, os achados incluem efeitos ansiolíticos nos testes de placa perfurada, claro/escuro, labirinto em cruz elevado e comprovada atividade GABA_A no sítio benzodiazepínico, em camundongos.

Ainda continuando a pesquisa comportamental, dois testes de depressão foram realizados. O primeiro foi de suspensão de cauda, esse teste utiliza um estressor artificial para induzir desespero comportamental em comparação com o nado forçado à base de água, ele ainda depende de um estressor artificial, pois ser suspenso pela cauda é um evento improvável para roedores. Utilizar um estressor mais natural aumentaria a validade de construção de modelos animais que avaliam endofenótipos de roedores de transtornos neuropsiquiátricos (Goswami et al., 2013). Os resultados demonstraram que o CORT, como esperado, teve efeito depressor e este efeito foi revertido tanto pelo AA quanto pela DVS.

A corticosterona administrada cronicamente causa a hiperatividade do eixo HPA, que perde a responsividade ao *feedback* negativo e continua a secretar mais CRH, ACTH e CORT. Esta importante via neuroendócrina regula a resposta ao estresse (Herbert, 2013; Ferrari; Villa, 2017). A hiperatividade do eixo HPA tem sido estudada em pacientes com depressão, e diversos estudos mostram que pacientes deprimidos têm níveis elevados de cortisol circulante e hipersensibilidade do eixo HPA em resposta a estressores (Bao et al., 2019; Gold et al., 2015). Portanto, a CORT mostra-se eficaz não só em reproduzir alterações comportamentais nos roedores, mas também alterações fisiopatológicas, como por exemplo, a atrofia de regiões cerebrais envolvidas com a regulação do humor, presentes em pacientes depressivos (Henningsen et al., 2009; David et al., 2009; Eren et

al., 2015).

Por fim, outro teste utilizado para avaliar o comportamento depressivo-símile foi o nado forçado. este teste é considerado “padrão ouro” na investigação do comportamento depressivo-*símile* e validação de antidepressivos (Unal; Canbeyli, 2019). Semelhante ao que foi observado no teste anterior a CORT apresentou efeito depressor-símile e este efeito foi revertido pela AA e DVS.

Efeito semelhante foi encontrado por Yan et al., 2021, que investigaram o efeito do extrato de *Acanthopanax Cortex*, no qual o AA é um dos compostos majoritários, em modelo de depressão por estresse crônico imprevisível em camundongos. No estudo comportamental (Preferência a sacarose e NF), detecção de neurotransmissores, fatores neurotróficos e citocinas pró-inflamatórias, o extrato mostrou efeitos antidepressivos, incluindo melhora no comportamento depressivo, modulação dos níveis de neurotransmissores (5-HT, NE, DA e glutamato), fatores neurotróficos e citocinas pró-inflamatórias (NGF, BDNF, GDNF, IL-1 β , IL6, TNF- α e IL-17) no hipocampo.

Na pesquisa de Jung et al., (2013), o efeito do extrato de *Acanthopanax koreanum*, atenuou as mudanças comportamentais nos testes de CA, LCE e NF e bioquímicas (aumento nos níveis de corticosterona) em camundongos que foram induzidos a estresse, como também reverteu ao dano no hipocampo. *Acanthopanax koreanum* é relatada na literatura como uma das principais fontes biológicas do ácido acantoico. Assim, pode-se sugerir que esta ação está associada a presença do AA nesta planta.

Como anteriormente explanado, o ácido acantoico possui efeito antioxidante relatado na literatura (Tráves et al., 2014). E como a depressão possui em sua fisiopatologia um componente oxidativo já exposto na literatura, resolvemos investigar os efeitos do AA no estresse oxidativo (GSH, TBRAS) e nitrosativo (NO) em três áreas cerebrais afetadas pelo TDM, CPF, HC e CE.

O GSH é um cofator para as enzimas glutathione peroxidases, desempenham importante papel antioxidante endógeno, atua no mecanismo de defesa contra EROs, incluindo o H₂O₂, uma das espécies reativas mais deletérias para o sistema nervoso central (Rae; Williams, 2017). Os nossos resultados mostram que os níveis de GSH no

CPF, dos animais que receberam o tratamento de AA na menor dose, aumentaram, em comparação aos que receberam a mesma dose na associação com CORT. O grupo CORT somente reduziu os níveis de GSH no HC, sendo este efeito revertido pelo AA nas doses estudadas e pela DSV. O HC é uma área cerebral rica em mitocôndrias, importantes organelas celulares para os mecanismos de defesa antioxidantes, principalmente pelas enzimas endógenas, como as GSH-Px. Uma vez que, o hipocampo é uma área susceptível a espécies reativas de oxigênio dada a densa presença de receptores de glicocorticoides, responsáveis pela regulação por feedback negativo do eixo HHA (Morimoto et al., 1996; Van Eekelen et al., 1988; Wang et al., 2013).

Da mesma maneira em que nos estudos de Sousa, 2018 e Oliveira, 2022 houve uma diminuição dos níveis de GSH nos animais que receberam CORT, quando comparados com o controle, mostrando uma relação área-específica no HC. Ademais, demais pesquisas mostram um déficit antioxidante no cérebro de roedores, principalmente da glutathione, após estresse crônico (Mao et al., 2012). Por fim, o AA pode reverter o déficit antioxidante causado pela CORT, tanto nos grupos tratados apenas com o composto como nos grupos com modelo de indução de depressão, demonstrando que o efeito antioxidante do AA também atua no HC. No CE, nenhum grupo apresentou diferença nos níveis de GSH.

O malondialdeído (MDA) é um produto da decomposição dos ácidos graxos insaturados em suas cadeias essenciais através de oxidação, é amplamente usado como um marcador de estresse oxidativo (Nobre Júnior; Fonteles; Mendes, 2009). É relatado na literatura a elevação dos níveis de MDA na depressão (Islam et al., 2018; Rybka et al., 2013; Sarandol et al., 2007). Nossos resultados demonstraram que o modelo de CORT causou a elevação nos níveis de MDA nas três áreas cerebrais estudadas. No CPF, a CORT levou ao aumento nos níveis de MDA, que pode ser revertido pelo tratamento com AA em ambas as doses, tal efeito não pode ser observado no grupo DSV + CORT. Já no HC, o tratamento apenas com DSV aumentou a concentração tecidual de MDA, mas pode reverter o aumento induzido por CORT, de maneira semelhante ao tratamento com AA em ambas as doses. Por fim, no CE, os tratamentos não causaram alterações além do aumento causado pelo modelo CORT.

O aumento das concentrações de NO na depressão é um dos mecanismos

propostos na fisiopatologia desse transtorno, embora sua elevação não seja um consenso, sabe-se que alterações nos níveis de nitrito são vistas na depressão, assim como em outras patologias no SNC (Oliveira et al., 2017; Rinwa; Kumar, 2017; Xie et al., 2020, Chrapko et al 2004; Sugita et al., 2009). Esse marcador está associado ao estresse nitrosativo, dano celular provocado por espécies reativas de nitrogênio como peroxinitrito (ONOO-) (Kudlow et al., 2016; Maes et al., 2011). Na presença de elevadas concentrações de NO há reação com ânions superóxido (O⁻) e formação do íon peroxinitrito que é altamente reativo, neurotóxico e inflamatório (Kudlow et al., 2016; Steinert; Chernova; Forsythe, 2010; Vasconcelos et al., 2007).

Em nosso estudo o AA em ambas as doses, assim como a DSV em associação a CORT foi capaz de reduzir os níveis de NO em comparação ao grupo CORT no CPF. No HC o aumento dos níveis de NO no modelo foi observado, assim como a reversão deste marcador nas associações com CORT e AA em ambas as doses, como também à DVS. Já no CE, houve o aumento dos níveis de NO nos animais tratados apenas com AA, mas na associação com CORT, o AA na dose de 20mg/kg, causou a reversão no aumento causado pela CORT, da mesma forma como nos animais que receberam DSV. O aumento nos níveis de nitrito na presença de AA associada a corticosterona CE, pode ser justificada pela sua instabilidade, e possível interferência do AA na sua via de metabolização na presença da corticosterona de alguma forma região-específica, sendo alvo de maior elucidação. É válido considerar a instabilidade da via do óxido nítrico e logo, sua rápida degradação, como um desafio na quantificação desse marcador.

O ácido acantoico foi capaz de reduzir os níveis de NO em macrófagos isolados de ratos submetidos a um modelo de desafio imune por LPS, como também da enzima mieloperoxidase, uma enzima expressa em células cerebrais (Jolival et al., 1996; Nauseef, 2001) e imunes que desempenha um papel importante na regulação de processos inflamatórios, aumentando o dano oxidativo (Hansson et al., 2006; Través, 2014). Assim como, reverteu a redução nos níveis de GSH, superóxido dismutase e catalase, diminuiu os níveis de MDA aumentados, em um modelo de toxicidade hepática induzida por paracetamol (Wu et al., 2010). Como também reverteu o aumento nos níveis de GSH causados pelo dano hepático induzidos em ratos (Park et al., 2004).

Ressalta-se algumas limitações no presente trabalho, tais como financeiras, o que

não permitiu exploração mais detalhada com mais marcadores, bem como a necessidade de muitos animais devido ao pequeno volume das áreas cerebrais dos camundongos.

Os resultados aparentados neste estudo fundamentam a continuação do estudo dos efeitos do ácido acantoico no SNC, como a continuidade da investigação de seus mecanismos antidepressivos e ansiolíticos, em outros modelos animais de depressão e ansiedade por diferentes testes comportamentais, como também pelo estudo *in vitro*. O estudo de demais marcadores de estresse oxidativo, tais como SOD, CAT, MPO, bem como inflamatórios, como citocinas IL-2, IFN- γ , TNF- α , IL-6, também são úteis na investigação. Ademais a avaliação da via neurotrófica, pela dosagem de BDNF, por exemplo, e neurotransmissão pela quantificação de catecolaminas. Por fim, o estudo farmacológico com antagonistas e agonistas de receptores, tais como os abordados *in silico* no presente estudo, também pode prover informações relevantes acerca dos mecanismos de ação antidepressiva do AA. Podendo futuramente tornar-se um adjunto na terapia antidepressiva, visto que em alguns resultados compartilha-se melhor do que a DVS.

6 CONCLUSÃO

O ácido acantoico apresentou efeito antidepressivo no modelo neuroendócrino de depressão induzida por corticosterona nos testes de SC e NF, com efeitos semelhantes e/ou superiores a DVS. Como também não causou alteração na atividade locomotora no teste de CA. E ainda, no LCE foi possível observar efeito ansiolítico em relação ao controle, mas não no modelo de CORT. Onde o efeito antidepressivo parece estar relacionado com seu efeito antioxidante em diferentes áreas cerebrais, como pelo aumento de GSH no HC, diminuição de MDA no CPF e HC, e do NO nas três áreas estudada, tais efeitos similares e/ou melhores da DVS. Assim, os resultados demonstram o AA como um composto promissor na depressão e possível coadjuvante na farmacoterapia do TDM. Mais estudos em modelos celulares e animais devem ser realizados para maior elucidação de seus mecanismos antidepressivos.

REFERÊNCIAS

- AGO, Y. et al. Metabotropic glutamate 2/3 receptor antagonists improve behavioral and prefrontal dopaminergic alterations in the chronic corticosterone-induced depression model in mice. **Neuropharmacology**, v. 65, p. 29–38, 1 fev. 2013.
- ALACEVICH, C. et al. Depression and anxiety during and after episodes of COVID-19 in the community. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 8257, 2023.
- ANDERSON, George; MAES, Michael. Oxidative/Nitrosative Stress and Immuno-inflammatory Pathways in Depression: Treatment Implications. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20, n. 23, p. 3812–3847, 2014.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, 1973.
- ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE PSIQUIATRIA. **What is Depression?** Washington, DC: APA, 2021
- AYATOLLAHI, A.M., et al. TAMEC: a new analogue of cyclomyrsinol diterpenes decreases anxiety- and depression-like behaviors in a mouse model of multiple sclerosis. **Neurological research**, v. 39, n. 12, p. 1056–1065, 2017.
- BAI, T. et al. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, ameliorates the development of liver fibrosis via LXRs signals. **Chemico-Biological Interactions**, v. 218, p. 63–70, 25, 2014.
- BAO, A.-M.; SWAAB, D. F. The human hypothalamus in mood disorders: The HPA axis in the center. **IBRO Reports**, v. 6, p. 45–53, jun. 2019.
- BHATT, S. et al. Targeting inflammation: a potential approach for the treatment of depression. **Metabolic Brain Disease**, v. 38, n. 1, p. 45–59, jan. 2023.
- BITTENCOURT, S. C.; CAPONI, S.; MALUF, S. Medicamentos antidepressivos: inserção na prática biomédica (1941 a 2006) a partir da divulgação em um livro-texto de farmacologia. **Mana**, v. 19, n. 2, p. 219–247, 2013.
- BRASIL, Ministério da Saúde - **POLÍTICA NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS**. Brasília – Distrito Federal, 2006.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. - Brasília: Ministério da Saúde, 156p, 2012.
- BRISKIN, DP. Medicinal plants and phytomedicines - Linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant Physiology**. 2000; 124: 507- 514.
- CAI, X. et al. Local potentiation of excitatory synapses by serotonin and its alteration in rodent models of depression. **Nature Neuroscience**, v. 16, n. 4, p. 464–472, 2013.

CAI, X. F. et al. Inhibitory Effect of TNF-ALPHA. and IL-8 Secretion by Pimarane-Type Diterpenoids from *Acanthopanax koreanum*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, n. 5, p. 605–607, 2003.

MAURIZIO CASARRUBEA et al. The Hole-Board apparatus in the study of anxiety. **Physiology & Behavior**, v. 271, p. 114346–114346, 2023.

CHANG, H.; KIM, H.; CHUN, H.S.; Quantitative structure–activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. **Life Sciences**, v. 80, n. 9, p. 835–841, 2007.

CHANEY, A. et al. Effect of childhood maltreatment on brain structure in adult patients with major depressive disorder and healthy participants. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v. 39, n. 1, p. 50–59, 1 jan. 2014.

CHRAPKO, W. et al. Decreased platelet nitric oxide synthase activity and plasma nitric oxide metabolites in major depressive disorder. **Biological Psychiatry**, v. 56, n. 2, p. 129–134, 2004.

CÓRDOVA-GUERRERO, I. et al. New strategy toward the diverted synthesis of oxidized abietane diterpenes via oxidation of 6,7-dehydroferruginol methyl ether with dimethyldioxirane. **Tetrahedron Letters**, v. 54, n. 33, p. 4479–4482, 2013.

COSTA, J P; DE OLIVEIRA GA; DE ALMEIDA AA; et al. Anxiolytic-like effects of phytol: Possible involvement of GABAergic transmission. **Brain Research**, v. 1547, p. 34–42, 2014.

COSTA, J.P.; FERREIRA, P.B.; DE SOUSA, D.P.; et al. Anticonvulsant effect of phytol in a pilocarpine model in mice. **Neuroscience Letters**, v. 523, n. 2, p. 115–118, 2012.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4-5, p. 571–625, 2005.

DAVID, D. J. et al. Efficacy of the MCHR1 antagonist N-[(3R)-1, 2, 3, 4-tetrahydronaphthalen-3-yl]-4-[(4-quinolinyl)oxy] piperidinecarboxamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 331, n. 2, p. 577–585, 2009.

D'ISA, R.; COMI, G.; LEOCANI, L. The 4-Hole-Board Test for Assessment of Long-Term Spatial Memory in Mice. **Current Protocols**, v. 1, n. 8, ago. 2021.

ESHEL, N. et al. Striatal dopamine integrates cost, benefit, and motivation. **Neuron**, 2023.

EREN, I.; NAZIROGLU, M.; DEMIRDAS, A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. **Acta Histochemica**, v. 117, n. 5, p. 410–418, 2015.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, 1997.

FERNÁNDEZ-TERUEL, A.; ESTANISLAU, C. Meanings of self-grooming depend on an inverted U-shaped function with aversiveness. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 9, p. 591–591, 2016.

FERRARI, F.; VILLA, R. F. The Neurobiology of Depression: an Integrated Overview from Biological Theories to Clinical Evidence. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 7, p. 4847–4865, 10 ago. 2016.

FINKEL, T. Signal transduction by reactive oxygen species. **The Journal of Cell Biology**, v.194, n. 1, p. 7-15, 2011.

FORTE, A. R. C. C.; LESSA, P. H. C.; CHAVES FILHO, A. J. M.; et al. Oxidative stress and inflammatory process in borderline personality disorder (BPD): a narrative review. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 56, p. e12484, 2023.

FRIED, E. I. et al. What are “good” depression symptoms? Comparing the centrality of DSM and non-DSM symptoms of depression in a network analysis. **Journal of Affective Disorders**, v. 189, n. 1, p. 314–320, 2016.

GARDÈS-ALBERT, M.J; FERRADINI, C. Membrane lipid peroxidation: pulse and gradiolysis in oxyradical research. In Vigo-Pelfrey C (ed): Membrane lipid oxidation. 1th ed. Santa Clara, **CRC Press**, p. 2-30, 1991.

GOLD, P. W. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. **Molecular Psychiatry**, v. 20, n. 1, p. 32–47, 9 dez. 2015.

GORENSTEIN, C; SCAVONE, C. Avanços em psicofarmacologia - mecanismos de ação de psicofármacos hoje. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 21, n. 1, pp. 64-73, 1999.

GOSWAMI, S. et al. Animal models of post-traumatic stress disorder: face validity. **Frontiers in Neuroscience**, v. 7, 2013.

GREEN, L. C.; TANNENBAUM, S. R.; GOLDMAN, P. Nitrate Synthesis in the Germfree and Conventional Rat. **Science**, v. 212, n. 4490, p. 56–58, 3 abr. 1981.

GREGUS, A. et al. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. **Behavioural Brain Research**, v. 156, n. 1, p. 105-114, 2005.

HAN, X. et al. Acanthoic acid modulates lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease via FXR/LXRs-dependent manner. **Chemico-Biological Interactions**, v. 311, p. 108794, set. 2019.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S.; Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of fear-motivated behaviour. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 327, n. 1, p. 1–5, 1984.

HANSSON, O. et al. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. **The Lancet Neurology**, v. 5, n. 3, p. 228–234, mar. 2006.

HERBERT, J. Cortisol and depression: three questions for psychiatry. **Psychological Medicine**, v. 43, n. 03, p. 449–469, 2012.

HENNINGSEN, K. et al. Cognitive deficits in the rat chronic mild stress model for depression: relation to anhedonic-like responses. **Behavioural Brain Research**, v. 198, n. 1, p. 136–141, 2009.

HOLLERMAN, J. R.; TREMBLAY, L. SCHULTZ, W. Involvement of basal ganglia and orbitofrontal cortex in goal-directed behavior. **Progress in Brain Research**, p. 193–215, 2000.

IJIMA, M. et al. Pharmacological characterization of repeated corticosterone injection-induced depression model in rats. **Brain Research**, v. 1359, p. 75–80, 2010.

IKENOUCHI-SUGITA, A. et al. Opposite effects of milnacipran, a serotonin norepinephrine reuptake inhibitor, on the levels of nitric oxide and brain-derived neurotrophic factor in mouse brain cortex. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 380, n. 6, p. 479–486, 2009.

ISLAM, M. R. et al. Elevated serum levels of malondialdehyde and cortisol are associated with major depressive disorder: A case-control study. **SAGE Open Medicine**, v. 6, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA: **Pesquisa nacional de saúde: 2019: percepção do estado de saúde, estilos de vida, doenças crônicas e saúde bucal: Brasil e grandes regiões** / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE, 2020. 113p

JAYAWEERA, H. K. et al. Mild Cognitive Impairment Subtypes in Older People With Depressive Symptoms: Relationship With Clinical Variables and Hippocampal Change. **Journal of geriatric psychiatry and neurology**, v. 28, n. 3, p. 174–183, 2015.

JIA, T. et al. A subthalamo-parabrachial glutamatergic pathway is involved in stress-induced self-grooming in mice. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 44, n. 11, p. 2169–2183, 15 jun. 2023.

JOLIVALT, C. et al. Apolipoprotein E is highly susceptible to oxidation by myeloperoxidase, an enzyme present in the brain. **Neuroscience Letters**, v. 210, n. 1, p. 61–64, maio 1996.

JUNG, J.M.; PARK, S.J.; LEE, Y. W.; et al. The effects of a standardized *Acanthopanax koreanum* extract on stress-induced behavioral alterations in mice. **Journal of**

Ethnopharmacology, v. 148, n. 3, p. 826–834, 2013.

JÚNIOR, H.V.N; FONTELES, M.M.F; DE FREITAS, M. Rivelilson. Acute Seizure Activity Promotes Lipid Peroxidation, Increased Nitrite Levels and Adaptive Pathways Against Oxidative Stress in the Frontal Cortex and Striatum. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 3, p. 130–137, 2009.

KASEMSUK, T. et al. A novel synthetic acanthoic acid analogues and their cytotoxic activity in cholangiocarcinoma cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 29, p. 115886, 2021.

KALUEFF, A.V. et al. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 1, p. 45–59, 2016.

KANG, O.-H. et al. Inhibition of trypsin-induced mast cell activation by acanthoic acid. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, n. 3, p. 326–331, 2006.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSELL, T.M. **Princípios de Neurociência**. 6.ed. Editora Manole, 2023.

KAMEI, J. et al. Modification of the Effects of Benzodiazepines on the Exploratory Behaviors of Mice on a Hole-Board by Diabetes. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 86, n. 1, p. 47–54, 2001.

KAPCZINSKI, F. et al. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. **Journal of Psychiatric Research**, v. 45, n. 2, p. 156–161, 2011.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**, 16. ed. Mc Graw Hill, 2024.

KESSLER, R.C. et al. The Epidemiology of Major Depressive Disorder. **JAMA**, v. 289, n. 23, p. 3095, 2003.

KOO, P. C. et al. Combined cognitive, psychomotor and electrophysiological biomarkers in major depressive disorder. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, 2018.

KIM, Y. H; CHUNG, B.; SANKAWA, U. Pimaradiene Diterpenes from *Acanthopanax koreanum*. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 6, p. 1080–1083, 1988.

KUDLOW, P. et al. Nitric Oxide and Major Depressive Disorder: Pathophysiology and Treatment Implications. *Current* **Molecular Medicine**, v. 16, n. 2, p. 206–215, 201

KUPFERBERG, A; BICKS, L.; HASLER, G. Social functioning in major depressive disorder. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 69, n. 1, p. 313–332, 2016.

LAM, T. et al. Synthesis of a novel family of diterpenes and their evaluation as anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, n. 19, p. 3217–3221, 2003.

LAKHAN,R.; AGRAWAL, A.; SHARMA, M. Prevalence of Depression, Anxiety, and

Stress during COVID-19 Pandemic. **Journal of Neurosciences in Rural Practice**, v. 11, p. 519–525, 2020.

LARK, G.; KOESTER, A. G.; PEARSON, D. W. Exploratory behavior in chronic disulfoton poisoning in mice. **Psychopharmacologia**, v. 20, n. 2, p. 169–171, 1971.

LEBEDEVA, K. A; CARUNCHO, H.J; KALYNCHUK, L. E. Cyclical corticosterone administration sensitizes depression-like behavior in rats. **Neuroscience Letters**, v. 650, p. 45–51, 2017.

LI, Y.; ZHANG, X.-S.; YU, J.-L. Acanthoic acid inhibits LPS-induced inflammatory response by activating LXR α in human umbilical vein endothelial cells. **International Immunopharmacology**, v. 32, p. 111–115, 2016.

LIMA, E. B. C. et al. Antidepressant, antioxidant and neurotrophic properties of the standardized extract of Cocos nucifera husk fiber in mice. *Journal of Natural Medicines*, v. 70, n. 3, p. 510–521, 8. 2016.

LIMA, L. M.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. O renascimento de um fármaco: talidomida. **Química Nova**, v. 24, n. 2001.

LIMA, C. N. et al. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 51, p. 164–175, jan. 2015.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180–185, 1987.

LIU, W. et al. The Role of Neural Plasticity in Depression: From Hippocampus to Prefrontal Cortex. **Neural Plasticity**, 2017.

LIYANARACHCHI K; ROSS R; DEBONO M. Human studies on hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. **Best Practice Research Clinical Endocrinology & Metabolism**. V. 31, n.5, p. 459-473, 2017. doi: 10.1016/j.beem.2017.10.011

LOPRESTI, A.L.; HOOD, S.D.; DRUMMOND, P.D. A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: Diet, sleep and exercise. **Journal of Affective Disorders**, v. 148, n. 1, p. 12–27, 2013.

MACIEL, M. A. M.; et al. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**; São Paulo, volume 25, número 3, páginas 429-2002.

MAO, Q. Q. et al. Protective effects of piperine against corticosterone-induced neurotoxicity in PC12 cells. **Cellular and Molecular Neurobiology**, 2012.

MARINHO, A. M. R. et al. Antimicrobial Activity and Molecular Docking Studies of the Biotransformation of Diterpene Acanthoic Acid Using the Fungus *Xylaria* sp. **Antibiotics**, v. 12, n. 8, p. 1331, 2023.

MAZZA, M.G. et al. Post-COVID-19 Depressive Symptoms: Epidemiology,

Pathophysiology, and Pharmacological Treatment. **CNS Drugs**, v. 36, n. 7, p. 681–702, 2022.

MENKE, A. et al. Childhood trauma dependent anxious depression sensitizes HPA axis function. **Psychoneuroendocrinology**, v. 98, p. 22–29, 2018

MILLER, E. K.; COHEN, J. D. An integrative theory of prefrontal cortex function. **Annual review of neuroscience**, 2001.

MOHMMAD ABDUL, H.; BUTTERFIELD, D. A. Involvement of PI3K/PKG/ERK1/2 signaling pathways in cortical neurons to trigger protection by cotreatment of acetyl-L-carnitine and α -lipoic acid against HNE-mediated oxidative stress and neurotoxicity: Implications for Alzheimer's disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 42, n. 3, p. 371–384, 2007.

MORENO, R.A; MORENO, D.H; SOARES, M.B.M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 24-39, 1999.

MORIMOTO, M. et al. Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: An immunohistochemical and in situ hybridization study. **Neuroscience Research**, 1996.

JÚNIOR, H. V. N.; FONTELES, M. M. DE F.; MENDES F. R. Acute Seizure Activity Promotes Lipid Peroxidation, Increased Nitrite Levels and Adaptive Pathways Against Oxidative Stress in the Frontal Cortex and Striatum. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 3, p. 130–137, 2009.

NAUSEEF, W. M. Contributions of myeloperoxidase to proinflammatory events: more than an antimicrobial system. **International journal of hematology**, v. 74, n. 2, p. 125–33, ago. 2001.

NUNEZ, A. V. et al. Diterpene acids from Mikania sp. nov (Asteraceae). **Biochemical systematics and ecology**, v. 32, n. 2, p. 233, 2004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, **Relatório mundial sobre saúde mental: transformando a saúde mental para todos**, Genebra. 2022.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.

OLIVEIRA, T.Q.; et al. Lipoic acid prevents mirtazapine-induced weight gain in mice without impairs its antidepressant-like action in a neuroendocrine model of depression. **Behavioural Brain Research**, v. 419, p. 113667, 2022.

OLIVEIRA, T. Q. et al. Brain antioxidant effect of mirtazapine and reversal of sedation by its combination with alpha-lipoic acid in a model of depression induced by corticosterone. **Journal of Affective Disorders**, v. 219, p. 49–57, 1, 2017.

PAGLIARONE, A.C; SFORCIN, J.M. Estresse: revisão sobre seus efeitos no sistema imunológico. **Biosaúde**, v. 11, n. 1, p. 57-90, 2009.

PARK, L. T.; ZARATE, C. A. Depression in the Primary Care Setting. **New England Journal of Medicine**, v. 380, n. 6, p. 559–568, 2019.

PELLOW, S.; FILE, S.E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 24, n. 3, p. 525–529, 1986.

PINHEIRO, M. L. B. et al. Acanthoic acid and other constituents from the stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 0, p. 1095–1102, 2009.

POLESZAK, E. et al. Ligands of the CB2 cannabinoid receptors augment activity of the conventional antidepressant drugs in the behavioural tests in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 378, p. 112297, 2020.

PORSOLT, R. D. et al. Immobility induced by forced swimming in rats: Effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. **European Journal of Pharmacology**, v. 57, n. 2-3, p. 201–210, 1979.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, n. 1-3, p. 3–33, 2003.

QIUSHI, W.; GUANGHUA, L.; GUANGQUAN, X. Acanthoic acid ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury. **European Journal of Pharmacology**, v. 750, p. 32–38, 2015.

RACAGNI, G.; POPOLI, M. The pharmacological properties of antidepressants. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 25, n. 3, p. 117–131, 2010.

RADENOVIC, L.; SELAKOVIC, V. Differential effects of NMDA and AMPA/kainate receptor antagonists on nitric oxide production in rat brain following intrahippocampal injection. **Brain Research Bulletin**, v. 67, n. 1-2, p. 133–14. 2005.

RAE, C. D.; WILLIAMS, S. R. Glutathione in the human brain: Review of its roles and measurement by magnetic resonance spectroscopy. **Analytical Biochemistry**, v. 529, p. 127–143, 2017.

RINWA, P; KUMAR, A. Quercetin along with piperine prevents cognitive dysfunction, oxidative stress and neuro-inflammation associated with mouse model of chronic unpredictable stress. **Archives of Pharmacal Research**, v. 40, n. 10, p. 1166–1175, 2013.

ROSSO, M. et al. Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 143, p. 104928, 2022.

ROZENTHAL, M.; LAKS, J.; ENGELHARDT, E. Aspectos neuropsicológicos da

depressão. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 26, n. 2, p. 204–212, 2004.

RYBKA, J. et al. Interplay between the pro-oxidant and antioxidant systems and proinflammatory cytokine levels, in relation to iron metabolism and the erythron in depression. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 63, p. 187–194, 2013.

SALVATORE, M. F. Dopamine Signaling in Substantia Nigra and Its Impact on Locomotor Function—Not a New Concept, but Neglected Reality. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 2, p. 1131, 2024.

SARANDOL, A. et al. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. **Human Psychopharmacology**, 2007.

SCHILDKRAUT, J. J. THE CATECHOLAMINE HYPOTHESIS OF AFFECTIVE DISORDERS: A REVIEW OF SUPPORTING EVIDENCE. **American Journal of Psychiatry**, v. 122, n. 5, p. 509–522. 1965.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of Total, Protein-Bound, and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192–205, 1968.

SILVA, I.S. Neurogênese no sistema nervoso adulto de mamíferos. **Revista da Biologia**, v.3, 2009.

SILVA, M. C. C. et al. Augmentation therapy with alpha-lipoic acid and desvenlafaxine: A future target for treatment of depression? **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 386, n. 8, p. 685–695, 2013

SILVA, M. C. C. et al. Evidence for protective effect of lipoic acid and desvenlafaxine on oxidative stress in a model depression in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 64, p. 142–148, 2016.

MOREIRA, D. et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors alleviated depressive and anxious-like behaviors in mice exposed to lipopolysaccharide: Involvement of oxidative stress and neuroinflammation. **Pharmacology, biochemistry and behavior**, p. 173778–173778, 2024.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, 2002.

SINGH, M. K.; GOTLIB, I. H. The neuroscience of depression: Implications for assessment and intervention. **Behaviour Research and Therapy**, 2014.

SINGH, I. et al. Ketamine treatment for depression: opportunities for clinical innovation and ethical foresight. **Lancet Psychiatry**, v. 4, n. 5, p. 419–426, 2017.

SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nature Protocols**, v. 7, n. 6, p. 1009–1014, 2012.

SONG, C.; BERRIDGE, K.C.; KALUEFF, A.V. “Stressing” rodent self-grooming for neuroscience research. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 9, p. 591–591, 2016.

SOUSA, C. N. S. et al. Involvement of oxidative pathways and BDNF in the antidepressant effect of carvedilol in a depression model induced by chronic unpredictable stress. **Psychopharmacology**, v. 239, n. 1, p. 297–311, 2022.

SOUSA, C. N. S. et al. Neuroprotective evidence of alpha-lipoic acid and desvenlafaxine on memory deficit in a neuroendocrine model of depression. **N S A Pharmacology** v. 391, n. 8, p. 803–817, 2018.

SOUSA, C. N. S. et al. Anxiolytic Effect of Carvedilol in Chronic Unpredictable Stress Model. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 1–14, 2022.

STARR, B.S; STARR, M.S. Differential effects of dopamine D1 and D2 agonists and antagonists on velocity of movement, rearing and grooming in the mouse: Implications for the roles of D1 and D2 receptors. **Neuropharmacology**, v. 25, n. 5, p. 455-463, 1986.

STEINERT, J. R.; CHERNOVA, T.; FORSYTHE, I.D. Nitric Oxide Signaling in Brain Function, Dysfunction, and Dementia. **The Neuroscientist**, v. 16, n. 4, p. 435–452, 2010.

STERNER, E. Y.; KALYNCHUK, L. E. Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: Relevance to depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 34, n. 5, p. 777–790, 2010.

STERU, L. The tail suspension test : A new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, p. 367–370, 1985.

STOPA, S. R. et al. Prevalência do autorrelato de depressão no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 18, n. suppl 2, p. 170–180, 2015.

STURMAN, O.; GERMAIN, P.; BOHACEK, J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. **Stress**, v. 21, n. 5, p. 443–452, 2018.

SUH, Y.-G. et al. Synthesis and anti-inflammatory effects of novel pimarane diterpenoid analogs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 13, p. 3487–3490, 2004.

THOMAS-OLLIVIER, V. et al. Cognitive component of psychomotor retardation in unipolar and bipolar depression: Is verbal fluency a relevant marker? Impact of repetitive transcranial stimulation. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 71, n. 9, p. 612–623, 2017.

TORRES, M. C. S. **Efeito neuroprotetor da catequina sintética em modelo de depressão-símile por corticosterona em camundongos**. Dissertação (Mestrado em

Farmacologia) –Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023.

TONTONOZ, P.; MANGELSDORF, D. J. Liver X Receptor Signaling Pathways in Cardiovascular Disease. **Molecular Endocrinology**, v. 17, n. 6, p. 985–993, 2003.

TOZZI, L. et al. Single-Nucleotide Polymorphism of the FKBP5 Gene and Childhood Maltreatment as Predictors of Structural Changes in Brain Areas Involved in Emotional Processing in Depression. **Neuropsychopharmacology**, v. 41, n. 2, p. 487–497, 2015.

TRAVÉS, P. G. et al. Anti-inflammatory Actions of Acanthoic Acid-Related Diterpenes Involve Activation of the PI3K p110 γ / δ Subunits and Inhibition of NF- κ B. **Chemistry & Biology**, v. 21, n. 8, p. 955–966, 2014.

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E. S. Informações Tóxicas de Alguns Fitoterápicos Utilizados no Brasil. **Revista brasileira de Ciências Farmacêuticas** V.42, n.2, 2006.

UNAL, G.; CANBEYLI, R. Psychomotor retardation in depression: A critical measure of the forced swim test. **Behavioural Brain Research**, v. 372, p. 112047, 2019.

VAN EEKELEN, J. A. M. et al. Distribution of the mineralocorticoid and the glucocorticoid receptor mRNAs in the rat hippocampus. **Journal of Neuroscience Research**, 1988.

VASCONCELOS, S.M.L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323–1338, 2007.

WALF, A. A.; FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, v. 2, n. 2, p. 322–328, 1 mar. 2007.

WANG, Q. et al. Glucocorticoid receptor protein expression in human hippocampus; stability with age. **Neurobiology of Aging**, 2013.

WANG, T. et al. Diterpene Ginkgolides Exert an Antidepressant Effect Through the NT3-TrkA and Ras-MAPK Pathways. **Drug Design, Development and Therapy**, v. Volume 14, p. 1279–1294, 2020.

WASOWSKI, C.; MARDER, M. Central nervous system activities of two diterpenes isolated from *Aloysia virgata*. **Phytomedicine**, v. 18, n. 5, p. 393–401, 2011.

VOLKOW, N. D.; MICHAELIDES, M.; BALER, R. The neuroscience of drug reward and addiction. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 4, p. 2115–2140, 2019.

WU, Y. et al. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, protects acetaminophen-induced hepatic toxicity in mice. **Phytomedicine**, v. 17, n. 6, p. 475–479, 2010.

XIE, X. et al. Nicotinamide mononucleotide ameliorates the depression-like behaviors

and is associated with attenuating the disruption of mitochondrial bioenergetics in depressed mice. **Journal of Affective Disorders**, v. 263, p. 166–174, 2020.

YAO, Y.-L. et al. Acanthoic Acid Can Partially Prevent Alcohol Exposure-Induced Liver Lipid Deposition and Inflammation. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 134, 2017.

YAN, L. et al. The extract of Acanthopanax Cortex relieves the depression-like behavior and modulates IL-17 signaling in chronic mild stress-induced depressive mice. **Research Square**, 2021.

YAN, Z.; REIN, B. Mechanisms of synaptic transmission dysregulation in the prefrontal cortex: pathophysiological implications. **Molecular Psychiatry**, 2021,

YOSHIKAWA, T.; NAITO, Y. What Is Oxidative Stress? **JMAJ**, v. 45, n. 7, 2002.

YOUNG, C. B. et al. Anhedonia and general distress show dissociable ventromedial pré-frontal cortex connectivity in major depressive disorder. **Translational psychiatry**, 2016.

ZHAO, Y. et al. The brain structure, immunometabolic and genetic mechanisms underlying the association between lifestyle and depression. **Nature mental health**, 2023.

ZORN, J.V; SCHÜR, R.R; BOKS, M.P; KAHN, R.S; JOËLS, M; VINKERS, C.H. Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 77, p. 25-36, 2017.

JOHNSTON, J. N. et al. Inflammation, stress and depression: An exploration of ketamine's therapeutic profile. **Drug Discovery Today**, v. 28, n. 4, p. 103518, 2023.

ZHANG, K. et al. Hyperactive neuronal autophagy depletes BDNF and impairs adult hippocampal neurogenesis in a corticosterone-induced mouse model of depression. **Theranostics**, v. 13, n. 3, p. 1059-1075, 2023.

ANEXOS

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ

Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS ANTIDEPRESSIVOS E NEUROQUÍMICOS DO ÁCIDO ACANTÓICO NO MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDO POR CORTICOSTERONA", protocolada sob o CEUA nº 2616120523 (ID 002465), sob a responsabilidade de **Silvânia Maria Mendes Vasconcelos e equipe; Pedro Janelson dos Santos Lima; Carla da Silva Cunha; Carla Brígida Teixeira Magalhães; Caio Bruno Rodrigues Martins; Pauliane Valeska Chagas Batista** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 18/07/2023.

We certify that the proposal "ANTIDEPRESSANT AND NEUROCHEMICAL EFFECTS OF ACANTHOIC ACID IN THE CORTICOSTERONE-INDUCED DEPRESSION MODEL", utilizing 200 Heterogenics mice (200 females), protocol number CEUA 2616120523 (ID 002465), under the responsibility of **Silvânia Maria Mendes Vasconcelos and team; Pedro Janelson dos Santos Lima; Carla da Silva Cunha; Carla Brígida Teixeira Magalhães; Caio Bruno Rodrigues Martins; Pauliane Valeska Chagas Batista** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 07/18/2023.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 06/2023 a 01/2025 Área: Departamento de Fisiologia E Farmacologia

Origem: Biotério Prof. Eduardo Torres (setorial FAMED)

Espécie: Camundongos heterogênicos

sexo: Fêmeas

idade: 40 a 70 dias

Quantidade: 200

Linhagem: Swiss

Peso: 25 a 30 g

Fortaleza, 18 de julho de 2023

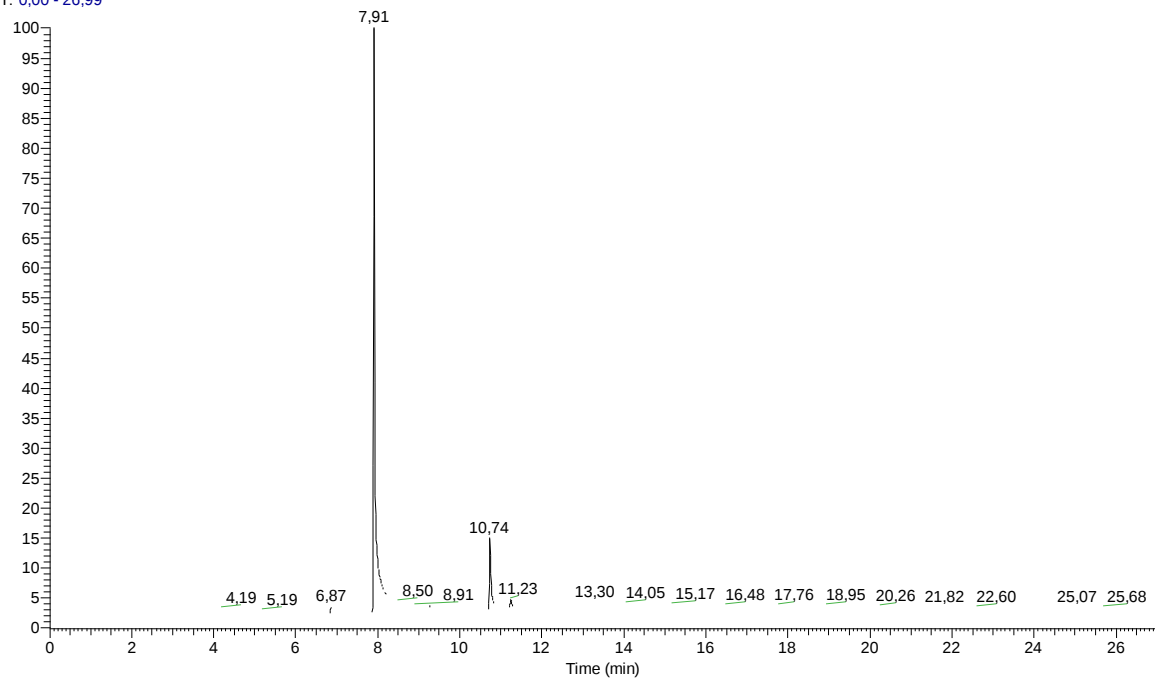
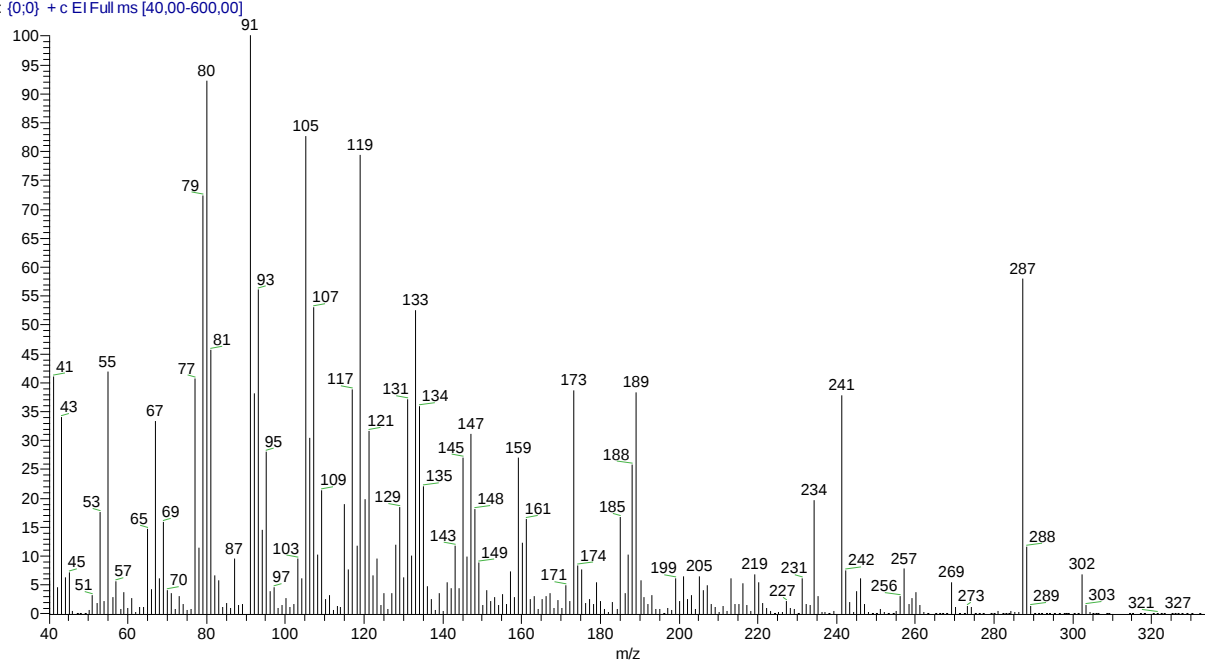
Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

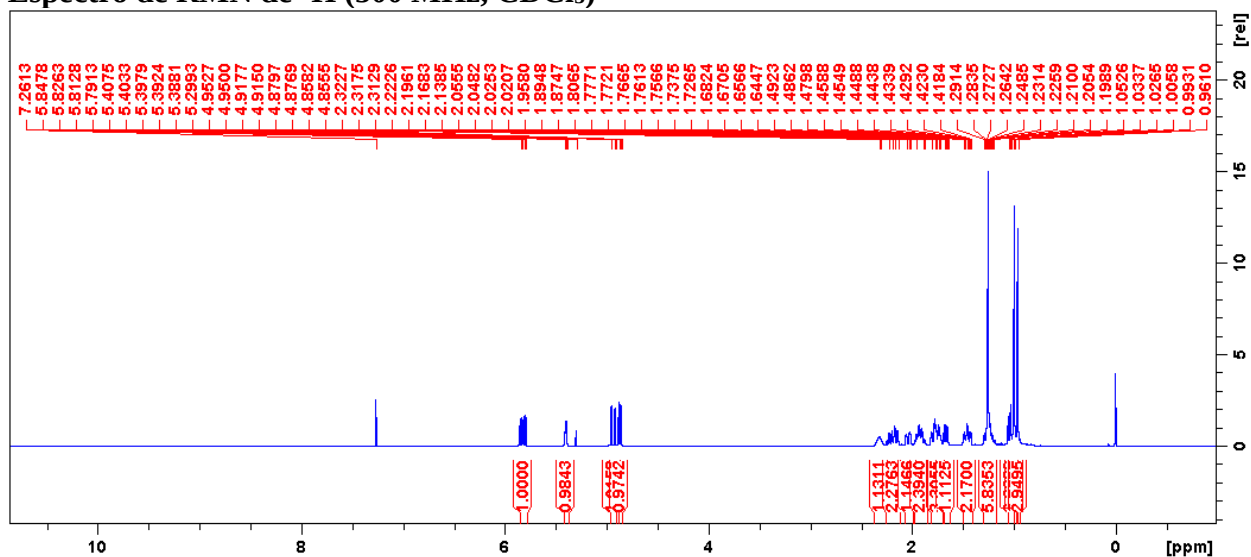
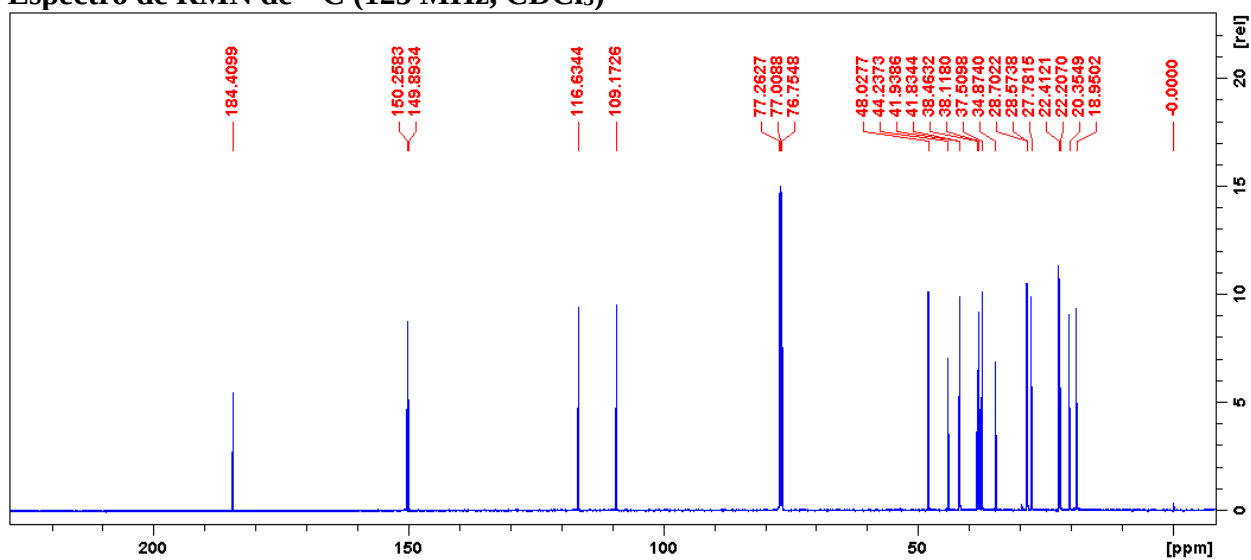
Profa. Dra. Karuza Maria Alves Pereira
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará



ANEXO B - CG/EM DO ÁCIDO ACANTOICO

RT: 0,00 - 26,99

NL:
3.65E8
TIC MS
EH_ACEH AC #466 RT: 7.91 AV: 1 NL: 1,68E7
T: {0,0} + c EI Full ms [40,00-600,00]

Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3)Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)Espectro de RMN de ^{13}C DEPT135 (125 MHz, CDCl_3)