



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACUDADE DE MEDICINA (*CAMPUS-SOBRAL*)**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**LYSRAYANE KERULLEN DAVID BARROSO**

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA DO CARVACROL EM MODELO DE  
DEPRESSÃO INDUZIDA PELA CORTICOSTERONA EM CAMUNDONGOS**

**SOBRAL - CE**  
**2021**

**LYSRAYANE KERULLEN DAVID BARROSO**

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA DO CARVACROL EM MODELO DE  
DEPRESSÃO INDUZIDA PELA CORTICOSTERONA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Ceará/*Campus* Sobral, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de Concentração: Biotecnologia. Linha de Pesquisa: Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Thiciane Vasconcelos de Melo

**SOBRAL – CE**

**2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- B285e Barroso, Lysrayane Kerullen David.  
Estudo da atividade antidepressiva do carvacrol em modelo de depressão induzida pela corticosterona em camundongos / Lysrayane Kerullen David Barroso. – 2021.  
82 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2021.  
Orientação: Prof. Dr. Carla Thiciane Vasconcelos de Melo.
1. Depressão. 2. Corticosterona. 3. Lippia. 4. Carvacrol. I. Título.

CDD 660.6

---

LYSRAYANE KERULLEN DAVID BARROSO

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIDEPRESSIVA DO CARVACROL EM MODELO DE  
DEPRESSÃO INDUZIDA PELA CORTICOSTERONA EM CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de Concentração: Biotecnologia. Linha de Pesquisa: Farmacologia.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Carla Thiciane Vasconcelos de Melo (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Lissiana Magna Vasconcelos Aguiar  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Isabel Linhares  
Centro Universitário INTA (UNINTA)

À Ele toda honra e toda glória.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me guiado e ter me dado forças para concluir esse trabalho, mesmo diante do atual cenário que estamos vivendo. Minha eterna gratidão por permitir que tudo isso acontecesse.

Aos meus pais, Emilson e Jeane, por terem me ensinado o valor do estudo. À minha única e amada irmã, Lisrayara, por sempre acreditar tanto no meu potencial. Aos meus amores “Noh” e Zeca, que estiveram comigo em todos os momentos, acreditando em mim, me apoiando, me ajudando em tudo que era possível. Sou grata a Deus por tê-los em minha vida.

À minha orientadora, Dra. Carla Thiciane, por, de forma tão acolhedora, me receber e me orientar. Obrigada por todas as palavras de apoio, por todos os ensinamentos, elogios e acima de tudo por ter acreditado e confiando em mim. Tenho grande admiração pela sua trajetória.

À professora Dra. Lissiana Magna e Dra. Maria Isabel, por aceitarem o convite para participar da banca e estarem dispostas a contribuir.

A todos que compõem a equipe do Laboratório de Fisiologia e Neurociência. Sem vocês eu não teria conseguido! Meu agradecimento em especial ao Mateus, Miguel e Isaac, por terem sido presentes em cada passo desse trabalho e não mediram esforços para me ajudar. Aos alunos de Iniciação Científica, Nickolas, Bárbara, Marília, Joaquim, Flávia, Carol e Clara, por terem me ajudado nos experimentos, pois sem vocês eu não conseguiria executar esse trabalho árduo. Obrigada!

Ao meu companheiro de experimentos, colega de turma do mestrado e técnico do laboratório de Fisiologia e Neurociência, Francisco José, por sua relevante colaboração nos experimentos desse trabalho, por estar sempre disposto a ajudar de forma rápida e eficaz, e por ter se tornando um amigo.

Aos meus amigos, Feliphy Custódio e Lucas Diogo, por sempre terem me ajudado nos momentos de dúvidas e desespero. Obrigada pela disponibilidade, afeto e conselhos.

À pos-doutoranda e bióloga, Cleane Moreira, por sempre estar disposta a dar sugestões e pelo apoio dado nos experimentos neuroquímicos. Foi de suma importância na banca de qualificação.

À médica veterinária do Biotério da UFC/Sobral, Alana Godinho, pela sua empatia, ensinamentos e compreensão.

Ao técnico do laboratório do NUBEM, no Centro Universitário INTA, Mateus Gomes, que sempre esteve disponível para me auxiliar nas leituras das dosagens.

À minha turma do mestrado, pela partilha e momentos vividos.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (UFC/Sobral), por todos os ensinamentos e colaborações durante o mestrado.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) e a FUNCAP, pelo apoio financeiro.

Aos camundongos, que sem escolha, tiveram suas vidas tiradas para fundamentarem a realização dessa pesquisa.

A todos que me ajudaram de uma forma direta ou indireta, minha gratidão.

“O amor não é nada mais que a descoberta de nós mesmo nos outros, e o prazer desse reconhecimento”.

Alexander Smith

## RESUMO

A depressão é considerada um transtorno de etiologia multifatorial, uma vez que possui aspectos genéticos, neuroquímicos e sociais. A busca por novos compostos com potencial efeito antidepressivo tem sido constante e nesse sentido, as plantas medicinais e compostos isolados surgem como fontes dessas moléculas. Dentre essas substâncias pode ser referido o carvacrol (CVC), um monoterpeneo que compõe óleos essenciais de determinadas plantas aromáticas. O presente trabalho buscou investigar o efeito do CVC em modelo de depressão animal induzida por corticosterona (CORT). Foram utilizados camundongos *Swiss* machos (20-25g) que receberam CORT 20 mg/kg ou salina, via subcutânea por 22 dias, onde a partir do 14º dia os animais também foram tratados com CVC 6,25 e 12,5 mg/kg, fluvoxamina 50 mg/kg ou veículo, via gavagem. Os testes comportamentais realizados durante o protocolo foram do nado forçado (TNF), da suspensão da cauda (TSC), do campo aberto (TCA) e do labirinto em cruz elevado (TLCE). Ao final dos testes, os animais foram eutanasiados e as áreas cerebrais do hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado foram retiradas afim de se avaliar os parâmetros de estresse oxidativo, concentrações de malonildialdeído (MDA), nitrito e glutathiona reduzida (GSH). O presente estudo demonstrou que a CORT aumentou significativamente o tempo de imobilidade dos animais no TNF e TSC, entretanto, o CVC conseguiu reverter, de forma significativa, o aumento do tempo de imobilidade provocada pela CORT, sugerindo um efeito do tipo antidepressivo. Porém, o CVC não exerceu efeitos sobre a atividade locomotora no TCA (cruzamentos, *rearing* e *grooming*) demonstrando que não houve alteração na atividade locomotora dos animais e, portanto, o efeito observado nos testes anteriores está relacionado com ação antidepressiva e não psicoestimulante. Além disso, observou-se que o CVC (6,25 e 12,5 mg/kg) aumentou o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos (12,5 mg/kg), no TLCE, sugerindo um efeito ansiolítico. Em relação aos parâmetros neuroquímicos, a CORT aumentou de forma significativa os níveis de MDA no corpo estriado, contudo o CVC reduziu os níveis de MDA no corpo estriado e córtex pré-frontal. Além disso, o CVC aumentou os níveis de GSH nas áreas cerebrais avaliadas. Desta forma, conclui-se que o CVC é uma molécula promissora, pois foi capaz de alterar o comportamento dos animais e aumentar a defesa antioxidante em áreas do cérebro, demonstrando que exerce modulação importante de parâmetros neuroquímicos envolvidos em depressão.

**Palavras-chave:** Depressão. Corticosterona. Lippia. Carvacrol.

## ABSTRACT

Depression is considered a multifactorial disorder, since it has genetic, neurochemical and social aspects. Searching for new compounds with potential antidepressant effect has been constant. In this context, medicinal plants and isolated compounds appear as sources of these molecules. Carvacrol (CVC), a monoterpene that composes essential oils of certain aromatic plants, is one of those substances. The present study investigates the effect of CVC in corticosterone-induced depression model in mice. Male *Swiss* mice (20-25g) were used and received CORT 20 mg/kg or saline subcutaneously for 22 days. From the 14th day on the animals were also treated with CVC 6,25 and 12,5 mg/kg, fluvoxamine 50 mg/kg or vehicle via gavage. The behavioral tests performed during the protocol were forced swimming (FST), tail suspension test (TST), open field test (OFT) and elevated plus maze test (EPMT). At the end of the tests, the animals were euthanized and the brain areas hippocampus, prefrontal cortex and striatum were removed in order to assess the parameters of oxidative stress, concentrations of malondialdehyde (MDA), nitrite and reduced glutathione (GSH). The present study demonstrated that CORT significantly increased the immobility time of animals in FST and TST, however, CVC managed to significantly reverse the increase in immobility time caused by CORT, suggesting an antidepressant effect. However, the CVC had no effect on locomotor activity in the OFT (crossings, rearing and grooming) demonstrating that there was no change in the locomotor activity of the animals, and therefore, the effect observed in previous tests is related to antidepressant and non-psycho-stimulant action. In addition, it was observed that CVC (6.25 and 12.5 mg / kg) increased the number of entries and the length of stay in the open arms (12.5 mg / kg), in the EPMT, suggesting an anxiolytic effect. Regarding the neurochemical parameters, CORT significantly increased the levels of MDA in the striatum, however the CVC reduced the levels of MDA in the striatum and prefrontal cortex. In addition, CVC increased GSH levels in the evaluated brain areas. Thus, conclude that CVC is a promising molecule, since it was able to increase the antioxidant defense in brain areas, demonstrating that it exerts important modulation of the neurochemical parameters involved in depression.

**Keywords:** Depression. Corticosterone. Lippia. Carvacrol.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Lippia sidoides</i> Cham (alecrim-pimenta).....	33
Figura 2 - Estrutura química bidimensional e tridimensional do carvacrol.....	34
Figura 3 - Esquema de administração das drogas e de realização dos testes comportamentais do protocolo. ....	42
Figura 4 - Representação esquemática do teste comportamental do nado forçado, onde foi avaliado o tempo de imobilidade (em segundos) durante 5 minutos. CORT – corticosterona; FLUV - fluvoxamina; CVC – carvacrol. ....	42
Figura 5 - Representação esquemática do teste comportamental do campo aberto. Foram avaliados, durante 5 minutos, o número de cruzamentos, rearing e grooming. CORT - corticosterona FLUV - fluvoxamina; CVC – carvacrol.....	43
Figura 6 - Representação esquemática do teste comportamental do labirinto em cruz elevado. Foram avaliados, por 5 minutos, o número de entradas e permanência nos braços abertos e fechados. CORT – corticosterona; FLUV - fluvoxamina; CVC – carvacrol.....	44
Figura 7 - Representação esquemática do teste comportamental da suspensão da cauda, onde foi avaliado o tempo de imobilidade (em segundos) durante 6 minutos. CORT – corticosterona; FLUV - fluvoxamina; CVC – carvacrol. ....	45
Figura 8 – Efeito da administração crônica de CORT, via subcutânea, na indução da depressão por meio do tempo de imobilidade (s) no TNF.....	48
Figura 9 - Tempo de imobilidade no TNF dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem.....	49
Figura 10 – Tempo de imobilidade no TLCE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem. ....	50
Figura 11 –Número de Cruzamentos (A), Número de <i>Rearing</i> (B) e Número de <i>Grooming</i> (C) no TCA dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento, via gavagem. ....	531
Figura 12 –NEBA (A), PEBA (B), TPBA(C) e PPBA(D) no TLCE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem. ....	53
Figura 13 – Concentração de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) nas áreas cerebrais do Hipocampo (A), Corpo Estriado (B) e Córtex Pré-Frontal (C) dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem. ..	55
Figura 14 – Concentração de nitrito/nitrato nas áreas cerebrais do Hipocampo (A), Corpo Estriado (B) e Córtex Pré-Frontal (C) dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem. ....	57
Figura 15 – Concentração dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) nas áreas cerebrais do Hipocampo (A), Corpo Estriado (B) e Córtex Pré-Frontal (C) dos animais submetidos ao	

modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem..... 59

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Subclassificações dos tipos depressivos “Episódio depressivo” e “Transtorno depressivo recorrente” segundo o CID-10. ....	22
Quadro 2 - Drogas e reagentes que foram utilizados durante a execução do protocolo experimental.....	40
Quadro 3 - Distribuição quantitativa dos animais por cada grupo experimental do protocolo.	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>5-HT</b>	Serotonina
<b>ACTH</b>	Adrenocorticotrófico
<b>ADT</b>	Antidepressivos Tricíclicos
<b>AMPc</b>	Adenosina Monofosfato Cíclico
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>AP-1</b>	Proteína Ativadora 1
<b>BDNF</b>	Fator Neurotrófico Derivado Do Cérebro
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CEUA</b>	Comissão de Ética no Uso de Animais
<b>CID</b>	Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde
<b>CORT</b>	Corticosterona
<b>COBEA</b>	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
<b>CREB</b>	Proteína de ligação ao elemento de resposta AMPc
<b>CVC</b>	Carvacrol
<b>DA</b>	Dopamina
<b>DALY</b>	Disability Adjusted Life of Years
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose Letal para 50% dos indivíduos
<b>DSM-V</b>	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
<b>ECT</b>	Eletroconvulsoterapia
<b>EFSA</b>	Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos
<b>ELISA</b>	Técnicas Imunoenzimáticas
<b>EROs</b>	Espécies Reativas De Oxigênio
<b>ERNs</b>	Espécies Reativas De Nitrogênio
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FLUV</b>	Fluvoxamina
<b>GR</b>	Receptores de Glicocorticóides
<b>GPx</b>	Glutathione Peroxidase
<b>HPA</b>	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
<b>IRNS</b>	Inibidores da Recaptação De Noradrenalina e Serotonina
<b>ISRS</b>	Inibidores Seletivos da Recaptação De Serotonina
<b>ISRN</b>	Inibidores Seletivos da Recaptação De Noradrenalina

<b>IRND</b>	Inibidores da Recaptação de Noradrenalina e Dopamina
<b>IMAO</b>	Inibidores da Monoaminoxidase
<b>IL-2</b>	Interleucina 2
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>KCL</b>	Cloreto de Potássio
<b>KEGG</b>	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
<b>MAO</b>	Monoamino Oxidase
<b>MDA</b>	Malondialdeído
<b>NA</b>	Noradrenalina
<b>NEBA</b>	Número de Entradas nos Braços Abertos
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Superóxido
<b>OH<sup>·</sup></b>	Radical Hidroxila
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PCR</b>	Proteína C Reativa
<b>PEBA</b>	Percentual De Entradas nos Braços Abertos
<b>PPBA</b>	Percentual Do Tempo De Permanência nos Braços Abertos
<b>RL</b>	Radicais Livres
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>SOD</b>	Dismutase
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde
<b>TBARS</b>	Ácido Tiobarbitúrico
<b>TCA</b>	Teste do Campo Aberto
<b>TLCE</b>	Teste do Labirinto em Cruz Elevado
<b>TNF</b>	Teste do Nado Forçado
<b>TSC</b>	Teste de Suspensão Pela Cauda
<b>TrkB</b>	Tropomiosina Tipo B
<b>TPBA</b>	Tempo de Permanência nos Braços Abertos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>1.1 Depressão</b> .....	<b>19</b>
<i>1.1.1 Aspectos gerais</i> .....	<i>19</i>
<i>1.1.2 Epidemiologia</i> .....	<i>20</i>
<i>1.1.3 Classificação</i> .....	<i>22</i>
<i>1.1.4 Fisiopatologia</i> .....	<i>23</i>
<i>1.1.4.1 Depleção de monoaminas</i> .....	<i>24</i>
<i>1.1.4.2 Relação do estresse com a depressão</i> .....	<i>25</i>
<i>1.1.4.3 Estresse oxidativo na depressão</i> .....	<i>27</i>
<i>1.1.5 Tratamento da depressão</i> .....	<i>28</i>
<i>1.1.5.1 Tratamento farmacológico</i> .....	<i>29</i>
<i>1.1.6 Fitoterapia como alternativa terapêutica</i> .....	<i>31</i>
<i>1.1.6.1 Plantas e substâncias isoladas com ação antidepressiva</i> .....	<i>31</i>
<i>1.1.6.3 Carvacrol</i> .....	<i>33</i>
<i>1.1.7 Modelos animais para investigação de drogas antidepressivas</i> .....	<i>35</i>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>38</b>
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	<b>38</b>
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>38</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
<b>3.1 Animais</b> .....	<b>39</b>
<i>3.1.1 Aspectos éticos</i> .....	<i>39</i>
<b>3.2 Obtenção e preparo das drogas</b> .....	<b>39</b>
<b>3.3 Delineamento experimental</b> .....	<b>40</b>
<i>3.3.1 Protocolo experimental - Indução da depressão por administração exógena de corticosterona</i> .....	<i>40</i>
<b>3.4 Testes comportamentais</b> .....	<b>42</b>
<i>3.4.1 Teste do nado forçado</i> .....	<i>42</i>
<i>3.4.2 Teste do campo aberto</i> .....	<i>43</i>
<i>3.4.3 Teste do labirinto em cruz elevado</i> .....	<i>43</i>
<i>3.4.4 Teste da suspensão da cauda</i> .....	<i>44</i>
<b>3.5 Ensaio neuroquímicos</b> .....	<b>45</b>
<i>3.5.1 Determinação da peroxidação lipídica por medição do conteúdo de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i> .....	<i>45</i>
<i>3.5.3 Determinação da concentração de nitrito/nitrato</i> .....	<i>45</i>

<b>3.5.4 Determinação da concentração da glutathiona reduzida (GSH)</b> .....	<b>46</b>
<b>3.6 Dissecção das áreas cerebrais</b> .....	<b>46</b>
<b>3.7 Eutanásia e descarte dos animais</b> .....	<b>46</b>
<b>3.8 Análise dos dados</b> .....	<b>47</b>
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>48</b>
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>60</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>67</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>68</b>
<b>ANEXO I – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA</b> .....	<b>83</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As cobranças da sociedade moderna, que induzem o indivíduo a buscar incansavelmente estar sempre integrado e produtivo, provoca um fluxo maléfico ao ritmo biológico natural, levando ao aparecimento de um conjunto de transtornos igualmente contemporâneos, como é o caso do estresse (BEZERRA et al., 2018). O termo estresse pode ser denominado como o conjunto de reações que um organismo desenvolve ao ser submetido a uma situação ameaçadora que apresenta objetivo de adaptação a um novo contexto. Assim, o organismo quando exposto a um esforço percebido como ameaçador à homeostase, apresenta a tendência natural de neutralizá-lo, porém, quando o corpo não consegue anular tal ameaça, inicia-se um processo de adoecimento, manifestado pelo surgimento de doenças psicossomáticas, dentre as quais se destaca a depressão (FERREIRA, 2018; BAPTISTA et al., 2019).

Esta psicopatologia é uma doença crônica, que ocorre não só em adultos, mas também em crianças e adolescentes, sendo reconhecidamente um problema de saúde pública e evidencia-se pelo comprometimento das atividades cotidianas do indivíduo, principalmente nos relacionamentos sociais (COMASSETTO et al., 2018).

Desta forma, a depressão é considerada um transtorno multifatorial, decorrente de fatores genéticos, psicológicos, familiares e sociais, sendo sistematizada como "transtornos do humor" pelo Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V) e "transtornos afetivos" pela Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10) (STOPA et al., 2015). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), pessoas de todas as idades podem sofrer de depressão, totalizando cerca de 322 milhões de indivíduos afetados mundialmente e acomete, no Brasil, cerca de 11,5 milhões de pessoas, que correspondem 5,8% da população (WHO, 2017; LEÃO et al., 2018).

Existem várias modalidades que têm evidência de eficácia no tratamento de depressão, de forma isolada ou em conjunto dependendo de cada paciente, que inclui a psicoterapia em suas diversas formas, intervenções psicofarmacológicas, eletroconvulsoterapia (ECT), estimulação magnética transcraniana repetitiva e estimulação cerebral profunda (PARAVENTI; CHAVES, 2016; DROBISZ; DAMBORSKÁ, 2019). Dentre essas alternativas, apesar de suas limitações, os medicamentos constituem-se a primeira linha de tratamento para a depressão moderada e severa. Com isso, o tratamento farmacológico pode ser classificado conforme a estrutura química, propriedades farmacológicas e mecanismo de ação, os quais são enquadrados: antidepressivos tricíclicos (ADT), inibidores da monoaminoxidase (IMAO),

inibidores da recaptação de noradrenalina e serotonina (IRNS), inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina (ISRN), inibidores da recaptação de noradrenalina e dopamina (IRND), dentre outros com mecanismos de ação diversos (CAMELO; DINELLY; OLIVEIRA, 2016).

Contudo, os antidepressivos possuem efeitos adversos, que muitas vezes são as causas mais comuns para o abandono da terapia. Diante disso, tem-se buscado identificar novos compostos que possam surgir como alternativa para o tratamento da depressão (BARBOZA; SILVA, 2015).

Com isso, tem-se buscado novas estratégias no desenvolvimento de novos fármacos antidepressivos, especialmente de base natural (YEUNG et al., 2018). Neste contexto, considera-se que o nosso país é rico em diversidade vegetal, conseqüentemente, abundante em fonte de produtos terapêuticos naturais. Muitos têm sido alvo de diversos estudos por apresentarem grande potencial como fonte de novos fármacos e, portanto, sendo alvo da indústria farmacêutica (VASCONCELOS, 2015).

Dessa maneira, surge a necessidade de utilizar compostos naturais que possam ser eficazes e com menos efeitos adversos do que os fármacos convencionais com poucos efeito secundário nocivo ao organismo. Vários estudos têm mostrado que plantas utilizadas na medicina popular apresentam efeito antidepressivo, seja por seu extrato ou substâncias isoladas destas, como é o caso da *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* (FAHMY et al., 2020), *Passiflora alata* (SANTOS, 2018), *Hyptis pectinata* (FIGUEIRÊDO, 2019), *Hypericum perforatum* (BEZERRA, 2019), *Aniba riparia* (LIMA, 2017), *Croton zehntneri* (OLIVEIRA, 2013) e *Crocus sativus* (MAZIDI et al., 2016).

Outra planta bastante utilizada pela população é a *Lippia sidoides*, popularmente conhecida como alecrim-pimenta, alecrim-do-nordeste ou alecrim-bravo, sendo usada empiricamente para o tratamento de rinite alérgica com espirros (PEREIRA et al., 2020). Todavia, diversos estudos têm evidenciado uma intensa atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (MAJOLO et al., 2020), *Staphylococcus mutans* (DE OLIVEIRA et al., 2018), *Candida* spp. (DE SOUZA FERREIRA et al., 2018), além do efeito larvicida contra *Aedes aegypti* (DE ANDRADE et al., 2020).

Somado a esses efeitos, foi identificado que espécies pertencentes ao gênero *Lippia* spp. têm ação sedativa sobre o Sistema Nervoso Central (SNC), como é o caso da *Lippia alba* (VENTURA et al., 2019), e que substâncias isoladas de plantas do mesmo gênero, como a *Lippia sidoides*, demonstraram efeito antidepressivo com possível envolvimento do sistema dopaminérgico, como o carvacrol (CVC) (MELO et al., 2011; CUSTÓDIO, 2019).

Com isso, alguns estudos já evidenciaram que o CVC possui atividade antioxidante (CUSTÓDIO, 2019; LLANA-RUIZ-CABELLO et al., 2015), antiaterosclerótica (LEE et al., 2015) e hepatoprotetora (BATISTA et al., 2017), entretanto, são escassos estudos que abordem o efeito antidepressivo com indução crônica da depressão, o que justifica a necessidade de maior investigação acerca do CVC, analisando o seu efeito em modelos preditivos de depressão, além da atividade contra o estresse oxidativo. Desse modo, essas atividades incitam a maior investigação acerca desse composto em relação ao potencial antidepressivo.

## **1.1 Depressão**

### ***1.1.1 Aspectos gerais***

A depressão, ou transtorno depressivo, é compreendida como um transtorno do humor. Este, por sua vez, define-se como o tônus afetivo que impulsiona as vivências, os comportamentos e as emoções. Os primeiros relatos da depressão remontam ao Velho Testamento, no livro da Bíblia, que narra uma síndrome depressiva no Rei Saul, e ao ano de 30 d.C., quando o médico Romano Celsus descreveu a doença, melancolia, loucura e depressão como condição causada pela bile negra (SADOCK; SADOCK, 2007).

Desta forma, antes dos avanços da ciência, a percepção acerca das doenças mentais configurou-se principalmente o conceito de loucura que estava associado a questões místicas. Assim, os tempos bíblicos e mitológicos em que a loucura e a melancolia, designação antiga de depressão, estavam ligadas às superstições: ser louco e melancólico era visto como uma punição divina (PAULA; ORTIZ, 2018).

Na quinta edição do DSM-V, manual diagnóstico mais recente, a depressão é uma doença que apresenta como sintomas de tristeza, vazio e irritabilidade, acompanhado de alterações somáticas e cognitivas que afetam sua qualidade de vida. Contudo, em casos mais graves a depressão pode levar ao suicídio (APA, 2016).

O termo depressão é empregado para designar tanto um estado afetivo normal referente a uma situação de tristeza, quanto um sintoma, uma síndrome e uma/ou várias doença(s). Ou seja, a depressão pode fazer parte ainda de outros casos clínicos, apresentando-se em comorbidade com outras alterações emocionais, como por exemplo, a ansiedade (CASSELLI et al., 2021).

Com isso, a depressão é caracterizada pela desregulação das funções afetivas e motivacionais tendo como sintomas centrais o humor deprimido e a anedonia (perda de

interesse ou prazer). Essas alterações geralmente estão associadas a outras anormalidades como tristeza, sentimento de culpa, baixa autoestima, irritabilidade, disfunção cognitiva, distúrbios no sono e apetite, fadiga, alterações metabólicas, endócrinas e inflamatórias (BETTIO, 2016).

Todavia, a depressão é diferente das oscilações de humor habituais e das respostas emocionais de curta duração aos desafios da vida cotidiana. A depressão pode tornar-se um problema grave de saúde, especialmente quando os sintomas são duradouros ou recorrentes, prejudicando substancialmente a capacidade de um indivíduo de atuar no trabalho, na escola e dentre outras relações sociais (WHO, 2018).

Os fatores de risco para episódios depressivos envolvem o histórico pessoal ou familiar de depressão, uso frequente de serviços de saúde, presença de condições médicas crônicas como doença cardiovascular, diabetes, e neuropatias, outros diagnósticos psiquiátricos e períodos de intensas alterações hormonais (gravidez, puerpério). Outros fatores existentes incluem faixa etária, restrições socioeconômicas, baixa escolaridade, distúrbios do sono, moradia inadequada, rotina estressante, quadro psiquiátrico prévio e declínio cognitivo (LAM et al., 2016).

### ***1.1.2 Epidemiologia***

A depressão é uma doença comum em todo o mundo e estima-se que a taxa de prevalência mundial de depressão esteja em torno de 4,4%. Assim, a OMS publicou um relatório global, em 2018, que apontou um aumento de 18,4% nos casos de depressão em 10 anos, entre os anos de 2005 até 2015, confirmando que a patologia afeta mais de 300 milhões de pessoas, em qualquer fase de sua vida, independentemente do sexo e da classe social. Com isso, o Brasil é o país da América Latina com a maior prevalência de casos de depressão, cerca de 5,8% da população, que representa 11,5 milhões de pessoas, sendo o quinto país com mais casos de depressão no mundo. Estima-se que, em 20 anos, a depressão irá ocupar o 2º lugar no ranking mundial de doenças prevalente, perdendo apenas para as doenças cardíacas (SILVA et al., 2014; BORBA et al., 2017; WHO, 2018; XIMENES; NEVES, 2018).

No processo dessa enfermidade, observou-se que ocorre duas vezes mais em sexo feminino que em sexo masculino. As mulheres apresentam uma maior vulnerabilidade possivelmente devido às situações de conflitos familiares, relacionamentos rompidos bem como aos fatores biológicos, genéticos e hormonais, uma vez que o estrogênio, hormônio feminino sintetizado nos ovários e também no cérebro, afeta o humor e a cognição, tornando-o um fator

explicativo muito importante para as diferenças observadas entre os sexos (SCHATZBERG; DEBATTISTA, 2016; FLORES-RAMOS et al., 2017).

De acordo com a OMS, a depressão acomete variadas faixas etárias, porém apresenta maiores taxas de prevalência em pacientes adultos com idade mais avançada (55 a 74 anos). Todavia, não se restringe a pacientes adultos, podendo acometer idosos, adolescentes e crianças com idade menor de 15 anos. A prevalência dos distúrbios nessas faixas etárias torna ainda mais expressa à necessidade de haverem alternativas terapêuticas mais eficazes, seguras e que tenham início de ação terapêutica mais rápida, com menos efeitos adversos (WHO, 2017).

O fato de acometer menos as crianças e adolescentes não pode ser considerado de menor importância, visto que as taxas de depressão nessa faixa etária têm aumentado. Em 2015, nos Estados Unidos (EUA), 12,5% dos adolescentes de 12 a 17 anos, o que corresponde a 3 milhões, tiveram depressão, e 8,8% dos adolescentes, o que corresponde a 2,1 milhões, tiveram depressão com comprometimento grave (CENTER FOR BEHAVIORAL HEALTH STATISTICS AND QUALITY, 2016).

Em relação aos idosos depressivos, estima-se que 50% destes não são diagnosticados de forma correta, devido alguns sintomas da depressão serem semelhantes ao processo natural do envelhecimento. Alguns desses sintomas são: queixas físicas com fadiga, sono, falta de apetite e indisposição que podem ser confundidos pelo desafio adaptativo do envelhecimento (SOUZA et al., 2017).

Acredita-se que a depressão pode estar relacionada à baixa escolaridade, em que se verificou uma relação similar com a ocorrência do desfecho, isto é, quanto menor escolaridade, maior a probabilidade de ocorrência de depressão. A escolaridade e a pobreza podem ser fatores determinante dos índices de depressão, pois eles estão associados a condições sociais como desemprego, baixa qualidade de moradia e alimentação inadequada (STOPA et al., 2015; GONÇALVES et al., 2018).

Além disso, algumas hipóteses sugerem que a prevalência de depressão pode estar correlacionada com as desigualdades sociais e a renda de um país. Verifica-se ainda que fatores individuais como ser do gênero feminino, possuir poucos bens materiais, baixa escolaridade, divórcio ou viuvez foram associados a maiores probabilidades de depressão. Como também, aqueles que possuíam maior renda tinham um menor risco de depressão, ou seja, a renda familiar parece ser um fator de proteção contra o risco de depressão tanto em mulheres quanto em homens (SADOCK; SADOCK, 2007; PARAVENTI; CHAVES, 2016; CHINA, 2017).

Considerando a depressão multifatorial, os distúrbios depressivos tem sido um dos principais fatores de risco para o suicídio e estima-se que mais de 800 mil pessoas morrem por

suicídio todos os anos. Com isso, a depressão foi a segunda principal causa de mortes entre pessoas de 15 a 29 anos (WHO, 2018).

Embora existam tratamentos eficazes para a depressão, menos da metade dos afetados no mundo recebem terapias adequadas. As barreiras para o atendimento efetivo incluem a falta de recursos, de profissionais de saúde qualificados e o estigma social associado aos transtornos mentais. Outra barreira para o cuidado efetivo é a avaliação imprecisa, ou seja, as pessoas que estão deprimidas, muitas vezes, não são diagnosticadas corretamente, e outras que não têm o distúrbio são, com muita frequência, diagnosticadas erroneamente, o que resulta em prescrições de antidepressivos inadequados (WHO, 2017). É importante para a adequada instituição terapêutica, a classificação do episódio depressivo do paciente segundo os parâmetros classificatórios dispostos na literatura mundial (PARAVENTI; CHAVES, 2016).

### ***1.1.3 Classificação***

A OMS (2016), classifica os transtornos mentais e comportamentais, em que são identificados pelo CID-10, dentre estes, os transtornos do humor são compreendidos entre o F30 – F39, dividindo-se em: episódio maníaco (F30), transtorno afetivo bipolar (F31), episódio depressivo (F32), transtorno depressivo recorrente (F33), transtorno do humor persistente (F34), outros transtornos do humor (F38) e transtorno do humor não especificado (F39).

Assim, dependendo do número e da gravidade dos sintomas, o episódio depressivo pode ser classificado como leve, moderado ou grave. Um indivíduo com um episódio depressivo leve terá alguma dificuldade em continuar com o trabalho comum e atividades sociais, mas provavelmente não deixará de funcionar completamente. No entanto, durante um episódio depressivo grave, é improvável que o doente possa continuar com atividades sociais, profissionais ou domésticas, exceto em um grau muito limitado (WHO, 2018).

Dentre a classificação da depressão segundo o CID-10, os tipos de depressão F32 – Episódio depressivo, e, F33 – Transtorno depressivo recorrente apresentam subclassificações importantes que mudam a terapêutica e guiam o clínico acerca de diagnósticos diferenciais a serem debatidos na Quadro 1.

Quadro 1 – Subclassificações dos tipos depressivos “Episódio depressivo” e “Transtorno depressivo recorrente” segundo o CID-10

Episódio depressivo	
Gravidades (Leve, Moderado, Grave)	Associado a sintomas psicóticos
Remissão parcial ou completa	Não especificada
Transtorno depressivo recorrente	
Gravidades (Leve, Moderado, Grave)	Associado a sintomas psicóticos
Remissão parcial ou completa	Não especificada

Fonte: Adaptado de APA (2014).

#### **1.1.4 Fisiopatologia**

Desvendar a fisiopatologia da depressão é um desafio, não somente pelo fato de as síndromes depressivas serem heterogêneas e possuírem diversas etiologias, mas também pelos sintomas como sentimento culpa e suicídio serem impossíveis de se reproduzir em modelos animais (JESULOLA; MICALOS; BAGULEY, 2018). Apesar da depressão ser um distúrbio responsável por mais incapacidade do que qualquer outro transtorno, ainda não existe uma causa ou fator isolado que explique a fisiopatologia desta doença. Acredita-se que a depressão é desencadeada por uma série de complexos fatores associados, variando desde os fatores genéticos, ambientais e biológicos (alterações bioquímicas, morfológicas e fisiológicas) (ANDRADE; MELLO; SOUZA, 2020).

Assim, a fisiopatologia da depressão é complexa e um único mecanismo é inadequado para explicar os múltiplos eventos que acontecem no decorrer do tempo. Como nenhuma hipótese lançada até o momento elucidada todos os aspectos de sinais e sintomas da depressão, acredita-se que os mecanismos da doença sejam múltiplos, o que desafia os investigadores a avançarem na compreensão e descrição de sua fisiopatologia (JESULOLA; MICALOS; BAGULEY, 2018; KAHAN; AMIN; PATEL, 2018).

A depressão está correlacionada com as desordens hereditárias, como outras patologias, tal como câncer, hipertensão, diabetes e asma. Estudos afirmam que aproximadamente um terço do risco para o desenvolvimento de depressão é herdado e dois terços são provenientes de fatores ambientais. Este, também é considerado fator de risco para o surgimento da doença, pois a ocorrência de eventos estressantes continuamente, em combinação com as circunstâncias sociais e econômicas adversas, pode desencadear episódios depressivos (NESTLER et al., 2002; MAHAR et al., 2014; CHINA, 2017).

Estudos têm sugerido que a herdabilidade da depressão está em torno de 37%, porém está claro que a depressão não é causada por um único gene, apresentando características genéticas complexas. Neste contexto, algumas hipóteses surgem para explicar a fisiopatologia da depressão, dentre elas, o déficit de monoaminas, o estresse oxidativo, o sistema imunoinflamatório e a ativação do sistema neuroendócrino (FERNANDEZ-PUJALS et al., 2015; LINDQVIST et al., 2017; BHATT; NAGAPPA; PATIL, 2020).

#### *1.1.4.1 Depleção de monoaminas*

A teoria bioquímica mais aceita para a fisiopatologia da depressão é a da depleção de monoaminas em áreas cerebrais, sendo estas: a serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA). Tal proposição é reforçada pelo conhecimento do mecanismo de ação dos antidepressivos, que se baseia, principalmente, no aumento da disponibilidade desses neurotransmissores na fenda sináptica, seja pela inibição (seletiva ou não) de suas recaptações, ou pela inibição da enzima monoaminoxidase (MAO) (FERRARI, VILLA, 2017; ABDULLAH et al., 2019).

A serotonina é uma amina biogênica que foi identificada em 1945 como vasoconstrictor sérico, sendo liberada na corrente sanguínea. Essa substância foi isolada e caracterizada por Maurice Rapport e posteriormente foi constatada a presença de 5-HT no SNC, onde atua como importante neurotransmissor (CARHART-HARRIS; NUTT, 2017). Sua atuação no SNC envolve a modulação de várias funções fisiológicas e comportamentais, tais como o humor, sono, dor, apetite e ansiedade (VELOSO, 2018).

Já o sistema noradrenérgico e dopaminérgico tem sido amplamente correlacionado com a fisiopatologia da esquizofrenia, entretanto, evidências relatam o importante papel desses sistemas na depressão, sendo capaz de controlar o humor, comportamento e pensamento (ABREU, 2016; CARHART-HARRIS; NUTT, 2017). Porém, apesar da hipótese monoaminérgica representar um avanço na compreensão dos mecanismos biológicos que dão origem a depressão, esta não explica totalmente a patogênese dos distúrbios de humor, podendo estar envolvidos vários outros sistemas de neurotransmissores, mecanismos de transdução de sinal e processos neurobiológicos, como é o caso dos circuitos relacionados ao sistema neuroendócrino e à neuroplasticidade (MAHAR et al., 2014; ROBLEDO et al., 2014; DALE; BANG-ADERSEN; SANCHEZ, 2015).

#### *1.1.4.2 Relação do estresse com a depressão*

Estudos recentes que combinam técnicas comportamentais, moleculares e eletrofisiológicas revelaram que certos aspectos da depressão resultam de alterações neuroplásticas induzidas por estresse. Além disso, observou-se que para compreender os mecanismos do estresse têm-se uma nova dimensão crucial para o desenvolvimento de novos tratamentos antidepressivos (LINDQVIST et al., 2017).

Com isso, acredita-se que a depressão possa estar associada com fatores endógenos como alterações genéticas ou, na maioria dos casos, associada a fatores ambientais, sendo um dos mais importantes, o estresse. Com isso, a exposição ao estresse durante o cotidiano pode desencadear episódios de depressão, isso se dá por conta da principal resposta fisiológica ao estresse: a ativação dos sistemas neuroendócrinos, mais notavelmente eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) (BHATT; NAGAPPA; PATIL, 2020).

Assim, o estresse é um dos principais fatores ambientais que predispõem um indivíduo à depressão. Estima-se que 60% dos casos depressivos são precedidos pela ocorrência de fatores estressantes, além disso, acredita-se que os fatores genéticos no desenvolvimento da depressão podem ser decorrentes de um aumento da sensibilidade a eventos estressantes (TEIXEIRA, 2013). De fato, alguns estudos mostram que aproximadamente 85% dos pacientes diagnosticados com depressão, tiveram episódios estressantes como abuso sexual, problemas financeiros, desemprego, perda de parentes e outras situações, antes do início dos sintomas depressivos (WILLNER; SCHEEL-KRÜGER; BELZUNG, 2013; PADOVAN, 2019).

O hipotálamo está presente no SNC sendo responsável por regular as funções relativas à manutenção e sobrevivência do organismo. Este recebe uma ampla diversidade de estímulos e é uma das regiões do cérebro que controla a resposta ao estresse (CHAUDHURY; LIU; HAN, 2015). Contudo, quando uma situação estressante é percebida, o hipotálamo libera dois neuropeptídeos essenciais para coordenar a resposta ao cérebro que vão atuar no eixo HPA (FACCINI et al., 2020).

Nesse contexto, o fator liberador de corticotrofina e a vasopressina são os neuropeptídeos que vão atuar estimulando a glândula pituitária a produzir o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que por sua vez estimula a liberação de glicocorticóides (cortisol em humanos ou corticosterona em roedores) do córtex adrenal para a circulação sanguínea (HOLSBOER; ISING, 2010; FACCINI et al., 2020). Desta forma, o evento estressante age sobre o sistema endócrino, ativando o eixo HPA (BRUGNERA et al., 2017).

Assim, os glicocorticóides, uma vez liberados, chegam a múltiplas áreas ao longo de todo o cérebro, incluindo o hipocampo, hipotálamo, hipófise, amígdala, entre outras (ZHU et al., 2014; CHAUDHURY; LIU; HAN, 2015). A exposição crônica aos glicocorticóides é neurotóxica, e estudos pré-clínicos demonstraram que as células granulares do hipocampo são particularmente sensíveis a esses efeitos. Assim, a exposição prolongada ao glicocorticóide leva inicialmente a uma perda de receptores de glicocorticóides (GR) nas células granulares do hipocampo, resultando na desinibição do eixo HPA e um aumento na liberação dos glicocorticóides (WILLNER; SCHEEL-KRÜGER; BELZUNG, 2013; BASTOS, 2020).

Se prolongada ainda mais, as consequências da perda de efeitos mediados por GR para a função das células granulares se tornam severas: elas incluem uma hiperativação de enzimas dependentes de cálcio que levam à produção de radicais livres (RL) neurotóxicos, resultando na ativação de enzimas; diminuição do transporte de glicose para a célula com consequente perda de capacidade energética; e diminuição da produção do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), no qual participa da regulação da plasticidade sináptica, neurogênese, na formação de memória e responsável pela estrutura e funcionalidade celular (WILLNER; SCHEEL-KRÜGER; BELZUNG, 2013; GULYAEVA, 2016; CHEN; LOMBÈS; MENUET, 2017).

Essas alterações, especialmente no BDNF, resultam em déficit da transmissão neuronal, redução da liberação de neurotransmissores e comprometimento da capacidade neuroplástica. A síntese do BDNF ocorre no SNC e periférico em neurônios-alvo sob condições fisiológicas, nos astrócitos após lesão, inflamação ou administração de antidepressivos. Essa neurotrofina medeia suas funções através da ligação a receptores quinases relacionados à tropomiosina tipo B (TrkB) (PHILLIPS, 2017).

Sendo assim, os níveis de BDNF são diminuídos por exposição ao estresse e em pacientes deprimidos, entretanto, o tratamento crônico com antidepressivos alopáticos aumenta a neurogênese e estimula as vias de sinalização BDNF/TrkB no hipocampo (FERRARI; VILLA, 2016; HAN; NESTLER, 2017; CHEN; LOMBÈS; MENUET, 2017; ELIWA; BELZUNG; SURGET, 2017). Além do envolvimento do BDNF e neurogênese, outro enfoque é dado às vias de sinalização intracelular e alterações na expressão gênica. Fatores de transcrição como proteína de ligação ao elemento de resposta a adenosina monofosfato cíclico (AMPC) - CREB, fator nuclear  $\kappa$ B, proteína ativadora-1 (AP-1), proto-oncogene cFOS e cJUN, parecem estar relacionados com a regulação de diversos genes relacionados ao estresse, bem como a depressão (GLEZER et al. 2000; RANG et al. 2011). Assim, a redução do BDNF e da sua ação na prevenção do dano oxidativo através da modulação dos sistemas de defesa

antioxidante, também favorece ao aumento do estresse oxidativo, sendo processos envolvidos na depressão.

#### *1.1.4.3 Estresse oxidativo na depressão*

O estresse oxidativo refere-se aos efeitos biologicamente prejudiciais dos RL. Estes são moléculas químicas altamente reativas e instáveis, contendo um número ímpar de elétrons na camada de valência. Desta forma, eles podem provocar oxidação de estruturas químicas como proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos, e causam lesão ao DNA mitocondrial e declínio na atividade dos transportadores de elétrons (DEUS et al., 2017).

Assim, o estresse oxidativo ocorre quando há um aumento da produção de radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio (EROs): o superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e o radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ); e espécies reativas de nitrogênio (ERNs): o óxido nítrico (NO) (BHAT et al., 2015). As EROs realizam vários papéis fisiológicos na sinalização celular e na defesa contra patógenos. No entanto, quando presentes em excesso, as EROs causam danos a lipídios, proteínas e DNA, e podem resultar em morte celular (BLACK et al., 2015).

O estresse oxidativo é um mecanismo bem reconhecido no envelhecimento e nas doenças. Demonstrou-se que desempenha um papel na fisiopatologia das doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, câncer, Doença de Alzheimer e aterosclerose (RODRIGUES; PETERSEN; PERRY, 2014; BLACK et al., 2015). Além disso, há evidências que o estresse oxidativo pode estar aumentado e que as defesas antioxidantes estão diminuídas em vários transtornos psiquiátricos, incluindo a depressão (BLACK et al., 2015). Acredita-se que cérebro por ser metabolicamente muito ativo apresenta maior formação de radicais livres, logo é mais susceptível aos efeitos danosos do estresse oxidativo (BHAT et al., 2015).

Com isso, observou-se que parte das injúrias celulares que acometem o SNC está correlacionadas com o desequilíbrio das respostas antioxidantes do organismo frente aos RL. Como os EROs e ERNs podem causar mudanças estruturais das membranas moleculares e alterações na resposta imunológica, acabam contribuindo a disfunções observadas nos transtornos neuropsiquiátricos (LIU et al., 2015).

No entanto, existem vários mecanismos de defesa enzimáticos responsáveis em combater os RL em condições fisiológicas normais, enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), que desempenham papel importante para impedir que estas espécies reativas interajam com as estruturas celulares e promovam danos (SILVEIRA, 2015).

Contudo, foi observado em modelos de depressão em ratos que, houve alterações de alguns mecanismos oxidativos com atividade de GPx diminuída, aumento da taxa de peroxidação lipídica, como o malondialdeído (MDA) e aumento do NO. E também demonstrou que administração de antidepressivos exerceram alguns efeitos protetores e diminuição dos níveis de peroxidação lipídica e NO (BALMUS et al., 2016).

Além disso, observou-se que a ação das EROs e ERNs tem uma importante participação na redução da massa do hipocampo em pacientes deprimidos (PALTA et al., 2014). Bem como, estas espécies também parecem ser responsáveis por parte dos danos presentes em proteínas importantes na diferenciação neuronal e modulação da plasticidade, como o BDNF. Tais fatores contribuiriam de forma potencial para o desenvolvimento dos distúrbios neuropsiquiátricos, como a depressão (SOUSA, 2014).

### **1.1.5 Tratamento da depressão**

O tratamento da depressão requer um diagnóstico qualificado e uma avaliação médica antes de ser iniciado, juntamente com uma terapêutica adequada. Os critérios para diagnóstico da depressão são baseados nos manuais de diagnóstico internacionais, apesar da existência de diferentes classificações, há critérios estabelecidos que são direcionados na quantidade e na qualidade dos sintomas (PARAVENTI; CHAVES, 2016).

O processo de tratamento da depressão envolve duas abordagens: terapia farmacológica e não farmacológica. Ambas têm demonstrado efeitos positivos no tratamento desta patologia, apresentando mesmo benefícios cumulativos em caso de aplicação conjunta. Em situações de depressão menos graves, o tratamento não farmacológico pode ser suficiente. Contudo, em casos mais graves, a farmacoterapia pode tornar-se indispensável para permitir uma estabilização do doente (IBANEZ et al., 2014).

Existem vários tratamentos não farmacológicos para a depressão, como a terapia cognitivo-comportamental, intervenções naturopáticas, psicoterapia e intervenções baseadas em exercícios físicos. Essas terapias podem ser recomendadas aos pacientes com base no contexto clínico e preferências dos pacientes. Desta forma, a depressão leve e moderada, ou episódios de início recente e de curta duração, podem se beneficiar dessas intervenções como monoterapia. Contudo, em casos de depressão grave, esta pode ser melhor tratada com antidepressivos como terapia inicial e associar à terapia não farmacológica (SOUZA, 2015; IJAZ et al., 2018).

### *1.1.5.1 Tratamento farmacológico*

Os antidepressivos são os principais fármacos utilizados no tratamento da depressão. Estes são moléculas eficazes no controle dos sintomas associados às perturbações depressivas, particularmente das alterações do humor, estando associado a melhorias no estado geral e, conseqüentemente, no funcionamento do indivíduo. No entanto, os antidepressivos sofrem algumas limitações em termos de eficácia, pois em média de 20% de todos os pacientes deprimidos são resistentes aos vários e diferentes antidepressivos (SOUSA, 2015; SIMÕES, 2018).

O funcionamento desta classe de medicamentos baseia-se no aumento da disponibilidade de neurotransmissores na fenda sináptica. Os medicamentos mais usados são os ISRS e IRSN conhecidos como antidepressivos de segunda geração, que têm maior eficácia e segurança em relação aos fármacos mais antigos, como os ADT e os IMAO que são antidepressivos de primeira geração (PARAVENTI; CHAVES, 2016; LUKIC et al., 2019).

Os IMAO foram à primeira classe descoberta de antidepressivo, tendo como efeito terapêutico a inibição da ação da MAO, enzima responsável pela metabolização de monoaminas endógenas (5-HT, NA E DA) e exógenas (tiramina) na fenda sináptica e, conseqüentemente, aumentam o armazenamento do neurotransmissor nos grânulos secretores. Inicialmente, a iproniazida foi desenvolvida para o tratamento da tuberculose, porém, observou-se que ela era capaz de elevar o humor de pacientes deprimidos e que possuía a propriedade de inibir a MAO. A partir desta, outras moléculas foram desenhadas (ENTZEROTH; RATTY, 2017).

Já os ADT, tendo a imipramina e a amitriptilina como os protótipos desta geração, inibe a captação de 5-HT e a NA, tendo também alguns efeitos sobre a recaptação de DA com potencial efeito antidepressivo. Surgiu na mesma época que outras moléculas tricíclicas e estavam sendo empregadas para o tratamento da esquizofrenia. Entretanto, não se mostraram eficazes no tratamento, mas apresentaram efeitos antidepressivos nesses pacientes. Posteriormente isso foi justificado pelo mecanismo de ação desses fármacos, que estava relacionado com inibição da captura de neurotransmissores (STAHL, 2011).

Contudo, os IMAO e ADT têm seus usos limitados em virtude de alguns eventos adversos, como aumento de peso, insônia, hipotensão ortostática, boca seca, visão turva, constipação e retenção urinária, disfunções sexuais e restrições alimentares (MONTEIRO, 2016). Entretanto, estes serviram de base para a elaboração de novas moléculas que inibissem seletivamente a recaptação dessas monoaminas sendo eles ISRS, ISRN, IRNS, IRND e outros com mecanismos variados (CHOCKALINGAM; GOTT; CONWAY, 2018).

Entre estas classes de antidepressivos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA), os ISRS têm assumido um papel importante no tratamento da depressão, sendo fármacos de primeira linha para esses distúrbios, representado principalmente pela fluoxetina, além disso, a fluvoxamina tem apresentando eficácia como antidepressivo para o tratamento envolvendo a monoterapia. Contudo, quando comparados com os IMAO e ADT, os ISRS apresentam menos efeitos adversos e colaterais, por isso se tem uma maior adesão a essa classe. Desta forma, os ISRS são uma das classes de antidepressivos mais utilizadas devido à facilidade de uso, segurança em superdosagem e tolerabilidade (NEVES, 2015; ENTZEROTH; RATTY, 2017; CHOCKALINGAM; GOTT; CONWAY, 2018; DALMIZRAK et al., 2019).

Além disso, estudos clínicos mostraram que a trazodona é comparável em eficácia a outras classes de medicamentos, como ADT, ISRS, e IRNS no tratamento de transtornos depressivos maiores. A trazodona é um fármaco pertencente à classe dos antagonistas dos receptores serotoninérgicos tipo 2 (5-HT<sub>2</sub>) e mostrou-se melhor tolerância do que os ISRS, que estão altamente associados à efeitos adversos como insônia, ansiedade e disfunção sexual. Entretanto, seu uso como agente antidepressivo é limitado devido ao grande potencial sedativo, pois a trazodona em doses inferiores também é usada terapêuticamente como hipnótica (SHIN; SAADABADI, 2018).

Embora diferentes abordagens terapêuticas estejam sendo adotadas para o manejo efetivo da depressão, a maioria deles apresentam inúmeros efeitos colaterais, os quais comprometem ainda mais a qualidade de vida do paciente deprimido, o que leva à não adesão do paciente. Além disso, os medicamentos geralmente têm resposta terapêutica tardia, entre 3 a 5 semanas após o início do tratamento. Por conta disso, continua a pesquisa por novos fármacos antidepressivos e tem-se buscado soluções para melhorar a ação desses fármacos, além de identificar novos alvos terapêuticos (COLLA, 2012; SMITH, 2015; KAHAN; AMIN; PATEL, 2018).

Com isso, observa-se a real necessidade da busca de novas terapias antidepressivas que possam aumentar a eficácia clínica no tratamento da depressão, apresentando potencial terapêutico, moléculas com melhor tolerabilidade, baixos efeitos adversos e que sejam compatíveis com outras terapias concomitantes. Nesse sentido, os produtos naturais podem fornecer o suprimento necessário para o estudo de drogas antidepressivas (KAHAN; AMIN; PATEL, 2018).

### 1.1.6 Fitoterapia como alternativa terapêutica

Apesar dos avanços tecnológicos e das relevantes melhorias na área da saúde nos últimos anos, a população ainda utiliza diferentes práticas para o tratamento de doenças e sintomas, como as plantas medicinais. Estima-se que aproximadamente 80% da população mundial utiliza e confia nos produtos medicinais de origem vegetal (MATTOS et al., 2018).

O Brasil é o país que detém a maior parcela da biodiversidade, em torno de 15% a 20% do total mundial, sendo as plantas a matéria-prima para a fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos. Além de seu uso como substrato para a fabricação de medicamentos, as plantas medicinais são também utilizadas em práticas populares e tradicionais. Desta forma, compreende-se que o Brasil tem uma ampla diversidade que propicia a oportunidade de estabelecer modelos de desenvolvimento na área de saúde, em relação ao uso de plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL, 2016).

Os estudos tem apontado um crescente uso da fitoterapia com finalidade terapêutica para diversas patologias. De forma que, no Sistema Único de Saúde (SUS), esta prática tem diretrizes estabelecidas para fomentar pesquisas, desenvolvimento tecnológico, interação entre setores públicos, privados e universidade (OLIVEIRA, 2016).

De acordo com Zago (2018), nas últimas duas décadas a Índia e o Brasil foram os países que apresentaram maior número de publicações sobre plantas medicinais. As espécies mais estudadas para fins medicinais foram *Cymbopogon citratus* (DC.), seguida de *Ocimum gratissimum* L, *Lippia alba* (Mill.), *Calophyllum brasiliense* Cambess. e *Lippia sidoides* Cham. No que se refere à finalidade terapêutica, os princípios ativos estudados foram para verificação da propriedade antiparasitária (46,8%), seguida de teste de atividade antioxidante (11,7%), atividade anti-inflamatória (6,9%) e atividade antinociceptiva (6,7%) (ZAGO, 2018).

Com o crescimento do uso e comprovação das atividades medicinais, o desenvolvimento da indústria de fitoterápicos, torna-se relevante e vem surgindo fortemente no mercado nacional quanto à potencialidade do aproveitamento da biodiversidade como uma alternativa para o desenvolvimento sustentável e alcance de inovação e novas descobertas terapêuticas (HASENCLEVER, 2017).

#### 1.1.6.1 Plantas e substâncias isoladas com ação antidepressiva

Apesar da grande utilização das plantas medicinais como terapia alternativa para o tratamento da depressão, têm-se ainda poucas opções indicadas para o tratamento dessa doença,

sendo que o uso mais expandido é o da *Hypericum perforatum* (erva de São João) (SARRIS, 2018). Assim como, estudos experimentais têm evidenciado plantas com potencial efeito antidepressivo, tais como: *Ginkgo biloba* (DAÍ et al., 2018; ZHANG et al., 2019), *Alpinia zerumbet* (CHAN; WONG; CHAN, 2017), *Curcuma longa* (FUSAR-POLI et al., 2020), *Lafoensia pacari* (GALDINO et al., 2015), *Panax ginseng* (JEONG et al., 2015).

Além disso, outros estudos são realizados para as investigações de substâncias ativas isoladas de plantas medicinais, como alcalóides, flavonóides, compostos fenólicos e terpenóides, que também evidenciam atividade antidepressiva (PERVIZ; KHAN; PERVAIZ, 2016). Logo, o estudo de compostos isolados a partir dessas e outras, também evidenciam a ação antidepressiva, como é o caso do CVC, isolado do *Origanum vulgare* (MELO et al., 2011) e da *Lippia sidoides* (PARENTE et al., 2018), bacopasida I, isolada da *Bacopa monnieri* (ZU et al., 2017); crassifosídeo H, isolado da *Curculigo glabrescens* (ZHANG et al., 2017), da crocina e safranal, obtidos da *Crocus sativus* (SHAFIEE, 2018), da riparina IV, um composto isolado da *Aniba riparia* (CASTRO et al., 2019), entre outros.

#### 1.1.6.2 *Lippia sidoides* Cham.

O gênero *Lippia*, o segundo maior da família Verbenaceae, possui aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores, cujos maiores centros de dispersão se encontram em países das Américas do Sul e Central, como também em territórios da África tropical. Destas, cerca de 120 espécies de *Lippia* encontram-se no Brasil, distribuídas no cerrado e caatinga, onde se destacam por seu aspecto chamativo no período da floração e por seu aroma forte e agradável (GOMES; NOGUEIRA; MORAES, 2011).

Contudo, muitas espécies de *Lippia* são utilizadas na medicina tradicional para tratamento de doenças e, como resultado, têm sido investigadas, do ponto de vista farmacológico, revelando importantes propriedades tais como, ação sedativa, antiespasmódica, anti-inflamatória e antipirética (MARINELLI; DI STEFANO; CACCIATORE, 2018; PARENTE et al., 2018). Além desta, outras espécies têm ganhado interesse científico pelo seu potencial farmacológico, como é o caso da *Lippia gracilis* e *Lippia sidoides* (MELO et al., 2011; DA SILVA et al., 2019).

A *Lippia sidoides* é uma planta aromática nativa do semiárido do nordeste do Brasil, sendo caracterizada como uma pequena árvore ou subarbusto que pode chegar a medir dois metros de altura, e seu tronco medindo cerca de 8 cm de diâmetro, apresentando casca sulcada e quebradiça (Figura 1) (SILVA, 2019). Essa planta tem apresentado diversas

atividades biológicas cientificamente comprovadas, incluindo: inseticida, antifúngica, antibacteriana e larvicida (GUIMARÃES et al., 2014; RAI et al., 2017; PARENTE et al., 2018).

Figura 1 - *Lippia sidoides* Cham (alecrim-pimenta).



Fonte: <<https://www.verdeefolha.com/2014/05/alecrim-pimenta.html>>.

Estas atividades podem estar relacionadas principalmente com a quantidade marcante de timol e CVC presentes no óleo essencial e extrato hidroalcoólico de *L. sidoides*, a cerca de 56,6% e 16,7% da concentração do óleo, respectivamente. Além disso, esta planta tem alto potencial para aplicação em diversos setores, como indústria farmacêutica, alimentício e cosmecêutico. Também está incluída na lista de plantas medicinais com alto potencial para gerar produtos de interesse para o SUS (SILVA, 2019).

#### 1.1.6.3 Carvacrol

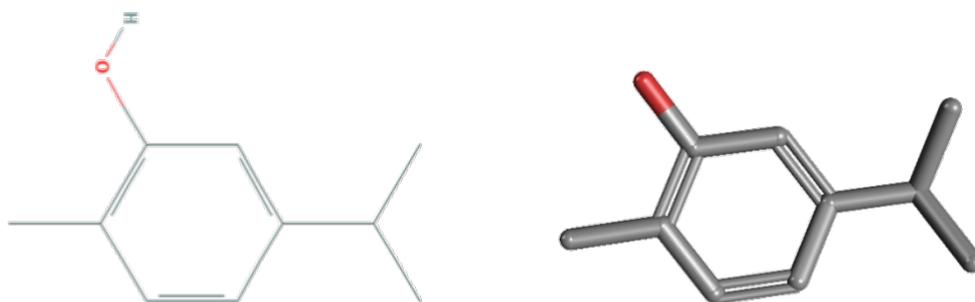
Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos lipofílicos, de baixo peso molecular e geralmente odoríficos. Estes compostos, apresentam-se como hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, entre outros, os quais são responsáveis por suas propriedades físico-químicas e biológicas (MELO, 2014; SUNTRES; COCCIMIGLIO; ALIPOUR, 2015).

Estes podem estar presentes em todos os órgãos de plantas, incluindo botões, flores, folhas, sementes, ramos, caules, flores, frutos, raízes ou casca, mas geralmente estão armazenados em células secretoras, cavidades, canais, tricomas glandulares ou células epidérmicas. E apresentam diversas atividades bioativas, como antimicrobiana, antioxidante e antioncogênico (SHARIFI-RAD et al., 2018).

Dentre os compostos dos óleos essenciais, há o CVC, um monoterpreno ( $C_{10}$ ) 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol, encontrados em diversas plantas aromáticas sendo biossintetizados a partir do  $\gamma$ -terpineno e do  $p$ -cimeno. O CVC tem peso molecular de 150,22 g/mol e apresenta-se em forma líquida de coloração amarelo-clara, cuja densidade é de 0,975 g/mL (20°C). Possui característica pungente e odor aromático, semelhante ao orégano, bem como pouca solubilidade em água e é considerado seguro para o consumo (ARAÚJO, 2016; SHARIFI-RAD et al., 2018).

Além disso, o CVC também é denominado quimicamente por 5-isopropil-2-metil-fenol (Figura 2), isômero do timol, que compõe óleos essenciais de determinadas plantas aromáticas como o orégano, o tomilho e o alecrim-pimenta. Esta substância é bastante utilizada na culinária como um flavorizante e conservante, bem como na indústria cosmética como fragrância para suas formulações (DE VINCENZI et al., 2004; BOTELHO et al., 2007; MELO, 2014; SUNTRES; COCCIMIGLIO; ALIPOUR, 2015).

Figura 2 - Estrutura química bidimensional e tridimensional do carvacrol.



Fonte: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10364#section=2D-Structure>>;  
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10364#section=3D-Conformer>>.

O CVC por ser utilizado como um aditivo no preparo de muitos alimentos é considerado seguro para o consumo, contudo, informações sobre a toxicidade são limitadas. Em testes com cobaias foi observado que a administração intraperitoneal na dose de 33,3 mg/kg não promoveu nenhum efeito adverso e na dose de 50 mg/kg apresentou ligeira ataxia, sem observação de morte dos animais. Entretanto, os camundongos que receberam doses de 110, 166,6 e 233,3 mg/kg, via intraperitoneal, morreram. Com isso, nessas doses foram observados ataxia, sonolência e redução da atividade locomotora espontânea. Já na administração via oral aguda, encontrou-se uma dose letal ( $DL_{50}$ ) oral aguda de 810 mg/kg em ratos (ANDERSEN, 2006). Além disso, no estudo realizado por Melo (2014) foi observado que animais tratados

com CVC, via oral, na dose de 2000 mg/kg apresentaram letargia e um de três animais veio a óbito. Verificou-se que  $DL_{50}$ , via oral é  $> 300$  mg/kg e  $< 2000$  mg/kg (MELO, 2014).

Contudo, o CVC tem se apresentado como uma potencial molécula terapêutica e diversos estudos têm evidenciado suas ações farmacológicas de atividade antisséptica (ALMEIDA, 2016), esquistossomicida (ARAÚJO, 2016), antimicrobiana (DA SILVA SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017), antifúngica (CHAVAN; TUPE, 2014), hepatoprotetor (KHAN et al., 2019) e sob o sistema nervoso, favorecendo a diminuição da ansiedade e atividade antidepressiva associada ao sistema dopaminérgico, provavelmente pelo estímulo dos receptores D1 e D2 (MELO et al., 2011; CUSTÓDIO, 2019).

O CVC se apresentou como uma molécula promissora, tendo em vista que observou efeitos do tipo antidepressivo no TNF e TSC em estudo envolvendo indução da depressão somente por estresse durante 8 dias, além disso, se mostrou eficaz em aumentar os níveis de glutathione reduzido nas áreas cerebrais, se mostrando importante contra os danos gerados pelo estresse oxidativo (CUSTÓDIO, 2019).

### **1.1.7 Modelos animais para investigação de drogas antidepressivas**

O conceito de doença animal é aquele cujos mecanismos patológicos são suficientemente similares de uma doença humana, servindo a doença animal como modelo, assim, a doença animal pode ser tanto de ocorrência natural, como induzida. Com isso, os modelos animais são bastante utilizados para a compreensão dos mecanismos envolvidos na etiologia e tratamento de diversas doenças, incluindo a depressão e ansiedade (BALMUS et al., 2016; ZHANG et al., 2019).

Sendo assim, para um protocolo ter validade o modelo animal deve possuir: semelhantes respostas comportamentais e fisiológicas observadas em humanos, ser sensível a agentes farmacológicos clinicamente eficazes, possuir respostas inversas à medicação com efeito oposto, os agentes que não têm efeito na clínica não devem ter efeito nesses testes, que a etiologia do comportamento e os fatores biológicos subjacentes ao distúrbio sejam similares em animais e humanos (BOURIN, 2015).

Assim, os modelos animais experimentais de depressão e ansiedade simbolizam uma valiosa ferramenta para o estudo dos aspectos neurobiológicos da depressão, de novas alternativas terapêuticas e da elucidação dos mecanismos de ação pelos quais estes exercem seus efeitos. Estes modelos deveriam atender pelo menos três critérios de validação: validação de face, indicando que, para o modelo, é necessária uma similaridade comportamental,

neurobiológica e motivacional; validação preditiva, onde o modelo deve apresentar resposta às intervenções terapêuticas testadas, contudo não mimetizam sintomas ou bases neurobiológicas da doença; e validação construtiva, onde seja possível construir teorias sobre a etiologia da doença (BOURIN, 2015; CZÉH et al., 2016).

Além destes critérios, os modelos animais devem se assemelhar às condições humanas em vários aspectos como: similaridade entre o perfil fenotípico comportamental e de sintomas clínicos; melhoria ou redução dos sintomas ao utilizar os antidepressivos; o desencadeamento de eventos importantes que são identificados no distúrbio em humanos; e embasamento neurobiológico similar ao dos humanos (CZÉH et al., 2016).

Como a depressão está correlacionada ao estresse, muitos modelos e testes para a depressão em camundongos são caracterizados pela exposição do animal a situações de estresse inescapável, acarretando um estado de desespero comportamental, notado pela tentativa inicial de escape ou luta para sair desta situação (BALMUS et al., 2016). Desse modo, o comportamento de imobilidade induzido em camundongos quando submetidos a uma situação de estresse inescapável, pode acarretar em um estado de desespero comportamental no animal, que é comparado e relacionado ao estado depressivo em humanos (BORGES FILHO, 2014).

Em relação aos testes com validade preditiva, de maneira geral, para modelos de depressão o teste do nado forçado (TNF), descrito por Porsolt et al. (1977), é utilizado para avaliar a atividade antidepressiva de fármacos, devido sua fácil reprodutibilidade e confiabilidade. Assim como, o teste de suspensão pela cauda (TSC), descrito por Steru et al. (1985), também é utilizado para avaliar a atividade antidepressiva de um composto. Ambos os testes consistem em submeter o camundongo a uma situação de estresse e visualizar sua capacidade em lidar com aquela situação (CRYAN; HOLMES, 2005; DUMAN; MONTEGGIA, 2006).

Contudo, o TNF e TSC possuem algumas desvantagens, como a seguinte situação: se a droga apresentar alguma alteração na locomoção do animal, aumentando seu tempo de imobilidade, há possibilidade de se ter um resultado falso negativo. Para evitar a ambiguidade desse resultado, geralmente associa esses testes com o teste do campo aberto (TCA), o qual avalia atividade locomotora do animal (LIN et al., 2015).

O TCA foi descrito por Siegel (1946) e validado por Acher (1973), em que é utilizado para medir a atividade exploratória do animal, podendo ser utilizado para avaliar a atividade locomotora. Com isso, o TCA pode ser realizado para excluir possibilidade de uma substância psicoestimulantes reduzir o tempo de imobilidade nos outros testes para a depressão (TATEM et al., 2014).

O teste do labirinto em cruz elevado (TLCE) (plus maze), descrito por Lister (1987), avalia a atividade ansiolítica ou ansiogênica de agentes farmacológicos de maneira geral, através da aversão natural dos animais aos locais abertos e iluminados. O teste em animais não consegue prever todas as características da ansiedade em humanos, mas o TLCE é fundamental, pois o paciente depressivo geralmente apresenta características correlacionadas à ansiedade (BOURIN, 2015).

Além dos testes com validade preditiva, é possível destacar os modelos baseados na indução de estresse e os modelos farmacológicos para depressão, como, por exemplo, o modelo de indução de depressão pela administração exógena de corticosterona (CORT) (PAZINI, 2013). Diante do exposto, a CORT é um glicocorticoide envolvido em resposta ao estresse de camundongos equivalente ao cortisol em humanos, sendo elevado em condições de estresse. Portanto, o modelo de exposição crônica à CORT tem sido descrito como eficaz em características semelhantes à depressão em animais. Esse parâmetro pode ser observado em testes comportamentais e neuroquímicos, sendo considerado um modelo útil no estudo da depressão, incluindo a depressão resistente ao tratamento (ZHAO et al., 2008; VASCONCELOS et al., 2015).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar o efeito do CVC em modelo de depressão animal induzida por corticosterona.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar as alterações comportamentais promovidas pela administração do CVC em modelos do nado forçado, suspensão da cauda, labirinto em cruz elevado e campo aberto após a indução da depressão por meio da administração crônica de CORT;
- Determinar o índice de peroxidação lipídica através da medição do conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado;
- Determinar a concentração de nitrito/nitrato no hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado;
- Determinar a concentração glutatônica reduzida no hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Animais**

Foram utilizados camundongos machos da raça *Swiss*, pesando entre 20-25 g, provenientes do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram mantidos em gaiolas de propileno em ambiente com temperatura e umidade controladas, cerca de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , com ciclo claro/escuro alternado de 12 horas, com luzes acesas às 07:00h, e com livre acesso à ração adequada e água. Os animais tiveram o mínimo de ruídos e condições higiênico-sanitárias apropriadas.

#### ***3.1.1 Aspectos éticos***

Durante o estudo alguns procedimentos poderiam gerar incômodo aos animais, entretanto, foram seguidas as recomendações de cuidado e manejo dos animais durante o estudo, objetivando reduzir o sofrimento e possíveis danos que estes viessem a sofrer.

Com isso, o protocolo experimental seguiu os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFC, *campus* Sobral, sob o número de protocolo 08/17 (Anexo I). Todos os procedimentos experimentais ocorreram conforme as normas estabelecidas na Lei 11.794 de outubro de 2008, que dispõe sobre a utilização de animais para fins científicos (BRASIL, 2008).

### **3.2 Obtenção e preparo das drogas**

As drogas e reagentes que foram utilizados para a realização dos experimentos estão descritos no Quadro 2.

Quadro 2 - Drogas e reagentes que foram utilizados durante a execução do protocolo experimental.

DROGA/REAGENTE	PREPARO
Carvacrol (Sigma, St. Louis, MO, EUA)	6,25 e 12,5 mg/kg, via gavagem. Dissolvido em água destilada contendo 0,5% de Tween 80.
Fluvoxamina (Abbott)	50 mg/kg, via gavagem. Dissolvida em água destilada contendo 0,5% de Tween 80.
Corticosterona (Sigma, St. Louis, MO, EUA)	20 mg/kg, via subcutânea. Dissolvida em solução salina contendo 0,1% de Tween 80 e 0,1% de DMSO.
Água destilada (UFC, Laboratório de Neurofarmacologia)	Via gavagem. Dissolvida em 0,5% de Tween 80.

Fonte: Elaborado pela autora.

A fluvoxamina (FLUV) foi usada como antidepressivo padrão, porque entre os ISRS, essa droga tem se mostrado eficaz em vários estudos envolvendo monoterapia, sem a necessidade de associação com antipsicóticos, e apresentado alta razão de resposta entre os pacientes (VASCONCELOS, 2015). Assim, esta foi dissolvida com água destilada obtendo-se a concentração final de 5 mg/mL, para ser administrada na dose de 50 mg/kg.

### 3. 3 Delineamento experimental

#### 3.3.1 Protocolo experimental - Indução da depressão por administração exógena de corticosterona

Custódio (2019), realizou o protocolo de administração repetida de CVC, em que os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais, sendo estes: grupo controle; FLUV 50 mg/kg/dia; CVC 6,25 mg/kg/dia e 12,5 mg/kg/dia, por 8 dias apenas com indução através do estresse comportamental. No entanto, o presente estudo com o intuito de aprofundar os conhecimentos acerca das propriedades do CVC no tratamento da depressão, objetivou investigar o efeito antidepressivo do CVC em modelo de depressão induzida por CORT durante 22 dias, ou seja, induzir a depressão crônica por meio de administrações subcutâneas de CORT.

Assim, para realização do referido protocolo foram utilizados um total de 60 animais divididos em grupos experimentais contendo 30 animais cada, como observado no Quadro 3.

Quadro 3 - Distribuição quantitativa dos animais por cada grupo experimental do protocolo.

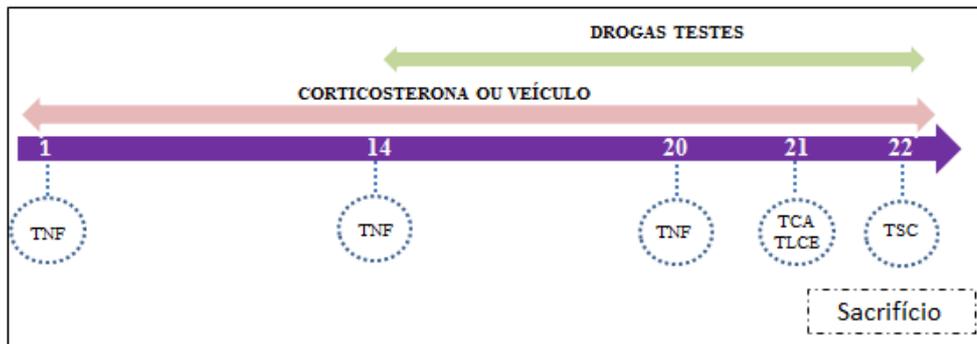
GRUPO	DOSAGENS	
	TBARS/Nitrito	Glutathiona
Veículo + Veículo	6	6
CORT + Veículo	6	6
CORT + CVC 6,25	6	6
CORT + CVC 12,5	6	6
CORT + FLUV	6	6
<b>Total</b>	30	30
<b>Total Geral</b>	<b>60 animais</b>	

Fonte: Elaborado pela autora. CVC - carvacrol; CORT - corticosterona; FLUV - fluvoxamina.

A administração da CORT exógena ocorreu durante os 22 dias de experimento, via subcutânea, onde cada animal recebeu uma dose de 20 mg/kg/dia, as 08:00 horas. Durante os 22 dias todos os grupos receberam injeções subcutâneas de CORT, exceto o grupo controle que recebeu apenas veículo (solução salina, Tween 80 e DMSO), via subcutânea. A partir do 15º dia, uma hora após a administração de CORT ou veículo, os grupos CORT+CVC 6,25, CORT+CVC 12,5, CORT+FLUV receberam respectivamente as drogas teste, via gavagem: CVC 6,25 mg/kg, CVC 12,5 mg/kg e FLUV 50 mg/kg. O grupo CORT+Veículo, recebeu veículo (água destilada e Tween 80) via gavagem. Pretendeu-se com este protocolo induzir a depressão nos camundongos.

Os ensaios comportamentais foram realizados uma hora após os tratamentos e ocorreram durante alguns dias do protocolo. No dia 1º e dia 14º os animais foram submetidos ao TNF a fim de observar as alterações provocadas pela CORT no comportamento dos animais. Nos dias 20, 21 e 22, após 60 minutos da administração das drogas, os animais foram submetidos ao TNF (dia 20), TCA e TLCE (dia 21), e TSC (dia 22). Ainda no dia 22, após a realização do último teste comportamental, os animais foram eutanasiados para a obtenção das áreas cerebrais do hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado (Figura 3).

Figura 3 - Esquema de administração das drogas e de realização dos testes comportamentais do protocolo.



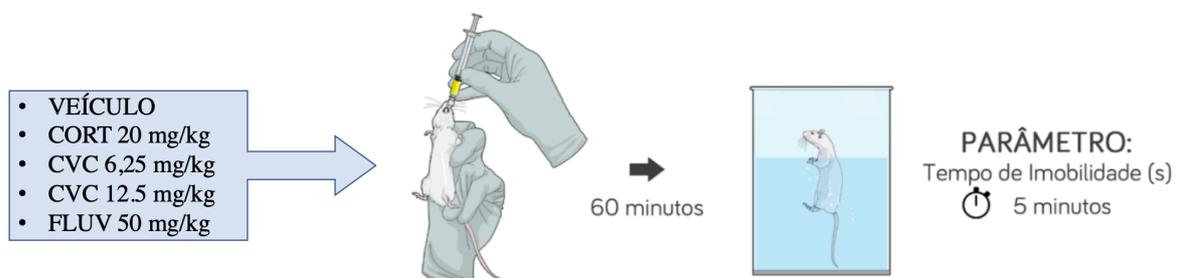
Fonte: Elaborado pela autora. TNF - Teste do Nado Forçado; TCA - Teste do Campo Aberto; TLCE- Teste do Labirinto em Cruz Elevado; TSC - Teste da Suspensão da Cauda.

### 3.4 Testes comportamentais

#### 3.4.1 Teste do nado forçado

Para este experimento foram utilizados cilindros de 15 cm de diâmetro e 40 cm de altura, contendo água em temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) até a metade do cilindro de vidro, cerca de 20 cm (Figura 4). Após 60 minutos do tratamento por gavagem, os animais foram colocados, um por vez, no cilindro onde o tempo de imobilidade, em segundos, foi registrado durante 5 minutos. O animal foi considerado imóvel quando permaneceu flutuando na água, podendo ter feito até leves movimentos para manter a cabeça acima da água (PORSOLT et al., 1977).

Figura 4 - Representação esquemática do teste comportamental do nado forçado, onde foi avaliado o tempo de imobilidade (em segundos) durante 5 minutos. CORT – corticosterona; FLUV - fluvoxamina; CVC – carvacrol.

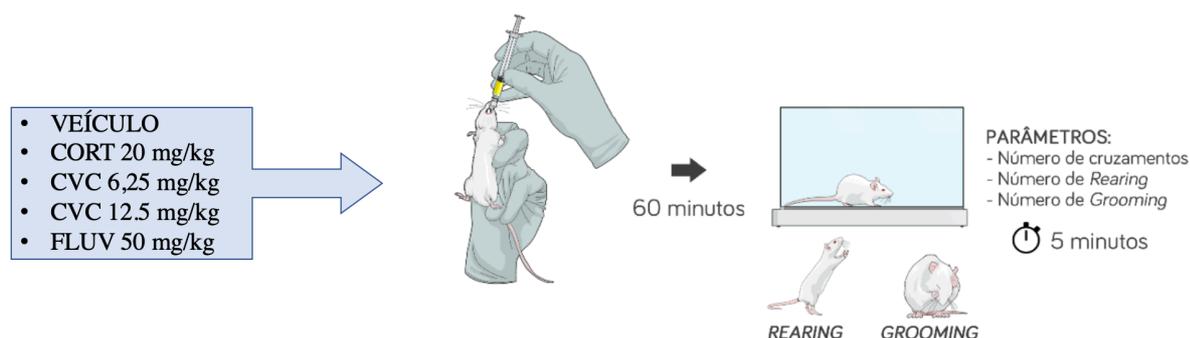


Fonte: Elaborada pela autora. Imagens retiradas do banco de dados: <<https://mindthegraph.com>>.

### 3.4.2 Teste do campo aberto

Este teste foi realizado para analisar a atividade exploratória do animal, bem como o comportamento emocional (ARCHER, 1973). O aparato para camundongos é feito de acrílico (paredes brancas e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) e dividido em 9 quadrantes iguais (Figura 5). Após 60 minutos do tratamento por gavagem, os animais, um por vez, foram colocados no centro do campo aberto onde o número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea), o número de levantamentos com as patas traseiras sem encostar nas paredes (*rearing*) e o número de movimentos de autolimpeza (*grooming*) foram registrados durante um tempo de 5 minutos.

Figura 5 - Representação esquemática do teste comportamental do campo aberto. Foram avaliados, durante 5 minutos, o número de cruzamentos, rearing e grooming. CORT - corticosterona FLUV - fluvoxamina; CVC – carvacrol.



Fonte: Elaborada pela autora. Imagens retiradas do banco de dados: <<https://mindthegraph.com>>.

### 3.4.3 Teste do labirinto em cruz elevado

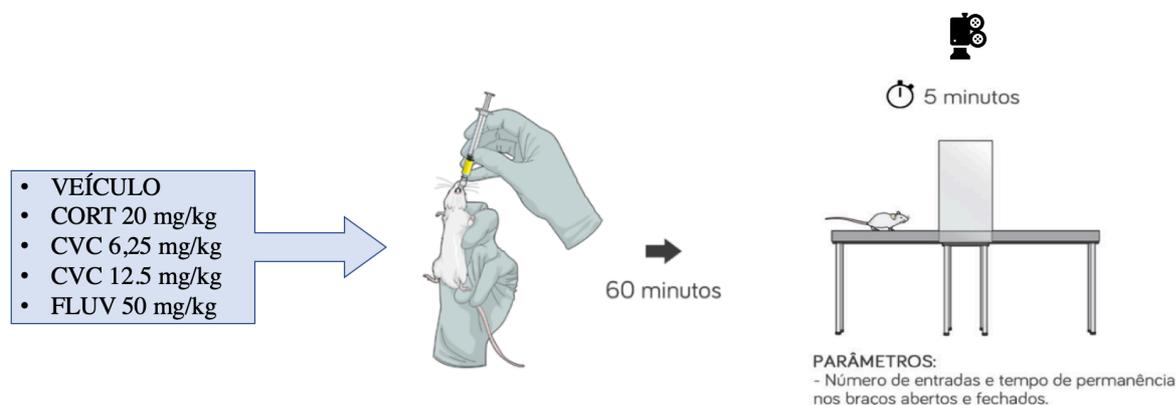
O labirinto em cruz elevado (*plus maze*) consiste em um aparato confeccionado em madeira, que possui quatro braços perpendiculares, dos quais dois são abertos (30 x 5 cm) e dois são fechados (30 x 5 x 25 cm). Os braços estão ligados entre si por uma plataforma quadrada (5 x 5 cm). O aparato estava elevado do chão cerca de 45 cm. Após 60 minutos do tratamento realizado com as drogas, os animais, um a um, foram colocados no centro do aparato, com a cabeça voltada para um dos braços abertos e o comportamento foi filmado durante um tempo de 5 minutos. Os parâmetros comportamentais avaliados foram: número de entradas nos braços abertos (NEBA) e número de entradas nos braços fechados (NEBF), e o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) (Figura 6). Esses resultados foram lançados na fórmula, para se obter o

percentual de entradas nos braços abertos (PEBA) e o percentual do tempo de permanência nos braços abertos (PPBA) (LISTER; 1987). Para calcular a PEBA e PPBA foram utilizadas as fórmulas abaixo:

$$PEBA = \frac{\text{Número de entradas nos braços abertos}}{\text{Número de entradas no total (em ambos os braços)}} \times 100$$

$$PPBA = \frac{\text{Tempo nos braços abertos}}{\text{Tempo total (em ambos os braços)}} \times 100$$

Figura 6 - Representação esquemática do teste comportamental do labirinto em cruz elevado. Foram avaliados, por 5 minutos, o número de entradas e permanência nos braços abertos e fechados. CORT – corticosterona; FLUV - fluvoxamina; CVC – carvacrol.

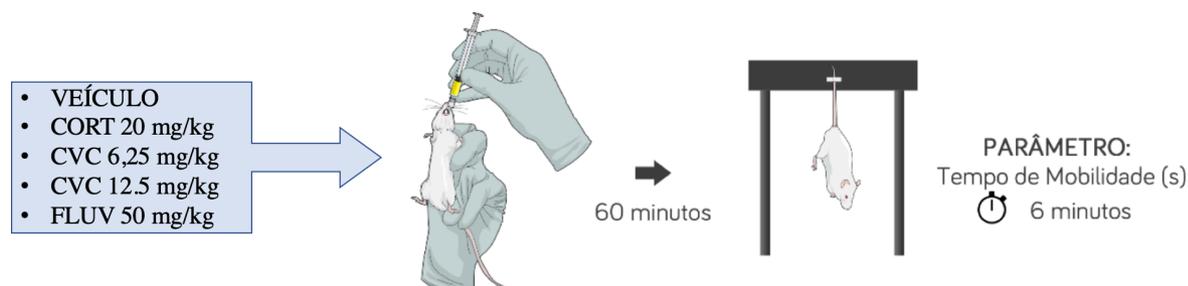


Fonte: Elaborada pela autora. Imagens retiradas do banco de dados: <<https://mindthegraph.com>>.

#### 3.4.4 Teste da suspensão da cauda

Neste experimento proposto por Steru e colaboradores (1985), após 60 minutos do tratamento por gavagem, os animais, um por vez, foram suspensos, presos com uma fita adesiva a cerca de 1 cm da ponta da cauda, numa plataforma elevada a cerca de 58 cm acima da bancada, durante 6 minutos. O parâmetro observado foi o tempo de imobilidade do animal, em segundos (Figura 7).

Figura 7 - Representação esquemática do teste comportamental da suspensão da cauda, onde foi avaliado o tempo de imobilidade (em segundos) durante 6 minutos. CORT – corticosterona; FLUV - fluvoxamina; CVC – carvacrol.



Fonte: Elaborada pelo autor. Imagens retiradas do banco de dados: <<https://mindthegraph.com>>.

### 3.5 Ensaios neuroquímicos

#### 3.5.1 Determinação da peroxidação lipídica por medição do conteúdo de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O grau de lipoperoxidação nas áreas do hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado foi medido através da determinação das concentrações de TBARS, conforme o método de Draper e Hadley (1990). Foram preparados homogenatos das áreas cerebrais supracitadas a 10% em solução de tampão fosfato 150 mM. Um volume de 100  $\mu$ L de ácido perclórico 35% foi adicionado a 63  $\mu$ L do homogenato e centrifugado à 5000 rpm por 10 minutos a 4°C. Em seguida, 150  $\mu$ L do sobrenadante foi retirado e adicionado 50  $\mu$ L do ácido tiobarbitúrico 1,2% e levado ao banho maria por 30 minutos, a 95°C. Em seguida, foi transferido para placa de ELISA e realizada a leitura no comprimento de onda a 535 nanômetros (nm). Os resultados foram expressos em micrograma ( $\mu$ g) de MDA por grama de tecido.

#### 3.5.3 Determinação da concentração de nitrito/nitrato

Para a determinação da produção de nitrito, primeiramente foi preparado uma curva padrão. Para isso, foram pesados 6,9 mg de  $\text{NaNO}_2$  e dissolvidos em 10 mL de água bidestilada (estoque-10mM) e feitas as diluições em série (10 e 20 x), ficando 1 mM, 100  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 2,5  $\mu$ M, 1,25  $\mu$ M, 0,625  $\mu$ M, 0,312  $\mu$ M. A partir das diluições, foi realizada uma equação da reta para o cálculo das concentrações do teste (GREEN et al.,1981). Para a determinação da concentração de nitrito em cada tecido, foram preparados homogenatos das áreas cerebrais a 10% (1:9) em solução de tampão fosfato 150 mM. Após centrifugação a 11000 rpm a 4°C por

15 minutos, os sobrenadantes foram coletados e a produção de óxido nítrico (NO) determinada através da reação de Griess. Uma alíquota de 50 µL do sobrenadante foi incubada com 50 µL do reagente de Griess (ácido fosfórico 5% + sulfonilamida 1% diluída em ácido fosfórico 5% + NEED (N-1-naftiletilenodiamono dicloridrato) 0,1% + água destilada, na proporção de [1:1:1:1]) sob temperatura ambiente por 10 minutos. A absorbância foi medida em leitor de placa de ELISA no comprimento de onda de 570 nm. A concentração de nitrito foi determinada a partir de uma curva padrão de NaNO<sub>2</sub> e os resultados foram expressos em micromolar (µM) de nitrito/nitrato por grama de tecido.

### **3.5.4 Determinação da concentração da glutathiona reduzida (GSH)**

A determinação da concentração da GSH baseia-se na reação do reagente de Ellman, o 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) com o tiol livre originando um dissulfeto misto mais ácido, 2-nitro-5-tiobenzóico. A medida do produto de reação formado foi feita por leitura da absorbância a 412 nm, conforme descrito por Sedlak e Lindsay (1988). Para isso, foram preparados homogenatos a 10% das áreas cerebrais coletadas/estudadas, em EDTA 0,02 M. Em seguida foram retirados 40 µL do homogenato e adicionados 50 µL de água destilada + 10 µL de ácido tricloroacético a 50%. Logo após, foram centrifugados a 5000 rpm por 15 minutos, a 4°C. Posteriormente foram retirados 60 µL do sobrenadante e acrescido 102 µL da solução de tampão Tris-HCl 0,4 M, pH 8,9 + DTNB 0,01 M, após 1 minuto da reação foi feita a leitura da absorbância em 412 nm, através de um espectrofotômetro. A concentração da glutathiona reduzida foi expressa em µg de GSH por grama de tecido.

### **3.6 Dissecação das áreas cerebrais**

Os encéfalos foram retirados e colocados sobre papel alumínio em placa com gelo, em seguida com o auxílio de uma pinça reta e tesoura de microdissecação foram retirados o hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado. Terminada a dissecação, cada área foi colocada em tubos de microcentrífuga, sob gelo, pesada e armazenada a -80 °C para uso posterior.

### **3.7 Eutanásia e descarte dos animais**

A eutanásia dos animais se deu por meio de deslocamento cervical, sendo justificado nesse caso pela necessidade da manutenção dos índices bioquímicos das áreas

cerebrais, que poderiam ser alterados quando utilizadas outras técnicas de eutanásia (CHORRILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007). Logo após o sacrifício e a retirada das áreas cerebrais, as carcaças dos animais foram acondicionadas em sacos plásticos, armazenadas em freezer e posteriormente, ocorreu o descarte sob responsabilidade do Biotério da UFC/ *campus* Sobral.

### **3.8 Análise dos dados**

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism versão 8.02 para Windows, GraphPad Software, San Diego California EUA, (Copyright © 1992-2009 GraphPad Software, Inc). Os resultados foram analisados por One-way ANOVA (Análise de Variância) seguida pelo teste de Bonferroni's como teste *post hoc*, sendo os valores representados pela Média ± Erro Padrão da Média (EPM). O critério de significância utilizado foi quando  $p < 0,05$ .

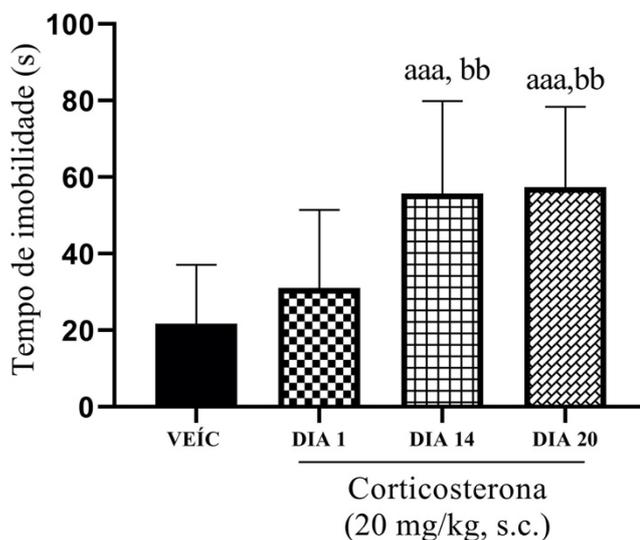
## 4 RESULTADOS

### 4.1 Avaliação comportamental

#### 4.1.1 Teste do Nado Forçado

Nesse teste, o parâmetro avaliado foi o tempo de imobilidade em segundos do animal. Por intermédio do TNF foi possível verificar a indução da depressão por meios do aumento do tempo de imobilidade (Figura 8) com o perpassar dos dias de tratamento. Quando os animais tratados com a CORT no Dia 1 ( $31.00 \pm 4.95$  [17]) não apresentaram alteração significativa frente ao grupo veículo ( $21.69 \pm 3.86$  [16]) com relação ao tempo de imobilidade. No entanto, observou-se um aumento significativo do tempo de imobilidade no Dia 14 ( $55.67 \pm 6.24$  [15]) e Dia 20 ( $57.35 \pm 5.09$  [17]), em relação ao grupo veículo.

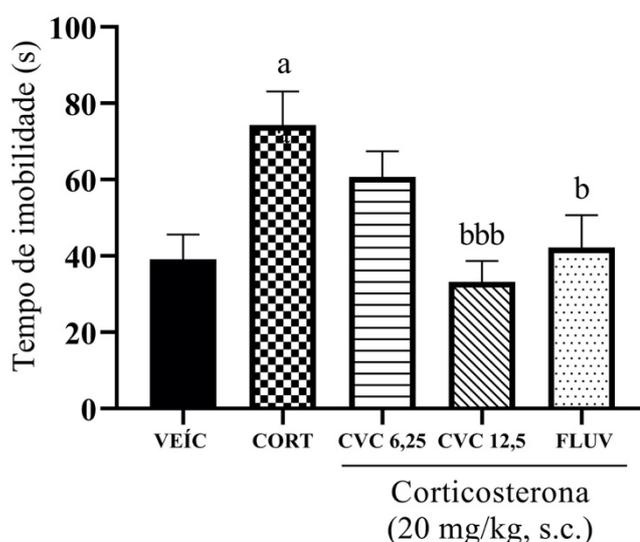
Figura 8 – Efeito da administração crônica de CORT, via subcutânea, na indução da depressão por meio do tempo de imobilidade (s) no TNF.



Fonte: Própria autora. Cada coluna representa a média  $\pm$  EPM (n= 15-17 animais/grupo) do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. A análise dos resultados foi feita através da ANOVA seguido por Bonferroni's como teste *post hoc*. Na figura, valores significativos: <sup>aaa</sup> $p < 0,001$  vs veículo; <sup>bb</sup> $p < 0,01$  vs Dia 1. Abreviações: VEÍC – veículo; CORT – corticosterona.

Além disso, conforme se verifica na Figura 9, ficou demonstrado que o tratamento com CVC 12,5 mg/kg ( $33.17 \pm 5,51$  [18]) e FLUV 20 mg/kg ( $42.21 \pm 8.47$  [14]) foram capazes de reverter o aumento do tempo de imobilidade provocado pela administração da CORT ( $74.28 \pm 8.49$  [18]).

Figura 9 - Tempo de imobilidade no TNF dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem.

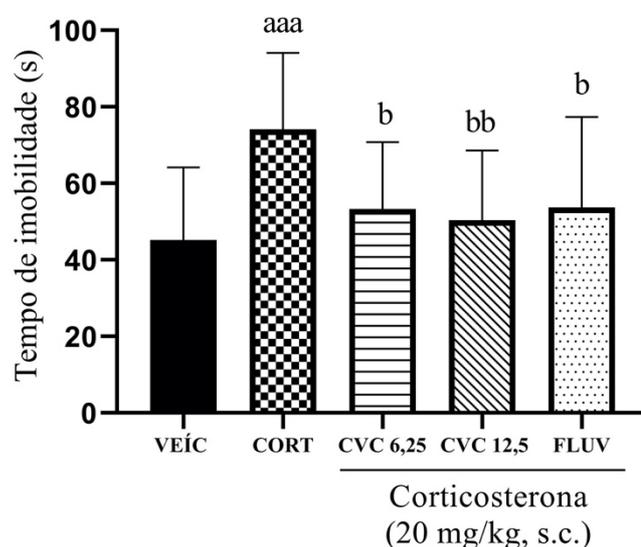


Fonte: Própria autora. Cada coluna representa a média  $\pm$  EPM ( $n=12-18$  animais/grupo) do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. A análise dos resultados foi feita através da ANOVA seguido por Bonferroni's como teste *post hoc*. Na figura, valores significativos: <sup>a</sup> $p < 0,05$  vs veículo; <sup>b</sup> $p < 0,05$  vs CORT 1; <sup>bbb</sup> $p < 0,001$  vs CORT. Abreviações: VEÍC – veículo; CORT – corticosterona; CVC – carvacrol; FLUV – fluvoxamina.

#### 4.1.2 Teste de Suspensão pela Cauda

Como mostra na Figura 10, no TSC a administração crônica de CORT ( $74.10 \pm 4.47$  [20]) aumentou significativamente o tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao grupo veículo ( $45.21 \pm 5.08$  [14]). Os grupos CVC 6,25 ( $53.26 \pm 4.01$  [19]), o CVC 12,5 ( $50.33 \pm 4.71$  [15]) e FLUV ( $53.73 \pm 5.41$  [19]) conseguiram reverter de forma significativa o aumento do tempo de imobilidade provocado pela CORT.

Figura 10 – Tempo de imobilidade no TLCE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem.

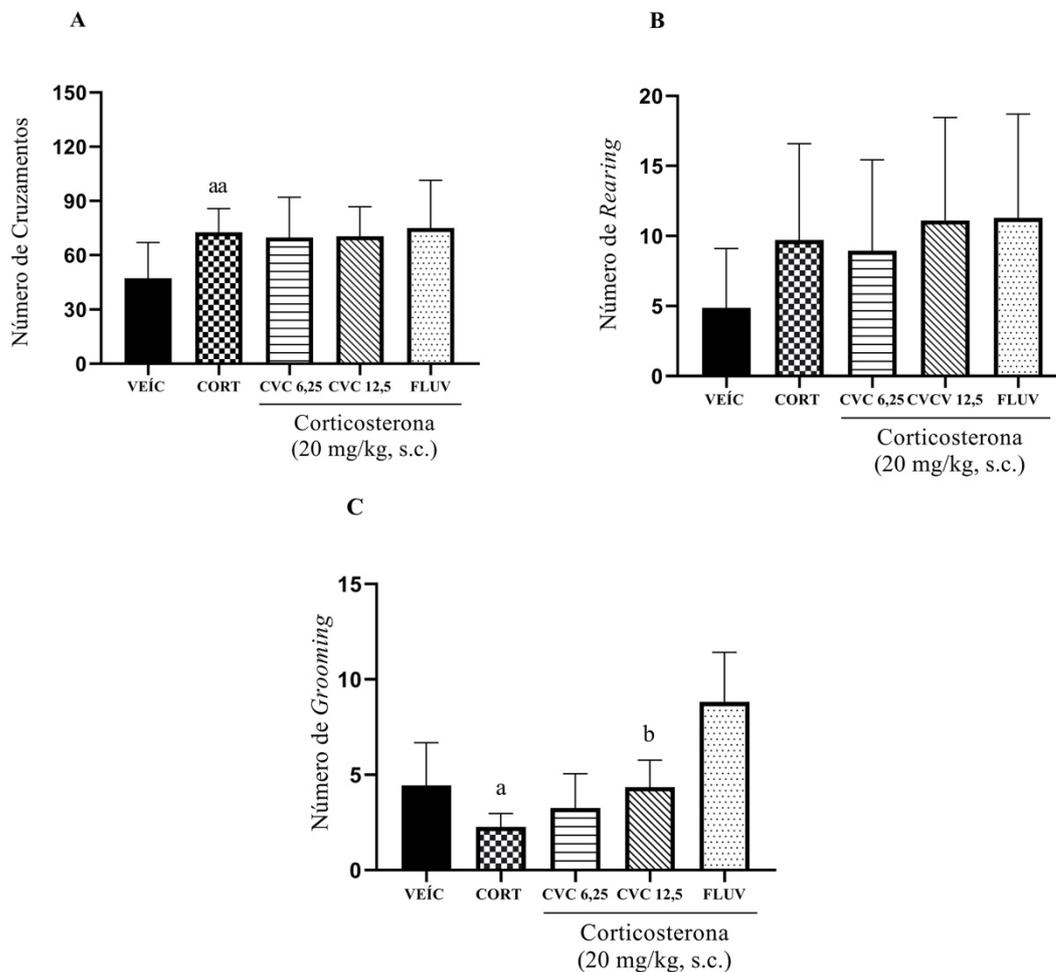


Fonte: Própria autora. Cada coluna representa a média  $\pm$  EPM ( $n= 14-20$  animais/grupo). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA seguido por Bonferroni's como teste *post hoc*. Na figura, valores significativos: <sup>aa</sup> $p < 0,01$  vs veículo; <sup>b</sup> $p < 0,05$  vs CORT; <sup>bb</sup> $p < 0,01$  vs CORT. Abreviações: VEÍC – veículo; CORT – corticosterona; CVC – carvacrol; FLUV – fluvoxamina.

#### 4.1.3 Teste do Campo Aberto

Foi realizado o TCA com o intuito de observar a atividade locomotora e parâmetros de ansiedade do animal. Como mostra a Figura 11A, o grupo CORT ( $72.63 \pm 3.29$  [16]) obteve diferença estatística entre o grupo veículo ( $47.29 \pm 5.29$  [14]) no número de cruzamentos (*crossings*). Outro parâmetro avaliado foi o número de *rearing* (Figura 11B), onde observou-se que não houve alteração significativa entre os grupos. Na Figura 11C, a CORT ( $2.26 \pm 0.18$  [15]) provocou uma redução no número de *grooming* comparado ao grupo VEIC ( $4.44 \pm 0,74$  [9]), já o CVC 12,5 ( $4.35 \pm 0.34$  [17]) conseguiu reverter o efeito causado pela CORT no número de *grooming*, diferentemente dos outros grupos que não apresentaram alterações significativas.

Figura 11 – Número de Cruzamentos (A), Número de *Rearing* (B) e Número de *Grooming* (C) no TCA dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento, via gavagem.



Fonte: Própria autora. Cada coluna representa a média ± EPM (n= 10-20 animais/grupo). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA seguido por Bonferroni's como teste *post hoc*. Na figura, valores significativos: <sup>a</sup> $p < 0,05$  vs veículo; <sup>aa</sup> $p < 0,01$  vs veículo; <sup>b</sup> $p < 0,05$  vs CORT; Abreviações: VEÍC – veículo; CORT – corticosterona; CVC – carvacrol; FLUV – fluvoxamina.

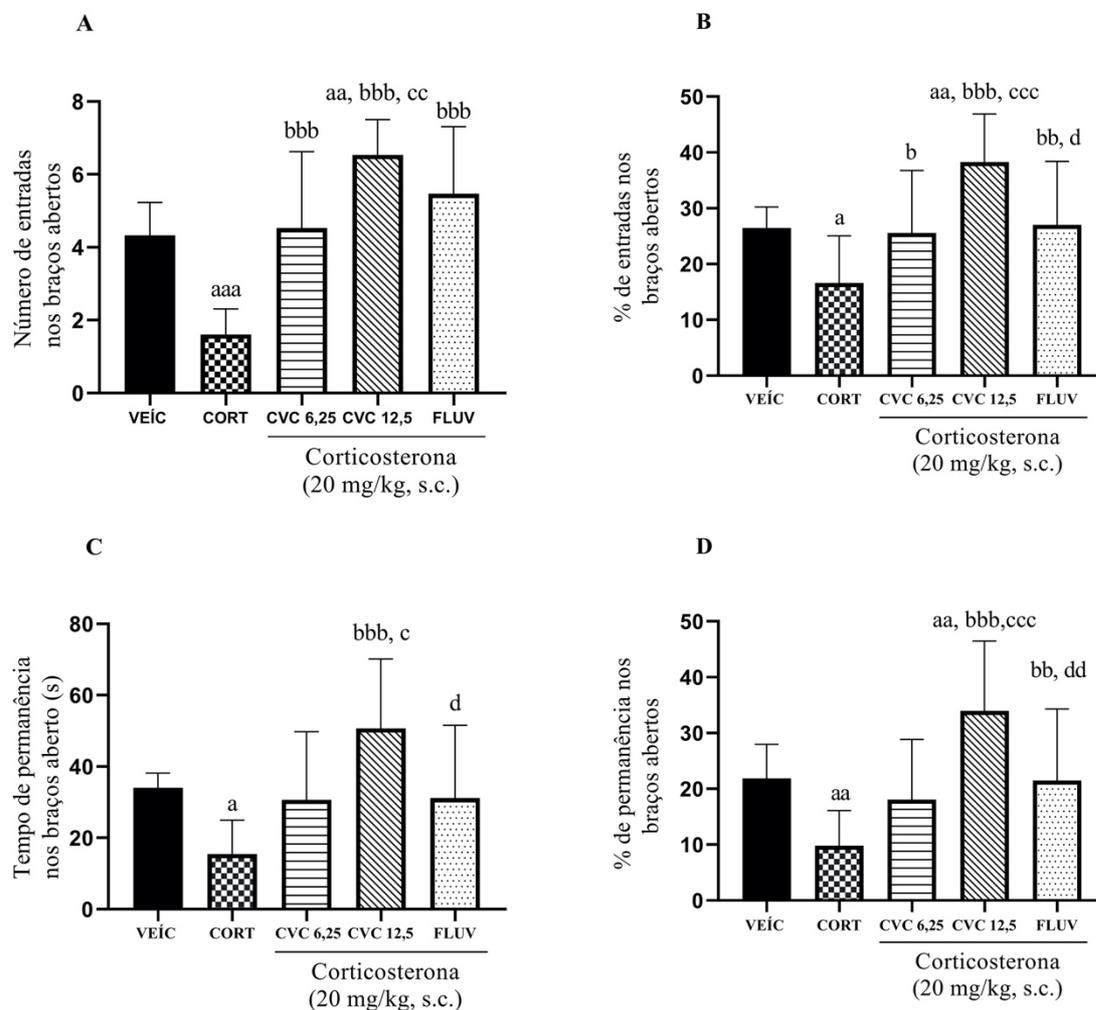
#### 4.1.4 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (*Plus Maze*)

O teste do labirinto em cruz elevado foi realizado para avaliar características associadas aos sintomas da ansiedade. Ao analisar NEBA, observou-se que a CORT ( $1.61 \pm 0.16$  [18]) diminuiu o número de entradas, quando comparado ao grupo veículo ( $4.33 \pm 0.23$  [15]). Contudo, o CVC 6,25 ( $4.52 \pm 0.50$  [17]) reverteu essa diminuição quando comparado ao grupo CORT. Semelhantemente o CVC 12,5 ( $6.53 \pm 0.26$  [13]) reverteu o número de entradas em relação ao grupo CORT e CVC 6,25. Do mesmo modo, a FLUV ( $5.46 \pm 0.47$  [15]) conseguiu aumentar o número de entradas em relação ao grupo CORT (Figura 12A).

Em relação ao PEBA, a CORT ( $16.59 \pm 1.89$  [20]) diminuiu significativamente o percentual de entradas quando comparado ao grupo veículo ( $26.50 \pm 0.94$  [15]). O CVC 6,25 ( $25.57 \pm 2.50$  [20]) conseguiu reverter a diminuição provocada pela CORT. Assim como, o CVC 12,5 ( $38.29 \pm 1.92$  [20]) aumentou de forma significativa o percentual de entradas em relação ao grupo CORT e CVC 6,25. De modo semelhante, a FLUV ( $27.04 \pm 2.60$  [19]) aumentou de forma significativa o percentual de entradas quando comparado a CORT e CVC 12,5 (Figura 12B).

Observou-se que a CORT ( $15.47 \pm 2.44$  [15]) diminuiu o TPBA quando comparado ao grupo veículo ( $34.00 \pm 1.20$  [12]). No entanto, o CVC 12,5 ( $50.67 \pm 5.03$  [15]) aumentou o TPBA de forma significativa quando comparado a CORT ( $15.47 \pm 2.44$  [15]) e ao CVC 6,25 ( $30.67 \pm 4.93$  [15]). Assim como, a FLUV ( $31.17 \pm 5.89$  [15]) apresentou alteração significativa quando comparado a CVC 12,5 (Figura 12C). De modo similar, a CORT ( $9.79 \pm 1.40$  [20]) diminuiu de forma relevante a PPBA em relação ao grupo veículo ( $21.87 \pm 1.48$  [17]), e o CVC 12,5 ( $33.96 \pm 2.79$  [20]) aumentou quando comparado ao grupo CORT e ao CVC 6,25 ( $18.07 \pm 2.41$  [20]); da mesma forma, a FLUV ( $21.49 \pm 2.93$  [19]) aumentou significativamente o percentual de permanência quando comparado a CORT e CVC 12,5, porém foi menor que o CVC 12,5 (Figura 12D).

Figura 12 – NEBA (A), PEBA (B), TPBA(C) e PPBA(D) no TLCE dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem.



Fonte: Próprio autor. Cada coluna representa a média  $\pm$  EPM ( $n= 12-20$  animais/grupo). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA seguido por Bonferroni's como teste *post hoc*. Na figura, valores significativos: <sup>a</sup> $p < 0,05$  vs veículo; <sup>aa</sup> $p < 0,01$  vs veículo; <sup>aaa</sup> $p < 0,001$  vs veículo; <sup>b</sup> $p < 0,05$  vs CORT; <sup>bb</sup> $p < 0,01$  vs CORT; <sup>bbb</sup> $p < 0,001$  vs CORT; <sup>c</sup> $p < 0,05$  vs CVC 6,25; <sup>cc</sup> $p < 0,01$  vs CVC 6,25; <sup>ccc</sup> $p < 0,001$  vs CVC 6,25; <sup>d</sup> $p < 0,05$  vs CVC 12,5; <sup>dd</sup> $p < 0,01$  vs CVC 12,5. Abreviações: VEIC – veículo; CORT – corticosterona; CVC – carvacrol; FLUV – fluvoxamina.

## 4.2 Dosagem para estresse oxidativo

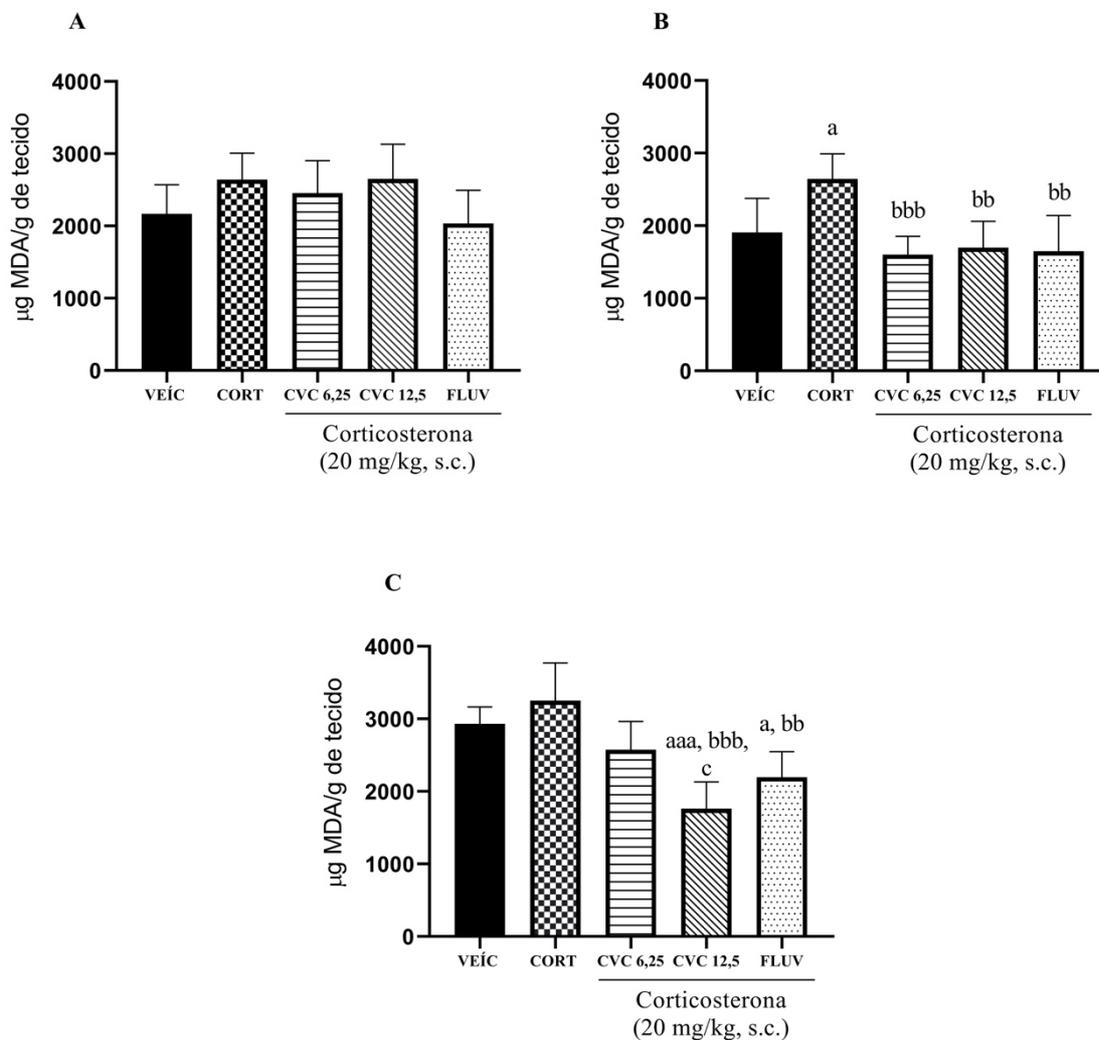
### *4.2.1 Determinação da peroxidação lipídica por medição do conteúdo de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico nas áreas cerebrais*

A dosagem das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi realizada para determinar a peroxidação lipídica nas três áreas cerebrais (hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado). Ao realizar a dosagem na região do hipocampo (Figura 13A), nos grupos CORT ( $2646 \pm 183.0$  [6]), CVC 6,25 ( $2456 \pm 183.0$  [6]), CVC 12,5 ( $2651 \pm 195.7$  [6]) e FLUV ( $2037 \pm 187.5$  [6]) não foram observadas alterações significativas nos níveis de MDA quando comparados com o grupo veículo ( $2167 \pm 165.1$  [6]).

No corpo estriado (Figura 13B), pode-se observar que administração crônica de CORT ( $2646 \pm 140.9$  [6]) aumentou de forma significativa os níveis de MDA quando comparado como grupo veículo ( $1908 \pm 192.9$  [6]). No entanto, nos grupos CVC 6,25 ( $1601 \pm 103.7$  [6]), CVC 12,2 ( $1699 \pm 148.8$  [6]) e FLUV ( $1649 \pm 201.4$  [6]) observou-se que os animais foram capazes de reduzir a concentração de MDA aumentada pela CORT.

Quando analisada a concentração de MDA no córtex pré-frontal (Figura 13C), observou-se que os grupos CORT ( $3252 \pm 232.4$  [5]) não alteraram significativamente quando comparados ao grupo veículo ( $2933 \pm 94.06$  [6]). Contudo, o CVC 12,5 ( $1761 \pm 165.3$  [5]) diminuiu a concentração de MDA em relação aos grupos veículo, CORT e CVC 6,25. Da mesma forma, a FLUV ( $2196 \pm 157.3$  [5]) reduziu os níveis de MDA quando comparado ao grupo veículo e CORT.

Figura 13 – Concentração de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) nas áreas cerebrais do Hipocampo (A), Corpo Estriado (B) e Córtex Pré-Frontal (C) dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem.



Fonte: Própria autora. Cada coluna representa a média  $\pm$  EPM da concentração em  $\mu\text{g}$  de malondialdeído (MDA) por grama de tecido da área cerebral ( $n= 5-6$  animais/grupo). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA seguido por Bonferroni's como teste *post hoc*. Na figura, valores significativos: <sup>a</sup> $p < 0,05$  vs veículo; <sup>aaa</sup> $p < 0,001$  vs veículo; <sup>bb</sup> $p < 0,01$  vs CORT; <sup>bbb</sup> $p < 0,001$  vs CORT; <sup>c</sup> $p < 0,05$  vs CVC 6,25. Abreviações: VEÍC – veículo; CORT – corticosterona; CVC – carvacrol; FLUV – fluvoxamina.

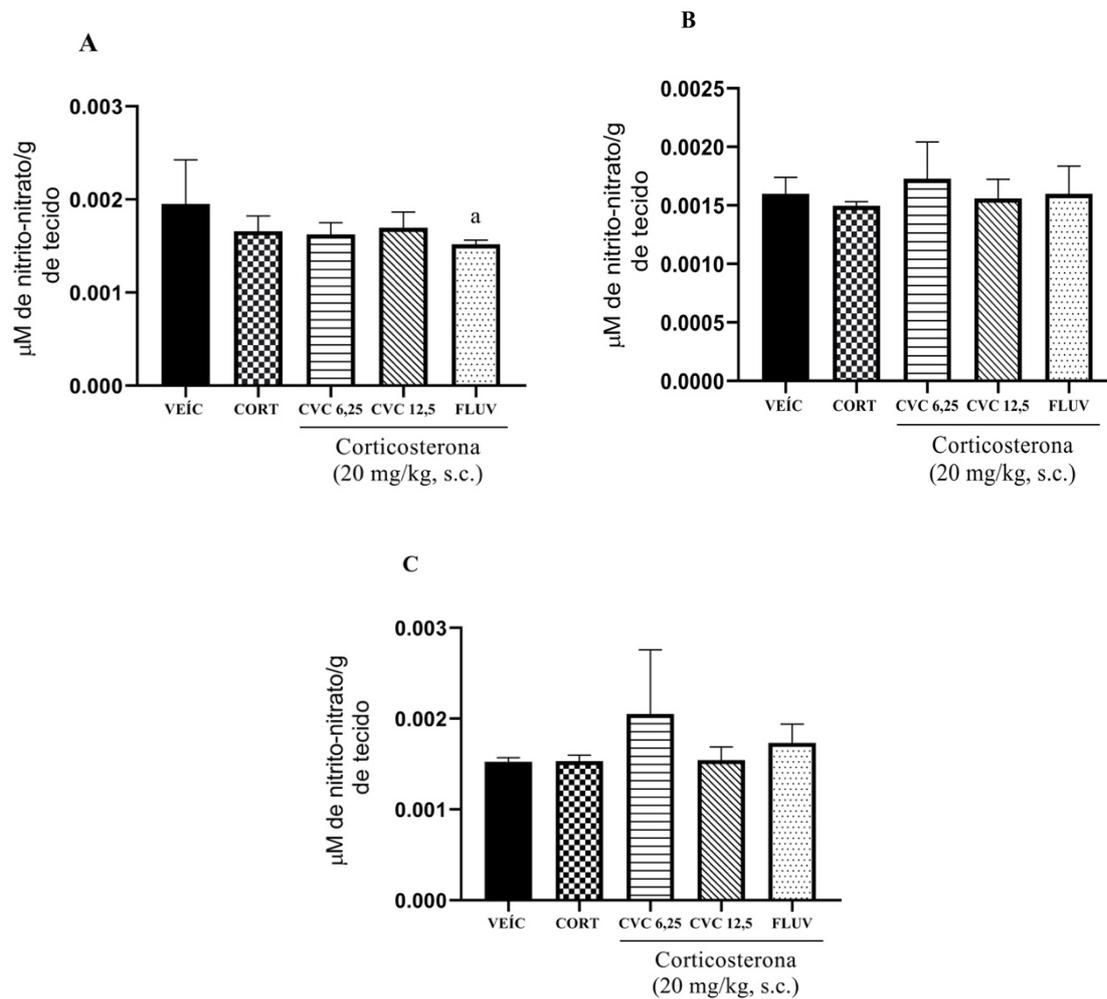
#### ***4.2.2 Determinação da concentração de nitrito/nitrato nas áreas cerebrais***

A concentração de nitrito/nitrato também foi avaliada nas três áreas cerebrais dos animais: hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado. No hipocampo (Figura 14A), observou-se que não houve alteração significativa quando comparadas as concentrações de nitrito/nitrato nos grupos de animais que receberam a CORT ( $0.001658 \pm 0.0005$  [6]), CVC 6,25 ( $0.001623 \pm 0.0005$  [6]), CVC 12,5 ( $0.001695 \pm 0.0005$  [6]) quando esses foram comparados com o grupo veículo ( $0.001952 \pm 0.0002125$  [5]). No entanto, a FLUV ( $0.001520 \pm 0.0005$  [6]) apresentou uma diminuição da concentração de nitrito/nitrato quando estes foram comparados ao grupo veículo.

De forma semelhante não foi observada nenhuma alteração significativa quando analisada a concentração de nitrito/nitrato no corpo estriado (Figura 14B), ao comparar os grupos: CORT ( $0.0014 \pm 0.0005$  [6]), CVC 6,25 ( $0.0017 \pm 0.00012$  [6]); CVC 12,5 ( $0.0015 \pm 0.0005$  [56]); FLUV ( $0.0015 \pm 0.0005$  [6]) e veículo ( $0.0016 \pm 0.0005$  [6]).

Quando analisada a concentração no córtex pré-frontal (Figura 14C), também foi observado que os grupos dos animais que receberam CORT ( $0.0012 \pm 0.0005$  [6]), CVC 6,25 ( $0.0020 \pm 0.0002$  [6]), CVC 12,5 ( $0.0015 \pm 0.0005$  [5]), e FLUV ( $0.017 \pm 0.0005$  [6]) não apresentaram nenhuma alteração significativa quando comparados ao grupo veículo ( $0.0015 \pm 0.0003$  [6]).

Figura 14 – Concentração de nitrito/nitrato nas áreas cerebrais do Hipocampo (A), Corpo Estriado (B) e Córtex Pré-Frontal (C) dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem.



Fonte: Própria autora. Cada coluna representa a média  $\pm$  EPM da concentração nitrito/nitrato por  $\mu\text{M}$  de tecido da área cerebral ( $n= 5-6$  animais/grupo). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA seguido por Bonferroni's como teste *post hoc*. Na figura, valores significativos: <sup>a</sup> $p < 0,05$  vs veículo. Abreviações: VEÍC – veículo; CORT – corticosterona; CVC – carvacrol; FLUV – fluvoxamina.

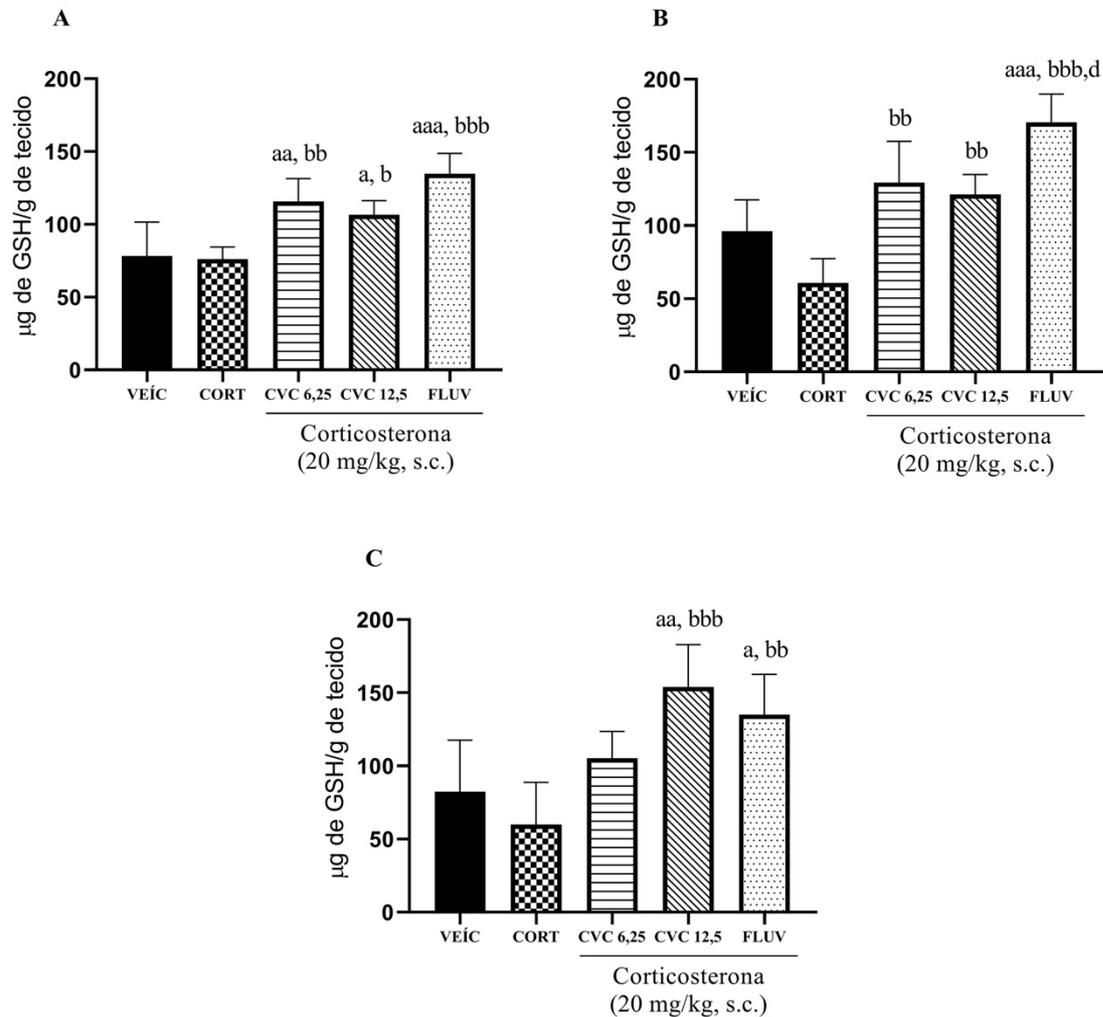
#### ***4.2.3 Determinação da concentração de glutathiona reduzida nas áreas cerebrais***

Foi realizada ainda a dosagem de glutathiona reduzida nas três áreas cerebrais de interesse. Foi observado que o CVC nas doses 6,25 ( $115.7 \pm 7.02$  [5]) e 12,5 ( $106.7 \pm 3.92$  [6]) promoveram um aumento de forma significativa nos níveis de GSH do hipocampo quando comparado com o grupo veículo ( $78.25 \pm 10.46$  [6]) e CORT ( $76.02 \pm 3.73$  [5]). Semelhantemente a FLUV ( $134.7 \pm 6.30$  [5]) aumentou significativamente o nível de GSH quando comparado ao veículo, CORT e CVC 12,5 (Figura 15A).

No corpo estriado, o CVC 6,25 ( $129.4 \pm 14.06$  [4]) e CVC 12,5 ( $121.3 \pm 6.84$  [4]) conseguiram reverter significativamente a diminuição dos níveis de GSH provocados pela administração crônica de CORT ( $60.77 \pm 8.32$  [4]). De modo semelhante a FLUV ( $170.5 \pm 8.67$  [5]) aumentou os níveis de GSH comparado ao veículo ( $96.19 \pm 8.72$  [6]), CORT e CVC 12,5 (Figura 15B).

O CVC 12,5 ( $153.9 \pm 11.82$  [6]) e a FLUV ( $135.1 \pm 11.23$  [6]) também foram capazes de aumentar significativamente os níveis de GSH no córtex pré-frontal em comparação aos animais que receberam apenas veículo ( $82.38 \pm 14.37$  [6]) e os que receberam administração crônica de CORT ( $59.96 \pm 14.39$  [4]). Por outro lado, o CVC 6,25 ( $105.3 \pm 8.21$  [5]) não apresentou nenhuma alteração significativa (Figura 15C).

Figura 15 – Concentração dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) nas áreas cerebrais do Hipocampo (A), Corpo Estriado (B) e Córtex Pré-Frontal (C) dos animais submetidos ao modelo de depressão induzida pela administração crônica de CORT, via subcutânea, e submetidos posteriormente ao tratamento com CVC e FLUV, via gavagem.



Fonte: Próprio autor. Cada coluna representa a média  $\pm$  EPM da concentração glutathiona reduzida (GSH) por  $\mu\text{g}$  de tecido da área cerebral ( $n = 4-6$  animais/grupo). A análise dos resultados foi feita através da ANOVA seguido por Bonferroni's como teste *post hoc*. Na figura, valores significativos: <sup>a</sup> $p < 0,05$  vs veículo; <sup>aa</sup> $p < 0,01$  vs veículo; <sup>aaa</sup> $p < 0,001$  vs veículo; <sup>b</sup> $p < 0,05$  vs CORT; <sup>bb</sup> $p < 0,01$  vs CORT; <sup>bbb</sup> $p < 0,001$  vs CORT; <sup>d</sup> $p < 0,05$  vs CVC 12,5. Abreviações: VEÍC – veículo; CORT – corticosterona; CVC – carvacrol; FLUV – fluvoxamina.

## 5 DISCUSSÃO

No presente estudo, os efeitos do CVC foram analisados em modelos experimentais de depressão e ansiedade, dentre eles o TNF, TCA, TLCE e TSC. Além disso, os efeitos do tratamento com CVC sobre o estresse oxidativo também foram avaliados, por meio da quantificação dos níveis de peroxidação lipídica, nitrato/nitrito e concentração de glutatona reduzida nas áreas do hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal.

No TNF, a resposta obtida do grupo CORT em relação ao grupo VEÍC foi muito similar aos resultados do estudo de ZHAO et al. (2008), que demonstra que os efeitos comportamentais esperados após a indução do modelo de depressão pela injeção de CORT por 7 a 35 dias se manifestam de uma maneira tempo-dependente, ou seja, na indução por 7 dias, não há diferença significativa entre o grupo induzido e o grupo controle; entretanto, a partir de 21 dias, há um aumento significativo do tempo de imobilidade em relação ao grupo controle.

Neste presente estudo, foi evidenciado um aumento significativo do tempo de imobilidade após apenas 14 dias, sendo este aumento similar ao valor encontrado após 20 dias, sem diferença significativa estatisticamente. Logo, tais resultados sugerem que um período de 14 dias pode ser suficiente para que sejam estabelecidas as alterações comportamentais esperadas. Diante destes resultados e da evidência de que os níveis de CORT endógena são significativamente mais baixos após duas semanas de estresse repetido quando comparados ao primeiro e ao sétimo dia (GALEA et al., 1997), 14 dias parece ser um tempo razoável de tratamento para o modelo de depressão induzido pela CORT, especialmente para a avaliação por meio do TNF.

A redução significativa do tempo de imobilidade observada no TNF no grupo tratado com CVC na dose de 12,5 mg/kg em relação ao grupo CORT, comparável à resposta obtida com a FLUV, corrobora com evidências publicadas nos últimos anos acerca do CVC e de substâncias semelhantes (terpenoides), como o Timol (isômero do carvacrol), alterando o comportamento dos animais (PARENTE et al., 2018; VALENTIM, 2020). Entretanto as vias, o tempo de administração, a apresentação e as doses do tratamento variam notavelmente entre os estudos: resultados semelhantes foram obtidos com injeção intraperitoneal 0,2ml/kg de CVC 6,93% (óleo essencial de orégano) por 14 dias (AMIRESMAEILI et al., 2018) e com administração via oral por gavagem de CVC 50mg/kg por 14 dias (VALENTIM, 2020). De modo semelhante, Parente et al. (2018), em seu estudo acerca do efeito antidepressivo do leo essencial da *Lippia sidoides*, observaram uma redução no tempo de imobilidade no TNF.

É possível notar que, mesmo em diferentes doses e formas de administração, o CVC tem mostrado capacidade de reduzir o tempo de imobilidade de modo semelhantes aos fármacos antidepressivos já bem estabelecidos e utilizados como controle positivo. Diante do fato que este resultado no TNF tem relação com diversas alterações comportamentais relacionadas à depressão presentes em ratos, como alterações patológicas no consumo de alimentos, anormalidade do sono e anedonia (YANKELEVITCH-YAHAV et al., 2015), é possível afirmar que o CVC é uma substância potencialmente promissora no contexto da pesquisa de novas drogas para o tratamento destes sintomas.

Outro teste importante para a avaliação da atividade antidepressiva é o TSC. Neste teste foi observada uma significativa redução no tempo de imobilidade dos animais nos grupos tratados com CVC (6,25 e 12,5 mg/kg), em comparação ao grupo CORT. A redução também foi observada nos animais que receberam a FLUV, demonstrando assim seu efeito antidepressivo. No estudo realizado por Melo et al. (2011), obtiveram resultados muito similares com doses maiores (12,5; 25 e 50 mg/kg), onde o CVC foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade no TSC, assim como, Parente et al. (2018), em seu estudo acerca do efeito antidepressivo no óleo essencial da *Lippia sidoides*, observou uma redução no tempo de imobilidade no TSC.

A atividade locomotora dos animais foi avaliada principalmente por meio do teste do TCA. Um aumento desta atividade classicamente está relacionado a um efeito psicoestimulante da substância testada, enquanto uma diminuição costuma denotar um efeito sedativo (BEZERRA et al., 2019). Na análise do número de cruzamentos, foi possível constatar um aumento da atividade locomotora homogêneo e com diferença significativa dos grupos tratados com CORT em relação ao VEÍC, mas as substâncias testadas (CVC e FLUV) não tiveram influência importante sobre esse aumento. Tal resultado diverge de outros estudos, visto que, em relação à atividade locomotora, na maioria das vezes não há diferença entre o grupo induzido ao modelo de depressão e o grupo controle (GREGUS et al., 2005).

Não obstante este resultado, foi possível constatar que o CVC não teve influência no número de cruzamentos, não apresentando efeito psicoestimulante ou sedativo importante (BEZERRA et al., 2019). Tendo em vista que um dos principais efeitos colaterais dos antidepressivos são as alterações na psicomotricidade (KATO et al., 2010), é desejável que a substância testada como agente antidepressivo não influencie de forma importante nestes parâmetros, como foi observado neste estudo com o uso do CVC.

A atividade locomotora vertical (avaliada pela contagem do número de *rearings*) não sofreu um efeito de reversão das alterações comportamentais observadas no grupo CORT

por meio da administração de CVC. Tal resultado está de acordo com diversos outros estudos, como de Valentim (2020) e de Melo et al. (2010). Tendo em vista que o comportamento de *rearing* é de caráter essencialmente multifatorial, com baixa objetividade em sua interpretação quantitativa e grande variabilidade dentre os diferentes estudos (LEVER et al., 2006), o parâmetro “número de *rearings*” ainda não parece ser uma variável por meio da qual se pode extrair isoladamente informações de grande relevância na avaliação do potencial atividade antidepressiva do CVC.

No contexto da depressão, o comportamento de *grooming* parece estar relacionado a múltiplos aspectos da rica sintomatologia da doença. Por exemplo, um padrão de *grooming* temporalmente mais longo está relacionado a comportamentos patológicos de perseveração em humanos, enquanto a redução do número de *groomings* está associada aos sintomas de anedonia e higienização pobre, sendo estes um dos principais sintomas que influem negativamente na convivência social do indivíduo e importantes marcadores para o diagnóstico clínico da doença (KALUEFF et al., 2016). No presente estudo, a redução significativa do número de *groomings* no grupo CORT e um número destes significativamente maior no grupo CVC 12,5 sugere que o CVC reverte em algum grau as alterações patológicas sobre o circuito neural que dá origem ao comportamento de *grooming*. Este circuito envolve uma complexa interação entre núcleos da base, corpo estriado, neocortex, cerebelo, amígdala, hipotálamo e tronco encefálico (OBESO; LANCIEGO, 2011).

Muitas drogas antidepressivas, como os ISRS, possuem também uma ação ansiolítica sendo eficazes no tratamento da ansiedade generalizada, pânico, transtorno obsessivo-compulsivo e ansiedade social (HILAL-DANDAN; BRUTON, 2015). Com isso, a realização de testes para ansiedade se mostra relevante devido essas condições estarem geralmente associadas. A análise do comportamento ansioso é medida através do número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, no TLCE. No presente estudo, observou-se que o CVC (6,25 e 12,5 mg/kg) foi capaz de aumentar tanto o número de entradas nos braços abertos, assim como, o CVC (12,5 mg/kg) também aumentou o tempo de permanência do animal nos braços abertos. Desta forma, no TLCE, a redução da entrada e permanência nos braços fechados nas duas doses de CVC testadas e no grupo FLUV fortalece a evidência de que o CVC apresenta atividade ansiolítica, visto que a aversão natural que os roedores têm de evitar espaços abertos é classicamente reduzida por agentes ansiolíticos e acentuada por agentes ansiogênicos (SONAVANE et al., 2002). Poucos são os estudos que avaliam a ação ansiolítica do CVC em roedores, entretanto, tal resultado é muito semelhante aos resultados de Melo et al.

(2010) que obteve efeito ansiolítico significativo com uso de CVC oral nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg no TLCE em ratos não induzidos a um modelo de depressão.

No estudo de Melo et al. (2010), foi também investigado o mecanismo de ação do CVC, em que este foi comparado com o diazepam, benzodiazepínico com ação ansiolítica relacionada à modulação dos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA). Os resultados dos testes comportamentais evidenciaram que, após a administração de flumazenil (antagonista do sítio de ligação dos benzodiazepínicos), houve reversão do efeito ansiolítico tanto do diazepam quanto do CVC, o que sugere que a ação ansiolítica do CVC possui relação com a atuação sobre os receptores GABA (MELO et al., 2010; REINER, LABUCKAS, GARCIA., 2009).

A obtenção de resultados ansiolíticos semelhantes no TCLE em animais submetidos ao tratamento com CORT e em animais sem tratamento, reforça a evidência de que o CVC é um agente promissor que não necessariamente se restringem ao tratamento da depressão maior. Com isso, evidencia-se uma perspectiva de que um fármaco na mesma dose pode ser antidepressivo e ansiolítico ao mesmo tempo, fato que não foi observado com a FLUV nesse estudo, mas que observado com alguns antidepressivos.

Em suma, no presente estudo, observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos CVC 6,25 e 12,5 mg/kg, o que evidencia que o CVC já pode apresentar efeito ansiolítico em doses a partir de 6,25 mg/kg, contudo, o efeito antidepressivo foi melhor na maior dose, sendo possível observar que os efeitos podem ser diferentes a depender da dose. Importante notar que o efeito antidepressivo-símile pode ser falso positivo no caso de substâncias que aumentam a motricidade do animal, sem necessariamente possuir um efeito antidepressivo. Entretanto, este erro pode ser evitado ao seguir os protocolos internacionais atuais que orientam que seja mensurada a atividade locomotora do animal no TCA e que esta seja comparada à redução no tempo de imobilidade nos TSC e no TNF. Se a substância não apresentar aumento da motricidade no TCA e causar uma redução do tempo de imobilidade no TSC ou no TNF, pode-se atribuir esta redução a um efeito antidepressivo e não a um efeito estimulante psicomotor, já que tal efeito causaria tanto uma redução no tempo de imobilidade no TSC e no TNF quanto um aumento na atividade locomotora no TCA (SLATTERY et al., 2012). Com isso, na análise do número de cruzamentos no TCA não houve aumento na motricidade nos grupos CVC, tal resultado foi também observado em estudos semelhantes, sendo possível sugerir que o efeito do CVC nos testes comportamentais estudados se deva majoritariamente à uma ação antidepressiva e não um componente estimulante da psicomotricidade (GREGUS et al., 2005; VALENTIM, 2020; BEZERRA et al., 2019).

Além da avaliação comportamental, se faz necessário uma avaliação neuroquímica de fatores associados à fisiopatologia da depressão. Em relação à peroxidação lipídica, mensurada pela dosagem de MDA/g de tecido, a redução de seus níveis foi significativa no córtex pré-frontal, tanto no grupo CVC 12,5 mg/kg, quanto no grupo FLUV, o que é condizente com os resultados de Valentim (2020), que demonstrou que o CVC é capaz de reduzir os níveis de MDA no córtex pré-frontal. Já no hipocampo, não houve diferença significativa entre os grupos, sendo este resultado discordante da maioria dos trabalhos que demonstraram uma ação antioxidante do CVC no hipocampo, seja em modelos de depressão (VALENTIM, 2020) ou em modelos de outras condições patológicas, como na neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo (HAKIMI et al., 2020) e na doença de Parkinson (HAMZEHLOEI; REZVANI; RAJAEI, 2019).

Logo, a despeito dos resultados deste estudo, a literatura traz evidências de que o CVC possui uma atividade antioxidante e neuroprotetora no hipocampo, inclusive com repercussões comportamentais positivas relacionadas à função desta estrutura cerebral, como melhora em funções amnésicas e de localização espacial (HAMZEHLOEI; REZVANI; RAJAEI, 2019; HAMIKI et al., 2020). Quanto à dosagem de MDA no corpo estriado, o CVC mostrou-se eficaz em normalizar os níveis de MDA nos grupos tratados, sem diferença entre as diferentes doses. Não foram encontrados na literatura estudos que avaliem a atividade do CVC sobre os níveis de MDA no corpo estriado em modelos de depressão, entretanto no modelo de doença de Parkinson foi obtido resultado antioxidante semelhante, o que sugere que a capacidade do CVC de reduzir os níveis de MDA não se restringe apenas a um processo patológico específico e sim a condições que aumentem o estresse oxidativo nesta área (HAMZEHLOEI; REZVANI; RAJAEI, 2019).

Além das espécies reativas de oxigênio, a determinação da concentração de nitrito/nitrato se faz importante para avaliar o estresse nitrosativo, que também promove dano tecidual. Desta forma, observou-se que os níveis de nitrito e nitrato não apresentaram diferença significativa dentre os grupos em nenhuma das três áreas cerebrais dos animais, com isso, não sendo observado estresse nitrosativo secundário à injeção de CORT e nem uma redução dos níveis dessas substâncias após o tratamento com CVC, podendo sugerir que o CVC pode atuar como uma molécula neuroprotetora em situações em que há elevado estresse oxidativo. Resultado semelhante foi encontrado no estudo de Custódio (2019), que em nenhuma das doses (6,25 e 12,5 mg/kg) o CVC promoveu alteração significativa na concentração nitrito/nitrato do hipocampo, córtex pré-frontal ou corpo estriado.

Entretanto, no estudo de Valentim (2020), houve um aumento significativo nos níveis de nitrito e nitrato no grupo submetido ao modelo de estresse crônico imprevisível, sendo estes níveis reduzidos no grupo submetido ao modelo e tratado com CVC na dose de 50 mg/kg. De forma semelhante, Melo (2014) observou em seu estudo que o CVC na dose 50 mg/kg foi capaz de reduzir os níveis de nitrito/nitrato no hipocampo e corpo estriado, após indução do estresse oxidativo, demonstrando uma provável ação antioxidante. Sugere-se que tal alteração nos níveis de nitrito/nitrato encontrados nos estudos citados anteriormente pode ser associada a uma administração de uma dose bem maior do CVC, do que a usada neste presente estudo (6,25 e 12,5 mg/kg).

Em outros estudos, envolvendo modelos de estresse crônico, o CVC tem se mostrado eficaz em prevenir a peroxidação lipídica por meio da redução de diversos mediadores de estresse oxidativo e nitrosativo, dentre eles o óxido nítrico, relacionado aos níveis de nitrito/nitrato (HARIRI et al., 2010). Diante disso, como não há estudos prévios que avaliem a dosagem de nitrito/nitrato nas áreas cerebrais estudadas em modelos de depressão induzida por CORT em ratos, não é possível afirmar se a ausência de uma atividade antinitrosativa do CVC nesta pesquisa se deve a uma particularidade do modelo de depressão induzida pela CORT ou a outros fatores, sendo necessários mais estudos futuros para fins de comparação.

A dosagem de GSH, por sua vez, apresentou um aumento em todas as três áreas estudadas, tanto na dose de 6,25 mg/kg, quanto na dose de 12,5 mg/kg, entretanto, no córtex pré-frontal, tal efeito só foi observado no grupo CVC 12,5 mg/kg, o que pode denotar que, nesta área, é necessária uma dose maior de CVC para se obter o efeito antioxidante, visto que em outros estudos em que o corpo estriado foi analisado e foi obtido um aumento dos níveis de GSH, a dose de CVC utilizada foi maior, como 25 mg/kg (HAMZEHLOEI; REZVANI; RAJAEI, 2019).

Nas demais áreas, o aumento dos níveis de GSH corrobora com a hipótese de que o CVC aumenta a atividade antioxidante endógena não só nos modelos de depressão (VALENTIM, 2020), mas também em outros modelos de condições patológicas que cursam com comprometimento dos mecanismos antioxidantes naturais (HAMZEHLOEI; REZVANI; RAJAEI, 2019; HAMIKI et al., 2020). Além disso, foi observado ainda que a FLUV também foi capaz de aumentar os níveis de GSH nas áreas cerebrais estudadas, característica comum a alguns ISRS, como a sertralina e fluoxetina, o que pode sugerir seu efeito contra o estresse oxidativo em pacientes depressivos (ABDEL-SALAM; MORSY; SLEEM, 2011).

Estes achados são de grande relevância pois atualmente há forte evidência de que a GSH está implicada de diversas formas na fisiopatogenia da depressão. Estudos *post-mortem*

de tecido cerebral do córtex pré-frontal de humanos evidenciaram menor concentração de GSH nos pacientes com diagnóstico de depressão quando comparados a controles saudáveis (GAWRYLUK et al., 2011). Ademais, a severidade da anedonia, sintoma cardinal da depressão, correlaciona-se inversamente com os níveis de GSH em humanos, aferidos por meio de estudos que usam a ressonância magnética com espectroscopia para detectar a concentração de GSH em regiões cerebrais de interesse, especialmente zonas occipitais (GODLEWSKA et al., 2015). A relação entre depleção de GSH e depressão é tão ampla que estes achados não se limitam apenas ao sistema nervoso central, visto que há também evidências de que pacientes com depressão possuem menores níveis séricos de GSH quando comparados ao grupo controle (MAES et al., 2011). Diante dos resultados concordantes em estudos animais e humanos em relação ao papel da GSH na depressão, é possível inferir que a aplicação do CVC com finalidade de potencializar os mecanismos antioxidantes endógenos futuramente possa ser transacionadas para estudos em humanos.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo e a comparação destes com dados da literatura permitem observar que o modelo de indução de depressão com CORT administrada por via subcutânea por 14 dias é capaz de induzir efeitos comportamentais depressivos em camundongos. O CVC se mostrou eficaz em promover uma redução significativa nas alterações comportamentais causadas pela CORT, apresentando efeito antidepressivo especialmente na maior dose e efeito ansiolítico nas duas doses testadas de maneira similar.

Ademais, o tratamento com o CVC foi capaz de reduzir a peroxidação lipídica no corpo estriado e no córtex pré-frontal e elevando os níveis de GSH no corpo estriado, córtex pré-frontal e hipocampo. Diante disso, é possível concluir que o CVC é uma substância com um possível potencial terapêutico no tratamento da depressão e ansiedade, sendo necessários mais estudos em modelos animais e em seres humanos para estabelecer sua real eficácia no tratamento deste transtorno e para definir qual a posologia ideal a ser aplicada para esta finalidade.

## REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, I. *et al.* Literature Review on Pathogenesis and Treatment of Depression. **International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences**, [S.I.], v. 8, n. 4, p. 91-96, 2019.
- ABDEL-SALAM, O. M. E.; MORSY, S. F. Y.; SLEEM, A. A. The effect of different antidepressant drugs on oxidative stress after lipopolysaccharide administration in mice.
- ABREU, T. M. **Lectina da alga marinha vermelha *Solieria filiformis* (Kützing) PW Gabrielson: caracterização parcial e efeito antidepressivo em modelos experimentais de depressão**. 134f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
- ALMEIDA, A. C. de et al. Atividade antisséptica do óleo essencial de *Lippia origanoides* Cham. (Alecrim-pimenta) na presença de leite bovino. **Pesquisa veterinária Brasileira**, v. 36, n. 9, p. 905-911, 2016.
- ANDERSEN, A. Final report on the safety assessment of sodium p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol, isopropyl cresols, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol. **International Journal of Toxicology**, v. 25, sup. 1, p. 29-127, 2006.
- ANDRADE, V. O.; MELLO, M. G. C.; SOUZA, J. C. Neuroprogression and depression: a literature review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 9, p. e191996740, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i9.6740. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/6740>. Acesso em: 17 jan. 2021.
- AMIRESMAEILI, A. et al. Effects of oregano essential oil on brain TLR4 and TLR2 gene expression and depressive-like behavior in a rat model. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 130–141, 1 mar. 2018.
- APA, AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **DSM-5 - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 992 p.
- ARAÚJO, N. et al. Avaliação da atividade esquistossomicida do carvacrol em experimentos in vitro e in vivo. **Revista de Patologia Tropical**, v. 45, n. 2, p. 179-191. abr.-jun. 2016.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, v. 21, n.2, p. 205-235, 1973.
- BALMUS, I. M. et al. Oxidative Stress Implications in the Affective Disorders: Main Biomarkers, Animal Models Relevance, Genetic Perspectives, and Antioxidant Approaches. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1-25, 2016.
- BAPTISTA, M. N. et al. Burnout, estresse, depressão e suporte laboral em professores universitários. **Rev. Psicol., Organ. Trab.**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 564-570, jun. 2019. Disponível em [http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1984-66572019000100008&lng=pt&nrm=iso](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-66572019000100008&lng=pt&nrm=iso). Acesso em: 12 jan. 2021.

BARBOZA, P. S.; SILVA, D. A. Medicamentos antidepressivos e antipsicóticos prescritos no Centro de Atenção Psicossocial (CAPS) do Município de Porciúncula–RJ. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 3, n. 1, p. 85-97, 2015.

BASTOS, S. V. B. **Neuroquímica da depressão**: uma revisão integrativa. 2020. 51 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Faculdade Nova Esperança de Mossoró, Mossoró, 2020. Disponível em: <http://www.sistemasfacenern.com.br/repositorio/admin/acervo/239297ddc5e87cf2c08d4aa2efcf895e.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2021.

BATISTA, A. S. **Efeito vascular e central do carvacrol na hipotensão e na inibição do apetite por sódio em ratos**. 2017. 105 f. il. Tese (Doutorado em Patologia Humana) - Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, 2017.

BETTIO, L. E. B. et al. **Efeito tipo-antidepressivo da guanosina em diferentes modelos animais**. Tese (Doutorado em Neurociência), 97f – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

BEZERRA, A. L. D. Uso da planta medicinal Erva-de-São-João (*Hypericum perforatum*) no tratamento da depressão. 2019. 35 fl. (Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia), Curso de Bacharelado em Farmácia, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – Paraíba – Brasil, 2019.

BEZERRA, M. A. A. et al. ESTRESSE EM DOCENTES: UMA ANÁLISE VIA REDE ESTADUAL DE ENSINO DO CEARÁ. **Revista Interdisciplinar Encontro das Ciências-RIEC| ISSN: 2595-0959**, v. 1, n. 3, p. 339-347, 2018.

BEZERRA, et al. O  $\alpha$ -bisabolol protege camundongos da perda neuronal e déficits cognitivos em modelo animal de doença de alzheimer esporádica induzido por estreptozotocina. **Dissertação-UFC**, p. 45–48, 2019.

BHAT, A. H. et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 74, n. 1, p. 101-110, 2015.

BHATT, S.; NAGAPPA, A. N.; PATIL, C. R. Role of oxidative stress in depression. **Drug Discovery Today**, [S.L.], v. 25, n. 7, p. 1270-1276, jul. 2020.

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

BORBA, L. de O. et al., Perfil do portador de transtorno mental em tratamento no centro de atenção psicossocial (CAPS). **Revista Mineira de Enfermagem**. v. 21, 2017.

BORGES FILHO, C. **Avaliação da bioatividade do flavonóide crisina em camundongos submetidos ao estresse crônico moderado e imprevisível**. 2014. 113 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Pampa, Rio Grande do Sul, 2014.

BOTELHO, M. A. et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 3, p. 349-356, 2007.

BOURIN, M. Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 17, n. 3, p. 295-303, 2015.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei no 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política e Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos** / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, p.190, 2016.

BRUGNERA, A. et al. Cortical and cardiovascular responses to acute stressors and their relations with psychological distress. **International Journal of Psychophysiology**, v. 114, p. 38-46, 2017.

CAMELO, A. E. M.; DINELLY, C. M. N.; OLIVEIRA, M. A. S. Psicotrópicos: perfil de prescrições de benzodiazepínicos, antidepressivos e anorexígenos a partir de uma revisão sistemática. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 13, n. 3, p. 111-122, 2016.

CARDOSO, N. A. Efeitos comportamentais e neuroquímicos do beta-cariofileno em modelos experimentais de ansiedade e depressão em camundongos. 2018. 110f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2018.

CARHART-HARRIS, R.I.; NUTT, D. J. Serotonin and brain function: a tale of two receptors. **Journal of Psychopharmacology**, [S.L.], v. 31, n. 9, p. 1091-1120, 31 ago. 2017.

CASSELLI, D. D. N. et al. Comorbidity between depression, anxiety and obesity and treatment complications. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. e16210111489, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i1.11489. Disponível em: <https://www.rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/11489>. Acesso em: 17 jan. 2021.

CASTRO, C. R. et al. Reversal effect of Riparin IV in depression and anxiety caused by corticosterone chronic administration in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 2019.

CENTER FOR BEHAVIORAL HEALTH STATISTICS AND QUALITY. **Key substance use and mental health indicators in the United States: Results from the 2015 National Survey on Drug Use and Health**. 2016. Disponível em: <https://www.samhsa.gov/data/sites/default/files/NSDUH-FFR1-2015/NSDUH-FFR1-2015/NSDUH-FFR1-2015.pdf>. Acesso em 12 abr. 2019.

CHAN, E. W. C.; WONG, S. K.; CHAN, H. T. Alpinia zerumbet, a ginger plant with a multitude of medicinal properties: An update on its research findings. *中国药学 (英文版)*, v. 26, n. 11, p. 775-788, 2017.

CHAVAN, P. S.; TUPE, S. G. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. *Food Control*, v. 46, p. 115-120, 2014.

CHAUDHURY, D.; LIU, H.; HAN, M. Neuronal correlates of depression. *Journal Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 72, n. 24, p. 4825-4848, 2015.

CHEN, H.; LOMBÈS, M.; MENUET, D. L. Glucocorticoid receptor represses brain-derived neurotrophic factor expression in neuron-like cells. *Molecular Brain*, v. 10, n. 12, 2017.

CHENG, J. et al. Magnolol abrogates chronic mild stress-induced depressive-like behaviors by inhibiting neuroinflammation and oxidative stress in the prefrontal cortex of mice. *International Journal of Immunopharmacology*, v. 59, p. 61-67, 2018.

CHOCKALINGAM, R.; GOTT, B. M.; CONWAY, C. R. Tricyclic Antidepressants and Monoamine Oxidase Inhibitors: are they too old for a new look? *Antidepressants*, [S.L.], v. 250, n. 1, p. 37-48, 14 ago. 2018.

CHORRILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. v. 28, n. 1, p. 11-23, 2007.

COLLA, A. R. S. **Efeito tipo-antidepressivo de espécies do gênero *Eugenia* L. e envolvimento dos sistemas monoaminérgicos na ação de *Eugenia brasiliensis* Lamarck no teste de suspensão pela cauda em camundongos.** 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

COMASSETTO, M. E. et al. Sintomas Depressivos-Causas e Efeitos em Jovens De Escolas De Sapucaia Do Sul. *Revista Thema*, v. 15, n. 4, p. 1486-1492, 2018.

CRYAN, J. F.; HOLMES, A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature Review Drug Discovery*, v. 4, n. 9, p. 775-790, 2005.

CUSTÓDIO, F. R. **Efeito antidepressivo e ansiolítico do carvacrol em modelos comportamentais em camundongos.** 83f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Ceará, Sobral-CE, 2019.

CZÉH, B. et al. Animal models of major depression and their clinical implications. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 64, v. 1, p 293-310, 2016.

DA SILVA SANTOS, C. H; PICCOLI, R. H; TEBALDI, V. M. R. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 76, p. 1719, 2017.

DAI, C. X. *et al.* Role of Ginkgo biloba extract as an adjunctive treatment of elderly patients with depression and on the expression of serum S100B. *Medicine*, [S.L.], v. 97, n. 39, p. e12421, set. 2018.

DALE, E.; BANG-ANDERSEN, B.; SANCHEZ, C. Emerging mechanisms and treatments for depression beyond SSRIs and SNRIs. **Biochemical Pharmacology**, v. 95, n. 2, p. 81-97, 2015.

DALMIZRAK, O. et al. The Relevance of Glutathione Reductase Inhibition by Fluoxetine to Human Health and Disease: Insights Derived from a Combined Kinetic and Docking Study. **The Protein Journal**, p. 1-10, 2019.

DANTZER, R. et al. Inflammation-associated depression: From serotonin to kynurenine. **Psychoneuroendocrinology**. v. 36, p. 426-436, 2011.

DE ANDRADE, T. A. S. et al. LARVICIDAL ACTIVITY OF *Caesalpinia ferrea* MART. AND *Lippia origanoides* CHAM. AGAINST *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE). **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, v. 49, n. 1, p. 45-54, 20 Apr. 2020.

DE VINCENZI, M. et al. Constituents of aromatic plants: carvacrol. **Fitoterapia**, v. 75, n. 7-8, p. 801-804, 2004.

DEUS, L. A. et al. Associação entre a variabilidade da frequência cardíaca e o estresse oxidativo: o papel do exercício. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício (RBPFE)**, v. 11, n. 66, p. 366-376, 2017.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as an index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**. v.186, p. 421-431, 1990.

DROBISZ, D.; DAMBORSKÁ, A. Deep brain stimulation targets for treating depression. **Behavioural Brain Research**. v. 359, p. 266-273, 2019.

DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 12, p. 1116-1127, 2006.

ELIWA, H.; BELZUNG, C.; SURGET, A. Adult hippocampal neurogenesis: Is it the alpha and omega of antidepressant action? **Biochemical Pharmacology**, v. 141, p. 86-99, 2017.

ELLUL, P. et al., Interleukin-1  $\beta$ -targeted treatment strategies in inflammatory depression: toward personalized care. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 134, n. 6, p. 469-484, 2016.

ENTZEROTH, M.; RATTY, A. K.. Monoamine Oxidase Inhibitors: revisiting a therapeutic principle. **Open Journal of Depression**, [S.L.], v. 06, n. 02, p. 31-68, 03 abr. 2017.

FACCINI, A. M. *et al.* INFLUÊNCIA DO ESTRESSE NA IMUNIDADE: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos**, [S.I.], v. 15, n. 3, p. 64-71, dez. 2020.

FAHMY, N. M. *et al.* Alkaloids of genus *Erythrina*: an updated review. **Natural Product Research**, [S.L.], v. 34, n. 13, p. 1891-1912, 21 jun. 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2018.1564300>. Acesso em: 12 jan. 2021.

FERNANDEZ-PUJALS, A. M. et al. Epidemiology and Heritability of Major Depressive

Disorder, Stratified by Age of Onset, Sex, and Illness Course in Generation Scotland: Scottish Family Health Study (GS:SFHS). **PLOS ONE** V. 10, n. 11 p. e0142197, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142197>>. Acesso em: 14 abr. 2019.

FERRARI, F; VILLA, R. F.. The Neurobiology of Depression: an integrated overview from biological theories to clinical evidence. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 54, n. 7, p. 4847-4865, 10 ago. 2016.

FERREIRA, C. A. G. **Estresse, Qualidade de Vida e Adoecimento**. 2018. 21 f. TCC (Doutorado) - Curso de Psicologia, Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Brasília, 2018. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/235/12370/1/21503221.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2021.

FIGUÊIREDO, F. R. S. D. N. et al. Effects of the *Hyptis martiusii* Benth. leaf essential oil and 1,8-cineole (eucalyptol) on the central nervous system of mice. **Food and Chemical Toxicology**, [S.L.], v. 133, n. 1, p. 110802, 05 set. 2019.

FLORES-RAMOS, Mónica et al. The role of gamma-aminobutyric acid in female depression. **Gaceta Médica de México**, v. 153, n. 4, p. 486-95, 2017.

FUSAR-POLI, L. *et al.* Curcumin for depression: a meta-analysis. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S.L.], v. 60, n. 15, p. 2643-2653, 19 ago. 2019.

GALDINO, P. M. et al. Involvement of monoaminergic systems in the antidepressant-like properties of *Lafoensia pacari* A. St. Hil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 170, n. 1, p. 218-225, 2015.

GALEA, L. A. et al. Sex differences in dendritic atrophy in response to chronic restraint stress. **Neuroscience** 81, 689–697, 1997.

GAWRYLUK, J. W. et al. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. **Int J Neuropsychopharmacol.** v. 14(1), p. 123-30, 2011.

GLEZER, I. et al. O fator de transcrição NF-kB nos mecanismos moleculares de ação de psicofármacos. **Revista Brasileira de Psiquiatria.** v. 22, n. 1, p. 26-30, 2000.

GODLEWSKA, B. R.; NEAR, J.; COWEN, P. J. Neurochemistry of major depression: a study using magnetic resonance spectroscopy. **Psychopharmacology**, 232(3), 501–507, 2015.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011.

GONÇALVES, A. M. C. et al. Prevalence of depression and associated factors in women covered by Family Health Strategy. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 67, n. 2, p. 101-109, 2018.

GREEN, L. C. et al. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**. v. 212, p. 56-58, 1981.

GUIMARÃES, L. G. L. et al. Óleo essencial de *Lippia sidoides* nativas de Minas Gerais: Composição, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 267-275, 2014.

GULYAEVA, N. V. Interplay between Brain BDNF and Glutamatergic Systems: A Brief State of the Evidence and Association with the Pathogenesis of Depression. **Biochemistry (Moscow) Contents**, v. 3, n. 1, 2016.

GREGUS et al. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. **Behavioural brain research**. 156. 105-14. 2005.

HAKIMI, Z. et al. Protective Effects of Carvacrol on Brain Tissue Inflammation and Oxidative Stress as well as Learning and Memory in Lipopolysaccharide-Challenged Rats. **Neurotox Res**. 37(4):965-976, 2020.

HAMZEHLOEI, L.; REZVANI, M. E.; RAJAEI, Z. Effects of carvacrol and physical exercise on motor and memory impairments associated with Parkinson's disease. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, São Paulo, v. 77, n. 7, p. 493-500, jul., 2019.

HAN, M.; NESTLER, E. J. Neural Substrates of Depression and Resilience. **Neurotherapeutics**, p. 1-10, 2017.

HARIRI, A.T. et al. Sub-acute effects of diazinon on biochemical indices and specific biomarkers in rats: protective effects of crocin and safranal. **Food Chem Toxicol**. 48(10):2803-8, 2010.

HASENCLEVER, L. et al. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 2559-2569, 2017.

HILAL-DANDAN, R.; BRUNTON, L. L. Manual de Farmacologia e Terapêutica de Goodman & Gilman. 2. ed. Porto Alegre: AMGH Editora, 2015, 1204 p.

HOLSBOER, F.; ISING, M. Stress hormone regulation: biological role and translation into therapy. **Annual review of psychology**, v. 61, p. 81-109, 2010.

HUACHO, P. M. M. **Descontaminação de superfícies de titânio com Terpinen-4-ol e Carvacrol**: estudo in vitro das propriedades físico-química, antimicrobiana e citotóxica. 2018. 113 f. Tese (Doutorado) - Curso de Odontologia, Implantodontia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2018.

IBANEZ, G. et al. Adesão e dificuldades relacionadas ao tratamento medicamentoso em pacientes com depressão. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 67, n. 4, p. 556-562, 2014.

IJAZ, S. et al. Psychological therapies for treatment-resistant depression in adults. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 5, p. 1-80, 2018.

JEONG, H. G. et al. Effect of Korean Red Ginseng as an adjuvant treatment for women with residual symptoms of major depression. **Asia-Pacific Psychiatry**, v. 7, n. 3, p. 330-336, 2015.

JESULOLA, E.; MICALOS, P.; BAGULEY, I. J. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model-are we there yet? **Behavioural brain research**, v. 341, p. 79-90, 2018.

KATO, M.; Serretti, A. Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. **Mol Psychiatry** 15, 473–500, 2010.

KAHAN, H.; AMIN, S.; PATEL, S, Targeting BDNF modulation by plant glycosides as a novel therapeutic strategy in the treatment of depression. **Life Sciences**, v. 196, p. 18-27, 2018.

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

KHAN, I. et al. Carvacrol inhibits cytochrome P450 and protects against binge alcohol-induced liver toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 131, set., 2019.

KIM, Y.; WON, E. The influence of stress on neuroinflammation and alterations in brain structure and function in major depressive disorder. **Behavioural Brain Research**, v. 329, p. 6-11, 2017.

LAM, R. W. et al. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) 2016 Clinical Guidelines for the Management of Adults with Major Depressive Disorder: Section 1. Disease Burden and Principles of Care. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 61, n. 9, p. 1–14, 2016.

LAUREANO, D. P. Avaliação do impacto da manipulação neonatal no comportamento de ratas ovariectomizadas. Curso de Enfermagem, Escola de Enfermagem, **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, TCC (Graduação), p. 49, 2010.

LEÃO, A. M. et al. Prevalência e Fatores Associados à Depressão e Ansiedade entre Estudantes Universitários da Área da Saúde de um Grande Centro Urbano do Nordeste do Brasil Prevalence and Factors Associated with. **REVISTA BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO MÉDICA**, v. 42, n. 4, p. 55-65, 2018.

LEDAY, G. G. R. et al. Replicable and coupled changes in innate and adaptive immune gene expression in two case-control studies of blood microarrays in major depressive disorder. **Biological psychiatry**, v. 83, n. 1, p. 70-80, 2018.

LEE, K. P. et al. Carvacrol inhibits atherosclerotic neointima formation by downregulating reactive oxygen species production in vascular smooth muscle cells. **Atherosclerosis**, v. 240, n. 2, p. 367-373, 2015.

LEVER, C.; BURTON, S.; O'KEEFE, J. Rearing on hind legs, environmental novelty, and the hippocampal formation. **Rev. Neurosci**, v. 17, n. 1, p. 111–133, 2006.

LIMA, L. S. AVALIAÇÃO DO EFEITO DO COMPOSTO (O-Metil)-N-(2,6-Diidroxibenzoil)- tiramina (RIPARINA III) DA PLANTA *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) SOBRE A MORFOGÊNESE DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM EMBRIÃO DE *Gallus gallus*. 2017. 48 f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Programa de

Pós-Graduação em Morfotecnologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017. Disponível em:  
<https://attena.ufpe.br/bitstream/123456789/25442/1/DISSERTA%c3%87%c3%83O%20Luciano%20Souza%20de%20Lima.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2021.

LIN S.H. et al. A medicinal herb, *Melissa officinalis* L. ameliorates depressive-like behavior of rats in the forced swimming test via regulating the serotonergic neurotransmitter. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 175, p. 266-272, 2015.

LINDQVIST, D. *et al.* Oxidative stress, inflammation and treatment response in major depression. **Psychoneuroendocrinology**, [S.L.], v. 76, n. 1, p. 197-205, fev. 2017.

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, H. et al. Neuroprotective effects of trans-caryophyllene against kainic acid induced seizure activity and oxidative stress in mice. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 1, p. 118-123, 2015.

LLANA-RUIZ-CABELLO, M. et al. *In vitro* pro-oxidant/antioxidant role of carvacrol, thymol and their mixture in the intestinal Caco-2 cell line. **Toxicology in Vitro**, v. 29, n. 4, p. 647-656, 2015.

LUKIC, I. et al. Antidepressants affect gut microbiota and *Ruminococcus flavefaciens* is able to abolish their effects on depressive-like behavior. **Translational psychiatry**, v. 9, n. 1, p. 133, 2019.

MAES, M. et al. Lower whole blood glutathione peroxidase (GPX) activity in depression, but not in myalgic encephalomyelitis / chronic fatigue syndrome: another pathway that may be associated with coronary artery disease and neuroprogression in depression. **Neuroendocrinology letters**, 32(2), 133–140, 2011.

MAHAR, I. et al. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 38, n. 1, p.173-192, 2014.

MAJOLO, Cláudia *et al.* Atividade antibacteriana do óleo essencial e extratos de *Lippia zidoides* (Cham.) Verbenaceae e do timol frente à *Aeromonas hydrophila*. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 10, n. 2, p. 46-49, jan. 2020.

MARINELLI, Lisa; STEFANO, Antonio di; CACCIATORE, Ivana. Carvacrol and its derivatives as antibacterial agents. **Phytochemistry Reviews**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 903-921, 16 abr. 2018.

MATTOS, G. et al. Plantas medicinais e fitoterápicos na Atenção Primária em Saúde: percepção dos profissionais. **Ciência & Saúde Coletiva** [online]. 2018, v. 23, n. 11 [Acessado 18 Janeiro 2021], pp. 3735-3744.

- MAZIDI, M. et al. A double-blind, randomized and placebo-controlled trial of Saffron (*Crocus sativus* L.) in the treatment of anxiety and depression. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 13, n. 2, p. 195-199, 2016.
- MELO F. H. et al. Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. **Fundam Clin Pharmacol**. Aug; v. 24, n. 4 p. 437-43, 2010.
- MELO, F. H. C. et al. Antidepressant-like effect of carvacrol (5-Isopropyl-2-methylphenol) in mice: Involvement of dopaminergic system. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 25, n. 3, p. 362-367, 2011.
- MELO, F. H. C. **Investigação de possíveis mecanismos de ação ansiolítico, antidepressivo e antinociceptivo do carvacrol em camundongos: estudos comportamentais, neuroquímicos e participação do estresse oxidativo**. 2014. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2014.
- MIRANDA, D. O. **Correlação entre produção de citocinas, depressão e ansiedade em pacientes com câncer colorretal em diferentes estágios da terapia antitumoral**. 2014. 72f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.
- MONTEIRO, L. B. **Depressão: mecanismos envolvidos, farmacoterapia e o papel do SUS**. 2016. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2016.
- NESTLER, E. J. et al. Neurobiology of depression. **Neuron**, v. 34, n. 1, p. 13-35, 2002.
- NEVES, A. L. A. **Tratamento farmacológico da depressão**. 2015. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.
- OBESO, J. A., LANCIEGO, J. L. Past, present, and future of the pathophysiological model of the Basal Ganglia. **Frontiers in neuroanatomy**, v. 5, p. 39., 2011.
- OLIVEIRA, D. R. **Avaliação da atividade tipo antidepressiva do óleo essencial das folhas de *Spiranthera odoratissima* A. ST. -HIL. e de seu componente majoritário,  $\beta$ -cariofileno**. 2016. 123 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.
- OLIVEIRA, P. L. N. **Investigação do potencial antidepressivo do *Croton zehntneri* Pax et Hoffm. em camundongos**. 2013. Monografia. Graduação em Farmácia. Instituto Superior de Teologia Aplicada, Sobral-CE, 2013.
- PALTA, P. et al. Depression and oxidative stress: results from a meta-analysis of observational studies. **Psychosomatic Medicine**, v. 76, n. 1, p. 12-19, 2014.
- PARAVENTI, F.; CHAVES, A. C. (org.). **Manual de Psiquiatria Clínica**. [S.I.]: Rocca, 2016. 336 p.

- PARENTE, M. S. R. *et al.* Antidepressant-Like Effect of *Lippia sidoides* CHAM (Verbenaceae) Essential Oil and Its Major Compound Thymol in Mice. **Scientia Pharmaceutica**, [S.L.], v. 86, n. 3, p. 1-19, 27 jun. 2018.
- PAULA, L. H.; ORTIZ, L. A Influência da depressão dos docentes em sua prática pedagógica no Ensino Fundamental de duas escolas Municipais da cidade de Santos-São Paulo– Brasil. **Revista Científica de Iniciación a la Investigación**, v. 3, n. 2, 2018.
- PAZINI, F. L. **Vias de sinalização implicadas no efeito anti-depressivo induzido pela administração aguda de creatina e cetamina em um modelo de depressão**. 2013. 149 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.
- PEREIRA, M. D. *et al.* O EMPREGO DE SUBSTÂNCIAS DE ORIGEM VEGETAL NO TRATAMENTO DE DOENÇAS RESPIRATÓRIAS CRÔNICAS. **Revista InterSaúde**, [S.l.], v. 1, n. 2, p. 61-78, apr. 2020. ISSN 2674-869X. Disponível em: <[http://revista.fundacaojau.edu.br:8078/journal/index.php/revista\\_intersaude/article/view/124](http://revista.fundacaojau.edu.br:8078/journal/index.php/revista_intersaude/article/view/124)>. Acesso em: 13 jan. 2021.
- PERVIZ, S.; KHAN, H.; PERVAIZ, A. Plant Alkaloids as an Emerging Therapeutic Alternative for the Treatment of Depression. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, n. 28, 2016.
- PHILLIPS, C. Brain-Derived Neurotrophic Factor, Depression, and Physical Activity: Making the Neuroplastic Connection. **Neural Plasticity**, v. 2017, p. 1-17, 2017.
- PINTO, A. M. V. R. A. **A depressão na perspectiva da neuroinflamação**. 2014. 1 v. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10451/23848>. Acesso em: 12 jan. 2021.
- PORSOLT, R. D. *et al.* Depressão: um novo modelo animal sensível a tratamentos com antidepressivos. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.
- RAI, M. *et al.* Potencial antimicrobiano sinérgico de óleos essenciais em combinação com nanopartículas: tendências emergentes e perspectivas futuras. **Int. J. Pharm.** v. 519, p. 67-68, 2017.
- RANG, H. P. *et al.* **Rang & Dale Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2011.
- REINER G. N., LABUCKAS D. O., GARCI'A D. A. Lipophilicity of some GABAergic phenols and related compounds determined by HPLC and partition coefficients in different systems. **J. Pharmaceut. Biomed. An.** 49 686–691, 2009.
- ROBLEDO, P. *et al.* Genetically modified mice as tools to understand the neurobiological substrates of depression. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20, n. 23, p. 3718-3737, 2014.
- RODRIGUES, R.; PETERSEN, R. B.; PERRY, G. Parallels between Major Depressive Disorder and Alzheimer's Disease: role of oxidative stress and genetic vulnerability. **Celular and Molecular Neurobiology**, v. 34, n. 7, p. 925-949, 2014.
- SADOCK B. J, SADOCK V. A. **Compêndio de psiquiatria: ciência do comportamento e psiquiatria clínica**. 9ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2007.

SANTOS, A. G. **Avaliação do efeito do tratamento com o extrato de Passiflora alata no modelo animal de doença de Parkinson induzido por 6-hidroxidopamina**. 2018, 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

SANTOS, Patrícia Ferreira da Costa Ramos dos. **Neuroinflamação e a Depressão: novas abordagens terapêuticas no horizonte?**. 2019. 33 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Faculdade de Medicina da Lisboa, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/43547/1/PatriciaFSantos.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2021.

SARRIS, J. et al. Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence. **European Neuropsychopharmacology**, v. 21, n. 12, p. 841-860, 2018.

SCHATZBERG, A. F.; DEBATTISTA, C. **Manual de Psicofarmacologia Clínica**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, p.495, 2016.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissues with Ellman reagents. **Analytical Biochemistry**. v. 25, p. 192-205, 1988.

SHAFIEE, M. et al. Saffron in the treatment of depression, anxiety and other mental disorders: Current evidence and potential mechanisms. **Journal of Affective Disorders**, v. 227, p. 330-337, 2018.

SHARIFI-RAD, Mehdi *et al.* Carvacrol and human health: a comprehensive review. **Phytotherapy Research**, [S.L.], v. 32, n. 9, p. 1675-1687, 9 mai., 2018.

SHIN, J. J.; SAADABADI, A. Trazodone. **StatPearls Publishing**, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470560/>>. Acesso em: 23 abr. 2019.

SILVA, F. R. O. **Efeito espasmolítico do Óleo essencial de *Lippia sidoides* e do Carvacrol no músculo liso de fundo de estômago de rato: investigação da participação dos canais de cálcio operados por voltagens**. 2019. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

SILVA, M. T. et al. Prevalence of depression morbidity among Brazilian adults: a systematic review and meta-analysis. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 36, n. 3, p. 262-270, 2014.

SILVA, R. S. *et al.* Antimicrobial activity of *Lippia gracilis* essential oils on the plant pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and their effect on membrane integrity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S.L.], v. 160, p. 40-48, out. 2019.

SIMÕES, Isabel Fragoso. **Administração Intranasal de Antidepressivos e Antipsicóticos: realidade pré-clínica e clínica**. 2018. 66 f. Monografia (Especialização) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2018. Disponível em: <https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/84621/1/Isabel%20Simo%cc%83es%20-%20Monografia%20%2b%20Relat%cc%83rios.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2021.

- SLATTERY et al. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nature protocols** 7.6: 1009-1014. 2012.
- SLAVICH, G.M., IRWIN, M.R. From stress to inflammation and major depressive disorder: A social signal transduction theory of depression. **Psychol. Bull.** V. 140, p. 774–815, 2014.
- SMITH, H. R. Depression in cancer patients: Pathogenesis, implications and treatment (Review). **Oncology Letters**, v. 9, n. 4, p. 1509-1514, 2015.
- SONAVANE G.S. et al. Anxiogenic activity of *Myristica fragrans* seeds. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 71 239–244. 2002.
- SOUSA, J. S. P. **Epidemiologia, etiopatogenia, diagnóstico e tratamento farmacológico da depressão em Portugal.** 2015. 84f Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.
- SOUSA, R. T. **Fisiopatologia do transtorno de humor bipolar e efeito do tratamento com lítio: enfoque em neuroproteção e disfunção mitocondrial.** 2014. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- SOUZA K. A, et al. Prevalência de sintomas de depressão em idosos assistidos pela estratégia de saúde da família. **Revista Mineira de Enfermagem**, v. 21, n. 2, p. 82-93, 2017.
- SOUZA, L. H. **Depressão de difícil tratamento: validadores para classificação e resposta à terapia interpessoal.** 2015. 106 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas Psiquiatria) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
- STAHL, S. M. **Psicofarmacologia: bases neurocientíficas e aplicações práticas.** 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
- 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, p. 170-180, 2015.
- SUNTRES, Z. E.; COCCIMIGLIO, J.; ALIPOUR, M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 3, p. 304-318, 2015.
- TALAROWSKA, M.; SZEMRAJ. J.; GALECKI, P. The role of interleukin genes in the course of depression. **Open Medicine**, v. 11, n. 1, p. 41-48, 2016.
- TALITA, P. S. F. *et al.* Fungistatic activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. against *Curvularia lunata*. **African Journal of Agricultural Research**, [S.L.], v. 13, n. 14, p. 704-713, 5 abr. 2018. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-full-text-pdf/968B38256577>. Acesso em: 13 jan. 2021.
- TATEM, K. S. et al. Behavioral and Locomotor Measurements Using an Open Field Activity Monitoring System for Skeletal Muscle Diseases. **Journal of Visualized Experiments**. v. 91, e51785, p. 1-7, 2014.

TEIXEIRA, C. P. L. **Efeito antidepressivo da riparina II: mecanismo de ação através das alterações comportamentais, neuroquímicas e do estresse oxidativo.** 2013. 175 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

VALENTIM, J. T. **Efeito do carvacrol na reversão de alterações comportamentais e neuroquímicas induzidas pelo estresse crônico imprevisível.** 79 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

VASCONCELOS, A. S. **Efeito antidepressivo da riparina III em camundongos submetidos ao modelo de estresse induzido pela administração de corticosterona.** 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza-CE, 2015.

VASCONCELOS, A.S. et al. Subchronic administration of riparin III induces antidepressivelike effects and increases BDNF levels in the mouse hippocampus. **Fundamental & clinical pharmacology**, 29, 394–40, 2015.

VELOSO, L. O. **Serotonina n-acetiltransferase: Um estudo bioinformático.** 2018. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2018.

VENTURA, A. S. *et al.* Características do anestésico alternativo de erva cidreira (*Lippia alba*) e alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) em peixes. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 416-428, 23 abr. 2019. Disponível em: <http://200.17.137.114/index.php/medicinaveterinaria/article/view/3304>. Acesso em: 13 jan. 2021.

WILLNER, P.; SCHEEL-KRÜGER, J.; BELZUNG, C. The neurobiology of depression and antidepressant action. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 10, p. 2331-2371, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates.** 2017. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254610/1/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf>>. Acesso em 07 mar. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression.** 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>>. Acesso em 09 abr. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision – ICD-10.** 2016. Disponível em: <<http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>>. Acesso em: 09 abr. 2019.

XIMENES, C. R.; NEVES, G. M. B. Transtorno de Ansiedade: importância da avaliação psicológica no diagnóstico e tratamento. **Revista UNI-RN**, v. 18, n. 1/2, p. 121-138, 2018.

YANKELEVITCH-YAHAV, R. et al. The Forced Swim Test as a Model of Depressive-like Behavior. **Journal of Visualized Experiments**, (97). 2015.

YEUNG, K. S. et al. Herbal medicine for depression and anxiety: A systematic review with assessment of potential psycho-oncologic relevance. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 5, p. 865-891, 2018.

ZAGO, L. de M. S; DE MOURA, M. E. P. Vinte e dois anos de pesquisa sobre plantas medicinais: uma análise cienciométrica. **Tecnia**, v. 3, n. 1, p. 173, 2018.

ZHANG, L. *et al.* Ginkgo biloba Extract Reduces Hippocampus Inflammatory Responses, Improves Cardiac Functions and Depressive Behaviors In A Heart Failure Mouse Model. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, [S.L.], v. 15, p. 3041-3050, out. 2019.

ZHANG, Y. et al. Crassifoside H improve the depressive-like behavior of rats under chronic unpredictable mild stress: Possible involved mechanisms. **Brain Research Bulletin**, v. 135, p. 77-84, 2017.

ZHAO, Y. et al. A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections. **European Journal of Pharmacology**. 581, 113–120, 2008.

ZHU, L. et al. The Different Roles of Glucocorticoids in the Hippocampus and Hypothalamus in Chronic Stress-Induced HPA Axis Hyperactivity. **Plos One**, v. 9, n. 5, p. 1-14, 2014.

ZU, X. et al. Antidepressant-like Effect of Bacopaside I in Mice Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress by Modulating the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function and Activating BDNF Signaling Pathway. **Neurochemical Research**, v. 42, n. 11, p. 3233-3244, 2017.

## ANEXO I – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal do Ceará – *Campus Sobral*  
 Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA  
 Rua: Av. Comte. Maurocéllo Rocha Pontes, 100, Derby  
 CEP: 62.042-280 Sobral-CE  
 Fone/Fax: (88) 3611.8000

### CERTIFICADO

Certificamos que o adendo da proposta intitulada: **Estudo da atividade antidepressiva do carvacrol em modelo de depressão induzida pela corticosterona em camundongos**, registrada com o nº **08/17**, sob a responsabilidade do **Profa. Dra. Carla Thiciane Vasconcelos de Melo** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) *Campus Sobral*, em reunião de 13/08/2019.

Finalidade	( ) Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2019 até 01/09/2021
Espécie/linhagem/raça	Camundongos Swiss
Nº de animais	90 do projeto inicial e 30 do adendo – Total 120
Peso/Idade	Camundongos: 20-25g
Sexo	♂ Machos
Origem	Biotério Central de Fortaleza

Sobral, 04 de setembro de 2019.

Prof. Dra. Lissiana Magna Vasconcelos Aguiar  
 Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA