



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**VICTOR CELSO CAVALCANTI CAPIBARIBE**

**POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO DO TIMOL: EFEITOS SOBRE OS NÍVEIS DO  
FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) NO MODELO DE  
ESTRESSE CRÔNICO INDUZIDO POR CORTICOSTERONA EM  
CAMUNDONGOS**

**FORTALEZA-CE**

**2018**

**VICTOR CELSO CAVALCANTI CAPIBARIBE**

**POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO DO TIMOL: EFEITOS SOBRE OS NÍVEIS DO  
FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) NO MODELO DE  
ESTRESSE CRÔNICO INDUZIDO POR CORTICOSTERONA EM  
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa

**FORTALEZA-CE**

**2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo autor

- 
- C242p Capibaribe, Victor Celso Cavalcanti.  
Potencial Antidepressivo Do Timol: Efeitos Sobre Os Níveis Do Fator Neurotrófico Derivado Do Cérebro (Bdnf) No Modelo De Estresse Crônico Induzido Por Corticosterona Em Camundongos / Victor Celso Cavalcanti Capibaribe. – 2018.  
81 f.: il. color.,  
Dissertação (mestrado). – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Mestrado em Farmacologia, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa.  
1. Timol. 2. Depressão. 3. BDNF. 4. Antidepressivo

---

CDD 615.1

**VICTOR CELSO CAVALCANTI CAPIBARIBE**

**POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO DO TIMOL: EFEITOS SOBRE OS NÍVEIS DO  
FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) NO MODELO DE  
ESTRESSE CRÔNICO INDUZIDO POR CORTICOSTERONA EM  
CAMUNDONGOS**

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

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa**  
**Universidade Federal do Ceará - UFC**

---

**Prof. Dr. Expedito Rogildo Cordeiro Carlos**  
**Universidade de Fortaleza - UNIFOR**

---

**Prof. Dr. Flávio Nogueira da Costa**  
**Centro Universitário Católica de Quixadá - UNICATÓLICA**

À Glória do Grande Arquiteto do  
Universo, aos meus pais e a minha  
família.

[...] So understand  
Don't waste your time always  
searching for those wasted years.  
Face up, make your stand. And  
realize you're living in the Golden  
Years [...]

(Iron Maiden)

## AGRADECIMENTOS

A realização deste sonho eu ofereço ao Grande Arquiteto do Universo, que me presenteou com momentos maravilhosos dentro do laboratório. Agradeço pela oportunidade de pesquisar e contribuir para a comunidade científica. Por Ele e para Ele, hoje e sempre!

À minha Mãe, Tereza Cavalcanti, uma guerreira sem igual, que acredita e luta por mim sempre. Não seria metade do homem que sou hoje sem seus conselhos, sem a sua parcimônia e a sua dedicação. Este trabalho é fruto de uma vida materna dedicada a mim e com ele eu mostro o quanto estou agradecido pelo apoio e amor que a Senhora me proveu. A Senhora é minha heroína, minha Mulher Maravilha. Insubstituível, Inabalável e Imortal são três palavras que definem o meu amor pela Senhora. Muito obrigado!

Ao meu pai, Afonso Celso, pelo exemplo de pai, de médico, de homem e de cidadão. Sua falta na minha vida é incontestável papai, gostaria que o senhor estivesse presente, em vida, nos momentos de vitória e luta que passei. Sei que nunca soltou a minha mão e que nunca irá soltar. Agradeço por todos os sacrifícios, beijos e abraços! Se a minha mãe é a Mulher Maravilha, você, com certeza, é o meu Lanterna Verde!

Aos meus irmãos, Almir e Milena, por todo o apoio, conselhos e conversas sobre o futuro, por acreditarem em mim, no meu potencial e na minha vida como Farmacêutico e Professor. Todas as palavras de vocês, abraços e sorrisos estão gravados no meu coração, podem ter certeza disso. Me orgulho de fazer parte desta família tão unida fundamentada no amor. À vocês, meu muito obrigado!

Dedico as minhas segundas mães, Tia Nely e Tia Krmely por terem feito parte de todos os meus passos, desde o ensino fundamental ao ensino superior e, por fim, na pós-graduação. Por todos os momentos, todos os sorrisos e todos os conselhos, vocês são meus alicerces, um exemplo de união e prova que o amor consegue superar qualquer barreira. Não poderia ter nascido em uma família melhor, afinal, a minha é a melhor do mundo! Obrigado!

À minha melhor amiga, minha irmã, minha confidente, minha companheira de vida, Auriana Vasconcelos. Uma mulher sem igual que me acolheu de uma forma ímpar e acreditou em mim sempre. Deixo registrado aqui a certeza de que Deus a colocou na minha vida como um Anjo da Guarda, olhando por cada passo que eu dei nessa estrada. A ela também devo a realização do meu sonho, pois foi a responsável pelo encontro com a minha mãe científica, a professora Cléa Florenço.

O que falar da minha mãe científica... um exemplo de profissional, de carisma, de ciência e, claro, de mãe. Todos nós nos sentimos acolhidos pela sua aura de luz que envolve todo o laboratório! Obrigado por ter acreditado em mim e na minha competência, obrigado por tornar o meu sonho realidade, obrigado por me deixar fazer parte do #NeuroTeam e do #TeamCléa! Prometo que não vou lhe decepcionar!

Gostaria de agradecer a todos os envolvidos no laboratório, pois sem a ajuda deles não teria conseguido elaborar, trabalhar e escrever a presente pesquisa. Obrigado Lena, Vila, Luciana, Natália, Raquell, Mariana Fernandes, Iris Cristina e aos ICs mais competentes que a Farmacologia poderia ter: Tiago, Daniel, Mariana e João Victor! Gostaria também de agradecer em especial a Iardja, por todo apoio durante o processo seletivo do mestrado, durante os experimentos e até na defesa, muito obrigado!

Ao Adriano Maia por toda a paciência e dedicação em fazer esta pesquisa acontecer. Por todos os conselhos e ideias que partilhamos, meu muito obrigado!

Ao meu irmão Diego Falcão por mais de 25 anos de amizade, apoio, dedicação companheirismo e mais pura irmandade! Obrigado por ter me feito “enxergar a luz” e ter sido responsável pela maior mudança na minha vida! Dedico também essa pesquisa meu irmão! Muito Obrigado! Estarei sempre de pé e a ordem por você!

Aos professores Flávio Nogueira, Rogildo Carlos e Jair Mafezoli, pelos exemplos de profissionais e dedicação com a docência. Espelho-me muito em vocês e graças a isso que enveredo pela vida acadêmica hoje. Obrigado por serem esta inspiração para mim.

A banca examinadora de qualificação, que aceitou de muito bom grado, muito obrigado professora Mary Anne e Marta, por terem aceito o convite! Gostaria de agradecer em especial a professora Arlândia por ser esta farmacologista de ponta que me incentivou desde a UNIFOR a ser um excelente profissional.

Aos professores da UNIFOR e da UFC que fizeram parte da minha vida, me ajudando e formando o profissional que hoje eu sou.

A banda Iron Maiden por ter sido autora de todas as músicas que me proporcionaram momentos únicos na construção desta dissertação. Thank you very much! Up The Irons!

Aos meus irmãos do peito Douglas Loureiro, Mario Lopes e David Bolinelson, por todos os risos, as descontrações, incentivos e músicas tocadas juntos. Não estaria aqui sem a presença de vocês meus irmãos, muito obrigado!

Ao meu irmão George Rolim por todos os conselhos e apoio que você tem me dado. Nossa amizade é imortal, pode ter certeza disso!



Aos meus amigos Tiago Costa e Isaque Marques por todos os conselhos, todos os puxões de orelha e por todas as vezes que me incentivaram a ingressar na vida acadêmica, meu muito obrigado pra vocês! Vocês são simplesmente os melhores!

Agradeço a Ravenna Bessa, por todo o apoio e por acreditar na minha competência como profissional, sempre me encorajando a voar mais alto e a buscar sempre ser o melhor. Estou realizado e devo isso graças ao seu companheirismo e exemplo de mulher batalhadora e guerreira. Muito obrigado Rav!

Agradeço a Melina Cavalcante por ter lutado comigo até o momento final do processo seletivo do mestrado, se fazendo presente 24hs por dia antes da minha apresentação e se dispondo inteiramente ao meu sonho de ingressar no Mestrado. Muito obrigado por todo o sacrifício e por ter acreditado em mim.

Agradeço também a Mariana Araujo por toda a compreensão, dedicação, companheirismo, cumplicidade e paciência que teve para a confecção deste trabalho. Me ajudando de várias formas e sendo autora de algumas imagens nesta pesquisa, você foi peça fundamental para a concretização deste sonho. Não tenho palavras para te agradecer! Muito obrigado!

À Laura do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, por ter sido um doce comigo, por toda a paciência e vontade de fazer este trabalho nascer.

Aos camundongos que fizeram tudo isso possível, a CAPES e ao CNPQ por todo o apoio financeiro e por acreditar no cientista brasileiro, meu muito obrigado!

## RESUMO

O transtorno depressivo maior (TDM), mais conhecido como depressão, é uma patologia que atinge milhares de pessoas, sendo responsável pela incapacitação funcional e comprometimento da saúde física e mental. Existem várias teorias que explicam o quadro depressivo, porém atualmente a mais aceita seria a teoria monoaminérgica da depressão. Vinculada a esta teoria estaria a neurogênese, responsável pela plasticidade neuronal, sabidamente expressada por um padrão comportamental não depressivo. Com base nesta premissa e visando o aprimoramento terapêutico deste tipo de paciente, verificou-se os efeitos terapêuticos centrais na via neurogênica do Timol, um terpeno derivado da *Lippia sidoides* com várias ações terapêuticas incluindo atividade antidepressiva buscando elucidar o envolvimento desta molécula na depressão. Para realização do estudo se utilizou da administração crônica de corticosterona, pela via subcutânea, em camundongos *swiss* fêmeas, para indução do quadro depressivo durante 23 dias. A partir do 14º dia de corticosterona, foi introduzido o Timol, a droga padrão positiva (Fluvoxamina) e veículo para ser feito o comparativo. Ao final do tratamento de 23 dias os testes comportamentais foram iniciados e, ao término de todos, os animais foram sacrificados por guilhotina sendo dissecados para avaliação hipocampal de BDNF. Os testes comportamentais escolhidos foram o campo aberto, nado forçado, suspensão da cauda, preferência pela sacarose, claro/escuro, interação social, y-maze, plus-maze, placa perfurada para averiguar, dentre outros parâmetros, a ansiedade, memória, depressão e anedonia. Para corroborar com os demais comportamentos foi realizado duas metodologias neuroquímicas, ELISA e Western Blot, para avaliar os níveis de BDNF, fator este envolvido na neurogênese celular. Como resultados foi obtido que o Timol e a Fluvoxamina foram capazes de reverter o quadro depressivo avaliado pelos testes do nado forçado e suspensão da cauda, além de melhorar o quadro ansioso mensurado pela placa perfurada, plus-maze e interação social. O quadro anedônico e o prejuízo na memória foram reduzidos com o tratamento. Nos testes neuroquímicos tanto o Timol como a Fluvoxamina restauraram os níveis de BDNF, melhorando o quadro depressivo. Este trabalho elucidou a interação do Timol com a via neurogênica-BDNF, abrindo precedentes para novas investigações visando o emprego desta molécula como alternativa terapêutica.

**Palavras-chave:** 1. Timol. 2. Depressão. 3. BDNF. 4. Antidepressivo.

## ABSTRACT

### **Antidepressant Potential of Thymol: Effects on Brain Derived Neurotrophic Factor Levels (Bdnf) in the Chronic Stress-Induced Model of Corticosterone in Mice.**

Major Depressive Disorder (MDD), better known as depression, is a pathology that attracts thousands of people, being the force of functional disability and impairment of physical and mental health. There are many theories that explain the depressive picture, but currently the most accepted would be the monoaminergic theory of depression. Linked to this theory would be the neurogenesis, responsible for neuronal plasticity and known as expressed by a non-depressive behavioral pattern. Based on this and the enhanced for pharmaceuticals of this type, the central therapeutic effects of Thymol, a terpene with several therapeutic actions, including the antidepressant activity derived from *Lippia sidoides*, were verified in the neurogenic pathway, seeking to elucidate the involvement of the molecule and depression. To perform the study, chronic subcutaneous administration of corticosterone was used in Swiss females to induce depressive symptoms for 23 days. From the 14th day of corticosterone, Timol, a standard positive drug (Fluvoxamine) and vehicle was administered to be made comparative. At the end of the 23-day treatment of the behavioral tests were initiated and, at the end of all, the animals sacrificed by guillotine were dissected for hippocampal evaluation of BDNF. Test objects were performed, forced swim test, tail suspension, sucrose preference, light / dark, social interaction, y-maze, plus-maze, hole-board, to access memory, depression and anhedonia. To assess the level of efficacy, ELISA and Western Blot, to assess BDNF levels, this factor is involved in cellular neurogenesis. As a result, Thymol and Fluvoxamine were able to reverse the depressive symptoms assessed by forced-swim and tail-suspension tests, as well as to improve the anxious frame measured by hole-board, plus-maze and social interaction. The anhedonic and idle memory in the memory of problems was restored with the treatment. In the neurochemical tests both Thymol and Fluvoxamine restored BDNF levels, improving the depressive condition. This work aimed to evaluate the interaction of Thymol with the neurogenic pathway-BDNF, opening up precedents for new investigations aiming the use of the molecule as a therapeutic alternative for this pathology.

**Keywords:** 1. Thymol. 2. Depression. 3. BDNF. 4. Antidepressant.

## LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

<b><math>\mu</math>L</b>	Microlitro
<b>5-HT</b>	Serotonina
<b>ADT</b>	Antidepressivo Tricclico
<b>AVC</b>	Acidente Vascular Cerebral.
<b>BDNF</b>	Brain Derived Neurotrophic Factor (Fator Neurotrfico Derivado do Crebro)
<b>CORT</b>	Corticosterona
<b>CREB</b>	Proteína ligada ao fator de transcrição do AMPc
<b>DA</b>	Dopamina
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfxido
<b>eHHA</b>	Eixo Hipotalmico-hipofisrio-adrenal
<b>FLU</b>	Fluvoxamina
<b>g</b>	Gramas
<b>IMAO</b>	Inibidores da Monoamina Oxidase
<b>IRSN</b>	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina e Norepinefrina
<b>ISRS</b>	Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina
<b>kDa</b>	Kilodalton
<b>MAPK</b>	Proteína quinase ativada por mitgeno
<b>mg</b>	Miligrama
<b>ml</b>	Mililitro
<b>NE</b>	Norepinefrina
<b>NGF</b>	Nerve Growth Factor (Fator de Crescimento Neural)
<b>nm</b>	Nanmetro
<b>NSCham</b>	Câmara não social
<b>pg</b>	Picograma
<b>PLC</b>	Fosfolipase C
<b>Pro-BDNF</b>	Precursor do BDNF
<b>RPM</b>	Rotações por Minuto
<b>SCham</b>	Câmara social
<b>SC</b>	Via Subcutânea
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>TDM</b>	Transtorno Depressivo Maior
<b>TNF</b>	Teste do Nado Forçado
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de Necrose Tumoral
<b>TOC</b>	Transtorno Obsessivo-Compulsivo
<b>Trk</b>	Receptor de Tirosina Quinase

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b>	Tipificação dos Episódios Depressivos segundo a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10).	20
<b>TABELA 2</b>	Efeitos do Timol mensurados pelo teste Plus-Maze e expresso em número de entradas nos braços do aparato, tanto em porcentagem quanto em números totais de vezes.	55

## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1</b>	Teste do Campo Aberto	37
<b>QUADRO 2</b>	Teste do Nado Forçado	38
<b>QUADRO 3</b>	Teste da Suspensão da Cauda	38
<b>QUADRO 4</b>	Teste da Preferência pela Sacarose	39
<b>QUADRO 5</b>	Teste do Claro/Escuro	40
<b>QUADRO 6</b>	Teste da Interação Social	41
<b>QUADRO 7</b>	Teste do Y-Maze	42
<b>QUADRO 8</b>	Teste da Placa Perfurada	42
<b>QUADRO 9</b>	Teste do Plus-Maze	44

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>GRÁFICO 1</b>	Efeito da administração crônica de CORT sobre os animais expostos ao teste do campo aberto.	47
<b>GRÁFICO 2</b>	Avaliação da indução do quadro depressivo em camundongos sobre o efeito de administração crônica de CORT, por meio do tempo de imobilidade.	48
<b>GRÁFICO 3</b>	Análise do efeito do Timol e da FLU por via oral pelo teste da suspensão da cauda pela avaliação do tempo de imobilidade.	49
<b>GRÁFICO 4</b>	Resultados expressos em porcentagem dos efeitos da CORT sob a preferência pela sacarose no teste que mensura o quadro anedônico.	50
<b>GRÁFICO 5</b>	Avaliação da ansiedade frente ao modelo de administração crônica de CORT pelo teste Claro/Escuro.	51
<b>GRÁFICO 6</b>	Avaliação da capacidade social de animais submetidos a administração crônica de CORT e tratados com Timol e Fluvoxamina pelo teste da Interação Social.	52
<b>GRÁFICO 7</b>	Número de entradas corretas nos braços do aparato Y-Maze visando a avaliação da memória.	53
<b>GRÁFICO 8</b>	Avaliação da atividade exploratória dos animais depressivos sob efeito do Timol e Fluvoxamina.	54
<b>GRÁFICO 9</b>	Mensuração dos níveis de BDNF na região hipocampal de camundongos submetidos ao modelo de estresse crônico e tratados com Timol ou Fluvoxamina pela metodologia ELISA.	56
<b>GRÁFICO 10</b>	Mensuração dos níveis de BDNF na região hipocampal de camundongos submetidos ao modelo de estresse crônico e tratados com Timol ou Fluvoxamina pela metodologia Western Blot.	57

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b>	18
<b>1.1 Aspectos Epidemiológicos da Depressão</b>	18
<b>1.2 Transtorno Depressivo Maior (TDM)</b>	19
<b>1.3 Etiologia do TDM</b>	21
<b>1.4 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) - Síntese, Liberação, e Localização</b>	Receptores 23
<b>1.5 Corticosterona (CORT) e Depressão: Relação Experimental.</b>	25
<b>1.6 Diagnóstico e Tratamento Farmacológico do TDM</b>	26
<b>1.7 Plantas Medicinais - Um contexto histórico e evolução na pesquisa</b>	29
<b>1.7.1 Timol</b>	30
<b>2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA</b>	32
<b>3 OBJETIVOS</b>	34
<b>3.1 Objetivo Geral</b>	34
<b>3.2 Objetivos Específicos</b>	34
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	35
<b>4.1 Aspectos Éticos</b>	35
<b>4.2 O Timol</b>	35
<b>4.3 Os Animais</b>	35
<b>4.4 As Drogas</b>	35
<b>4.5 Procedimento experimental</b>	36
<b>4.6 Testes Comportamentais</b>	37
<b>4.6.1 Teste do Campo Aberto</b>	37
<b>4.6.2 Teste do Nado Forçado</b>	37
<b>4.6.3 Teste da Suspensão da Cauda</b>	38
<b>4.6.4 Teste da Preferência pela Sacarose</b>	39
<b>4.6.5 Teste da Preferência do Claro/Escuro</b>	39
<b>4.6.6 Teste da Interação Social</b>	40
<b>4.6.7 Y-Maze</b>	41



<b>4.6.8 Teste da Placa Perfurada</b>	42
<b>4.6.9 Teste do Plus-Maze</b>	43
<b>4.7 Testes Neuroquímicos</b>	44
<b>4.7.1 Dissecação Hipocampal</b>	44
<b>4.7.2 Análise pela metodologia ELISA</b>	44
<b>4.7.3 Análise pela metodologia Western Blot</b>	45
<b>4.7.3.1 Preparação do Extrato Total de Proteínas</b>	45
<b>4.7.3.2 Método Bradford para dosagem de proteína</b>	45
<b>4.7.3.3 Western Blotting</b>	46
<b>5 RESULTADOS</b>	47
<b>5.1 Testes Comportamentais</b>	47
<b>5.1.1 Teste do Campo Aberto</b>	47
<b>5.1.2 Teste do Nado Forçado</b>	47
<b>5.1.3 Teste da Suspensão da Cauda</b>	48
<b>5.1.4 Teste da Preferência pela Sacarose</b>	49
<b>5.1.5 Teste do Claro/Escuro</b>	50
<b>5.1.6 Teste da Interação Social</b>	51
<b>5.1.7 Teste do Y-Maze</b>	52
<b>5.1.8 Teste da Placa Perfurada</b>	53
<b>5.1.9 Teste do Plus-Maze</b>	55
<b>5.2 Testes Neuroquímicos</b>	55
<b>5.2.1 Análise do BDNF</b>	55
<b>6 DISCUSSÃO</b>	58
<b>7 CONCLUSÃO</b>	64
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	65
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	66

## INTRODUÇÃO

### 1.1 Aspectos Epidemiológicos da Depressão

A depressão é um mal que atinge, mundialmente, mais de 300 milhões de pessoas, de todas as faixas etárias e apresenta frequência relevante em meio a outras desordens psiquiátricas. É uma das principais causas de incapacitação em todo o mundo, podendo induzir sofrimento, reduzir a produtividade no trabalho, no âmbito escolar e influenciar negativamente o relacionamento familiar. Aproximadamente, cerca de 800 mil pessoas morrem por suicídio a cada ano, devido ao quadro depressivo apresentado (BÉTRY *et al.* 2015; MARCINKIEWCZ & DEVINE, 2015; WHO, 2017).

O suicídio já representa 1,4% de todas as mortes ao redor do mundo, sendo alocado no ano de 2012 como a décima quinta causa de mortalidade apresentada na população geral. Entre os jovens de 15 até 29 anos chega a ser a segunda principal causa de morte (WHO, 2017). Entre os transtornos mentais mais comuns associados ao quadro de suicídio, a depressão aparece evidenciada, ficando claro a prevalência e a preocupação que deve-se ter sobre a temática supracitada (BERTOLOTE & FLEISCHMANN, 2002; BOTEGA, 2014).

A depressão encontra-se mais expressiva no sexo feminino, apresentando-se mais frequente de duas a três vezes quando comparada com a incidência no sexo masculino (TENG & DEMÉTRIO, 2012; WHO, 2017). Segundo o Boletim Epidemiológico intitulado "Suicídio. Saber, agir e prevenir" (2017), no período de 2011 a 2016, em território nacional, foram notificados no SINAN 1.173.418 casos de violências interpessoais e autoprovocadas. Desse total, 176.226 (15,0%) foram relativos à prática de lesão autoprovocada, sendo 116.113 (65,9%) casos em mulheres e 60.098 (34,1%) casos em homens. Considerando-se somente a ocorrência de lesão autoprovocada, identificaram-se 48.204 (27,4%) casos de tentativa de suicídio, sendo 33.269 (69,0%) em mulheres e 14.931 (31,0%) em homens.

Não obstante, os transtornos mentais representam 30% da carga global de doenças não fatais. (WHO, 2016). Enquanto em 2017 este número diminuiu, para aproximadamente 300 milhões de pessoas que sofrem de depressão, sendo o equivalente a 4,4% da população mundial. O Brasil possui uma situação mais delicada, uma vez que lidera o ranking mundial de prevalência de transtornos de ansiedade e ocupa a quinta posição de pessoas com depressão (WHO, 2017, SOUZA & MACHADO-DE-SOUSA, 2017).

## 1.2 Transtorno Depressivo Maior (TDM)

O TDM, mais conhecido como depressão, é uma condição relativamente comum, de curso crônico e recorrente. Está frequentemente associado com incapacitação funcional e comprometimento da saúde física. Os pacientes deprimidos apresentam limitação da sua atividade e bem estar, além de uma maior utilização de serviços de saúde (FLECK *et al.*, 2009). A depressão pode possuir dois extremos. Um deles seria caracterizado pela tristeza da vida, desencadeada por perdas, desapontamentos ou ainda por isolamento social; nessas circunstâncias, a tristeza pode ser considerada uma experiência necessária, porque convida à reflexão e ao autoexame. Em um outro extremo a depressão pode ser uma doença devastadora, associada a grande comprometimento funcional, da saúde física e do bem-estar, podendo, inclusive, ser fatal (MCWHINNEY; FREEMAN, 2010; SUS, 2013).

Segundo o DSM - V (Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais - 5 edição) o TDM, é caracterizado por episódios distintos de pelo menos duas semanas de duração (embora a maioria dos episódios dure um tempo consideravelmente maior) envolvendo alterações nítidas no afeto, na cognição e em funções neurovegetativas, e remissões interepisódicas. Ressalta-se que o luto pode induzir grande sofrimento, mas não costuma provocar um episódio de transtorno depressivo maior. Quando ocorrem em conjunto, os sintomas depressivos e o prejuízo funcional tendem a ser mais graves, e o prognóstico é pior comparado com o luto que não é acompanhado de transtorno depressivo maior. A depressão relacionada ao luto tende a ocorrer em pessoas com outras vulnerabilidades a transtornos depressivos, e a recuperação pode ser facilitada pelo tratamento com antidepressivos.

Já a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde, CID-10 (2008), caracteriza o quadro depressivo por alterações da capacidade de experimentar o prazer, perda de interesse, diminuição da capacidade de concentração e fadiga. É observado em geral problemas do sono e diminuição do apetite. Existe rotineiramente uma diminuição da auto-estima, autoconfiança e o aparecimento frequente de idéias de culpabilidade e ou de indignidade.

O humor depressivo varia pouco de dia para dia ou segundo as circunstâncias e pode se acompanhar de sintomas ditos “somáticos”, por exemplo perda de interesse ou prazer, despertar matinal precoce, agravamento matinal da depressão, agitação, perda de apetite, peso

e da libido. A CID-10 traz ainda uma tipificação do episódio depressivo como mostra a tabela 1.

Tabela 1 - Tipificação dos Episódios Depressivos segundo a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10).

<b>CÓDIGO</b>	<b>TIPIFICAÇÃO</b>
F32.0	Episódio depressivo leve.
F32.1	Episódio depressivo moderado.
F32.2	Episódio depressivo grave sem sintomas psicóticos.
F32.3	Episódio depressivo grave com sintomas psicóticos.
F32.8	Outros episódios depressivos.
F32.9	Episódio depressivo não especificado.

Fonte: CID - 10 (2008).

Dificuldades no processo de aprendizagem e de memorização são comuns nesta patologia, o que pode estar relacionado com alterações químicas, neurológicas e circulatórias, que por sua vez afetam a função cerebral (BRAVER; BRACH, 2002; GARCIA *et al.*, 2006). Na avaliação neuropsicológica de pacientes deprimidos, os domínios cognitivos mais comumente afetados são: aquisição da memória, atenção, concentração, flexibilidade cognitiva e abstração (ZAKZANIS; LEACH; KAPLAN, 1999; PORTO; HERMOLIN; VENTURA, 2002). Entretanto, é importante ressaltar que nem todos os pacientes deprimidos apresentam estes déficits. Estudos constatam que os déficits de memória vinculados à depressão são similares aos de pacientes com disfunção subcortical (por exemplo, em pacientes com coreia de Huntington) (LAKS *et al.*, 1999; PORTO; HERMOLIN; VENTURA, 2002). Segundo o estudo de Bieliauskas (1993) ficou evidenciado que os déficits de memória estão diretamente relacionados à depressão em pacientes idosos, principalmente em pacientes com histórico crônico e recorrente de quadros depressivos. Já Basso e Bornstein (1999) relatam que os pacientes com TDM que apresentavam episódios recorrente possuem uma maior probabilidade de ter déficits cognitivos do que aqueles que apresentam episódio único.

A memória, assim com outros fatores neuropsicológicos como atenção e concentração, apresentam-se de forma problemática e recorrente no TDM, sendo marcante a sua presença na patologia (PORTO; HERMOLIN; VENTURA, 2002).

Vários outros sintomas, além da memória, podem estar envolvidos no TDM. Dois dos principais sintomas do quadro depressivo é a anedonia e a tristeza. O termo anedonia é oriundo do grego antigo e quer dizer "sem prazer" sendo introduzido na psiquiatria por Théodule-Armand Ribot em 1896, significando a inabilidade de experienciar prazer, fazendo referência tanto ao sintoma como ao traço de personalidade apresentado por certos indivíduos (MARTINOTTI *et al.*, 2012; HESHMATI; RUSSO, 2015).

Atualmente o DSM - V define a mesma como sendo a falta de prazer, envolvimento ou energia para as experiências da vida; déficits na capacidade de sentir prazer e ter interesse nas coisas. Além do humor deprimido a anedonia é considerada um sintoma central para diagnóstico da depressão, como aponta o DSM - IV - TR tendo como exemplo o caso do subtipo melancólico do quadro de depressão maior. É sabidamente responsiva a tratamentos farmacológicos (FURLANETTO *et al.*, 2006; MARTINOTTI *et al.*, 2012).

Como supracitado a depressão possui um conjunto sintomatológico extenso e tanto ela como a ansiedade estão entre as doenças mais comuns na comunidade. Não é raro pacientes com quadro depressivo apresentam características de transtornos de ansiedade, assim como os pacientes que possuem o quadro ansioso instalado, comumente, também possuem depressão (TILLER, 2012).

Castillo (2000) define ansiedade como sendo um sentimento vago e desagradável de medo, apreensão, caracterizado por tensão ou desconforto derivado de antecipação de perigo, de algo desconhecido ou estranho. O tratamento farmacológico considerado de primeira linha para o transtorno de ansiedade generalizada, por exemplo são os antidepressivos Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRS) e os Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina e Norepinefrina (IRSN) (MOCHCOVITCH, 2015).

### **1.3 Etiologia do TDM**

Apesar de sermos expostos repetidamente a adversidades e situações de cunho estressantes durante a vida, a rede dos sistemas hormonal, neurobiológico e circadiano mantém a homeostase fisiológica e comportamental na maioria dos indivíduos. Porém, interrupções nas interações e desequilíbrios entre estes sistemas podem originar várias

desordens neurocomportamentais, como a depressão. Mesmo frente a tantos avanços notórios nesta esfera científica a causa específica da depressão continua sem uma posição definitiva. Não obstante, várias teorias foram formuladas para embasar o quadro fisiopatológico/sintomatológico depressivo (SOBOCKI, 2006; MASSART; MONGEAU; LANFUMEY, 2012).

A disfunção na neurotransmissão monoaminérgica é uma das teorias mais estudadas atualmente (PRINS; OLIVER; KORTE, 2011), assim como a relação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (eHHA) com a depressão (ANACKER et al, 2011), do ciclo circadiano (MCCLUNG, 2007) e os processos neuroimunológicos (MILLER, 2010).

Vismari e colaboradores (2008) ressaltam que por mais de três décadas, as bases biológicas dos transtornos depressivos tem seio na hipótese monoaminérgica da depressão. A teoria propõe que a depressão seja desencadeada devido a uma menor oferta de aminas biogênicas cerebrais, em particular de serotonina (5-HT), norepinefrina (NE) e/ou dopamina (DA). O mecanismo de ação dos antidepressivos utilizados embasa esta hipótese, pois o aumento da disponibilidade desses neurotransmissores na fenda sináptica, seja pela inibição (seletiva ou não) de suas recaptações, seja pela inibição da enzima responsável por suas degradações (inibidores da monoaminoxidase), melhoram, comprovadamente, o quadro depressivo do paciente. A teoria monoaminérgica da depressão e suas características particulares como a cascata de sinalização intracelular, a modulação da expressão dos genes, participação de fatores neurotróficos, tais como o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês, Brain derived neurotrophic factor - BDNF), corroboram para que ela seja uma das mais aceitas atualmente.

Com a constante busca pela elucidação da etiologia depressiva, os estudos apontaram para uma nova vereda hipotética vinculada ao BDNF, a hipótese neurotrófica que, por sua vez, parece contribuir para a instalação do quadro patológico de TDM . Tal hipótese propõe que alterações relacionadas ao estresse diminuam os níveis de BDNF, corroborando para o processo patogênico depressivo (REGIANE *et al.*, 2003; DUMAN; MONTEGGIA, 2006; PHILLIPS, 2017). Esta noção está fundamentada na evidência de que as neurotrofinas são fatores de crescimento que possuem papel fundamental na formação e plasticidade neuronal, somando a isto temos que pessoas com TDM apresentam alterações nos níveis e funcionalidade de BDNF. Existe um *Upregulation* de BDNF na amígdala e no núcleo

accumbens em pessoas com TDM e um *Downregulation* desta neurotrofina no hipocampo e córtex pré-frontal medial (PHILLIPS, 2017).

Sugere-se, portanto, que com esta gama de evidências os níveis e funções alteradas de BDNF contribuem para atrofia e desconexão simpática, ao passo que o aumento dos níveis desta neurotrofina facilitam a plasticidade sináptica e a remodelação, modulam o gene de expressão da plasticidade e, por conseguinte, promove o alívio dos sintomas depressivos (KRISHNAN; NESTLER, 2008; DUMAN, 2014; PHILLIPS, 2017).

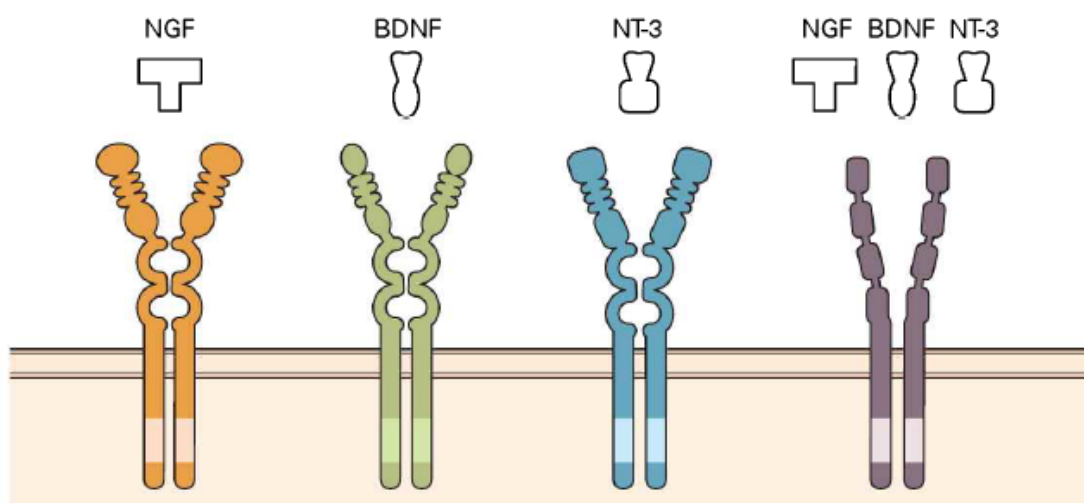
#### **1.4 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) - Síntese, Liberação, Receptores e Localização**

As neurotrofinas são uma família de proteínas que estão intimamente ligadas ao cérebro contribuindo para o crescimento, manutenção neuronal e sobrevivência. Participa também de uma variedade de funções neuronais vinculadas ao aprendizado e memória. As neurotrofinas dos mamíferos incluem o BDNF, o fator de crescimento neural (*Nerve Growth Factor* - NGF), neurotrofina-3 e neurotrofina 4-5. Dentre as neurotrofinas supracitadas o BDNF é a que aparece com mais frequência na literatura vinculado a depressão (GIRALT *et al.*, 2010; KANDEL *et al.*, 2014; PHILLIPS, 2017).

A produção desta neurotrofina ocorre tanto no sistema nervoso central como no periférico e em regiões responsáveis pelas funções emocionais e cognitivas, como o hipocampo e a áreas frontal e parietal do cérebro. Esta síntese ocorre em neurônios alvo e também em astrócitos após certas situações como injúria ou administração de antidepressivos. É sabido que no cérebro os neurônios são uma fonte celular expressiva de BDNF, estando em maior concentração em certas áreas cerebrais como o córtex, hipocampo e amígdala (RUDGE; PASNIKOWSKI; LINDSAY, 1995; MAROSI; MATTSON, 2014; PHILLIPS, 2017).

As neurotrofinas possuem afinidade por duas categorias de receptores, os receptores do tipo tirosina cinase (Trk), que possuem três classes, como ilustra a figura 1, e o receptor p75, pertencente a família de moléculas transmembrana servindo também como receptor de citocinas pertencentes a família do fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), induzindo a morte celular. O BDNF se liga em receptores do tipo TrkB que por sua vez regula a função neuronal, promove a sobrevivência celular e melhora a plasticidade sináptica (CHAO, 1994; YANG *et al.*, 2009; MAROSI; MATTSON, 2014; KANDEL, 2014; PHILLIPS, 2017).

Figura 1 - Receptores do tipo Tirosina Cinase das neurotrofinas. Em amarelo receptor TrkA, em verde receptor TrkB, em azul receptor TrkC, em roxo receptor p75.



Fonte: Kendel (2014)

O BDNF se origina a partir de seu precursor, pro-BDNF, que após o processo de transcrição, é conduzido até o retículo endoplasmático, sendo então alocado em vesículas secretoras até sofrerem um estímulo de liberação ou serem liberadas de forma espontânea. O pro-BDNF é então secretado e posteriormente é convertido em BDNF maduro pelas proteases extracelulares, como por exemplo a plasmina e fator ativador de plasminogênio extracelular. O pro-BDNF é responsável pela regulação de BDNF maduro, porém não possui afinidade pelo receptor TrkB e sim pelo receptor p75 de neurotrofinas, tendo a capacidade de promover a apoptose celular, resultando na morte da célula, assim como, na atenuação da transmissão sináptica (BARBOSA, 2009; YANG *et al.*, 2009).

Barbosa (2009) elucidou que a ação do BDNF se dá através da sua ligação ao receptor TrkB, ativando uma cascata de sinalizadores intracelulares e de transcrição em vários sistemas neuroquímicos, como por exemplo MAPK e PLC. A ativação via TrkB e p75, por sua vez, estimula e suprime, respectivamente, o crescimento dendrítico, assim como uma potenciação ou depressão sináptica. Vale ressaltar que o equilíbrio entre estímulos ocasionados pelas ligações BDNF-TrkB e pro-BDNF-p75 são cruciais para as alterações das estruturas sinápticas e densidade das espículas dendríticas, sendo fundamental para a plasticidade sináptica.



A função e importância do BDNF estão diretamente implicadas na fisiopatologia de várias doenças neuronais, incluindo o TDM. Vários artigos sugerem que a expressão do BDNF está diminuída em diversas doenças, como por exemplo a esquizofrenia, transtorno bipolar e na depressão maior. (KNABLE *et al.*, 2004; GERVASONI *et al.*, 2005; KAREGE *et al.*, 2005, NUMAKAWA; SUZUKI; ADACHI, 2010).

Estudos como o de Tsankova e colaboradores (2007), demonstraram que a regulação gênica do BDNF poderia ser afetada por diversos fatores, dentre eles, o estresse crônico estaria em evidência. O estresse crônico em camundongos pode ocasionar diversas alterações comportamentais, como, por exemplo, reclusão social, sendo esta revertida com tratamento contínuo de antidepressivos. Os autores relatam que o mecanismo mediador de tal processo seria devido a modificações no gene que codifica o BDNF.

Numakawa (2010) destaca que o hormônio liberado em caso de estresse (glicocorticóide) está diretamente relacionado com a fisiopatologia depressiva afetando a função sináptica e participando da instalação do TDM.

### **1.5 Corticosterona (CORT) e Depressão: Relação Experimental.**

Segundo Steibel e Almeida (2010) a depressão está diretamente ligada a elevação dos níveis de cortisol, podendo ser uma hipótese explicativa da morte neuronal localizada na região do hipocampo. Tal alteração teria concordância com a desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, resultando em atrofia hipocampal e consequente declínio cognitivo.

Vasconcelos (2015) corrobora com o estudo supracitado quando afirma que a principal resposta neuroendócrina ao estresse é mediada pela estimulação dos neurônios do núcleo paraventricular hipotalâmico, resultando na liberação do hormônio adrenocorticotrófico, por excitação prévia hipofisária, promovendo a secreção de glicocorticóides pelo córtex adrenal. Os glicocorticóides (cortisol em humanos e CORT em camundongos), por sua vez, agem sobre vários receptores específicos presentes na maioria da periferia e centralidade do sistema nervoso, preparando o organismo para o momento de estresse.

A exposição a longo prazo de concentrações elevadas de CORT circulante podem estar associadas com múltiplos efeitos deletérios dos sistema nervoso central, incluindo a supressão do crescimento, perda de músculo, supressão imune e morte neuronal (SAPOLSKY, 2002). O estresse crônico ou a administração repetida de CORT pode levar a

profundas mudanças no comportamento emocional, mimetizando doenças mentais humanas, como ansiedade e depressão (SKÓRZEWSKA et al, 2014).

O hipocampo é uma região sensível ao estresse crônico, sendo observado que quando os níveis de cortisol estão exacerbados estes podem inferir o quadro considerável de atrofia hipocampal. Tal fator está diretamente relacionado com déficits cognitivos observados em pacientes com TDM. É observado, também, uma diminuição da ramificação dendrítica e diminuição da neurogênese nestes pacientes (VASCONCELOS, 2015).

Neste esfera embasada, tem-se que as metodologias farmacológica e toxicológica (a experimentação animal) tem por base a observação dos efeitos ocasionados por substâncias em organismos vivos e que por meio destes resultados pode-se obter dados qualitativos ou quantitativos relativos a ação do medicamento ou substância em teste, sendo de fundamental importância para tratamento e entendimento das patologias que assolam o ser humano (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

Zhao e colaboradores (2008) afirmam que existem várias formas de se mensurar e analisar o quadro depressivo em um camundongo, porém as variáveis em abrangência, pertencentes a algumas metodologias, podem tanger os resultados a heterogeneidade comportamental exacerbada, dificultando a interpretação dos resultados.

O eHHA dos animais pode ser estimulado de várias formas a certos estímulos estressores, variando de animal para animal, causando uma liberação aleatória de corticosterona em cada animal, além de uma variabilidade comportamental expressiva entre eles, não formando resultados concisos (NESTLER *et al.*, 2002).

Uma maneira de driblar estas dificuldades experimentais seria a administração de CORT, previamente mensurada e individualizada para cada animal, garantindo que os grupos tratados tornem-se homogêneos frente ao fator estressante. Dentre os diversos modelos para estudo de depressão a administração de corticosterona mostrou induzir o quadro depressivo (CAMERON; GOULD, 1994; MAO *et al.*, 2012; PITTA *et al.*, 2013). O modelo, proposto por Zhao e colaboradores (2008), é utilizado amplamente para induzir depressão atualmente, sendo este uma metodologia válida e ética. (VAN DONKELAAR *et al.*, 2014; ZHAO *et al.*, 2008; SKÓRZEWSKAA *et al.*, 2014, VASCONCELOS, 2015)

### **1.6 Diagnóstico e Tratamento Farmacológico do TDM**

O TDM é diagnosticado, segundo o DSM - V, pelo menos cinco sintomas, a seguir relacionados, precisam estar presentes diariamente por, no mínimo, duas semanas

consecutivas, ou, ao menos, os itens [a] ou [b]: [a] humor deprimido na maioria do dia; [b] desinteresse e desprazer pela maioria das atividades cotidianas (anedonia); [c] significativos ganho ou perda de peso ou aumento ou perda de apetite; [d] insônia ou excesso de sono; [e] agitação ou lentidão psicomotora; [f] fadiga ou perda de energia; [g] sentimentos de desvalia ou excessiva e inapropriada culpa; [h] dificuldade de concentração mental; [i] pensamentos recorrentes sobre morte, ideação suicida recorrente, tentativa de suicídio perpetrada ou planejada. Avalia-se ainda se é leve, moderado ou grave; se há ou não aspectos psicóticos (características catatônicas, melancólicas ou atípicas); se há risco de suicídio; se há ansiedade concomitante e se teve início no pós-parto.

Uma vez diagnosticado o TDM possui manejos distintos com objetivo de proporcionar melhor qualidade do paciente, minimizar os riscos de suicídio, reduzir a necessidade/probabilidade de hospitalização e reduzir as reincidências das crises de hospitalização, por intermédio da eliminação dos sintomas, recuperação da capacidade sociofuncional e impedimento de recorrências, buscando a remissão. Se o profissional escolher a farmacoterapia como tratamento, os medicamentos deverão ter o mínimo de efeitos adversos, buscando a melhor adesão ao tratamento (WANNMACHER, 2004; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Os inibidores da Monoamina Oxidase (IMAO) foram a primeira classe de antidepressivos a serem utilizados na clínica médica e seu mecanismo consiste na inibição da enzima responsável pela degradação da 5-HT, NE e DA, aumentando assim os seus níveis na fenda sináptica (HIRSCH; BIRNBAUM, 2012; KANDEL, 2014). Devido ao seu mecanismo os efeitos adversos provocados pela classe são mais graves e frequentes que os observados com as demais classes terapêuticas. Hirsch e Birnbaum (2012) relatam que aproximadamente 50% dos pacientes tratados com esta farmacoterapia apresentam hipotensão ortostática e síncope. Vale lembrar que pacientes que fazem uso de IMAO devem ter cuidados especiais ao ingerir alimentos ricos em tiramina, como queijo e vinhos, devido a esta molécula desencadear a "reação do queijo" como é popularmente conhecida. Esta reação, desencadeada pela tiramina na presença de IMAO, causa hipertensão severa podendo culminar em acidente vascular cerebral (AVC). Sendo assim, não são muito utilizados na terapêutica cotidiana, porém quando o paciente se apresenta resistente às demais terapias os IMAO tornam-se uma opção apreciável.

Outra classe de medicamentos que atualmente também não são utilizados como primeira escolha, via de regra, seriam os antidepressivos tricíclicos (ADT). Possuem mecanismo de ação voltado para redução da recaptação de 5-HT e NE, aumentando a disponibilidade desses neurotransmissores na fenda sináptica (HIRSCH; BIRNBAUM, 2012), porém esta classe de medicamentos causa vários efeitos adversos ao paciente, uma vez que existe a possibilidade destes bloquearem outras vias neurológicas, como os receptores colinérgicos muscarínicos e histaminérgicos, causando, por exemplo, ganho de peso (vinculados ao efeito anti-histamínico), constipação e xerostomia (bloqueio colinérgico), hipotensão ortostática (bloqueio dos receptores  $\alpha$ 1-adrenérgicos), dentre outros (COHEN, 1997; SAIZ RUIZ; MONTES RODRÍGUEZ, 2005).

Já os ISRS, como supracitado, tratam-se da primeira linha na terapêutica do TDM e outras tipificações depressivas. Eles inibem a recaptação da 5-HT na fenda sináptica aumentando a disponibilidade desta monoamina e, por conseguinte, seus efeitos. Estes, por sua vez, são bem tolerados quando comparamos as demais classes. Possuem um melhor perfil de segurança mesmo em casos de sobredose sendo mais escolhidos pelos prescritores na terapêutica, além de possuírem baixa toxicidade e mínimos efeitos anticolinérgicos, como xerostomia, constipação e visão turva (HIRSCH; BIRNBAUM, 2012; KANDEL, 2014)

Tem-se como exemplo da classe dos ISRS a Fluvoxamina (FLU), fármaco já antigo no mercado e que possui eficácia terapêutica no tratamento da depressão associada à ansiedade (NUTT, 1997), da depressão recorrente (TERRA; MONTGOMERY, 1998) e da depressão psicótica (GATTI *et al.*, 1996; FRANCHINI *et al.*, 1997). Além disso ela ainda pode ser utilizada em pacientes com transtorno obsessivo-compulsivo, sendo relatado na literatura bons resultados na terapêutica com a mesma (MUNDO *et al.*, 1997).

Entre os ISRS, a fluvoxamina tem-se destacado como critério de escolha no tratamento de alguns subtipos de depressão, inclusive em depressões severas (OTTEVANGER, 1991).

Existem outras terapêuticas como os IRSN, os bloqueadores dos receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos, como a Mirtazapina, que além desta função possui função direta e indireta frente a 5-HT na condição de agonista dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> e bloqueio dos receptores 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub>. Possui atividade agonista dos receptores  $\alpha$ 1-adrenérgicos dentre outros receptores, sendo muito útil na clínica. A Bupropiona, outro fármaco utilizado na terapêutica do TDM, possui atividade noradrenérgica e dopaminérgica tratando-se de um fraco inibidor da

recaptação da DA e utilizado em alguns casos de depressão. O principal foco do desenvolvimento da terapia farmacológica para depressão, durante décadas e até a atualidade, tem sido o sistema monoaminérgico de neurotransmissores, tendo como base a teoria de desregulação monoaminérgica (HIRSCH; BIRNBAUM, 2012; KANDEL, 2014; BÉTRY *et al.*, 2015; SUMAYA *et al.*, 2016).

É notório a vasta gama de alternativas terapêuticas para tratamento da depressão, ficando claro a constante evolução na farmacoterapia ao longo dos anos. Fruto de estudos e pesquisas a busca pela melhor alternativa terapêutica está sempre presente dentre os artigos da atualidade. Elucidar os mecanismos de ação e como as drogas agem tem sido fator determinante na abordagem clínica, como foi endossado anteriormente, levando em consideração os efeitos adversos e adesão do paciente.

Sendo assim, no centro deste cenário, a busca por alternativas na natureza tem se mostrado essencial e as plantas medicinais tem ganhado espaço dentro da pesquisa, visando tal alternativa (VASCONCELOS, 2015).

### **1.7 Plantas Medicinais - Um contexto histórico e evolução na pesquisa**

O homem vem fazendo uso dos recursos proporcionados pela flora natural, há milhares de anos, para tratamento das mais variadas patologias que o mesmo apresenta. Se tem na história relatos do uso de plantas, com finalidades terapêuticas, por volta de 3.000 a.C. na obra Pen Ts'ao do chinês Shen Nung (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006). Na própria Bíblia, livro adotado pela comunidade religiosa cristã, tanto no Antigo como no Novo Testamento existem referências de plantas terapêuticas, como a mirra, porém devido aos eventos históricos europeus na Idade Média, o fortalecimento da igreja católica e a queda do império romano o conhecimento se dissipou, ao passo que as informações acerca desta forma terapêutica se manteve estagnada por longos períodos de tempo (MARTINS *et al.*, 2000; OLIVEIRA; MACHADO; RODRIGUES, 2014).

A utilização de plantas medicinais visando a restauração da saúde tem evoluído de forma expressiva ao longo dos anos, como demonstra a história humana. É notório que desde as formas mais simplórias de tratamento empírico até as mais diversas formulações e esquemas terapêuticos, como fabricações laboratoriais/industriais, o homem tem se servido da natureza em prol da cura de suas doenças. Vários trabalhos de cunho experimental e epidemiológico atestam que o consumo de plantas podem promover várias ações, por

exemplo, quimiopreventiva, antineoplásica, antidepressiva dentre outras (MATOS, 2002; SOUSA *et al.*, 2005; SOUSA *et al.*, 2008; OLIVEIRA; MACHADO; RODRIGUES; 2014).

Sousa e colaboradores (2008) atestam que existem um grande número de plantas medicinais cujo potencial terapêutico tem sido estudado em uma vasta gama de metodologias experimentais envolvendo animais, e seus mecanismos de ação sido investigados através de ensaios neuroquímicos.

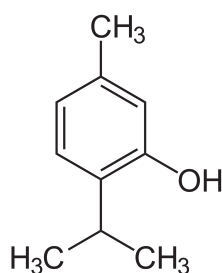
Neste ínterim surge a proposta de seguir a caminhada destes pesquisadores no intuito de promover recursos científicos para o tratamento da depressão que atinge milhares de pessoas ao redor do mundo.

### 1.7.1 Timol

Várias são as substâncias que possuem influência sobre o sistema nervoso central, dentre elas, as de origem vegetal são bem expressivas, sendo notório o aumento do interesse em avaliar os efeitos terapêuticos de produtos naturais em desordens mentais, tais como a depressão (CARLINI 2003; UMUKORO *et al.*, 2011). Dentro desta grande variedade de plantas que, após estudos, apresentaram substâncias com efeitos promissores no quadro depressivo, os princípios ativos Riparina I, III e a Erva de São João são alguns exemplos (CHATTERJEE *et al.*, 1998; TESCH, 2003; UMUKORO *et al.*, 2011; SOUSA *et al.*, 2012; VASCONCELOS *et al.*, 2015).

O timol é um monoterpene conhecido como 2-isopropil-5-metilfenol ( $C_{10}H_{14}O$ ), representado pela Figura 2. É um pó branco, cristalino com um odor aromático agradável encontrado como componente de algumas plantas como o Tomilho (*Thymus vulgaris*) e o Alecrim-Pimenta (*Lippia sidoides Cham*), ambos representados pelas figuras 3 e 4, respectivamente.

Figura 2 - Estrutura molecular do Timol.



A *L. sidoides*, da família *Verbenaceae*, está presente na vegetação da caatinga localizada no Nordeste brasileiro, sendo facilmente encontrada nos municípios de Mossoró (RN) e Tabuleiro do Norte (CE). Tal planta possui estrutura de arbusto, medindo de 2 a 3 metros de altura. Dentre os componentes majoritários que compõem seu óleo essencial, destacam-se o Timol e o Carvacrol em quantidade (MATOS, 2002; BOTELHO *et al.*, 2007).

Dentro dos usos conhecidos, o óleo essencial de *L. sidoides* possuem atividade antimicrobiana (LEMOS *et al.*, 1990; BOTELHO *et al.*, 2007; VERAS *et al.*, 2012), anti-helmíntica (CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2008), antifúngica (FONTENELLE *et al.*, 2007), antioxidante, anti-inflamatória e gastroprotetora (MONTEIRO *et al.*, 2007), larvicida e inseticida (CARVALHO *et al.*, 2003; COSTA *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2013), citotóxica (COSTA *et al.*, 2001; LEMOS *et al.*, 2007; MORAIS *et al.*, 2009), antidepressiva (DENG *et al.*, 2015), dentre outras.

Deng e colaboradores (2015) demonstraram os efeitos antidepressivos do timol em vários âmbitos, analisando por exemplo o envolvimento do timol na redução da CORT sérica vinculado ao modelo de estresse leve crônico e imprevisível. Foi visto que o timol reduziu os níveis séricos de CORT, sendo, também, capaz de reverter a diminuição das monoaminas 5-HT e NE a nível hipocampal nesta metodologia experimental, sendo uma molécula promissora no tratamento do TDM.

Figura 3 - Tomilho fresco (*Thymus vulgaris*).



Fonte: [www.Shutterstock.com](http://www.Shutterstock.com)

Figura 4 - Alecrim-Pimenta na natureza (*Lippia sidoides* Cham).



Fonte: [www.Shutterstock.com](http://www.Shutterstock.com)



## 2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

No período de 2011 a 2015 foram registrados 55.649 óbitos por suicídio no Brasil. Quando correlaciona-se a depressão com outras patologias como, por exemplo, transtornos cardiovasculares, endócrinos e doenças pulmonares aumenta os níveis de mortalidade, sem claro, diminuir os riscos de suicídio já elevados (FORTE *et al.*, 2015; YAO *et al.*, 2015). A depressão e a ansiedade custam para a economia global US\$1 trilhão por ano segundo a Organização Mundial de Saúde (2016), exercendo um dano apreciável frente a economia e a saúde quando se refere ao prejuízo funcional e aos custos que são empregados no tratamento. Entre os anos de 1990 e 2013 o número de pessoas que sofrem de depressão e/ou ansiedade aumentou quase 50%, de 416 milhões para 615 milhões, chegando ao ponto de quase 10% da população mundial ser afetada.

Mesmo sendo uma patologia séria e perigosa a etiologia da mesma encontra-se nebulosa, uma vez que a literatura aponta para teorias diversas em relação a causa da depressão. (MASSART; MONGEAU; LANFUMEY, 2012).

Uma das teorias mais recentes apontadas para etiologia depressiva é a via neurogênica, onde o BDNF é um dos protagonistas. No mercado atual, não se tem uma alternativa específica para estimulação neurogênica em pessoas depressivas. Sendo assim, tendo em vista que o BDNF pode se tornar, futuramente, um excelente alvo terapêutico e driblar o quadro depressivo, poderia ele dar início a uma nova alternativa terapêutica para depressão. Nesta realidade é que desperta-se o interesse pelo Timol (KNABLE *et al.*, 2004; GERVASONI *et al.*, 2005; KAREGE *et al.*, 2005, NUMAKAWA; SUZUKI; ADACHI, 2010).

O Timol é um monoterpeneo com várias atividades diversas e com potencial antidepressivo monoaminérgico já descrito na literatura (LEMOS *et al.*, 1990; BOTELHO *et al.*, 2007; VERAS *et al.*, 2012). Frente ao potencial terapêutico do Timol na via monoaminérgica, pretendeu-se estudar a possível interação com a teoria neurotrófica depressiva, com a finalidade de prover para a comunidade uma possível alternativa terapêutica futura para esta doença que afeta milhões de pessoas.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Elucidar o envolvimento do Timol na via neurogênica, vinculada ao BDNF, através de análise comportamental e testes neuroquímicos em camundongos expostos à modelo padronizado de depressão.

#### 3.2 Objetivos Específicos

Investigar os efeitos do Timol e fluvoxamina através de análise comportamental e testes neuroquímicos em camundongos previamente tratados com corticosterona, sobre os seguintes parâmetros:

- Atividade locomotora e grooming pelo teste do campo aberto;
- Atividade ansiolítica pelo testes do claro/escuro, placa perfurada e *plus-maze*;
- Atividade antidepressiva através dos testes da suspensão da cauda e do nado forçado;
- Anedonia pelo teste de preferência pela sacarose;
- Isolamento social analisado no teste de interação social;
- Memória pelo teste do *Y-maze*;
- Níveis de BDNF no hipocampo pelos métodos de ELISA e Western Blot.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Aspectos Éticos

A pesquisa aqui descrita foi iniciada a partir da data 01/08/2016, após a aprovação pelo comitê de ética e pesquisa da Universidade Federal do Ceará - CEUA, sob orientação da Prof. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa, com o protocolo N° 61/16.

### 4.2 O Timol

O Timol utilizado foi produzido e comercializado pela empresa Sigma-Aldrich, na forma de um pó cristalino, aromático e de características organolépticas em acordo com a literatura.

### 4.3 Os Animais

Nesta pesquisa foram utilizados camundongos, adultos jovens, da espécie *Mus musculus*, da variedade *swiss*, fêmeas, pesando em torno de 25 g, cedidos pelo Biotério Central do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará- UFC. Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico, com serragem trocada duas vezes por semana, recebendo ração do tipo Purina e água *ad libitum*. As luzes do ambiente eram remotamente controladas e acendiam, pontualmente, às 7h da manhã todos os dias, obedecendo o ciclo claro/escuro de 12h. Todos os protocolos experimentais utilizados nesta pesquisa seguiram os princípios éticos e legais da experimentação animal regida pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

### 4.4 As Drogas

•• CORT (20 mg/kg), proveniente da empresa Sigma (St. Louis, MO, EUA) foi dissolvida em solução salina, contendo 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) e 0,1% de Tween 80, sendo administrado via subcutânea (SC).

•• Timol (50 mg/kg), proveniente da empresa Sigma (St. Louis, MO, EUA) foi dissolvido em água destilada contendo 0,1% de DMSO e 0,1% de Tween 80, sendo administrado por gavagem - via oral (VO).

•• Fluvoxamina (50 mg/kg), proveniente do laboratório Abbott, foi dissolvida em água destilada contendo 0,1% de DMSO e 0,1% de Tween 80, sendo administrada por VO.

#### 4.5 Procedimento experimental

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais de forma randômica (n = 12 animais/grupo em média) e nomeados como sendo Grupo Controle, Grupo CORT, Grupo TIMOL e Grupo FLU. O Grupo Controle foi tratado com salina (SC), durante 23 dias consecutivos e 10 dias, a partir do 14 dia consecutivo, recebeu também água destilada (VO) contendo 0,1% de DMSO e 0,1% de Tween-80. O Grupo CORT foi tratado com corticosterona (SC), durante 23 dias consecutivos e 10 dias, a partir do 14 dia consecutivo, recebeu também água destilada (VO) contendo 0,1% de DMSO e 0,1% de Tween-80. O Grupo TIMOL (Cort + Timol) foi tratado com corticosterona (SC), durante 23 dias consecutivos e 10 dias, a partir do 14 dia consecutivo, recebeu também Timol (VO). Já o Grupo FLU (Cort + Flu) foi tratado com corticosterona (SC) durante 23 dias consecutivos e 10 dias, a partir do 14 dia consecutivo, recebeu também fluvoxamina (VO). Todas as drogas foram administradas a volume constante de 0,1 ml/ 10 g de peso corpóreo do animal, entre 10 - 12 h da manhã, em ambiente silencioso, refrigerado a  $24^{\circ} \text{C} \pm 2$ . Em todos os testes, com exceção apenas do nado forçado e da suspensão da cauda, após a observação de cada animal, foi utilizado álcool 5% (v/v) para a remoção de resíduos e odor do animal do aparato. Ao final do tempo preconizado de tratamento, os animais foram sacrificados pela metodologia de guilhotina e as áreas encefálicas de interesse retiradas de imediato, sendo as mesmas resfriadas a temperatura  $-80^{\circ} \text{C}$  para análises posteriores. A Figura 5 demonstra um esquema didático do procedimento experimental. Todos os testes comportamentais ocorreram 30 a 60 minutos após o tratamento.

Figura 5 - Desenho do protocolo experimental utilizado



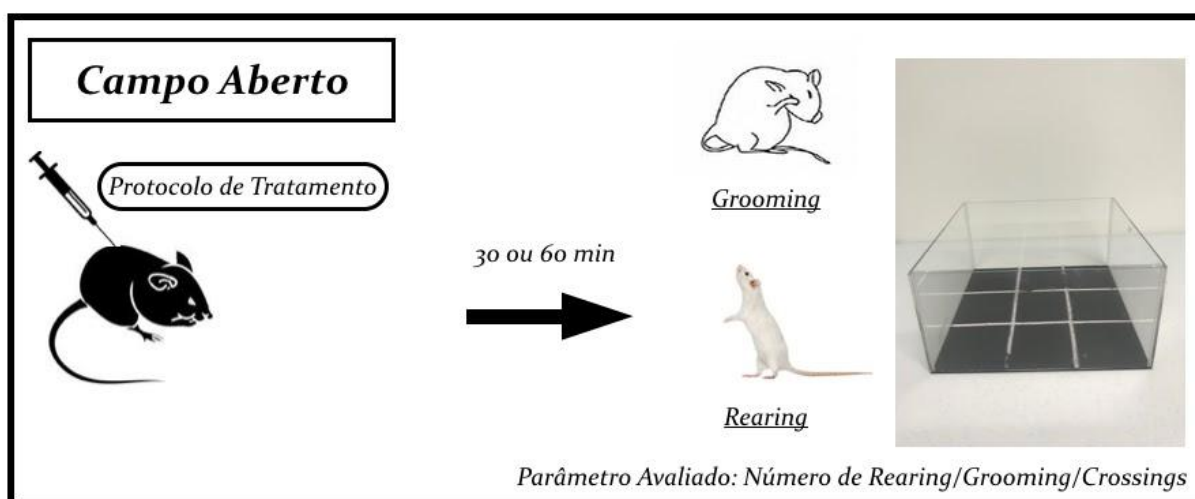
Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa em parceria com Mariana Araujo Forte.

## 4.6 Testes Comportamentais

### 4.6.1 Teste do Campo Aberto

O aparato utilizado na realização deste teste foi composto de acrílico, com paredes transparentes e fundo preto, medindo 30 cm x 30 cm x 15 cm, tendo marcações no fundo dividindo em nove quadrados de tamanhos iguais a área total basal do aparato. Este teste foi utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal (ARCHER, 1973). Cada camundongo foi colocado no quadrado do meio e o número de quadrados atravessados (*crossings*), número de *groomings* e *rearings* foram contabilizados pelo período de 5 minutos.

Quadro 1 - Teste do Campo Aberto

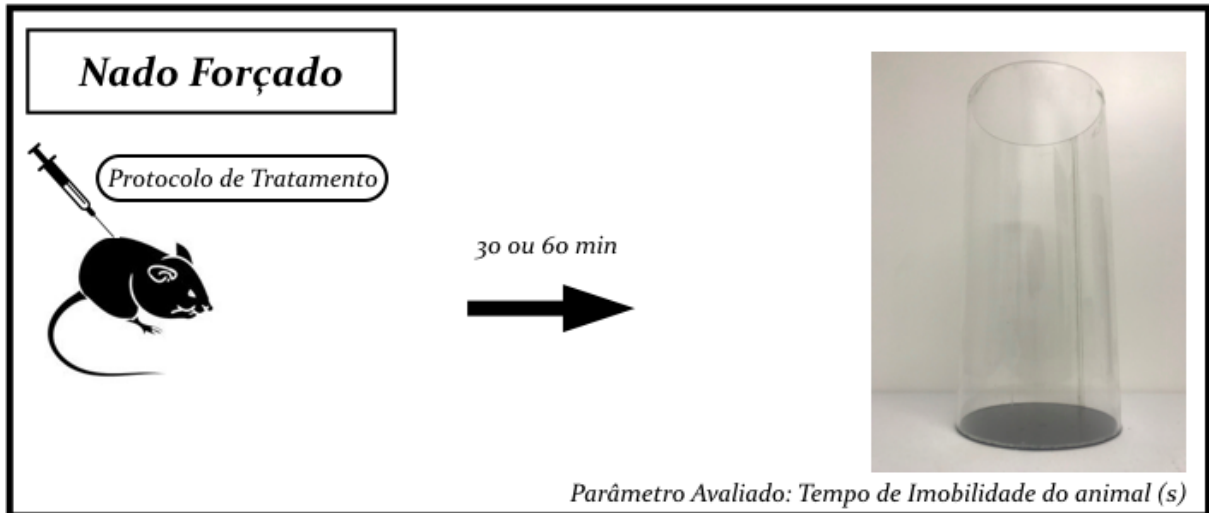


Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

### 4.6.2 Teste do Nado Forçado

Os animais foram colocados em um cilindro contendo água de aproximadamente 30cm e a duração da imobilidade, em sua totalidade, foi registrada pelo período de cinco minutos por um observador cego ao tratamento dado a cada animal. Este teste seguiu com base o trabalho apresentado por Porsolt *et al.* (1977) com algumas modificações. Teste utilizado para avaliar a indução do quadro depressivo nos animais submetidos a administração de CORT.

Quadro 2 - Teste do Nado Forçado

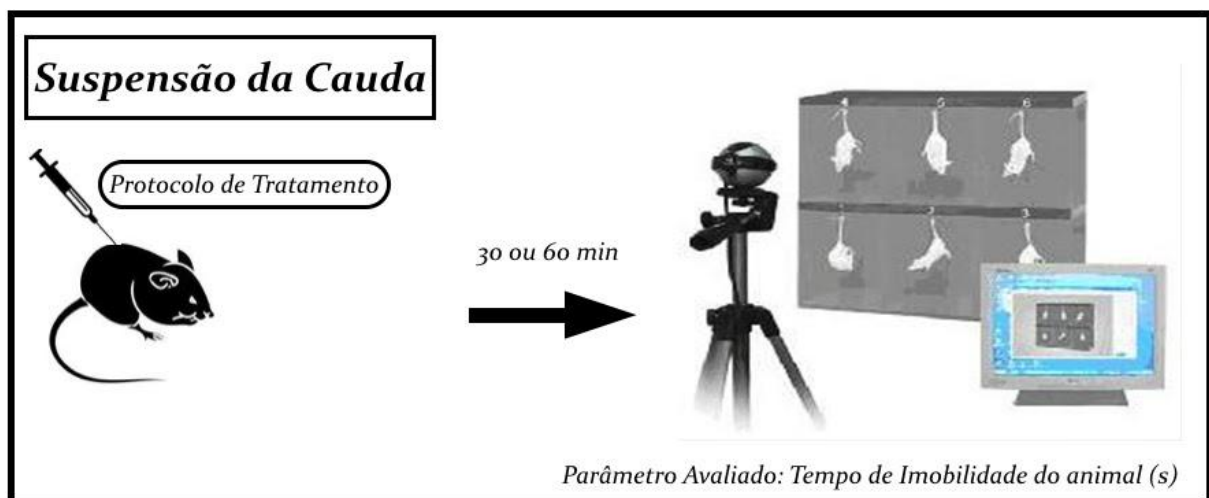


Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

#### 4.6.3 Teste da Suspensão da Cauda

Metodologia utilizada para aferir o nível depressivo de cada animal, assim como o teste do nado forçado. Cada camundongo foi suspenso pela cauda cerca de 58cm da superfície. O mesmo foi fixado por uma fita adesiva colocada aproximadamente a 1 cm a partir da ponta da cauda. O tempo de imobilidade foi cronometrado por 6 minutos e registrado. (STERU *et al.*, 1985)

Quadro 3 - Teste da Suspensão da Cauda



Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

#### 4.6.4 Teste da Preferência pela Sacarose

Esta metodologia é utilizada para avaliar o quadro anedônico do animal. Inicialmente os camundongos foram expostos durante 18 horas a duas garrafas contendo solução de sacarose (2%, v/v) se adaptando a água adocicada. Após este período os mesmos foram expostos, durante 18 horas, a duas garrafas contendo água sem adição de sacarose, voltando a ter o gosto original. Tendo os animais experimentado tanto a solução de sacarose, tanto a água, eles foram expostos a duas garrafas, em seguida, também por 18 horas, porém uma garrafa continha sacarose (2%, v/v) e outra água. Foi avaliado e registrado o consumo de preferência utilizando a seguinte fórmula (STREKALOVA & STEINBUSCH, 2010):

$$\text{Preferência pela Sacarose} = \frac{\text{Consumo de Sacarose}}{\text{Consumo de Água} + \text{Consumo de Sacarose}} \times 100$$

Quadro 4 - Teste da Preferência pela Sacarose



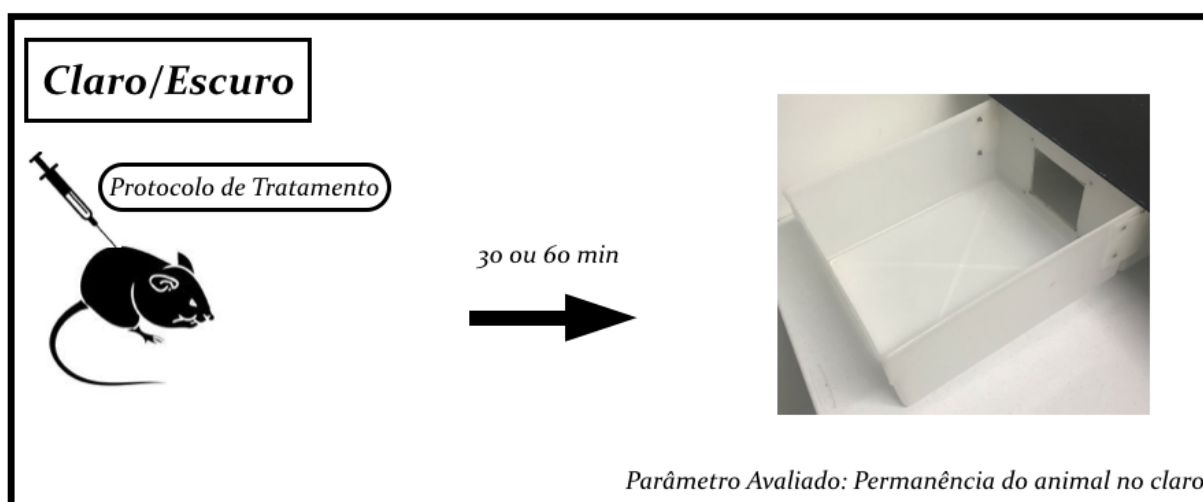
Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

#### 4.6.5 Teste da Preferência do Claro/Escuro

Cada animal foi colocado em uma caixa teste medindo, aproximadamente, 47 cm x 27 cm x 27 cm, dividida em duas áreas, uma escura e outra clara. As duas áreas eram conectadas por uma entrada medindo 7.5 cm x 7.5 cm podendo o animal se locomover livremente entre eles. A área clara recebia luz enquanto a parte escura, não. O camundongo foi colocado na área clara, longe da área escura, e foi mensurado o tempo de permanência de cada animal na

área clara. O teste tem como base as especificações no modelo previamente prescrito por Crawley & Goodwin (1980) com pequenas modificações e avalia a ansiedade dos animais e os efeitos ansiolíticos/ansiógenicos dos fármacos testados (CRAWLEY, 1981; MURRAY *et al.*, 2008).

Quadro 5 - Teste do Claro/Escuro



Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

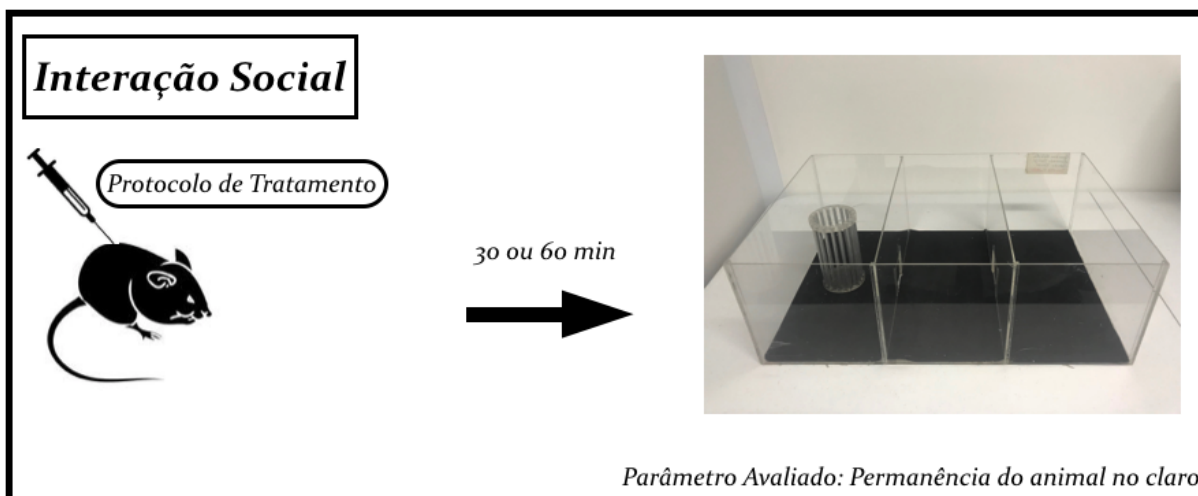
#### 4.6.6 Teste da Interação Social

Cada animal foi colocado, de forma individual, em uma caixa teste de acrílico medindo 60 cm x 40 cm x 40 cm, dividida em três câmaras de espaços iguais. A caixa teste possui uma entrada entre as câmaras, medindo 6 cm x 6 cm, tendo o animal livre acesso às três câmaras. Na câmara do meio foi posto o animal em análise. Na câmara direita, chamada de câmara social (SCham), uma gaiola de ferro foi colocada contendo um camundongo e na câmara esquerda uma gaiola igual, porém sem nenhum animal, chamada de câmara não social (NSCham). Durante cinco minutos o camundongo colocado na câmara central foi analisado e o tempo gasto nas três câmaras registrado (MOY *et al.*, 2004; RADYUSHKIN *et al.*, 2009). A preferência social foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Preferência Social (\%)} = \text{Tempo na } \underline{\text{SCham}} \text{ (\%)} - \text{Tempo na NSCham (\%)}$$



Quadro 6 - Teste da Interação Social

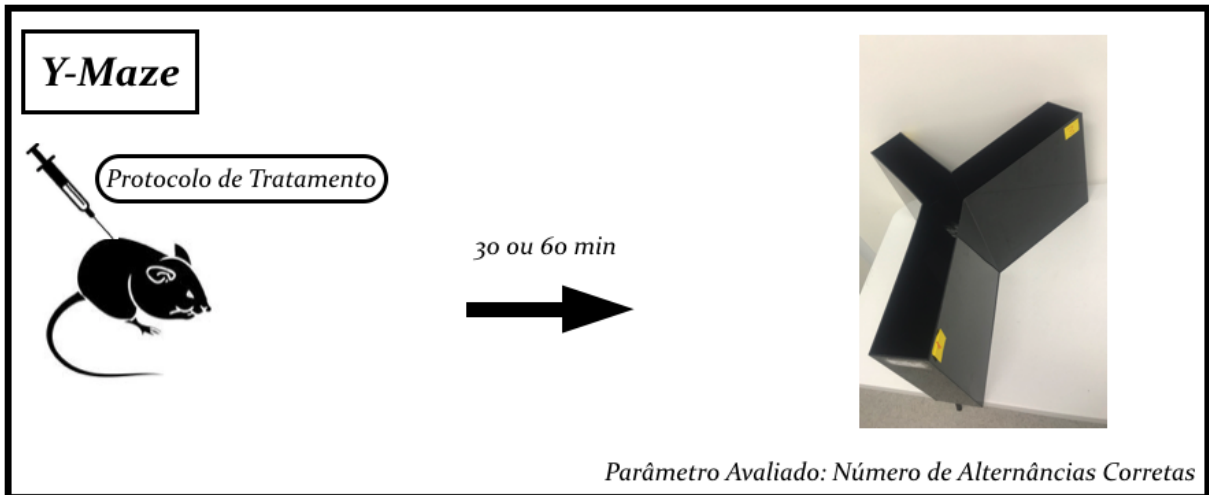


Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

#### 4.6.7 Y-Maze

O teste do Y-maze pode ser usado para mensurar memória a curto prazo, comportamento estereotipado e atividade locomotora geral (KOKKINIDIS *et al.*, 1976; ONAOLAPO *et al.*, 2012). O aparato montado foi composto por três braços de tamanho e cor iguais, formando um Y, com cada braço medindo 40 cm x 15 cm x 7 cm, feito de madeira. Todos os braços foram marcados com um número (1, 2 e 3), para identificação. Cada camundongo foi colocado em um dos braços, tendo ele a oportunidade de explorar e se locomover de forma livre por todo o aparato. Foi registrado o número de alternâncias de cada animal no aparato, onde a alternância é definida quando o animal entra nos três braços consecutivamente (i. e., o animal faz a seguinte sequência: 1 – 2 – 3 – 1 – 3 – 2 – 2 – 1 – 3, conta-se nove vezes nos braços realizando quatro alternâncias corretas). O cálculo das alternâncias considerou a razão entre as alternâncias corretas (n) e o número de visitas realizadas durante o período de observação (n-2), sendo o resultado multiplicado por 100 (YAMADA *et al.*, 1996; DALL'IGNA *et al.*, 2007).

Quadro 7 - Teste do Y-Maze

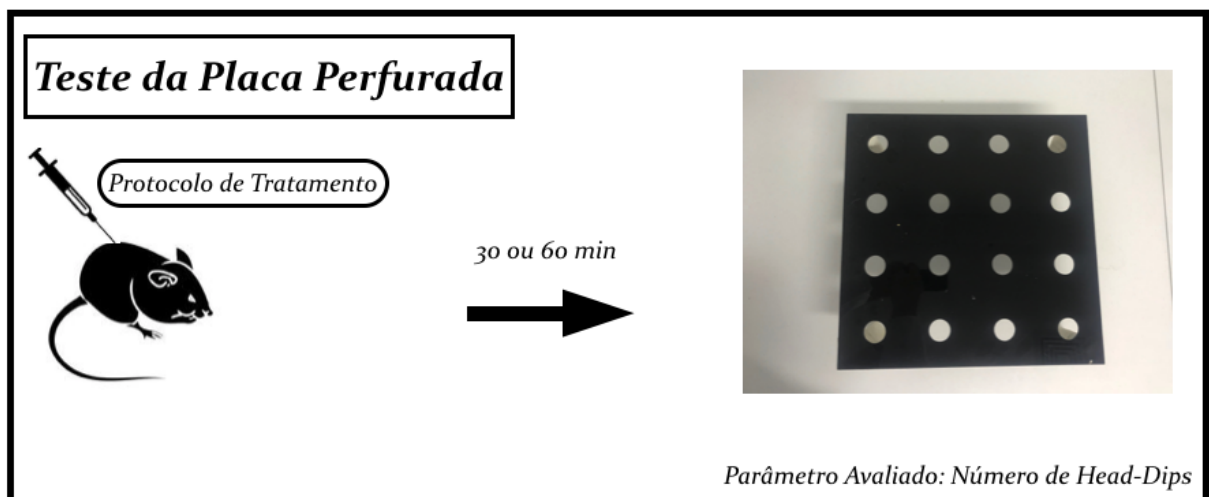


Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

#### 4.6.8 Teste da Placa Perfurada

O aparato utilizado foi uma placa furada, com medidas de 60 cm x 30 cm, contendo 16 buracos espaçados uniformemente. Utilizado para avaliar o comportamento exploratório em camundongos, foi idealizado por Clark, Koster e Person (1971). O parâmetro utilizado para análise foi o número de vezes que o animal introduziu a cabeça nos buracos (Head-Dips), durante o período de 5 minutos.

Quadro 8 - Teste da Placa Perfurada



Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

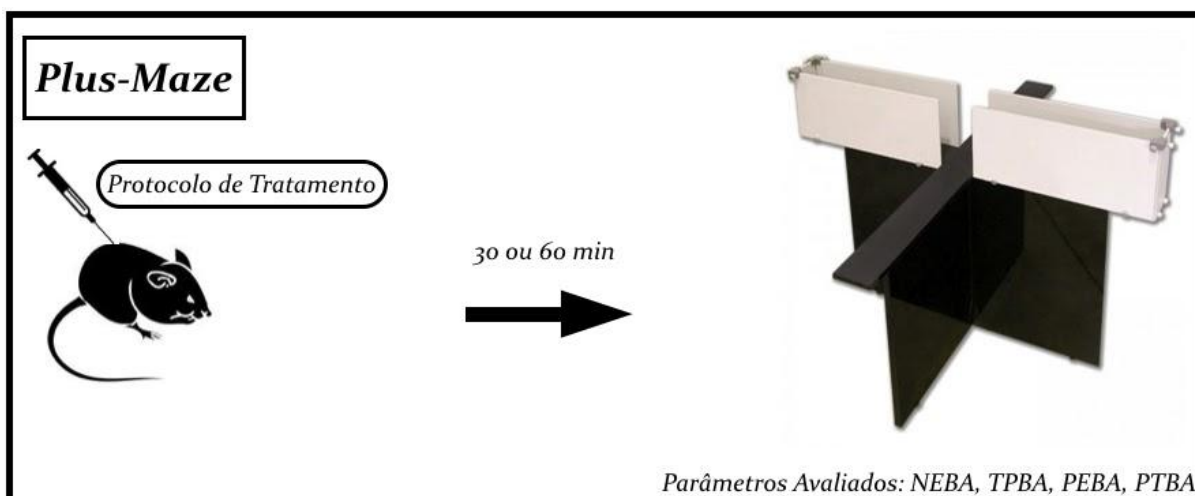
#### 4.6.9 Teste do Plus-Maze

O método proposto por Lister (1987) avalia o potencial efeito ansiolítico e ansiogênico da substância em teste. O aparato consiste de dois braços abertos, medindo 30 cm x 5 cm e dois braços fechados, medindo 30 cm x 5 cm x 25 cm. Ambos em posições opostas, dando formato a uma cruz elevada, suspensa a 45 cm do solo. Ambos os braços, tanto abertos quanto fechados, estão ligados por uma plataforma central, medindo 5 cm x 5 cm. Cada animal foi colocado na plataforma central com a cabeça virada para um dos braços fechados e o seu comportamento foi observado pelo período de 5 minutos. Foi avaliado o número de entradas e o tempo de permanência em ambos os braços abertos e fechados, porém para análise estatística os dados foram relacionados aos braços abertos. Dessa forma foi avaliado o número de entradas nos braços abertos (NEBA), porcentagem de entradas nos braços abertos (PEBA), tempo de permanência nos braços abertos (TBA) e porcentagem de permanência nos braços abertos (PTBA). Para calcular a PEBA e PTBA foram utilizadas as fórmulas abaixo:

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

$$PTBA = \frac{\text{Tempo nos Braços Abertos}}{\text{Tempo total (em ambos os braços)}} \times 100$$

Quadro 9 - Teste do Plus-Maze



Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

#### 4.7 Testes Neuroquímicos

##### 4.7.1 Dissecção Hipocampal

Os animais, após a realização dos testes comportamentais, foram sacrificados por guilhotina visando a preservação da neuroquímica cerebral do animal. Em seguida, após a decapitação, os encéfalos foram retirados imediatamente e colocados sobre papel alumínio, rente a uma placa de petri com gelo, para iniciar a dissecção. A região hipocampal foi retirada sendo em seguida produzido homogenatos cerebrais para análise dos níveis de BDNF. Ao final da dissecção, as áreas foram colocadas em *eppendorfs* devidamente identificados, pesados e conservados a  $-70^{\circ}$  C para uso posterior.

##### 4.7.2 Análise pela metodologia ELISA

Foi utilizada a metodologia preconizada pelo kit anti-BDNF Elisa sanduiche disponibilizado pelo fabricante Chemicon, EUA. A porção hipocampal foi homogeneizada em solução tampão de fosfato (PBS), com 1 mmol de fluoreto de fenilmetilsulfonilo (PMSF), 1 mmol de etileno-glicol-ácido tetraacético (EGTA). As placas de fundo plano foram revestidas por 24h com amostras na concentração de 1 : 2 em diluente com variação da curva de 7,8 a 500pg / ml de BDNF sendo elas lavadas por quatro vezes com o diluente da amostra. Foi utilizado um anticorpo monoclonal de coelho anti-BDNF diluído no diluente da amostra (diluição: 1:1000), e este foi adicionado em cada poço, sendo incubado por 3h na temperatura

ambiente. Após este procedimento, foi realizada uma lavagem e um conjugado de peroxidase com anticorpos anticoelho (diluição 1:1000) foi adicionado em cada poço e permaneceu incubado por uma hora a temperatura ambiente. Após estes procedimentos foi adicionado a solução de parada, composta por estreptavidina-enzima e a quantidade total de BDNF foi analisada na absorvância de 450 nm e expressa como pg de proteína por g de tecido. A curva padrão correlaciona a densidade óptica com a concentração de BDNF e a dosagem de proteínas total foi realizada seguindo a metodologia de Lowry, utilizando albumina sérica como padrão (FREY *et al.*, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2015)

### **4.7.3 Análise pela metodologia Western Blot**

Para avaliar a expressão protéica hipocampal desses alvos moleculares realizou-se o ensaio de Western Blotting. Seguiram-se sequencialmente as seguintes etapas: extração de proteínas, dosagem de proteínas e Western Blotting.

#### **4.7.3.1 Preparação do Extrato Total de Proteínas**

Os tecidos hipocampais foram homogeneizados manualmente em 2 mL de tampão de lise RIPA 01X (25 mM Tris-HCl pH 7,6; 150 mM NaCl; 5 mM EDTA; 1% NP-40; 1% triton-X- 100; 1% deoxicolato de sódio; 0,1% SDS ) e inibidor de protease (Sigma Aldrich, EUA, 1µL de inibidor de protease: 100µL de RIPA) usando um pistão de vidro (Potter). Os homogenatos foram centrifugados a 12.000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos, sendo os sobrenadantes, contendo o extrato de proteínas de todos os compartimentos celulares, coletados ao final do processo. Os pellets residuais foram descartados. A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Bradford descrito a seguir. Todos os procedimentos foram realizados com as amostras imersas em gelo, e em condições de boa refrigeração e condicionamento, visando a conservação dos mesmos.

#### **4.7.3.2 Método Bradford para dosagem de proteína**

A concentração de proteínas totais na amostra foi determinada pelo emprego de reagente de Bradford (Bio-Rad Protein Assay – Dye Reagent Concentrate - BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA). A ligação à proteína ocorre quando absorção máxima da solução ácida Coomassie Brilliant Blue G-250 muda de 465 para 595 nm. Foram pipetados 160 µL de amostra e 40 µL de solução de Bradford nas placas e a leitura foi feita por espectrofotômetro (595 nm), utilizando-se uma curva de calibração de albumina bovina sérica (BSA) de 0,2 a 1,0 mg / mL.

#### 4.7.3.3 Western Blotting

Inicialmente, preparou-se 50 µg de proteína referente a cada amostra, adicionando tampão da amostra (BioRad, EUA 65,8 mM Tris-HCl, pH 6,8; 26,3% glicerol; 2,1% SDS; 0,01% azul de bromofenol) e β-mecaptoetanol (BioRad, EUA), sendo colocado no aparelho vórtex por 10 segundos, aquecendo no banho maria (95°C, 5 min) e centrifugado (10000 rpm, 4°C, 30 segundos). Em seguida, realizou-se a eletroforese vertical de proteínas em gel de poliacrilamida-SDS (SDS-PAGE) a 60V nos primeiros 15 min para deposição das amostras no fundo do poço e 120V para o restante da corrida, onde foi utilizado o gel a 10% e tampão de corrida (25 mM Tris; 192 mM glicina; 1% SDS). Foi usado o Precision Plus Protein™ Kaleidoscope™ (Biorad, EUA) como padrão de peso molecular de proteínas.

Após a corrida, efetuou-se a transferência por eletroforese das proteínas do gel para a membrana de PVDF (BioRad, EUA, Fluoreto de polivinilideno) a 100V por duas horas em tampão de transferência (25 mM Tris; 192 mM glicina; 20% metanol). Após esta etapa, as membranas foram bloqueadas por uma hora em agitação constante, para reduzir as ligações inespecíficas, com 5% BSA (Sigma-Aldrich, EUA) diluído em tampão salina Tris-HCl suplementado com Tween 20 (TBST- 20 mM Tris pH 7,5; 150 mM NaCl; 0,1% Tween 20). Em seguida, realizou-se a lavagem das membranas com TBST, sendo três lavagens por 10 minutos cada.

Na etapa seguinte, as membranas foram incubadas, *overnight* a 4° C sob agitação constante, com o anticorpo primário mouse rabbit anti-BDNF monoclonal IgG (1:1000, ANT-010, Alomone Labs, Israel) diluído em 1% de BSA em TBS-T. Após esta etapa, realizaram-se três lavagens de 10 min cada com TBS-T. As membranas foram incubadas com o anticorpo secundário HRP-goat anti-rabbit IgG (1:2000, Invitrogen, USA) por duas horas em temperatura ambiente. Decorrido este tempo, as membranas foram lavadas quatro vezes, com duração de 10 minutos cada, com TBS-T. Enfim, adicionou-se o reagente de quimioluminescência (BioRad, EUA, Clarity western ECL blotting substrate) e as membranas foram agitadas por 5 minutos. As imagens das bandas foram capturadas por um sistema de ChemiDoc MP System (Biorad, EUA).

A densidade das bandas foi mensurada por meio do software ImageLab Biorad (Biorad, EUA). As bandas referentes às formas madura e precursora do BDNF foram identificadas pelo seu tamanho respectivo, 15 e 35 kDa, seguindo o padrão molecular de proteínas usado no ensaio.

## 5 RESULTADOS

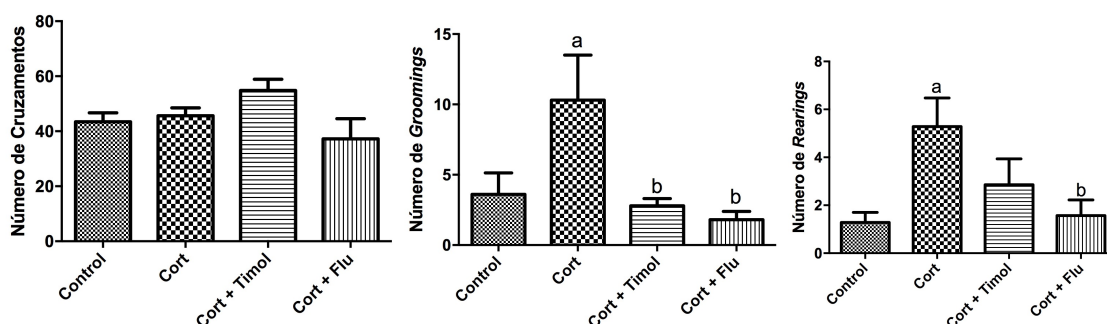
Os Resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM de  $n = 8 - 12$  animais/grupo. As análises estatísticas foram determinadas pela metodologia de *one-way* ANOVA, seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Para todas as análises, a partir de  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

### 5.1 Testes Comportamentais

#### 5.1.1 Teste do Campo Aberto

Os animais submetidos ao teste do campo aberto foram analisados referente a sua atividade locomotora, aferida pelo número de *crossings*, não sendo observado nenhuma alteração significativa em nenhum dos grupos (Gráfico 1). Quando os animais foram tratados com a corticosterona, observou-se que o número de groomings e rearings aumentaram, significativamente ( $p < 0,05$  para ambos os parâmetros) frente ao grupo controle. O aumento observado número de *groomings* foi revertido pela administração de Timol (Cort + Timol) e Fluvoxamina (Cort + Timol), enquanto no número de *rearings* notou-se uma redução significativa deste parâmetro apenas com administração de Fluvoxamina (Cort + Flu) ( $p < 0,05$ ).

Gráfico 1 - Efeito da administração crônica de CORT sobre os animais expostos ao teste do campo aberto.



Dados obtidos através da análise do teste campo aberto, onde no número de *crossings* e *rearings* do grupo Cort + Timol não houve diferença significativa, mas houve diferença no parâmetro de *grooming*. Valores de significância: <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs Grupo CORT e <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Grupo Controle.

Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

#### 5.1.2 Teste do Nado Forçado

O Gráfico 2 demonstra que os animais tratados com Timol (50 mg/kg) e fluvoxamina (50mg/kg) apresentaram, de forma significativa ( $p < 0,001$ ), menor tempo de imobilidade quando comparados com os animais tratados apenas com corticosterona

(20mg/Kg). Já o grupo Cort, em relação ao grupo controle, passou a maior parte do tempo imóvel ( $p < 0,001$ ).

Gráfico 2 - Avaliação da indução do quadro depressivo em camundongos sobre efeito de administração crônica de CORT, por meio do tempo de imobilidade.

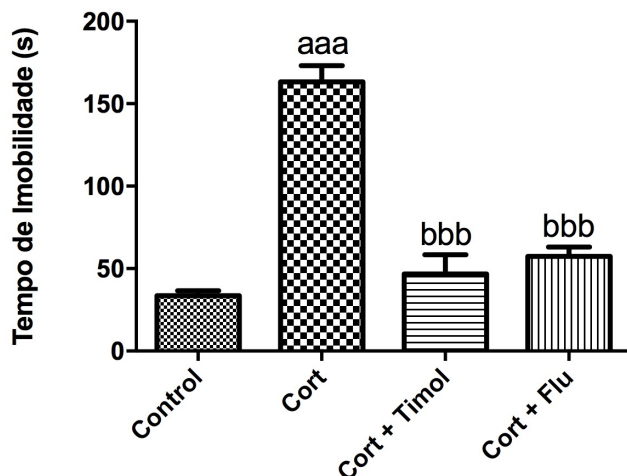


Gráfico obtido através da análise do teste do nado forçado. Grupo CORT + Timol apresentou menor tempo de imobilidade, de forma significativa, frente ao grupo Cort. Valores de significância: <sup>bbb</sup> $p < 0,001$  vs Grupo CORT e <sup>aaa</sup> $p < 0,001$  vs Grupo Controle.

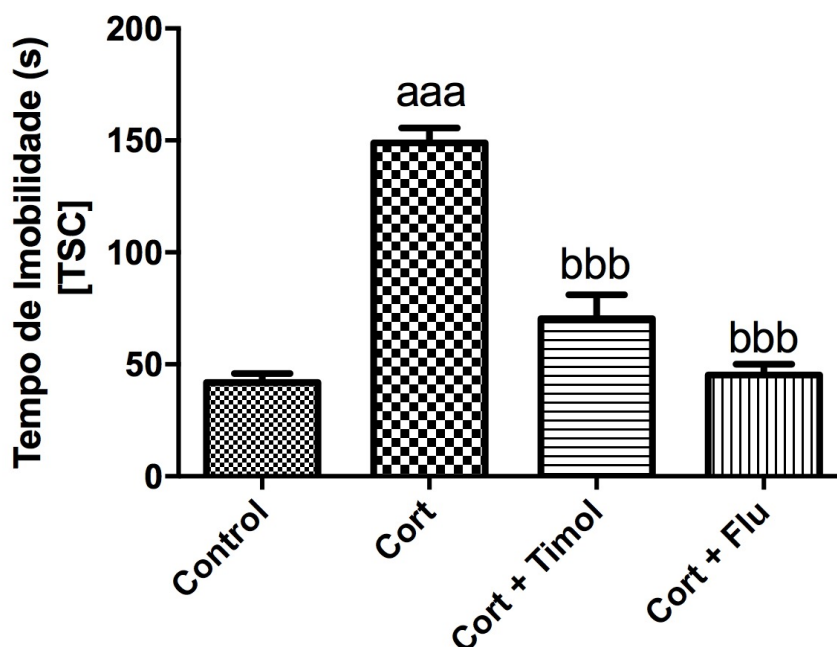
Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

### 5.1.3 Teste da Suspensão da Cauda

O parâmetro avaliado no teste da suspensão da cauda foi o tempo de imobilidade do animal quando o mesmo encontrava-se suspenso. O grupo tratado com Timol (50mg/kg) e fluvoxamina (50mg/kg) diminuiu significativamente o tempo de imobilidade ( $p < 0,001$ ) frente ao grupo tratado com Cort (20mg/kg). O Gráfico 3 detalha os resultados:



Gráfico 3 - Análise do efeito do Timol e da FLU por via oral pelo teste da Suspensão da Cauda pela avaliação do tempo de imobilidade.



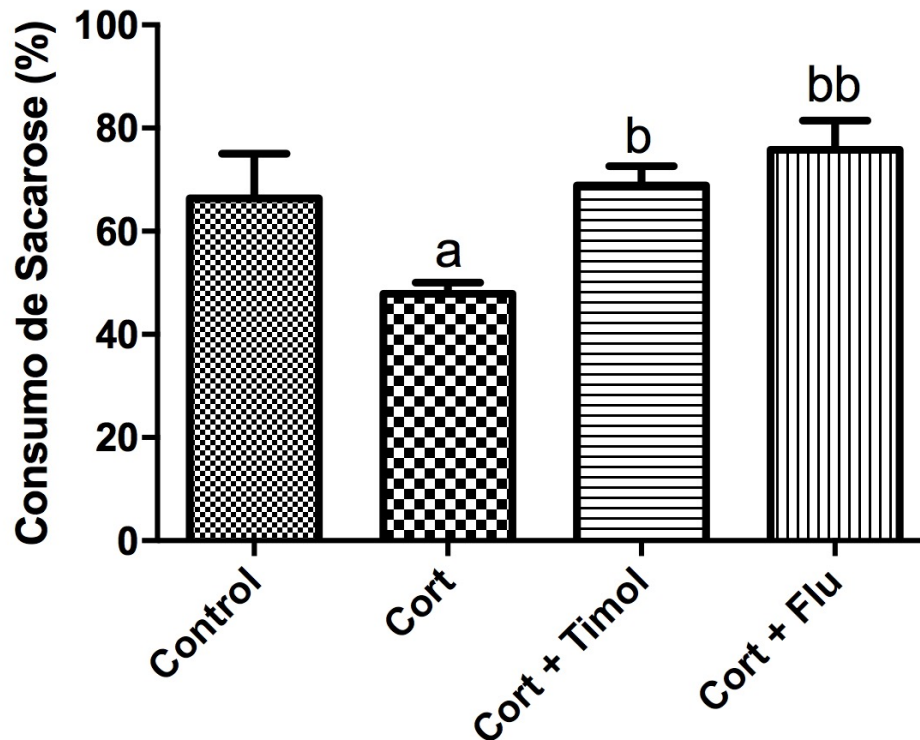
Resultados obtidos no teste de suspensão da cauda [TSC] onde o grupo Cort + Timol apresentou resultado significativo frente ao grupo Cort no parâmetro tempo de imobilidade. Valores de significância: <sup>bbb</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo CORT e <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo Controle.

Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa.

#### 5.1.4 Teste da Preferência pela Sacarose

O grupo que recebeu apenas a corticosterona (20mg/kg) teve uma considerável perda de interesse pela sacarose quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Os grupos tratados com timol ( $p < 0,05$ ) e fluvoxamina ( $p < 0,01$ ) reverteram, significativamente, o desinteresse pela sacarose frente ao grupo tratado com corticosterona. A reversão do quadro anedônico pode ser visualizado na Gráfico 4.

Gráfico 4 - Resultados expressos em porcentagem dos efeitos do Timol sob a preferência pela sacarose no teste que mensura o quadro anedônico.



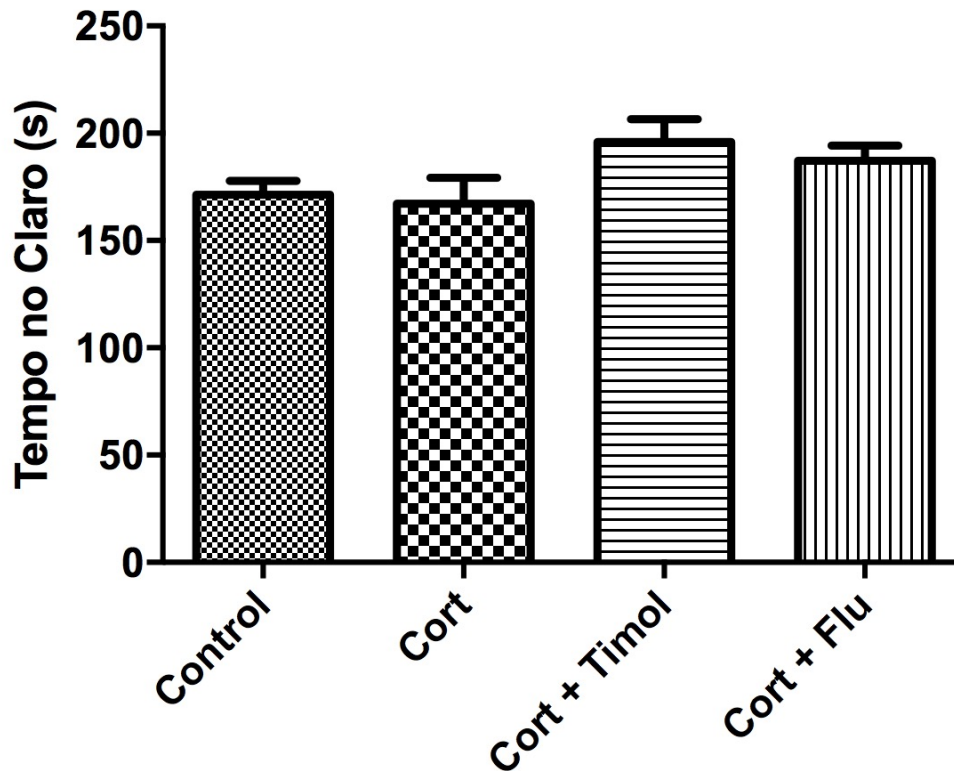
Dados obtidos através da análise do teste de preferência pela sacarose. Grupo Cort + Timol também apresentou significância estatística frente ao grupo deprimido Cort. Valores de significância: <sup>b</sup>  $p < 0,05$ , <sup>bb</sup>  $p < 0,01$  vs Grupo CORT e <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs Grupo Controle.

Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa

### 5.1.5 Teste do Claro/Escuro

No teste do Claro/Escuro, embora sem valores significantes, estatisticamente, observou-se uma tendência, ilustrada pelo Gráfico 5, do grupo Cort + Timol permanecer mais tempo na câmara clara do que na escura, juntamente com o grupo Cort + Flu. Este teste mensura a ansiedade do animal, uma vez que propõe uma realidade aconchegante (escura) e outra mais desafiadora (clara), podendo o animal preferir onde se sente melhor, sendo avaliada assim a sua ansiedade e insegurança.

Gráfico 5 - Avaliação dos efeitos do timol frente ao modelo de administração crônica de CORT pelo teste do Claro/Escuro.



Resultados obtidos pelo teste do Claro/Escuro onde não houveram dados significativos nos quatro grupos analisados. Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa

### 5.1.6 Teste da Interação Social

O Gráfico 6 demonstra que o grupo tratado com corticosterona por 14 dias e, no 14º dia, iniciado o tratamento com timol (Cort + Timol) e Fluvoxamina (Cort + Flu) mostrou maior interação social quando comparado ao grupo tratado, apenas, com a corticosterona. Já a CORT quando comparada ao controle, apresentou menor interação social ( $p < 0,001$ ).

Gráfico 6 - Avaliação da capacidade social de animais submetidos a administração crônica de CORT e tratados com Timol e Fluvoxamina pelo teste da Interação Social.

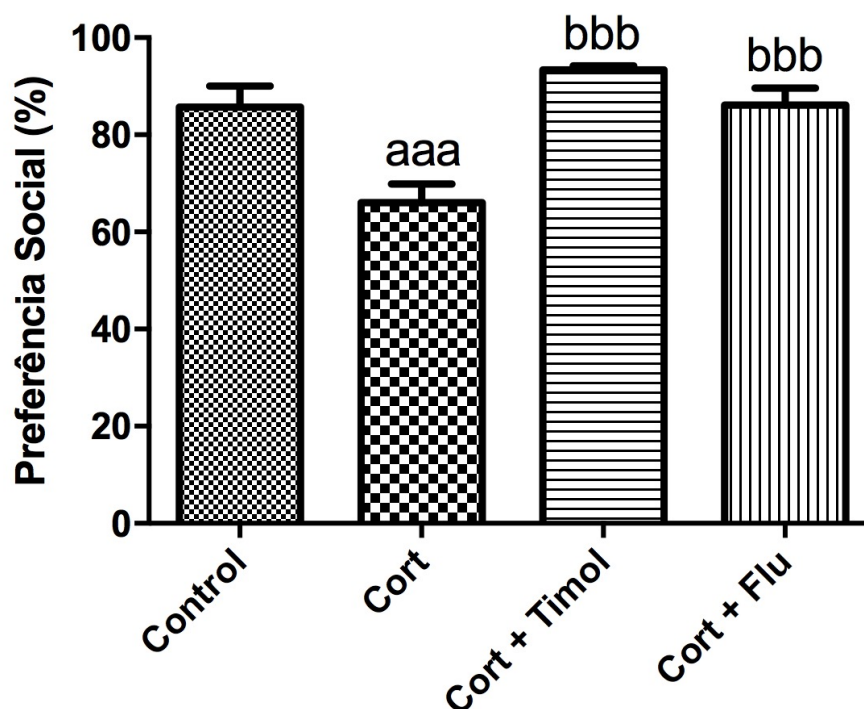


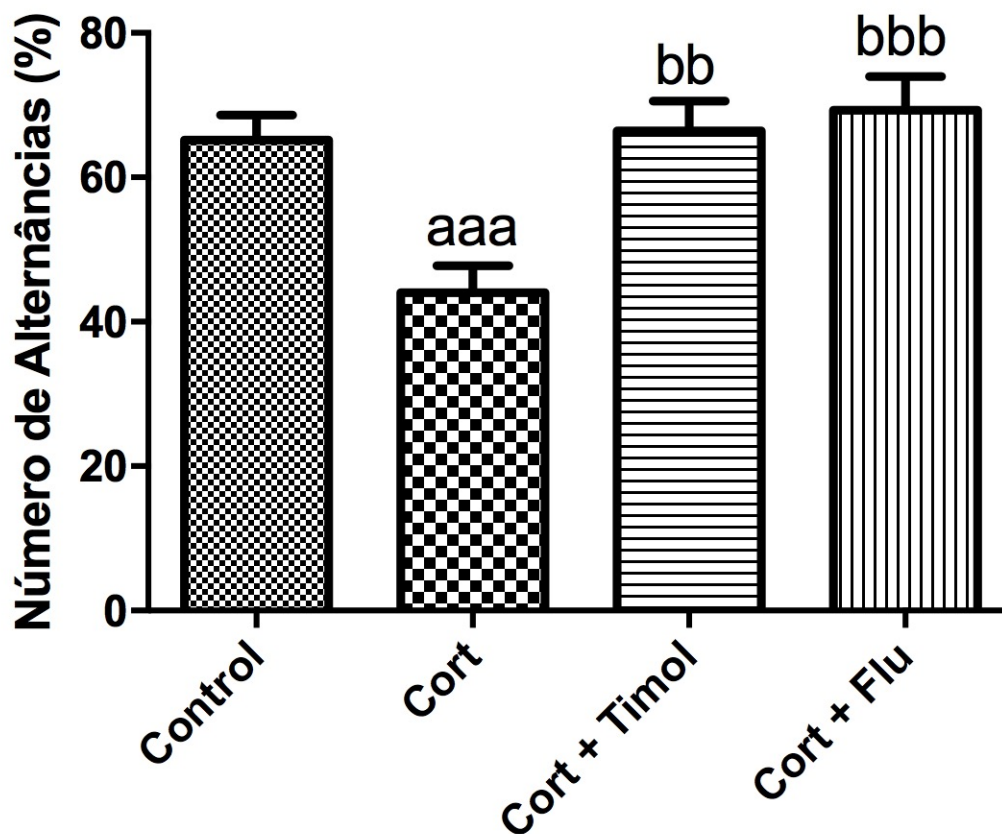
Gráfico expressando a análise feita dos quatro grupos do estudo frente a interação social, onde o grupo Cort + Timol apresentou-se de forma significativa frente ao grupo depressivo Cort. Valores de significância: <sup>bbb</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo CORT e <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo Controle.

Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa

### 5.1.7 Teste do Y-Maze

Avaliou-se a memória curta dos animais submetidos ao tratamento crônico de corticosterona por 23 dias, pelo teste do Y-Maze, onde observou-se uma recuperação significativa da memória ( $p < 0,01$ ) do grupo tratado com Timol frente ao grupo tratado, apenas, com corticosterona. Houve uma diminuição do número de alternâncias do grupo Cort frente ao grupo Controle ( $p < 0,001$ ) e uma reversão no número de alternâncias pelo grupo e Cort + Flu ( $p < 0,001$ ), ilustrado no Gráfico 7.

Gráfico 7 - Número de entradas corretas nos braços do aparato Y-Maze visando a avaliação da memória.



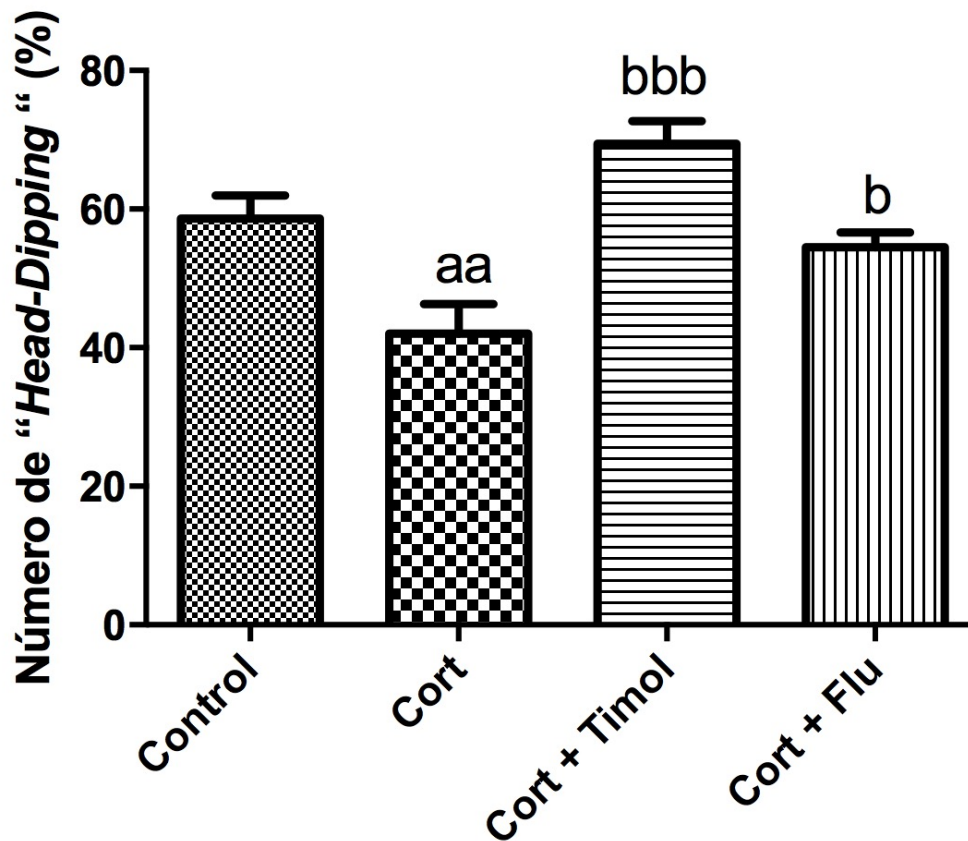
Porcentagem do número de alternâncias obtidas na análise dos quatro grupos estudados, onde o grupo Cort + Timol apresentou significância frente ao grupo Cort depressivo. Valores de significância: <sup>bb</sup>  $p < 0,01$  e <sup>bbb</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo CORT e <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo Controle.

Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa

### 5.1.8 Teste da Placa Perfurada

No teste da placa perfurada a atividade exploratória dos animais é avaliada e, dentro deste parâmetro, tanto o grupo tratado com timol (50mg/kg) como o grupo tratado com fluvoxamina (50mg/kg) aumentaram significativamente ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente) o número de "*Head-dips*", quando comparados ao grupo tratado, apenas, com corticosterona (20mg/kg). Este que por sua vez diminuiu significativamente este parâmetro quando comparado ao controle. Como mostra o Gráfico 8.

Gráfico 8 - Avaliação da atividade exploratória dos animais depressivos sob efeito do Timol e Fluvoxamina.



Porcentagem do número de alternâncias obtidas na análise dos quatro grupos estudados, onde o grupo Cort + Timol apresentou significância frente ao grupo Cort depressivo. Valores de significância: <sup>b</sup>  $p < 0,05$  e <sup>bbb</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo CORT e <sup>aa</sup>  $p < 0,01$  vs Grupo Controle.

Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa

### 5.1.9 Teste do Plus-Maze

Os dados no teste do Plus-Maze mostraram que a administração de corticosterona, por 23 dias, causou notória redução dos parâmetros NEBA ( $p < 0,001$ ), PEBA ( $p < 0,005$ ), TBA ( $p < 0,001$ ), PTBA ( $p < 0,001$ ) do grupo Cort em comparação com o grupo Controle. Os grupos tratados com timol (Cort + Timol) e fluvoxamina (Cort + Flu) reverteram, de forma significativa, todos os parâmetros analisados, quando comparados com o grupo tratado apenas com corticosterona, como ilustra a Tabela 2.

Tabela 2 - Efeitos do Timol mensurados pelo teste Plus-Maze e expresso em número de entradas nos braços do aparato, tanto em porcentagem quanto em números totais de vezes.

Grupo	NEBA	PEBA	TBA	PTBA
Controle	8,857 ± 0,5533	41,44 ± 2,140	61,83 ± 5,237	34,76 ± 1,877
Cort	3,429 ± 0,5714 <sup>aa</sup>	25,94 ± 2,196 <sup>a</sup>	34,58 ± 3,630 <sup>aaa</sup>	19,37 ± 2,222 <sup>aaa</sup>
Cort + Timol	5,667 ± 0,9129 <sup>b</sup>	53,44 ± 8,015 <sup>bbb</sup>	53,33 ± 6,486 <sup>b</sup>	28,96 ± 2,644 <sup>bb</sup>
Cort + Flu	8,571 ± 0,8123 <sup>bbb</sup>	40,26 ± 1,857 <sup>b</sup>	64,50 ± 3,868 <sup>bbb</sup>	32,77 ± 1,755 <sup>bbb</sup>

Análise do tempo dos resultados obtidos do teste Plus-Maze, onde o grupo Cort – Timol apresentou significância em todos parâmetros analisados pelo teste frente ao grupo Cort. Valores de significância: <sup>b</sup>  $p < 0,05$ , <sup>bb</sup>  $p < 0,01$  e <sup>bbb</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo CORT e <sup>a</sup>  $p < 0,05$ , <sup>aa</sup>  $p < 0,01$  e <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  vs Grupo Controle.

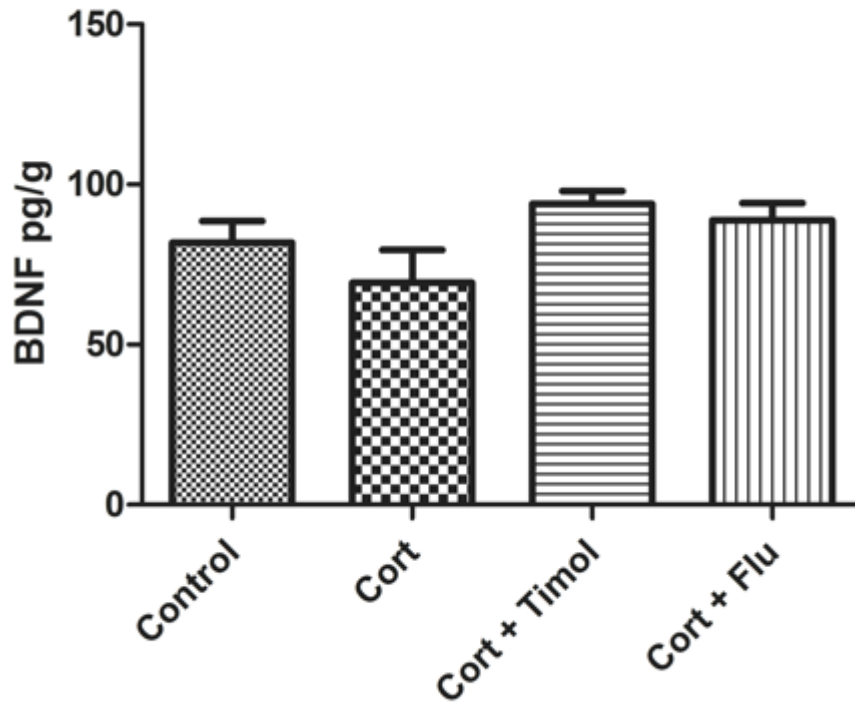
Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa

## 5.2 Testes Neuroquímicos

### 5.2.1 Análise do BDNF

Foi mensurado os níveis de BDNF totais pela metodologia ELISA (sanduíche), assim como a forma pro (pro-BDNF) e madura do BDNF (mBDNF) pela metodologia Western Blot. Pela metodologia ELISA, o Timol apresentou uma tendência a aumentar os níveis de BDNF quando comparado com a corticosterona, como mostra o Gráfico 9, corroborando com a metodologia Western Blot, onde o Timol, de forma significativa, aumentou a expressão de mBDNF frente a corticosterona, expresso pelo gráfico 10.

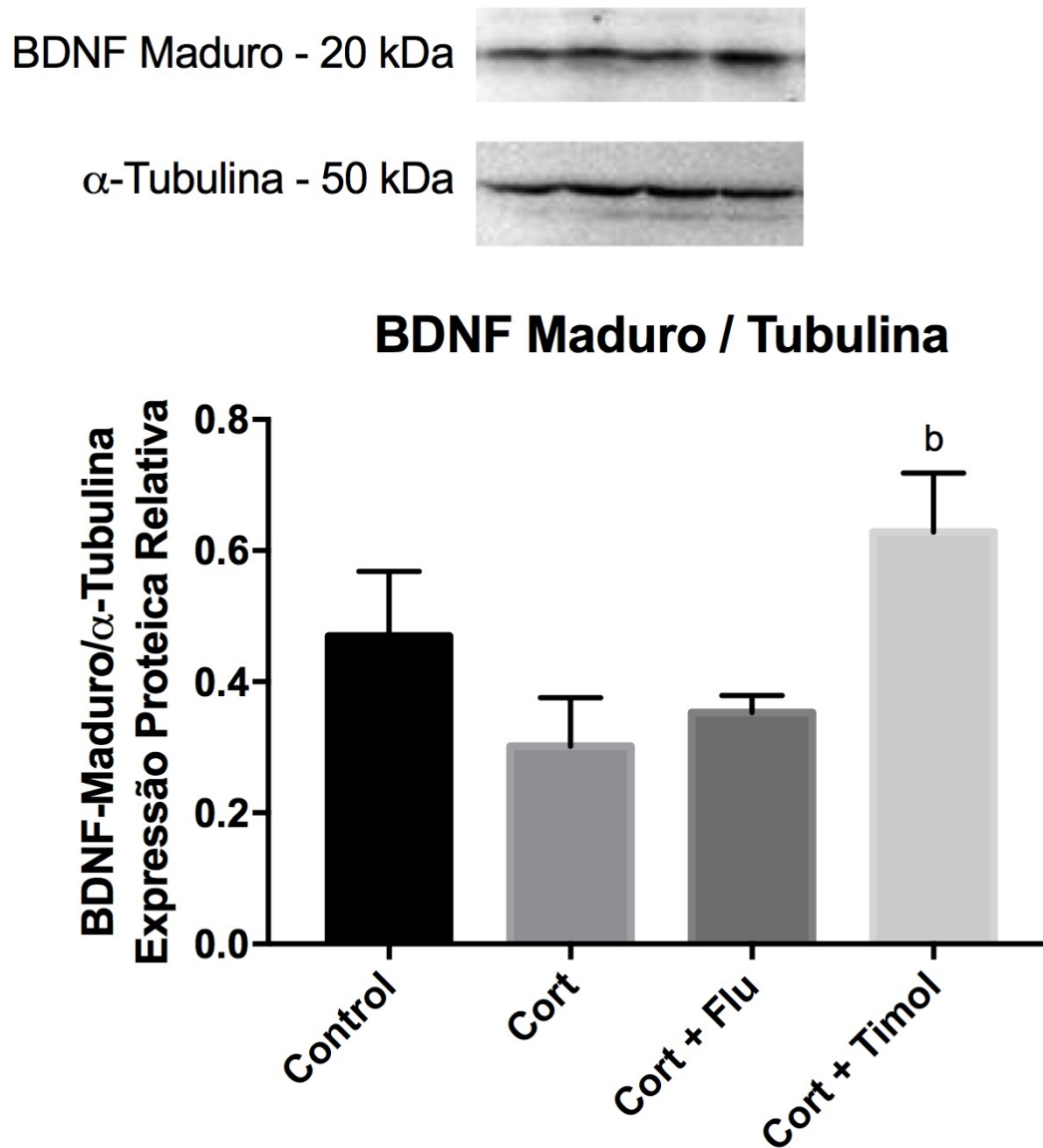
Gráfico 9 - Mensuração dos níveis de BDNF na região hipocampal de camundongos submetidos ao modelo de estresse crônico e tratados com Timol ou Fluvoxamina pela metodologia ELISA.



Avaliação da quantidade em pictogramas de BDNF por grama de tecido – Metodologia Elisa. O grupo Cort + Timol mostrou tendência a reverter os níveis do timol frente ao grupo Cort nos resultados. Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa



Gráfico 10 - Mensuração dos níveis de BDNF na região hipocampal de camundongos submetidos ao modelo de estresse crônico e tratados com Timol ou Fluvoxamina pela metodologia Western Blot.



Avaliação da quantidade em pictogramas de BDNF por grama de tecido – Metodologia Western Blot. O grupo Cort + Timol mostrou significativa melhora da neurogênese ao expressar mais mBDNF que o grupo Cort nos resultados. Valores de significância: <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs Grupo CORT.

Fonte: Elaborado pelo autor da pesquisa

## 6 DISCUSSÃO

Infelizmente a depressão é uma condição muito presente na sociedade possuindo curso crônico e recorrente (FLECK *et al.*, 2009; KESSLER *et al.*, 2003). Não raro é a frequência com que se associa a incapacitação funcional e comprometimento da saúde física e mental dos pacientes que a detém. (FLECK *et al.*, 2009).

Vários estudos relatam que o modelo de estresse crônico, proporcionado pela administração de corticosterona, influencia negativamente os parâmetros neurogênicos vinculados ao BDNF ocasionando uma série de comportamentos sintomatológicos do TDM, tais como déficits de memória, a ansiedade, anedonia e interação social. (VASCONCELOS, 2015; FERNANDES, 2012; LOPES, 2017).

Frente a esta problemática, o presente trabalho demonstrou, de forma positiva, que a administração por via oral de timol (50mg/kg), pode diminuir vários sintomas relacionados ao quadro depressivo no modelo crônico de indução da doença.

No teste de suspensão da cauda, um dos mais utilizados para screening de drogas que apresentam efeito antidepressivo (BASSO *et al.*, 2009), o timol teve a capacidade de reduzir o tempo de imobilidade dos animais tratados, mostrando que a ação depressiva, primeiramente induzida pela corticosterona, reduziu significativamente. O desamparo pôde ser analisado e mensurado neste teste e no nado forçado, onde ambos os resultados corroboram para uma redução expressiva do tempo de imobilidade dos animais. Sendo os testes anfitriões de situações que causam estresse e ativam o gatilho de comportamento luta/fuga, podemos considerar que a imobilidade está, diretamente, relacionada com desespero e depressão, onde o timol se mostrou eficaz na remissão deste parâmetro (STERU *et al.*, 1985; SOUSA *et al.*, 2012; VASCONCELOS *et al.*, 2015).

O termo anedonia foi primeiramente definido como sendo a inabilidade de sentir prazer, tendo sido descrita pela primeira vez por Ribot (1896). A anedonia pode ser caracterizada tanto como traço de personalidade do paciente, como pertencente ao quadro sintomatológico presente em várias patologias de cunho psiquiátrico. (LOAS AND PIERSON, 1989; HATZIGIAKOUMIS *et al.* 2011). Atualmente o DSM – 5 (2013) além de definir a anedonia como sendo a capacidade reduzida de ter prazer resultante de estímulos positivos, ou degradação na lembrança do prazer anteriormente vivido, relata que a perda de interesse ou prazer é um dos sintomas cruciais para o diagnóstico da depressão. Sendo

assim, o timol apresentou um resultado bem expressivo quando comparado com o grupo tratado com a corticosterona fazendo referência a um dos principais sintomas apresentados no quadro depressivo maior. Estes resultados abrem portas para o timol como uma possível escolha terapêutica em um futuro onde mais estudos sejam feitos com o objetivo de avaliar a segurança e eficácia deste fármaco.

No teste claro/escuro o presente trabalho não mostrou uma diferença significativa entre os animais tratados com Timol e Fluvoxamina e animais tratados com corticosterona. Analisando minuciosamente o gráfico obtido neste teste pode-se notar um leve aumento no tempo de permanência dos animais na arena clara, do grupo tratado com Timol frente aos demais, o que corrobora com os efeitos ansiolíticos desta droga observados no Plus-Maze. Segundo Bourin & Hascoet (2003) este teste é excelente para mensurar os efeitos ansiolíticos e ansiogênicos dos fármacos testados, de forma simples, sem sofrimento animal e a baixo custo, porém este teste pode produzir resultados falso-positivos se a droga se tratar de um estimulante geral. Tendo isso em vista podemos sanar esta hipótese utilizando outro teste, no caso, o campo aberto. Descrito primeiramente por Hall (1934), o teste consiste em avaliar uma série de parâmetros, dentre eles, hiperatividade (FUKISHIRO *et al.*, 2008), comportamento exploratório (ALVAREZ *et al.*, 2006; HABR *et al.*, 2011) e atividade locomotora (PATTI *et al.*, 2005). Não tivemos nenhum resultado com significância no padrão de crossings avaliados, podendo concluir que a corticosterona, assim como a fluvoxamina e o timol, não interferiram na atividade locomotora dos animais.

A literatura científica possui uma divergência entre a interpretação do parâmetro *Rearing*. Alguns autores afirmam que este tipo de comportamento possa ser definido como ansiolítico (BORTA, A., SCHWARTING, 2005) outros como ansiogênico (COSTALL *et al.*, 1989; SEIBENHENER & WOOTEN, 2015). Os resultados apresentaram uma redução significativa deste parâmetro no grupo tratado com fluvoxamina em comparação com o grupo corticosterona. Neste parâmetro o timol não apresentou alteração significativa, porém notou-se uma tendência de redução do *Rearing*. Levando em conta o conjunto de informações no presente trabalho, onde os animais tratados com corticosterona se apresentaram com comprovada depressão e ansiedade, pode-se afirmar que o aumento do valor do *Rearing* no grupo Cort exprime um padrão de ansiedade e que o fármaco Fluvoxamina reduziu este parâmetro.

Podemos citar outras pesquisas feitas em nosso laboratório, onde realizou-se o teste do campo aberto, após o tratamento agudo com timol e obteve-se resultados semelhantes aos do

presente estudo, uma vez que no desenho experimental da pesquisadora, onde ela utiliza o diazepam como droga padrão, o Timol apresentou um possível efeito ansiolítico sem demonstrar ação sedativa (FERNANDES, 2012).

Já na variável *Grooming*, Archer (1973) afirma ser um parâmetro elevado em roedores apreensivos. No presente trabalho, o grupo Timol apresentou redução significativa frente a esta variável, corroborando com o processo de remissão do quadro depressivo/ansioso, tendo em vista que, além deste dado, mostrou-se que o Timol conseguiu reduzir o tempo de imobilidade do Teste do Nado Forçado e da Suspensão da Cauda.

O aumento do número de *grooming*, especialmente em roedores, pode ser um padrão vinculado ao aumento do estresse, assim como dos níveis de ansiedade existindo a possibilidade deste cenário ser instaurado como espelho da neurotransmissão dopaminérgica na região do núcleo accumbens (SERAFIM; FELÍCIO, 2001; FERNANDES, 2012)

Como era esperado, no teste de interação social os antidepressivos tiveram uma resposta apreciável. A fluvoxamina possui ação contra vários aspectos do distúrbio ansioso, como por exemplo, desordens de pânico, distúrbio obsessivo-compulsivo e distúrbios de ansiedade social (IRONS, 2005). No nosso estudo, tanto o Timol como a Fluvoxamina aumentaram a interação social, reafirmando a sua ação antidepressiva.

Segrin (2000) afirma que a combinação de deficiências com as habilidades sociais e eventos negativos que ocorrem durante a vida são fatores que corroboram para a instalação do quadro depressivo. Já Bolsoni-silva (2016), em análise do estudo de Segrin (2000), conclui que um bom repertório de habilidades de cunho social ajuda o indivíduo a passar por eventos estressantes, uma vez que a capacidade do indivíduo de identificar a quantidade de suporte social necessário para transpor um evento, desta magnitude, é afetada pela sua interação social. Os autores relatam ainda que déficits em habilidades sociais podem estar associados, ou ainda se associar ao quadro depressivo.

O teste do Y Maze é muito utilizado para analisar o comportamento explorativo, aprendizado e memória (JING *et al.*, 2008; CAI *et al.*, 2013; SIMPLICE *et al.*, 2014). Segundo Yan e colaboradores (2017) o teste pode aferir o funcionamento da memória espacial imediata, esta última sendo classificada como um tipo de memória curta. Alguns estudos mostram que quando os níveis de BDNF em camundongos está baixo tem um déficit de memória e o teste do Y-Maze refletiu esta condição, resultando em comprometimento da cognição junto com sintomas de depressão (YAN *et al.*, 2017). Nossos resultados somam aos estudos supracitados, pois, de forma expressiva, o Timol foi

capaz de melhorar o aspecto de memória curta dos animais tratados com Cort, ao passo que a Fluvoxamina se mostrou mais expressiva ainda neste quesito.

Fica claro que, mesmo frente a uma diminuição, os níveis de BDNF podem alterar a memória curta de forma bem significativa. Não obstante pode-se citar a hipótese neurotrófica depressiva, onde os níveis de BDNF estão diminuídos e o tratamento com antidepressivos alivia o comportamento depressivo e melhora os níveis de BDNF em resposta (LEE; KIM 2010; LENART *et al.*, 2016).

Quando analisou-se os níveis de BDNF via metodologia ELISA conseguiu-se visualizar uma tendência dos animais tratados com Timol de restaurar as concentrações deste fator neurotrófico, já quando analisamos pela metodologia de Western Blotting podemos confirmar este aumento de concentração, justificando a memória mensurada pelo Y Maze. O inverso também ocorre, quando o grupo tratado apenas com Cort aparentou, de forma tendenciosa, reduzir os níveis de BDNF, sendo demonstrado pelo Y Maze um dano na memória de forma apreciável e significativa. O BDNF é membro da família das neurotrofinas, as quais são responsáveis pela regulação da diferenciação neuronal e da plasticidade sináptica, dois processos complexos que implicam diretamente na memória e no aprendizado ao longo da vida (AZEREDO *et al.*, 2017, BEKINSCHTEIN P, CAMMAROTA M, MEDINA J.H., 2014).

Com a ativação proporcionada pela BDNF, Huang e Reichardt (2003) atestam em sua revisão que os receptores TrkB ativam várias proteínas G, incluindo Ras, Rap-1 e a família Cdc-42/Rac-Rho, assim como os mecanismos regulados pela MAP quinase (MAPK), PI3-quinase (PI3) e fosfolipase- $C\gamma$  (PLC $\gamma$ ). Várias são as vias de sinalização intracelular envolvidas na sobrevivência neuronal vinculadas ao BDNF, porém a via ERK/Proteína ligada ao fator de transcrição do AMPc (CREB, do inglês, cAMP-Response Element Binding) e PI3/Akt são as mais importantes para as funções desta neurotrofina.

A literatura e vários estudos feitos em nosso laboratório apontam o BDNF como sendo uma possível molécula vinculada a fisiopatologia de transtornos relacionados ao estresse, como é o caso da depressão. Níveis de BDNF foram encontrados em baixa expressão quando os animais foram submetidos a modelos de estresse crônico, como o da corticosterona, culminando assim no quadro depressivo. Tais níveis também são relatados em baixas concentrações em áreas cerebrais de vítimas suicidas, diagnosticadas com TDM. Em pacientes que receberam tratamento com antidepressivos a literatura relata a existência de um aumento expressivo desta neurotrofina em cérebros *post-mortem* de pacientes, (CHEN *et al.*,

2001; ROCERI *et al.*, 2002; CASTREN *et al.*, 2007; FORTUNATO, 2009; VASCONCELOS, 2015; LOPES, 2017).

Nibuya e colaboradores (1995), foram os pioneiros a demonstrar que o tratamento crônico com antidepressivos de vários tipos, incluindo os ISRS, aumentam a expressão hipocampal de BDNF. Corroborando com estes pesquisadores e com outros estudos na literatura, entende-se que o BDNF afeta o crescimento como também a reparação neuronal e está envolvido na regulação da plasticidade sináptica dependente de atividade; como ocorre na resposta protetora ao estresse, promovendo o fenômeno da plasticidade neuronal, estando esta diretamente relacionado a memória e aprendizado (NUGRAHA *et al.*, 2012; VASCONCELOS, 2015; LOPES, 2017)

A fluvoxamina possui a atividade de potencializar a função neuronal glutamatérgica regulada pelo BDNF (YAGASAKI *et al.*, 2006), sendo assim, podemos fazer um comparativo entre os efeitos na neurogênese entre ela e o timol, uma vez que ambos influenciam a via do BDNF.

O teste da placa perfurada é utilizado para mensurar tanto o comportamento exploratório do animal, assim como a sua condição de ansiedade (FILE AND WADILL, 1975; AYANWUYI *et al.*, 2016). Nos animais tratados apenas com Cort, uma grande diminuição do comportamento exploratório e aumento da ansiedade foram detectados, dados estes que podemos corroborar com o teste do Y Maze onde também obtivemos, de forma significativa, uma redução da atividade exploratória. Tanto o Timol como a Fluvoxamina reverteram estes efeitos ansiogênicos instaurados pela administração de corticosterona cronicamente. Corroborando com a nossa análise, obteve-se resultados ansiolíticos no plus-maze do grupo tratado com Timol e com Fluvoxamina.

Segundo Irons (2005), a farmacoterapêutica com a Fluvoxamina pode ser considerada um tratamento de primeira linha para adultos e crianças que apresentem transtornos de ansiedade, sendo assim, pode-se afirmar que o Timol obteve uma significância numérica maior que o grupo tratado com a primeira linha terapêutica no combate a ansiedade, mensurada pelo teste da placa perfurada e obteve um resultado significativo no tempo de permanência nos braços apertos mensurado pelo plus-maze.

Vale lembrar que a Fluvoxamina apresenta especificidade pela bomba de recaptura (efeito antidepressivo) e pelo receptor sigma-1 (indução da neurogênese), sendo comparada a outros antidepressivos da mesma classe pela constante de inibição da seguinte maneira: paroxetina ( $K_i = 0.7 \text{ nM}$ ) > citalopram ( $K_i = 2.6 \text{ nM}$ ) > sertralina ( $K_i = 3.4 \text{ nM}$ ) > fluvoxamina

( $K_i = 6.2 \text{ nM}$ ) > fluoxetina ( $K_i = 14 \text{ nM}$ ), apresentando um melhor rendimento que a fluoxetina e um menor bloqueio frente aos demais, porém, quando vemos a mesma constante frente ao receptor sigma-1 notou-se que ela possui a melhor interação com este receptor, como mostra os dados seguintes: fluvoxamina ( $K_i = 36 \text{ nM}$ ) > sertralina ( $K_i = 57 \text{ nM}$ ) > fluoxetina ( $K_i = 120 \text{ nM}$ ) > citalopram ( $K_i = 292 \text{ nM}$ ) > paroxetina ( $K_i=1893 \text{ nM}$ ). Tendo em vista que analisamos uma parte da via neurotrófica fica claro ser a Fluvoxamina a melhor escolha de parâmetro para os nossos testes realizados. (NARITA, HASHIMOTO AND TOMITAKA, 1996; HIEMKE AND HÄRTTER, 2000; MORIGUCHI *et al.*, 2014).

Foi demonstrado que os agonistas dos receptores sigma-1 potencializam os disparos neuronais induzidos por receptores glutamatérgicos do tipo NMDA (N-Metil-D-Aspartato) na região CA3 hipocampal, assim como aumenta os níveis extracelulares de acetilcolina, medida *in vivo* no hipocampo/cortex de ratos por microdiálise intracerebral (MONNET *et al.*, 1990; MATSUNO *et al.*, 1993). Além disso em modelos de indução de amnésia por bloqueio da neurotransmissão glutamatérgica/colinérgica ou em modelos por vias de lesão ou patológicas de indução, os agonistas do receptor sigma-1 atenuam os déficits da memória medidas em procedimentos comportamentais que avaliam o quadro de memória (MAURICE; SU, 2009).

O presente estudo atesta a participação do Timol na via neurogênica envolvida na plasticidade sináptica em animais depressivos, melhorando a sintomatologia do quadro depressivo, somando com outras pesquisas realizadas em nosso laboratório onde o Timol, segundo Fernandes (2012), apresentou, também, efeitos antidepressivos, porém relacionados com o sistema monoaminérgico vinculado a NE, 5-HT e DA.

O Timol trata-se de uma molécula promissora que, com o advento desta pesquisa, abre-se mais um leque para explorar o potencial terapêutico vinculado a ele, uma vez que a via neurogênica é descrita como sendo crucial na depressão por vários autores (VASCONCELOS, 2015; LOPES, 2017; MONNET *et al.*, 1990). Tendo ele sido relevante de forma positiva em vários testes realizados, o Timol pode ser um potente antidepressivo a ser utilizado futuramente na terapêutica contra o TDM, uma vez que ele aparenta possuir ação ansiolítica sem ação sedativa além de envolvimento neurogênico na patologia depressiva. A expressão do BDNF por administração de Timol, apenas por sete dias, coloca-o em evidência na corrida da terapêutica ideal para TDM, já que é uma via expressiva na condição clínica depressiva.

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem chegar as seguintes conclusões:

- ∴ No teste do campo aberto não foi observado nenhuma alteração da atividade locomotora dos animais, em nenhum dos grupos, descartando quaisquer influencias desta atividade nos testes comportamentais. Houve uma redução do padrão *grooming* indicando uma possível ação ansiolítica do Timol.
- ∴ A preferencia pela parte clara no teste Claro/Escuro causada pelo timol confirma seu potencial ansiolítico também corroborado positivamente pelo demais testes que mensuram a ansiedade como o plus maze e a placa perfurada
- ∴ A redução do tempo de imobilidade observada nos testes do nado forçado e suspensão da cauda é indicativa do potencial antidepressivo do timol, similar ao que ocorreu com o antidepressivo fluvoxamina.
- ∴ O aumento da preferência pela sacarose causado pelo timol mostra a importante atividade redutora do quadro anedônico induzido pela corticosterona.
- ∴ Os animais sob tratamento com o Timol apresentaram melhor interação social em relação aos demais tratados apenas com corticosterona.
- ∴ A memória dos animais tratados com Timol melhorou substancialmente.
- ∴ O efeito antidepressivo do timol está relacionado ao seu efeito neuroprotetor como evidenciado pelo aumento expressivo dos níveis de BDNF no hipocampo.



## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Timol é uma molécula bem estudada pela literatura e de promissor efeito terapêutico em vários âmbitos patológicos, porém mesmo frente a tantos trabalhos publicados este estudo é pioneiro em propor que a via neurogênica vinculada ao BDNF poderia estar envolvida no mecanismo de ação do Timol. Tendo obtido tais resultados elucidar quais as vias seriam sensibilizadas na presença do Timol poderia exemplificar um dos próximos passos que esta pesquisa trilhará.

O perfil ansiolítico não sedativo que esta molécula apresentou nos encoraja a buscar mais respostas para promover o seu uso clínico futuramente, tendo sido observado, em vários testes aqui descritos, a superioridade dela em relação a fluvoxamina, fármaco este já instalado no mercado e de ampla utilização.

Infelizmente a depressão é uma patologia de diagnóstico, muitas vezes, negligenciada nas mais diversas esferas da saúde. Temos muito o que aprender a como combater da melhor maneira possível este mal que assola milhões de pessoas ao redor do mundo.

Mergulhado nesta realidade, o presente trabalho abre portas para novos horizontes na terapêutica medicamentosa depressiva, visando a possibilidade de melhor tratamento para estes que padecem deste mal e valorizando o bem maior da humanidade: A vida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim. Behav.*, v.21, n.2, p.205-235, 1973.

A. GIRALT, H. C. FRIEDMAN, B. CANEDA-FERRÓN. “BDNF regulation under GFAP promoter provides engineered astrocytes as a new approach for long-term protection in Huntington’s disease,” *Gene Therapy*, vol. 17, no. 10, pp. 1294–1308, 2010.

A. SALEHI, J. D. DELCROIX, P. V. BELICHENKO. Increased app expression in a mouse model of Down’s syndrome disrupts NGF transport and causes cholinergic neuron degeneration,” *Neuron*, vol. 51, no. 1, pp. 29–42, 2006.

ALVAREZ, J.DO, FUKUSHIRO, D.F., TATSU, J.A., DE CARVALHO, E.P., GANDOLFI, A.C., TSUCHIYA, J.B. & FRUSSA-FILHO R. Amphetamine-induced rapid-onset sensitization: role of novelty, conditioning and behavioral parameters. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 83, 500-507, 2006.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Fourth Edition, Text Revision (DSM-IV-TR), **American Psychiatric Press**, Washington DC, 2000.

CASTILLO, A.R.; RECONDO, F.R.A. Transtornos de ansiedade e transtornos de ansiedade. *Rev Bras Psiquiatr*, 22, pp.20–3, 2000. Available at: <http://www.scielo.br/pdf/rbp/v22s2/3791.pdf> [Accessed December 8, 2017].

ANACKER, C., ZUNSZAIN, P. A., CARVALHO, L. A. & PARIANTE, C. M. The glucocorticoid receptor: pivot of depression and of antidepressant treatment? *Psychoneuroendocrinology* 36, 415–425, 2011. (doi:10.1016/j.psyneuen.2010.03.007)

ANDRADE, A.; PINTO, SC.; OLIVEIRA, R.S. Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]. Rio de Janeiro: **Editora FIOCRUZ**, 388 p. ISBN: 85-7541-015-6, 2002.

SKÓRZEWSKAA, A.; LEHNERA, M.; WISŁOWSKA-STANEKB, A.; KRZAŚCIKB, P.; ZIEMBAC, A.; PŁAŻNIKAB, A. The effect of chronic administration of corticosterone on anxiety- and depression-like behavior and the expression of GABA-A

receptor alpha-2 subunits in brain structures of low- and high-anxiety rats. **Hormones and Behavior**, Volume 65, Issue 1, January 2014, Pages 6-13

ARCHER, J. Tests For Emotionality In Rats And Mice: A Review. **Journal of Neurobiology**, Pp.205–235, 1973.

AYANWUYI, L. O.; KWANASHIE, H. O.; HUSSAINI, I. M.; YARO, A. H. Leonotis Nepetifolia Linn Stem In Mice Department of Pharmacology and Therapeutics , **Faculty of Pharmaceutical Sciences** , 13, pp.15–21, 2016.

AZEREDO, L.A.; NARDI, T.; LEVANDOWSKI, M.L.; TRACTENBERG, S. G. SILVA, G.; KOMMERS-MOLINA, J.; WIECK, A.; IRIGARAY, T. Q.; GRASSI-OLIVEIRA, R. The brain-derived neurotrophic factor ( BDNF ) gene Val66Met polymorphism affects memory performance in older adults. **Journal of Neurobiology** pp.90–94, 2017.

BARBOSA, I. G. Estudo da concentração plasmática de fatores neurotróficos (BDNF, NGF e GDNF) em pacientes com transtorno bipolar do humor. **Dissertação (Mestrado em Neurociências)** - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2009.

BASSO, A. M.; BRATCHER, N.A.; HARRIS, R. R.; JARVIS, M.F.; DECKER, M.W.; RUETER, L. E. Behavioral profile of P2X7 receptor knockout mice in animal models of depression and anxiety: relevance for neuropsychiatric disorders. **Behav Brain Res**, 2;198(1):83-90; 2009.

BASSO, M. R. E.; BORNSTEIN, R. A. Neuropsychological deficits in psychotic versus nonpsychotic unipolar depression. **Neuropsychology**, 13, 69-75, 1999.

BEKINSCHTEIN, P.; CAMMAROTA, M.; MEDINA, J. H. BDNF and memory processing. **Neuropharmacology**, 76:677-83, 2014.

BERTOLETE, J. M.; FLEISCHMANN, A. Suicide and psychiatric diagnosis: A worldwide perspective. **World Psychiatry**, 1, 181-185, 2002.

BÉTRY, C. A. 5-HT 3 receptor antagonist potentiates the behavioral , neurochemical and electrophysiological actions of an SSRI antidepressant. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 131, pp.136–142, 2015. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2015.02.011>.

BIELIAUSKAS, L. A. Depressed or not depressed? That is the question. **Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology** ,15, 119-134, 1993.

BOLSONI-SILVA, A.T. & LOUREIRO, S.R. O Impacto das Habilidades Sociais para a Depressão em Estudantes Universitários The Impact of Social Skills on Depression of University Students. **Journal of Neurobiology**, 32, pp.1–8, 2016.

BORTA, A., SCHWARTING, R. K. Inhibitory avoidance, pain reactivity, and plus-maze behavior in Wistar rats with high versus low rearing activity. **J. Phys. Behav.** 84, 387-396, 2005.

BOTEGA, N. J. Comportamento suicida: Epidemiologia. **Psicologia USP**, vol. 25, n.3, p. 231-236, 2014.

BOTELHO, M. A.; BEZERRA-FILHO, J.G.; CORREA, L. L. Effect of novel essential oil without alcohol on gingivitis: a double-blinded randomized controlled trial. **J. Appl Sci.**, v. 15, n. 3, p. 175-180, 2007

BOURIN, M. & HASCOET, M. The mouse light / dark box test. **Journal of Neurobiology**, 463, pp.55–65, 2003.

BRAVER, T.S.; MARCH, D.M. A theory of cognitive control, ageing cognition, and neuromodulation. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, 26, 809-817, 2002.

CAMERON, H. A; GOULD, E. Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience*. **Journal of Neurobiology** 61:203–209, 1994.

CARLINI, E.A. Plants and the central nervous system. **Pharmacotherapy**, 75, pp.501–512, 2003.

CASTRÉN, E. Role of neurotrophic factors in depression. *Current Opinion in Pharmacology*, **Pharmacotherapy** 7:18-21, 2007.

CID-10. Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde, **Décima Revisão, Volume I**, 2008.

CHAO, M. V. The p75 neurotrophin receptor. **Journal of Neurobiology**, 25(11), pp.1373–1385, 1994.

CHATTERJEE, S. S.; BHATTACHARYA, K.; WONNEMANN, M.; SINGER, A.; MÜLLER, W. E. Hyperforin as a possible antidepressant component of Hypericum extract. **Life Sci**;65: 2395–405, 1998.

CHEN, B. Increased hippocampusBDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressants medication. **Biological Psychiatry**, 50:260-265, 2001.

CLARK, G.; KOESTER, A.G.; PEARSON, D.W. Exploratory Behavior in Chronic Disulfoton Poisoning in Mice. **Pharmacotherapy** , 171, pp.169–171, 1971.

COHEN, L. J. Rational drug use in the treatment of depression. **Pharmacotherapy**. Jan-Feb;17(1):45-61, 1997.

COSTALL, B.; JONES, B. J.; KELLY, M. E.; NAYLOR, R. J.; TOMKINS, D. M. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 32, 777-785, 1989.

CRAWLEY, J.; GOODWIN, F. K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacol Biochem Behav.**;13(2):167–70, 1980.

CRAWLEY, J. N. Neuropharmacologic Specificity of a Simple Animal Model for the Behavioral Actions of Benzodiazepines, **Psychopharmacology**, 15:695–9, 1981.

DALL'IGNA, O.P. Caffeine and adenosine A<sub>2a</sub> receptor antagonists prevent  $\beta$ -amyloid ( 25 – 35 ) -induced cognitive deficits in mice. **Psychopharmacology**, 203, pp.241–245, 2007.

SOUSA, F.C.F. Antianxiety effects of riparin I from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Phytotherapy Research**, 19(12), pp.1005–1008, 2007. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.1771> [Accessed December 22, 2017].

DE SOUZA, MORAES, I.; MACHADO-DE-SOUSA, J. P. Brazil: world leader in anxiety and depression rates. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo , v. 39, n. 4, p. 384, Dec. 2017 .

DENG, X.Y.; CHEN, H. Y.; , LI, J. J.; QU, R. P.; FU, R.; MA, Q.; PING, S. Thymol produces an antidepressant-like effect in a chronic unpredictable mild stress model of depression in mice. **Behavioural Brain Research.**, 2015.

DSM-5. Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorders - DSM-5. 5th.ed. Washington: **American Psychiatric Association**, 2013.

KANDEL, E.; SCHWARTZ, J. T.; M. JESSELL; SIEGELBAUM, S.; HUDSPETH, A.J. *Princípios de Neurociências*, Ed. Mcgraw-Hill, 5 ed., pg 1045-1070, 2014  
FILE, S.E. AND WARDILL, A.G.. Validity of head dipping behaviour as a measure of exploration in a modified hole- board. **Psychopharmacologia**, 44 (1): 53-59,1975.

FLECK, M.P. Revision of the guidelines of the Brazilian Medical Association for the treatment of depression (Complete version). *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 31(Supl I), pp.7–17, 2009.

FORTE, A.; BALDESSARINI, R.J; TONDO, L; VÁSQUEZ, G.H.; POMPILI, M.; GIRARDI, P. Long-term morbidity in bipolar-I, bipolar-II, and unipolar major depressive disorders. *J Affect Disord*; 178:71–78, 2015.

FORTUNATO, J. J. Efeitos comportamentais e neuroquímicos da Harmina em modelos animais de depressão. **Tese (Doutorado em Bioquímica)** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

FRANCHINI, L.; GASPEINI, M. Long term treatment of psychotic delusional depression with fluvoxamine an open pilot study. *International Clinical Psychopharmacology*. v. 12, p. 195-197, 1997.

FREY, B.N.; ANDREAZZA, A.C.; CERES, K.M.M. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. *Life Sci*. 79 281–286, 2006.

FUKUSHIRO, D.F.; CARVALHO, R.; RICARDO, V.P.; ALVAREZ, J. N.; RIBEIRO, L.T.; FRUSSA-FILHO, R. Haloperidol (but not ziprasidone) withdrawal potentiates sensitization to the hyperlocomotor effect of cocaine in mice. *Brain Research Bulletin*, 77,124-128, 2008.

FURLANETTO, L. M. Diagnosticando depressão em pacientes internados com doenças hematológicas: prevalência e sintomas associados. *J. bras. psiquiatr.*, Rio de Janeiro , v. 55, n. 2, p. 96-101, 2006 .

GATTI, F.; BELLINI, L.; GASPERINI, M. Fluvoxamine alone in the treatment of delusional depression. *American Journal of Psychiatry*. v. 153, p. 414-416. 21, 1996.

ZANARDI, R.; GERVASONI, N.; AUBRY, J.M.; BONDOLFI, G.; OSIEK, C.; SCHWALD, M.; BERTSCHY, G. AND KAREGE F. Partial normalization of serum brain-derived neurotrophic factor in remitted patients after a major depressive episode. *Neuropsychobiology* 51, 234-238, 2005.

JING, H.; YAN-MEI, C.; JIAN-HONG, W.; YUAN-YE, M. “Effect of co-administration of morphine and cholinergic antagonists on Y-maze spatial recognition memory retrieval and locomotor activity in mice,” *Zoological Research*, vol. 29, pp. 613–620, 2008.

HABR, S.F.; BERNARDI, M. M.; CONCEIÇÃO, I.M.; FREITAS, T.A.; FELÍCIO, LF. Open field behavior and intra-nucleus accumbens dopamine release in vivo in virgin and lactating rats. **International Clinical Psychopharmacology** pp.115–121, 2011.

HALL, C.S. Emotional behavior in the rat. 1. defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, 18, 382-403, 1934.

HESHMATI, M. & RUSSO, S.J. Anhedonia and the Brain Reward Circuitry in Depression. **Current Behavioral Neuroscience Reports**, 2(3), pp.146–153, 2015.

HIEMKE, C.; HÄRTTER, S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Pharmacology Therapeutics** 85:11–28, 2000.

HIRSCH, M.; BIRNBAUM, R. J. Mono -amine oxidase inhibitors (MAOIs) for treating depressed Adults. In: Up -ToDate, Basow, DS (Ed), **UpToDate**, Waltham, MA, 2012.

HIRSCH, M.; BIRNBAUM, R. J. Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) for treating depressed adults. In: UpToDate, Basow, DS (Ed), **UpToDate**, Waltham, MA, 2012. 27.

HIRSCH, M.; BIRNBAUM, R. J. Serotonin norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs) and other. In: UpToDate, Basow, DS (Ed), **UpToDate**, Waltham, MA, 2012.

HIRSCH, M.; BIRNBAUM, R. J. Tricyclic and tetracyclic drugs for treating depressed adults. In: UpToDate, Basow, DS (Ed), **UpToDate**, Waltham, MA, 2012.

IRONS, J. Fluvoxamine in the treatment of anxiety disorders. **International Clinical Psychopharmacology**, 1(4), pp.289–299, 2005.

RUDGE, J. S.; PASNIKOWSKI, E. M.; HOLST, P.; LINDSAY, R. M. Changes in neurotrophic factor expression and receptor activation following exposure of hippocampal neuron/ astrocyte cocultures to kainic acid,” **The Journal of Neuroscience**, vol. 15, no. 10, pp. 6856–6867, 1995.

JOHN, W.; TILLER, G. Depression and anxiety. **MJA Open**, 1. Available at: [https://www.mja.com.au/system/files/issues/001\\_04\\_011012/til10628\\_fm.pdf](https://www.mja.com.au/system/files/issues/001_04_011012/til10628_fm.pdf) [Accessed December 8, 2017].

MAROSI, K.; MATTSON, M. P. BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, vol. 25, no. 2, pp. 89–98, 2014.

KAREGE, F., VAUDAN, G.; SCHWALD, M.; PERROUD, N.; LA HARPE, R. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. **Brain Res. Mol. Brain Res.** 136, 29-37, 2005.

KESSLER, R.C.; BERGLUND, P.; DEMLER, O.; JIN, R.; KORETZ, D.; MERIKANGAS, K.R.; RUSH, A.J.; WALTERS, E. E; WANG, P. S. National Comorbidity Survey Replication. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). **JAMA**;289(23):3095-105, 2003.

KIM, D. H. Gomisin A improves scopolamine-induced memory impairment in mice. **European journal of pharmacology** 542, 129–135, doi:10.1016/j.ejphar.2006.06.015 (2006).

KNABLE, M.B.; BARCI, B.M.; WEBSTER, M.J.; MEADOR-WOODRUFF, J.; TORREY, E.F. Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: postmortem findings from the Stanley Neuropathology Consortium. **Mol. Psychiatry.** 9, 609-620, 2004.

KOKKINIDIS, L.; WALSH, M.D.; LAHUE, R., ANISMAN, H. Tolerance to damphetamine: Behavioral specificity. **Life Science** Vol.18, pp 913-917, 1976.

LAKS, J.; MARINHO, V. M; ROZENTHAL, M. E ENGELHARDT, E. Neuropsicologia da Depressão. **Revista Brasileira de Neurologia.**,35, 97-102, 1999.

LEE, B. & KIM, Y. The Roles of BDNF in the Pathophysiology of Major Depression and in Antidepressant Treatment. **Life Science**, pp.231–235, 2010.

LENART, L.; HODREA, J.; HOSSZU, A.; KOSZEGI, S.; ZELENA, D.; BALOGH, D.; SZKIBINSZKI, E.; VERES-SZEKELY, A.; WAGNER, L. The role of sigma-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor in the development of diabetes and comorbid depression in streptozotocin-induced diabetic rats, **Psychopharmacology (Berl)**. 2016 Apr;233(7):1269-78. doi: 10.1007/s00213-016-4209-x.

LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse., **Med. Psychol. Paris** (t 987), pp.0–5, 1987.

LOAS, G.; PIERSON, A. Anhedonia in psychiatry: a review. **Ann. Med. Psychol. Paris** 147, 705–717, 1989.



LOPES, I. S., Efeito da riparina ii na reversão de alterações comportamentais e neuroquímicas em camundongos submetidos ao modelo de depressão induzida por corticosterona. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2017.

MAHBOUBI, M.; HEIDARYTABAR, R. & MAHDIZADEH, E. The anti-dermatophyte activity of *Zataria multiflora* essential oils. **Journal de Mycologie Medicale**, pp.1–6, 2017. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.03.001>.

MAO, Q.; HUANG Z.; IPA, S.; XIANA, Y.; CHE, C. Peony glycosides reverse the effects of corticosterone on behavior and brain BDNF expression in rats. **Behav. Brain Research**. 227 305– 309, 2012.

FLECK, M. P.; BERLIM, M. T.; LAFER B.; SOUGEY, E. B.; DEL PORTO, J. A.; BRASIL, M. A.; JURUENA, M. F.; HETEM L. A. Revisão das diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão. **Rev Bras Psiquiatria**., 31(Supl I):S7-17, 2009.

MARCINKIEWCZ, C.A. & DEVINE, D.P., Modulation of OCT3 expression by stress , and antidepressant-like activity of decynium-22 in an animal model of depression. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 131, pp.33–41, 2015. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2015.01.004>.

MARTINOTTI, G.; HATZIGIAKOUKIS, D.; DE VITA, O.; CLERICI, M., PETRUCCELL, F., DI GIANNANTONIO, M.; JANIRI, L. Anhedonia and Reward System: Psychobiology, Evaluation, and Clinical Features. **International Journal of Clinical Medicine**, 2012, 3, 697-713 <http://dx.doi.org/10.4236/ijcm.2012.37125> Published Online December, 2012.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C. DIAS, J. E. **Plantas Mediciniais**. Ed. UFV, 2000.

MASSART, R., MONGEAU, R. & LANFUMEY, L.,. Beyond the monoaminergic hypothesis: neuroplasticity and epigenetic changes in a transgenic mouse model of depression. **the Royal Society**, 2012. Available at: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/royptb/367/1601/2485.full.pdf> [Accessed December 8, 2017].

MATOS, F.J.A., **Farmácias Vivas**: Sistemas de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4 ed. Fortaleza: Editora UFC. 2002.

MATSUNO, K., MATSUNAGA, K., SENDA, T., & MITA, S. Increase in extracellular acetylcholine level by sigma ligands in rat frontal cortex. **J Pharmacol Experimental Therapeutics** 265, 851–859, 1993.

MAURICE, T. & SU, T.-P., The pharmacology of sigma-1 receptors □. **Pharmacology and Therapeutics**. Available at: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.320.2954&rep=rep1&type=pdf> [Accessed December 25, 2017].

MCCLUNG, C. A. Circadian genes, rhythms and the biology of mood disorders. **Pharmacology Therapeutics**. 114, 222–232, 2007. (doi:10.1016/j.pharmthera.2007.02.003)

MCWHINNEY, I.R; FREEMAN, T. **Manual de medicina de família e comunidade**. 3ª edição. Artmed, 2010.

MILLER, A. H. Depression and immunity: a role for T cells? **Brain Behav. Immun.** 24,1–8, 2010. (doi:10.1016/j.bbi.2009.09.009)

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR), Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde - **Antidepressivos no Transtorno Depressivo Maior em Adultos**. Available at: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/periodicos/brats\\_18.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/periodicos/brats_18.pdf) [Accessed December 18, 2017].

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde**. Ano VI nº 18 | Março de 2012

MOCHCOVITCH, M.D. Atualizações Do Tratamento Farmacológico Do Transtorno De Ansiedade Generalizada An Update On The Pharmacological Treatment Of Generalized Anxiety Disorder. **Revista Debates Em Psiquiatria**. 2015. Available At: [Http://Www.Abp.Org.Br/Rdp15/02/Rdp\\_02\\_03.Pdf](Http://Www.Abp.Org.Br/Rdp15/02/Rdp_02_03.Pdf) [Accessed December 8, 2017].

MONNET, F. P.; DEBONNEL, G.; JUNIEN, J. L.; DE MONTIGNY, C. N-methyl-Daspartate-induced neuronal activation is selectively modulated by sigma receptors. **Eur J Pharmacol** 179, 441–445, 1990.

MOY, S.S. Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. **Eur J Pharmacol**, pp.287–302, 2004.

MUNDO, E.; BIANCHI. L.; BELLODI, L. Efficacy of fluvoxamine, paroxetine, and citalopram in the treatment of obsessive-compulsive disorder: a single-blind study. **Journal of Clinical Psychopharmacology**. 1997 v. 17(4), p. 267-271.

- MURRAY, F.; SMITH, D.W.; HUTSON, P.H. Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation , volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. **Eur J Pharmacol** 2008;i:115–27.
- NARITA, N.; HASHIMOTO, K.; TOMITAKA, S. Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with subtypes of sigma receptors in rat brain. **Eur J Pharmacol** 307:117–119, 1996.
- NESTLER, E.J.; GOULD, E.; MANJI, H.; BUCAN, M.; DUMAN, R.S.; GERSHENFELD, H.K.; HEN, R., KOESTER, S.; LEDERHENDLER, I.; MEANEY, M.; ROBBINS, T.; WINSKY, L.; ZALCMAN, S. Preclinical models: status of basic research in depression. **Biol. Psychiatry** 52, 503– 528, 2002.
- NUGRAHA B. Brain-derived neurotrophic factor and exercise in fibromyalgia syndrome patients: a mini review. **Rheumatology International**. 2012. 32(9):2593-9.
- NUTT, D. Management of patients with depression associated with anxiety symptoms. **Journal of Clinical Psychiatry**. 1997. v. 58 (Suppl 8), p. 11-16.
- OLIVEIRA, L.A.R.; MACHADO, R.D.; RODRIGUES, A.J.L. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Eur J Pharmacol** Available at: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n1/a05v16n1.pdf> [Accessed December 22, 2017].
- ONALAPO, O. J. Elevated Plus Maze and Y-Maze Behavioral Effects of Subchronic , Oral Low Dose Monosodium Glutamate in Swiss Albino Mice. , 3(4), **Eur J Pharmacol** pp.21–27, 2012.
- PATTI, C.L.; FRUSSA-FILHO, R.; SILVA,R.H.; CARVALHO, R.C.; KAMEDA, S.R.; TAKATSU-COLEMAN, A.L.; ABÍLIO, V.C. Behavioral characterization of morphine effects on motor activity in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**,81,923-927. Paxinos, 2005.
- PHILLIPS, C. Review Article Brain-Derived Neurotrophic Factor , Depression , and Physical Activity : **Making the Neuroplastic Connection**, 2017.
- PITTA, S.; AUGUSTINE B.B.; KASALA E.R.; SULAKHIYA K.; RAVINDRANATH V.; LAHKAR M. Honokiol reverses depressive-like behavior and decrease in brain BDNF levels induced by chronic corticosterone injections in mice. **Pharmacognosy J.** 5 211–215, 2013.

- PORSOLT, R.D.; BERTIN, A.; JALFREZI M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch. Int. Pharmacodyn.** Ther. 229 327–336, 1977.
- PORTO, P.; HERMOLIN, M.; VENTURA, P. Alterações neuropsicológicas associadas à depressão. **Rev. bras. ter. comport. cogn.**, São Paulo , v. 4, n. 1, p. 63-70, jun. 2002 . Disponível em <[http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1517-55452002000100007&lng=pt&nrm=iso](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-55452002000100007&lng=pt&nrm=iso)>. acessos em 07 dez. 2017.
- POUYA, P.; MAHMOUD, B.; NASROLLAH N.; MAJID, A.; MAHMOUD, R. A review of therapeutic and pharmacological effects of thymol. **Der Pharmacia Lettre**, 8 (2):150-154, 2016.
- PRINS, J., OLIVIER, B. & KORTE, S. M. Triple reuptake inhibitors for treating subtypes of major depressive disorder: the monoamine hypothesis revisited. **Expert. Opin. Investig. Drugs**. 20, 1107–1130, 2011. (doi:10.1517/13543784.2011.594039)
- DUMAN, R. S. AND L. M. MONTEGGIA. A neurotrophic model for stress-related mood disorders,” **Biological Psychiatry**, vol. 59, no. 12, pp. 1116–1127, 2006.
- DUMAN, R. S. “Pathophysiology of depression and innovative treatments: remodeling glutamatergic synaptic connections,” **Dialogues in Clinical Neuroscience**, vol. 16, no. 1, pp. 11–27, 2014.
- RADYUSHKIN, K. Neuroigin-3-deficient mice : model of a monogenic heritable form of autism with an olfactory deficit. **Eur J Pharmacol**, pp.416–425, 2009.
- REGIANE, S. J.; PADOVAN, L.; GUIMARÃES, C.M.S. Estresse, depressão e hipocampo Estresse, depressão e hipocampo Stress, depression and the hippocampus hippocampus. *SII 46 Rev Bras Psiquiatr*, 25, pp.46–51, 2003. Available at: <http://www.scielo.br/pdf/rbp/v25s2/a11v25s2.pdf> [Accessed December 9, 2017].
- RIBOT, T. *La Psychologie Des Sentiments*. 1896. Paris: Felix Alcan.
- RIELLA, K.R.; MARINHO, R.R.; SANTOS, J.S.; PEREIRA-FILHO, R.N.; CARDOSO, J.C.; ALBUQUERQUE-JUNIOR, R.L.C.; THOMAZZI, S.M. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. **j ethnopharmacol** 143, 656-663, 2012.
- ROCERI, M.; Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Molecular Psychiatry* 7:609-616, 2002.

Saiz Ruiz J, Montes Rodríguez JM. **Pharmacological treatment of depression**. Rev Clin Esp. 2005

Sapolsky R.M. 2002. Endocrinology of the stress-response. Pp. 409–450 in J.B. Becker, S.M. Breedlove, D. Crews, and M.M. McCarthy, eds. **Behavioral Endocrinology**. MIT Press, Cambridge, MA.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Suicídio. Saber, agir e prevenir - **Boletim Epidemiológico**. Vol. 48, n.30. 2017.

SEGRIN, C. Social skills deficits associated with depression. **Clinical Psychology Review**, 20(3), 379-403. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0272-7358\(98\)00104-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0272-7358(98)00104-4), 2003.

SEIBENHENER, M.L. & WOOTEN, M.C. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. , **Eur J Pharmacol** (February), pp.1–6, 2015.

SERAFIM, A.P.; FELÍCIO, L.F. Dopaminergic modulation of grooming behavior in virgin and pregnant rats. **Braz.J.Med.Biol.Res.**, v.34, p1465, 2001.

SIMPLICE, F.H. Enhancing Spatial Memory : Anxiolytic and Antidepressant Effects of *Tapinanthus dodoneifolius* ( DC ) Danser in Mice. **Eur J Pharmacol**, 2014.

SKÓRZEWSKA, A., LEHNER, M., WISŁOWSKA-STANEK, A., KRZAŚCIK P, ZIEMBA A., PŁAŻNIK, A. The effect of chronic administration of corticosterone on anxiety- and depression-like behavior and the expression of GABA-A receptor alpha-2 subunits in brain structures of low- and high-anxiety rats. **Hormones and Behavior**, 65(1), pp.6–13, 2014. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0018506X13002079> [Accessed December 16, 2017].

SOBOCKI, P., JONSSON, B., ANGST, J. & REHNBERG, C. Cost of depression in Europe, **Eur J Pharmacol** 2006.

SOUSA, F.C.F. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of riparin I from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Eur J Pharmacol** , pp.1–9, 2012.

SOUSA, F.C.F. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 18(4), pp.642–654, 2008. Available at: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n4/v18n4a23> [Accessed December 22, 2017].

SOUSA, F.C.F.; SOUSA, F.C.F; CITÓ, C. T. V.; FELIX, M. O.; VASCONCELOS, F. F. C.; FONTELES, S. S.; MARIA, M. M.; VIANA, G. S B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(4), pp.642–654, 2008. Available at: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n4/v18n4a23> [Accessed December 22, 2017].

STEIBEL, M. ALMEIDA, R. M. M. Estudo de caso – avaliação neuropsicológica : depressão x demência. *Aletheia* 31, p.111-120, jan./abr. 2010

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology* (Berl). 1985;85(3):367–70.

STREKALOVA T, STEINBUSCH H.W.M. Measuring behavior in mice with chronic stress depression paradigm. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry* 2010;34(2):348–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.12.014>

SUMAYA, I.C., BAILEY, D. & CATLETT, S.L. Differential effects of a short-term high-fat diet in an animal model of depression in rats treated with the 5-HT 3 receptor antagonist , ondansetron , the 5-HT 3 receptor agonist , 2-methyl-5-HT , and the SSRI , fluoxetine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 144, pp.78–84, 2016. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2016.03.005>.

NUMAKAWA, T.; SUZUKI, S.; ADACHI, N.; BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histology and Histopathology* , (25), pp.237–258, 2010. Available at: [https://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/42576/1/BDNF function and intracellular signaling in neurons.pdf](https://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/42576/1/BDNF%20function%20and%20intracellular%20signaling%20in%20neurons.pdf) [Accessed December 18, 2017].

TENG, C.T.; DEMÉTRIO F.N. *Psicofarmacologia Aplicada – Manejo prático dos Transtornos Mentais*. Atheneu, 2<sup>a</sup> edição, 2012.

TERRA, J. L.; MONTGOMERY, S. A. Fluvoxamine prevents recurrence of depression: Results of a long-term, double-blind, placebo-controlled study. *International Clinical Psychopharmacology*. 1998. v. 13, p. 55-62

TESCH, B.J; Herbs commonly used by women: an evidence-based review. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:S44–55

TSANKOVA N, RENTHAL W, KUMAR A, NESTLER EJ. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* . 2007;8(5):355-67

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

UMUKORO, S., AKINYINKA, A.O. & ALADEOKIN, A.C. Antidepressant activity of methyl jasmonate , a plant stress hormone in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 98(1), pp.8–11, 2011. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2010.12.001>.

VAN DONKELAAR, E.L.; VAESSEN, E. L. D. PAWLUSKI, K. R.; JODI L SIERKSMA, ANNERIEKE S BLOKLAND, ARJAN CAÑ ETE, RAMÓ M STEINBUSCH, HARRY W HOLSCHER, CHRISTIAN, 2014. Long-Term Corticosterone Exposure Decreases Insulin Sensitivity and Induces Depressive-Like Behaviour in the C57BL/6NCrl Mouse. **International Clinical Psychopharmacology**. 98(1), pp.36-39 Available at: <https://www.alzheimer.nl/> [Accessed December 22, 2017].

VASCONCELOS, A.S. Subchronic administration of riparin III induces antidepressive-like effects and increases BDNF levels in the mouse hippocampus. **International Clinical Psychopharmacology** , 29, pp.394–403, 2015.

VASCONCELOS, A.S., Efeito antidepressivo da riparia III em camundongos submetidos ao modelos de estresse induzido pela administração de corticosterona. 2015. **Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceará, Ceará.**

WANG, L., ZHAO, X., ZHU, C., XIA, X., QIN, W., XU, Y., HANG, B., SUN, Y., JIANG, J., RICHARD, L.P., LEI, L., ZHANG, G., HU, J. Thymol kills bacteria, reduces biofilm formation, and protects mice against a fatal infection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strain L20, **Veterinary Microbiology** (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.02.021>

WANNMACHER, L. Depressão maior: da descoberta à solução? In: Uso racional de medicamentos: temas selecionados. **International Clinical Psychopharmacology** No 5. Ano 2004.

WECHSLER, J.B., HSU, C., BRYCE, P.J. IgE-mediated mast cell responses are inhibited by 560 thymol-mediated, activation-induced cell death in skin inflammation. **J allergy clin immun** 133, 561 1735-1743, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Depression. **Fact sheet** No. 369/February 2017. Available at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/index.html>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Investing in treatment for depression and anxiety leads to fourfold return. **Fact sheet No. 13** 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/en/>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Depression and other common mental disorders: Global Health Estimates, **Fact sheet No. 20** [Internet]. 2017 Apr 7 [cited 2017 Jun 16]. [www.who.int/mental\\_health/management/depression/prevalence\\_global\\_health\\_estimates/en/](http://www.who.int/mental_health/management/depression/prevalence_global_health_estimates/en/)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Mental health. Suicide data [Internet]. **Fact sheet No. 5** 2017 [cited 2017 Aug 10]. Available in: [http://www.who.int/mental\\_health/prevention/suicide/suicideprevent/en/](http://www.who.int/mental_health/prevention/suicide/suicideprevent/en/).

YAGASAKI, Y.; YAGASAKI Y. N.; KUMAMARU T.; HAYASHI, E.; SU T.; KUNUGI, T. Chronic Antidepressants Potentiate via Sigma-1 Receptors the Brain-derived Neurotrophic Factor-induced Signaling for Glutamate Release \* □. **International Clinical Psychopharmacology** , 281(18), pp.12941–12949, 2006.

YAMADA, K. Role Of Nitric Oxide And Cyclic Gmp In The Dizocilpine-Induced Impairment Of Spontaneous Alternation Behavior In Mice. **International Clinical Psychopharmacology**, 74(2), Pp.365–374, 1996.

YAN, T., BOSAI, H., SHUTONG, W., MENGJE, X., HUILIN, Y., FENG, X., KAISHUN, B. Antidepressant-like effects and cognitive enhancement of Schisandra chinensis in chronic unpredictable mild stress mice and its related mechanism. **Scientific Reports**, (February), pp.1–15. 2017. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-07407-1>.

YANG, J.; SIAO, C.; NAGAPPAN, G.; MARINIC, T.; JING, D.; MCGRATH, K.; CHEN, Z.; MARK, W.; TESSAROLLO, L.; LEE, F.S.; LU, B.; HEMPSTEAD, B.L. Neuronal release of proBDNF. **Nature neuroscience**, 12(2), pp.113–5, 2009.

YAO, W. Effects of amygenone on serum levels of tumor necrosis factor-  $\alpha$  , interleukin-10 , and depression-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 136, pp.7–12, 2015. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2015.06.012>.

CAI, Z. L. Tenuigenin ameliorates learning and memory impairments induced by ovariectomy. **Physiology and Behavior**, vol. 118, pp. 112–117, 2013.

ZAKZANIS, K. K.; LEACH, L.; KAPLAN, E. *Neuropsychological Differential Diagnosis*. USA: Suecks e Zeitlinger Publishers, 1999.



ZHAO, Y. A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections. **European Journal of Pharmacology**, 581(1-2), pp.113-120, 2008.