

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção



Dissertação

**OS EFEITOS DA AYAHUASCA EM MODELO ANIMAL DE
DEPRESSÃO.**

Janaína Xavier da Silveira

Pelotas, março de 2018

Janaína Xavier da Silveira

OS EFEITOS DA AYAHUASCA EM MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Bioprospecção.

Orientadora: Giana de Paula Cognato

Coorientadora: Giovana Duzzo Gamaro

Pelotas, março de 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

X3e Xavier, Janaína

Os efeitos da Ayahuasca em modelo animal de depressão
/ Janaína Xavier ; Giana De Paula Cognato, orientadora ;
Giovana Duzzo Gamaro, coorientadora. — Pelotas, 2018.

75 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação
em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências
Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade
Federal de Pelotas, 2018.

1. Ayahuasca. 2. Depressão. 3. Estresse oxidativo. 4.
Estresse crônico imprevisível. I. Cognato, Giana De Paula,
orient. II. Gamaro, Giovana Duzzo, coorient. III. Título.

CDD : 664

Elaborada por Dafne Silva de Freitas CRB: 10/2175

Janaína Xavier da Silveira

OS EFEITOS DA AYAHUASCA EM MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO.

Data da defesa: 2 de março de 2018

Banca examinadora:



Prof.ª. Drª. Giana de Paula Cognato (orientadora). Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) Pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Professora Adjunta, PPG Bioquímica e Bioprospecção, UFPel.



Prof.ª. Drª Izabel Custódio. Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) Pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Professora Adjunta, PPG Bioquímica e Bioprospecção, UFPel.



Prof.ª. Drª Gabriele Cordenonzi Ghisleni Doutora em Bioquímica Toxicologia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Professora Adjunta, PPG em Saúde e Comportamento, UCPel.

Conceito:

DEDICATÓRIA

À minha mãe Neiva e ao meu Pai Antônio, pessoas maravilhosas as quais tive o grande privilégio de chama-lós de pais, sempre me amaram, apoiaram e também me criticaram, sei que herdei valorosos ensinamentos, como amor, gratidão e respeito. Também dedico a minha Vó Rosa e minha Dinda Marlene, que no meio da minha caminhada tiveram que partir para outro plano, mas que me deixaram grandes lições de vida. Ao meu namorado Ricardo e aos meus irmãos Lizania e Augusto. Dedico-lhes mais essa conquista.

“Na vida, não vale tanto o que temos,
nem tanto importa o que somos.
Vale o que realizamos com aquilo que possuímos e,
acima de tudo, importa o que fazemos de nós!”

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, amiga e mãezona, Profa. Giana, pela oportunidade oferecida, pela confiança, pelo carinho e pelo apoio que me deu em todos os momentos, mas principalmente nos momentos difíceis os quais passei nesse último ano. Sei que é impossível expressar em palavras o quanto sou grata por tudo que me ofertou. Agradecer também, por me deixar fazer parte do seu cotidiano familiar, da sua vida. Por ter aberto as portas de sua casa para me receber, permitindo-me conviver com a sua família. Agradecer o Rafinha, ser de luz incrível, por me ceder várias horas que ele poderia estar desfrutando da Giana e também ao Giuliano pela paciência e carinho que teve por mim, sempre.

A minha Co-orientadora, Profa. Dr. Giovana Gamaro, pelo carinho, apoio e auxílio com experimentos e as várias horas de dedicação com as estatísticas.

Ao querido Cid Farias pela disponibilidade de tempo, responsabilidade, dedicação e apoio.

Ao Biotério Central e a todos os funcionários maravilhosos que lá trabalham. Pois, esses profissionais são extremamente competentes, atenciosos, educados e amorosos. A Anelise, pois sempre esteve disponível para me auxiliar e ajudar no projeto. A Fabinha pela ajuda incondicional, pelo apoio nos momentos mais críticos. Ao Cristiano que muito ficou me ajudando depois do horário com as várias caixas e equipamentos, sempre mantendo sorriso no rosto. A Cris, Pati e a Jú, que sempre me trataram com carinho e respeito, pelos ensinamentos, pela ajuda com manuseio dos animais. Com certeza essas pessoas maravilhosas, me marcaram pelo resto da vida, por serem pessoas que além de profissionais exemplares, possuem brilho especial na alma. Posso dizer, com certeza, que foi o ambiente mais acolhedor que conheci na Universidade.

Profa. Dra. Roselia Spanevello e suas alunas; pelo suporte técnico e insumos para realizar nossos experimentos.

Aos colegas, funcionários e professores do Neurocan, do PPGBBio e do Laboratório.

A Capes pela bolsa de estudos concedida.

Aos meus amigos, por me apoiarem de longe, pois sei que não consegui estar presente no cotidiano deles, mas que sempre os mantive no coração.

Agradeço a minha família de sangue e a de alma (Marlene, Marcelo, Bety, Jeremias e Cecília), por acreditarem em mim, nos meus esforços, sacrifícios e por sempre me incentivarem, pelas palavras de apoio e todo carinho. Por fazerem um dos meus sonhos tornar-se realidade, sem o incentivo vocês nada disso seria possível.

PARTE I

RESUMO

Xavier, Janaína. **OS EFEITOS DA AYAHUASCA EM MODELO ANIMAL DE DEPRESSÃO. 2018.** Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

A depressão é um transtorno psiquiátrico comum e incapacitante. Apesar do grande número de psicofármacos disponíveis no mercado, a taxa de sucesso dos tratamentos com antidepressivos, geralmente não ultrapassa dos 60%. Esse fato ocorre, pois, há pacientes que não são responsivos ao tratamento, ou não aderem de forma adequada a farmacoterapia. Desta forma, é de grande interesse a procura por novas terapias que possam auxiliar no tratamento desta patologia. Nas últimas décadas foi crescente a procura de alternativas para solucionar esse problema. Neste contexto, surgem pesquisas utilizando plantas e a Ayahuasca (AYA) emerge como uma possível opção para o tratamento da depressão. Uma vez que há relatos sobre efeitos medicinais entre seus usuários. A AYA consiste em uma bebida de origem xamânica, resultante da decocção de duas plantas: a *Banisteriopsis caapi* e da *Psychotria viridis* (DMT). Considerando o exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da administração subcrônica da AYA em modelo animal de depressão, submetidos ao Estresse Crônico Imprevisível (ECI). Analisando os parâmetros comportamentais, o modelo foi validado pelo teste alimentar, apesar da AYA não prevenir a anedonia causada por esse modelo. No teste de campo aberto, nenhum dos parâmetros analisados (número de cruzamentos, grooming e rearing) foram alterados. Analisamos os parâmetros de estresse oxidativo. Como os níveis de TBARS, que sofreram alterações no córtex cerebral. Observamos o aumento dos níveis no grupo estresse em relação ao controle e AYA neutraliza essa alteração. No hipocampo os níveis de sulfidrilas diminuíram no grupo estresse em relação ao controle também o tratamento com AYA evita essa alteração. Em relação aos níveis de nitritos foi observado no córtex cerebral o aumento no grupo estresse e no grupo AYA, em relação ao grupo controle. Quanto a enzima superóxido dismutase no grupo estresse AYA aumentou em relação ao controle. Demonstramos que os níveis da enzima catalase em córtex cerebral diminuiu em relação ao grupo controle, indicando que a AYA impediu essa mudança. Conclui-se que o tratamento com AYA não foi capaz de prevenir a anedonia causada pelo ECI. Entretanto, provocou alterações em quase todos os testes de estresse oxidativo em córtex cerebral e hipocampo os quais foram alterados pelo tratamento com AYA.

Palavra-chave: depressão, ayahuasca, estresse crônico imprevisível e estresse oxidativo.

ABSTRACT

Xavier. Janaína. EFFECTS OF AYAHUASCA IN ANIMAL DEPRESSION MODEL.

2018. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

Depression is a very common and highly disabling psychiatric disorder. Despite the large number of psychoactive drugs available for therapy, the success rate of antidepressant treatments generally does not exceed 60%. In this matter, the search for new therapies that may help to treat this pathology is of great interest. In this context, Ayahuasca (AYA) emerges as a possible alternative for the treatment of depression. AYA is a shamanic beverage resulting from the decoction of two plants: *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*. Considering the above, the aim of this study was to evaluate the effect of subchronic administration of AYA in rats submitted to a model of depression elicited by chronic unpredictable stress (CUS). Analyzing the behavioral parameters, the depression model chosen was validated by the food test, although AYA did not prevent anhedonia caused by this model. In the open-field test, none of the analyzed parameters (number of crosses, grooming and rearing) were altered by any of the treatments. Analyzing the parameters of oxidative stress, levels of TBARS were increased in the cerebral cortex of the stress group in relation to the control group, and AYA counteracts this alteration. In the hippocampus, the sulfhydryl levels decreased in the stress group in relation to the control, and also AYA treatment prevent this change. Regarding nitrite levels, an increase in the stress and in AYA groups were observed in the cerebral cortex in relation to the control group. The antioxidant enzymes were also tested. Regarding superoxide dismutase in the AYA stress group, we found an increased in relation to the control in hippocampus samples. We demonstrated that activity of the catalase decreased in cerebral cortex of rats submitted to stress when compared to the control group, and AYA prevented this change. Our results showed that treatment with AYA was not able to prevent anhedonia caused by the CUS model. However, almost all changes in CUS-induced oxidative stress in cerebral cortex and hippocampus were prevented by AYA treatment.

Key words: depression, Ayahuasca, chronic stress unpredictable and oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Processos envolvidos no estresse oxidativo.	26
Fonte: http://bioradicaisbio.blogspot.com.br/2009/07/o-estresse-oxidativo-e-definido-como-um.html .	
Figura 2: Estruturas químicas dos principais alcalóides presentes na AYA e do neurotransmissor serotonina.	29
Fonte: http://naturezadivina.org.br/ciencia/a-interacao-da-ayahuasca-com-o-organismo/ .	
Figura 3: Preparo do chá de Ayahuasca.	30
Fonte https://thetruthaboutcancer.com/ayahuasca-tea-cure-cancer/	
Figura 4: Cipó <i>Banisteriopsis caapi</i> (LIMA, 2009).	32
Fonte: http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/7/624-102.html .Estrutura dos Principais a3.	
Figura 5: <i>Psychotria viridis</i> .	32
Fonte: https://caminhodomestre.wordpress.com/ayahuasca/ .	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ADT	Antidepressivos tricíclicos
AYA	Ayahuasca
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APA	<i>American Psychological Association</i>
<i>B. caapi</i>	<i>Banisteriopsis caapi</i>
CAT	Catalase
CONAD	Conselho Nacional Antidrogas
CONFEN	Conselho federal de entorpecentes
DA	Dopamina
DMT	N, N-Dimetiltriptamina
DSM-V	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - 5ª. Ed
ECI	Estresse crônico imprevisível
ERN	Espécies reativos de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
et al.	e colaboradores
GSH	Glutathione Reduzida
GPX	Glutathione peroxidase
HRL	Harmalina
HRM	Harmina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
5-HT	5 - Hidroxitriptamina (Serotonina)
IMAO	inibidores da monoaminoxidase
ISRS	Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina
MAO	Monoamina oxidase
NE	Noradrenalina
OFT	Open Field Test/ Campo Aberto
OMS	Organização Mundial da Saúde
p	Nível de significância alcançado
PPGBBio	Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção
<i>P. viridis</i>	<i>Psychotria viridis</i>
SOD	Superóxido dismutase
SNC	Sistema Nervoso Central
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TDM	Transtorno Depressivo maior
TH	Transtorno de Humor
UDV	União do Vegetal
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas

SUMÁRIO

1. Introdução	16
2. Objetivos	19
2.1. Objetivo Geral	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. Referencial Teórico	20
3.1. Depressão	20
3.2. Teoria monoaminérgica da depressão.	20
3.3. Teoria do estresse oxidativo na depressão	21
3.4. Modelo Animal de Depressão	23
3.5. Ayahuasca	26
4. Manuscrito	34
5. Considerações Finais	65
6. Referências	67
7. Obras Consultadas	75

PARTE II

1. Introdução

Transtornos mentais são prevalentes ao longo de todo o mundo sendo alguns dos principais contribuintes de morbidade e mortalidade prematura (WHO, 2017). Entre eles, se destaca a depressão, uma síndrome comum e altamente incapacitante (KESSLER, 2010; MURRAY *et al.*, 2013) que afeta parte significativa da população mundial. Tal patologia, de caráter frequente, tem característica crônica e recorrente (USTUN *et al.*, 2004; FERRARI *et al.*, 2013). Os pacientes apresentam limitação da sua atividade e bem-estar (WHO, 2017), além de estar associada a altos custos sociais e financeiros pela perda de produtividade, pela alta frequência de faltas ao trabalho, pela redução de eficiência profissional, e por uma maior utilização de serviços de saúde (COLLINS 2013; MRAZEK, *et al.*, 2014; PAPAKOSTAS; IONESCU, 2015, RIZVI *et al.*, 2015).

Dados da Organização Mundial de Saúde (WHO), mostram que aproximadamente 4,5% da população mundial, apresentam quadro de depressão, representando aproximadamente 350 milhões de pessoas. Além disso, estima-se que, nos próximos 20 anos, a depressão será o segundo transtorno mais incapacitante dentre as doenças que acometem a população no mundo, ultrapassando as neoplasias e as cardiopatias (WHO, 2017).

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) assim como outros Transtornos de Humor tem sido tratados farmacologicamente por mais de três décadas. Apesar disso, não houve uma melhora significativa nas terapias disponíveis. Embora tenham ocorrido inúmeros avanços em pesquisas acerca do TDM, a fisiopatologia desta doença ainda não foi completamente elucidada. Acredita-se em uma origem multifatorial, gerada da interação entre fatores genéticos, neurobiológicos, assim como fatores ambientais (JESPERSEN *et al.*, 2013). Dessa forma, torna-se difícil identificar os principais mecanismos envolvidos e consequentemente desenvolver terapias mais eficazes (KENDLER *et al.*, 2011).

Mesmo com a dificuldade de esclarecer alguns mecanismos envolvidos no TDM, algumas hipóteses foram propostas, entre elas, o estresse oxidativo. O estresse oxidativo provoca danos a proteínas celulares, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos, contribuindo para a neurodegeneração, uma vez que o encéfalo

possui uma capacidade antioxidante limitada, sendo altamente susceptível ao dano oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; SIWEK *et al.*, 2013).

Várias pesquisas têm revelado que compostos antioxidantes apresentam atividade antidepressiva e dessa forma, é razoável propor o uso de antioxidantes exógenos como auxiliares no tratamento do TDM. Nesse sentido, terapias à base de plantas medicinais podem ser interessantes alternativas ao tratamento do transtorno depressivo, visto que, algumas espécies são ricas em compostos bioativos com função antioxidante, ou até mesmo que mimetizem respostas de neurotransmissores (EREN *et al.*, 2007, ZAFIR *et al.*, 2009). Neste contexto, há um crescente número de evidências sugerindo que a AYA, pode ser uma ferramenta terapêutica vantajosa para tratar distúrbios psiquiátricos como a ansiedade e a depressão (FORTUNATO *et al.*, 2010; PALHANO-FONTES *et al.*, 2014; SCHMID, 2014).

A AYA é uma bebida que possui origem indígena, sendo consumida por grupos xamânicos, onde “aya” significa “alma, espírito” e “waska” significa “corda, cipó” (LABATE; ARAÚJO, 2002). A AYA é um chá enteógeno, produzido pela decocção do cipó Jagube (*Banisteriopsis caapi*) e pelas folhas da Chacrona (*Psychotria viridis*). Sua utilização é feita através de rituais de cunho religioso, onde administram-se pequenas doses, a fim de promover alterações no estado de consciência (COSTA; FIGUEIREDO; CAZENAVE, 2005). É composta pelo cipó *Banisteriopsis caapi* que é uma planta nativa da região Amazônica. Possuindo em sua constituição os alcalóides β -carbolínicos que têm a propriedade de inibir a Monoamino-oxidase (MAO) (MCKENNA *et al.*, 1998). Além da *B. caapi*, esse chá também é composto da *Psychotria viridis*, a qual possui o alcalóide derivado indólico N, N-dimetiltriptamina (DMT) este alcalóide age sobre os receptores de serotonina (5-HT) (MCKENNA *et al.*, 1998; MCKENNA; PIRES; OLIVEIRA; YONAMINE, 2010; RIBA, 2015). Estudos utilizando a AYA vem mostrando que essa bebida xamânica pode possuir efeitos antidepressivos (DAKIC *et al.*, 2016; DOS SANTOS *et al.*, 2016; NUNES *et al.*, 2016; XIU *et al.*, 2017).

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi examinar o efeito da AYA através de avaliações comportamentais e bioquímicas induzidas pelo modelo de Estresse Crônico Imprevisível (ECI) em ratos. É importante salientar que este é, até

o presente momento, o primeiro relato mostrando os efeitos da AYA em modelo pré-clínico de depressão, através do ECI e com avaliação da anedonia, utilizando o teste alimentar (*feeding test*).

2. Objetivo

Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi avaliar os potenciais efeitos da AYA sobre parâmetros neuroquímicos e comportamentais em modelo animal de depressão induzida pelo ECI.

Objetivos Específicos

Verificar o modelo de ECI através do teste alimentar (*feeding test*).

Observar o efeito da AYA sobre parâmetro de comportamento alimentar (*Feeding test*), em modelo animal de depressão induzida pelo ECI.

Avaliar o efeito da administração da AYA sobre o teste do campo aberto em modelo animal de depressão induzida pelo ECI.

Determinar sobre a peroxidação lipídica através do teste das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), além dos níveis de nitritos e conteúdo total de grupamentos sulfidrilas no córtex cerebral e hipocampo de animais submetidos ao modelo de ECI.

Investigar o efeito do tratamento subcrônico da AYA sob os parâmetros antioxidantes como atividade da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) em córtex cerebral e hipocampo de ratos submetidos ao modelo animal de depressão induzida pelo ECI.

3. Referencial teórico

3.1. Depressão

Segundo a WHO, cerca de 10% da população mundial, apresenta algum tipo de transtorno mental, representando aproximadamente 350 milhões de pessoas. O TDM é considerado o mais frequente entre os transtornos psiquiátricos, com uma prevalência de 17% ao longo da vida, sendo considerado como a principal causa de incapacidade no mundo, um indicador medido através dos anos vividos com incapacidade (YLD – *years lived with disability*) (WHO, 2017). Também pode ser considerado um problema de saúde pública, tendo uma maior prevalência sobre o sexo feminino, 10,9% contra 3,9% no sexo masculino (IBGE, 2013). Estudos revelam que entre brasileiros a incidência do transtorno depressivo durante a fase adulta pode chegar a 17%, dado que corrobora com a prevalência na população mundial (SILVA *et al.*, 2014). Além disso, pesquisa do IBGE concluiu que a prevalência absoluta de depressão no Brasil é de aproximadamente 4%, o que se traduz em cerca de 8 milhões de pessoas acometidas por TDM (IBGE, 2013; MUNHOZ *et al.*, 2016). Até 2030 deverá ser a causa principal de carga global de doença (6,2%), superando as doenças cardíacas e o câncer (WHO, 2017).

O TDM pode ser determinado por uma ampla variedade de sintomas que incluem a presença de humor deprimido, perda de interesse ou prazer, diminuição de ânimo, sentimento de culpa ou baixa autoestima, distúrbios de sono ou apetite, e baixa capacidade de concentração (APA, 2013; WHO, 2017). Estas alterações podem tornar-se crônicas e/ou recorrentes ocasionando danos significativos aos pacientes acometidos por TDM, uma vez que os transtornos depressivos já são considerados a principal causa de incapacitação durante a vida (FERRARI *et al.*, 2013). Além disto, sem tratamento adequado, a depressão, em sua forma mais grave pode levar ao suicídio (WHO, 2014).

Embora tenham ocorrido inúmeros avanços nas pesquisas acerca do TDM, ainda não foi encontrado métodos terapêuticos efetivos, assim como não há marcadores específicos para essa doença, sendo o diagnóstico desse transtorno

realizado através da observação clínica dos sintomas, com base nos critérios estabelecidos no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V), os quais englobam: humor deprimido; diminuição marcante no interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades (anedonia); aumento ou diminuição de peso ou apetite; insônia ou hipersônia; agitação ou retardo psicomotor; fadiga ou falta de energia; sentimento de culpa; diminuição na capacidade de concentração; pensamentos recorrentes de morte ou ideação suicida. Desta forma, um episódio depressivo é caracterizado pela constatação de no mínimo cinco dos nove sintomas citados e exige a presença de pelo menos um dos dois primeiros (humor deprimido ou anedonia) que deve estar presente na maior parte do tempo, com duração de no mínimo 14 dias. Portanto, o grau de severidade dessa patologia pode ser avaliado como leve, moderada ou grave tendo como base o prejuízo ocupacional e social do indivíduo acometido por esse transtorno (APA, 2013; WHO, 2017).

O tratamento clássico para TDM pode englobar a combinação de fármacos a psicoterapia, além de mudanças no estilo de vida. A terapia farmacológica de primeira escolha são os inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS) pois possuem uma melhor tolerabilidade aos possíveis efeitos colaterais. Outros psicofármacos utilizados em substituição dos ISRSs são os inibidores de recaptação de noradrenalina e serotonina (IRSNs), tais como venlafaxina e duloxetina, ou a associação dos inibidores de recaptação de norepinefrina e dopamina (IRNDs), como a bupropiona, aos ISRSs ou aos IRSNs. Em alguns casos específicos podem ser usados os antidepressivos tricíclicos e inibidores de monoaminoxidase (IMAOs), não sendo considerados tratamentos de primeira linha devido aos possíveis efeitos colaterais desencadeados (FORLENZA; MIGUEL, 2012).

3.2 Teoria monoaminérgica da depressão

Por aproximadamente três décadas, a hipótese predominante sobre a fisiopatologia da depressão foi a teoria monoaminérgica, a qual postula que a depressão ocorreria devido ao desequilíbrio ou deficiência absoluta ou relativa de

catecolaminas (dopamina e noradrenalina) e indolamina (5-HT), especialmente noradrenalina (SCHILDKRAUT, 1965). Essa proposição é legitimada pelo mecanismo de ação da maioria dos fármacos antidepressivos clássicos, que aumentam a concentração dos neurotransmissores na fenda sináptica através da inibição do metabolismo, bloqueio de recaptura neuronal ou atuação em autoreceptores pré-sinápticos (ELHWUEGLI, 2004; PRINS *et al.*, 2011). No entanto, pesquisadores propõem que essa patologia teria origem multifatorial, formados por fatores biológicos, psicológicos e sociais que podem interferir na homeostase do SNC. Algumas características fisiopatológicas propostas pelos estudiosos incluem depleção de monoaminas, exposição crônica a níveis elevados de citocinas inflamatórias, resistência aumentada dos receptores de glicocorticóides, excesso de atividade glutamatérgica, elevação dos níveis séricos de cortisol e hiperativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (MULLER *et al.*, 2006; FELGER; LOTRICH, 2013). Entretanto, a hipótese monoaminérgica, que atribui a depressão à escassez de aminas biogênicas na fenda sináptica (como noradrenalina, 5-HT e dopamina), continua sendo essencial para a compreensão de sua fisiopatologia, uma vez que o mecanismo de ação mais conhecido das drogas antidepressivas consiste na inibição da recaptação desses neurotransmissores na fenda sináptica (DALE *et al.*, 2015).

Os psicofármacos utilizados para o tratamento do TDM podem ser divididos de acordo com seu mecanismo de ação, aumentando a eficiência sináptica da transmissão monoaminérgica (particularmente de neurônios noradrenérgicos e/ou serotoninérgicos) (PROCYSHYN; BEZCHLIBNYK-BUTLER; JEFFRIES, 2017). Sendo eles classificados como: antidepressivos tricíclicos (ADT), inibidores da monoaminoxidase (IMAO), inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN), além dos inibidores de recaptação de norepinefrina e dopamina (IRNDs) (ERHORNS, 2008; HIRST; MOUTIER, 2010). Entretanto, existe um grande número de pessoas que não são responsivas aos tratamentos utilizados ou ainda não se adaptam a eles devido aos efeitos adversos, representando cerca de dois terços dos pacientes tratados. Também sabe-se que os fármacos antidepressivos produzem um aumento quase que imediato de monoaminas, no entanto, seu efeito terapêutico só é observado em

algumas semanas. Além disso, a depleção de monoaminas endógenas não produz alteração de humor em pessoas saudáveis, apenas em pacientes com TDM em remissão ou com história familiar do transtorno (RUHÉ *et al.*, 2007; SCHWARTZ *et al.*, 2016). Portanto, postula-se que o aumento de monoaminas não é equivalente à ação antidepressiva, ou seja, não se pode estabelecer uma relação direta (WILLNER *et al.*, 2013). Desse modo, foi proposto que as monoaminas possuem papel relevante na fisiopatologia do TDM, entretanto, devido a resposta terapêutica lenta e à relativa baixa eficácia dos antidepressivos disponíveis atualmente, novas teorias para a fisiopatologia da depressão estão sendo investigadas.

3.3. Teoria do estresse oxidativo na depressão

A mitocôndria é a principal fonte de geradora de radicais livres, uma vez que o metabolismo de respiração celular normal produz espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs). As espécies reativas são definidas como moléculas que possuem elétrons desemparelhados no seu orbital mais externo. Algumas espécies são radicalares como o ânion superóxido, o radical hidroxila e os radicais alquila e peroxila. Outras são não radicalares como o peróxido de hidrogênio, o ácido hipocloroso, o oxigênio singlete e peróxidos orgânicos. Além disso, a geração de espécies reativas, em baixas ou moderadas concentrações é uma característica fisiológica importante para a célula (HOVATTA *et al.*, 2010). Entretanto, quando há um desequilíbrio entre a produção e a eliminação de EROs e ERNs, ou seja, um desequilíbrio entre as substâncias pró-oxidantes e as antioxidantes, havendo aumento das pró-oxidantes, pode ser desencadeado o estresse oxidativo, o qual é capaz de causar prejuízos em macromoléculas celulares, como lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (SIES, 1986; HOVATTA *et al.*, 2010; BARBOSA, *et al.*, 2015).

Pesquisadores relatam que a maioria dos tecidos possuem capacidade de produzir normalmente radicais livres, assim como o processo de fosforilação oxidativa mitocondrial, as enzimas monoamino oxidase (MAO), e o citocromo P450

(EMERIT, EDEAS; BRICAIRE, 2004; OHARA, 2006). Portanto, a formação de radicais livres é um processo biológico natural, mas a ocorrência de sua geração deve ser controlada pelo sistema de defesa antioxidante, podendo este ser enzimáticos ou não enzimáticos (HALLIWELL, 2000).

Podemos dividir os sistemas antioxidantes entre endógenos e exógenos. Nos recursos endógenos temos a SOD a CAT e a Glutathione peroxidase (GSH-px). A SOD é responsável por reduzir ou inibir as injúrias causadas pelas espécies reativas e é encontrada naturalmente em nosso organismo, ela promove a remoção das EROs, através da catalisação da dismutação de duas moléculas de O_2 , é responsável por catalisar a conversão do radical ânion superóxido ($\bullet O_2^-$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (COTINGUIBA, 2013). Enquanto a CAT (citossol) e a GSH-Px (mitocôndria) são responsáveis por converter H_2O_2 promovendo sua catálise formando água, impedindo a formação do radical (OH) que é muito reativo. As ações dessas enzimas estão relacionadas aos mecanismos de prevenção de danos oxidativos, impedindo ou controlando a formação de radicais livres (MOREIRA *et al.*, 2010).

Os recursos exógenos, possuem diversas substâncias não enzimáticas como a vitamina C (ascorbato), a vitamina E (α -tocoferol), β -caroteno, flavonóides, selênio, zinco, licopeno, cobre, compostos fenólicos entre outros. Cada uma com seus respectivos mecanismos de ação (HALLIWELL, 2000).

Os radicais livres têm sido implicados na patogênese de muitas doenças relacionadas ao SNC, tais como Parkinson, Alzheimer, epilepsia, depressão, dentre outras. A lista dessas doenças está aumentando nos últimos anos e isso se deve, pelo menos em parte, ao fato de que as moléculas reativas podem produzir uma grande variedade de processos danosos, podendo ser a causa e/ou a consequência desses prejuízos (COBB; COLE, 2015).

Alterações nos parâmetros do estresse oxidativo contribuem para o desenvolvimento de doenças neuropsiquiátricas através da modificação de diversos substratos biomoleculares nas células. Estudos clínicos e pré-clínicos têm demonstrado que o TDM é acompanhado por um aumento nos níveis de EROs, e do dano oxidativo através da lipoperoxidação e alterações nas defesas antioxidantes,

como das enzimas SOD, CAT e GSH-Px (STEFANESCAU; CIOBICA, 2012; AFSAR *et al.*, 2017).

Várias pesquisas demonstraram que houve aumento dos níveis de peroxidação lipídica, representada por TBARS em pacientes com TDM, em estudos com modelo animal de depressão também foi observado a elevação dos níveis de lipoperoxidação através de TBARS (STEFANESCAU; CIOBICA, 2012; SURAJUDEN *et al.*, 2014; AFSAR *et al.*, 2017; ZENI *et al.*, 2017). Além disso, estudos acerca da depressão, mostram evidências do aumento dos níveis de óxido nítrico (NO), em pacientes com TDM em relação aos grupos controles, ensaios pré-clínicos também mostraram o aumento dos níveis de nitritos nos animais expostos ao estresse em comparação aos controles (GONZALEZ *et al.*, 2012; AFSAR *et al.*, 2017; ZENI *et al.*, 2017). Outro parâmetro observado, em pesquisas pré-clínicas, foi a suposta capacidade antioxidante dos grupamentos sulfidrilas (SH) onde foi visto que os níveis dos grupamentos tióis se elevam nos grupos tratados com substâncias antioxidantes em relação aos grupos controles (ROCKENBACH, 2012; ZENI *et al.*, 2017).

Outro aspecto a ser destacado é que o tratamento com antidepressivos possui a capacidade de normalizar os níveis de marcadores do estresse oxidativo (HERKEN *et al.*, 2007). Em pesquisa realizado por Afsar e colaboradores (2017), utilizando extrato da Acácia hydaspica, fluoxetina e diazepam, mostraram o aumento das enzimas antioxidantes SOD, CAT, GR, Glutathione-S-transferase (GST), Glutathione redutase (GSR), GSH-Px, revelando que houve reversão do comportamento tipo depressivo nos grupos tratados, nos animais submetidos ao modelo de estresse.

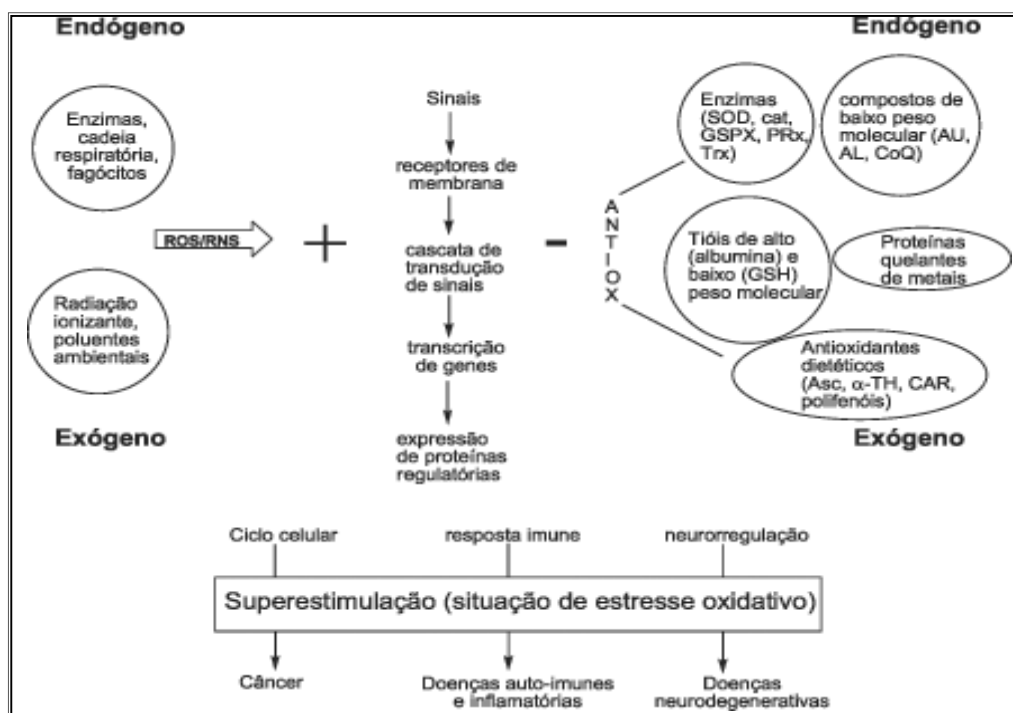


Figura 1: Processos envolvidos no estresse oxidativo.

Fonte: <http://bioradicaibio.blogspot.com.br/2009/07/o-estresse-oxidativo-e-definido-como-um.html>.

Modelo Animal de Depressão

Os modelos animais são ferramentas de grande importância na pesquisa básica e na aplicada, além de serem úteis no desenvolvimento de medicamentos e vacinas com intuito de melhorar e promover a saúde humana. Os estudos de transtornos mentais utilizando modelos animais, apesar de apresentarem limitações, permitem a compreensão de um fator em determinado transtorno, controlando-se as outras variáveis. Esses modelos possibilitam também estudar a interação entre as múltiplas variáveis, visto que, os distúrbios mentais são doenças complexas e multifatoriais. Entre as principais limitações dos modelos animais, está o fato de nos limitarmos à observação de alterações comportamentais ou fisiológicas em virtude da característica subjetiva e introspectiva desses transtornos (ANDREATINI, 2002). Apesar disso, os modelos animais são muito importantes na compreensão dos transtornos mentais, visto que, os mesmos são responsáveis, em grande parte, pelo desenvolvimento das hipóteses que relacionam as possíveis bases neurobiológicas

dessas doenças e, pelo que se sabe atualmente, sobre as ações dos psicofármacos (ANDREATINI, 2002; VALVASSORI *et al.*, 2013). Embora seja impossível recriar fielmente todos os aspectos de uma determinada doença, principalmente, transtornos psiquiátricos, modelos experimentais mimetizam um ou alguns dos sintomas associados à doença ou são sensíveis aos fármacos utilizados clinicamente (KATO *et al.*, 2007; VALVASSORI *et al.*, 2013).

Nesse contexto, o ECI é um dos modelos que melhor reproduz as principais causas da depressão em humanos. Esse modelo baseia-se na exposição crônica de roedores a diferentes agentes estressores, tanto físicos quanto psicológicos, induzindo diversas alterações fisiológicas e comportamentais tais como anedonia, elevação de corticosterona, redução da neurogênese, o que confere ao modelo alta validade preditiva e fenomenológica (WILLNER, *et al.*, 1992; D'AQUILA, 1997; WILLNER, *et al.*, 1997).

Ayahuasca

A palavra Ayahuasca tem origem indígena, Quéchua, onde “aya” significa “alma espírito” e “waska” significa “corda, cipó”, podendo ser traduzida como corda das almas (LABATE; ARAÚJO, 2002). A AYA é uma bebida enteógena, produzida pela decocção de duas plantas Amazônicas o cipó Jagube (*Banisteriopsis caapi*) e pelas folhas da Chacrona (*Psychotria viridis*). Sua utilização é feita através de um processo ritualístico de cunho religioso, sendo administrada apenas em pequenas doses, a fim de promover alterações no estado de consciência, utilizada para fins míticos possibilitando um contato com o “divino” (COSTA, FIGUEIREDO; CAZENAVE, 2005; WINKELMAN, 2014).

Sabe-se que os grupos xamânicos e religiões ayahuasqueiras apresentam formas distintas de preparação da bebida, assim há diferentes graduações do chá da AYA, que são resultante do número de fervuras os quais as plantas são submetidas. Por exemplo, o grau G corresponde ao preparo da primeira decocção, enquanto o 2G seria o resultado de uma segunda fervura do grau G. Já a

Graduação Mel é feita através de dez decocções consecutivas, sendo a de maior concentração dos constituintes psicoativos (LABATE; ARAÚJO, 2002). As β -carbolinas encontradas em maior concentração são a harmina, a harmalina e a tetrahydro-harmalina e estas podem variar de 0,05% a 1,95% da composição total da AYA (MCKENNA *et al.*, 1998). A *B. caapi* é nativa da Amazônia e dos Andes, e possui alcalóides β -carbolínicos em sua composição química, os quais são capazes de inibir reversivelmente a Monoamino-oxidase (MAO) periférica e central (MCKENNA; RIBA, 2015). A *Psycotria viridis*, outra planta utilizada para síntese desta bebida, possui em sua composição o alcalóide derivado indólico N, N-dimetiltriptamina (DMT) em concentrações variáveis de 0,1 a 0,66 e este age sobre os receptores da serotonina (5-HT) (MCKENNA *et al.*, 2004). A DMT é responsável pelo efeito alucinógeno da bebida, porém este composto é inativado quando administrado por via oral, através da metabolização exercida pela MAO hepática e gastrointestinal o que causaria sua degradação antes de atingir a circulação sistêmica e exercer seu efeito no sistema nervoso central (SNC), caso não houvesse a presença das β -carbolinas. Desta forma, as β -carbolinas impedem a degradação da DMT no trato gastrointestinal, possibilitando que essa substância permaneça disponível para ser absorvida (RIBA *et al.*, 2003; SIMÕES; MARIOT, 2003; DOS SANTOS, 2013).

Estudos apontam que os alcalóides β -carbolínicos presentes na AYA permitem a ação psicogênica oral da bebida, por impedir a degradação da DMT pela MAO (MCKENNA; TOWERS; ABBOTT, 1984). Esses alcalóides apresentam maior afinidade inibitória sobre a MAO-A, a qual possui ação de degradação da 5-HT quando comparada a MAO-B. Além do mais, pesquisas salientam que a Tetrahydroharmina, além de aumentar a meia-vida da DMT através da inibição da MAO, bloqueia seletivamente a recaptação de 5-HT (MCKENNA, 2004). A Harmalina tem ação inibidora específica e reversível da MAO-A, enzima envolvida no metabolismo dos neurotransmissores 5-HT, NE e DA, além da DMT. A harmalina também atua a nível de SNC como agonista de receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}-2C-1A, no córtex frontal e região. Sabe-se também que a DMT é estruturalmente semelhante a 5-HT e age ligando-se aos receptores 5-HT_{1a}, 5HT_{1b}, 5-HT_{2a} e

5HT_{2c} presentes no SNC (YRITIA *et al.*, 2002). Dessa forma, a AYA parece exercer ações de sinalização serotoninérgica. Além disso, estudos demonstram que a sinalização de receptores 5-HT a nível de SNC exerce ação modulatória sobre outros sistemas de neurotransmissores cuja disfunção, segundo a hipótese monoaminérgica, relaciona-se a uma série de transtornos neuropsiquiátricos (MCKENNA, 2004).

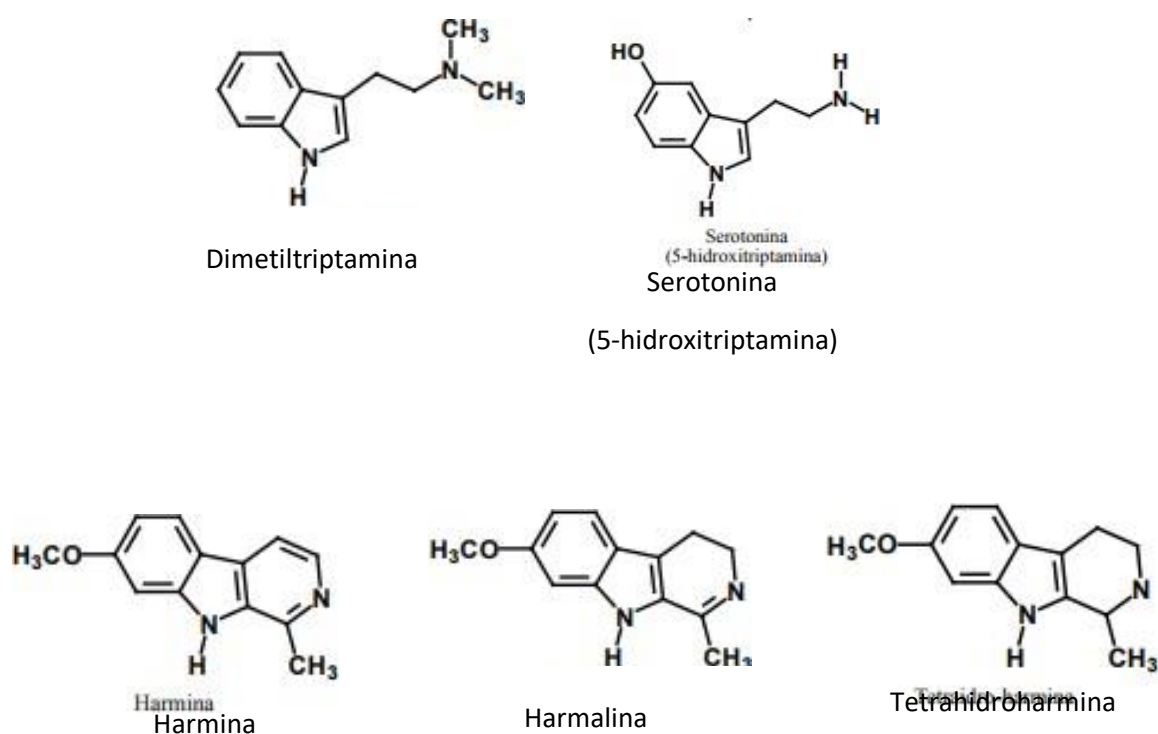


Figura 2: Estruturas químicas dos principais alcalóides presentes na AYA e do neurotransmissor serotonina.

Fonte: <http://naturezadivina.org.br/ciencia/a-interacao-da-ayahuasca-com-o-organismo/>.

Desde o início dos anos 80, o uso religioso e espiritualístico da AYA tem avançado sobre várias regiões do Brasil e do mundo, concentrando-se principalmente em grandes centros urbanos (MCKENNA, 2004). Essa bebida teve sua liberação para o uso em rituais religiosos, pelo Conselho Nacional de Políticas sobre Drogas (2010) no Brasil e, anos mais tarde, outros países adotaram essas medidas como a União Europeia e os Estados Unidos da América

(REGINATO, 2010). Embora já exista resolução mais atual que mantém a legitimidade do uso ritualístico da AYA, vale ressaltar, que foi a partir de 2004, que o plenário do Conselho Nacional Antidrogas – CONAD aprovou o parecer da Câmara de Assessoramento Técnico-Científico, que reconhece em caráter definitivo, a legitimidade do uso da AYA em contexto religioso (Diário Oficial da União; 2004).



Figura 3: Preparo do chá de Ayahuasca.

Fonte: <https://thetruthaboutcancer.com/ayahuasca-tea-cure-cancer/>.

Esta Ementa permitiu a utilização do "chá do Santo Daime" ou "AYA" para fins religiosos (CONAD, 2010). A partir da legalidade de seu uso, estudos clínicos e pré-clínicos têm avaliado o efeito terapêutico da ingestão de AYA sobre várias patologias. Essas pesquisas mostram os possíveis e promissores efeitos da AYA e suas frações, como os efeitos vasodilatadores, anti-inflamatórios, analgésicos, antimicrobianos, antiparkinsonianos, antitumorais, anti-aditivos, antioxidantes, além das propriedades antidepressivas (PATEL *et al.*, 2012; MOLOUDIZARGARI *et al.*,

2013; DAKIC *et al.*, 2016; DOS SANTOS *et al.*, 2016; NUNES *et al.*, 2016; XIU *et al.*, 2017).

Há vários relatos na literatura sobre os possíveis efeitos antidepressivos da AYA bem como das β -carbolinas em especial a harmina. Réus e colaboradores (2010) demonstraram em sua pesquisa a diminuição da lipoperoxidação e o aumento dos níveis das enzimas SOD e CAT em córtex pré-frontal e hipocampo após administração aguda e crônica de harmina, em várias concentrações, em comparação ao grupo controle, tal resultado sugere efeito antidepressivo dessa β -carbolina. Sobre as possíveis propriedades antidepressivas do AYA, Pic-Taylor e colaboradores (2015), após investigarem os efeitos neurotóxicos agudos da AYA em ratas. Sugeriram a capacidade antidepressiva da bebida. Abelaira *et al.*, (2013) através do modelo de estresse leve (CMS), utilizando a harmina, mostrou que essa β -carbolina reverteu a anedonia em ratos. Outro estudo utilizando o teste de nado forçado (TNF), relatou tempo de imobilidade reduzido em ratos, além de observar o aumento dos níveis de BDNF em hipocampo (FORTUNATO *et al.*, 2009). Farzin e Mansouri (2006), após avaliar os efeitos das β - carbolinas em TNF, observou que houve redução no tempo de imobilidade dos roedores, sugerindo o efeito antidepressivo dessas substâncias.

Além disso, em modelo de estresse crônico leve (ECL), utilizando harmina, foi visto que essa substância, possui capacidade de reverter anedonia, dos animais submetidos ao ECL, e também o tratamento utilizado obteve a diminuição do peso das glândulas adrenais, e normalizou os níveis de ACTH e BDNF, sugerindo que essa β -carbolina pode ser uma alternativa para tratamento do TDM (FORTUNATO *et al.*, 2010).



Figura 4: *B. caapi*.

Fonte: <http://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/7/624-102.html>. Estrutura dos Principais a3.



Figura 5: *P. viridis*.

Fonte: <https://caminhodomestre.wordpress.com/ayahuasca>.

PARTE III

MANUSCRITO

AYAHUASCA PREVENT CHANGES IN STRESS OXIDATIVE PARAMETERS ON RATS SUBMITTED TO A CHRONIC UNPREDICTABLE STRESS

Janaína Xavier da Silveira ¹, Cid Pinheiro Farias ², Mayara Sandrielly Pereira Soares ¹, Gabriela de Oliveira Silveira ³, Rosélia Maria Spanevello ¹, Maurício Yonamine ³, Hudson W. de Carvalho ², Giovana Duzzo Gamaro ¹, Giana de Paula Cognato ^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

²Faculdade de Medicina, Curso de Psicologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

³Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*Corresponding Author:

Giana de Paula Cognato (E-mail: giana.cognato@gmail.com)

Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Campus Universitário Capão do Leão, S/N, Prédio 5, Segundo Andar, Sala dos Professores da Farmácia.

CEP: 96160-000 Capão do Leão, RS, Brasil

Phone: +55 53 3275 72 33

ABSTRACT

Depression is a very common and highly disabling psychiatric disorder. Despite the large number of psychoactive drugs available for therapy, the success rate of antidepressant treatments generally does not exceed 60%. In this matter, the search for new therapies that may help to treat this pathology is of great interest. In this context, Ayahuasca (AYA) emerges as a possible alternative for the treatment of depression. AYA is a shamanic beverage resulting from the decoction of two plants: *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*. Considering the above, the aim of this study was to evaluate the effect of subchronic administration of AYA in rats submitted to a model of depression elicited by chronic unpredictable stress (CUS). The behavioral parameters analyzed here verified the depression model by the feeding test, although AYA did not prevent anhedonia caused by CUS. In addition, the open-field test, none of the analyzed parameters (number of crosses, grooming and rearing) were altered by any of the treatments. When we look to oxidative stress parameters, levels of TBARS were increased in cerebral cortex of stress group when compared to control group. We also observed a decrease of Catalase activity with no alteration on superoxide dismutase levels in the same group and cerebral region, interestingly, AYA could counteracts these changes induced by CUS in cerebral cortex. Regarding sulfhydryl and nitrite levels, we also observed changes in the stress group when compared to the control group. While levels of sulfhydryl decreased in the hippocampus, levels of nitrite increased in the cerebral cortex. Again, in both alterations mentioned above, the AYA treatment was effective in preventing changes. The results of this work point to an antioxidant molecular mechanism of ayahuasca in relation to CUS, even though the symptoms of depression have not been prevented. For this reason, more research should be done to elucidate the effects of AYA on behavior and biochemistry related to depression.

Key words: Depression, Ayahuasca, Chronic unpredictable stress, Anhedonia and Oxidative stress.

INTRODUCTION

Ayahuasca (AYA) is a Quechua name used to describe a South American psychotropic plant tea used by indigenous and populations in the Amazon region (MCKENNA, 2004) as part of religious ceremony and with medicinal purposes (LABATE; FEENEY, 2012). Lately, the use of AYA has spread outside of South America, such as United States, Germany, United Kingdom, Netherlands, France, and Spain (RIBA *et al.*, 2001). The beverage usually consists of a blend of two plants, *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*. *B. caapi* is abundant in β -carbolines such as Harmine (HRM), Tetrahydroharmine (THH), and Harmaline (HRL), while *P. viridis* contains considerable amounts of the hallucinogenic N, N-dimethyltryptamine (DMT), a 5-HT_{1A/2A/2C} agonist (RIBA *et al.*, 2003). Pure DMT is not psychoactive after oral administration (RIBA *et al.*, 2015). However, liver and gastrointestinal monoamine oxidase A (MAO-A) inhibition by the β -carboline-especially by harmine-allows DMT to reach the systemic circulation and the brain, where it activates 5-HT_{1A/2A/2C} receptors in frontal and paralimbic areas (RIBA *et al.*, 2003; RIBA *et al.*, 2006; DE ARAUJO, 2012). Preclinical, observational, and experimental studies in healthy volunteers suggest that AYA has antidepressive properties, (DOS SANTOS, 2015) and it has recently been observed that the use of AYA by 6 patients with recurrent major depressive disorder (MDD) was associated with fast-acting and enduring antidepressive effects (OSÓRIO, 2015). In a study conducted by Sanches and coworkers (2016) about antidepressant effects of a Single dose of AYA demonstrate in significant decreases in depression symptomatology (HAM-D, MADRS, BPRS- Anxious-Depression).

Depression is a common and highly disabling syndrome (KESSLER, 2010; MURRAY *et al.*, 2013) that affects approximately 10% of the world population, representing about 350 million people. In addition, it is estimated that, in the next 20 years, depression will be the second most disabling disorder among the world's disease, overcoming cancer and heart disease (WHO, 2017). Also, this frequent pathology has a chronic and recurrent characteristic (USTUN *et al.*, 2004; FERRARI *et al.*, 2013) which is linked to a negative impact on patient's activities and their well-being (WHO, 2016). In addition to being associated with high social and financial costs due to loss of productivity, a high frequency of work shortages and reduced efficiency, as well as greater use of health services also are related to depression (COLLINS 2013; MRAZEK *et al.*, 2014, PAPAKOSTAS; IONESCU, 2015, RIZVI *et al.*, 2015).

Major Depressive Disorder (MDD) as well as other mood disorders have been pharmacologically treated for over decades. Despite this, no remarkable improvement has been found in the available therapies, and there is a high percentage of refractory patients (JESPERSEN *et al.*, 2013). It is believed that MDD has a multifactorial origin from the interaction between genetic, neurobiological and environmental factors (JESPERSEN *et al.*, 2013).

For this reason, it becomes difficult to identify the main mechanisms involved in MDD and consequently develop more effective therapies (KENDLER *et al.*, 2011). In this context some explanations are proposed and oxidative stress is among them.

Oxidative stress has been related to various psychiatric disorders, including MDD (BOUAYED *et al.*, 2009; HOVATTA *et al.*, 2010; BLACK *et al.*, 2015) and may contribute to the onset and a negative trajectory of this pathology through changes in brain structure (MOYLAN *et al.*, 2003). Oxidative stress is caused by imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and antioxidants protection, in favor of the ROS. ROS play an important role in many biological processes, such as apoptosis, transcription factor activation

and cell signaling pathways (HALLIWELL, 2000; HALLIWELL, 2011). However, when present in excessive amounts, ROS can cause damage cellular structures such as membranes, proteins and DNA (ĎURAČKOVÁ, 2010), and consequently, cellular dysfunction and death (FILOMENI; CIRIOLO, 2006). There is evidence that harmine, one of the major β -carboline component of AYA, increases superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities and also decreases lipid and protein oxidation (RÉUS *et al.*, 2010).

Stress is adaptive response that activate the adrenergic sympathetic adrenal medulla system and the HPA-axis, regulating glucocorticoids function (SELYE, 1955; ORSETTI *et al.* 2007; TANKE *et al.*, 2008). The stress response affect metabolism and feeding behavior (CHROUSOS; GOLD 1992; TORRES *et al.*, 2002; DALLMAN *et al.*, 2005; ADAM; EPEL 2007; COTTONE *et al.*, 2009;). The common effect is decrease of food intake with weight loss, but it dependent of severity, duration and type of stressor (TSIGOS; CHROUSOS 2002; TORRES *et al.*, 2002; GAMARO *et al.*, 2003; ADAM; EPEL, 2007). The chronic exposition to different types of stressor cause a decrease in the rewarding properties of variety of natural and drugs rewards, like decrease in the consumption of sweet solutions compatible with a decrease in the rewarding proprieties (WILLNER 1997; GAMARO *et al.*, 2003 a, b; MELLO *et al.*, 2014).

Therefore, the aim of this study was to evaluate the potential effects of AYA sub-chronic therapy on behavioral parameters and oxidative stress in animal model of depression induced by chronic unpredictable stress.

MATERIAL AND METHODS

Ayahuasca

Three liters of AYA were prepared using the original methodology of shamanic rituals and donated to our research group by Santo Daime Church in March 2016. The Church nucleus is located in Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

The AYA sample was lyophilized and immediately stored at -80°C in an Ultra freezer with key. All experiments were performed using the lyophilized AYA and its main psychoactive compounds were characterized.

Characterization of main psychoactive compounds in the Ayahuasca Sample.

i. Ayahuasca Alkaloids Extraction.

An aliquot of 0.5 mL of AYA was added with 3.0 mL of borate buffer solution (pH 9.0). Diphenhydramine was used as an internal standard (PI). The C18 solid phase extraction (SPE) cartridges were conditioned with 2.0 mL of methanol, 1.0 mL of deionized water and 2.0 mL of borate buffer solution (pH 9.0). The sample solution was then transferred to the cartridges. Washing was performed with 1.0 mL of an acetonitrile: water solution (1: 9). After drying for 7 minutes under compression, the elution was done with 2.0 mL of methanol. From the eluate, 2 μ L was injected into the GC-NPD.(PIRES *et al.*, 2009):

ii. Reagents.

Boric acid, methanol and acetonitrile were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Classic Sep-Pack® C18 cartridges (360 mg) were purchased from WatersTetrahydroharmine was synthesized according to the procedure described by Callaway *et al.* (1996). 1.0 mg / mL dimethyltryptamine was obtained from Cerilliant Co (Round Rock, Texas, USA).

iii. GC-NPD Analysis.

The analyzes for dimethyltryptamine, harmine, harmaline and tetrahydroharmine were performed on Agilent Technologies model 6890 gas chromatograph equipped with a nitrogen-phosphor detector and 7683 series automatic injector (Little Falls, DE, USA). Chromatographic separation was achieved on an HP Ultra-2 fused silica capillary column (25 m × 0.2mm × 0.33 μmol film thickness), with ultra-pure nitrogen as the entrainment gas at a constant flow of 1.0 mL / min. Injections (2 μl) were performed in split less mode. The injector and detector temperatures were 280°C. The oven temperature was maintained at 70°C for 1 min; Programmed at 30°C/min. At 120 ° C, 20°C/min at 300°C and maintained at 300°C for 4 min. Analytes were identified based on the comparison of retention times relative to the corresponding internal standard analyzed during the same run. The quantification was based on the ratio of the integrated peak area of the Analytes to that of the internal standard. The final result was multiplied by 100 to compensate for the dilution (CALLAWAY *et al.*, 1996; PIRES *et al.*, 2009). Co. (Bellefonte, PA, USA). Diphenhydramine, harmine (hydrochloride) and harmaline (hydrochloride) were obtained fromSigma Co. (St Louis, MO, USA).

Animals

Thirty-six adult male *Wistar* rats (60 days old; 250–300g of weight) were provided by the Universidade Federal de Pelotas. The animals were housed in group of 4 animals per cage in a room with constant temperature of 22 ±1°C, with a 12-hour light/dark cycle (lights on at 7:00 a.m.). Food and water were available *ad libitum*, except for the stressed group during period when the stressor applied required no food or water. After all treatments, animals were euthanized and the adrenal gland and hippocampus and cortex cerebral were removed and weighed. The adrenal weight was used as an indirect parameter of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. The cerebral tissue was used to analyzed the Oxidative stress parameters, such as Thiobarbituric acid reactive species (TBARS), Superoxide dismutase, Catalase, Total sulfhydryl content, andNitrite levels..

All procedures adopted for the treatment and care of the animals were conducted in accordance with the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and were previously submitted to the Ethics Committee for Animal Experimentation of UFPel (CEEAA) and approved under the protocol number 6936.

Food consumption and weight gain

The standard chow was weighed before and after they were offered to the animals, in order to measure the consumption of food. The food consumption in grams was measured per cage and the amount of food consumed was divided by the number of animals per cage to determine mean consumption per animal. In addition, the animals were weighed weekly, and the weight gain was defined as the difference between final and baseline weights.

AYA treatment and CUS model

During the first 30 days of the experimental procedures, the animals were exposed to 15 doses of AYA 500mg / kg via gavage every other day (see figure 1). CUS protocol was adapted from the previous procedure described by GAMARO and collaborators (2003). After 15th day of treatment with AYA the animals were sub-divided in two groups: control and stressed. Control were kept undisturbed in their home cages during the 30 days of treatment. For stress group, individual stressors and length of time was applied each day. Stress application started

at different times every day, in order to minimize its predictability (timetable according to Table 1). The animals were submitted to the following stressors agents:

- 1-Restraint: In a different room the animal was placed in a 25 x 7 cm plastic bottle, adjusting it with plaster tape on the outside, so that the animal was unable to move. There was a 1-cm hole at one end for breathing.
- 2- Flashing light: Animals were exposed to a 40-W lamp during a frequency of 60 flashes per minute inside the house boxes.
- 3- Noise –stress: Procedure Broad band (White) (100 dBA/4h/d) noise was produced by a white noise generator and amplified (40 W) which was connected to a loudspeaker located at above the animal cage. Animals were exposed to noise 60 to 138 min.
- 4-Forced swimming: the test was carried out by placing the animal in a bailer measuring 50 x 47 x 40 cm, with 30 cm of water at 23 ± 2 °C.
- 5-Isolation: the animal was placed in a cage box 30 x 20 x 13 cm, isolated from the others in a separate room.was performed for 60 to 180 min
- 6- Cage Inclination: the test was placed the box housing with inclination of 45°.was performed for 120 min to 20 hours.
- 7-Water and food deprivation: retreat water and food for up to 24 hours.

Behavioral tests

Consumption of sweet food (feeding test)

After 30 days of treatment, consumption of sweet food was measured in all groups. . The animals were placed in a lightened rectangular box made of wood (40 cm × 15 cm × 20 cm) with a glass ceiling.. Ten *Froot loops* (Kellogg's®— pellets of wheat and corn starch and sucrose) were placed in one extremity of the box. Animals were submitted to five 3 min trials, one per day, in order to become familiarized with this food (ELY *et al.*, 1997). After being habituated, the animals were exposed to two test sessions, 3 min each, when the number of ingested pellets was measured. A protocol was established so that when the animal ate part of the *Froot loops* (e.g. 1/3 or 1/4) this fraction was considered. These two evaluations were made with the animals submitted to fasting (during a period of 22 h prior to the behavioral task) or with animals fed *ad libitum*. These evaluations were made since food deprivation, which is used in many behavior tasks as a motivating stimulus, may also be an acute stressor (KATZ *et al.*, 1981).

Open-field test

Locomotor behavior was monitored using an open-field apparatus. The apparatus consisted of a wooden box measuring 40×60×50 cm. The floor of the arena was divided into 12 equal squares and placed in a sound-free room. Animals were positioned in the central quadrant to freely explore the apparatus. During a five minutes' section The behavior was recorded and the following parameters were analyzed: Total crossings, inner crossings, Grooming, Rearing. were later analyzed The apparatus was cleaned up with an alcohol 10% solution and dried after each individual animal section.

Biochemical assay

Tissue Preparation

Animals were euthanized by cardiac puncture with overdose of isoflurane and thereafter decapitation was performed. Cerebral cortex, hippocampus, and adrenal glands were dissected

and weighed. The brain structures were stored under refrigeration -80°C. After, cerebral cortex and hippocampus were homogenized in 20 mM sodium phosphate buffer containing 140 mM KCl (pH 7.4) and centrifuged at 3500 rpm for 10 min at 4°C. The supernatant was used to evaluate the parameters of oxidative stress. The protein content was quantified by the method of Lowry *et al.* (1951) using bovine serum albumin as a standard.

Determination of lipid peroxidation

Lipid peroxidation was estimated by measuring TBARS, was determined according to the method described by Ohkawa *et al.*, (1979). Briefly, tissue supernatant was mixed with 15% trichloroacetic acid and 0.8% thiobarbituric acid and heated in a boiling water bath for 60 min. TBARS were determined by the absorbance at 535 nm and reported as nmol TBARS/mg protein.

Superoxide dismutase (SOD) activity

The total SOD activity was measured by the inhibition of the radical superoxide reaction with adrenalin method described by Misra and Fridovich (1972). This method is based on the inhibition of superoxide dependent adrenaline auto-oxidation in a spectrophotometer adjusted at 480 nm. One SOD unit was defined as the enzyme amount to cause 50 % inhibition of adrenaline autooxidation. The specific activity of SOD was reported as unit's/ mg protein (U/mg of protein).

Catalase (CAT) activity

The technique used for CAT dosing is based on H₂O₂ consumption, the reaction is detected by the spectrophotometer at 240nm with a total time of 56 seconds and a time interval of 7seconds. One CAT unit decomposes 1 µmol H₂O₂ per mg protein in 1 minute. (MAEHL; CHANCE, 1954). After calibration of the equipment, 1 mL of 25% phosphate buffer was placed in a quartz cuvette, after the apparatus was reset, and the buffer discarded. Afterwards, 955 µl of phosphate buffer was added to the cuvette with 10 µl of the sample, at a concentration of 0.8 µg / µl, after 10 seconds the device was zeroed and the value given was used as baseline. After 35 µl of H₂O₂ was added to start the reading curve. The experiments were done in duplicate.

Total sulfhydryl content

This assay was performed as described by Aksenov and Markesbery (2001). The method is based on the reduction of DTNB by thiols, which in turn, becomes oxidized (disulfide) generating a yellow derivative (TNB) whose absorption is measured spectrophotometrically at 412 nm. Briefly, homogenates were added to PBS buffer pH 7.4 containing EDTA. The reaction was started by the addition of 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB). Results were reported as nmol TNB per mg of protein.

Nitrite levels assay

The supernatants were used in a colorimetric reaction with Griess (STUEHR *et al.*, 1989). For this reaction, 50 µl of sulfanilamide in 5% phosphoric acid was added to 50 µl of supernatants. After, the samples were maintained in room temperature for 10 minutes. Subsequently, the samples were mixed with 100µl of Griess reagent (0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride) and incubated for 10 minutes in a dark room. The

absorbance was measured at 540nm and the amount of nitrite was express as μmol of nitrite per mg of protein.

Statistical analysis

Data are expressed as mean $\pm$ SEM of the mean, and analyzed using one-way ANOVA, were followed by the Tukey multiple range test, when indicated. For parameters of body weight gain, locomotor activity in open field and adrenal ratio t test was done for groups control and stress, without treatment with AYA. All analyses were performed using GraphPad Prism 5 software and significance level was set at $P < 0.05$ for all analyses.

RESULTS

Characterization of main psychoactive compounds in Ayahuasca Sample

The Ayahuasca sample, at 500mg, used in this experiment had the following concentrations of psychoactive alkaloids analyzed: 0.28mg DMT, ie 0.056% (w/w); 0.70 mg THH, ie 0.14% (w/w); 0.13 mg of HRL, i.e. 0.026% (w/w) and 0.57 mg of HRM, i.e. 0.114% (w/w), according to Table 2.

Verification of like-depression model

The initial analysis of this work was performed in order to verify whether CUS protocol leads a depressive behavior. As expected, CUS-submitted animals presented anhedonia (the ingestion of sweet food were smaller when compared to control group). Also, AYA treatment was unable to prevent the anhedonia after CUS exposure (see fig. 2). Ratio of adrenal weight and body weight gain of rats were also evaluated. Increased ratio was observed in Stress and Stress-AYA groups when compared to control group, while AYA group had no statistically significant effect on basal ratio (see fig 3).

Locomotor activity

The locomotor activity in the open field test showed no statistical difference between groups in the parameters of number of lines crossings (figure 4A), grooming (figure 4B), and rearing (figure 4C). Both stressed and control animals exhibited similar number of entries to the center of the arena (0.25 ± 0.13 and 0.73 ± 0.32 , respectively; $U=78$, $Z=-0.56$, $P=0.57$). No differences in other indices studied such as defecation boli and grooming were detected in the animals exposed to CUS (data not shown).

TBARS analysis

After CUS and AYA treatments. TBARS in hippocampus and cortex cerebral of rats were analyzed in order to see lipid peroxidation. The analysis in hippocampus showed no statistical difference between all treated groups when compared to control group. However, when cerebral cortex was analyzed, a significantly increase in lipids peroxidation was observed in stress group when compared to control group. Thus, AYA and AYA-Stress were statistically similar to control animals.

Antioxidant enzymes

We also analyzed the pro-oxidant enzymes SOD and CAT. On hippocampus samples, a statistically significant increase on SOD activity in AYA stress group was observed in

relation to the control group. Also, SOD activity in AYA stress group showed a statistically significant increase in relation to the Stress Group (Fig 6A). On cerebral cortex samples, SOD activity showed a significant decrease on stress group when compared to the control group. AYA and stress AYA did not present a statistically significant difference on SOD activity in relation to the control group (Fig 6B). The CAT activity was decreased in cerebral cortex of stress group in relation to control group, and AYA treatment was able to prevent this change. No statistical difference was observed in the hippocampus of all groups tested (Fig 7).

Sulfhydryl activity

The activity of sulfhydryl in hippocampus and cerebral cortex were also evaluated. A decrease of sulfhydryl activity was observed in hippocampus of stress group, when compared to the control group. Meanwhile, control AYA, and stress-AYA groups did not have a significant difference. No significant difference was observed on sulfhydryl activities in cerebral cortex of all groups.

Nitrites activity

Furthermore, the activity of nitrites in hippocampus and cerebral cortex were also evaluated. In cerebral cortex, there was a statistically significant increase in stress and AYA groups in relation to the control group. The AYA stress group was not statistically different from the control group. No statistical difference was observed in the hippocampus.

DISCUSSION

In the present work, we have analyzed the effects of AYA on rats submitted to a model of like-depressive induced by CUS. We observed that there was a decrease in the intake of sweet foods in rats submitted to CUS. These findings corroborate with the literature, since a reduction in the consumption of sweet foods (*Foot Loops*) was observed on CUS-exposed rats (GAMARO *et al.*, 2003). In addition, Wu and colleagues (2017), used an unpredictable chronological light bang model, which consists of exposure to seven different stressors applied on different days, lasting 28 days. In this study, the depression model anhedonia was verified by a decrease of sucrose intake after the test of sucrose preference (WU *et al.*, 2017). Also, Sharma *et al.*, (2015) use CUMS in work to evaluate chronic stress response in estrogen receptors. This experiment was carried out in mice and lasted 14 days, using nine different stressors. There was a decrease in the consumption of Sucrose (sweet food) in the CUMS group in relation to the control group (SHARMA *et al.*, 2015).

We also found that there was a decrease in the consumption of sweet food in AYA stress group, showing that AYA treatment was not able to prevent the anhedonia induced by CUS. This result does not corroborate with the findings in the literature, which evaluates the effects of a β -carboline (harmine) administration on behavior of rats exposed to chronic mild stress (CMS) (ABELAIRA *et al.*, 2013). The authors observed a reversion of stress anhedonia induced by Harmine, and this finding was verified using the feeding test, which consists in offering the rats the same *foot loops* we did (ABELAIRA *et al.*, 2013). Another authors observed an increase in sweet food intake of rats submitted to CMS treated, after Harmine exposure when compared to rats submitted to only stress (FORTUNATO *et al.*, 2010).

However, these works analyzed Harmine effects and not AYA. Until now, our study is the only one regarding AYA effects on anhedonia induced by CUS.

Still discounting about the verification of CUS model, the ratio of adrenal weight and weight gain of rats showed that both stress groups had an increase when compared to the control group. It has already been observed in the literature that animals exposed to a stress model similar to the one used here, showed an increased adrenal weight / body weight ratio. This fact may indicate a hypertrophy of the adrenal gland, which suggests a disorder on the HPA axis and consequently a possible increase in corticosterone secretion (GAMARO *et al.*, 2003).

Regarding locomotor activity after exposure to, there are conflicting data in the literature. While Xie and colleagues (2017) showed that rats submitted to CMS model of like-depression showed changes in OFT parameters such as total distance traveled, the cross-line numbers, and the time spent in the outer zone, other authors showed no change after similar treatments and parameters of OFT. Fortunato and colleagues (2010) observed no change in OFT parameters (rearing, crossings) of rats submitted to CMS model and treated with Harmine. In addition, another study showed that after CMS and Harmine treatments, no difference in the number of crosses and rearing was observed (ABELAIRA *et al.*, 2013). Regarding studies using AYA, Correa-Neto and colleagues (2017) observed no changes in OFT in adult mice after a chronic treatment during 4 weeks. These studies corroborate with our findings, since we also observed no change in OFT parameters in all groups tested.

Knowing that the increase of oxidative damage in the brain, can be one of the main mechanisms involved in the pathogenesis of depression (NG *et al.*, 2008), and that neuro-oxidative and neuro-nitrosative pathways may cause neuroprogressive processes (BAKUNINA *et al.*, 2015), we also look at the oxidative stress caused by CUS model.

In fact, we verified that liporoxidation (TBARS levels) are increased in the cerebral cortex of stress group in comparison to the control group. Also, no change was observed in liporoxidation on hippocampus samples after CUS treatment. Our data are in accordance to Lucca and colleagues (2009), which observed an increase on TBARS levels in cerebral cortex of rats submitted to CMS. These researchers followed an adapted protocol of stress and feeding of Gamaro and coworkers (2003), very similar to the one performed here. Another study, corticosterone was used to induce a like-depression model and mice exhibited increased TBARS levels in whole brain samples (GUPTA *et al.*, 2015). Regarding the lipoperoxidation differences on distinct brain region, a point to be considered is that the amount of oxidizable lipids available in each brain structure analyzed limits the comparison between them (CHAVKO *et al.*, 1993).

The CUS-induced increased TBARS levels on cerebral cortex observed in our study was accompanied by a decrease in the activity of an anti-oxidant enzyme in the same group and cerebral region, Catalase. Likewise, a decrease in CAT activity at all stages of development, in cortex and hippocampus of rats submitted to a like-depression model induced by maternal deprivation was reported (Réus *et al.*, 2017). In addition, Afsar and coworkers (2017) reported a decrease in CAT levels on all brain tissue after FTS model of depression. These findings corroborate with our results in cerebral cortex. On the other hand, we did not find any changes in hippocampus of stress group. Regarding changes in hippocampus CAT activity, another study demonstrated a decrease in this enzyme in the same brain region after CMS (Kumar and

Mondal, 2016). The stress protocol applied by these authors used the same stressor agent and we performed CUS. This could explain the differences observed here. The inconsistency of literature data regarding CAT shows that this enzyme activity is susceptible to different models of depression and could increase or decrease depending of stressor agent and protocol applied. Regarding the effects of AYA on cerebral cortex and hippocampus of CUS-treated rats, we observed a prevention on the increased liporoxidation induced by CUS only on cerebral cortex. This prevention was also observed on CUS-induced changes on cerebral cortex CAT activity. In literature, Harmine decrease the liporoxidation/TBARS levels in the cerebral cortex of rats (RÉUS *et al.*, 2010). The same authors reported that there was an increase in CAT activity in the hippocampus and prefrontal cortex of rats submitted to harmine treatment (5 mg/kg). These findings do not corroborate with our research since we observed no change in TBARS levels nor CAT activity on hippocampus and cerebral cortex of rats after only AYA treatment. It's important to notice that the authors did not perform any model of stress and this research was based on a fraction of AYA: Harmine

Still discussing the influence of AYA and CUS treatments on antioxidant enzymes, it was also observed a hippocampal increased in SOD levels on Stress AYA group when compared to the control group. This data showed that only combined, Stress and AYA treatments were able to change this enzyme activity. In cerebral cortex, there was no statistical change in SOD activity after all treatments. Kumar and Mondal, (2016) reported that there was a decrease in SOD in the hippocampus of the mice that underwent CMS. In addition, in a maternal deprivation model (MCD), performed to mimic depression was observed that SOD activity decreased at all stages of development, in cerebral cortex and hippocampus (Réus *et al.*, 2017). Furthermore, in a study of potential antidepressant and anxiolytic activity of *Acacia hydaticity*, researchers showed a decrease of SOD activity in rats submitted to the FST model, lasting seven days (Afsar *et al.*, 2017). Thus, our findings do not corroborate with the literature cited above, since our stress protocol and the treatment we offered were different from those mentioned on literature. However, Réus *et al.* (2010) reported an increase in SOD activity in the hippocampus and prefrontal cortex of animals that undergo CMS and were treated by harmine (5 mg/kg). This finding corroborates with our research regarding the hippocampus samples. However, when we look at cerebral cortex results, the enhanced SOD activity observed by Réus and colleagues (2010) is not detected. This perhaps could be explained by the size of cerebral cortex sample: we used much more material while the authors used prefrontal cortex, a smaller piece of sample. Furthermore, this difference could be also explained because Réus and colleagues (2010) used harmine, a fraction of AYA.

We also looked at sulfhydryl and nitrite levels after AYA and CUS treatments. Reduced glutathione (GSH) is one of the most important agents of the cellular antioxidant defense system and the main eliminator of free radicals in the brain. GSH level has been used as a marker of cellular health and its deficit is indicative of cell injury (HALLIWELL and GUTTERIDGE, 1985; GALLEANO, DENEKE, FANBURG, 1989, PUNTARULO, 1995). Also, GSH is present in most cells with abundant thiol (-SH) in the intracellular medium (MEISTER; ANDERSON, 1983). Its reducing ability is determined by the -SH group. Also, protein thiols exert non-enzymatic antioxidant effects by keeping the intracellular environment stable, eliminating free radicals and ROS (EREL, 2004; TURELL, RADI; ALVAREZ, 2013). A study about middle-aged women, with evaluation of neurotrophic, oxidative and inflammatory parameters as markers of depression observed that total thiol

content decreased over time in the control group, but not in women who developed MDD (PASQUALI *et al.*, 2017). This data doesn't corroborate with our findings, because we observed that the sulfhydryl levels decreased in the hippocampus of the animals of the stress group in relation to the control group. However, the authors performed this study using serum of humans and not brain structures of rats. Thus, it cannot be excluded that the thiol content may be associated with MDD.

Nitrite can be considered as an indirect measure of the production of nitric oxide, which induces hypernitrosylation, causing neuroprogressive damages (MOYLAN *et al.*, 2014). In the present research we observed that the levels of nitrites in hippocampus of all treated rats did not change. However, when we analyzed cerebral cortex samples, an increase in nitrite levels was observed in the stress and AYA groups when compared to control group. Our data corroborates with the literature. A study that evaluate the antidepressant and anxiolytic potential of *Acacia hydaspica* extract showed increased levels of nitrites in the stress group in relation to the control group (AFSAR *et al.*, 2017). Also, mice submitted to chronic unpredictable mild stress model of depression induced by corticosterone presented high levels of brain nitrite (GUPTA *et al.*, 2015).

CONCLUSION

The proposed model of depression used on this research was verified through the feeding test, since we observed that the stressed group became anhedonic. However, the sub-chronic treatment with AYA was unable to prevent this eating behavior. We have to take into account that the experimental design could have interfered in the results, since the animals exposed to stress did not receive AYA in the last 15 days of CUS before euthanasia. In addition, the experimental design applied here was pioneer. Regarding the oxidative stress parameters, we can also emphasize that they were altered by the CUS and were prevented by AYA treatment, showing that AYA could be related to the oxidative stress component of depression development. Therefore, we see that the use of AYA may be a promising tool for the treatment of depression, since this shamanic tea was able to positively alter the parameters of oxidative stress in a model of like-depression. However, more research should be done to elucidate the effects of AYA on behavior and biochemistry related to depression.

Acknowledgments

This Work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), CAPES and Fundação de Amparo à pesquisa do Rio Grande de do Sul (FAPERGS).

Author Contributions Statement

GdePC, JXS and GDG has designed the methodology, analyzed data and written the article; JXS and CPF have collected behavior data; JXS and MSPS have performed stress oxidative analysis. GdeOS and MY have quantified ayahuasca alkaloids; RMS has contributed with infrastructure and reagents and HWdeC has acquired ayahuasca and revised the article.

REFERENCES

- Abelaira, Helena Mendes, et al. "β-Carboline harmine reverses the effects induced by stress on behaviour and citrate synthase activity in the rat prefrontal cortex." *Acta neuropsychiatrica* 25.6 (2013): 328-333.
- Adam, T. C., & Epel, E. S. (2007). Stress, eating and the reward system. *Physiology & behavior*, 91(4), 449-458.
- Afsar, T., Razak, S., Khan, M. R., & Almajwal, A. (2017). Anti-depressant and anxiolytic potential of *Acacia hydaspica* R. Parker aerial parts extract: Modulation of brain antioxidant enzyme status. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 228.
- Aksenov, M. Y., & Markesbery, W. R. (2001). Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neuroscience letters*, 302(2), 141-145.
- Bakunina, N., Pariante, C. M., & Zunszain, P. A. (2015). Immune mechanisms linked to depression via oxidative stress and neuroprogression. *Immunology*, 144(3), 365-373.
- Black, C. N., Bot, M., Scheffer, P. G., Cuijpers, P., & Penninx, B. W. (2015). Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 51, 164-175.
- Biswas, S., Chida, A. S., & Rahman, I. (2006). Redox modifications of protein–thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochemical pharmacology*, 71(5), 551-564.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9.
- Bouayed, J., Rammal, H., & Soulimani, R. (2009). Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(2), 63-67.
- Callaway, J. C., (1996). Quantitation of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids in human plasma after oral dosing with ayahuasca., *Journal of ethnopharmacology* , 20(6), 492–497.
- Correa-Netto, N. F., Masukawa, M. Y., Nishide, F., Galfano, G. S., Tamura, F., Shimizo, M. K., & Linardi, A. (2017). An ontogenic study of the behavioral effects of chronic intermittent exposure to ayahuasca in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 50(7).
- Chavko, M., Nemoto, E. M., & Melick, J. A. (1993). Regional lipid composition in the rat brain. *Molecular and chemical neuropathology*, 18(1), 123-131.
- Chrousos, G. P., & Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama*, 267(9), 1244-1252.

- Circu, M. L., & Aw, T. Y. (2010). Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(6), 749-762.
- Collins, P. Y., Insel, T. R., Chockalingam, A., Daar, A., & Maddox, Y. T. (2013). Grand challenges in global mental health: integration in research, policy, and practice. *PLoS medicine*, 10(4), e1001434.
- Cottone, P., Sabino, V., Roberto, M., Bajo, M., Pockros, L., Frihauf, J. B., & Conti, B. (2009). CRF system recruitment mediates dark side of compulsive eating. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(47), 20016-20020.
- Dallman, M. F., Pecoraro, N. C., & la Fleur, S. E. (2005). Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain, behavior, and immunity*, 19(4), 275-280.
- de Araujo, D. B., Ribeiro, S., Cecchi, G. A., Carvalho, F. M., Sanchez, T. A., Pinto, J. P., & Santos, A. C. (2012). Seeing with the eyes shut: neural basis of enhanced imagery following ayahuasca ingestion. *Human brain mapping*, 33(11), 2550-2560." *Human brain mapping* 33.11 (2012): 2550-2560.
- de Castro-Neto, E. F., da Cunha, R. H., da Silveira, D. X., Yonamine, M., Gouveia, T. L. F., Cavaleiro, E. A., & da Graça Naffah-Mazzacoratti, M. (2013). Changes in aminoacidergic and monoaminergic neurotransmission in the hippocampus and amygdala of rats after ayahuasca ingestion. *World journal of biological chemistry*, 4(4), 141.
- de Mello, A. H., Gassenferth, A., de Bona Schraiber, R., da Rosa Souza, L., Florentino, D., Danielski, L. G., & Rezin, G. T. (2014). Effects of omega-3 on behavioral and biochemical parameters in rats submitted to chronic mild stress. *Metabolic brain disease*, 29(3), 691-699.
- Deneke, S. M., & Fanburg, B. L. (1989). Regulation of cellular glutathione. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 257(4), L163-L173.
- dos Santos, R. G., Osório, F. L., Crippa, J. A. S., & Hallak, J. E. (2016). Antidepressive and anxiolytic effects of ayahuasca: a systematic literature review of animal and human studies. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 38(1), 65-72.
- Durackova, Z. (2010). Some current insights into oxidative stress. *Physiological Research*, 59(4), 459.
- Ely, D. R., Dapper, V., Marasca, J., Correa, J. B., Gamaro, G. D., Xavier, M. H., & Dalmaz, C. (1997). Effect of restraint stress on feeding behavior of rats. *Physiology & behavior*, 61(3), 395-398.
- Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical biochemistry*, 37(2), 112-119.

Ferrari, A. J., Charlson, F. J., Norman, R. E., Patten, S. B., Freedman, G., Murray, C. J., & Whiteford, H. A. (2013). Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010. *PLoS medicine*, 10(11), e1001547.

Filomeni, G., & Ciriolo, M. R. (2006). Redox control of apoptosis: an update. *Antioxidants & redox signaling*, 8(11-12), 2187-2192.

Fortunato, J. J., Réus, G. Z., Kirsch, T. R., Stringari, R. B., Fries, G. R., Kapczinski, F., & Quevedo, J. (2010). Effects of β -carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties. *Brain research bulletin*, 81(4), 491-496.

Galleano, M., & Puntarulo, S. (1995). Role of antioxidants on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1271(2-3), 321-326.

Gamaro, G. D., Manoli, L. P., Torres, I. L. S., Silveira, R., & Dalmaz, C. (2003). Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochemistry international*, 42(2), 107-114.

Gamaro, G. D., Streck, E. L., Matté, C., Prediger, M. E., Wyse, A. T. & Dalmaz, C. (2003). Reduction of hippocampal Na⁺, K⁺-ATPase activity in rats subjected to an experimental model of depression. *Neurochemical research*, 28(9), 1339-1344.

Gawryluk, J. W., Wang, J. F., Andreazza, A. C., Shao, L., Yatham, L. N., & Young, L. T. (2011). Prefrontal cortex glutathione S-transferase levels in patients with bipolar disorder, major depression and schizophrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 14(8), 1069-1074.

Gupta, D., Radhakrishnan, M., & Kurhe, Y. (2015). Effect of a novel 5-HT 3 receptor antagonist 4i, in corticosterone-induced depression-like behavior and oxidative stress in mice. *Steroids*, 96, 95-102.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1985). Free radicals in biology and medicine.

Halliwell, B. (2000). The antioxidant paradox. *The Lancet*, 355(9210), 1179-1180.

Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress.

Halliwell, B. (2011). Free radicals and antioxidants—quo vadis?. *Trends in pharmacological sciences*, 32(3), 125-130.

Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition reviews*, 70(5), 257-265.

Hovatta, I., Juhila, J., & Donner, J. (2010). Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders. *Neuroscience research*, 68(4), 261-275.

Katz, R. J. (1981). Animal models and human depressive disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 5(2), 231-246.

Kessler, R. C., Birnbaum, H. G., Shahly, V., Bromet, E., Hwang, I., McLaughlin, K. A., & Haro, J. M. (2010). Age differences in the prevalence and co-morbidity of DSM-IV major depressive episodes: results from the WHO World Mental Health Survey Initiative. *Depression and anxiety*, 27(4), 351-364.

Jespersen, L., Abildstrøm, S. Z., Hvelplund, A., & Prescott, E. (2013). Persistent angina: highly prevalent and associated with long-term anxiety, depression, low physical functioning, and quality of life in stable angina pectoris. *Clinical Research in Cardiology*, 102(8), 571-581.

Kendler, K. S., Zachar, P., & Craver, C. (2011). What kinds of things are psychiatric disorders?. *Psychological medicine*, 41(6), 1143-1150.

Labate, B. C., & Feeney, K. (2012). Ayahuasca and the process of regulation in Brazil and internationally: Implications and challenges. *International Journal of Drug Policy*, 23(2), 154-161.

Lapidus, K. A., Gabbay, V., Mao, X., Johnson, A., Murrough, J. W., Mathew, S. J., & Shungu, D. C. (2014). In vivo ¹H MRS study of potential associations between glutathione, oxidative stress and anhedonia in major depressive disorder. *Neuroscience letters*, 569, 74-79.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.

Lucca, G., Comim, C. M., Valvassori, S. S., Réus, G. Z., Vuolo, F., Petronilho, F., & Quevedo, J. (2009). Increased oxidative stress in submitochondrial particles into the brain of rats submitted to the chronic mild stress paradigm. *Journal of psychiatric research*, 43(9), 864-869.

McKenna, Dennis J. "Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges." *Pharmacology & therapeutics* 102.2 (2004): 111-129.

Meister, A., & Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual review of biochemistry*, 52(1), 711-760.

Moylan, S., Maes, M., Wray, N. R., & Berk, M. (2013). The neuroprogressive nature of major depressive disorder: pathways to disease evolution and resistance, and therapeutic implications. *Molecular psychiatry*, 18(5), 595-606.

Misra, H. P., & Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological chemistry*, 247(10), 3170-3175.

- Mrazek, D. A., Hornberger, J. C., Altar, C. A., & Degtiar, I. (2014). A review of the clinical, economic, and societal burden of treatment-resistant depression: 1996–2013. *Psychiatric services*, 65(8), 977-987.
- Murray, C. J., & Lopez, A. D. (2013). Measuring the global burden of disease. *New England Journal of Medicine*, 369(5), 448-457.
- Ng, F., Berk, M., Dean, O., & Bush, A. I. (2008). Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 11(6), 851-876.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Orsetti, M., Colella, L., Dellarole, A., Canonico, P. L., & Ghi, P. (2007). Modification of spatial recognition memory and object discrimination after chronic administration of haloperidol, amitriptyline, sodium valproate or olanzapine in normal and anhedonic rats. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 10(3), 345-357.
- Osório, F. D. L., Sanches, R. F., Macedo, L. R., dos Santos, R. G., Maia-de-Oliveira, J. P., Wichert-Ana, L., & Hallak, J. E. (2015). Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a preliminary report. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 37(1), 13-20.
- Papakostas, G. I., & Ionescu, D. F. (2015). Towards new mechanisms: an update on therapeutics for treatment-resistant major depressive disorder. *Molecular psychiatry*, 20(10), 1142-1150.
- Pasquali, M. A., Harlow, B. L., Soares, C. N., Otto, M. W., Cohen, L. S., Minuzzi, L., & Frey, B. N. (2017). A longitudinal study of neurotrophic, oxidative, and inflammatory markers in first-onset depression in midlife women. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 1-11.
- Pires, A. P. S., De Oliveira, C. D. R., Moura, S., Dörr, F. A., Silva, W. A. E., & Yonamine, M. (2009). Gas chromatographic analysis of dimethyltryptamine and β -carboline alkaloids in ayahuasca, an amazonian psychoactive plant beverage. *Phytochemical Analysis*, 20(2), 149-153.
- Réus, G. Z., Stringari, R. B., de Souza, B., Petronilho, F., Dal-Pizzol, F., Hallak, J. E., & Quevedo, J. (2010). Harmine and imipramine promote antioxidant activities in prefrontal cortex and hippocampus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(5), 325-331.
- Riba, J., Rodríguez-Fornells, A., Urbano, G., Morte, A., Antonijoan, R., Montero, M., & Barbanoj, M. J. (2001). Without Title. *Psychopharmacology*, 154(1), 85-95.

- Riba, J., Romero, S., Grasa, E., Mena, E., Carrió, I., & Barbanoj, M. J. (2006). Increased frontal and paralimbic activation following ayahuasca, the pan-Amazonian inebriant. *Psychopharmacology*, 186(1), 93-98.
- Riba, J., McIlhenny, E. H., Bouso, J. C., & Barker, S. A. (2015). Metabolism and urinary disposition of N, N-dimethyltryptamine after oral and smoked administration: a comparative study. *Drug testing and analysis*, 7(5), 401-406.
- Rizvi, S. J., Cyriac, A., Grima, E., Tan, M., Lin, P., Gallagher, L. A., & Kennedy, S. H. (2015). Depression and employment status in primary and tertiary care settings. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 60(1), 14-22.
- Sanches, R. F., de Lima Osório, F., Dos Santos, R. G., Macedo, L. R., Maia-de-Oliveira, J. P., Wichert-Ana, L., & Hallak, J. E. (2016). Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a SPECT study. *Journal of clinical psychopharmacology*, 36(1), 77-81.
- Selye, H. (1955). Stress and disease. *The laryngoscope*, 65(7), 500-514.
- Sharma, H. R., & Thakur, M. K. (2015). Correlation of ER α /ER β expression with dendritic and behavioural changes in CUMS mice. *Physiology & behavior*, 145, 71-83.
- Stuehr, D. J., & Nathan, C. F. (1989). Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. *Journal of Experimental Medicine*, 169(5), 1543-1555.
- Siwek, M., Sowa-Kućma, M., Dudek, D., Styczeń, K., Szewczyk, B., Kotarska, K., & Nowak, G. (2013). Oxidative stress markers in affective disorders. *Pharmacological Reports*, 65(6), 1558-1571.
- Tanke, M. A., Alserda, E., Doornbos, B., van der Most, P. J., Goeman, K., Postema, F., & Korf, J. (2008). Low tryptophan diet increases stress-sensitivity, but does not affect habituation in rats. *Neurochemistry international*, 52(1), 272-281.
- Torres, I. L. S., Gamaro, G. D., Vasconcellos, A. P., Silveira, R., & Dalmaz, C. (2002). Effects of chronic restraint stress on feeding behavior and on monoamine levels in different brain structures in rats. *Neurochemical research*, 27(6), 519-525.
- Tsigos, C., & Chrousos, G. P. (2002). Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research*, 53(4), 865-871.
- Turell, L., Radi, R., & Alvarez, B. (2013). The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 244-253.
- Willner, P. (1997). Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*, 134(4), 319-329.

world health organization. Depression (2017). Disponível em:
<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>> Acessado em: 10 dez 2017>

Wu, G. F., Ren, S., Tang, R. Y., Xu, C., Zhou, J. Q., Lin, S. M., & Yang, J. C. (2017). Antidepressant effect of taurine in chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats. *Scientific reports*, 7(1), 4989.

Üstün, T. B., Ayuso-Mateos, J. L., Chatterji, S., Mathers, C., & Murray, C. J. (2004). Global burden of depressive disorders in the year 2000. *The British journal of psychiatry*, 184(5), 386-392.

Xie, X., Chen, Y., Ma, L., Shen, Q., Huang, L., Zhao, B., & Fu, Z. (2017). Major depressive disorder mediates accelerated aging in rats subjected to chronic mild stress. *Behavioural Brain Research*, 329,

Legend to figures

Figure 1: Timeline of experimental design. OFT- open field test, F- feeding, Exp. SO- analysis of oxidative stress parameters

Figure 2. Mean intake of sweet food after CUS and AYA treatments. Data were expressed by mean $\pm$ S.E.M. (N = 9 animals for each group). Data were analyzed by one-way ANOVA with $P < 0.05$, being significantly different from the control group (*).

Figure 3. Effect of CUS and AYA (500 mg/kg, v0) on the Adrenal Weight and weight gain of the rats Ratio at the end of all treatments. Results are expressed as mean $\pm$ standard error (n = 9) per group). Data were analyzed by one-way ANOVA with $P < 0.05$, being significantly different from the control group (*).

Figure 4. Effect of CUS and AYA in Open field test. Parameters analyzed: number of line crossing (A), Grooming (B), and Rearing (C). Results are expressed as mean $\pm$ standard error (n = 9 per group). Data were analyzed by one-way ANOVA with $P < 0.05$, being significantly different from the control group (*).

Figure 5: Effect of CUS and AYA (500 mg/kg, v.o.) on levels of TBARS in rat hippocampus (A) and cerebral cortex (B). Results are expressed as mean $\pm$ standard error (n = 9 per group). Data were analyzed by one-way ANOVA with $P < 0.05$, being significantly different from the control group (*).

Figure 6: Effect of CUS and AYA (500 mg/kg, v.o.) on levels of SOD substances in rat hippocampus (A) and cerebral cortex (B). Results are expressed as mean $\pm$ standard error (n = 9 per group). Data were analyzed by one-way ANOVA with $P < 0.05$, being significantly different from the control group (*).

Figure 7: Effect of CUS and AYA (500 mg/kg, v.o.) on CAT levels in rat hippocampus (A) and cerebral cortex (B). Results are expressed as mean $\pm$ standard error (n = 9 per group). Data were analyzed by one-way ANOVA with $P < 0.05$, being significantly different from the control group (*).

Figure 8: Effect of CVS and AYA (500 mg/kg, v.o.) on Suphydryl levels in rat hippocampus (A) and cortex (B). Results are expressed as mean $\pm$ standard error (n = 9 per group). Data were analyzed by one-way ANOVA with $P < 0.05$, being significantly different from the control group (*).

Figure 9: Effect of CVS and AYA (500 mg/kg, v.o.) on nitriteslevels in rat hippocampus (A) and cortex (B). Results are expressed as mean $\pm$ standard error (n = 9 per group). Data were analyzed by one-way ANOVA with $P < 0.05$, being significantly different from the control group (*).

FIG.1 Timeline

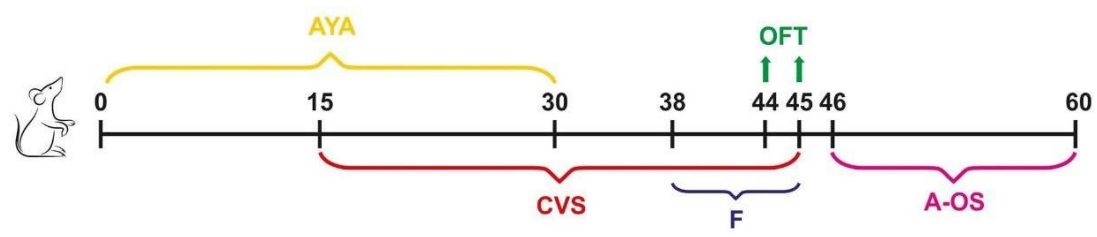


FIG. 2

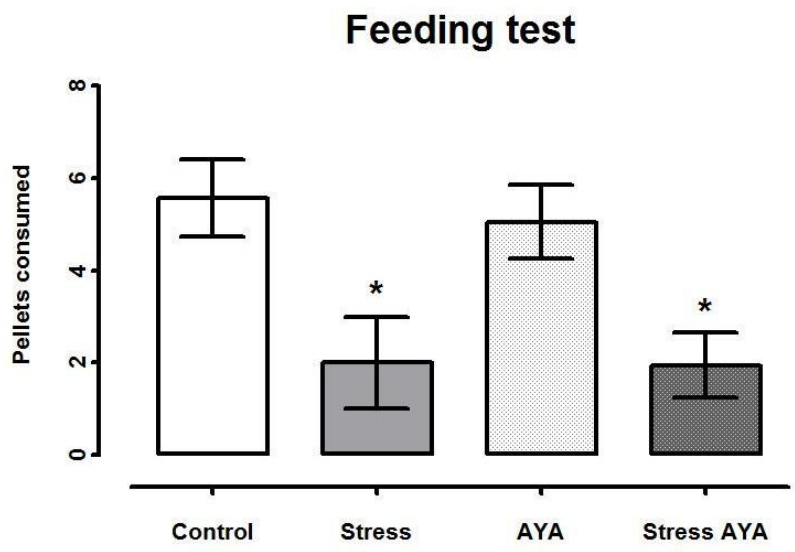


FIG. 3

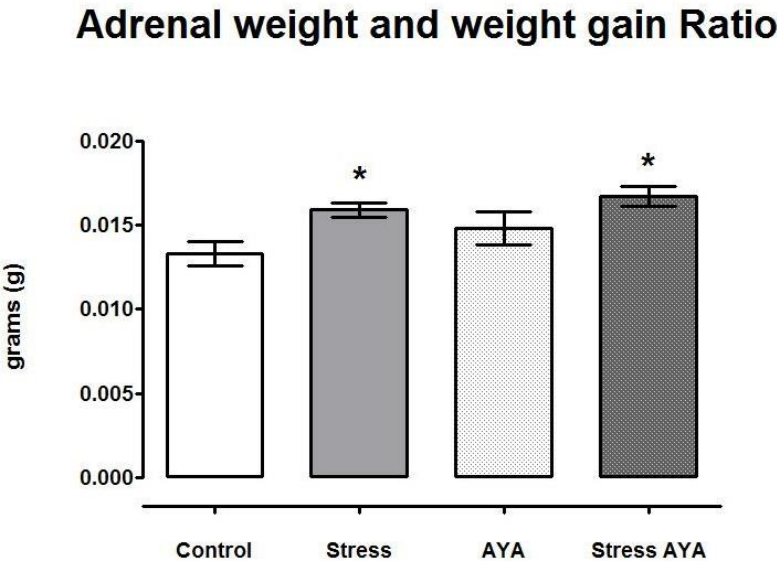


FIG. 4

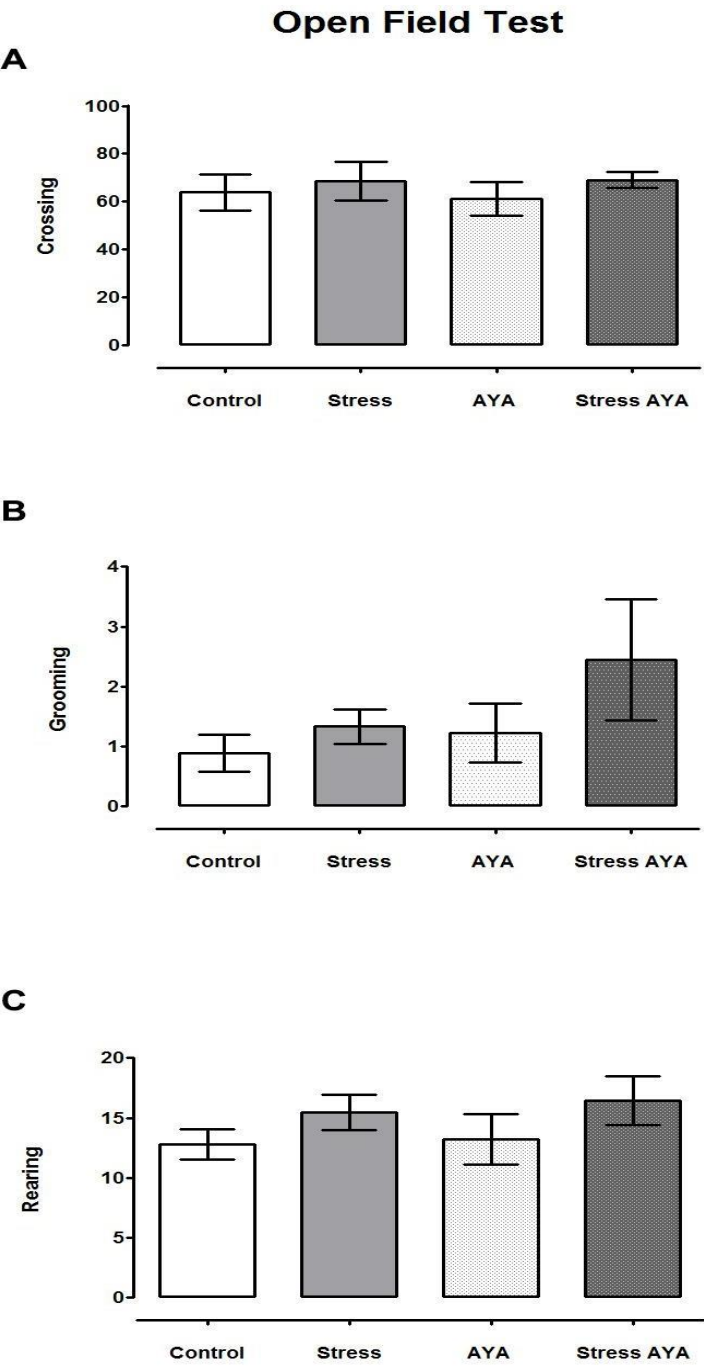


Fig.5

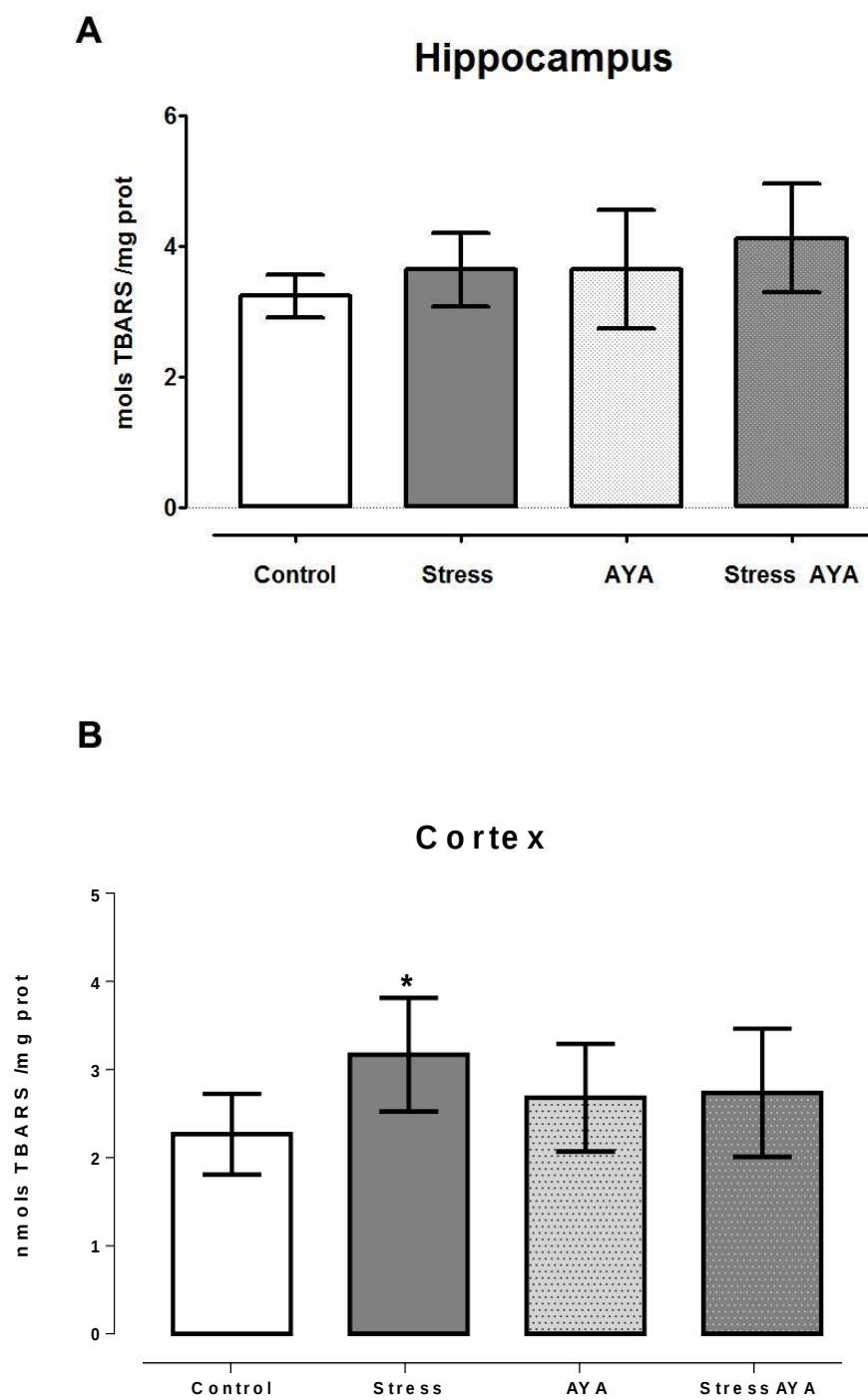


FIG.6

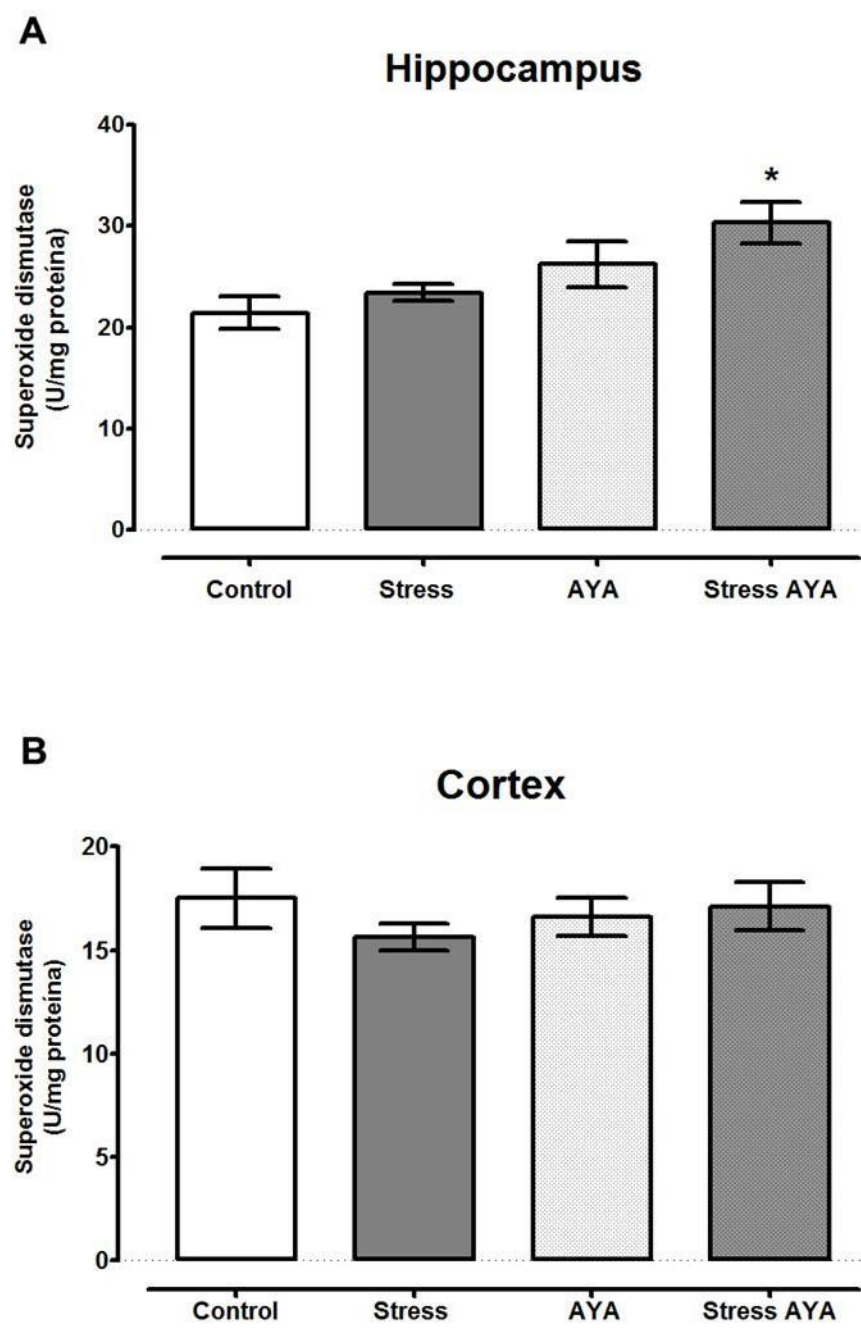


FIG.7

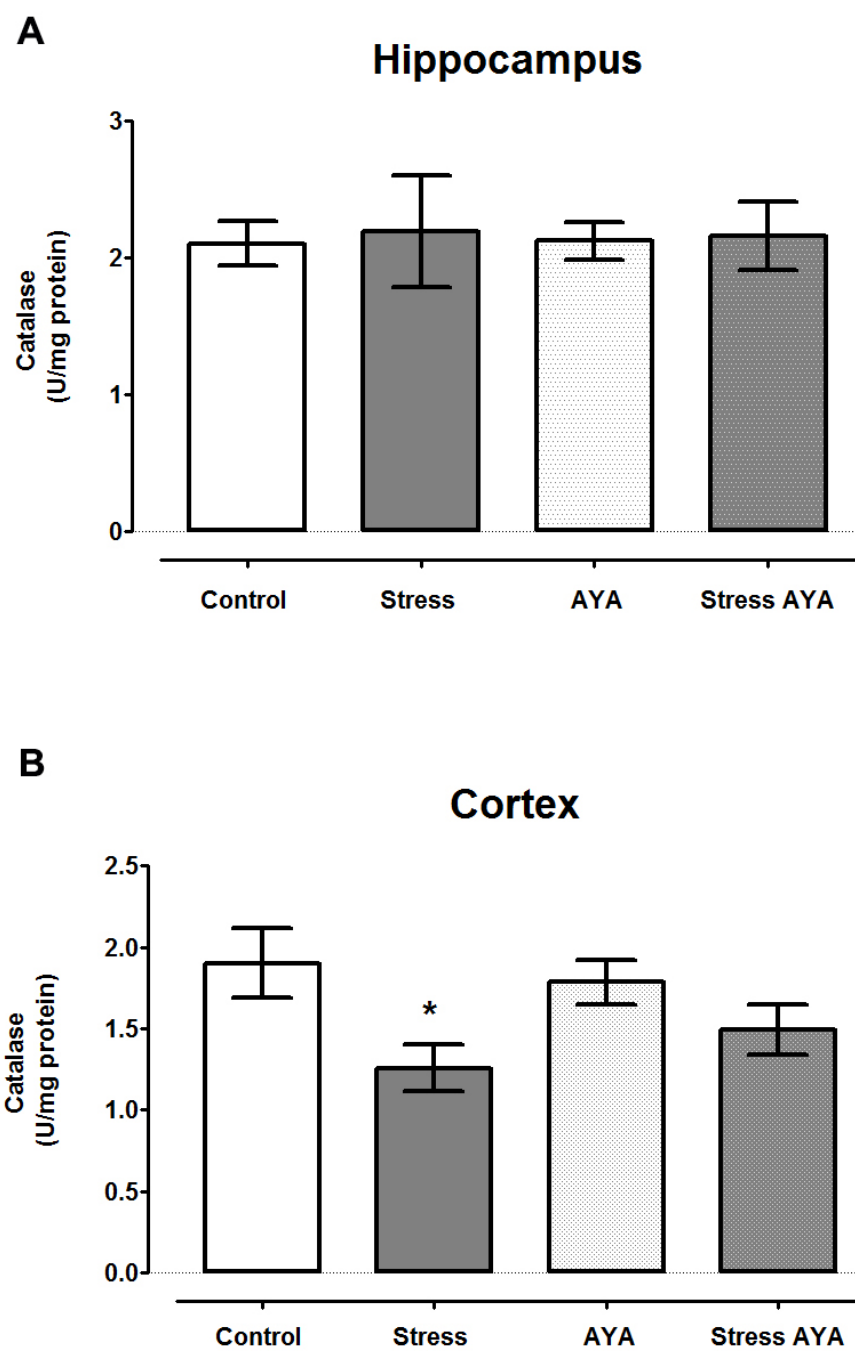


FIG.8

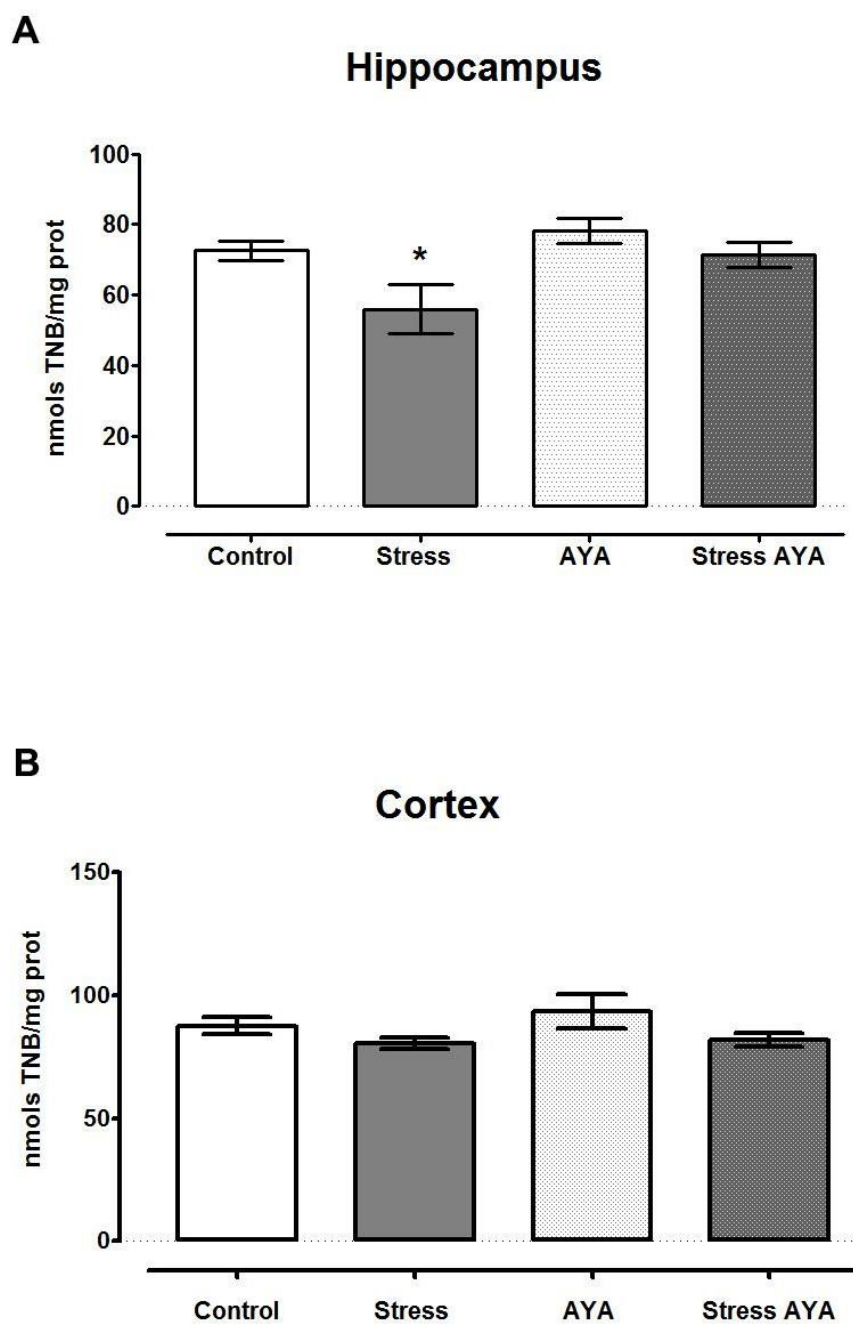
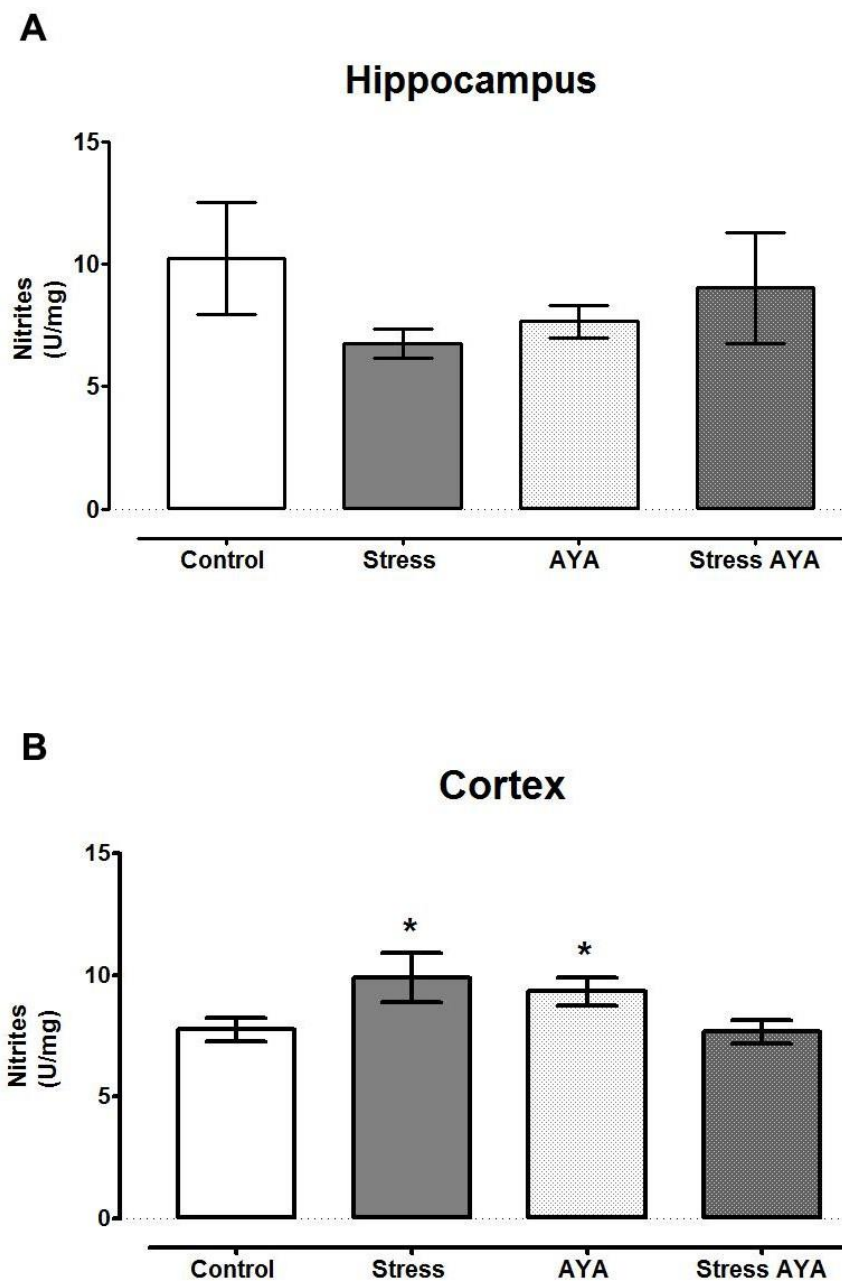


Fig 9



Table

Table 1. Timeline of procedures used in the study

Day of treatment	Stressor used	Duration
1	Restraint	1h
2	Flashing light	3h
3	Noise	2:30
4	Forced swimming	20 min
5	Isolation	8h
6	Water and food deprivation	24h
7	Cage Inclination 45°	2h
8	Isolation	4h
9	Noise	2:30
10	Forced swimming	15 min
11	Flashing light	1:30
12	Restraint	2h
13	Cage Inclination 45°	20h
14	No stressor applied	
15	Cage Inclination 45°	5h
16	Forced swimming	25 min
17	Flashing light	4h
18	Noise	1h
19	Restraint	2:15
20	Water and food deprivation	22h
21	Isolation	18 h
22	Noise	2h
23	Cage Inclination 45°	3:30
24	Forced swimming	35min
25	Flashing light	4:30

26	Restraint	3h
27	Isolation	24h
28	Water and food deprivation	24h
29	Flashing light	2h
30	No stressor applied	

Table 2: Concentration of each active principle measured by gas-chromatography

Ayahuasca 1ml (500mg/ml)	Concentration in 500mg of Ayahuasca	%(p/p)
DMT	0,28 mg	0,056
THH	0,70mg	0,14
HRL	0,13mg	0,026
HRM	0,57mg	0,114

Legend: DMT - N,N-dimethyltryptamine; THH - Tetrahydroharmine; HRL - Harmalina; HRM - Harmine.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O modelo de depressão proposto neste trabalho foi verificado através do teste de feeding, uma vez que foi observada anedonia no grupo submetido ao ECV. Contudo, o tratamento com a AYA não conseguiu prevenir esse comportamento alimentar. Embora o desenho experimental deste trabalho possa ter interferido nos resultados - os animais submetidos ao stress não receberam AYA nos dezessete últimos dias de exposição - ele foi pioneiro. Além disso, pode ser ressaltado que os parâmetros do estresse oxidativo foram alterados pelo consumo de AYA, mostrando em alguns casos que a AYA pode prevenir o comportamento tipo depressivo.

Dessa forma, o uso da AYA pode ser uma ferramenta promissora para o tratamento do TDM, uma vez que conseguiu prevenir as alterações nos parâmetros do estresse oxidativo modificadas pelo modelo de depressão de ECI. Entretanto, mais pesquisas deverão ser feitas com o intuito de elucidar as ações e efeitos da AYA sobre o comportamento e a bioquímica da depressão.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELAIRA, Helena Mendes. et al. β -Carboline harmine reverses the effects induced by stress on behaviour and citrate synthase activity in the rat prefrontal cortex. **Acta neuropsychiatric**, v. 25, n. 6, p. 328-333, 2013.

AFSAR, Tayyaba et al. Anti-depressant and anxiolytic potential of Acacia hydaspica R. Parker aerial parts extract: Modulation of brain antioxidant enzyme status. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, n. 1, p. 228, 2017.

ANDREATINI, Roberto. A importância dos modelos animais em psiquiatria. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 24, n. 4, p. 164-164, 2002.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. DIAGNOSTIC AND STATISTICAL
Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 2013.

BARBOSA, Paulo Cesar Ribeiro. et al. Psychological and neuropsychological assessment of regular hoasca users. **Comprehensive psychiatry**, v. 71, p. 95-105, 2016.

CÂMARA DOS DEPUTADOS.

<<http://www.camara.gov.br/proposicoesweb/fichadetramitacao?idproposicao=47388>>
Acesso em 20 março. 2017.

COBB, Catherine A.; COLE, Marsha P. Oxidative and nitrative stress in neurodegeneration. **Neurobiology of disease**, v. 84, p. 4-21, 2015.

COLLINS, Pamela Y. et al. Grand challenges in global mental health: integration in research, policy, and practice. **PLoS medicine**, v. 10, n. 4, p. e1001434, 2013.

GABINETE DE SEGURANÇA INSTITUCIONAL CONSELHO NACIONAL DE
POLÍTICAS SOBRE DROGAS.

http://www.mpggo.mp.br/portal/arquivos/2013/07/30/11_33_03_744_resolucao_n_1_de_25_de_janeiro_de_2012_conad.pdf > Acesso em janeiro. 2017.

COSTA, M.C.M.; FIGUEIREDO, M.C.; CAZENAVE, S.O.S., Ayahuasca: Uma abordagem toxicológica do uso ritualístico. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v. 32, nº 6, 2005.

COTINGUIBA, George Gomes. et al. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **Journal of Health Sciences**, v. 15, n. 3, 2015.

DAKIC, V. et al. Harmine stimulates proliferation of human neural progenitors. **Peer J**, v. 4, p. e2727, 2016.

D'AQUILA, Paolo S; NEWTON, Janette; WILLNER, Paul. Diurnal variation in the effect of chronic mild stress on sucrose intake and preference. **Physiology & behavior**, v. 62, n. 2, p. 421-426, 1997.

DALE, Elena; BANG-ANDERSEN, Benny; SÁNCHEZ, Connie. Emerging mechanisms and treatments for depression beyond SSRIs and SNRIs. **Biochemical pharmacology**, v. 95, n. 2, p. 81-97, 2015.

DOS SANTOS, Rafael Guimarães. A critical evaluation of reports associating ayahuasca with life-threatening adverse reactions. **Journal of psychoactive drugs**, v. 45, n. 2, p. 179-188, 2013.

DOS SANTOS, Rafael G. et al. Antidepressive and anxiolytic effects of ayahuasca: a systematic literature review of animal and human studies. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 38, n. 1, p. 65-72, 2016.

EMERIT, J.; EDEAS, M.; BRICAIRE, F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 58, n. 1, p. 39-46, 2004.

ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 28, n. 3, p. 435-451, 2004.

ERHORN S. Buspirone. XPharm: The comprehensive pharmacology reference. 2008:1-5.

FARZIN, D.; MANSOURI, N. Antidepressant-like effect of harmaline and other B-carbolines in the mouse forced swim test. In: **international journal of neuropsychopharmacology**. V. 32, p. 126-126. 2008.

FELGER, Jennifer C.; LOTRICH, Francis E. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. **Neuroscience**, v. 246, p. 199-229, 2013.

FERRARI, Alize J. et al. Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010. **PLoS Med**, v. 10, n. 11, p. e1001547, 2013.

FORLENZA, Orestes Vicente et al. Doença de Alzheimer: uma perspectiva do tratamento multiprofissional. 2012.

FORTUNATO, Jucélia J. et al. Acute harmaline administration induces antidepressant-like effects and increases BDNF levels in the rat hippocampus. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 8, p. 1425-1430, 2009.

FORTUNATO, Jucélia J. et al. Effects of β -carboline harmaline on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties. **Brain research bulletin**, v. 81, n. 4, p. 491-496, 2010.

GAMARO GD, MANOLI LP, TORRES ILS, SILVEIRA R, DALMAZ C., Effects of Chronic Variable Stress On Feeding Behavior and On Monoamine Levels in Different Rat Brain Structures. **Neurochem.**; 42: 107-114. 2003.

GONZÁLEZ-TRUJANO, María Eva et al. Alterations on the morphology, nitric oxide synthesis and activity of platelets reproduced in rats as possible biomarkers for depression are reversed by fluoxetine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 102, n. 2, p. 349-356, 2012.

HALLIWELL, B.; The Lancet 2000, 355, 1179.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: **Oxford University Press**, 4 ed, 2007.

HERKEN, Hasan et al. Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. **Archives of medical research**, v. 38, n. 2, p. 247-252, 2007.

HIRST, Kathryn P.; MOUTIER, Christine Y. Postpartum major depression. **Women**, v. 100, p. 17-19, 2010.

HOVATTA, Iiris; JUHILA, Juuso; DONNER, Jonas. Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders. **Neuroscience research**, v. 68, n. 4, p. 261-275, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO GEOGRÁFICO E ESTATÍSTICO. Disponível em: <<ftp://ftp.ibge.gov.br/PNS/2013/pns2013.pdf>> Acesso 14 Setembro, 2017.

JESPERSEN, Lasse et al. Persistent angina: highly prevalent and associated with long-term anxiety, depression, low physical functioning, and quality of life in stable angina pectoris. **Clinical Research in Cardiology**, v. 102, n. 8, p. 571-581, 2013.

KATO, T., KUBOTA, M., KASAHARA, T. Animal models of bipolar disorder. **Neuroscience Bio Behavior Review**, p.832-42, 2007.

KESSLER, Ronald C. et al. Age differences in the prevalence and co-morbidity of DSM-IV major depressive episodes: results from the WHO World Mental Health Survey Initiative. **Depression and anxiety**, v. 27, n. 4, p. 351-364, 2010.

KENDLER, K.S. ZACHAR, P.; CRAVER, C. What kinds of things are psychiatric disorders? **Psychological Medicine** v.1, p.1143-1150, 2011.

LABATE, Beatriz Caiuby; ARAÚJO, Wladimir Sena. O uso ritual da ayahuasca. 2002.

MCKENNA, D. J.; CALLAWAY, J. C.; GROB, C. S. The Scientific Investigation of Ayahuasca: A Review of Past and Current Research. **The Heffer Review of Psychedelic Research**, v. 1, p. 65-77. 1998.

MCKENNA, Dennis J. Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. **Pharmacology & therapeutics**, v. 102, n. 2, p. 111-129, 2004.

MCKENNA, Dennis; RIBA, Jordi. New World tryptamine hallucinogens and the neuroscience of ayahuasca. 2015.

MRAZEK, David A. et al. A review of the clinical, economic, and societal burden of treatment-resistant depression: 1996-2013. **Psychiatric services**, v. 65, n. 8, p. 977-987, 2014.

MOLOUDIZARGARI, Milad et al. Pharmacological and therapeutic effects of Peganum harmala and its main alkaloids. **Pharmacognosy reviews**, v. 7, n. 14, p. 199, 2013.

MOREIRA, Paula I. et al. Detection and localization of markers of oxidative stress by in situ methods: application in the study of Alzheimer disease. **Free Radicals and Antioxidant Protocols**, p. 419-434, 2010.

MÜLLER, N. et al. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib has therapeutic effects in major depression: results of a double-blind, randomized, placebo controlled, add-on pilot study to reboxetine. **Molecular psychiatry**, v. 11, n. 7, p. 680-684, 2006.

MUNHOZ, Tiago N. et al. A nationwide population-based study of depression in Brazil. **Journal of affective disorders**, v. 192, p. 226-233, 2016.

MURRAY, Christopher JL; LOPEZ, Alan D. Measuring the global burden of disease. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 5, p. 448-457, 2013

NUNES, Amanda A. et al. Effects of ayahuasca and its alkaloids on drug dependence: A systematic literature review of quantitative studies in animals and humans. **Journal of psychoactive drugs**, v. 48, n. 3, p. 195-205, 2016.

OHARA; Augusto. **Radicaís livres: bons, maus e naturais**. Oficina de Textos, 2006.

PALHANO-FONTES, Fernanda et al. The psychedelic state induced by ayahuasca modulates the activity and connectivity of the default mode network. **PloS one**, v. 10, n. 2, p. e0118143, 2015.

PATEL, K. et al. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid "Harmine". **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 2, n. 8, p. 660-664, 2012.

PIC-TAYLOR, Aline et al. Behavioural and neurotoxic effects of ayahuasca infusion (Banisteriopsis caapi and Psychotria viridis) in female Wistar rat. **Behavioural processes**, v. 118, p. 102-110, 2015.

PAPAKOSTAS, G. I.; IONESCU, D. F. Towards new mechanisms: an update on therapeutics for treatment-resistant major depressive disorder. **Molecular psychiatry**, v. 20, n. 10, p. 1142-1150, 2015.

PRINS, J.; OLIVIER, B.; KORTE, S. M. Triple reuptake inhibitors for treating subtypes of major depressive disorder: the monoamine hypothesis revisited. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 20, n. 8, p. 1107-1130, 2011.

PROCYSHYN, Ric M.; BEZCHLIBNYK-BUTLER, Kalyna Z.; JEFFRIES, J. Joel (Ed.). **Clinical handbook of psychotropic drugs**. Hogrefe Publishing, 2017.

RÉUS, Gislaine Z. et al. Harmine and imipramine promote antioxidant activities in prefrontal cortex and hippocampus. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 3, n. 5, p. 325-331, 2010.

RIBA, Jordi et al. Human pharmacology of ayahuasca: subjective and cardiovascular effects, monoamine metabolite excretion, and pharmacokinetics. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 306, n. 1, p. 73-83, 2003.

RIBA, Jordi et al. Metabolism and urinary disposition of N, N-dimethyltryptamine after oral and smoked administration: a comparative study. **Drug testing and analysis**, v. 7, n. 5, p. 401-406, 2015.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELUZIO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L.P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.

REGINATO, Andrea Depieri de Albuquerque. Regulamentação de uso de substância psicoativa para uso religioso: o caso da ayahuasca. 2010.

RIZVI, Sakina J. et al. Depression and employment status in primary and tertiary care settings. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 60, n. 1, p. 14-22, 2015.

ROCKENBACH, Francieli Juliana. Adrenoleucodistrofia ligada ao cromossomo x e estresse oxidativo: papel do transplante de células hematopoiéticas e da interleucina 6. 2012.

RUHÉ, Henricus G.; MASON, Nada S.; SCHENE, Aart H. Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. 2007.

SANCHES, Rafael Faria et al. Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a SPECT study. **Journal of clinical psychopharmacology**, v. 36, n. 1, p. 77-81, 2016.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento: Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. 2003.

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

SCHILDKRAUT, Joseph J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **American journal of Psychiatry**, v. 122, n. 5, p. 509-522, 1965.

SCHWARTZ, Thomas L. Why is mechanism of action important in antidepressant treatment? **The Journal of clinical psychiatry**, v. 77, n. 5, p. e603-e603, 2016.

STEFANESCU, Cristinel; CIOBICA, Alin. The relevance of oxidative stress status in first episode and recurrent depression. **Journal of affective disorders**, v. 143, n. 1, p. 34-38, 2012.

SMITH, Randy L. et al. Agonist properties of N, N-dimethyltryptamine at serotonin 5-HT 2A and 5-HT 2C receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 61, n. 3, p. 323-330, 1998.

SIWEK, Marcin et al. Oxidative stress markers in affective disorders. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 6, p. 1558-1571, 2013.

ÜSTÜN, T. B. et al. Global burden of depressive disorders in the year 2000. **The British journal of psychiatry**, v. 184, n. 5, p. 386-392, 2004.

VALVASSORI, Samira S. et al. Contributions of animal models to the study of mood disorders. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35, p. S121-S131, 2013.

WILLNER, Paul; MUSCAT, Richard; PAPP, Mariusz. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 16, n. 4, p. 525-534, 1992.

WILLNER, Paul. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. **Psychopharmacology**, v. 134, n. 4, p. 319-329, 1997.

WILLNER, Paul; SCHEEL-KRÜGER, Jorgen; BELZUNG, Catherine. The neurobiology of depression and antidepressant action. **Neuroscience & biobehavioral reviews**, v. 37, n. 10, p. 2331-2371, 2013.

WINKELMAN, Michael. Psychedelics as medicines for substance abuse rehabilitation: evaluating treatments with LSD, peyote, ibogaine and ayahuasca. **Current drug abuse reviews**, v. 7, n. 2, p. 101-116, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. MENTAL DISORDERS. (2017). Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>> Acesso em: 10 dezembro. 2017.

XIE, Xiaoxian et al. Major depressive disorder mediates accelerated aging in rats subjected to chronic mild stress. **Behavioural Brain Research**, v. 329, p. 96-103, 2017.

ZAFIR, Ayesha; ARA, Anjum; BANU, Naheed. In vivo antioxidant status: a putative target of antidepressant action. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 2, p. 220-228, 2009.

ZENI, Ana Lúcia Bertarello; CAMARGO, Anderson; DALMAGRO, Ana Paula. Ferulic acid reverses depression-like behavior and oxidative stress induced by chronic corticosterone treatment in mice. **Steroids**, v. 125, p. 131-136, 2017.

YRITIA, Mercedes et al. Determination of N, N-dimethyltryptamine and β -carboline alkaloids in human plasma following oral administration of ayahuasca. **Journal of Chromatography B**, v. 779, n. 2, p. 271-281, 2002.

7. Obras Consultadas

FURASTÉ, Pedro Augusto. Normas técnicas para o trabalho científico: explicitação das normas da ABNT. 17.ed. Porto Alegre: Dáctilo Plus, 2014.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS (UFPel). Manual para elaboração de Trabalhos Acadêmicos: Tese, Dissertação e Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação (TCC) e de Especialização (TCPP). Pelotas. 2017.