

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

BARBARA GARCIA FERRI

**NBOMe E NBOH: MODULAÇÃO PSICODÉLICA DO COMPORTAMENTO TIPO
DEPRESSIVO INDUZIDO POR ENCEFALOPATIA ASSOCIADA À SEPSE EM
ROEDORES**

ALFENAS, MG

2023

BARBARA GARCIA FERRI

**NBOMe E NBOH: MODULAÇÃO PSICODÉLICA DO COMPORTAMENTO TIPO
DEPRESSIVO INDUZIDO POR ENCEFALOPATIA ASSOCIADA À SEPSIS EM
ROEDORES**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Neuroimunomodulação.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva

ALFENAS, MG

2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Ferri, Barbara Garcia.

NBOMe E NBOH : Modulação psicodélica do comportamento tipo depressivo induzido por encefalopatia associada à sepse em roedores / Barbara Garcia Ferri. - Alfenas, MG, 2023.

94 f. : il. -

Orientador(a): Alexandre Giusti Paiva.

Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. 25H-NBOMe. 2. 25H-NBOH. 3. Depressão. 4. Inflamação. 5. Psicodélicos. I. Paiva, Alexandre Giusti, orient. II. Título.

BARBARA GARCIA FERRI

NBOMe E NBOH: MODULAÇÃO PSICODÉLICA DO COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO INDUZIDO POR ENCEFALOPATIA ASSOCIADA À SEPSE EM ROEDORES

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Fisiologia pelo Programa Multicêntrico em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia pela Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Neuroimunoendocrinologia.

Aprovada em: 10/02/2023

Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva
Instituição: Universidade de Alfenas
UNIFAL-MG

Profa. Dra. Cilene Lino de Oliveira
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina
UFSC

Prof. Dr. Wagner Luis Reis
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina
UFSC

Prof. Dr. Tayllon dos Anjos Garcia
Instituição: Universidade de Alfenas
UNIFAL-MG

Profa. Dra. Fernanda Crunfli
Instituição: Universidade Estadual de Campinas
UNICAMP



Documento assinado digitalmente
Cilene Lino de Oliveira
Data: 11/04/2023 17:46:39-0300
CPF: ***.663.918-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Giusti Paiva, Professor do Magistério Superior**, em 13/02/2023, às 08:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Crunfli, Usuário Externo**, em 13/02/2023, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Wagner Luis Reis, Usuário Externo**, em 22/02/2023, às 12:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Tayllon dos Anjos Garcia, Professor do Magistério Superior**, em 23/02/2023, às 08:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0904977** e o código CRC **D6619B04**.

AGRADECIMENTOS

Se não fosse pelo apoio e confiança de algumas pessoas, eu não estaria aqui. Sou grata à minha família, pelo apoio e espaço de carinho e cuidado que entre nós existe. Às minhas filhas, que me são como fonte de inspiração e movimento. Aos amigos de Alfenas, por me ensinarem tanto sobre raízes e acreditarem sempre em mim. Aos colegas que fiz na Pós graduação, com quem compartilhei tantas reflexões e risadas entre um experimento e outro (e vários cafezinhos), onde me abri tantas vezes sobre angústias e sonhos: sou grata, pois a partilha e construção de sentidos com vocês deixou tudo mais leve. Em especial, agradeço Cíntia e Carol, por caminharem ao meu lado com toda a sua sensibilidade, em meio a tantas autodescobertas, e compartilharem comigo a vida para além da bancada, com humor, honestidade e lealdade. Aos meus alunos de TCC e iniciação científica, Raquel, Elisa, Rayner e Gabriel, por mirarem comigo o horizonte. Sou profundamente grata por essa rede maravilhosa que foi e é diariamente construída. Ao meu orientador Alexandre, pela paciência e compreensão com meus processos que, por vezes, interferiram no estudo. Pelo acolhimento e por me puxar para o centro quando me encontrava sem bordas. Sem a sua compreensão genuína e abertura esse processo não teria sido tão significativo para mim como sinto que foi – obrigada pela confiança, disponibilidade e condução maravilhosa. Por fim, à vida por continuar pulsando, e a mim por continuar sempre acreditando em seu movimento enquanto me desafiam minhas múltiplas integrações.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001"

“Se as portas da percepção estivessem limpas, tudo apareceria ao homem como realmente é, infinito”.

William Blake

RESUMO

Na busca por novas modalidades terapêuticas, a comunidade médica e científica está apostando no potencial terapêutico das substâncias psicodélicas para estabelecer uma nova era no tratamento de transtornos psiquiátricos, principalmente os transtornos de humor. A depressão afeta uma em cada dez pessoas em todo o mundo e é caracterizada por episódios de humor depressivo, perda de interesse e prazer. Existem inúmeras modalidades de tratamentos antidepressivos disponíveis, porém, menos de 40% dos pacientes respondem a eles, além do fato de que, a longo prazo, esses medicamentos causam diversos efeitos colaterais. Os modelos animais são bastante convenientes no estudo da patofisiologia da depressão, no entanto, alguns aspectos importantes no desenvolvimento desse transtorno ainda são desconsiderados, como a neuroinflamação e a plasticidade sináptica. Este trabalho teve como objetivo, a caracterização de um modelo animal para o estudo da depressão pelo viés da inflamação, a partir de intervenções cirúrgicas de ligação e perfuração cecal, e visou a intervenção terapêutica com substâncias psicodélicas sintéticas da classe das fenetilaminas, 25H-NBOMe e 25H-NBOH. Para tanto, utilizou-se de testes comportamentais que prevêm o comportamento do tipo-depressivo em roedores, como os testes de escala de dor, do nado forçado e o teste de campo aberto na caracterização do modelo experimental, e também na resposta da administração das substâncias psicodélicas. Para avaliarmos o potencial alucinógeno destas substâncias, prosseguimos com o teste de torção da cabeça, o HTR. Além disso, foram desenvolvidos testes bioquímicos em coletas estruturas encefálicas dos animais pertencentes a este estudo, para a dosagem de proteínas e marcadores relacionados à neuroinflamação, à plasticidade sináptica e ao comportamento tipo-depressivo: a proteína fibrilar ácida da glia (GFAP), a proteína pós-sináptica de densidade 95 (PSD-95), e a sinaptofisina. A cirurgia CLP demonstrou resultado satisfatório na indução do comportamento do tipo depressivo em roedores, 7 e 14 dias após execução da técnica, e promoveu um aumento de GFAP no córtex pré-frontal de animais do grupo que passou pela sepse experimental 14 dias após esse processo; a substância psicodélica 25H-NBOMe demonstrou o seu potencial terapêutico do tipo antidepressivo frente à modulação de comportamentos anedônicos, como o aumento do tempo de imobilidade no teste do nado forçado, induzidos pelo nosso modelo experimental caracterizado para o

estudo da depressão, e promoveu aumento da expressão de proteínas cujo déficit está relacionado à depressão: sinaptofisina e PSD-95. Estes resultados sugerem, pela primeira vez, o potencial antidepressivo de psicodélicos da família das fenetilaminas substituídas e podem contribuir para os avanços da Psiquiatria Experimental e Psicodélica.

Palavras-chave: Depressão, inflamação, 25H-NBOMe, 25H-NBOH

ABSTRACT

In the search for new therapeutic modalities, the medical and scientific community is betting on the therapeutic potential of psychedelic substances to establish a new era in the treatment of psychiatric disorders, especially mood disorders. Depression affects one in ten people worldwide and is characterized by episodes of depressed mood, loss of interest and pleasure. There are numerous modalities of antidepressant treatments available, however, less than 40% of patients respond to them, in addition, in the long term these drugs cause several side effects. Animal models are very convenient in the study of the pathophysiology of depression, however, some important aspects in the development of this disorder are still disregarded, such as neuroinflammation and synaptic plasticity. The objective of this study was to characterize an animal model for the study of depression through inflammation, based on surgical interventions of cecal ligation and perforation, and aimed at therapeutic intervention with synthetic psychedelic substances of the phenethylamine class, 25H-NBOMe and 25H-NBOH. For that, we used behavioral tests that predict depressive-like behavior in rodents, such as the forced swimming test and the open field test in the characterization of the experimental model, and also in the response to the administration of psychedelic substances. To assess the hallucinogenic potential of these substances, we proceeded with the Head-twitch response test, the HTR. In addition, biochemical tests were performed with brain structures collected from the animals belonging to this study, for the dosage of proteins and markers related to neuroinflammation, synaptic plasticity and depressive-like behavior: the glial acid fibrillar protein (GFAP), the density 95 postsynaptic protein (PSD-95), and synaptophysin. CLP surgery showed a satisfactory result in inducing depressive-like behavior in rodents, 7 and 14 days after performing the technique, and promoted an increase in GFAP in the prefrontal cortex of animals in the group that underwent experimental sepsis 14 days after this process; the psychedelic substance 25H-NBOMe demonstrated its antidepressant-like therapeutic potential against the modulation of anhedonic behaviors, such as immobility time in the forced swimming test, induced by our experimental model characterized for the study of depression and promoted increased expression of proteins which deficit is related to depression: synaptophysin and PSD-95. These results suggest, for the first time, the antidepressant potential of

psychedelics from the phenethylamine family and may contribute to advances in Experimental and Psychedelic Psychiatry.

Key words: Depression, inflammation, 25H-NBOMe, 25H-NBOH

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Compostos psicodélicos	20
Figura 2 - Representação esquemática e ilustrativa de uma cirurgia de ligação e perfuração cecal (CLP)	40
Figura 3 - Representação esquemática e ilustrativa do preparo e administração das substâncias do estudo	42
Figura 4 - Representação esquemática e ilustrativa da coleta de estruturas encefálicas e desenvolvimento da técnica de <i>Western Blotting</i>	45
Figura 5 - Representação esquemática e ilustrativa do aparato transparente utilizado para a execução do teste de escala de dor RGS	46
Figura 6 - Representação esquemática e ilustrativa da arena de acrílico utilizada para a execução do teste do Campo Aberto	47
Figura 7 - Representação esquemática e ilustrativa da arena de acrílico utilizada para a execução do teste do Nado Forçado	48
Figura 8 - Representação esquemática e ilustrativa do movimento de torção da cabeça avaliado pelo teste de HTR	50
Figura 9 - Representação esquemática e ilustrativa da parte 1 do delineamento experimental deste trabalho	50
Figura 10- Representação esquemática e ilustrativa da parte 2 do delineamento experimental deste trabalho	51
Figura 11- Representação esquemática e ilustrativa da parte 3 do delineamento experimental deste trabalho	51
Figura 12 - Representação esquemática e ilustrativa da parte 4 do delineamento experimental deste trabalho	33
Figura 13 - Sinaptofisina pela técnica de <i>Western Blotting</i>	71
Figura 14 - GFAP pela técnica de <i>Western Blotting</i>	73
Figura 15 - PSD-95 pela técnica de <i>Western Blotting</i>	74

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 -	Expressão de dor do teste de escala de dor RGS - Aperto dos olhos	43
Fotografia 2 -	Expressão de dor do teste de escala de dor RGS - Protuberância do focinho e das bochechas	43
Fotografia 3 -	Expressão de dor do teste de escala de dor RGS - Posicionamento das orelhas	44
Fotografia 4 -	Expressão de dor do teste de escala de dor RGS - Alteração nas vibrissas	44

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Escala de dor RGS entre os animais do grupo SHAM e animais do grupo CLP	54
Gráfico 2 -	Teste do Campo Aberto 7, 14 e 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental	55
Gráfico 3 -	Teste do Campo Aberto 7, 14 e 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse	56
Gráfico 4 -	Teste do Nado forçado 7 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental	57
Gráfico 5 -	Teste do Nado forçado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental	58
Gráfico 6 -	Teste do Nado forçado 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental	59
Gráfico 7 -	Teste de HTR executado imediatamente após a administração de 25H-NBOMe	60
Gráfico 8 -	Teste de HTR executado imediatamente após a administração de 25H-NBOH	61
Gráfico 9 -	Teste do Campo Aberto sob efeito da 25H-NBOMe	62
Gráfico 10 -	Teste do Campo Aberto sob efeito da 25H-NBOH	63
Gráfico 11 -	Teste do Nado Forçado sob efeito da 25H-NBOMe	64
Gráfico 12 -	Teste do Nado Forçado sob efeito da 25H-NBOH	65
Gráfico 13 -	Teste de HTR realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e imediatamente após a administração de 25H-NBOMe	66
Gráfico 14 -	Teste do Campo Aberto realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP)	67
Gráfico 15 -	Teste do Campo Aberto realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP)	68
Gráfico 16 -	Teste do Nado Forçado realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP)	69
Gráfico 17 -	Dosagem de proteína sinaptofisina pela técnica de Western Blotting na região do córtex pré-frontal	70
Gráfico 18 -	Dosagem de proteína GFAP pela técnica de Western Blotting	72

Gráfico 19 -	Dosagem de proteína PSD-95 pela técnica de <i>Western Blotting</i>	74
Gráfico 20 -	Efeito sustentado de 25H-NBOMe no teste do Nado Forçado	76
Gráfico 21 -	Efeito sustentado de 25H-NBOMe no teste do Campo Aberto	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT2A	é um tipo de receptor que pertence à família de receptores de serotonina
ACTH	hormônio adrenocorticotrófico
ANOVA	análise de variância
AVP	vasopressina
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês <i>Brain-derived neurotrophic factor</i>)
BHE	barreira hemato-encefálica
CA	campo aberto
CCK	colecistoquinina
CLP	ligadura e perfuração cecal (do inglês, <i>Cecal Ligation and Puncture</i>)
CRF	fator de liberação da corticotrofina
DM	depressão maior
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMT	dimetiltryptamina
EAS	encefalopatia associada à sepse
EPM	erro mais padrão da média
GFAP	Proteína fibrilar ácida da glia
HPA	hipófise pituitária adrenal
HTR	resposta de torção da cabeça (do inglês, <i>head-twitch response</i>)
i.p.	intraperitoneal
IL	interleucina
ILAS	instituto latino americano de sepse
IMAO	inibidores da monoamina oxidase
LSD	Dietilamida do Ácido Lisérgico (do inglês, <i>lysergic acid diethylamide</i>)
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina
NBOH	N-(2-Hydroxybenzyl)-2,5-dimethoxyphenethylamine
NBOMe	2-(2,5-Dimethoxyphenyl)-N-[(2-methoxyphenyl)methyl]ethanamine
NF	nado forçado
NPS	novas substâncias psicoativas (do inglês, <i>new psychoactives substances</i>)
PSD-95	proteína pós-sináptica de densidade 95
PVN	núcleo paraventricular
RGS	escala de dor de ratos (do inglês, <i>rat grimace scale</i>)

SHAM	cirurgia "placebo"
SNC	sistema nervoso central
TBE	Tribromoetanol
TLR	receptor do tipo Toll (do inglês, <i>Toll-like receptor</i>)
TNF	fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	PSICODÉLICOS E SAÚDE MENTAL	19
1.2	SEROTONINA E RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS	22
1.3	SEROTONINA, DEPRESSÃO E PSICODÉLICOS	24
1.4	PSICODÉLICOS SINTÉTICOS, NPS E N-BOMBS	25
1.5	TRANSTORNOS DE HUMOR E DEPRESSÃO	27
1.6	A FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO	28
1.7	O USO DE MODELOS ANIMAIS PARA O ESTUDO DE TRANSTORNOS DEPRESSIVOS	31
1.8	MODELO DE LIGAÇÃO E PERFURAÇÃO CECAL	33
1.9	SEPSE	33
1.10	NEUROINFLAMAÇÃO E EAS	35
2	JUSTIFICATIVA	36
3	OBJETIVOS.....	37
3.1	OBJETIVO GERAL.....	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1	ANIMAIS	38
4.2	DROGAS.....	38
4.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	39
4.3.1	INDUÇÃO DA SEPSE POR LIGAÇÃO E PERFURAÇÃO CECAL ..	39
4.3.2	TRATAMENTO COMO 25H-NBOME E 25H-NBOH	40
4.4	COLETA DE ESTRUTURAS E DOSAGEM DE PROTEÍNAS POR <i>WESTERN BLOTTING</i>	41
4.5	TESTES COMPORTAMENTAIS	42
4.5.1	ESCALA DE DOR RGS	42
4.5.2	CAMPO ABERTO	45
4.5.3	NADO FORÇADO	46
4.5.4	HTR	47
4.6	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	48
4.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	52

5	RESULTADOS	53
5.1	CARACTERIZAÇÃO DE UM MODELO EXPERIMENTAL PARA O ESTUDO DE TRANSTORNOS DEPRESSIVOS	53
5.1.1	ESCALA DE DOR RGS	53
5.1.2	TESTE DO CAMPO ABERTO	54
5.1.3	TESTE DO NADO FORÇADO	56
5.2	DETERMINAÇÃO DA CURVA DOSE-RESPOSTA DAS SUBSTÂNCIAS 25H-NBOMe E 25H-NBOH	59
5.2.1	TESTE DE TORÇÃO DA CABEÇA (HTR)	60
5.2.2	TESTE DO CAMPO ABERTO	61
5.2.3	TESTE DO NADO FORÇADO	63
5.3	MODULAÇÃO PSICODÉLICA DE 25H-NBOMe SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO DE ANIMAIS SOBREVIVENTES À SEPSE EXPERIMENTAL 14 DIAS APÓS A CIRURGIA CLP	65
5.3.1	TESTE DE TORÇÃO DA CABEÇA (HTR)	66
5.3.2	TESTE DO CAMPO ABERTO	66
5.3.3	TESTE DO NADO FORÇADO	68
5.3.4	DOSAGEM DE PROTEÍNAS PELA TÉCNICA DE <i>WESTERN BLOTTING</i>	69
5.4	EFEITO SUSTENTADO DE 25H-NBOMe SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO DE ROEDORES	75
6	DISCUSSÃO	78
6.1	SEPSE EXPERIMENTAL INDUZ O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO EM ROEDORES 7 E 14 DIAS APÓS CLP	78
6.2	25H-NBOMe E A MODULAÇÃO PSICODÉLICA DO COMPORTAMENTO DEPRESSIVO DE ANIMAIS SUBMETIDOS A SEPSE EXPERIMENTAL	80
6.3	NEUROINFLAMAÇÃO E MODULAÇÃO PSICODÉLICA DE 25H-NBOMe A NÍVEL MOLECULAR E SEU EFEITO SUSTENTADO	82
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
	REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

*Turn off your mind, relax and float down stream
It is not dying, It is not dying
Lay down all thoughts surrender to the void
It is shining, It is shining
That you may see the meaning of within
It is being, It is being
That love is all, that love is everyone
It is knowing, It is knowing
That ignorance and hate may mourn the dead
It is believing, It is believing
But listen to the color of your dream
It is not living, It is not living
All play the game existence to the end
Of the beginning, Of the beginning*

(Letra da música *Tomorrow never knows* - Beatles, 1966)

A banda The Beatles, em abril de 1966, inspirada em passagens do livro “Experiência psicodélica” de Timothy Leary (1964), descreveu o processo de integração da experiência vivida após o uso de substâncias psicodélicas como “desligar a mente”, “relaxar”, “seguir o fluxo”, “não-morte”, “brilhar”, “ser”, “saber”, “acreditar”, dentre outras coisas.

Para Leary (1964), uma experiência psicodélica é uma jornada a novos reinos da consciência. Em seu livro, ele diz que:

Obviamente, a droga não produz a experiência transcendental. Ela apenas age como uma chave química – ela abre a mente, liberta o sistema nervoso de seus padrões e estruturas ordinários.

O termo *Psicodélico* é um neologismo que vem das palavras *psychē* (ψυχή, “alma”) e *dēloun* (δῆλο ὦν, “tornar visível, revelar”); essa nomenclatura designa uma categoria de drogas que, muitas vezes, são referidas apenas como *alucinógenas*. Segundo Cahart-Harris (2017), o uso do termo “alucinógeno” refere-se apenas às propriedades da substância de promover alucinações, no entanto, quando utilizamos o termo “psicodélico” nos referimos não somente a elas, mas também às propriedades de agonismo aos receptores de serotonina (também 5-hidroxitriptamina ou 5-HT).

Murnane (2018) afirma que a pesquisa com psicodélicos está culminando em descobertas inovadoras. Após anos de hiato, em decorrência do *proibicionismo*, vivemos nos tempos de hoje a chamada “Renascença Psicodélica”, ou o

renascimento da pesquisa científica com foco no entendimento de possíveis efeitos terapêuticos destas substâncias.

Nesse sentido, há diferentes formas em que os ensaios pré-clínicos com animais podem oferecer benefícios significativos para o estudo da neurofarmacologia e da neurociência comportamental da ciência psicodélica (MURNANE, 2018).

Ainda segundo Murnane (2018), o uso de animais de laboratório fornece um controle requintado sobre a história do organismo biológico e seu ambiente atual, que pode ser aproveitado por meio da análise experimental do comportamento para fornecer informações importantes sobre a farmacologia *in vivo* dos psicodélicos. A possibilidade de desenvolvermos um controle experimental adequado é significativamente maior do que a capacidade de se desenvolver estudos invasivos que não seriam possíveis em seres humanos, dadas as restrições necessárias impostas na pesquisa clínica.

A dupla capacidade de controlar rigorosamente os parâmetros experimentais críticos e conduzir estudos invasivos oferece aos animais de laboratório a capacidade de elucidar os mecanismos subjacentes aos efeitos *profundos* dos psicodélicos.

1.1 PSICODÉLICOS E SAÚDE MENTAL

No que diz respeito à busca por novas modalidades terapêuticas, a comunidade médica e científica tem apostado nos compostos psicodélicos, acreditando em seu potencial para estabelecer uma nova era no tratamento de desordens psiquiátricas.

Psicodélicos (alucinógenos serotoninérgicos) são substâncias psicoativas que alteram os estados de percepção, humor e inúmeros processos cognitivos. Geralmente, são consideradas seguros e não desencadeiam vícios ou dependência (NICHOLS, 2016).

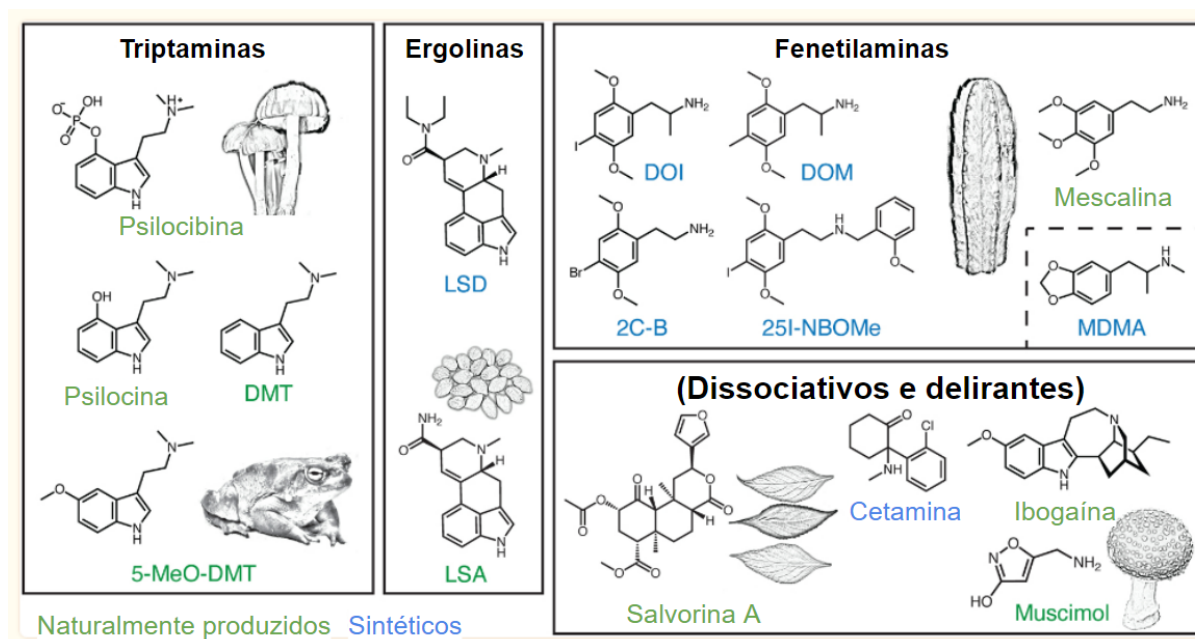
David E. Nichols (2016), em sua revisão sobre psicodélicos, relata que as origens dessas substâncias são mais antigas do que os primórdios da própria História, e que o seu uso desde então foi empregado em várias culturas e contextos ritualísticos.

Após a descoberta da Dietilamida do Ácido Lisérgico (LSD - do inglês,

lysergic acid diethylamide) e sua ligação com a serotonina no cérebro, pesquisadores têm trabalhado com a hipótese de que tanto o LSD quanto outras substâncias psicodélicas executam seu mecanismo de ação através de uma base serotoninérgica (via neurotransmissor serotonina).

Os psicodélicos podem ser divididos em três classes, de acordo com a sua estrutura química: triptaminas, ergolinas e fenetilaminas (Figura 1). As triptaminas são caracterizadas por um indol, que é um anel benzeno de 6 membros fundido a um anel pirrol (de 5 membros) com uma cadeia de etilamina na posição C3. A adição de grupos metil à cadeia de etilamina e diferentes grupos funcionais em outras posições, por exemplo, C4 e C5, produz psilocibina, psilocina (o metabólito ativo da psilocibina), DMT e 5-MeO-DMT. Esses compostos estão intimamente relacionados ao neurotransmissor endógeno serotonina, que é uma triptamina com um grupo hidroxila na posição C5. As ergolinas foram inicialmente isoladas de um fungo popularmente conhecido como *Esporão-do-centeio*, e posteriormente foram processadas por meio de reações químicas, e incluem o LSD. A classe das fenetilaminas, compostas por um anel de benzeno e um grupo amino ligado por dois carbonos, inclui 2C-B e a mescalina, análogos de anfetaminas como DOI e DOM e derivados, como a 25I-NBOMe (KELMENDI, 2022).

Figura 1 - Compostos psicodélicos



Fonte: KELMENDI, 2022

Nota: Esquema adaptado de artigo publicado

Como pode ser observado na figura acima, somados aos psicodélicos clássicos, existem outros compostos, normalmente utilizados como drogas recreativas, que produzem efeitos psicobiológicos semelhantes, porém não compartilham os mesmos mecanismos de ação. Esse “novo” grupo inclui algumas fenetilaminas, como o 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA, popularmente conhecido como *ecstasy*) e as NBOMes, além de compostos dissociativos e delirantes, como a cetamina e a ibogaína.

Os psicodélicos podem ser encontrados naturalmente em fungos, plantas e animais. A psilocibina, por exemplo, está presente em algumas centenas de espécies de cogumelos, algumas das quais foram usadas para fins curativos e espirituais pelas culturas Maia e Asteca. Psicodélicos de ocorrência natural, como a mescalina (encontrada no peiote e no cacto *San Pedro*) e DMT (componente da *Ayahuasca*) também podem ter significado cultural para os primeiros povos indígenas das Américas. Outros compostos são sintéticos e foram descobertos mais recentemente; estes incluem MDMA por Anton Köllisch em 1912 e LSD por Albert Hofmann em 1943 (após a síntese inicial em 1938). Hoje, os psicodélicos podem ser produzidos de várias maneiras. Por exemplo, a psilocibina pode ser obtida através da extração de cogumelos, reações enzimáticas em um biorreator com bactérias ou leveduras ou síntese química (KELMENDI, 2022).

Segundo Carhart-Harris (2017), o LSD é considerado um psicodélico “padrão de referência” para o estudo do efeito dessas substâncias, uma vez que desde a década de 1950 o seu potencial terapêutico tem sido cientificamente estudado e elucidado, tornando-se base para o estudo de outras substâncias e compostos psicodélicos (CAHART-HARRIS *et al.*, 2017).

Substâncias como o LSD e a Psilocibina, que também é um psicodélico serotoninérgico, têm demonstrado resultados promissores no que diz respeito ao tratamento de vícios, transtornos obsessivos compulsivos e depressão, quando administradas em ambientes terapêuticos controlados (CAHART-HARRIS *et al.*, 2017).

Uma pesquisa liderada por Richard Zeifman (2020), demonstrou que pacientes com Depressão maior (DM) resistente ao tratamento apresentaram sintomas depressivos reduzidos logo uma semana após o tratamento com psilocibina e, que esses resultados perduraram para a maioria dos pacientes por, pelo menos, mais cinco semanas (ZEIFMAN, 2020).

De forma aguda, psicodélicos serotoninérgicos interagem com múltiplos tipos de receptores (NICHOLS, 2016), mas têm maior afinidade por receptores 5-HT_{2A}, que mediam efeitos alucinógenos por agonismo parcial (MADSEN, 2019).

Todas as substâncias psicodélicas alucinógenas produzem uma resposta de contração da cabeça (HTR, do inglês *head twitch response*) em roedores, um fenômeno que é similar às alucinações em humanos, e, este efeito é um fator relevante na diferenciação de substâncias alucinógenas e não alucinógenas, agonistas de receptores 5-HT_{2A} (GONZÁLEZ-MAESO *et al.*, 2007; HALBERSTADT & GEYER, 2013).

1.2 SEROTONINA E RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS

Achados sobre a serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) começam a aparecer a partir da metade do século 19, quando esta foi reconhecida como uma substância capaz de induzir contrações musculares. Estudos sugerem que logo após esta descoberta, cientistas italianos extraíram uma *outra* substância desconhecida de células enterocromafins (trato gastrointestinal) que também causavam contrações musculares, particularmente no estômago e no útero. Nomearam-na “enteramina” (MOHAMMAD-ZADEH *et al.* 2008).

Paralelamente a esses estudos, durante os anos 40, uma substância do sangue, possuindo características vasoconstritoras, foi isolada e chamada de “serotonina” devido às suas particularidades séricas e tônicas (Rapport *et al.* 1948).

Anos mais tarde, similaridades entre as substâncias enteramina e serotonina foram sendo notadas, principalmente entre as suas estruturas químicas, basicamente definidas através da presença de um composto orgânico aromático heterocíclico, indol. Isto levou a conjectura de que ambas as substâncias correspondiam essencialmente ao mesmo composto; a este ponto os achados corroboraram à descoberta de que a serotonina era sintetizada e obtida por fontes naturais, *i.e.*, células enterocromafins e sêrum (REID AND RAND 1952).

Atualmente, sabe-se que 5-HT está presente em todos os organismos animais, e participa de numerosas funções fisiológicas, agindo tanto como hormônio quanto como um neurotransmissor. É um composto sintetizado a partir do triptofano, um aminoácido essencial obtido através da alimentação, seguido de duas reações bioquímicas: primeiramente o triptofano é hidroxilado em 5-hidroxitriptofano pela

enzima triptofano hidroxilase. Depois, 5-hidroxitriptofano é descarboxilado por uma amino descarboxilase, resultando, finalmente, em 5-HT. Sua síntese é controlada pela disponibilidade de oxigênio, pteridina (um composto heterocíclico) e pela quantidade de triptofano presente no sangue (LÓPEZ-GIMÉNEZ, 2018). A principal via de degradação de 5-HT se dá por desaminação, através da enzima monoamina oxidase (MAO) (Mohammad-Zadeh *et al.* 2008).

No sistema nervoso central, 5-HT desempenha um papel fundamental como neurotransmissor. No entanto, não é possível que uma molécula de 5-HT atravesse a barreira hematoencefálica, o que significa que esta precisa ser sintetizada no próprio cérebro para que a neurotransmissão ocorra. Uma vez que ocorre, 5-HT é transportado aos neurônios serotoninérgicos por transportadores específicos encontrados na membrana plasmática de terminais pré-sinápticos e é armazenado para uma futura liberação sináptica ou metabolizado por enzimas MAO (LÓPEZ-GIMÉNEZ, 2018).

Existem 14 diferentes tipos de receptores para serotonina, classificados em 7 diferentes subfamílias, de acordo com sua estrutura primária e propriedades funcionais. Com exceção ao 5-HT₃, que pertence à família de receptores iônicos, todos os outros receptores 5-HT são acoplados à proteína G (HOYER *et al.*, 1994).

Nos anos 80, mais de 5 diferentes tipos de receptores 5-HT foram descritos baseados em seu perfil farmacológico. A sua classificação foi sendo feita de acordo com homologia de sequência genética; conseqüentemente, esta classificação foi baseada em bases estruturais primárias, determinadas por sequência de aminoácidos, responsáveis pelas propriedades funcionais dessas proteínas de membrana. A subfamília de receptores 5-HT₂ compreende 3 diferentes subtipos: 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C}, que são agrupados graças à sua homologia estrutural (sequência genética quase 50% idêntica). Depois da interação com 5-HT ou outro agonista, os receptores 5-HT₂ acoplam-se a proteínas Gq/11, promovendo a ativação da fosfolipase C que, em contrapartida, promove a geração de inositol fosfatos e conseqüente mobilização de cálcio intracelular (LÓPEZ-GIMÉNEZ, 2018).

Há extensiva evidência de que receptores 5-HT_{2A} são responsáveis por efeitos neuropsicológicos da alucinação serotoninérgica em modelos animais experimentais, bem como em modelos humanos na pesquisa clínica (HALBERSTADT, 2016).

1.3 SEROTONINA, DEPRESSÃO E PSICODÉLICOS

Por muitos anos, a depressão foi entendida como um desequilíbrio de monoaminas em determinadas regiões cerebrais e foi, principalmente, relacionada a baixos níveis de serotonina circulante.

Atualmente, após vários estudos terem sido realizados sobre as modificações seletivas da neurotransmissão serotoninérgica, a noção de que uma condição tão complexa e heterogênea como a depressão clínica ser causada pela deficiência de apenas um neurotransmissor (5-HT) foi considerada improvável (COWEN, 2015).

No entanto, como descrito por Jauhar e colaboradores em seu trabalho publicado recentemente “Fifty years on: Serotonin and depression”, a relação entre o prejuízo da atividade serotoninérgica e a depressão *sobreviverá*. Em sua revisão, os pesquisadores fizeram um resumo de evidências confiáveis, demonstrando anormalidades na atividade da serotonina em pacientes clinicamente depressivos, sugerindo um decréscimo na atividade de neurônios serotoninérgicos pré-sinápticos (JAUHAR, 2023).

A partir de uma perspectiva farmacológica, substâncias alucinógenas como o LSD, a mescalina e a psilocibina, possuem alta afinidade na ligação e ativação de receptores 5-HT_{2A}. Contudo, as vias pelas quais a sinalização serotoninérgica exerce os efeitos alucinógenos se mantém incertas (LÓPEZ-GIMÉNEZ, 2018).

Já foi demonstrado que o comportamento de torção da cabeça (*head-twitch response*) em roedores, induzido por alucinógenos/psicodélicos, está ausente em camundongos *knockout* para 5-HT_{2A} (GONZÁLEZ-MAESO, 2007).

Há, também, evidências de que a ligação dos psicodélicos aos receptores 5-HT_{2A} no cérebro é necessária para os efeitos de *alteração da consciência*. Essa descoberta se deu a partir de estudos envolvendo a administração de ketanserina, um inibidor seletivo da serotonina, e risperidona, um antagonista parcial, bloqueando, assim, os efeitos subjetivos dos psicodélicos (KELMENDI, 2022).

O envolvimento desses receptores e vias de transdução de sinal impulsiona a neuroplasticidade. Os psicodélicos podem alterar a expressão gênica, incluindo o aumento da transcrição de genes como c-fos e outros fatores de transcrição dependentes de atividade associados à plasticidade neural. Além disso, os psicodélicos também modificam a morfologia dendrítica dos neurônios. Já foi demonstrado que, em camundongos vivos, quando os dendritos são rastreados ao

longo do tempo, a administração de uma única dose de psilocibina aumenta o número de espinhas dendríticas por pelo menos um mês. Coletivamente, os efeitos transcricionais e estruturais duradouros dos psicodélicos são importantes, porque persistem para além da curta meia-vida dos psicodélicos no corpo, refletindo modificações duradouras no cérebro (KELMENDI, 2022).

1.4 PSICODÉLICOS SINTÉTICOS, NPS E *N-BOMBS*

Este estudo foi realizado em parceria com pesquisadores do Instituto de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), onde as substâncias utilizadas foram sintetizadas e cedidas de forma legal para o nosso laboratório.

As drogas sintéticas e a sua utilização são descritas desde meados dos anos 20, sendo que a sua disseminação pelo mundo aconteceu a partir dos anos 80. Nos tempos atuais, com a popularização das drogas psicoativas, novas substâncias são descobertas quase todos os dias.

Denominadas de NPS (do inglês, *new psychoactives substances*), essas substâncias são produzidas de forma rápida e ilegal, a partir de modificações na estrutura química pré-existente de substâncias controladas derivadas de heroínas, fenilalquilaminas, triptaminas e de canabinóides, mimetizando os efeitos de drogas ilícitas, como o LSD (BARROS *et al.*, 2021).

A velocidade com que novas drogas ilícitas são sintetizadas tem como objetivo principal burlar as legislações vigentes de cada país, de modo que enquanto a droga apreendida não está em listas de drogas proscritas, sua venda pode ser realizada de maneira legal (CANTON, 2021).

Atualmente, vemos grandes discussões sobre os impactos que essas drogas oferecem aos usuários a curto e a longo prazo, em vista da dificuldade de apreensão e identificação da substância (CENTRO BRASILEIRO DE INFORMAÇÃO SOBRE PSICOTRÓPICAS, 2007; SECRETARIA NACIONAL ANTIDROGAS, 2007). A cada ano que passa, novas variantes dessas substâncias são identificadas e catalogadas, sendo sintetizadas a partir de substituições no anel aromático como 2C-B-NBOMe ou 2-(4-cloro-2,5-dimetoxi-fenil)-N-[(2-metoxifenil)metil]etanoamina, ou com alterações nos agrupamentos N-constituintes como 25B-NBOH ou 2-([2-(4-bromo-2,5-dimetoxifenil)etil]amino)metil)fenol (KING, 2014).

Essas substâncias psicoativas são constantemente utilizadas de forma recreativa, e não medicamentosa, em virtude de seus efeitos psicotrópicos e alucinógenos, os quais são descritos como aumento da capacidade de comunicação, autoconhecimento e empatia (VOLLENWEIDER, 2020).

Tais efeitos, como já mencionado anteriormente, estão relacionados à alta afinidade de receptores 5-HT, por agonismo total ou parcial, com a possibilidade de modulação da neurotransmissão serotoninérgica (EGAN, *et al.*, 1998).

Recentemente, um novo grupo de substâncias psicoativas alucinógenas sintéticas emergiu, popularmente conhecidas “N-Bombs”. Este trocadilho se fez a partir de sua estrutura química, NBOMe, uma substância da classe das fenetilaminas substituídas, cuja denominação ocorre devido ao substituinte “N-benzilmetoxi” - sendo o “metoxi” discriminado como “OMe” (PAPOUTSIS *et al.*, 2015).

As fenetilaminas substituídas são obtidas por modificações em sua estrutura química, por processos de inserção de grupos N-benzil, o que aumenta a afinidade dessas substâncias pelos receptores 5-HT_{2A} (ELMORE *et al.*, 2018). Dois tipos de estruturas básicas são encontrados com mais frequência na literatura científica, sendo eles o o-metoxibenzaldeído (NBOMes) ou salicilaldeído (NBOHs).

Rickli e colaboradores (2015), demonstraram que as NBOMes aumentam em até 26 vezes a afinidade por receptores 5-HT_{2A}, e possuem afinidade até 8,4 vezes maior para estes receptores quando comparados com o LSD (RICKLI, 2015).

Embora existam muitos estudos sobre os efeitos das NBOMes e NBOHs em humanos, apenas recentemente esses estudos têm sido realizados em ensaios pré-clínicos *in vivo*, e nenhum deles discute ações terapêuticas e/ou mecanismos de ação tipo-antidepressivos.

O presente estudo propõe esta abordagem e, ainda, hipotetiza uma via pela qual estes psicodélicos sintéticos podem exercer sua ação: a via psicoplastogênica.

O termo “psicoplastógeno” refere-se aos compostos que têm capacidade de alterar a morfologia de neurônios, e também àqueles que têm a capacidade de melhorar a plasticidade sináptica.

A neuroplasticidade é definida como uma habilidade do cérebro em promover mudanças neurobiológicas em resposta a estímulos externos, assim como a exposição ao estresse crônico, e/ou estímulos intrínsecos genéticos e epigenéticos (KVICHANSKY, 2021). Estas mudanças podem ser adaptativas e contribuir para a

resiliência em grupos de risco para certas doenças, mas também podem ser prejudiciais, resultando em neuropatologias e transtornos psiquiátricos (TARTT, 2022).

Estudos *in vitro* já demonstraram que alguns compostos como o LSD, o DMT, o MDMA, a *psilocina* (forma ativa da psilocibina), dentre outros, podem induzir mudanças no número de contatos sinápticos, bem como na estrutura de neurônios, aumentando espinhos dendríticos em número e extensão (LY *et al.*, 2018).

Atualmente, a comunidade científica acredita que a depressão e a neuroplasticidade estão atreladas de alguma forma; conectadas por mecanismos fisiológicos ainda não completamente esclarecidos. Estudos realizados com animais confirmam que a reversão de quadros de comportamento tipo-depressivo, induzidas por medicamentos, envolvem mudanças na neuroplasticidade, na morfologia dendrítica, na densidade e função das sinapses (Licznernski & Duman, 2013). No entanto, mecanismos fisiológicos e terapêuticos neste contexto ainda não são bem estabelecidos e demandam investigações futuras.

1.5 TRANSTORNOS DE HUMOR E DEPRESSÃO

Eu não consigo explicar os meus sentimentos para você; existe um certo vazio que me causa dor, um desejo, nunca satisfeito, e que no entanto, nunca cessa, sim, aumenta dia a dia... Eu também não encontro alegria no meu trabalho... se eu sento ao piano e canto algo de minha ópera, tenho de parar imediatamente, pois me afeta muito.

(Carta de W. A. Mozart à esposa, julho de 1791)

É natural que o humor oscile ao longo do dia, e que as pessoas experimentem altos e baixos na vida, mas, em alguns casos, as mudanças de humor de longa duração podem se tornar debilitantes e prejudiciais na vida de quem as experiencia.

A estimativa é que cerca de 350 milhões de pessoas apresentem algum tipo de transtorno depressivo, em todo o mundo (OMS, 2018). No entanto, depois da pandemia de COVID-19 que se instalou globalmente a partir do ano de 2019, essa estimativa sofreu um aumento de 27.6% em 2020 (SANTOMAURO, 2021).

O Transtorno Depressivo Maior, também conhecido como Depressão Maior (DM), é o mais frequente dentre os transtornos de humor, e é caracterizado por

episódios depressivos, com pelo menos duas semanas de humor deprimido, perda de interesse na maior parte das atividades e perda de prazer (GURURAJAN *et al.*, 2019).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2018), a DM é a principal causa de incapacidade do mundo e afeta uma em cada dez pessoas. No período de 2007 a 2017 houve um aumento de 13% na taxa de prevalência da doença e, hoje, mais de 300 milhões de pessoas apresentam esse transtorno.

Apesar das inúmeras modalidades de tratamentos disponíveis, menos de 40% dos pacientes respondem a eles e, a taxa de recidiva é bastante alta (RUSH *et al.*, 2006). Os primeiros antidepressivos começaram a aparecer 65 anos atrás (HILLHOUSE, 2015), e, o sucesso limitado dessas drogas está intimamente ligado à compreensão inadequada da biologia dessa desordem, refletida nas abordagens indevidas de diagnóstico atuais (GURURAJAN *et al.*, 2019).

Inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS ou SSRI) são os antidepressivos mais comumente prescritos. No entanto, apenas 56% a 60% dos pacientes respondem a esse tipo de terapia (ARROL *et al.*, 2005). Além disso, estas drogas começam a fazer efeito somente em duas ou quatro semanas após o início do tratamento, e muitos pacientes reportam efeitos colaterais como boca seca, ganho de peso, dores de cabeça, e, perda da libido (JOSHI, 2018).

Pacientes cuja DM não responde satisfatoriamente aos tratamentos convencionais representam um grande custo direto e indireto para a saúde, uma vez que estes pacientes são hospitalizados duas vezes mais e, os custos dessa hospitalização tendem a ser seis vezes maiores do que a hospitalização de pacientes sem resistência ao tratamento (JOHNSTON *et al.*, 2019).

1.6 A FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO

Apenas recentemente começaram a ser elucidados os mecanismos neurais que regulam os estados de humor. Não é surpresa, no entanto, que as principais teorias que procuraram explicar a fisiopatologia dos transtornos de humor tenham se originado de estudos farmacológicos de substâncias antidepressivas. Portanto, existem diversas teorias que tentam explicar a origem dos transtornos depressivos, mas nenhuma delas é conclusiva ou totalmente abrangente.

Estudos sobre a fisiopatologia da DM revelam que há uma redução no

sistema de monoaminas, que incluem serotonina, dopamina e noradrenalina (PERITO, 2012). Na década de 1950, alguns medicamentos, como a iproniazida - um inibidor da enzima monoamina oxidase (IMAO) - demonstraram excelentes resultados na reversão do quadro depressivo em ensaios duplo-cego (REYNOLDS III, 2009). Mais tarde, descobriu-se que a IMAO era responsável pela degradação de serotonina e noradrenalina. Então, a DM ficou entendida como um simples déficit funcional de transmissores de monoaminas em certas regiões do cérebro. Entretanto, esta teoria não explica de forma abrangente as bases fisiopatológicas da DM, principalmente quanto à sua origem, mas ainda hoje, os antidepressivos mais comumente usados estão baseados nessa hipótese.

Precursos de serotonina, como o l-triptofano e o 5-hidroxitriptofano, apresentam moderada ação antidepressiva, e baixas concentrações de serotonina e seu principal metabólito, o ácido 5-hidroxiindol acético (5HIAA), são encontradas em cérebros de vítimas de suicídio ou no líquido cefalorraquidiano de parte dos pacientes deprimidos (GUIMARÃES, 2005).

Guimarães (2005) comenta ainda que além da serotonina e da noradrenalina, outros neurotransmissores têm sido implicados na etiologia dos transtornos de humor, como por exemplo a dopamina, o glutamato, a colecistocinina (CCK) e o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), e mesmo fatores de crescimento como o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro).

A pesquisa de marcadores biológicos mostra associação da desordem com alterações em fatores de crescimento neuronal, marcadores inflamatórios, além das já bem estabelecidas alterações do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (DUMAN, 2016).

O grande volume de pesquisas em torno dessa temática reflete sua importância global, e, na última década, a neurobiologia da DM teve avanços sem precedentes no que diz respeito às alterações macroscópicas, moleculares, genômicas, e de interação ambientais, como a plasticidade sináptica e modulações endócrinas e imunológicas (KUPFER *et al.*, 2016), culminando em teorias que tentam explicar os seus mecanismos.

AS PRINCIPAIS TEORIAS SOBRE A DEPRESSÃO

1. A **teoria neurotrófica** foi desenvolvida a partir de técnicas que mensuram a

quantidade de BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) expressa. Este peptídeo está relacionado com o desenvolvimento cerebral desde a vida embrionária até o crescimento e diferenciação celular, neuroplasticidade e apoptose em adultos. Além disso, tem um efeito neuroprotetor durante toda a vida (BASTOS, 2011). Recentemente, novas pesquisas revelaram que a redução de fatores de crescimento, principalmente o BDNF pode estar envolvido na gênese da DM (PERITO, 2012). Os fatores neurotróficos mediam várias funções celulares através da ativação de receptores, incluindo a expressão dos genes que estão integralmente envolvidos na regulação da neuroplasticidade celular (SCHMIDT, 2008). Quando ocorre a queda na expressão desta substância, áreas como o sistema límbico e o hipocampo são severamente prejudicadas, porém ainda não se sabe quais zonas do hipocampo que, ao apresentar atrofia, promove sintomas depressivos (PAZINI, 2017).

2. O **eixo HPA** é extremamente ativado em situações de estresse crônico, e possui uma relação íntima com a DM. Os principais componentes do sistema de estresse são o CRF (fator liberador de corticotrofina) e o sistema locus coeruleus noradrenalina (LC-NE) (VAN DEN EEDE *et al.*, 2004). Em situações de estresse, a produção de CRF (fator liberador de corticotrofina) aumenta nos neurônios do núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo. O CRF estimula a hipófise, e conseqüentemente a síntese do proopiomelanocortina, o precursor do ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) das células hipofisárias anteriores. O AVP (vasopressina) atua em sinergismo com o CRF na estimulação da secreção de ACTH. Finalmente, o ACTH é secretado na circulação sistêmica e estimula a secreção de cortisol pelo córtex adrenal. O cortisol é o produto final do eixo HPA e atua em resposta ao estresse no organismo. Além disso, o cortisol age como um regulador de feedback negativo no hipotálamo e na hipófise, diminuindo a secreção de CRF e ACTH, respectivamente, e também exerce uma função de feedback negativo no eixo HPA através do hipocampo. Na DM, o eixo está desregulado e os mecanismos de feedback negativos são enfraquecidos. O cortisol favorece uma maior atividade da via glutamatérgica, que promove o estresse oxidativo, fazendo prevalecer os níveis de radicais livres sobre os mecanismos

antioxidantes; estes radicais por sua vez, ao reagirem com os neurônios, geram apoptose (VAN DEN EEDE *et al.*, 2004).

3. Recentemente, a **hipótese das citocinas** têm atraído bastante atenção e muitos estudos têm demonstrado que o sistema imune tem um importante papel ativador na patogênese da DM (RAISON *et al.*, 2006). Foi verificado que estes pacientes têm níveis aumentados de marcadores inflamatórios no sangue, como as interleucinas (ILs) IL-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral (TNF) TNF- α e proteína C reativa (PCR) (HILES, 2012). É importante ressaltar que tais aumentos têm sido associados aos piores resultados do tratamento antidepressivo. Estudos com animais também têm demonstrado que citocinas pró-inflamatórias mediam comportamentos tipo depressivos induzidos pelo estresse (FLESHNER, 2017). Existem várias vias pelas quais a inflamação periférica pode sinalizar o cérebro e levar a DM: nervo vago, regiões com vazamentos na barreira hematoencefálica (BHE) e sistemas de transporte de citocinas. Por essas vias, as citocinas periféricas podem afetar a síntese e a recaptação central de neurotransmissores de monoamina, incluindo dopamina, serotonina e norepinefrina (QUAN, 2007).

1.7 O USO DE MODELOS ANIMAIS PARA O ESTUDO DE TRANSTORNOS DEPRESSIVOS

Os mecanismos da DM são complicados e sua fisiologia permanece incerta, assim, o uso de modelos animais para estudar esse transtorno tem sido bastante conveniente. No entanto, o campo das descobertas ainda precisa ser expandido (LI CAI *et al.*, 2019).

Os primeiros modelos animais para o estudo da depressão foram baseados em efeitos antidepressivos, sem a preocupação de se fazer uma correlação com eventuais mecanismos do desenvolvimento do quadro depressivo. Em 1967, Martin Seligman e Steven Maier propuseram uma nova abordagem com o modelo de *desamparo aprendido*, em que animais submetidos a uma série de choques inescapáveis nas patas apresentam déficit de aprendizado em uma nova situação em que os choques poderiam ser evitados e, a situação pode ser resolvida com a administração crônica de antidepressivos.

Um outro teste preditivo da atividade antidepressiva bastante empregado (e semelhante ao modelo de Seligman e Maier) é o teste do Nado Forçado, ou “modelo de desespero comportamental” (GUIMARÃES, 2005). Neste teste, os roedores são submetidos a um período de treino de nado forçado, uma situação inescapável de estresse e, 24 horas depois, são novamente colocados para nadar (teste), então, o tempo de imobilidade é registrado. Sabe-se que o tratamento crônico com antidepressivos, principalmente aqueles que bloqueiam a recaptção de noradrenalina, diminuem o tempo total de imobilidade.

A utilização de um modelo animal é uma prática consolidada nas pesquisas biomédicas. Normalmente, a partir destes modelos, caracteriza-se processos biológicos ou testa-se medicamentos em animais não humanos antes de verificar se os resultados se aplicam aos humanos (SOUZA, 2017). Segundo Li Cai e colaboradores (2019), um modelo experimental deve ser facilmente replicado em diferentes contextos, mesmo com algumas modificações de protocolo. Dessa forma, são considerados modelos de “padrão ouro”.

A validade destes modelos animais normalmente segue uma abordagem multidimensional, através de uma perspectiva preditiva (a performance nos testes prediz a performance das condições sendo testadas), transparente (extensão em que um teste é visto subjetivamente como cobrindo o conceito que pretende medir), e de constructo (acúmulo de evidências para apoiar a interpretação que uma medida reflete) (WILLNER, 2017).

Com relação aos modelos animais para o estudo da Depressão, a validade preditiva diz respeito à responsividade seletiva aos antidepressivos (drogas ou não); a validade facial (transparente) é avaliada em comparação aos sintomas encontrados no DSM; e, a validade de constructo é baseada em argumentos de similaridade entre construtos psicológicos, como a responsividade a eventos ligados à recompensa, ou, se conhecidos, os mecanismos neurobiológicos subjacentes.

Modelos já bem estabelecidos induzem o comportamento tipo-depressivo através do estresse, mas desconsideram outros fatores de risco, como por exemplo, a inflamação.

Nesse contexto, os modelos experimentais de ligação e perfuração cecal (CLP) em roedores podem fazer-se clinicamente relevantes, pois produzem uma inflamação generalizada similar àquela observada durante a síndrome da resposta inflamatória sistêmica e sepse (COMIM *et al.*, 2008), podendo induzir um quadro de

encefalopatia séptica (EAS - encefalopatia associada à sepse), condição que acomete mais de 70% dos pacientes sobreviventes à sepse e culmina em um comportamento depressivo (CHAO REN *et al.*, 2020).

Dessa forma, o modelo de CLP viabiliza um estudo mais amplo da DM, partindo de uma origem inflamatória, possibilitando a utilização de técnicas bioquímicas, morfológicas e comportamentais.

1.8 MODELO DE LIGAÇÃO E PERFURAÇÃO CECAL (CLP, do inglês *Cecal Ligation and Puncture*)

O modelo de ligação de perfuração cecal (CLP) é reconhecido como um modelo “padrão ouro” de sepse abdominal em roedores (DRECHSLER e OSUCHOWSKI, 2021).

Este modelo simula os processos inflamatórios que, inicialmente se dão como uma reação imune localizada, e depois, se microrganismos e componentes fecais caem na circulação sistêmica, podem vir a desencadear uma resposta inflamatória desregulada (ALVERDY *et al.*, 2017; TAEB e MALIK, 2017).

Ele consiste em uma laparotomia, seguida de uma ligadura do ceco logo abaixo da valva ileocecal e perfurações na base do ceco com uma agulha. A cirurgia induz uma necrose focal e contínua liberação de material fecal. Depois da cirurgia CLP, os sinais da sepse clínica aparecem dentro de 12 e 24 horas, dependendo de sua severidade, que é caracterizada de leve (crônica) a severa (aguda) e pode ser influenciada tanto pela posição da ligadura no ceco (SINGLETON e WISCHMEYER, 2003), quanto pelo tamanho da agulha e número de perfurações realizadas.

Dados os níveis de severidade possíveis em decorrência do procedimento cirúrgico CLP, é imprescindível que haja consistência no desenvolvimento da técnica (RITTIRSCH, 2009), e que todos os passos do protocolo experimental sejam seguidos fielmente e executados por apenas um pesquisador.

1.9 SEPSE

A Sepse é uma das piores ameaças ao prognóstico de pacientes em unidades de terapia intensiva. Segundo o Instituto Latino Americano para Estudos de Sepse, ILAS (2019) e, de acordo com a nova definição, estabelecida pelo terceiro

consenso internacional para sepse e choque séptico (o chamado Sepsis-3), a sepse passa a ser definida como uma disfunção orgânica ameaçadora à vida causada por uma resposta desregulada do hospedeiro à infecção.

Um dos principais componentes que envolvem a fisiopatologia da sepse é a exacerbada ativação da resposta imune inata. O principal papel do sistema imune inato se dá pelo aumento de fatores pró-inflamatórios após a infecção (MASTRONARDI *et al.*, 2005). Algumas horas após o início da sepse há consequente aumento de citocinas pró-inflamatórias tais como interleucina IL-1 β e TNF- α e de citocinas anti-inflamatórias como IL-10, que sinalizam para o sistema nervoso central (COMIM *et al.*, 2011).

Como a maioria dos estudos envolvendo sepse tem enfoque em órgãos periféricos, a participação do cérebro durante esse processo ainda não está bem estabelecida. Vários mecanismos têm sido propostos e incluem dano oxidativo, distúrbios de neurotransmissores, neuroinflamação e morte celular (BOZZA *et al.*, 2013). O fluxo sanguíneo cerebral, integridade da barreira hemato-encefálica (BHE) e o conteúdo de líquido cerebral também podem ser afetados (HUGHES *et al.*, 2016).

A disfunção da BHE se caracteriza por alterações nas tight junctions endoteliais, que, uma vez que não estão executando a sua função de maneira adequada, permitem a passagem de mediadores inflamatórios e neurotóxicos para o cérebro (POLITO *et al.*, 2013). Além da passagem de mediadores inflamatórios através da BHE, a resposta inflamatória sistêmica se propaga para o sistema nervoso central por outras duas vias. Uma das vias é **neural**, através da ativação do nervo vago aferente (ONDICOVA, 2010). Outra via é **humoral**, através dos órgãos circumventriculares e do plexo coróide, desprovidos de BHE e que expressam proteínas importantes no reconhecimento de patógenos e receptores para citocinas pró-inflamatórias (JANIG *et al.*, 2014).

A sinalização do *Toll-like receptor* (TLR), tem sido sugerida como a chave da fisiopatologia da sepse (DAL-PIZZOL *et al.*, 2014). A ativação desta via, presente nos órgãos circumventriculares, induz a produção e liberação de citocinas no sistema nervoso central (TRACEY *et al.*, 2007). Basicamente, essa ativação consiste na interação entre TLR e derivados de bactérias e de produtos do hospedeiro, tais como: proteínas intracelulares, componentes da matriz extracelular e lipídios oxidados. O reconhecimento destes agentes pelos TLRs, induzem uma cascata de

sinalização intracelular, que ativa o Fator Nuclear *kappa* B (NF- κ B). O NF- κ B é responsável pela codificação de genes que estimulam a síntese e liberação de mediadores pró-inflamatórios como: quimiocinas e citocinas, especialmente IL-1- β , IL-6 e TNF- α , as quais atuam recrutando e ativando leucócitos para o foco infeccioso (DANIELSKI *et al.*, 2018).

Esse processo inflamatório amplificado no SNC é denominado **neuroinflamação**.

1.10 NEUROINFLAMAÇÃO E EAS

A neuroinflamação possui um papel extremamente importante no desenvolvimento de uma disfunção cerebral conhecida como encefalopatia associada à sepse (EAS).

A EAS é uma complicação comum, porém pouco compreendida da sepse, e pode ser definida como uma disfunção cerebral resultante de alterações metabólicas e de sinalização celular mediadas por componentes inflamatórios (ZENAIDE, 2013). Está intimamente ligada à ativação de células da glia (microglia e astrócitos), à geração de mediadores inflamatórios locais (BELLAVAR *et al.*, 2015), à produção de espécies reativas de oxigênio (BENARDAIS *et al.*, 2014), à quebra da BHE (HOOGLAND *et al.*, 2015), ao dano celular e à ativação do eixo HPA (LOSSINSKY *et al.*, 2004).

Segundo o ILAS (2019), a sepse ainda é uma das principais causas de mortalidade hospitalar tardia, superando o infarto do miocárdio e o câncer. No Brasil, essa taxa chega a 65% dos casos, enquanto a média mundial está em torno de 30 a 40%. Aproximadamente 70% dos pacientes sobreviventes desenvolvem sintomas neurológicos (CHAO REN *et al.*, 2020), que acabam por culminar em transtornos depressivos.

Dada a importância da neuroinflamação na patogênese da DM, é imprescindível a busca por novas intervenções terapêuticas, que sejam mais confiáveis, e, que possam exercer suas funções também em vias anti-inflamatórias do sistema nervoso central (SNC).

2 JUSTIFICATIVA

A depressão maior é o transtorno psiquiátrico mais comum do mundo nos tempos atuais e possui um alto índice de recidiva e prevalência. Por ser um transtorno de origem multifatorial, sua fisiopatologia permanece incerta, mas diversas evidências demonstram que os processos inflamatórios e a plasticidade sináptica deficitária desempenham um papel importante no desenvolvimento desse transtorno de humor. Somado a isso, existe o fato de que as drogas antidepressivas atualmente utilizadas não são eficazes na maioria dos casos, e seu uso contínuo provoca uma série de efeitos colaterais.

Sendo assim, esse projeto propõe caracterizar um modelo animal para o estudo de desordens depressivas a partir de processos inflamatórios (sepsis experimental), e explorar o potencial anti-inflamatório/antidepressivo de compostos psicodélicos alucinógenos sintéticos *de rua* (normalmente usados de forma recreacional), das classes NBOMe e NBOH, elucidando, pela primeira vez, o potencial terapêutico dessas substâncias.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito dos psicodélicos 25H-NBOMe e 25H-NBOH em ratos *Wistar* sobreviventes da sepse experimental, testados em ensaios preditivos de atividade antidepressiva

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar em ratos *Wistar* machos adultos (teste e controle):

- a) alterações comportamentais 7, 14 e 21 dias após a sepse experimental, através dos testes de 1) RGS; 2) campo aberto e 3) nado forçado;
- b) definir uma curva de dose-resposta de 25H-NBOMe dentre as doses a) 0,3 mg/kg, 2) 1 mg/kg, 3) 3 mg/kg;
- c) definir uma curva de dose-resposta de 25H-NBOH dentre as doses a) 0,3 mg/kg, 2) 1 mg/kg, 3) 3 mg/kg;
- d) avaliar as respostas de torção da cabeça (HTR) do animais, após administração das substâncias psicodélicas deste estudo, pelo teste de comportamento HTR;
- e) avaliar a influência do tratamento com 25H-NBOMe, na dose de 3 mg/kg, i.p. sobre as alterações do comportamento tipo depressivo em animais sobreviventes à sepse;
- f) avaliar a influência do tratamento com 25H-NBOMe e/ou 25H-NBOH, nas doses a) 0,3 mg/kg, 2) 1 mg/kg, e 3) 3 mg/kg, i.p. sobre as alterações inflamatórias, em animais sobreviventes à sepse.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos adultos machos (6 semanas), da linhagem *Wistar* pesando entre 200 e 300g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Alfenas-MG. Todos os procedimentos experimentais seguiram os Princípios Éticos em Pesquisa Animal adotados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alfenas (protocolo 0028/2021).

Os animais tiveram livre acesso à água e alimento (ração peletizada normoproteica) e foram mantidos à temperatura de $23 \pm 2^\circ \text{C}$, em fotoperíodo definido de 12 horas, com as luzes acesas às 07:00. O número de animais utilizados para a caracterização do modelo de estudo da DM = 72 (n=10). Estes animais foram divididos em 3 grupos (7 dias, 14 dias e 21 dias após a SEPSE experimental), e, cada grupo foi composto por animais SHAM e CLP, totalizando 6 subgrupos (60 animais). No entanto, como descrito por Oliveira e colaboradores (2018), o modelo de Ligação e Perfuração Cecal possui alto índice de mortalidade. Por esse motivo, necessitamos de um adicional de 20% do número a ser utilizado, totalizando 72 animais (n=10) para este fim. Para a definição da dose das substâncias psicodélicas (NBOMe e NBOH), utilizamos 80 animais (n=10), divididos em 4 grupos para cada uma das substâncias (veículo, dose 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg). Para testar a substância escolhida (dois grupos: veículo + dose escolhida) no modelo de estudo da Depressão caracterizado (dois grupos: SHAM e CLP), formamos 4 grupos experimentais (1) SHAM+Veículo, 2) SHAM+Tratamento, 3) CLP+Veículo, e 4) CLP+Tratamento) e, portanto, utilizamos 80 animais (n=10/grupo) + 20%, como descrito anteriormente, totalizando 96 animais para este fim.

Número total de animais para todo o desenho experimental = $72 + 80 + 96 = 248$.

4.2 DROGAS

- 25H-NBOMe (o-metoxibenzaldeído - ICE - Departamento de Química - UFMG);
- 25H-NBOH (salicilaldeído - ICE - Departamento de Química - UFMG);

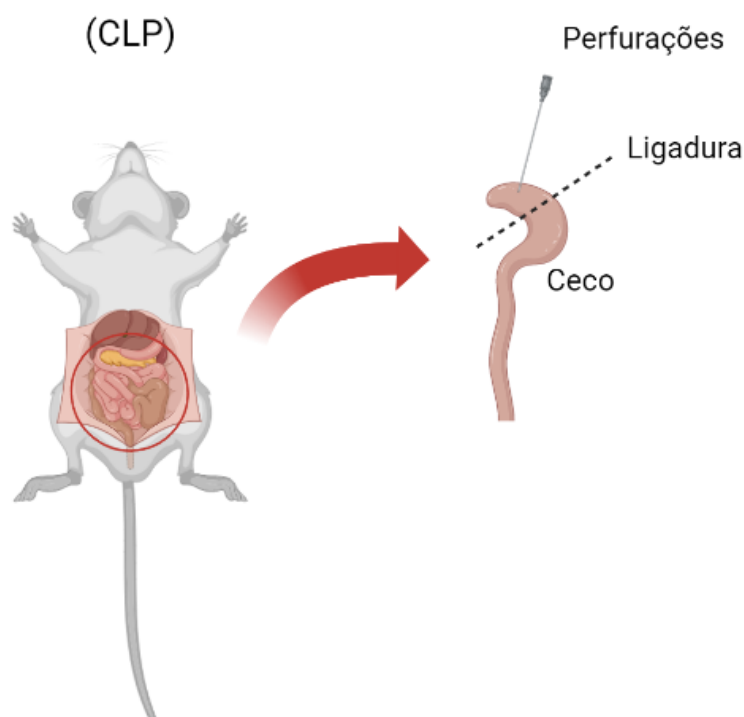
- DMSO (Dimetilsulfóxido);
- Tween 20;
- Salina estéril 0,9%;
- Pentabiótico (Ford Dodge Saúde Animal LTDA);
- Tribromoetanol (TBE-Sigma, Brasil);
- Cloridrato de tramadol 100mg/2 mL (União Química Farmacêutica Nacional S/A);
- Isoflurano 4%.

4.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1 Indução da sepse por Ligação e Perfuração Cecal

Os animais foram anestesiados com TBE (150 mg/kg), administrado intraperitonealmente, em associação ao opióide Cloridrato de Tramadol (12,5 mg/Kg), administrado por via subcutânea (s.c.). Sob condições assépticas, uma laparotomia mediana de aproximadamente 2 cm foi realizada para expor o ceco e intestino adjacentes. Em seguida, o ceco foi ligado com uma sutura de seda (3,0 cm) na sua base, abaixo da válvula ileocecal, onde foi perfurado duas vezes com uma agulha calibre 18. O ceco foi então espremido delicadamente para extrudar uma pequena quantidade de fezes através da perfuração. Posteriormente, o ceco foi devolvido à cavidade peritoneal e a laparotomia foi fechada com sutura de fio de seda 4,0. Os animais receberam, via intramuscular (i.m.), solução de pentabiótico (24.000 UI/Kg) imediatamente após o CLP. Para minimizar a variabilidade entre diferentes experimentos, o procedimento CLP foi realizado pelo mesmo pesquisador (OLIVERE *et al.*, 2018).

Figura 2 - Representação esquemática e ilustrativa de uma cirurgia de ligação e perfuração cecal (CLP).



Fonte: da autora.

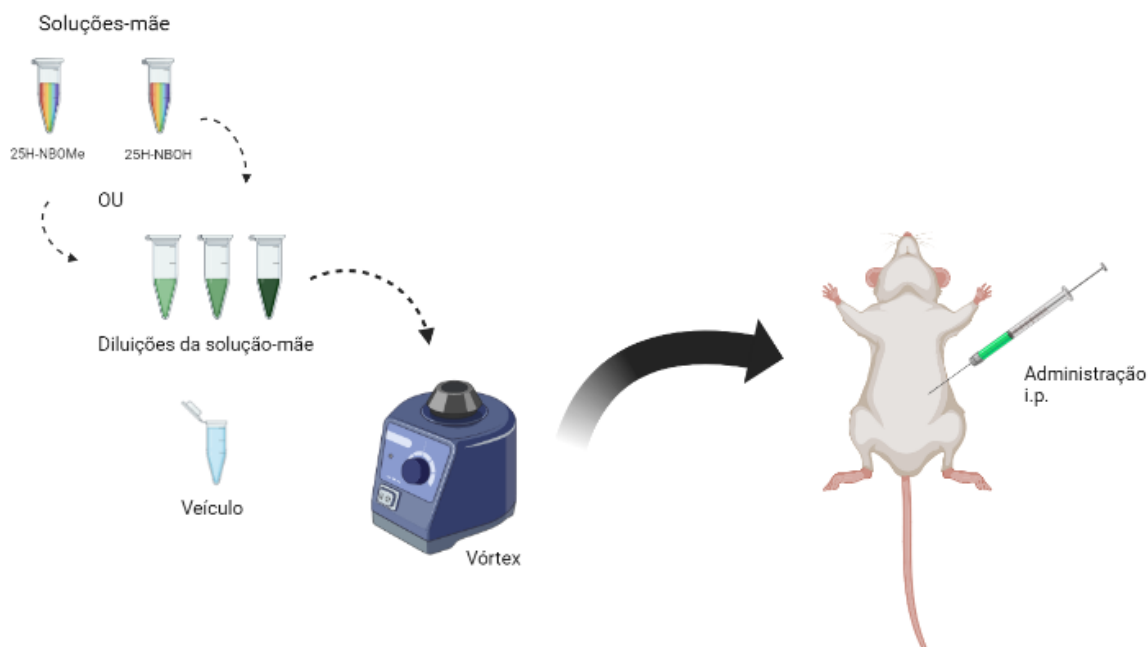
Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

4.3.2 Tratamento com 25H-NBOMe e 25H-NBOH

NBOMe e NBOH foram utilizados a partir de solução pura, cedida pelo Instituto de Ciências Exatas (Departamento de Química) da UFMG, e desta foram preparadas no dia dos tratamentos, as soluções-mãe, armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da administração. A solução-mãe foi preparada ao misturarmos $10\text{ }\mu\text{g}$ de 25H-NBOMe ou 25H-NBOH com $100\text{ }\mu\text{l}$ de DMSO, e então, os compostos foram diluídos nas seguintes concentrações: 1) $0,3\text{ mg/kg}$, 2) 1 mg/kg e 3) 3 mg/kg . Para tanto, utilizamos a solução-mãe em veículo, preparado previamente com salina, *tween* 20% e DMSO. Todas as diluições passaram pelo vórtex durante o preparo e antes da administração. As drogas foram administradas nos animais, via intraperitoneal (i.p.), mg/kg de NBOMe/NBOH ou veículo (1 ml/kg) imediatamente antes dos testes comportamentais. Dessa forma, os animais foram divididos em 6 grupos ($n=10$): 1) Sham + Veículo, 2) Sham + NBOMe, 3) CLP + Veículo, 4) CLP +

NBOMe, 5) Sham + NBOH, 6) CLP + NBOH.

Figura 3 - Representação esquemática e ilustrativa do preparo e administração das substâncias do estudo.



Fonte: da autora.

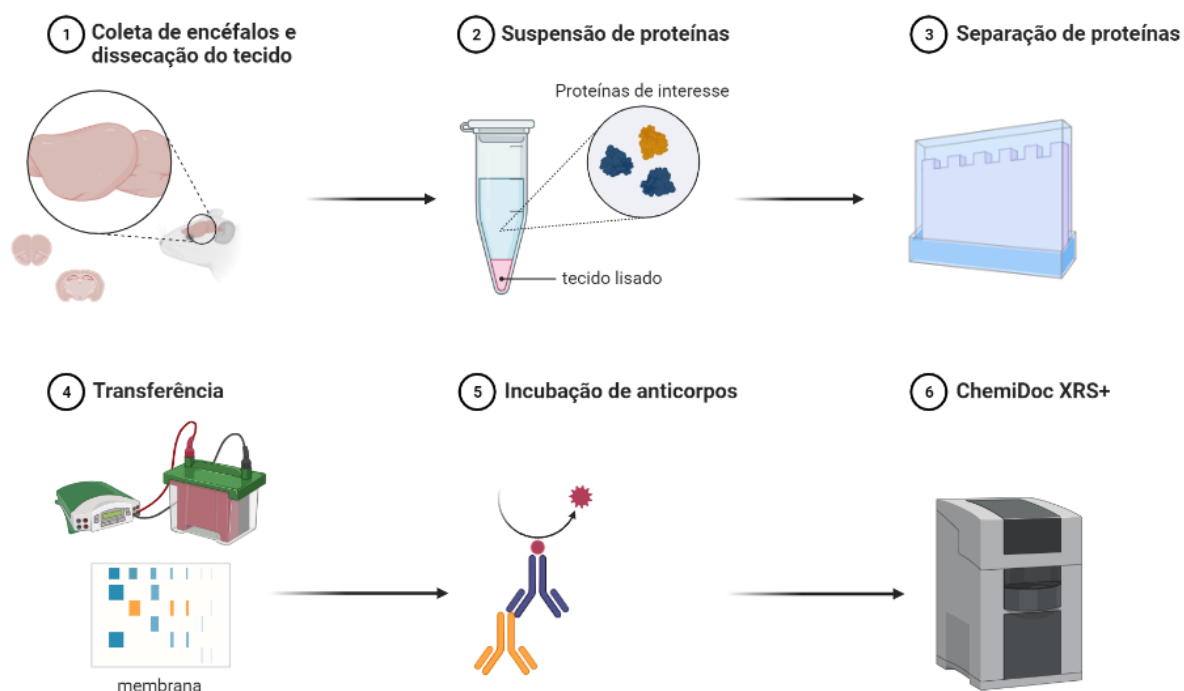
Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender; i.p.: intraperitoneal

4.4 COLETA DE ESTRUTURAS E DOSAGEM DE PROTEÍNAS POR WESTERN BLOTTING

Após a morte pelo excesso de anestésico inalatório (Isoflurano 4%), os animais foram decapitados por guilhotina e os encéfalos foram coletados. O córtex pré frontal e o hipocampo foram dissecados e em seguida armazenados e congelados individualmente em nitrogênio líquido, para posterior uso. As amostras foram descongeladas, homogeneizadas em tampão de lise com inibidores de protease, centrifugadas e finalmente foi quantificada a concentração de proteínas através do teste de Bradford. Por ordem, por meio de eletroforese, as proteínas foram separadas e subsequentemente transferidas para uma membrana. As membranas foram incubadas com os anticorpos anti-PSD-95, anti-sinaptofisina e anti-GFAP, e, posteriormente com os respectivos anticorpos secundários. As membranas foram digitalizadas através do equipamento de aquisição de imagens

ChemiDoc XRS+ e do software ImageLab versão 6.0.1 (Bio-Rad-Laboratories, Inc.). A análise foi realizada em relação à proteína β -actina.

Figura 4 - Representação esquemática e ilustrativa da coleta de estruturas encefálicas e desenvolvimento da técnica de *Western Blotting*.



Fonte: da autora.

Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

4.5 TESTES COMPORTAMENTAIS

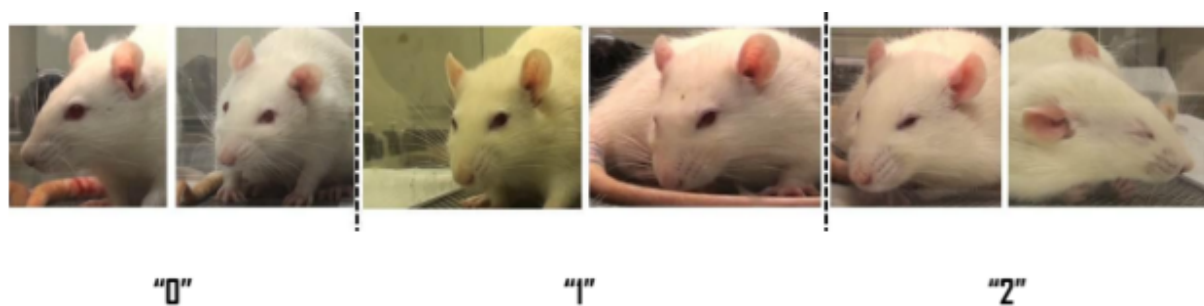
4.5.1 Escala de dor RGS

A escala de dor RGS (do inglês, *rat grimace scale*) em tempo real é um teste para avaliar a expressão facial de roedores, associada à dor, uma adaptação de Leung e colegas (2016) do teste RGS desenvolvido por Sotocinal e colegas (2011), e pode ser usado sem alteração nos resultados. Para obtermos as escalas, os animais a serem testados devem ser transferidos para um aparato transparente, limpo e previamente habituados aos observadores, e, a escala será obtida usando dois métodos: 1) uma nota de avaliação durante a observação com 2) 15 segundos de intervalo entre as observações, onde o animal deverá ser observado por 15

segundos e receberá uma pontuação pelo período. Cada método será repetido a cada 30 segundos pelo período de observação de 10 minutos, gerando assim, 18 notas para cada animal. Dessas 18 notas, tirou-se a média, obtendo-se assim, uma única nota para cada animal. Os comportamentos observados foram: 1) Aperto dos olhos; 2) Achatamento do focinho e bochechas; 3) Alteração nas orelhas; e, 4) Alteração nas vibrissas. Para cada um destes parâmetros os animais receberam as notas 0 (não presente), 1 (moderadamente visível) ou 2 (pronunciado), como pode ser observado nas imagens a seguir:

1) Aperto dos olhos

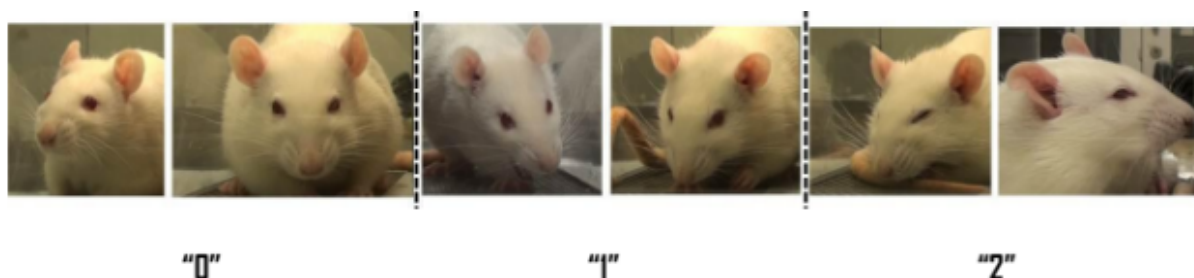
Fotografia 1- Expressão de dor do teste de escala de dor RGS - Aperto dos olhos.



Fonte: Sotocina e colaboradores, 2011.

2) Protuberância do focinho e das bochechas

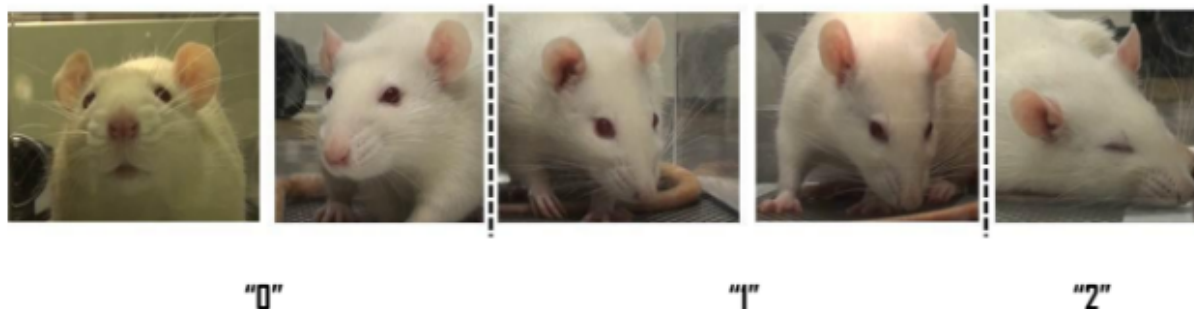
Fotografia 2- Expressão de dor do teste de escala de dor RGS - Protuberância do focinho e das bochechas.



Fonte: Sotocina e colaboradores, 2011.

3) Posicionamento das orelhas

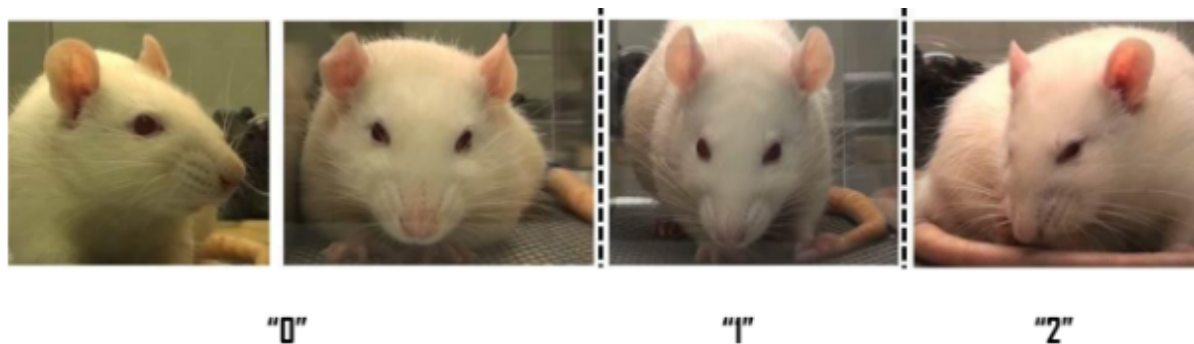
Fotografia 3- Expressão de dor do teste de escala de dor RGS - Posicionamento das orelhas.



Fonte: Sotocina e colaboradores, 2011.

4) Alteração nas vibrissas

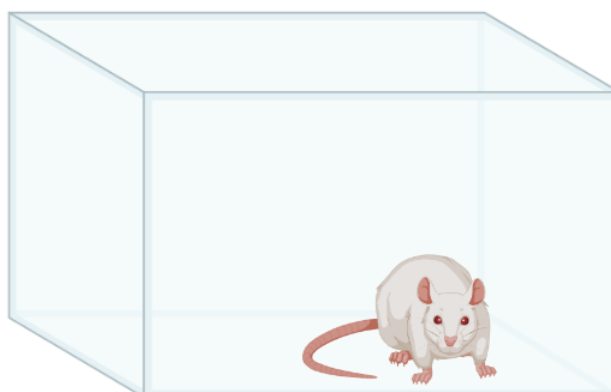
Fotografia 4- Expressão de dor do teste de escala de dor RGS - Alteração nas vibrissas.



Fonte: Sotocina e colaboradores, 2011.

Ao final do teste, cada animal recebeu quatro notas, uma para cada parâmetro. A escala de dor RGS foi determinada pela média aritmética destes valores.

Figura 5- Representação esquemática e ilustrativa do aparato transparente utilizado para a execução do teste de escala de dor RGS.



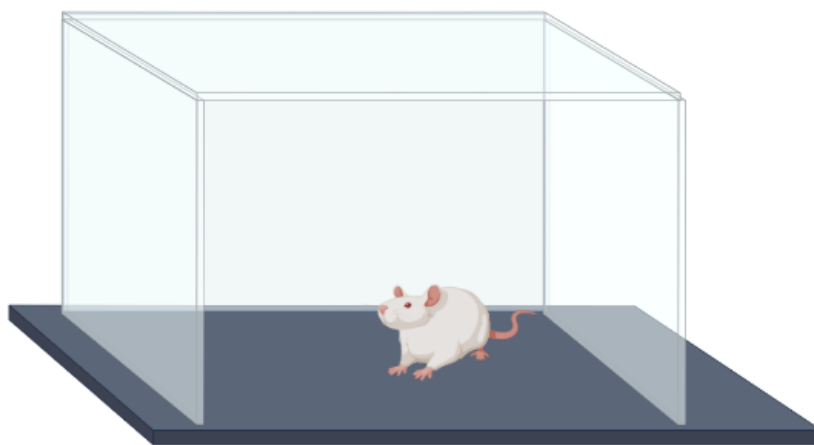
Fonte: da autora.

Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

4.5.2 Campo Aberto

A avaliação deste teste permite-nos verificar a atividade locomotora em roedores. Os animais foram colocados individualmente no centro de uma arena cúbica de acrílico, de fundo preto, (60 cm x 60 cm), e filmados por 20 ou 5 minutos para posterior análise. Em seguida, o aparato foi limpo com solução de etanol a 5%, e a análise do vídeo gravado foi realizada automaticamente pelo software Ethovision XT versão 9.0 (WILCONSON *et al.*, 2007; TOYAMA, 2012).

Figura 6- Representação esquemática e ilustrativa da arena de acrílico utilizada para a execução do teste do Campo Aberto.



Fonte: da autora.

Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

4.5.3 Nado Forçado

Este teste é usado para verificar sintomas semelhantes à depressão em roedores. Para a realização do teste, utilizamos um aparato cilíndrico transparente de 24 cm de diâmetro por 50 cm de altura, contendo 35 cm de água a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ (PADOVAN; GUIMARÃES 2004). O volume de água permite ao animal nadar ou boiar sem encostar as patas ou a cauda no fundo do aparato. O animal foi colocado para nadar por um período de 15 minutos no dia anterior ao teste (pré teste - “treino”), e no dia do teste, foi filmado por 5 minutos para posterior avaliação. A avaliação levou em conta os seguintes parâmetros: 1) *floating* (tempo que o animal flutua, sem apresentar movimentos); 2) *swimming* (quando o animal se movimenta e realiza rotações no aparato) e 3) *climbing* (onde se observa tentativas de escape do aparato, escalando suas paredes) (PORSOLT *et al.*, 1977).

Figura 7- Representação esquemática e ilustrativa da arena de acrílico utilizada para a execução do teste do Nado Forçado.



Fonte: da autora.

Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

4.5.4 HTR - Resposta de torção da cabeça

O HTR (do inglês, head-twitch response) é um rápido movimento rotacional da cabeça, que ocorre em ratos e camundongos após a administração de substâncias alucinógenas serotoninérgicas, e outros compostos agonistas de receptores 5-HT_{2A}. Por esse motivo, é um teste amplamente utilizado para avaliar a ativação destes receptores. Segundo o protocolo mais comumente usado, sugerido por Canal e Morgan (2012), o número de comportamentos de torção da cabeça é obtido através da contagem de HTR, observando-se o animal após administração das drogas, por um determinado período de tempo. Este dado pode ser obtido em tempo real ou através de filmagens, por análise (contagem de HTRs) de observadores treinados. Para este estudo, o período de tempo em que o teste ocorreu foi de 20 minutos após a administração das substâncias, e o comportamento dos animais foi gravado para posterior análise.

Figura 8- Representação esquemática e ilustrativa do movimento de torção da cabeça avaliado pelo teste de HTR



Fonte: KLEIN e colaboradores, 2020.

4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Parte 1- Para a caracterização de um modelo experimental para o estudo de Transtornos Depressivos, desencadeados pela encefalopatia associada à sepse, animais *naive*, após 7 dias de ambientação no biotério de machos do laboratório de Neuromodulação da UNIFAL-MG, foram submetidos à cirurgia CLP. Após 24, 48 e 72 horas foram submetidos ao teste de escala de dor RGS, para que pudéssemos excluir o viés da dor na avaliação dos resultados dos testes comportamentais subsequentes. 7, 14 e 21 dias após a cirurgia CLP, os animais foram então submetidos aos testes comportamentais de Campo Aberto e Nado Forçado. Logo após os testes comportamentais, todos os animais foram eutanasiados por excesso de anestésico inalatório isoflurano 4%, decapitados, e os tecidos e estruturas encefálicas foram coletados para posterior análise bioquímica.

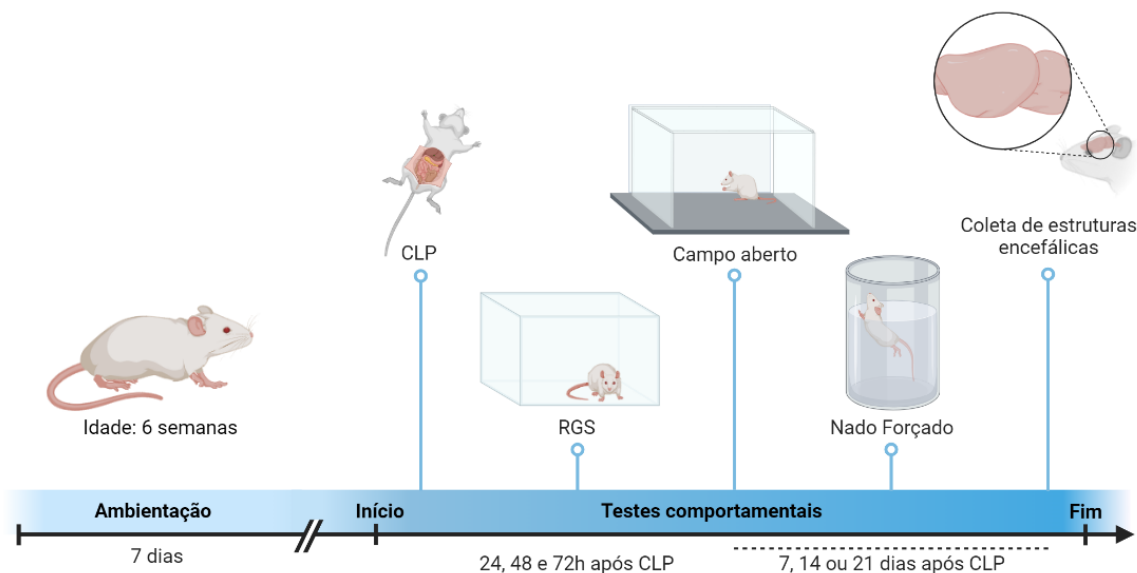
Parte 2- Para a determinação da curva dose-resposta das substâncias 25H-NBOMe e 25H-NBOH, animais *naive*, após 7 dias de ambientação no biotério de machos do laboratório de Neuromodulação da UNIFAL-MG foram submetidos aos testes de HTR, Campos aberto e Nado Forçado, nesta ordem, logo após administração por via intraperitoneal (i.p.) de a) 0,3 mg/kg, b) 1 mg/kg e, c) 3 mg/kg de NBOMe ou NBOH.

Parte 3- Para a avaliação da modulação psicodélica, o grupo experimental do modelo de estudo da Depressão escolhido foi o de 14 dias após a cirurgia CLP e, esse grupo (animais SHAM e CLP) recebeu tratamento com 25H-NBOMe 3 mg/kg

por via intraperitoneal (i.p.). Logo após a administração da substância em questão (ou do veículo), os animais foram submetidos aos testes comportamentais de HTR, Campo Aberto e Nado Forçado. Imediatamente após os testes comportamentais, os animais foram eutanasiados por excesso de anestésico inalatório isoflurano 4%, decapitados, e os tecidos e estruturas encefálicas foram coletados para posterior análise bioquímica.

Parte 4- Para a análise das características psicoplastogênicas das substâncias psicodélicas 25H-NBOMe e 25H-NBOH e do efeito terapêutico sustentado das mesmas, animais *naïve*, após 7 dias de ambientação no biotério de machos do laboratório de Neuromodulação da UNIFAL-MG, foram submetidos aos testes de HTR, logo após administração por via intraperitoneal (i.p.) de a) 0,3 mg/kg, b) 1 mg/kg e, c) 3 mg/kg de NBOMe ou NBOH, foram avaliados imediatamente após a administração, e também 2, 4, 6 e 24 horas depois. Além disso, estes mesmos animais passaram pelos testes do Campo aberto e do Nado forçado 7 dias após a administração única e, logo em seguida, foram eutanasiados por excesso de anestésico inalatório isoflurano 4%, decapitados, e os encéfalos foram coletados para posterior análise morfológica pela técnica de Golgi.

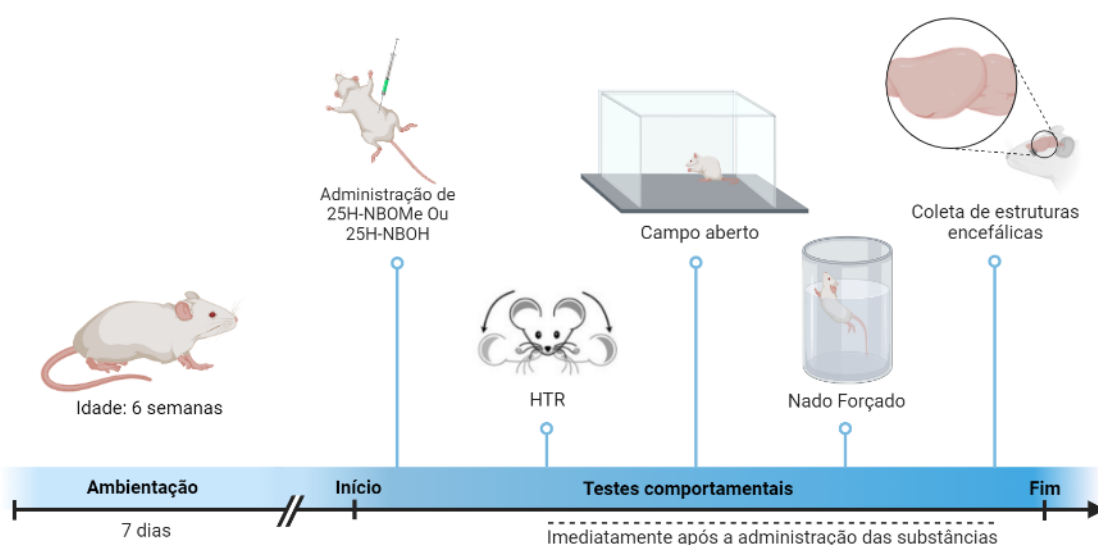
Figura 9- Representação esquemática e ilustrativa da **parte 1** do delineamento experimental deste trabalho: Caracterização do modelo experimental para o estudo de Transtornos Depressivos



Fonte: da autora.

Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

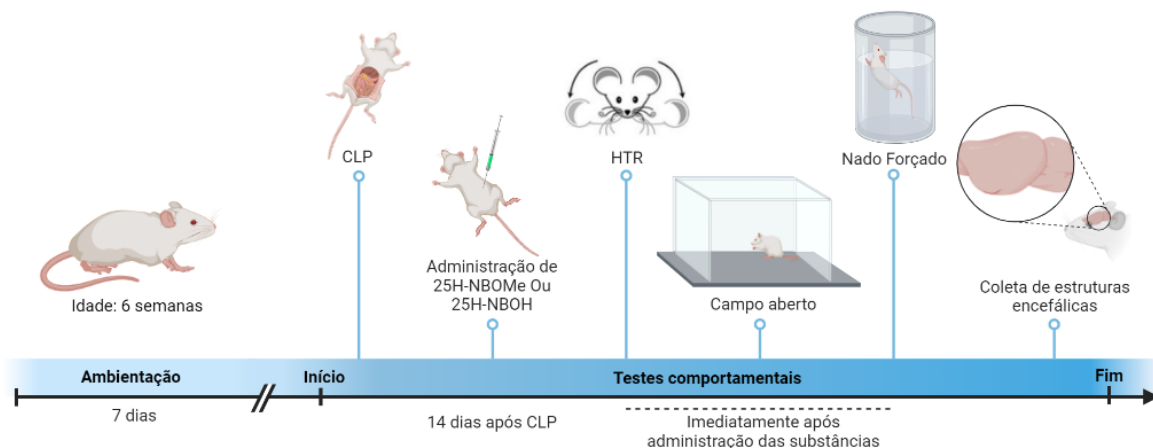
Figura 10- Representação esquemática e ilustrativa da **parte 2** do delineamento experimental deste trabalho: Determinação da curva dose-resposta de 25H-NBOMe e 25H-NBOH



Fonte: da autora.

Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

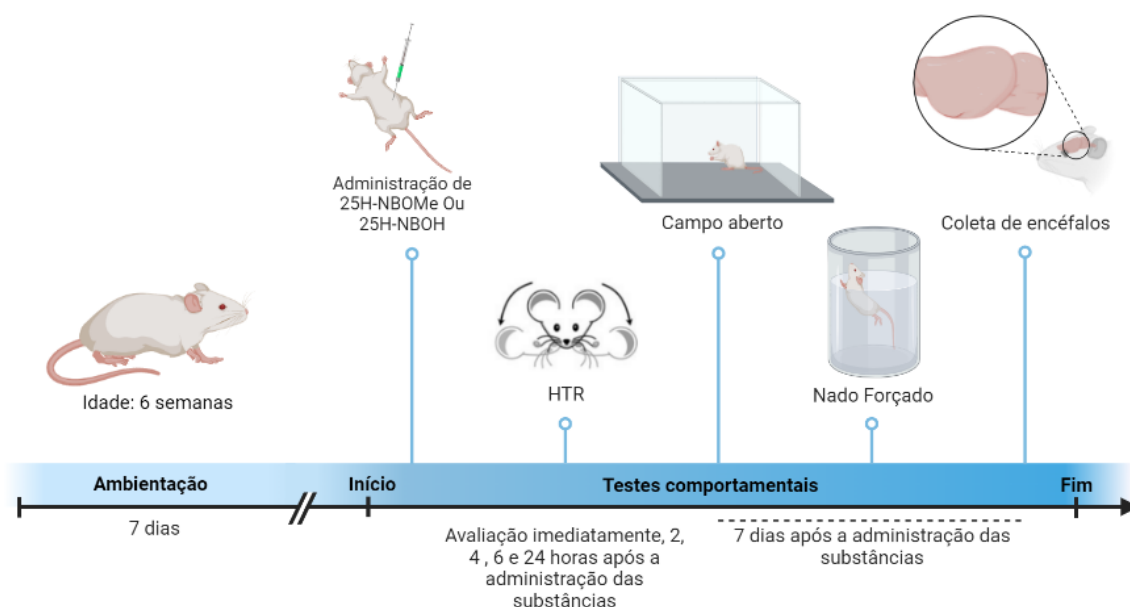
Figura 11- Representação esquemática e ilustrativa da **parte 3** do delineamento experimental deste trabalho: Avaliação da modulação psicodélica de 25H-NBOMe e de 25H-NBOH



Fonte: da autora.

Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

Figura 12- Representação esquemática e ilustrativa da **parte 4** do delineamento experimental deste trabalho: Análise psicoplastogênica de 25H-NBOMe e de 25H-NBOH



Fonte: da autora.

Nota: Desenvolvido a partir do banco de ícones e imagens ilustrativas do software BioRender.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados utilizando-se o programa do software GraphPad versão 8.0 e expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para a avaliação dos parâmetros comportamentais foi utilizado o teste *t-student* e, para a comparação dos efeitos do tratamento (i.p. com 25H-NBOMe ou 25H-NBOH ou veículo) foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de duas vias (2 way), seguida pelo pós-teste de Tukey.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DE UM MODELO EXPERIMENTAL PARA O ESTUDO DE TRANSTORNOS DEPRESSIVOS

A primeira parte deste trabalho, como descrito acima, previa a caracterização de um modelo de indução do comportamento tipo depressivo em roedores, de origem inflamatória. Para tanto, foi escolhida a técnica cirúrgica CLP, que mimetiza um quadro de sepse experimental e, como na clínica médica, promove a indução de comportamentos semelhantes à depressão em decorrência de uma encefalopatia ocasionada pela sepse.

Nesse sentido, para que o modelo pudesse ser caracterizado, os animais deste experimento foram divididos, primeiramente, em 3 grupos: 1) Sepse experimental 7 dias, 2) Sepse experimental 14 dias e, 3) Sepse Experimental 21 dias, sendo que a contagem dos dias (7, 14 e 21) diz respeito à quantidade de dias que se passaram após a cirurgia CLP/SHAM. Cada um destes grupos foi, ainda, subdividido em a) animais que passaram pela cirurgia CLP e pela sepse experimental (grupo CLP) e, b) animais que passaram pela cirurgia CLP mas que não passaram pela sepse experimental (grupo SHAM).

Dessa forma, todos os animais do estudo foram submetidos aos seguintes testes comportamentais: O teste de escala de dor RGS (do inglês, "Rat Grimace Scale"), para a avaliação do índice de dor dos animais pós cirurgia, o teste do Nado Forçado (NF), para a avaliação do comportamento anedônico destes mesmos animais, e, por fim, o teste do Campo Aberto (CA), para a avaliação da atividade locomotora. Ao final do último teste comportamental, os animais foram imediatamente levados à sala de cirurgia e eutanasiados por excesso de anestésico inflamatório para que pudessem ser decapitados e os seus encéfalos retirados do crânio para dissecação. As regiões do córtex pré-frontal foram dissecadas e armazenadas a -80°C para posterior processamento e análise pela técnica do *Western Blotting*.

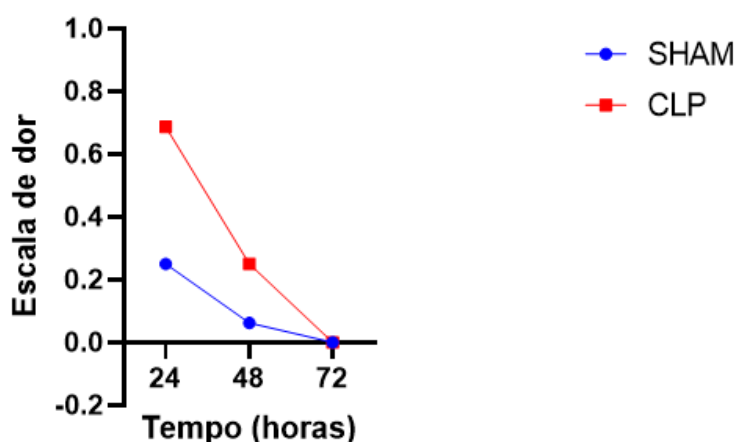
5.1.1 Escala de dor RGS

Durante o teste, os animais foram transferidos para um aparato transparente

e observados durante 10 minutos, para avaliação dos seguintes parâmetros: 1) Aperto dos olhos, 2) Protuberância do focinho e das bochechas, 3) Posicionamento das orelhas, e 4) Alteração nas vibrissas (Adaptado de Sotocina *et.al.*, 2011) .

O teste foi realizado 24, 48 e 72 horas após o procedimento cirúrgico CLP e podemos verificar, pelo gráfico 1, que embora ambos os grupos tenham apresentado expressões preditivas de dor 24 horas após a cirurgia, os animais do grupo CLP obtiveram uma pontuação na escala RGS maior do que os animais do grupo SHAM, ainda que não haja diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$). Observamos também que 48 horas após a cirurgia, essa pontuação caiu pela metade, proporcionalmente, em ambos os grupos, e que 72 horas após, os animais já não sentem dor oriunda do procedimento cirúrgico.

Gráfico 1- Escala de dor RGS entre os animais do grupo SHAM e animais do grupo CLP.



Fonte: da autora.

Legenda: Escala de dor RGS frente a dor pós-operatória do procedimento CLP, 24, 48 e 72 horas após a cirurgia, entre os animais do grupo SHAM e animais do grupo CLP; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey, demonstrando não haver interação entre os fatores.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

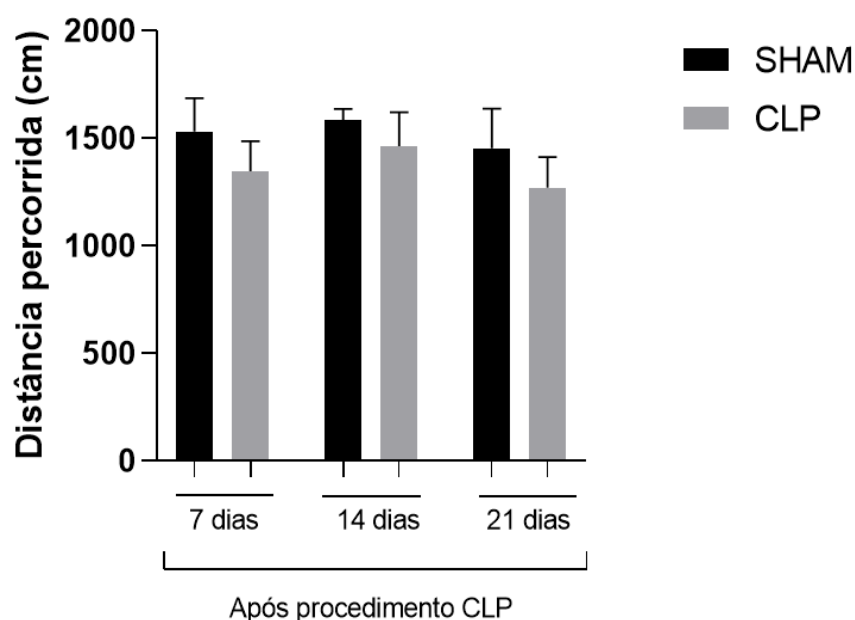
5.1.2 Teste do Campo Aberto

Todos os animais, após serem avaliados pelo teste de escala de dor RGS, demonstrando não sentir mais dor abdominal pós-operatória, foram avaliados quanto

a sua atividade locomotora 7, 14 ou 21 dias após cirurgia CLP. Para isso, foram submetidos ao teste do Campo Aberto e, durante 20 minutos, o seu comportamento foi gravado para posterior análise automática dos parâmetros 1) Distância percorrida (em centímetros) e, 2) Velocidade média (em centímetros por segundo).

Como pode ser observado no gráfico 2, não identificamos diferenças significativas entre os animais dos grupos SHAM e CLP, quanto à sua atividade locomotora, em nenhum dos momentos avaliados após a cirurgia CLP: 7, 14 ou 21 dias ($p > 0,05$).

Gráfico 2- Teste do Campo Aberto 7, 14 e 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental



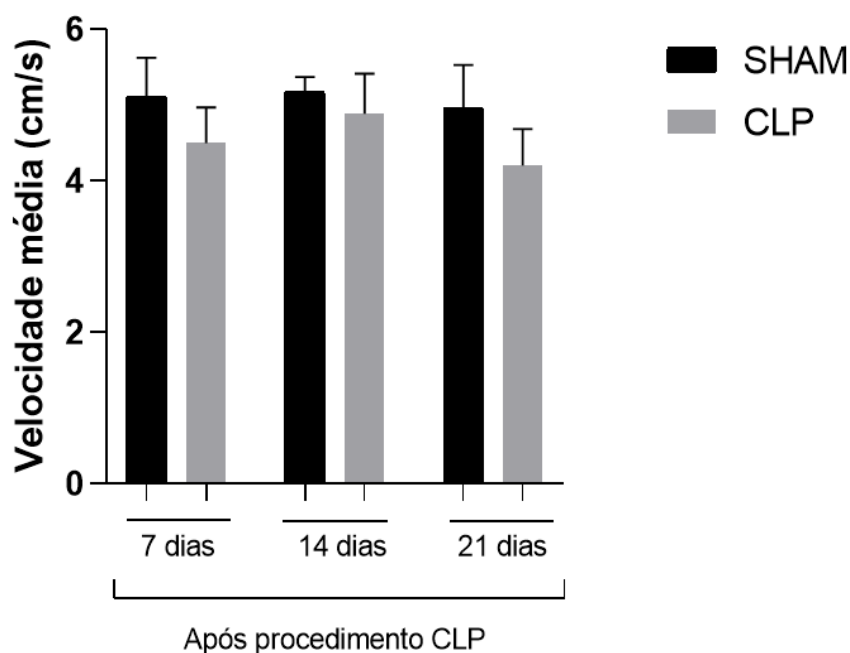
Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Campo Aberto 7, 14 e 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP), entre os animais do grupo SHAM e animais do grupo CLP realizado para a avaliação do parâmetro "Distância percorrida". n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

O mesmo se repete quando a velocidade média da atividade locomotora dos animais foi aferida pelo teste do campo aberto. Não observamos diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$).

Gráfico 3- Teste do Campo Aberto 7, 14 e 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse



Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Campo Aberto 7, 14 e 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP), entre os animais do grupo SHAM e animais do grupo CLP realizado para a avaliação do parâmetro "Velocidade média". n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

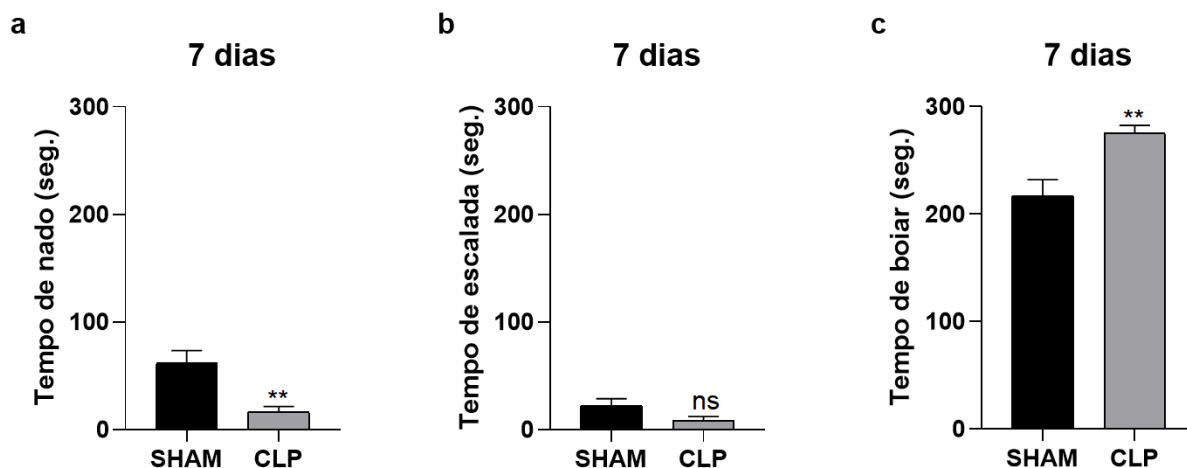
5.1.3 Teste do Nado Forçado

Após serem avaliadas as atividades locomotoras dos animais pelo teste do CA, os mesmos foram avaliados quanto ao seu comportamento anedônico 7, 14 ou 21 dias após cirurgia CLP. O comportamento anedônico é preditivo de um comportamento do tipo depressivo, e pode ser avaliado em roedores através do teste do Nado Forçado, a partir dos seguintes parâmetros: 1) tempo de nado (em segundos), 2) tempo de escalada (em segundos) e, 3) tempo de boiar (em segundos).

Como pode ser observado no gráfico 4, 7 dias após a cirurgia CLP os animais do grupo CLP boiaram significativamente mais do que os animais do grupo SHAM ($p < 0,01$). Conseqüentemente, os animais CLP nadaram menos do que o grupo controle (SHAM) e, com relação ao tempo de escalada, não observamos diferenças

significativas ($p > 0,05$).

Gráfico 4- Teste do Nado forçado 7 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental



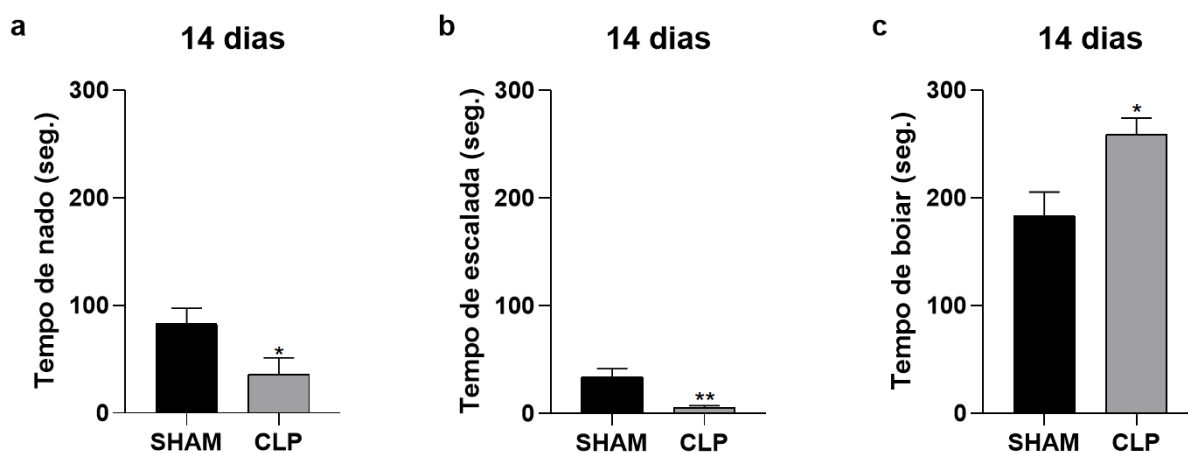
Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Nado forçado 7 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental; $n=8$ animais por grupo; **a)** tempo de nado em segundos, **b)** tempo de escalada em segundos, **c)** tempo de boiar em segundos; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste t-student; "ns" indica valores não estatisticamente significativos ($p > 0,05$); ** indica significância estatística ($p < 0,01$).

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

No gráfico 5, vemos que o mesmo se repete com os animais 14 dias após a cirurgia CLP. Os animais do grupo CLP boiaram significativamente mais tempo do que os animais do grupo SHAM ($p < 0,05$) e, conseqüentemente, nadaram menos. No entanto, com relação ao tempo de escalada, tivemos uma diferença significativa entre os grupos SHAM e CLP ($p < 0,01$), o que não aconteceu com os animais analisados 7 dias após CLP.

Gráfico 5- Teste do Nado forçado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental



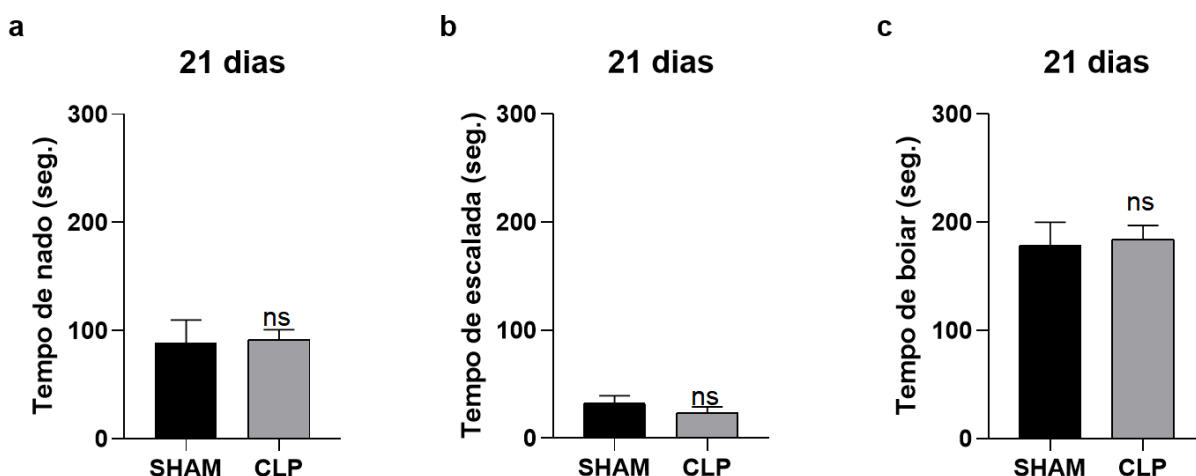
Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Nado forçado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental; n=8 animais por grupo; **a)** tempo de nado em segundos, **b)** tempo de escalada em segundos, **c)** tempo de boiar em segundos; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste t-student; * indica significância estatística ($p < 0,05$); ** indica significância estatística ($p < 0,01$).

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

Quando os animais foram avaliados 21 dias depois de terem passado pelo procedimento cirúrgico CLP, observamos que ambos os grupos, quando comparados entre si, comportaram-se de maneira semelhante, não havendo diferença estatística entre eles, como pode ser observado no gráfico 6 ($p > 0,05$).

Gráfico 6- Teste do Nado forçado 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental.



Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Nado forçado 21 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental; n=8 animais por grupo; **a)** tempo de nado em segundos, **b)** tempo de escalada em segundos, **c)** tempo de boiar em segundos; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste t-student; "ns" indica valores não estatisticamente significativos ($p > 0,05$).

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

5.2 DETERMINAÇÃO DA CURVA DOSE-RESPOSTA DAS SUBSTÂNCIAS 25H-NBOME E 25H-NBOH

Para que pudéssemos testar as substâncias escolhidas para este trabalho, no estudo do nosso modelo de indução do comportamento do tipo depressivo em roedores, precisávamos, em primeiro lugar, determinar uma dose que fosse adequada. Para isso, obtivemos uma curva dose-resposta de 25H-NBOME e 25H-NBOH, de forma que pudéssemos escolher a menor dose com efeito terapêutico estatisticamente aparente.

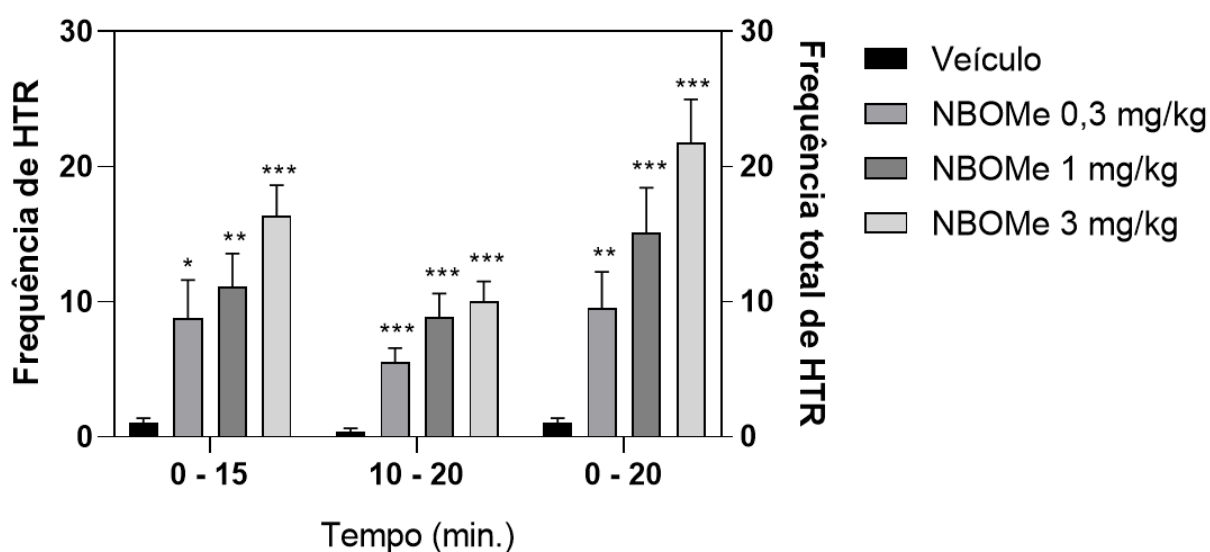
Nesse sentido, avaliamos a sua capacidade de ativação dos receptores 5-HT_{2A} e consequente propriedade alucinógena, através do teste de HTR, a sua capacidade de modular o comportamento do tipo depressivo em ratos, através do teste de nado forçado, e a capacidade destas substâncias em modular a atividade locomotora dos animais, pelo teste do campo aberto.

5.2.1 Teste de torção da cabeça (HTR)

A frequência de HTR (do inglês, *head-twitch response*) avaliada no experimento pode ser vista nos gráficos 7 e 8. Eles demonstram que existem diferenças estatísticas significativas no comportamento dos ratos sob o efeito das substâncias, quando comparadas com o grupo controle. Observamos estas diferenças nas doses de 0,3 mg/kg ($p < 0,05$), 1 mg/kg ($p < 0,01$) e 3 mg/kg ($p < 0,001$) de 25H-NBOMe, e, nas doses de 1 mg/kg ($p < 0,05$) e 3 mg/kg ($p < 0,001$) para o efeito de 25H-NBOH.

Além disso, este comportamento demonstrou ser dose-dependente e crescente no período de 0 a 20 minutos.

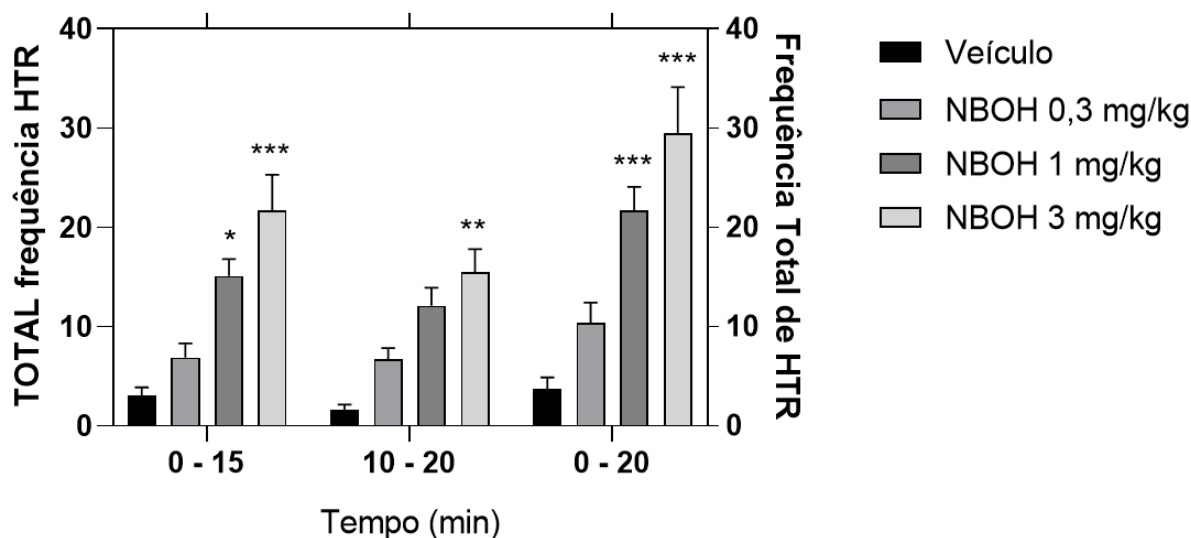
Gráfico 7- Teste de HTR executado imediatamente após a administração de 25H-NBOMe



Fonte: da autora.

Legenda: Teste de HTR executado imediatamente após a administração de 25H-NBOMe em animais *naive* nas doses de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$); ** indica significância estatística ($p < 0,01$); *** indica significância estatística ($p < 0,001$).

Gráfico 8- Teste de HTR executado imediatamente após a administração de 25H-NBOH



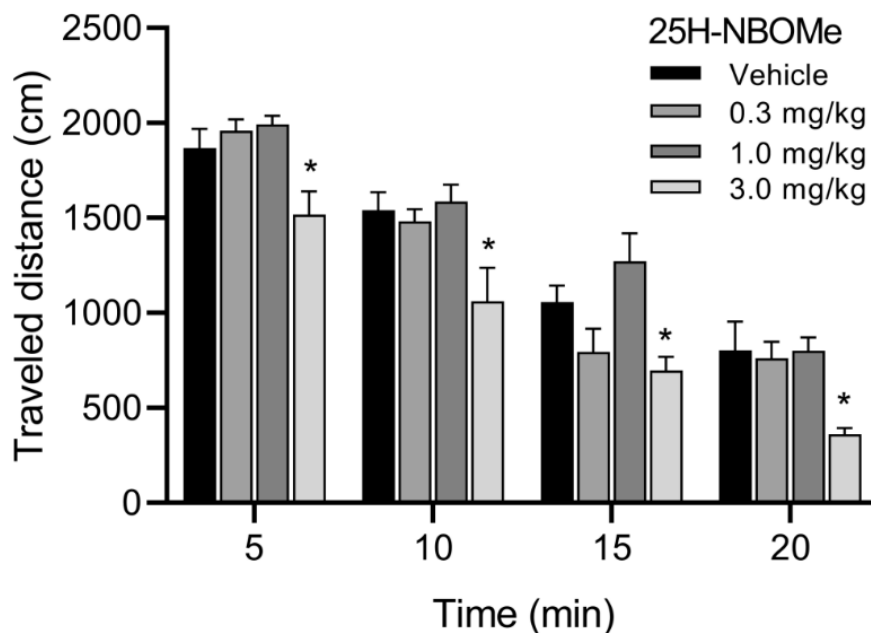
Fonte: da autora.

Legenda: Teste de HTR executado imediatamente após a administração de 25H-NBOH em animais naive nas doses de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$); ** indica significância estatística ($p < 0,01$); *** indica significância estatística ($p < 0,001$).

5.2.2 Teste do Campo Aberto

Com relação à atividade locomotora dos animais sob efeito 25H-NBOMe, o gráfico 9 mostra os resultados do teste do campo aberto. Como se pode observar, nos primeiros 5 minutos de análise já é evidenciada uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos e os animais sob efeito da dose 3 mg/kg percorrem menores distâncias ($p < 0,05$). Um perfil que se mantém aos 10, 15 e 20 minutos do experimento.

Gráfico 9- Teste do Campo Aberto sob efeito da 25H-NBOMe



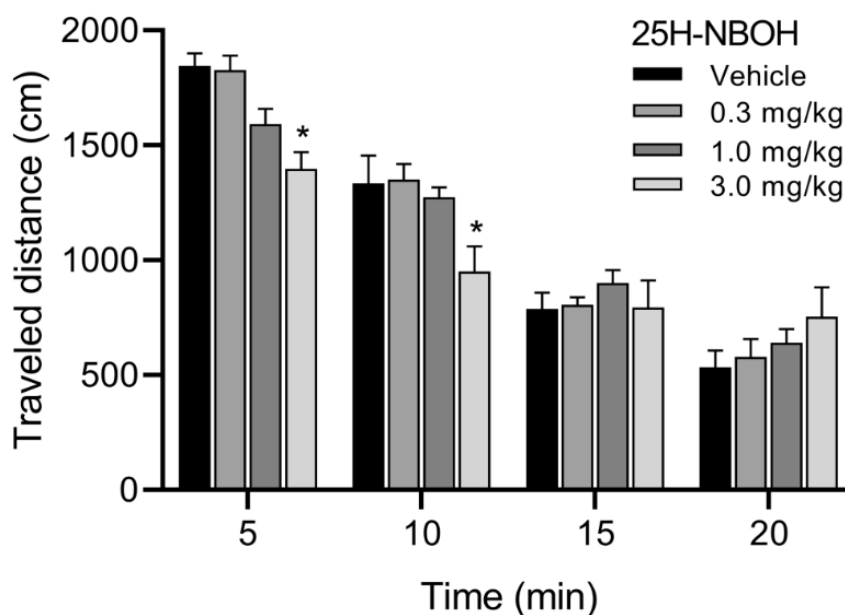
Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Campo Aberto executado após a administração de 25H-NBOMe em animais naive nas doses de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$).

Nota: o gráfico acima foi extraído do artigo em processo de escrita e análise para ser submetido à revista Life Sciences.

Quando olhamos para a substância 25H-NBOH (gráfico 10), no entanto, observamos uma diferença significativa na velocidade dos animais sob o efeito de 3 mg/kg da substância apenas nos 5 ($p < 0,05$) e 10 ($p < 0,05$) minutos iniciais do experimento, mas, a partir dos 15 minutos estes animais voltam a se locomover de maneira semelhante aos animais dos outros grupos, demonstrando tendências de, a partir do tempo 20 minutos, locomover-se ainda mais, quando comparados ao veículo e às doses menores.

Gráfico 10- Teste do Campo Aberto sob efeito da 25H-NBOH



Fonte: da autora.

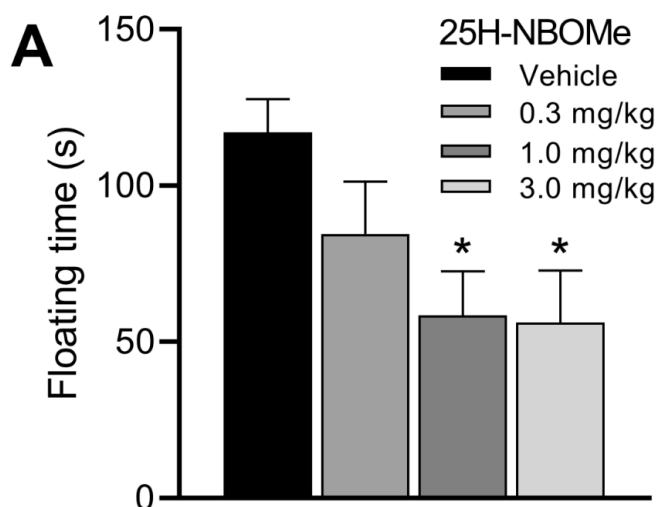
Legenda: Teste do Campo Aberto executado após a administração de 25H-NBOH em animais naive nas doses de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$).

Nota: o gráfico acima foi extraído do artigo em processo de escrita e análise para ser submetido à revista Life Sciences.

5.2.3 Teste do Nado Forçado

No gráfico 11 podemos observar os resultados do teste do nado forçado dos animais após administração de 25H-NBOMe, demonstrando que os animais sob o efeito de 1 mg/kg e 3 mg/kg reduzem significativamente a imobilidade no teste do NF. Estes animais ficaram mais motivados a escapar da situação estressante do aparato cheio de água, quando comparados aos animais tratados com veículo ($p < 0,05$).

Gráfico 11- Teste do Nado Forçado sob efeito da 25H-NBOMe



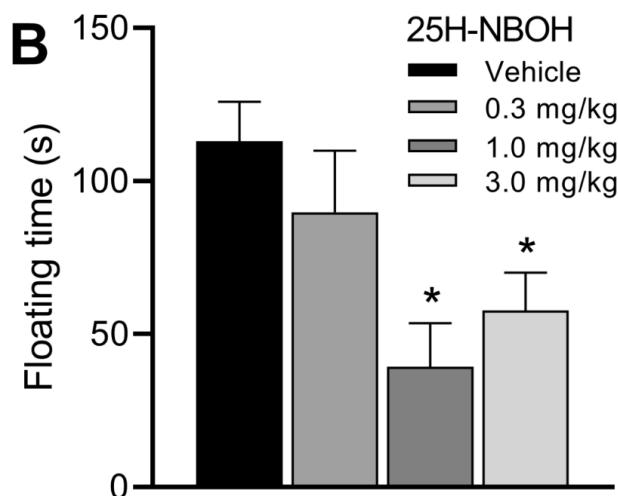
Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Nado Forçado executado após a administração de 25H-NBOMe em animais *naive* nas doses de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg para a avaliação do tempo de imobilidade em segundos (*Floating time*) dos animais submetidos ao teste; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$).

Nota: o gráfico acima foi extraído do artigo em processo de escrita e análise para ser submetido à revista Life Sciences.

Os resultados da administração de 25H-NBOH no teste do nado forçado, mostrados no gráfico 12, demonstram que esta substância também foi capaz de induzir efeito positivo na mobilidade dos animais nas doses de 1 mg/kg ($p < 0,05$) e 3 mg/kg ($p < 0,05$), mas, diferentemente do perfil da 25H-NBOMe, os animais boiaram menos sob efeito da dose média (1 mg/kg), quando comparados aos animais sob as doses de 0,3 mg/kg de 25H-NBOH e de veículo, mas voltam a boiar mais quando sob efeito de 3 mg/kg, embora essa dose ainda exerça efeito quando comparada ao veículo ($p < 0,05$).

Gráfico 12- Teste do Nado Forçado sob efeito da 25H-NBOH



Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Nado Forçado executado após a administração de 25H-NBOH em animais *naive* nas doses de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg para a avaliação do tempo de imobilidade em segundos (*Floating time*) dos animais submetidos ao teste; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$).

Nota: o gráfico acima foi extraído do artigo em processo de escrita e análise para ser submetido à revista Life Sciences.

5.3 MODULAÇÃO PSICODÉLICA DE 25H-NBOME SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO DE ANIMAIS SOBREVIVENTES À SEPSE EXPERIMENTAL 14 DIAS APÓS CIRURGIA CLP

Ao final dos experimentos para a determinação da dose mais adequada das substâncias psicodélicas em questão, testamos as propriedades do tipo antidepressivas da substância psicodélica escolhida sobre o modelo de sepsse experimental.

Dentre os grupos de animais testados, o modelo escolhido para este estudo foi o de 14 dias após sepsse experimental (cirurgia CLP), e, dentre as substâncias e doses avaliadas, optamos por 3 mg/kg da substância 25H-NBOME.

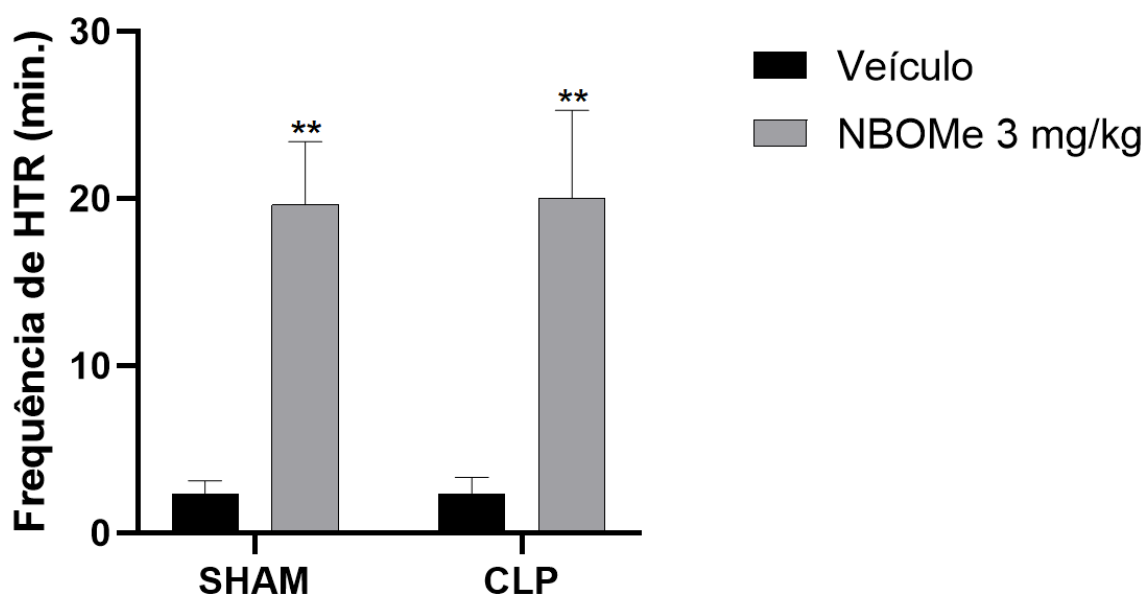
Para tanto, os testes comportamentais realizados foram os mesmos utilizados na caracterização do modelo experimental de estudo da depressão e na determinação da dose das substâncias psicodélicas. Além disso, foi realizado o teste

de Western Blotting com as estruturas encefálicas coletadas destes grupos de animais, para a determinação da concentração das proteínas GFAP, PSD-95 e sinaptofisina.

5.3.1 Teste de torção da cabeça (HTR)

O gráfico 13 demonstra a capacidade da substância 25H-NBOMe, em aumentar a frequência de HTR, mesmo após a cirurgia CLP. Observamos diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,01$) entre os tratamentos (veículo ou 25H-NBOMe), mas não entre os grupos SHAM e CLP ($p > 0,05$).

Gráfico 13- Teste de HTR realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e imediatamente após a administração de 25H-NBOMe



Fonte: da autora.

Legenda: Teste de torção da cabeça (HTR) realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e, imediatamente após a administração de 25H-NBOMe ou veículo; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste two-way ANOVA, seguido de pós teste de Tukey; ** indica significância estatística ($p < 0,01$).

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

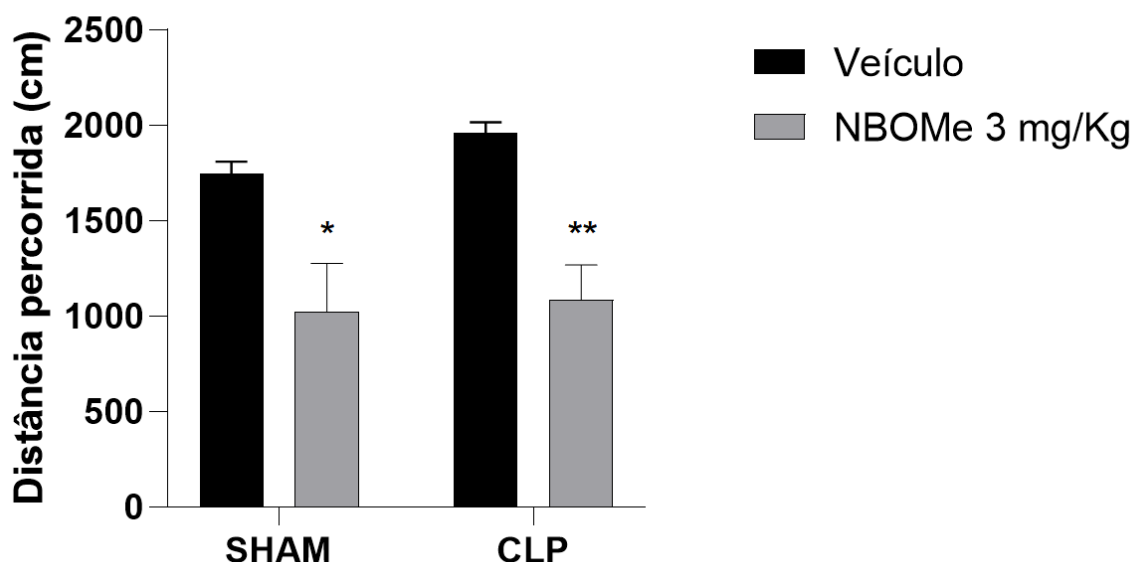
5.3.2 Teste do campo aberto

Logo após o teste de HTR, os animais foram submetidos ao teste de campo

aberto, para que a sua atividade locomotora fosse avaliada, da mesma forma que os animais *naive* foram avaliados, frente aos efeitos das substâncias administradas.

Podemos observar no gráfico 14 que, no parâmetro Distância percorrida (em centímetros), os animais submetidos ao tratamento de 25H-NBOMe se locomoveram menos do que os animais tratados com o veículo. E essa característica se deu para ambos os grupos experimentais sob o efeito da substância: SHAM ($p < 0,05$) e CLP ($p < 0,01$). No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos SHAM e CLP tratados com veículo, quando comparados entre si ($p > 0,05$).

Gráfico 14- Teste do Campo Aberto realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP)



Fonte: da autora.

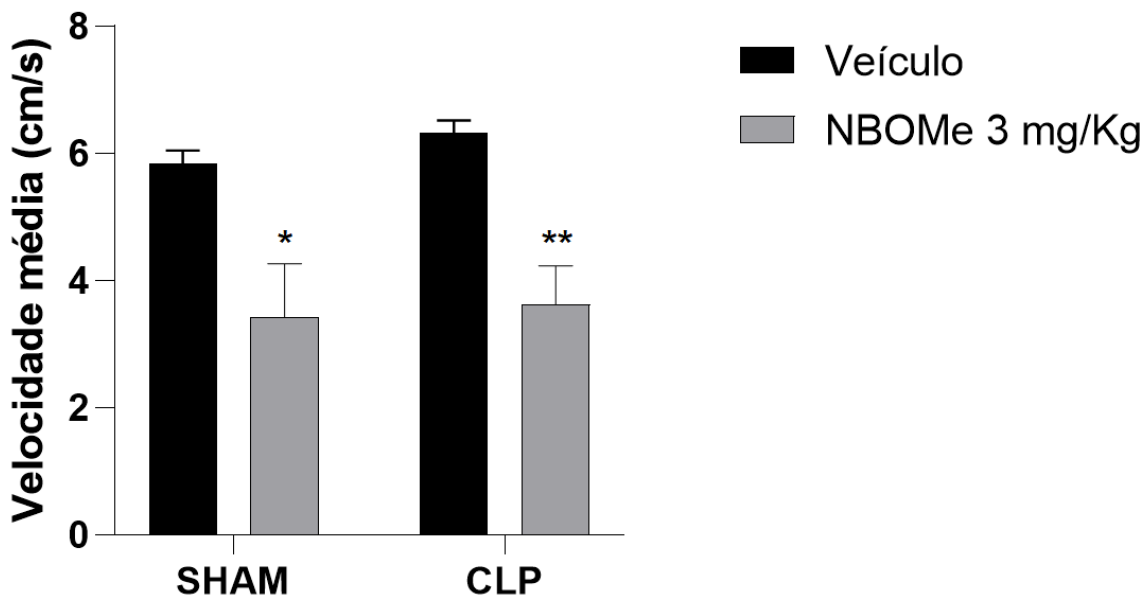
Legenda: Teste do Campo Aberto realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e tratamento agudo com veículo ou 25H-NBOMe, entre os animais do grupo SHAM e animais do grupo CLP, realizado para a avaliação do parâmetro "Distância Percorrida"; $n=8$ animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste two-way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$); ** indica significância estatística ($p < 0,01$).

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

O mesmo acontece quando a velocidade média com que esses animais se locomoveram durante o teste foi aferida. O gráfico 15 demonstra que os animais submetidos ao tratamento de 25H-NBOMe se locomoveram com menor velocidade do que os animais tratados com o veículo. E essa característica se deu em ambos

os grupos experimentais: SHAM ($p < 0,05$) e CLP ($p < 0,01$), e, da mesma forma, não houve diferença significativa entre os grupos SHAM e CLP quando comparados entre si ($p > 0,05$).

Gráfico 15- Teste do Campo Aberto realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP)



Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Campo Aberto realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e tratamento agudo com veículo 1mg/kg ou 25H-NBOMe 3mg/kg, entre os animais do grupo SHAM e animais do grupo CLP, realizado para a avaliação do parâmetro "Velocidade Média". Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste two-way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$); ** indica significância estatística ($p < 0,01$).

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

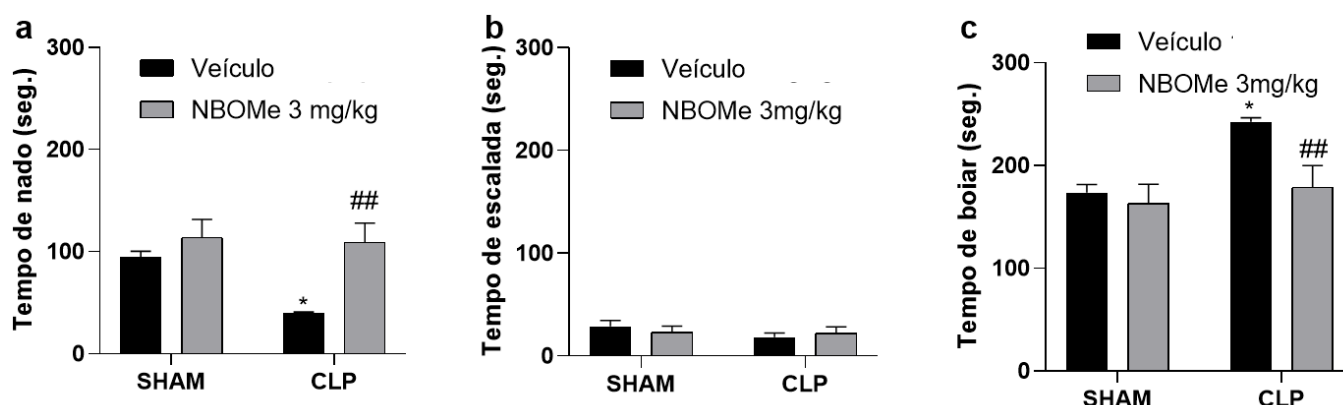
5.3.3 Teste do Nado Forçado

Logo após a realização do teste do campo aberto, os animais foram submetidos ao teste do Nado forçado, para que pudesse ser avaliada a capacidade da substância 25H-NBOMe em reverter o quadro anedônico de animais 14 dias depois de terem passado pelo procedimento cirúrgico CLP.

O gráfico 16 demonstra que os animais do grupo CLP, após submetidos a administração da substância psicodélica, nadaram mais ($p < 0,01$), e boiaram menos

($p < 0,01$), quando comparados ao mesmo grupo tratado com veículo.

Gráfico 16- Teste do Nado Forçado realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP).



Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Nado Forçado realizado 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e tratamento agudo com veículo 1mg/kg ou 25H-NBOMe 3mg/kg, entre os animais do grupo SHAM e animais do grupo CLP, realizado para a avaliação dos parâmetros **a)** tempo de nado, **b)** tempo de escalada, e, **c)** tempo de boiar; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$); ## indica significância estatística ($p < 0,01$) em decorrência do tratamento farmacológico.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

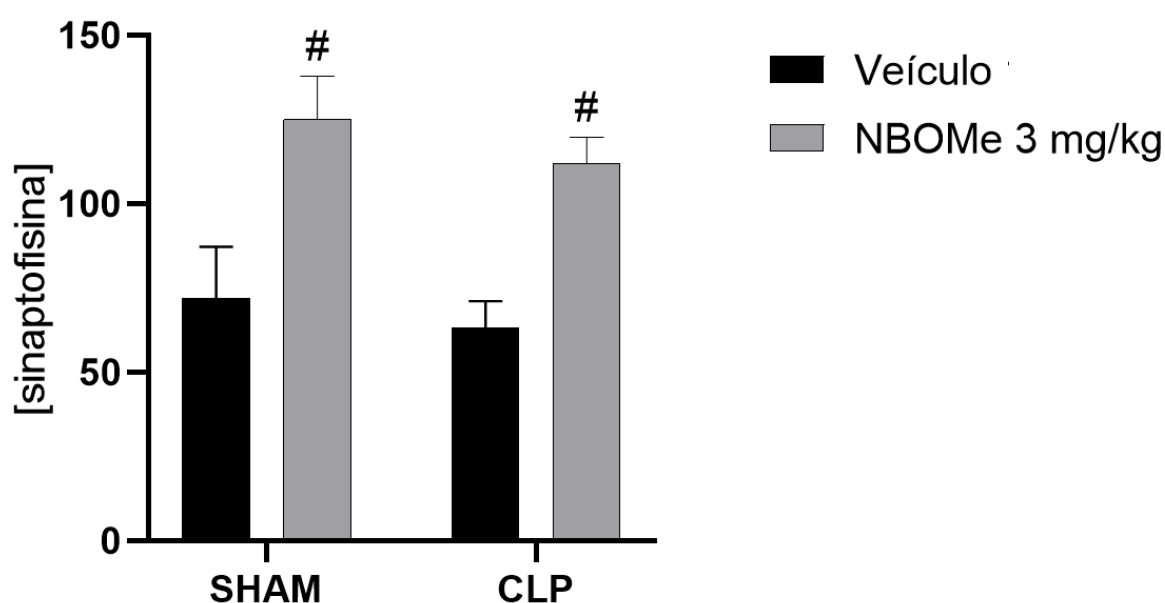
5.3.4 Dosagem de proteínas pela técnica de *Western Blotting*

Finalizados os testes comportamentais de HTR, CA e NF, nesta ordem, para que fosse analisada a capacidade de modulação psicodélica de 25H-NBOMe frente ao comportamento do tipo depressivo, todos os animais do experimento foram eutanasiados por excesso inalatório de anestésico e decapitados para que os seus encéfalos pudessem ser retirados do crânio e posteriormente dissecados. Após a dissecação, as regiões do córtex pré frontal e hipocampo foram armazenadas a -80°C para posterior processamento e análise pelo procedimento de Western Blotting.

A seguir, os gráficos representam os resultados da quantificação das proteínas GFAP, sinaptofisina e PSD-95 no córtex pré-frontal e no hipocampo dos animais desta parte do estudo.

O gráfico 17 representa a análise de variância na dosagem de sinaptofisina do córtex pré-frontal de animais dos grupos SHAM e CLP tratados com 3 mg/kg de 25H-NBOMe ou veículo, e demonstra que não há diferença significativa entre os grupos SHAM e CLP ($p > 0,05$) mas sim em ambos os grupos após o tratamento com a substância psicodélica ($p > 0,05$).

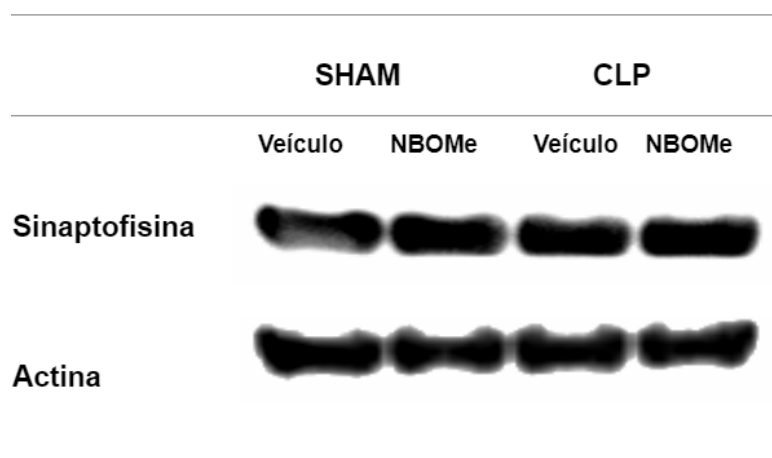
Gráfico 17- Dosagem de proteína sinaptofisina no CÓRTEX PRÉ-FRONTAL pela técnica de *Western Blotting* na região do córtex pré-frontal



Fonte: da autora.

Legenda: Dosagem de proteína sinaptofisina pela técnica de Western Blotting na região encefálica do córtex pré-frontal em animais dos grupos SHAM e CLP 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e tratamento agudo com veículo 1mg/kg ou 25H-NBOMe 3 mg/kg; n=4 amostras por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; # indica significância estatística ($p < 0,05$) em decorrência do tratamento farmacológico.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

Figura 13- Sinaptofisina pela técnica de *Western Blotting*.

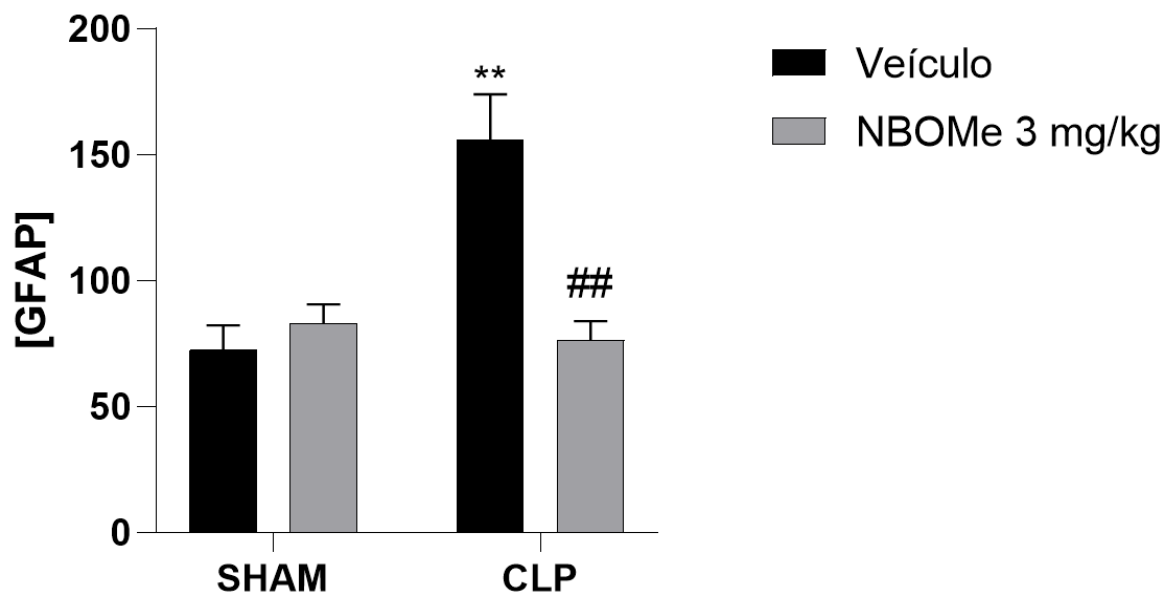
Fonte: da autora

Legenda: Representação das bandas da proteína sinaptofisina no córtex pré-frontal de animais dos grupos SHAM e CLP 14 dias após procedimento cirúrgico e tratados com veículo 1 mg/kg ou NBOMe 3 mg/kg, reveladas através da técnica de Western Blotting.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

O gráfico 18 representa a análise da dosagem de GFAP no hipocampo de animais dos grupos SHAM e CLP tratados com 3 mg/kg de 25H-NBOMe ou veículo, e demonstra que há diferença significativa entre os grupos tratados com veículo e com a substância psicodélica. Enquanto a expressão de GFAP se mostrou aumentada no grupo de animais CLP tratados com veículo ($p < 0,05$), encontramos o perfil oposto no tratamento deste grupo de animais com a 25H-NBOMe, que demonstrou diminuir os níveis da expressão dessa proteína no hipocampo.

Gráfico 18- Dosagem de proteína GFAP no HIPOCAMPO pela técnica de *Western Blotting*

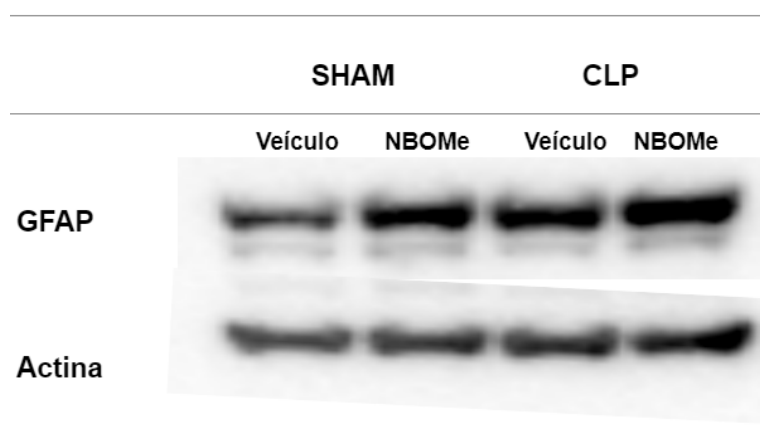


Fonte: da autora.

Legenda: Dosagem de proteína GFAP pela técnica de Western Blotting na região encefálica do hipocampo em animais dos grupos SHAM e CLP 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e tratamento agudo com veículo 1mg/kg ou 25H-NBOMe 3 mg/kg; n=6 amostras por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste two-way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; * indica significância estatística ($p < 0,05$); ## indica significância estatística ($p < 0,01$) em decorrência do tratamento farmacológico.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

Figura 14- GFAP no HIPOCAMPO pela técnica de *Western Blotting*.



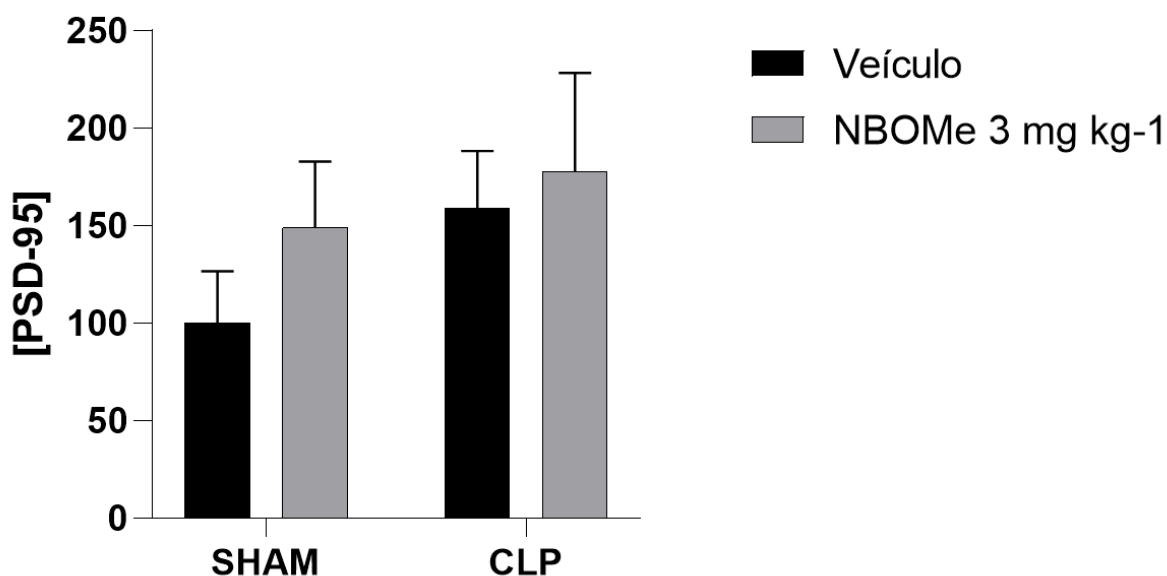
Fonte: da autora

Legenda: Representação das bandas da proteína GFAP no hipocampo de animais dos grupos SHAM e CLP 14 dias após procedimento cirúrgico e tratados com veículo 1 mg/kg ou NBOMe 3 mg/kg, reveladas através da técnica de Western Blotting.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

O gráfico 19 representa a análise da dosagem de PSD-95 no hipocampo de animais dos grupos SHAM e CLP tratados com 3 mg/kg de 25H-NBOMe ou veículo, e demonstra que não há diferença significativa entre os grupos, seja em decorrência da cirurgia CLP e consequente sepse experimental, seja em decorrência do tratamento com a substância psicodélica 25H-NBOMe. No entanto, os resultados demonstram a tendência da substância em aumentar os níveis desta proteína.

Gráfico 19- Dosagem de proteína PSD-95 no HIPOCAMPO pela técnica de *Western Blotting*

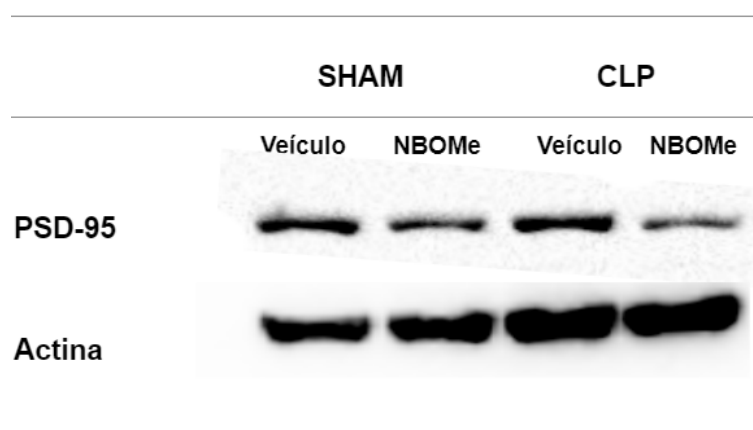


Legenda: Dosagem de proteína PSD-95 pela técnica de Western Blotting na região encefálica hipocampal em animais dos grupos SHAM e CLP 14 dias após procedimento cirúrgico de sepse experimental (CLP) e tratamento agudo com veículo 1mg/kg ou 25H-NBOMe 3 mg/kg; n=6 amostras por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste two-way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey.

Fonte: da autora.

Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

Figura 15 - PSD-95 no HIPOCAMPO pela técnica de *Western Blotting*.



Fonte: da autora

Legenda: Representação das bandas da proteína PSD-95 no hipocampo de animais dos grupos SHAM e CLP 14 dias após procedimento cirúrgico e tratados com veículo 1 mg/kg ou NBOMe 3 mg/kg, reveladas através da técnica de Western Blotting.

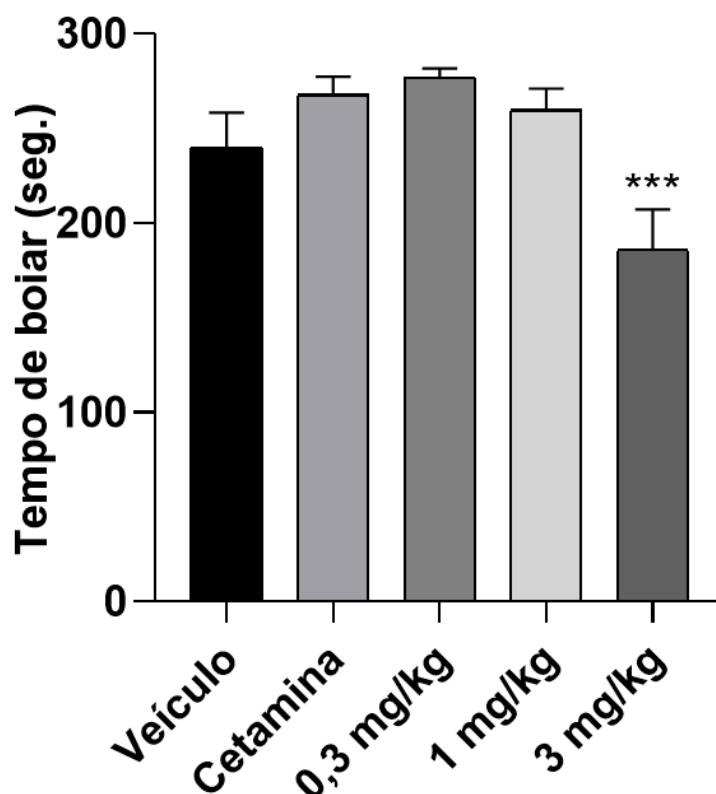
Nota: SHAM: grupo controle; CLP: grupo sepse experimental.

5.4 EFEITO SUSTENTADO DE 25H-NBOME SOBRE O COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO DE ROEDORES

Após constatados os efeitos agudos das substâncias 25H-NBOMe e 25H-NBOH, no que diz respeito às suas propriedades terapêuticas do tipo anti-depressivas, decidimos avaliar o seu efeito sustentado. Além disso, avaliamos o ganho de peso destes animais desde o dia 0, antes da administração das substâncias, até o dia dos testes, 7 dias após a aplicação.

A seguir, o gráfico 20 mostra o tempo de imobilidade de ratos machos naive, submetidos ao teste do NF 7 dias após a administração das substâncias, evidenciando a sua capacidade em “sustentar” a sua propriedade do tipo antidepressiva ($p < 0,001$).

Gráfico 20- Efeito sustentado de 25H-NBOMe no teste do Nado Forçado

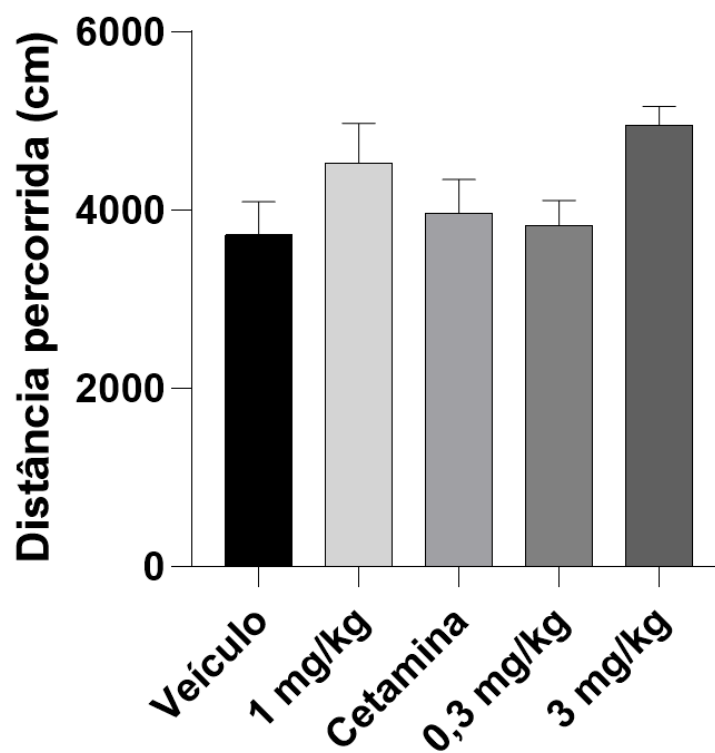


Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Nado Forçado executado 7 dias após a administração de veículo, cetamina 1,5 mg/kg ou 25H-NBOMe nas doses de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg, em animais *naive*, para a avaliação do tempo de imobilidade em segundos (*Floating time*) dos animais submetidos ao teste, em comparação aos animais sob efeito de veículo ou cetamina 1,5 mg/kg (controle positivo); n=8 animais por grupo; Os dados representam a média \pm E.P.M. e foram analisados utilizando o teste 2 way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey; *** indica significância estatística ($p < 0,001$).

O gráfico 21 demonstra que, durante a realização do teste de campo aberto, 7 dias após a administração de 25H-NBOMe, os animais se locomovem no aparato de maneira semelhante e não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Gráfico 21- Efeito sustentado de 25H-NBOMe no teste do Campo Aberto



Fonte: da autora.

Legenda: Teste do Campo aberto executado 7 dias após a administração de veículo, cetamina 1,5 mg/kg ou 25H-NBOMe nas doses de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg e 3 mg/kg, em animais *naive*, para a avaliação do parâmetro "Distância Percorrida"; n=8 animais por grupo; Os dados representam a média ± E.P.M. e foram analisados utilizando o teste two-way ANOVA, seguido pelo pós teste de Tukey.

6 DISCUSSÃO

6.1 SEPSE EXPERIMENTAL INDUZ O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO EM ROEDORES 7 E 14 DIAS APÓS CLP

A depressão é um transtorno psiquiátrico multifatorial e complexo, considerado fator de risco para diversas outras doenças. Os modelos experimentais com animais têm grande valor no estudo deste transtorno, pois a partir deles é possível a elucidação de mecanismos fisiológicos que podem estar envolvidos em sua origem (DORON *et al.*, 2015; DWIVED, *et al.*, 2017).

A sepse, caracterizada por uma inflamação sistêmica, é a resposta do sistema imunológico contra uma infecção e pode induzir respostas adaptativas no organismo, como o comportamento doentio em animais (BARICHELO, *et al.*, 2017; CASSOL, *et al.*, 2010).

Como já dito anteriormente, evidências demonstram que citocinas pró-inflamatórias presentes após a sepse, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, estão envolvidas no processo depressivo; Marcadores de proteína C reativa (PCR) e IFN- α também são encontrados em níveis aumentados em pacientes depressivos, além do aumento da neuroinflamação devido à elevação da ativação microglial durante o processo depressivo (BAUNE, 2017; BENROS, *et al.* 2016). As citocinas IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- α aumentam a resposta inflamatória e modificam a função dos receptores de glicocorticóides, exercendo diversos efeitos neurobiológicos, prejudicando a neuroplasticidade do hipocampo e elevando o estresse oxidativo (BAUNE, 2017). Devido a estas citocinas, então, o eixo HPA é estimulado elevando a secreção de glicocorticóides, prejudicando a neurotransmissão noradrenérgica e serotonérgica, podendo promover alterações comportamentais (CLEAREA; JURUENA; PARIANTEA, 2004).

Estas alterações de comportamento possuem aspectos semelhantes ao comportamento depressivo, que em contexto experimental, pode ser medido pelo aumento da imobilidade no teste do nado forçado (NF) (DANTZER, *et al.*, 2018).

Originalmente, o teste NF foi desenvolvido por Porsolt (1979) que, à luz da época, afirmava que este era mais do que um teste, um modelo de indução do comportamento do tipo depressivo, uma vez que é um teste que expõe os animais a uma condição inescapável similar ao modelo de desamparo aprendido, porém, mais

fácil de se reproduzir. Barrichello (2005) discorrendo sobre as palavras de Weiss e Kilts (1998) afirma que a indução do comportamento de desespero produz um largo aspecto comportamental afetando a cognição, o sono e o desempenho motor que se assemelham a muitos dos sintomas de depressão.

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que, 7 e 14 dias após a cirurgia CLP, os animais submetidos ao protocolo de sepse experimental (grupo CLP) boiaram significativamente mais do que os animais do grupo controle (grupo SHAM) no teste do NF, apresentando um aumento na imobilidade, um comportamento preditivo do tipo depressivo. Isso demonstra que há uma forte influência da inflamação mobilizando os comportamentos do tipo depressivo.

Resultados semelhantes foram achados no estudo de Comim (2007), demonstrando que animais sobreviventes à sepse após 10 dias de CLP apresentam comportamento do tipo depressivo, sendo que esses comportamentos são atenuados com a administração de Imipramina, um antidepressivo tricíclico amplamente usado no tratamento da depressão, cujo mecanismo de ação é a nível pré-sináptico bloqueando a recaptção de monoaminas (MORENO; SOARES, 1999).

Além disso, estes dados corroboram com os estudos de Assis (2018) e Arican (2015), em que também se observam mudanças comportamentais em animais 10 dias após CLP, demonstrando um aumento significativo no tempo de imobilidade no teste do nado forçado. Dessa forma, após 7 e 14 dias de cirurgia, foi possível observar alterações comportamentais significativas nos animais, geradas pela inflamação crônica, através dos testes de nado forçado.

Em relação aos animais de 21 dias após procedimento CLP e consequente sepse experimental, não observamos diferenças significativas comportamentais neste trabalho, e a falta de estudos que abordam mudanças comportamentais 21 dias após a sepse experimental dificulta maiores conclusões, portanto é imprescindível a busca por novas hipóteses. Entretanto, no estudo de Dal-Pizzol, em 2008, foi possível observar um aumento da imobilidade no teste de nado forçado em animais CLP sobreviventes à sepse após 30 dias de cirurgia, quando estes foram comparados com animais SHAM.

O mesmo aconteceu no estudo de Chao (2020), em que foi observado um comportamento do tipo depressivo após a indução de neuroinflamação com sulfato de dextrano de sódio; os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que 28

dias após a indução do comportamento tipo depressivo, através da sepse experimental, os animais também apresentaram aumento no tempo de imobilidade quando comparados ao grupo controle. Em outro estudo de Antoniuk (2019), em que houve a indução do comportamento do tipo depressivo através do estresse, obteve-se resultados significativos com animais de 21 e 28 dias após a indução.

O teste do campo aberto avalia a atividade locomotora e pode avaliar a exploratória dos animais a partir da análise de seus movimentos (BARICHELLO, *et al.*, 2008). Não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum dos grupos analisados na caracterização do nosso modelo de estudo. Para nós este dado é de extrema importância, uma vez que demonstra que as cirurgias, e conseqüentemente a inflamação sofrida pelos animais, não afetaram a sua atividade locomotora. Dessa forma, os resultados do nosso estudo corroboram com achados de Antunes (2007), em que os animais também passaram pela cirurgia CLP, e não obtiveram resultados significativos frente à atividade locomotora em nenhum dos parâmetros analisados, seja na distância percorrida ou na velocidade média.

Os mesmos resultados foram observados no estudo de Dal-Pizzol (2008), em que animais sobreviventes à sepse, após 10 dias da cirurgia CLP, também não apresentaram diferenças significativas no teste do campo aberto.

Isso demonstra que o aumento no tempo de imobilidade dos animais, observado no teste do NF, se deu devido à inflamação sistêmica crônica e neuroinflamação, não devido a dor ou possíveis sequelas físicas oriundas da cirurgia.

6.2 25H-NBOMe E A MODULAÇÃO PSICODÉLICA DO COMPORTAMENTO TIPO DEPRESSIVO DE ANIMAIS SUBMETIDOS À SEPSE EXPERIMENTAL

Atualmente, estamos experimentando avanços no campo da psiquiatria liderados pelo renascimento da pesquisa psicodélica, que coloca alucinógenos como um promissor tratamento no campo da saúde mental. As substâncias psicodélicas clássicas, os chamados alucinógenos serotoninérgicos, exercem efeitos por ação agonista ou agonista parcial nos receptores cerebrais 5-hidroxitriptamina (5-HT) 2A da serotonina (NICHOLS, 2016).

Embora existam inúmeras evidências de que os efeitos das fenetilaminas substituídas provavelmente são semelhantes a outros psicodélicos clássicos, que

têm se mostrado poderosas substâncias psicoativas na percepção, humor e inúmeros processos cognitivos (NICHOLS, 2016), há poucas informações disponíveis sobre seus efeitos terapêuticos.

No nosso trabalho, demonstramos o potencial terapêutico das substâncias 25H-NBOMe e 25H-NBOH quando estas, ao serem administradas em ratos apresentando comportamento preditivo do tipo depressivo, modularam positivamente este comportamento, diminuindo o tempo de imobilidade destes animais no teste de nado forçado.

Não existe ainda, na literatura científica, resultados semelhantes aos nossos, sendo este trabalho, o primeiro a discutir a propriedade terapêutica de NBOMe e NBOH. No entanto, existem diversas evidências que demonstram o potencial terapêutico de substâncias alucinógenas serotoninérgicas (psicodélicos) no tratamento da depressão. Como no trabalho de Danilo de Gregório e colaboradores (2021), que reúne indicadores clínicos e pré-clínicos sobre a eficácia dos psicodélicos LSD, psilocibina, MDMA, e cetamina sobre a saúde mental dos indivíduos.

Além disso, como descrito por Carhart-Harris e Nutt (2017), as substâncias psicodélicas, via ativação de receptores 5-HT_{2A}, modulam o comportamento, reduzindo sintomas depressivos e melhorando o bem estar. Somado a essa descoberta, apontam também neste trabalho (2017) que o aumento da sinalização de receptores 5-HT_{2A} promove uma diminuição do pensamento rígido e pessimista, aumenta a plasticidade sináptica, melhora a sensibilidade individual e o processo de aprendizagem, bem como propicia melhoras na adaptabilidade.

Em ensaios pré-clínicos, é possível mensurar a capacidade de uma substância em ativar receptores 5-HT_{2A} através de testes comportamentais. A ativação destes receptores induz uma resposta de torção da cabeça (HTR) em roedores. Nos últimos anos, o teste do HTR tem sido amplamente adotado como um modelo comportamental translacional para efeitos alucinógenos, e representa a correlação entre o comportamento de contração e a ativação do receptor 5-HT_{2A} (HALBERSTADT, 2018). Além disso, o HTR é o comportamento mais confiável capaz de distinguir agonistas 5-HT_{2A} alucinógenos e não alucinógenos (GONZÁLEZ-MAESO, 2007).

Quando analisamos o efeito das substâncias psicodélicas utilizadas neste trabalho, demonstramos que todas as doses testadas (0,3; 1 e 3 mg/kg) de ambas

as substâncias 25H-NBOMe e 25H-NBOH, aumentaram a resposta de torção da cabeça destes animais, sugerindo a propriedade alucinógena das substâncias. Esse achado corrobora com estudos realizados com a 25B-NBOMe, em que se é demonstrado o mesmo padrão farmacológico dose-dependente (CUSTODIO, 2020). No entanto, esse padrão não se repete com todas as isoformas de NBOMe; quando olhamos para o padrão farmacológico da 25I-NBOMe, por exemplo, estudos sugerem que ele se dá em formato de “U” (HERIAN, 2019), padrão não encontrado nos resultados dos nossos experimentos em nenhuma das substâncias, que demonstraram ser apenas dose-dependentes.

A ativação de receptores 5-HT_{2A} também pode ser mensurada pelo teste do NF, como discutido anteriormente, e este teste é frequentemente usado como um ensaio de triagem para novos compostos com potenciais propriedades antidepressivas (YANKELEVITCH-YAHAV, 2015). Em nosso estudo, a administração aguda de 1 mg/kg e 3 mg/kg de 25H-NBOMe demonstrou amenizar o comportamento do tipo depressivo em ratos submetidos ao NF, enquanto que apenas a dose de 3 mg/mg de 25H-NBOH tenha demonstrado exercer este efeito.

Além da atividade alucinógena, os psicodélicos podem afetar outros comportamentos, como por exemplo, a atividade locomotora dos animais sob efeito dessas substâncias. O nosso trabalho evidenciou uma diminuição significativa tanto na distância percorrida quanto na velocidade de locomoção dos animais submetidos ao teste do CA, assim como demonstrado pelos estudos de Straub e colaboradores (2014), em que a 25B-NBOMe reduziu a atividade locomotora nos animais de maneira dose-dependente.

6.3 NEUROINFLAMAÇÃO E MODULAÇÃO PSICODÉLICA DE 25H-NBOMe A NÍVEL MOLECULAR E SEU EFEITO SUSTENTADO

Os resultados da quantificação de proteínas através da técnica de Western blotting demonstraram que houve um aumento de GFAP no córtex pré-frontal de animais submetidos à sepse experimental (grupo CLP) e um resultado inverso para esta mesma proteína e grupo de animais (grupo CLP), após a administração de 3 mg/kg de 25H-NBOMe. Com relação aos animais dos grupos SHAM, tanto os tratados com veículo quanto os tratados com NBOMe, não foram observadas diferenças significativas.

Lisda Amalia (2021), em seu estudo realizado com humanos, discorre sobre a possibilidade de usarmos a proteína ácida fibrilar glial (GFAP) como um biomarcador para neuroinflamação. A partir dela, é possível avaliarmos déficits neurológicos e relacionarmos esses quadros à danos sofridos pelos neurônios e neuróglias. Quanto maior o dano, maiores os níveis deste biomarcador.

Um estudo de Codeluppi e colaboradores (2021) encontrou disfunções morfológicas de GFAP em animais expostos a estresse crônico, bem como um aumento desta proteína a nível de córtex pré-frontal, correlacionando estes resultados a comportamentos do tipo depressivo a testes realizados 7, 21 e 35 dias após a exposição ao protocolo de estresse crônico.

Da mesma forma, Zhang e colaboradores (2020) demonstraram em seu estudo que animais exibindo comportamentos do tipo depressivo também apresentaram um aumento na expressão de proteínas GFAP no córtex pré-frontal e no hipocampo.

Yin e colaboradores (2020), em seu protocolo de indução de encefalopatia séptica através da cirurgia CLP, também encontraram um aumento na expressão de GFAP em animais CLP apresentando comportamento anedônico. Todas essas evidências corroboram com os nossos achados.

Quando analisamos os resultados da quantificação de sinaptofisina, nossos achados incluem um aumento desta proteína em animais que receberam o tratamento de 25H-NBOMe (animais SHAM e animais CLP). Embora não existam resultados semelhantes na literatura, referentes à essa substância, alguns achados reforçam a ideia de que fármacos indutores da ativação de receptores 5-HT_{2A}, como a fluoxetina, atuam também aumentando os níveis de sinaptofisina no hipocampo (ZAHRAI, 2020).

O mesmo aconteceu no trabalho de Sâmia e colaboradores (2018), demonstrando que o CBD, um dos componentes da *Cannabis sativa*, induz um efeito rápido e sustentado na modulação do comportamento tipo depressivo de roedores no teste do nado forçado e, ainda promoveu um aumento nas concentrações de sinaptofisina e PSD-95 nas regiões do córtex e do hipocampo dos ratos do experimento.

Resultados similares a estes puderam ser observados no nosso estudo com relação, com resultados significativos para o aumento de sinaptofisina e uma tendência em aumentar os níveis de PSD-95 com o tratamento com 25H-NBOMe.

Além disso, como no trabalho de Sâmia (2018), também demonstramos um efeito sustentado da substância psicodélica que escolhemos para o nosso estudo. Na literatura, encontramos diversas evidências e achados clínicos e pré-clínicos demonstrando o efeito sustentado do efeitos de psicodélicos, como no caso da psilocibina (GRIFFITHS *et al.*, 2016; ROSS *et al.*, 2016; DE LA FUENTE REVENGA, 2021) e da R-Cetamina (YANG, 2015).

Para a análise morfológica e correlação do efeito sustentado com as propriedades psicoplastogências das substâncias, os cérebros desses animais foram coletados e processados para que pudéssemos executar a técnica de golgi-cox, prevendo uma aumento também na densidade dos espinhos dendríticos de neurônios apicais das regiões do córtex pré-frontal. No entanto, devido a problemas técnicos que impediram a continuidade deste experimento, decidimos por executá-lo no futuro, em condições de análise morfológica mais adequadas.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica de CLP, no protocolo de sepse experimental, demonstrou resultado satisfatório, uma vez que induziu o comportamento do tipo depressivo em roedores, 7 e 14 dias após execução da técnica, mesmo sem a utilização de um modelo de indução baseado em outras variáveis, que não a da inflamação crônica. Além disso, a cirurgia CLP promoveu um aumento de GFAP no córtex pré-frontal de animais do grupo que passou pela sepse experimental 14 dias após esse processo, afirmando a capacidade do nosso modelo em induzir a neuroinflamação.

Da mesma forma, a substância psicodélica 25H-NBOMe demonstrou o seu potencial terapêutico do tipo antidepressivo frente à modulação de comportamentos anedônicos induzidos pelo nosso modelo experimental caracterizado para o estudo da depressão. Somada à modulação comportamental, a administração dessa substância também promoveu aumento da expressão de proteínas cujo déficit está relacionado à depressão: sinaptofisina e PDS-95.

Assim, os resultados deste estudo mostram-se promissores tanto para a pesquisa básica, na proposição de um modelo de indução do comportamento do tipo depressivo pela técnica CLP, quanto para o campo da ciência psicodélica, uma vez que sugerem, pela primeira vez, o potencial antidepressivo de psicodélicos “de rua”, os *NBombs*. Com isso, fazem-se necessários mais estudos a respeito da segurança dessas substâncias e mecanismos fisiológicos adjacentes, que podem ser incitados a partir de nossos resultados.

O intuito deste trabalho foi investigar o potencial terapêutico de psicodélicos sintéticos *de rua* que, normalmente são utilizados de forma recreativa, e levantar questionamentos sobre como uma fenetilamina pode passar de uma substância de abuso, para uma substância de uso medicinal (e vice-versa). É importante que sejam estabelecidos padrões seguros de utilização, bem como sejam conhecidos os mecanismos fisiológicos envolvidos em seus efeitos, local e sistemicamente.

Dessa forma, entendemos que estes resultados contribuem para os avanços da Psiquiatria Experimental, não encerrando a sua discussão, mas abrindo o caminho para diferentes ensaios pré-clínicos, na direção de uma prática clínica segura e mais eficaz no campo das terapias assistidas com substâncias psicodélicas.

REFERÊNCIAS

AMALIA, Lisda. Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP): Neuroinflammation Biomarker in Acute Ischemic Stroke. **Journal of Inflammation Research**, v. 14, p. 7501, 2021.

ARROLL, Bruce *et al.* Efficacy and tolerability of tricyclic antidepressants and SSRIs compared with placebo for treatment of depression in primary care: a meta-analysis. **The Annals of Family Medicine**, v. 3, n. 5, p. 449-456, 2005.

BARROS, Wellington Alves *et al.* The new psychoactive substances 25H-NBOMe and 25H-NBOH induce abnormal development in the zebrafish embryo and interact in the DNA major groove. **Current Research in Toxicology**, v. 2, p. 386-398, 2021.

BASTOS, Andre Goettems *et al.* Reliability of the Brazilian WAIS-III in depression. **Revista Interamericana de Psicologia/Interamerican Journal of Psychology**, v. 45, n. 3, 2011.

BEATLES. **Tomorrow never knows**. Londres: EMI Studios: 1966. (2 min. 58 seg.).

BELLAVER, Bruna *et al.* Guanosine inhibits LPS-induced pro-inflammatory response and oxidative stress in hippocampal astrocytes through the heme oxygenase-1 pathway. **Purinergic Signalling**, v. 11, p. 571-580, 2015.

BÉNARDAIS, Karelle *et al.* Long-term impact of neonatal inflammation on demyelination and remyelination in the central nervous system. **Glia**, v. 62, n. 10, p. 1659-1670, 2014.

BOZZA, Fernando A. *et al.* Bioenergetics, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the pathophysiology of septic encephalopathy. **Shock**, v. 39, p. 10-16, 2013.

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

CANAL, Clint E.; MORGAN, Drake. Head-twitch response in rodents induced by the hallucinogen 2, 5-dimethoxy-4-iodoamphetamine: a comprehensive history, a re-evaluation of mechanisms, and its utility as a model. **Drug Testing and Analysis**, v. 4, n. 7-8, p. 556-576, 2012.

CANTON, Helen. **The Europa Directory of International Organizations 2021**. Routledge, 2021. p. 240-244.

CENTRO BRASILEIRO DE INFORMAÇÃO SOBRE PSICOTRÓPICAS. II **levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil**. São Paulo, 2005.

CODELUPPI, Sierra A. *et al.* Chronic stress alters astrocyte morphology in mouse prefrontal cortex. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 10, p. 842-853, 2021.

COMIM, Clarissa M. *et al.* Mitochondrial respiratory chain and creatine kinase activities in rat brain after sepsis induced by cecal ligation and perforation. **Mitochondrion**, v. 8, n. 4, p. 313-318, 2008.

CORNEO, Emily *et al.* Enriched environment causes epigenetic changes in hippocampus and improves long-term cognitive function in sepsis. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 11529, 2022.

CUSTODIO, Raly James Perez *et al.* 25B-NBOMe, a novel N-2-methoxybenzyl-phenethylamine (NBOMe) derivative, may induce rewarding and reinforcing effects via a dopaminergic mechanism: evidence of abuse potential. **Addiction Biology**, v. 25, n. 6, p. e12850, 2020.

COWEN, Philip J.; BROWNING, Michael. What has serotonin to do with depression?. **World Psychiatry**, v. 14, n. 2, p. 158, 2015.

CHEN, G., Q. Fang, J. Zhang, D. Zhou, and Z. Wang. Role of the Nrf2-ARE pathway in early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage. **Journal of Neuroscience Research**, vol. 4, p. 515–523, 2011.

DAL-PIZZOL, F., *et al.* Matrix metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 activities are associated with blood-brain barrier dysfunction in an animal model of severe sepsis. **Mol Neurobiol**, p.1–18, 2013.

DANIELSKI, Lucineia Gainski *et al.* Brain barrier breakdown as a cause and consequence of neuroinflammation in sepsis. **Molecular Neurobiology**, v. 55, p. 1045-1053, 2018.

DAVIS, J. Michael; SVENDSGAARD, David J. U-Shaped dose-response curves: Their occurrence and implications for risk assessment. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues**, v. 30, n. 2, p. 71-83, 1990.

DE GREGORIO, Danilo *et al.* Hallucinogens in mental health: preclinical and clinical studies on LSD, psilocybin, MDMA, and ketamine. **Journal of Neuroscience**, v. 41, n. 5, p. 891-900, 2021.

DE LA FUENTE REVENGA, Mario *et al.* Prolonged epigenomic and synaptic plasticity alterations following single exposure to a psychedelic in mice. **Cell Reports**, v. 37, n. 3, p. 109836, 2021.

DUMAN, Ronald S. *et al.* Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. **Nature Medicine**, v. 22, n. 3, p. 238, 2016.

EGAN, Christina T. *et al.* Agonist activity of LSD and lisuride at cloned 5HT_{2A} and 5HT_{2C} receptors. **Psychopharmacology**, v. 136, p. 409-414, 1998.

ELMORE, Joshua S. *et al.* Comparative neuropharmacology of N-(2-methoxybenzyl)-2, 5-dimethoxyphenethylamine (NBOMe) hallucinogens and their 2C counterparts in male rats. **Neuropharmacology**, v. 142, p. 240-250, 2018.

FLESHNER, M.; FRANK M.; MAIER, S.F. Danger signals and inflammasomes: stress-evoked sterile inflammation in mood disorders. **Neuropsychopharmacology**, v. 42 n. 1, p. 36-45, 2017.

GONZÁLEZ-MAESO, Javier *et al.* Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT_{2A} receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. **Neuron**, v. 53, n. 3, p. 439-452, 2007.

GRIFFITHS, Roland R. *et al.* Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial. **Journal of Psychopharmacology**, v. 30, n. 12, p. 1181-1197, 2016.

GURURAJAN, Anand *et al.* The future of rodent models in depression research. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 20, n. 11, p. 686-701, 2019.

GUIMARÃES, Francisco S. Medicamentos antidepressivos e estabilizantes do humor. **Fundamentos de Psicofarmacologia**, v. 1, p. 93-122, 2005.

HALBERSTADT, Adam L.; GEYER, Mark A. Serotonergic hallucinogens as translational models relevant to schizophrenia. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 16, n. 10, p. 2165-2180, 2013.

HALBERSTADT, Adam L. *et al.* Effect of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors on temporal discrimination by mice. **Neuropharmacology**, v. 107, p. 364-375, 2016.

HERIAN, Monika *et al.* Contribution of serotonin receptor subtypes to hallucinogenic activity of 25I-NBOMe and to its effect on neurotransmission. **Pharmacological Reports**, v. 72, n. 6, p. 1593-1603, 2020.

HILES, S. A. *et al.* Interleukin-6, C-reactive protein and interleukin-10 after antidepressant treatment in people with depression: a meta-analysis. **Psychological Medicine**, v. 42, n. 10, p. 2015-2026, 2012.

HILLHOUSE, Todd M.; PORTER, Joseph H. A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, v. 23, n. 1, p. 1, 2015.

HOYER, Daniel *et al.* International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). **Pharmacological Reviews**, v. 46, n. 2, p. 157-203, 1994.

JÄNIG, Wilfrid. Sympathetic nervous system and inflammation: a conceptual view. **Autonomic Neuroscience**, v. 182, p. 4-14, 2014.

JAUHAR, Sameer; COWEN, Philip J; BROWNING, Michael. Fifty years on: Serotonin and depression. **Journal of Psychopharmacology**, v. 37, n. 3, p. 237-241, 2023.

JOHNSTON, Karissa M. *et al.* The burden of treatment-resistant depression: a systematic review of the economic and quality of life literature. **Journal of Affective Disorders**, v. 242, p. 195-210, 2019.

JOSHI, Amol. Selective serotonin re-uptake inhibitors: an overview. **Psychiatra Danubina**, v. 30, n. suppl. 7, p. 605-609, 2018.

KING, L. A. New phenethylamines in Europe. **Drug Testing and Analysis**, v. 6, n. 7-8, p. 808-818, 2014.

KLEIN, Adam K. *et al.* Investigation of the structure–activity relationships of psilocybin analogues. **ACS Pharmacology & Translational Science**, v. 4, n. 2, p. 533-542, 2020.

KUPFER, David J.; FRANK, Ellen; PHILLIPS, Mary L. Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. **Focus**, v. 14, n. 2, p. 266-276, 2016.

LEARY, Timothy. **The psychedelic experience**. New York: Folkways Records, 1964.

LEUNG, Vivian; ZHANG, Emily; PANG, Daniel S.J. Real-time application of the Rat Grimace Scale as a welfare refinement in laboratory rats. **Scientific Reports**, v. 6, p. 31667, 2016.

LIU, Zhengwei *et al.* DL-3-n-butylphthalide (NBP) provides neuroprotection in the mice models after traumatic brain injury via Nrf2-ARE signaling pathway. **Neurochemical Research**, v. 42, p. 1375-1386, 2017.

LICZNERSKI, P.; DUMAN, R.S. Remodeling of axo-spinous synapses in the pathophysiology and treatment of depression. **Neuroscience**, v. 251, p. 33-50, 2013.

LÓPEZ-GIMÉNEZ, Juan F.; GONZÁLEZ-MAESO, Javier. Hallucinogens and serotonin 5-HT 2A receptor-mediated signaling pathways. **Behavioral Neurobiology of Psychedelic Drugs**, p. 45-73, 2018.

LOSSINSKY, Albert S.; SHIVERS, R. R. Structural pathways for macromolecular and cellular transport across the blood-brain barrier during inflammatory conditions. Review. **Histology and Histopathology**, v. 19, n. 2, p. 535-564, 2004.

LY, Calvin *et al.* Psychedelics promote structural and functional neural plasticity. **Cell Reports**, v. 23, n. 11, p. 3170-3182, 2018.

MADSEN, Martin K. *et al.* Psychedelic effects of psilocybin correlate with serotonin 2A receptor occupancy and plasma psilocin levels. **Neuropsychopharmacology**, v. 44, n. 7, p. 1328-1334, 2019.

MALKESMAN, Oz *et al.* The female urine sniffing test: a novel approach for assessing reward-seeking behavior in rodents. **Biological Psychiatry**, v. 67, n. 9, p. 864-871, 2010.

MOHAMMAD-ZADEH, L. F.; MOSES, L.; GWALTNEY-BRANT, S. M. Serotonin: a review. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 31, n. 3, p. 187-199, 2008.

MOZART, Wolfgang Amadeus. **Cartas de Mozart**. {S. II.}: Simplíssimo Livros, 2015.

MURNANE, Kevin S. The renaissance in psychedelic research: What do preclinical models have to offer. **Progress in Brain Research**, v. 242, p. 25-67, 2018.

NICHOLS, David E. Psychedelics. **Pharmacological Reviews**, v. 68, n. 2, p. 264-355, 2016.

OLIVERI, R., *et al.* The additive effect of aging on sepsis-induced cognitive impairment and neuroinflammation. **Journal of Neuroimmunology**, v. 314, p. 1-7, 2019.

ONDICOVA, Katarina; PECENAK, Jan; MRAVEC, Boris. The role of the vagus nerve in depression. **Neuroendocrinology Letters**, v. 31, n. 5, p. 602, 2010.

PAPOUTSIS, Ioannis *et al.* 25B-NBOMe and its precursor 2C-B: modern trends and hidden dangers. **Forensic Toxicology**, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2015.

PAZINI, Francis L *et al.* **Efeito protetor da creatina sobre a plasticidade hipocampal em um modelo de depressão**. 2017. 74f. Tese (Doutorado em Neurociências) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

PERITO, Maria E S; FORTUNATO, J. J. Marcadores biológicos da depressão: uma revisão sobre a expressão de fatores neurotróficos. **Revista Neurociências**, v. 20, n. 4, p. 597-603, 2012.

POLITO, Andrea *et al.* Pattern of brain injury in the acute setting of human septic shock. **Critical Care**, v. 17, n. 5, p. 1-9, 2013.

QUAN, N, Banks W A. Brain-immune communication pathways. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 21 n. 6, p. 727-35, 2007.

RAISON, Charles L.; CAPURON, Lucile; MILLER, Andrew H. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. **Trends in Immunology**, v. 27, n. 1, p. 24-31, 2006.

RAPPORT, Maurice M.; GREEN, Arda Alden; PAGE, Irvine H. Enzymatic inactivation of serum vasoconstrictor. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 68, n. 3, p. 582-584, 1948.

RAPAPORT, Mark H *et al.* Inflammation as a predictive biomarker for response to omega-3 fatty acids in major depressive disorder: a proof-of-concept study. **Molecular Psychiatry**, v. 21, n. 1, p. 71-79, 2016.

REID, G.; RAND, M. Pharmacological actions of synthetic 5-hydroxytryptamine (serotonin, thrombocytin). **Nature**, v. 169, p. 801-802, 1952.

REN, Chao *et al.* Sepsis-associated encephalopathy: a vicious cycle of immunosuppression. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, p. 1-15, 2020.

REYNOLDS III, Charles F. *et al.* The future of psychiatry as clinical neuroscience. **Academic Medicine: Journal of the Association of American Medical Colleges**, v. 84, n. 4, p. 446, 2009.

RITTIRSCH, Daniel *et al.* Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. **Nature Protocols**, v. 4, n. 1, p. 31-36, 2009.

RICKLI, A. *et al.* Receptor interaction profiles of novel N-2-methoxybenzyl (NBOMe) derivatives of 2,5-dimethoxy-substituted phenethylamines (2C drugs). **Neuropharmacology**, v. 99, p. 546–553, 2015.

ROSS, Stephen *et al.* Rapid and sustained symptom reduction following psilocybin treatment for anxiety and depression in patients with life-threatening cancer: a randomized controlled trial. **Journal of Psychopharmacology**, v. 30, n. 12, p. 1165-1180, 2016.

RUSH, A. John *et al.* Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR* D report. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 11, p. 1905-1917, 2006.

SANTOMAURO, Damian F. *et al.* Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. **The Lancet**, v. 398, n. 10312, p. 1700-1712, 2021.

SELIGMAN, Martin E.; MAIER, Steven F. Failure to escape traumatic shock. **Journal of Experimental Psychology**, v. 74, n. 1, p. 1, 1967.

SECRETARIA NACIONAL ANTIDROGAS. **I Levantamento nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira**. Brasília, 2007.

SCHMIDT, Heath D.; BANASR, Mounira; DUMAN, Ronald S. Future antidepressant targets: neurotrophic factors and related signaling cascades. **Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies**, v. 5, n. 3, p. 151-156, 2008.

SINGLETON, K. D.; WISCHMEYER, P. E. Distance of cecum ligated influences mortality, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression following cecal ligation and puncture in the rat. **European Surgical Research**, v. 35, n. 6, p. 486-491, 2003.

SOTOCINA, Susana G. *et al.* The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. **Molecular Pain**, v. 7, p. 1744-8069-7-55, 2011.

SOUZA, Iara M A. *Corpos comensuráveis: produção de modelos animais nas ciências biomédicas*. **Horizontes Antropológicos**, v. 23, p. 275-302, 2017.

TARTT, Alexandria N. *et al.* Dysregulation of adult hippocampal neuroplasticity in major depression: pathogenesis and therapeutic implications. **Molecular Psychiatry**, v. 27, n. 6, p. 2689-2699, 2022.

TRACEY, Kevin J. *et al.* Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 2, p. 289-296, 2007.

TUON, Lisiane *et al.* Time-dependent behavioral recovery after sepsis in rats. **Intensive Care Medicine**, v. 34, n. 9, p. 1724-1731, 2008.

VAN DEN EEDE, Filip; CLAES, Stephan J. Mechanisms of depression: role of the HPA axis. **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms**, v. 1, n. 4, p. 413-418, 2004.

VOLLENWEIDER, Franz X.; PRELLER, Katrin H. Psychedelic drugs: neurobiology and potential for treatment of psychiatric disorders. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 21, n. 11, p. 611-624, 2020.

WILLNER, Paul. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. **Neurobiology of Stress**, v. 6, p. 78-93, 2017.

YANG, C. *et al.* R-ketamine: a rapid-onset and sustained antidepressant without psychotomimetic side effects. **Translational Psychiatry**, v. 5, n. 9, p. e632-e632, 2015.

YANKELEVITCH-YAHAV, Roni *et al.* The forced swim test as a model of depressive-like behavior. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 97, p. e52587, 2015.

ZEIFMAN, Richard J. *et al.* Post-psychedelic reductions in experiential avoidance are associated with decreases in depression severity and suicidal ideation. **Frontiers in Psychiatry**, p. 782, 2020.

ZHANG, Li *et al.* Fucoxanthin provides neuroprotection in models of traumatic brain injury via the Nrf2-ARE and Nrf2-autophagy pathways. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 46763, 2017.

ZHANG, He-Yang *et al.* A1 astrocytes contribute to murine depression-like behavior and cognitive dysfunction, which can be alleviated by IL-10 or fluorocitrate treatment. **Journal of Neuroinflammation**, v. 17, n. 1, p. 1-13, 2020.

KELMENDI, Benjamin *et al.* Psychedelics. **Current Biology**, v. 32, n. 2, p. R63-R67, 2022.

KVICHANSKY, Alexey A. *et al.* Neonatal proinflammatory stress and expression of neuroinflammation-associated genes in the rat hippocampus. **Biochemistry (Moscow)**, v. 86, n. 6, p. 693-703, 2021.

ZAHRAI, Amin *et al.* Fluoxetine-induced recovery of serotonin and norepinephrine projections in a mouse model of post-stroke depression. **Translational Psychiatry**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.

ZENAIDE, Paula V; GUSMAO-FLORES, Dimitri. Biomarcadores na encefalopatia séptica: revisão sistemática dos estudos clínicos. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 25, p. 56-62, 2013.

ANEXO I

CEUA

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
Lei nº 11.154, de 29 de julho de 2005

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UNIFAL-MG

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **NBOMe E NBOH: Psicodélicos moduladores da plasticidade sináptica e do comportamento tipo depressivo induzido por encefalopatia associada à sepse em roedores**, registrada com o nº **0028/2021**, sob a responsabilidade de **Alexandre Giusti Paiva**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica**, com vigência de **09/08/2021 a 30/11/2025**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Espécie/linhagem/raça	Total de animais	Total de machos	Total de fêmeas	Origem
Rato / Wistar	248	248	0	Biotério central

Alfenas, 23 de julho de 2021

Prof(a). Dr(a). Pollyanna Francielli de Oliveira

Coordenador(a) do CEUA/UNIFAL - MG