UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MARINA GOULART DA SILVA

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS NEUROQUÍMICOS E TOXICOLÓGICOS DA AYAHUASCA EM RATOS SUBMETIDOS AO MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO

Tubarão
2021

MARINA GOULART DA SILVA

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS NEUROQUÍMICOS E TOXICOLÓGICOS DA AYAHUASCA EM RATOS SUBMETIDOS AO MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO

LINHA DE PESQUISA: Neurociências

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do título de Mestra em Ciências da Saúde.

Orientador (a): Prof. Rafael Mariano de Bitencourt, Dr.

Tubarão

2021

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - MESTRADO

Título da Dissertação

Avaliação de parâmetros neuroquímicos e toxicológicos da ayahuasca em ratos submetidos ao modelo de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo

MARINA GOULART DA SILVA
AUTOR

Aprovada pela Banca Avaliadora de Defesa da Dissertação em 10 de dezembro de 2021.

Doutor Rafael Mariano de Bitencourt (Orientador) _____

Doutor Francisney Pinto do Nascimento (Avaliador externo – UNILA) – *presente por videoconferência*

Doutora Fabricia Cardoso Petronilho (Avaliador interno) – *presente por videoconferência*

Professor Doutor Jefferson Traebert
COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNISUL

F85 Silva, Marina Goulart da, 1996 -
Avaliação de parâmetros neuroquímicos e toxicológicos da Ayahuasca em ratos submetidos ao modelo de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo / Marina Goulart da Silva. – 2022.
65 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Sul de Santa Catarina, Pós-graduação em Ciências da Saúde.
Orientação: Prof. Dr. Rafael Mariano de Bitencourt

1. Inflamação. 2. Toxicologia. 3. Ayahuasca. I. Bitencourt, Rafael Mariano de. II. Universidade do Sul de Santa Catarina. III. Título.

CDD (21. ed.) 616.0473

Ficha catalográfica elaborada por Alessandra Pires CRB 14/809.

À minha Lana, que me ensinou o amor na sua mais linda forma.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, que apoiou o presente trabalho.

Ao Laboratório de Toxicologia Analítica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, sobre a orientação do professor Maurício Yonamine, que realizou a quantificação da ayahuasca.

Ao Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos, sobre orientação da professora Fabrícia Petronilho, que realizou as análises de estresse oxidativo.

Ao Laboratório de Neurociência Experimental, sobre a orientação da professora Franciane Bobinski, que realizou as análises de citocinas.

Ao meu orientador, Rafael Mariano de Bitencourt, pela jornada incrível e louca que é o mestrado.

Ao meu *partner in crime*, Guilherme Cabreira Daros, que está sempre pronto para me fazer enxergar um pouco de razão no meio do turbilhão de emoção que sou. Obrigada por não me deixar surtar e me ajudar a entender que o monstro nunca é tão assustador como eu pinto.

À minha avó, que com a sua frase mágica da imortalidade, sempre diz que “não chega no meu próximo grau acadêmico” (desde a 8ª série) e continua sempre do meu lado cuidando de mim e dizendo o quão orgulhosa está de mais aquela conquista. Estou no aguardo do “eu não chego no final do teu doutorado”.

À educadora mais incrível, dedicada e amada, Jane Cler Goulart, a quem eu tenho o orgulho de chamar de mãe! Obrigada por me ensinar o amor pela leitura e pela educação, desde quando lia “Dona Traça Papa-Livros” até me fazer ler meu primeiro Paulo Freire. Obrigada por me fazer ver que não importa o quão árduo seja o caminho de ensinar, o olhar de gratidão dos nossos alunos sempre faz valer a pena. Obrigada por tudo! Obrigada por tanto!

“Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas. A pessoas mudam o mundo. (Paulo Freire).

RESUMO

Introdução: A neuroinflamação é uma resposta de defesa do sistema nervoso central. Em modelo animal é comumente induzida através da aplicação de lipopolissacarídeo. Como a neuroinflamação tem sido associada à diversas condições, cresce o interesse pelo estudo de substâncias com potencial anti-inflamatório, como a ayahuasca. Entretanto, apesar de cada vez mais utilizada, pouco se sabe sobre a concentração dos alcaloides psicoativos presentes no chá e sobre seu potencial toxicológico.

Objetivo: Avaliar a resposta neuroquímica e toxicológica à ayahuasca em ratos Wistar submetidos à neuroinflamação através da aplicação intraperitoneal de lipopolissacarídeo.

Métodos: O cerebelo, córtex pré-frontal, hipocampo e hipotálamo dos animais submetidos à exposição intraperitoneal de LPS (0,63 mg/kg) ou solução salina e tratados com ayahuasca (2 ml/kg) ou solução salina, foram submetidos à dosagem de IL-4, IL-6, IL-10 e BDNF, carbonilação proteica, TBARS, mieloperoxidase, nitrito/nitrato, SOD e CAT. A ayahuasca utilizada no tratamento teve as concentrações de harmina, harmalina, tetrahidroharmina e dimetiltriptamina determinadas. Os animais que receberam diferentes doses de ayahuasca via oral (controle, 1, 2, 3 e 4 ml/kg) tiveram os níveis séricos de AST, ALT, creatinina e ureia dosados.

Resultados: Não foi possível avaliar a capacidade da ayahuasca de amenizar ou reverter os danos encefálicos causados pela endotoxina, já que esta não foi capaz de promover as mudanças em parâmetros encefálicos compatíveis com a neuroinflamação. Foi encontrado elevação nos níveis séricos de AST e ureia nos animais tratados com 3 e 4 ml/kg de ayahuasca contendo 0,10 mg/mL de harmalina, 2,43 mg/mL de harmina, 1,43 mg/mL de tetrahidroharmina e 1,40 mg/mL de dimetiltriptamina.

Conclusão: Concluiu-se que a não validade do modelo de neuroinflamação ocorreu por conta do pó liofilizado de lipopolissacarídeo utilizado, que por ser extremamente sensível apresenta facilmente alterações em suas características físicas e químicas e que o uso moderado da ayahuasca, em dose única parece seguro.

Descritores: Inflamação. Toxicologia. Ayahuasca.

ABSTRACT

Introduction: Neuroinflammation is a central nervous system defense response. In animal models, it is commonly induced through the application of lipopolysaccharide. As neuroinflammation has been associated with several conditions, interest in the study of substances with anti-inflammatory potentials, such as ayahuasca, is growing. However, despite being increasingly used, little is known about the concentration of psychoactive alkaloids present in tea and its toxicological potential.

Objective: To evaluate the neurochemical and toxicological response to ayahuasca in Wistar rats submitted to neuroinflammation through the intraperitoneal application of lipopolysaccharide.

Methods: The cerebellum, prefrontal cortex, hippocampus, and hypothalamus of animals submitted to intraperitoneal exposure to LPS (0.63 mg/kg) or saline solution and treated with ayahuasca (2 ml/kg) or saline solution, were submitted to IL dosage - 4, IL-6, IL-10 and BDNF, protein carbonylation, TBARS, myeloperoxidase, nitrite/nitrate, SOD and CAT. The ayahuasca used in the treatment had the concentrations of harmine, harmaline, tetrahydroharmine, and dimethyltryptamine determined. The animals that received different doses of ayahuasca orally (control, 1, 2, 3, and 4 ml/kg) had the serum levels of AST, ALT, creatinine, and urea measured.

Results: It was not possible to assess the ability of ayahuasca to alleviate or reverse the brain damage caused by endotoxin, as it was not able to promote changes in brain parameters compatible with neuroinflammation. Elevated serum AST and urea levels were found in animals treated with 3 and 4 ml/kg of ayahuasca containing 0.10 mg/ml harmaline, 2.43 mg/ml harmine, 1.43 mg/ml tetrahydroharmine, and 1.40 mg/ml of dimethyltryptamine.

Conclusion: It was concluded that the non-validity of the neuroinflammation model was due to the lyophilized lipopolysaccharide powder used, which, as it is extremely sensitive, easily presents changes in its physical and chemical characteristics and that the moderate use of ayahuasca, in a single dose, seems safe.

Keywords: Inflammation. Toxicology. Ayahuasca.

LISTAS

Lista de abreviaturas

5-HT – 5-Hidroxitriptamina
5HTRs – Receptores 5-hidroxitriptamina
5-MeO-DMT - 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine
ATP – Adenosina Trifosfato
AYA – Ayahuasca
BDNF – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
BHE – Barreira Hemato-encefálica
BHL – Barreira Hemato-liquórica
DMT – N-N-Dimetiltriptamina
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
ERNs – Espécies Reativas de Nitrogênio
GABAA – Ácido Gama-aminobutírico A
I.P. – Intraperitoneal
IFN-α – Interferon-α
IFN-β – Inteferon-β
IL-1β - Interleucina 1β
IL-6 - Interleucina 6
LBP - Proteína Ligante de LPS
LCE – Labirinto em Cruz Elevado
Lista de abreviaturas
LPS - Lipopolissacarídeo
LTP – Potenciação de Longa Duração
MAO – Enzima Monoaminoxidase
MIA – Morte indolor assistida
MPO – Mieloperoxidase
NLRs – NOD-like
NOS – NO sintase
PAMP – Padrões Moleculares Associados a Patógenos
S1R – Receptor Sigma-1
SNC - Sistema Nervoso Central
THH – Tetrahidroharmina
TNF-α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

Lista de quadros

Quadro 1 – Variáveis de estudo..... 30

Lista de figuras

Figura 1 – Protocolo terapêutico 25
Figura 2 – Cronograma experimental 25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 12
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO 13
1.1.1 Neuroinflamação 13
1.1.2 Neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo 15
1.1.3 Neuroinflamação e estresse oxidativo 16
1.1.4 Neuroinflamação e citocinas 16
1.1.5 Ayahuasca como agente anti-inflamatório e modulador de respostas comportamentais 17
1.1.6 Toxicidade da ayahuasca 21
2. OBJETIVOS 22
2.1 OBJETIVO GERAL 22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 22
3. MÉTODOS 23
3.1 TIPO DE ESTUDO 23
3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS 23
3.3 ANIMAIS 24
3.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO 24
3.4.1 Indução da neuroinflamação 24
3.4.2 Administração de ayahuasca 24
3.4.3 Dosagem dos alcaloides presentes na ayahuasca 26
3.4.4 Preparo das amostras 26
3.4.5 Análises bioquímicas 26
3.4.5.1 Determinação de citocinas 27
3.4.5.2 Concentração de Nitrito/Nitrato 27
3.4.5.3 Atividade de Mieloperoxiddase (MPO) 27
3.4.5.4 Dano em lipídios pelos níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) 28
3.4.5.5 Carbonilação proteica 28
3.4.5.6 Atividade das enzimas antioxidantes 28
3.4.6 Análises toxicológicas 29
3.4.6.1 Atividade das aminotrasnferases 29
3.4.6.2 Creatinina 29
3.4.6.3 Ureia 29
3.5 VARIÁVEIS DE ESTUDO 30

3.6 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS.....31
3.8 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA 32
4. ARTIGO(S).....34
4.1 Avaliação de parâmetros neuroquímicos da ayahuasca em ratos submetidos ao modelo de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo 34
4.2 Potencial tóxico do uso agudo de doses elevadas de ayahuasca.....35
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....36
REFERÊNCIAS.....37
ANEXO A- Parecer Aprovação do Comitê de Ética.....47
ANEXO B – Produção científica publicada durante o período do Mestrado.....55

1. INTRODUÇÃO

A neuroinflamação se dá através da resposta celular e molecular do Sistema Nervoso Central (SNC), a fim de extirpar um dano ou infecção causado em resposta a um estresse. Nesse processo, há a contribuição de componentes imunes celulares, que podem ser produzidos dentro do próprio SNC ou recrutados do sistema periférico em consequência de um dano à barreira hematoencefálica. Deste modo, as células gliais são ativadas e o efeito da neuroinflamação é considerado neuroprotetor nos casos em que a atividade neuroinflamatória atinge um período curto de tempo. Entretanto, quando a inflamação se torna crônica, está associada a consequências prejudiciais ao SNC[1–3].

A imunidade inata é um componente típico do SNC e depende de células residentes, como a micróglia e os astrócitos, os quais tem papel fundamental no processo neuroinflamatório. Esses, são reconhecidos como participantes ativos em condições patológicas ou doenças neurodegenerativas crônicas[1]. Dentre as patologias causadas pela neuroinflamação, encontram-se a isquemia cerebral, esclerose múltipla, doença de Alzheimer, doença de Parkinson e esclerose lateral amiotrófica. Ainda, está relacionada à ansiedade, depressão, *delirium* e demência, bem como, pode ser associada à progressão acelerada do declínio cognitivo[4,5].

Em modelo animal, a neuroinflamação é comumente induzida através da aplicação de lipopolissacarídeo (LPS) como ativador glial. O LPS é uma molécula altamente tóxica derivada da membrana celular externa de bactérias gram-negativas e tem sido implicada como responsável por várias patologias, que vão de leves febres a choque séptico. Esta molécula desencadeia a liberação de diversas citocinas, dentre elas fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), interleucina 1β (IL-1β) e interleucina 6 (IL-6)[1,6].

Desta forma, tendo em vista que a neuroinflamação tem sido associada a diversas patologias, cresce o interesse pela descoberta de novas substâncias que tenham efeitos anti-neuroinflamatórios e, assim, sejam capazes de trazer benefícios à saúde dos pacientes. Cabe salientar a importância do estudo de plantas medicinais, sobretudo as psicoativas, como a ayahuasca[5–7].

A ayahuasca (AYA) é uma bebida composta por plantas de origem amazônica, formada pela associação da *Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*. Seu nome tem

origem na língua quéchua e significa “corda dos mortos”[8–12]. O chá, originalmente utilizado por grupos indígenas com fins terapêuticos, tem se difundido pelo restante do mundo e sido utilizado em movimentos sincréticos religiosos[9,10].

Em relação a seus ativos, a AYA é composta por inibidores reversíveis da enzima monoaminoxidase, constituintes da *B. caapi*, bem como pelos subtipos 1A, 2A e 2C do agonista serotoninérgico 5-hidroxitriptamina, com potente ação alucinógena, através da *P. viridis*. Ainda em relação à *B. caapi*, um composto denominado tetrahidroharmina apresenta, também, papel de inibidor seletivo da receptação de serotonina[9,11,13].

Estudos apontam que componentes presentes no chá de ayahuasca aumentam a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), envolvido com diversos aspectos da cognição, promovem neuroplasticidade e podem ser reguladores endógenos sistêmicos da inflamação e homeostase imune[14–17].

Por conseguinte, o objetivo deste estudo é avaliar a resposta neuroquímica da ayahuasca em ratos submetidos à neuroinflamação através da aplicação intraperitoneal de LPS, por meio da avaliação bioquímica do encéfalo desses animais, e seu potencial tóxico, através da dosagem de marcadores sanguíneos de lesão hepática e renal de animais submetidos a diferentes doses da bebida.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 Neuroinflamação

Durante muito tempo, o sistema nervoso central (SNC) foi visto como imunologicamente privilegiado, devido à homeostase do mesmo ser um pré-requisito para a comunicação adequada de células neuronais, bem como ao fato de a barreira hemato-encefália (BHE) e a barreira hemato-liquórica (BHL) isolarem o SNC das mudanças contínuas nos tecidos periféricos. Hoje, tem-se o conhecimento de que apesar da existência dessas barreiras de proteção, o SNC está sujeito a eventos patogênicos e à vigilância imunológica[1,18].

O organismo tem na imunidade inata a sua defesa inicial contra a invasão de patógenos, que controla a infecção até que as células do sistema imune possam responder especificamente contra o antígeno. Diversos componentes estão envolvidos para que essa defesa possa ocorrer, como os receptores “toll-like” (TLRs),

receptores NOD-like (NLRs) e receptores ligantes de nucleotídeos, como adenosina trifosfato (ATP). Estes receptores reconhecem não apenas padrões moleculares associados a patógenos (PAMP), como lipopolissacarídeos, mas também moléculas endógenas chamadas padrão molecular associado a dano (DAMP)[1,3,19,20].

A neuroinflamação é uma complexa resposta celular e molecular no SNC, tentando conter possíveis danos ou infecções através da eliminação do patógeno e morte ou dano de células hospedeiras[1]. No processo neuroinflamatório, alguns componentes celulares contribuem para esta resposta, como macrófagos especializados, neurônios e astrócitos, citocinas, quimiocinas e sistema complemento. Esses mediadores pró-inflamatórios podem ser produzidos tanto dentro do SNC, como recrutados do sistema periférico em consequência a um dano à BHE[1–4].

A micróglia é a principal célula imune dentre as residentes no encéfalo. Em condições fisiológicas, ela exibe um fenótipo desativado que está associado à produção de fatores anti-inflamatórios e neurotróficos. Desta forma, o efeito da neuroinflamação em um curto período é considerado neuroprotetor. Entretanto, quando há inflamação crônica, está associada a consequências prejudiciais ao SNC[1,4]. Estudos *in vivo* e *in vitro* mostram que insultos, como LPS, fazem com que astrócitos respondam secretando citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF-α, IL-12) e anti-inflamatórias (IL-10)[21].

Atualmente, a neuroinflamação tem sido implicada em diversas doenças do SNC, incluindo doenças degenerativas crônicas e dano cerebral agudo. Dentre essas condições, encontram-se a isquemia cerebral, esclerose múltipla, doença de Alzheimer, doença de Parkinson e esclerose lateral amiotrófica[4]. Além disso, muitos pesquisadores têm implicado citocinas circulantes individuais como biomarcadores para diversas condições clínicas do SNC, como depressão, *delirium* e demência. Também, a citocina TNF-α tem sido associada à progressão acelerada do declínio cognitivo[5].

Outra citocina inflamatória, a interleucina-1β (IL-1β), desempenha um papel proeminente nas alterações comportamentais induzidas pelo estresse. Wohleb et al. (2014) acharam a expressão elevada de IL-1β no encéfalo em modelo animal de derrota social repetida, o que mostra que a transdução da sinalização da IL-1β pelas células endoteliais potencializa a neuroinflamação induzida pelo stress e promove um comportamento semelhante à ansiedade[22].

Esse processo neuroinflamatório pode ser induzido experimentalmente, sendo que a forma mais comum é o uso de endotoxinas, como através da injeção intraperitoneal de lipopolissacarídeo (LPS).

1.1.2 Neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo

O lipopolissacarídeo (LPS), uma endotoxina, é o principal constituinte inflamatório das bactérias gram-negativas e tem sido utilizado para ativação da imunidade da resposta encefálica inata, o que dá suporte à utilização clínica do termo neuroinflamação induzida por LPS[1].

Sua molécula é composta por três domínios distintos: o antígeno O, um oligossacarídeo (2-ceto-3-ácidodeoxioctônico) e o antígeno A e sua toxicidade se deve à presença de dois grupos fosfato acoplados a duas glucosaminas na parte lipídica A da molécula de LPS[23]. Sua liberação no organismo ocorre quando a bactéria se multiplica ou é fagocitada e degradada pelas células de defesa[6,24,25].

O LPS liga-se à uma proteína chamada proteína ligante de LPS (LBP) – proteína solúvel de fase aguda –, presente na corrente sanguínea, o que inicia a ativação de sinais através de uma proteína de superfície (CD14) em monócitos e células mieloides. Entretanto, o CD14 não possui domínio intracelular, havendo necessidade de uma proteína transmembrana para transmissão dos sinais através do citoplasma até o núcleo, onde ocorre a estimulação da produção de citocinas. Ocorre então a formação do complexo TLR4-MD2-LPS, que leva à ativação de NF-kB e, consequentemente, a produção de diversas citocinas, como TNF-α IL-1 e IL-6[26–29].

Atualmente, ele é considerado o principal fator responsável pelas manifestações tóxicas de infecções por bactérias gram-negativas e por infecção sistêmica[6]. Por conta disso, apesar de muitos estudos utilizarem o LPS em modelos de sepse, ele também tem sido o ativador glial mais extensamente utilizado por pesquisadores em modelos de neuroinflamação *in vivo* e *in vitro*[30].

Os mediadores inflamatórios centrais resultantes da inflamação sistêmica, atuam principalmente no hipotálamo e são conhecidos por produzir um conjunto coordenado de mudanças adaptativas, conhecidas coletivamente como comportamento de doença. Este comportamento ocorre na tentativa de facilitar a recuperação da infecção e tem como características a resposta febril, redução da atividade social, hiperalgesia, fadiga, adipsia e hipersonia[5].

A indução da neuroinflamação por LPS está associada a mudanças comportamentais, como aumento da ansiedade, desenvolvimento de depressão, prejuízo na memória, além de estar relacionado a liberação de diversas citocinas e ao estresse oxidativo[1,4–6].

1.1.3 Neuroinflamação e estresse oxidativo

Diversos mecanismos relacionados à neuroinflamação e dano celular são implicados na fisiopatologia de doenças neuropsiquiátricas[31]. A neuroinflamação fornece uma fonte primária de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs) a partir da ativação do sistema imune, sendo capaz de modificar proteínas, lipídios e ácidos nucleicos[32–34]. A resposta inflamatória determina a liberação de radicais livres de oxigênio, os quais mantêm um círculo vicioso de lesão-inflamação-ativação de fatores nucleares[35].

Em condições fisiológicas, o metabolismo celular produz radicais livres, e estes, quando ativos, podem ter diversos efeitos benéficos, como atuar como mecanismo de defesa contra a agressão de microrganismos sob controle de estímulos e sinais moleculares[36]. No entanto, a neuroinflamação, caracterizada pela ativação microglial e elevada produção de citocinas pró-inflamatórias[37], desencadeia uma série de eventos, incluindo o aumento da produção de EROs e ERNs. Além disso, a micróglia, quando ativada, possui altos níveis de NO sintase (NOS) e NOX, dois sistemas enzimáticos que medeiam o aumento do grau oxidativo induzido na inflamação, levando à disfunção cognitiva e neurodegeneração[38].

Os neurônios são altamente vulneráveis aos efeitos nocivos das espécies reativas por conta de sua alta taxa metabólica, a tendência à peroxidação dos ácidos graxos, às altas concentração intracelulares de metais de transição – capazes de catalisar a formação de EROs – e os baixos níveis de antioxidantes. Desse modo, a alta produção de espécies reativas e a deficiência de antioxidantes – tanto enzimáticos como não enzimáticos – leva ao estresse oxidativo[32].

Tanto a neuroinflamação como o estresse oxidativo influenciam os fatores neurotróficos, como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), que tem papel importante na facilitação da síntese e consolidação de novas memórias. Ele é secretado pela micróglia ativada e pode influenciar no funcionamento neuronal,

produzindo efeitos neuroprotetores, além de atuar de maneira autócrina, promovendo a proliferação e sobrevivência da micróglia[32].

1.1.4 Neuroinflamação e citocinas

Na presença de um insulto, a micróglia torna-se ativada e responde em poucos minutos a áreas muito restritas de dano. Nesta condição, a célula retrai seus processos adquirindo uma forma mais ameboide, sendo capaz de migrar para o local do dano, proliferar, participar na apresentação de antígenos, fagocitar debris celulares e eliminar sinapses anormais[39]. A micróglia expressa receptores como os toll-like e quando ativada, libera uma variedade de citocinas, incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), IL-1β, IL-6, IL-10, interferon-α (IFN-α) e interferon-β (IFN-β), além de prostanóides, componentes do complemento e substâncias neurotóxicas como EROs e ERNs, sendo uma fonte importante de fatores pro-inflamatórios cerebraisc.

Mais especificamente, astrócitos também respondem a insultos, como LPS, tanto *in vivo* como *in vitro*, com aumento da secreção de citocinas pro-inflamatórias como IL-6, IL-12 e TNF-α, e citocinas anti-inflamatórias como IL-10[21]. Estudos *in vitro* mostram que culturas de astrócitos neonatais de diferentes regiões cerebrais exibem diferenças na expressão de fatores pró-inflamatórios sob estímulo de LPS[30].

Outro estudo, *in vivo*, usando injeção intracerebroventricular de LPS para mimetizar um quadro de inflamação cerebral, em camundongos, mostrou ocorrer um recrutamento e adesão de leucócitos à microvasculatura cerebral. Também, que este recrutamento é mediado por células que apresentam a via de sinalização TLR4/CD14 como a micróglia, bem como, que a sinalização por TNF-α é crítica para o recrutamento de leucócitos[40].

Substâncias com potencial anti-inflamatório podem ser utilizadas com intuito de diminuir a resposta ao insulto que gerou a neuroinflamação, e consequentemente a liberação de citocinas pró-inflamatórias[1].

1.1.5 Ayahuasca como agente anti-inflamatório e modulador de respostas comportamentais

Uma vez que a neuroinflamação tem sido implicada na patogênese ou progressão de numerosas doenças, nos últimos anos vem crescendo o interesse por

novas substâncias com possíveis efeitos benéficos. Dentre essas substâncias, é essencial ressaltar o estudo de plantas psicoativas, tal como a ayahuasca (AYA)[5,6].

AYA é uma bebida enteógena amazônica composta pela associação de duas plantas essenciais: o caule da *Banisteriopsis caapi* e as folhas da *Psychotria viridis*. Entretanto, mais de 100 plantas diferentes já foram descritas como possíveis aditivos para a mesma[8,11].

A bebida, semelhante a um chá, foi originalmente utilizada por grupos indígenas e pela população de países amazônicos — como Brasil, Peru, Colômbia e Equador — com fins terapêuticos. Entretanto, nos últimos anos, seu uso tem se expandido também para os Estados Unidos e países europeus, e vem sendo utilizada em alguns movimentos sincréticos religiosos, como no Santo Daime e na União do Vegetal, que buscam um meio de facilitação do autoconhecimento e instrospecção[9,41,42]. Possivelmente, sua popularidade é motivada por seus fortes efeitos antidepressivos, além da ingestão crônica estar associada a ganhos cognitivos e alterações cerebrais estruturais em áreas relacionadas à atenção, pensamento auto referencial e mentalização interna[14].

Logo após preparada, a AYA é engarrafada, ainda quente, a fim de evitar sua fermentação. Seus efeitos somáticos — náuseas, parestesias e aumento da temperatura corporal — surgem, em média 20 minutos após a ingestão, seguidos de seus efeitos cognitivos, que aparecem nas primeiras horas. Seus efeitos psicoativos agudos duram cerca de 4 horas e incluem intensas alterações perceptivas, cognitivas, emocionais e afetivas[43,44]. Vômitos e diarreias são frequentemente relatados, entretanto, evidências crescentes apontam adequado perfil de segurança, considerando-se que não é capaz de produzir vício e não foi associada à deterioração psicopatológica, de personalidade ou cognitiva[45].

Dentre os sintomas relatados após o consumo constante de AYA, encontra-se os sentimentos de confiança e otimismo, além da redução da falta de concentração, privação do sono e irritabilidade[46,47].

Quanto a seus ativos, sabe-se que a *B. caapi*, presente na Amazônia e nativa das zonas tropicais da América do Sul e das Antilhas, é rica em β-carbolinas, como a harmina, a tetrahidroharmina (THH) e harmalina, que são inibidoras reversíveis da enzima monoaminoxidase (MAO). Enquanto a *P. viridis*, encontrada em regiões tropicais em todo o mundo, apresenta como princípio ativo o alcaloide indólico N,N-dimetiltriptamina (DMT), um agonista 5-HT1A / 2A / 2C com potente ação alucinógena,

que é metabolizado pela MAO. O DMT normalmente é encontrado nas folhas da planta e sofre variações de concentração de acordo com o horário de sua colheita[9,41,48,49].

Os alcaloides β-carbonílicos derivam do aminoácido triptofano e possuem amplo espectro de ação nos órgãos humanos. São encontrados em algumas plantas e fungos, e podem funcionar como compostos endógenos em alguns mamíferos[43,50].

Inicialmente, pensava-se que a utilização desses alcaloides se devia apenas à sua capacidade de inibir de forma reversível a atividade da MAO no fígado e intestino, atenuando a desaminação em primeira passagem do DMT e facilitando sua entrada na circulação sistêmica, onde desempenha seu efeito psicoativo. Entretanto, hoje sabe-se que além do papel de facilitador periférico, eles também exercem efeitos inibidores seletivos da recaptação de serotonina[9,13,51,52].

Esses alcaloides têm uma ampla gama de ações farmacológicas, podendo-se destacar a ação antioxidante, proveniente de suas propriedades semelhantes às de seus precursores triptofano e triptaminas, conhecidos por sua atividade contra o dano oxidativo, através da ação de detoxificação de EROs[53–56].

Além disso, as β-carbolinas se ligam ao sítio benzodiazepínico dos receptores do ácido gama-aminobutírico A (GABAA) como agonistas inversos. Possuem caráter ansiogênico ou exibem propriedades ansiolíticas, dependendo da dose. Esses alcaloides também se ligam a outros receptores de neurotransmissores no cérebro, incluindo receptores de 5-hidroxitriptamina (5-HT) e dopamina[52,57]. Especificamente, a harmina possui afinidade moderada com o receptor 5-HT2A e baixa com o 5-HT2C, além de aumentar o efluxo de dopamina evocado eletricamente no núcleo accumbens de ratos, um efeito inibido pela cetanserina, sugerindo um mecanismo agonista dependente de 5-HT2A[58].

O DMT, metabólito da triptamina, é uma molécula simples, de baixo peso molecular e semelhante a moléculas encontradas naturalmente no organismo, como a serotonina e a melatonina e, portanto, atravessa facilmente a BHE[59]. É o principal componente da AYA e pode estar presente em um grande número de plantas[59]. Esse alcaloide indólico exerce efeitos ansiolíticos e antidepressivos, e estes se devem ao agonismo do receptor 5-HT1A[15,60]. Já seus efeitos alucinógenos se devem principalmente à sua ligação aos receptores 5-HT2A[45], e sabe-se que a estimulação deles, à longo prazo, aumenta a expressão de BDNF, o qual está envolvido na plasticidade sináptica e tem sido associado a diversos aspectos da cognição, como memória e atenção[15,17].

Essa molécula também interage com outros alvos moleculares não serotoninérgicos, como o receptor sigma-1 intracelular (σ1R), que está associado ao retículo endoplasmático, modulando a atividade de outras proteínas e promovendo a neuroplasticidade por meio da formação da coluna dendrítica[16]. Ainda, outro membro do grupo dimetiltriptamina é o 5-methoxy-N-N-dimethyltryptamina (5-MeO-DMT), um análogo estrutural da serotonina e da melatonina, e análogo funcional de outros tipos de psicodélicos. Essas substâncias também podem atuar como reguladores endógenos sistêmicos da inflamação e homeostase imune, mediante receptores 5-hidroxitriptamina (5HTRs) e σ-1Rs[14,61].

Quando administrado por via endovenosa, em humanos, os níveis de DMT sanguíneo máximos e seus efeitos subjetivos ocorrem após 2 minutos, se tornando insignificantes aos 30 minutos. Já por via oral, como consumido na forma da ayahuasca, sua cinética é menor, tendo seu efeito máximo por volta dos 107 minutos e 259 minutos como tempo de meia vida[59,62].

A atividade farmacológica da ayahuasca é dependente do uso concomitante da *P. viridis* e da *B. caapi*. Quando administrado sozinho, por via oral, o DMT sofre rápida degradação de primeira passagem realizada pela MAO-A, perdendo assim sua atividade. No entanto, quando administrados em conjunto, as β-carbolinas presentes na *B. caapi* (especialmente a harmina) inibem a MAO-A temporariamente, impedindo que a degradação do DMT ocorra no trato gastrointestinal, permitindo que atinja a circulação sistêmica e o SNC[9,13,43,63].

Dakic et al. (2017), utilizando organoides cerebrais (popularmente chamados de mini cérebros) com 45 dias, após 24 horas do tratamento com 5-MeO-DMT, observaram a formação e maturação de novas espinhas dendríticas, via proteínas implicadas na formação de protusão celular, dinâmica de microtúbulos e reorganização de citoesqueleto. Diante deste achado eles sugerem que este composto modula a resposta anti-neuroinflamatória. Os efeitos anti-neuroinflamatórios apresentados condizem com resultados previamente relatados em células dendríticas derivadas de monócitos humanos, onde a liberação inflamatória de citocinas e quimiocinas mostrou-se bloqueada[14].

Outro achado do estudo de Dakic e pesquisadores (2017) foi a descoberta de que as vias associadas à morte celular nos organoides cerebrais foram inibidas pelo 5-MeO-DMT[14]. Também utilizando o 5-Meo-DMT, Morales-García et al. (2017) estudaram em organoides celulares as alterações potencialmente benéficas da

substância psicodélica em circuitos cerebrais associados à neuroplasticidade, inflamação e neurodegeneração. Foi observado o aumento da expressão de proteínas importantes na formação de sinapses, entre elas, proteínas relacionadas aos mecanismos celulares de aprendizado e memória, nos organoides tratados com DMT. Houve também uma redução na expressão de proteínas envolvidas em inflamação, degeneração e lesão cerebral, sugerindo que a substância exerce um potencial papel de proteção neural[8].

Dakic et al. (2017) também mostraram que a utilização de AYA no tratamento de organoides celulares resultou na redução da expressão de proteínas envolvidas em degeneração e lesão cerebral, bem como no aumento da expressão de proteínas associadas a mecanismos celulares de aprendizado e memória[14]. Outro estudo, de Osório e pesquisadores, demonstrou que AYA tem efeitos antidepressivos agudos significativos e bastante impressionantes[64].

Desta forma, levando em consideração as diversas patologias associadas à neuroinflamação e a crescente busca por novas substâncias capazes de reverter esse processo, substâncias psicoativas, como a ayahuasca, surgem como possíveis estratégias terapêuticas no tratamento desses transtornos.

1.1.6 Toxicidade da ayahuasca

A AYA, semelhante a outros psicodélicos triptamina, não é considerada uma substância capaz de produzir vício. Embora faltem estudos mais aprofundados sobre o risco de abuso, até o presente momento não foi observado que a droga produza abstinência[65].

Os efeitos adversos frequentemente relatados, vômitos e diarreia, devem-se possivelmente ao aumento da estimulação 5-HT central do nervo vago e estimulação periférica do intestino[66]. Entretanto, estudos apontam que o efeito emético não foi considerado causa de desconforto grave, e que a náusea e exaustão são considerados transitórios e facilmente controláveis[66–68].

Apesar do crescente interesse em seu uso, pouco se sabe sobre os possíveis efeitos tóxicos relacionados à bebida. Pic-Taylor et al. demonstraram que a dose letal da ayahuasca, em ratos, é superior a 15,1 mg/kg de DMT, o que representa mais de 50x a dose usual[7,69]. No entanto, quando pesquisadores avaliaram, *in vitro*, o DMT não produziu danos celulares[70].

Pic-Taylor et al. também descobriram que o aumento da ativação serotoninérgica a partir dessas altas doses levou a alguma degeneração neural, mas nenhuma alteração permanente na estrutura do cérebro ou no número de células foi encontrada[69]. Ainda, Oliveira (2010) observou que ratas grávidas que consumiram altas doses de ayahuasca (10 vezes a dose humana normal) apresentaram redução no consumo de alimentos. Os ratos apresentaram ganho de peso diminuído, mas aumento do peso relativo do fígado, possivelmente indicando alguma hepatotoxicidade[71].

No entanto, Colaço et. al. submeteram ratos Wistar a um tratamento crônico de 28 dias utilizando doses 2 vezes maiores do que a dose comumente utilizada em rituais de ayahuasca, e não observou alteração nas análises hematolícas e bioquímicas para função hepática, renal e dano tecidual[72]. Ainda, um estudo de um ano comparando usuários de AYA com controles não demonstrou que seu uso por longo prazo pode induzir desajuste psicológico, deterioração da saúde mental ou prejuízo cognitivo[73].

É importante ressaltar, que devido a inibição da MAO, o uso da ayahuasca – ou de β-carbolinas isoladas – em conjunto com inibidores de recaptação de 5-HT, como antidepressivos, pode gerar efeitos adversos graves devido ao acúmulo de 5-HT nas sinapses, resultando em síndrome serotoninérgica[66,74]. Outros compostos com possíveis efeitos serotoninérgicos, como lítio de levodopa, também devem ter o uso concomitante evitado, pois podem precipitar essa condição fatal[65,66,74].

Tendo em vista o exposto, é fundamental considerar novas terapias para o tratamento de indivíduos neuroinflamados, uma vez que tal condição pode ser fator de risco para inúmeras doenças. Dessa forma, sabendo que a ayahuasca é uma bebida com grande potencial anti-neuroinflamatório, é importante reafirmar sua funcionalidade através de estudos científicos, bem como garantir seu uso seguro através de estudos de toxicidade. Neste sentido, pretende-se através de modelo pré-clínico de neuroinflamação mostrar o potencial terapêutico do uso da ayahuasca e se seu uso agudo em altas doses representa risco toxicológico ao indivíduo.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta neuroquímica e toxicológica à ayahuasca em ratos Wistar submetidos à neuroinflamação através da aplicação intraperitoneal de lipopolissacarídeo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Dosar a concentração dos alcaloides presentes na amostra de ayahuasca.
- Avaliar, através da análise de IL-4, IL-6, IL-10 e BDNF, os efeitos da ayahuasca sobre parâmetros bioquímicos em ratos submetidos à neuroinflamação por LPS.
- Avaliar os efeitos da ayahuasca sobre o dano oxidativo em lipídios e proteínas em ratos submetidos à neuroinflamação por LPS, através dos testes de carbonilação proteica e TBARS.
- Avaliar os efeitos da ayahuasca sobre mieloperoxidase em ratos submetidos à neuroinflamação por LPS.
- Avaliar os efeitos da ayahuasca sobre nitrito/nitrato em ratos submetidos à neuroinflamação por LPS.
- Avaliar os efeitos da ayahuasca sobre as enzimas antioxidantes SOD e CAT em ratos submetidos à neuroinflamação por LPS.
- Avaliar a toxicidade da ayahuasca através da análise de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), creatinina e ureia.

3. MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo experimental pré-clínico, com modelo animal de indução à neuroinflamação por lipopolissacarídeo.

3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Para dosagem dos componentes presentes na ayahuasca, foram utilizados equipamento de cromatografia em fase líquida de ultra eficiência, modelo Acquity System, acoplado à espectrômetro de massas triplo quadrupolo no modo tandem, modelo Quattro Premier, com ionização por eletrospray (UPLC-ESI-MS/MS), Waters Corporation, Milford, MA. Os equipamentos estão disponíveis no Laboratório de Análises Toxicológicas da Faculdade de Ciências farmacêuticas da USP (LAT/FCF/USP), parceira desse estudo.

Para sedação dos animais foi utilizado quetamina e xilasina (1:1). Para punção cardíaca e dissecação das estruturas encefálicas foram utilizadas seringas, agulhas e instrumentais cirúrgicos disponíveis no Laboratório de Neurociência Comportamental (LabNeC – Unisul).

Os reagentes utilizados para as análises neuroquímicas foram: ácido tiobarbitúrico, dinitrofenilhidrazina, epinefrina, catalase de fígado bovino, hidroperóxido de tert-butila, albumina bovina, e reagente de Griess (Sigma, St. Louis, MO), ácido tricloroacético, ácido fosfórico, peróxido de hidrogênio, glicina, EDTA, (Labsynth, São Paulo, Brazil). No que se refere aos equipamentos, as análises foram avaliadas em Espectrofotômetro (U2010, Hitachi) (Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos/NEUROIMet- UNISUL). Também foram utilizados kits de teste ELISA para IL-4, IL-6, IL-10 e BDNF (Laboratório de Neurociência Experimental).

Para as análises sanguíneas foram utilizados kits de AST, ALT, creatinina e ureia Gold Analisa®.

3.3 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar adultos, provenientes do biotério da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC/Florianópolis), com cerca de 90 dias.

Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos em temperatura controlada (22±1ºC) e ciclos de luz artificial (12 horas claro/escuro), recebendo ração comercial padronizada para ratos de laboratório e água *ad libitum*. Os animais foram manipulados por pessoas qualificadas para tratá-los de maneira humanitária, evitando dores e estresse desnecessários. Ao final dos experimentos, os animais foram eutanasiados por decapitação em guilhotina após anestesia, sob estrita obediência às prescrições científicas, de acordo com as normas do Conselho de Medicina Veterinária, sempre com a presença de um Médico Veterinário.

3.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO

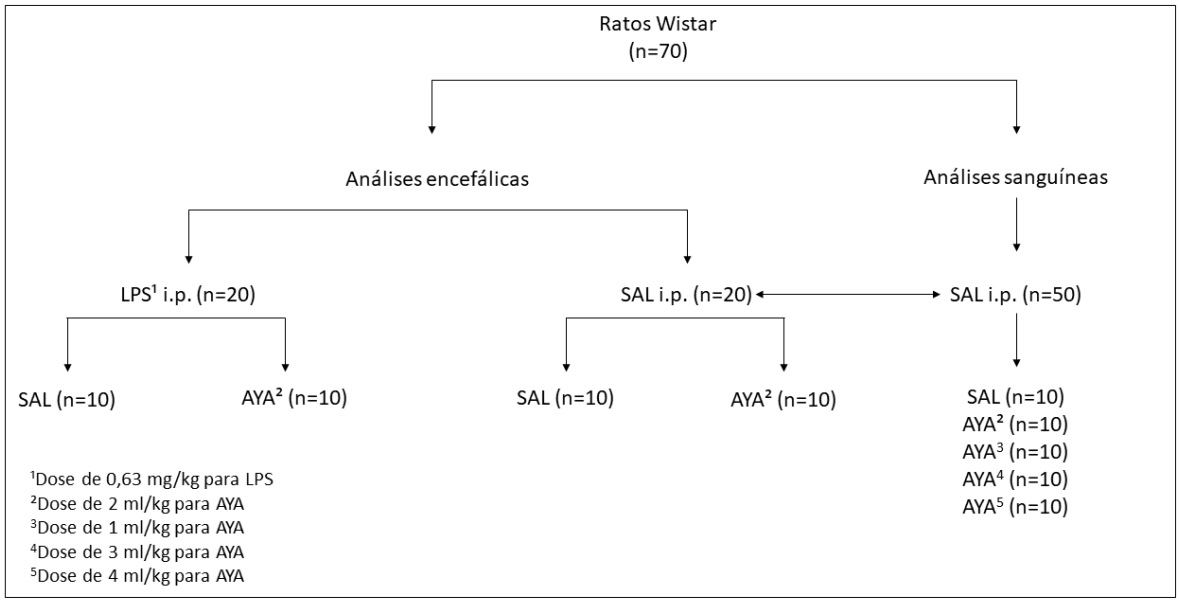
3.4.1 Indução da neuroinflamação

O grupo 1 (grupo LPS) foi constituído por roedores que receberam administração intraperitoneal (i.p.) de uma única injeção de lipopolissacarídeo (LPS) obtido por extração fenólica a partir de *Escherichia coli*, sorotipo 0127 : B8 (Sigma®), na dose de 0,63 mg/kg/ml, diluída em solução salina (NaCl 0,9%). O grupo 2 (grupo controle) foi constituído por animais que receberam administração de uma única injeção, via i.p., de solução salina. A dose de LPS foi baseada em estudos anteriores que utilizaram a aplicação da substância por via sistêmica como indutor de neuroinflamação e comportamento de doença em ratos[75–77].

3.4.2 Administração de ayahuasca

Para avaliação da ayahuasca sobre parâmetros neuroquímicos (análises encefálicas) e toxicológicos (análises sanguíneas), os animais foram divididos em subgrupos, conforme descrito na figura 1.

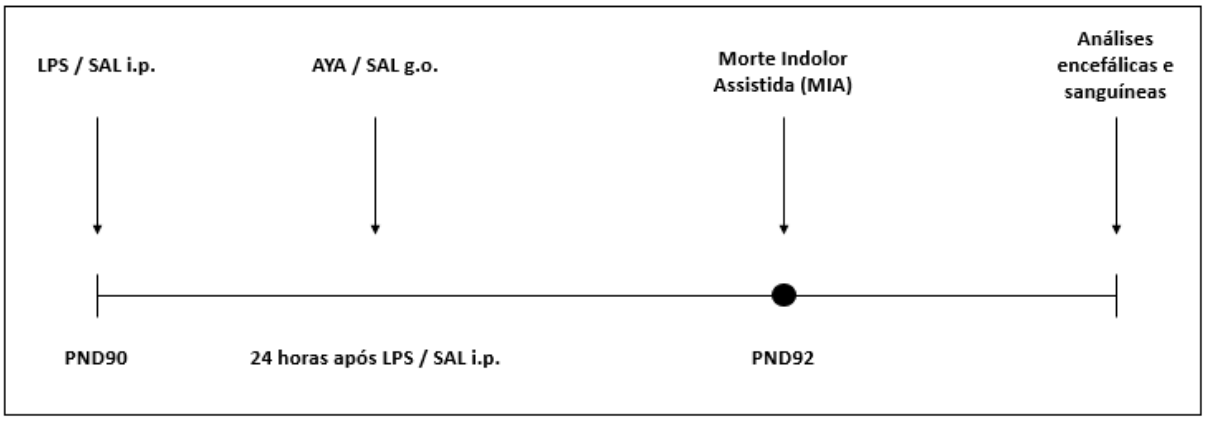
Figura 1. Protocolo terapêutico



Fonte: Próprio autor, 2021.

A dose utilizada para as análises encefálicas foi de 2 ml/kg e foi adaptada do estudo de Osório et al., que obteve bons resultados no efeito antidepressivo da ayahuasca. Para as análises sanguíneas foram utilizadas doses de 1 ml/kg, 2 ml/kg, 3 ml/kg, 4 ml/kg de ayahuasca.

Figura 2. Cronograma experimental



Fonte: Próprio autor, 2021.

3.4.3 Dosagem dos alcaloides presentes na ayahuasca

O preparo da amostra consiste em diluir a amostra de chá para uma proporção final de 1:5000 através de diluição seriada em três etapas (1:10 x 1:10 x 1:50). Primeiro dilui-se 100 µL da alíquota de chá em 900 µL de solução tampão formato de amônio 2 mM com 0,1% de ácido fórmico (Solução A). Desta, são retirados mais 100 µL e diluídos com 900 µL da Solução A e, finalmente, 100 µL desta última é diluído em 4900 µL da Solução A. A cada etapa de diluição a solução é submetida a agitação em vórtex para melhor homogeneização. Em 100 µL da solução final adicionam-se 10 µL do padrão interno (DMT-d6 1 µg/mL) para concentração final de 100 ng/mL. Por fim, 5 µL desta solução são injetados no sistema cromatografia em fase líquida de ultra eficiência, modelo Acquity System, acoplado à espectrômetro de massas triplo quadrupolo no modo tandem, modelo Quattro Premier, com ionização por eletrospray (UPLC-ESI-MS/MS).

Após quantificação, o valor obtido com a equação da reta é multiplicado por 5000 para correção da diluição.

Essa análise foi realizada pelo Laboratório de Toxicologia Analítica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, sobre a orientação do professor Maurício Yonamine. No entanto, essa metodologia ainda não foi publicada, impossibilitando sua referenciação.

3.4.4 Preparo das amostras

Para as análises bioquímicas, 24 horas após o tratamento com ayahuasca ou solução salina, os animais foram anestesiados e sofreram morte indolor assistida (MIA) por meio de guilhotina, e as estruturas cerebrais (cerebelo, córtex pré-frontal, hipocampo e hipotálamo) foram retiradas e armazenadas em freezer -80ºC.

Para as análises toxicológicas, foi retirado sangue através de punção cardíaca, no momento seguinte a morte do animal.

3.4.5 Análises bioquímicas

3.4.5.1 Determinação de citocinas e BDNF

As concentrações de IL-4, IL-6, IL-10 e BDNF foram determinadas pelo ensaio adsorvente ligado a enzima (ELISA) utilizando kit duo set (R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA). As amostras foram homogeneizadas em tampão PBS contendo triton 0,1% e inibidor de protease (50 mM - Roche AG, Basileia, Suíça) e, em seguida, centrifugadas (13000 rpm a 4 ºC durante 20 min). O sobrenadante foi recolhido e realizada a quantificação de proteína pelo kit de ensaio de proteína BCA (Thermo Scientific, EUA). O ensaio de ELISA foi realizado de acordo com as instruções do fabricante e a leitura realizada em 450 nm na leitora de microplacas (SPECTRAMAX, Molecular Devices, USA). Os valores foram apresentados em pg/mg proteína[78].

3.4.5.2 Concentração de Nitrito/Nitrato

Como indicativo de nível de ON, a concentração de N/N foi mensurada utilizando a reação de Griess, por adição de 100 µL de reagente de Griess 0,1% (w/v) em H_2O E 1% (w/v) de sulfanilamida em 5% (v/v) de H_3PO_4 concentrado, vol. [1:1] para 100 µL de amostra. A concentração de N/N foi avaliada em espectrofotômetro a 540 nm com resultados expressos em nmol/mg de proteína[79].

3.4.5.3 Atividade de Mieloperoxidase (MPO)

A atividade da MPO foi avaliada como indicativo de infiltrado de neutrófilos. O tecido foi homogeneizado (50 mg/ml) em brometo de hexadeciltrimetilamónio a 0,5% e centrifugado a 15.000 xg durante 40 min. Uma alíquota de sobrenadante foi misturada com uma solução de 1,6 tetrametilbenzidina mM e 1 mM de H2O2. A atividade da MPO foi medida espectrofotometricamente com o comprimento de onda à 650 nm a 37ºC e expresso em mU/mg de proteína[80].

3.4.5.4 Dano em lipídios pelos níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A formação de TBARS durante uma reação ácido-aquecimento é amplamente adotado como um método sensível para a medição da peroxidação lipídica. As amostras foram homogeneizadas e misturadas com 1 mL de ácido tricloroacético 10% e 1 ml de TBA 0,67%. Posteriormente, estes foram aquecidos em banho-maria com água a 100ºC durante 30 min. O equivalente de malondialdeído (MDA) foi determinado pela absorbância de 532 nm usando 1,1,3,3 - tetrametoxipropano como um padrão externo. Os resultados foram expressos como equivalentes de MDA (nmol/mg de proteína)[81].

3.4.5.5 Carbonilação proteica

O efeito do estresse oxidativo em proteínas foi avaliado por meio da determinação de grupamentos carbonilas baseada na reação com dinitrofenilhidrazina[82]. As proteínas foram precipitadas por adição de ácido tricloroacético a 20% e dissolvidas em dinitrofenilhidrazina, e a absorbância avaliada em 370 nm. Os resultados foram expressos como níveis de proteínas carboniladas por miligrama de proteína (nmol/mg de proteína).

3.4.5.6 Atividade das enzimas antioxidantes

A atividade da catalase (CAT) foi determinada medindo a taxa de decaimento da absorbância do peróxido de hidrogênio em 240nm conforme previamente descrito[83] e representada como unidades por miligrama de proteína. A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada pela inibição da auto oxidação da adrenalina medida espectrofotometricamente em 480nm conforme previamente descrito[84] e representada em unidades por miligrama de proteína.

3.4.6 Análises toxicológicas

3.4.6.1 Atividade das aminotransferases

As enzimas AST e ALT foram quantificadas através do método cinético-UV.

A AST catalisa a transferência do grupo amina do aspartato para o cetoglutarato com formação de glutamato e oxalacetato. O oxalacetato é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto a coenzima NADH é oxidada a NAD^+. A atividade enzimática da AST na amostra é calculada com base na redução da absorbância em 340 nm, quando o NADH se transforma em NAD^+[85].

A ALT catalisa a transferência do grupo amina da alanina para o cetoglutarato com formação de glutamato e piruvato. O piruvato é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), enquanto a coenzima NADH é oxidada a NAD^+. A atividade enzimática da ALT na amostra é calculada com base na redução da absorbância em 340 nm, quando o NADH se transforma em NAD^+[86].

3.4.6.2 Creatinina

A creatinina foi medida através do método cinético-colorimétrico. A creatinina e os interferentes presentes na amostra reagem com o picrato em meio alcalino originando um complexo colorido. Mede-se a velocidade de formação desse complexo em períodos iniciais curtos, evitando-se assim a interferência de outros compostos. Uma primeira leitura é feita aos 30 segundos iniciais da reação para eliminar o efeito dos interferentes de reação rápida. Aos 90 segundos de reação é feita uma segunda leitura, antes que os interferentes de reação lenta possam ter efeitos significativos. Dessa forma, a determinação fotométrica do produto final fica livre de interferentes, referindo-se exclusivamente à creatinina presente[87].

3.4.6.3 Ureia

A ureia foi medida através do método enzimático-colorimétrico. A ureia é hidrolisada pela urease em íons amônia e CO_2^-. Em meio alcalino, os íons amônia reagem com salicilato e hipoclorito de sódio, sob a ação catalisadora do nitroprussiato de sódio, para formar indofenol. A absorbância do complexo azul formado, medida em 600 nm, é diretamente proporcional à concentração de ureia na amostra analisada[88].

3.5 VARIÁVEIS DE ESTUDO

Quadro 1 – Variáveis de estudo.

Variáveis	Tipo	Natureza	Proposta de utilização
Neuroinflamação	Independente	Qualitativa nominal dicotômica	Sim Não
Dose de Ayahuasca	Independente	Qualitativa nominal politômica	0 1 2
Dosagem de Harmina na Ayahuasca	Dependente	Quantitativa contínua	mg/mL
Dosagem de Harmalina na Ayahuasca	Dependente	Quantitativa contínua	mg/mL
Dosagem de Tetrahidroharmina na Ayahuasca	Dependente	Quantitativa contínua	mg/mL
Dosagem de Dimetiltriptamina na Ayahuasca	Dependente	Quantitativa contínua	mg/mL
IL-4	Dependente	Quantitativa contínua	pg/mL
IL-6	Dependente	Quantitativa contínua	pg/mL
IL-10	Dependente	Quantitativa contínua	pg/mL
BDNF	Dependente	Quantitativa contínua	pg/mL
TBARS	Dependente	Quantitativa contínua	nmol/mg
Mieloperoxidase	Dependente	Quantitativa continua	mU/mg
Nitrito/Nitrato	Dependente	Quantitativa continua	nmol/mg

Carbonilação proteica	Dependente	Quantitativa continua	nmol/mg
SOD	Dependente	Quantitativa continua	mU/mg
CAT	Dependente	Quantitativa continua	mU/mg
AST	Dependente	Quantitativa continua	U/L
ALT	Dependente	Quantitativa continua	U/L
Creatinina	Dependente	Quantitativa continua	mg/dL
Ureia	Dependente	Quantitativa continua	mg/dL

Fonte: Próprio autor, 2021.

3.6 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

A análise estatística foi realizada através do programa estatístico GraphPad Prism versão 7. Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo post hoc de Dunnet e/ou Tukey (dados paramétricos). Já os dados não paramétricos foram analisados por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguidos de pós-testes de Dunns. A significância estatística foi considerada quando $p<0,05$.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

A utilização de animais seguiu a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos e os procedimentos experimentais foram realizados após aprovação da Comissão de Ética em Utilização de Animais (CEUA) da Universidade do Sul de Santa Catarina, sob o número 20.037.2.10.IV.

4. ARTIGO(S)

Avaliação de parâmetros neuroquímicos da ayahuasca em ratos submetidos ao modelo de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo

MARINA G. SILVA, GUILHERME C. DAROS, LARISSA JOAQUIM, EVERTON LANZZARION, CAMILA VIEIRA HILLESHEIN, FABIANA PEREIRA SANTOS, MAURICIO YONAMINE, FABRÍCIA PETRONILHO, FRANCIANE BOBINSKI, RAFAEL M. BITENCOURT

Resumo: A neuroinflamação se dá através da resposta celular e molecular do sistema nervoso central a fim de extirpar um dano ou infecção. Em modelo animal é comumente induzida através da aplicação de lipopolissacarídeo. Como a neuroinflamação tem sido associada à diversas condições, cresce o interesse pela descoberta de novas substâncias capazes de trazer benefícios à saúde desses pacientes. Por isso, o objetivo desse estudo foi investigar a resposta neuroquímica à ayahuasca em ratos Wistar submetidos à administração intraperitoneal de lipopolissacarídeo (0,63 mg/kg). O cerebelo, córtex pré-frontal, hipocampo e hipotálamo desses animais foram submetidos à dosagem de IL-4, IL-6, IL-10 e BDNF, carbonilação proteica, TBARS, mieloperoxidase, nitrito/nitrato, SOD e CAT. No entanto, não foi possível avaliar a capacidade da ayahuasca de amenizar ou reverter os danos encefálicos causados pela endotoxina, já que esta não foi capaz de promover as mudanças em parâmetros encefálicos compatíveis com a neuroinflamação. Foram levantadas hipóteses sobre qual viés afetou o resultado do estudo, e concluiu-se que a não validade do modelo de neuroinflamação ocorreu por conta do pó liofilizado de lipopolissacarídeo utilizado, que por ser extremamente sensível apresenta facilmente alterações em suas características físicas e químicas.

Palavras-chave: Neuroinflamação, lipopolissacarídeo, ayahuasca.

Potencial tóxico do uso agudo de doses elevadas de ayahuasca

Marina Goulart da Silva[a*], Guilherme Cabreira Daros[a], Linério Novaes[a], Fabiana Pereira Santos[b], Mauricio Yonamine[b], Rafael Mariano de Bitencourt[a]

Resumo

A ayahuasca é uma bebida enteógena, semelhante a um chá, utilizada há milênios com fins terapêuticos e religiosos por grupos indígenas e pela população amazônica. Constituída, essencialmente, por β-carbolinas e triptaminas, exerce efeitos terapêuticos em transtornos comportamentais devido à inibição da enzima monoaminoxidase e a ativação de receptores serotoninérgicos, demonstrados através de estudos pré-clínicos e clínicos. Entretanto, apesar de cada vez mais utilizada em rituais espirituais, pouco se sabe sobre a concentração dos alcaloides psicoativos presentes no chá e sobre o potencial toxicológico de seu uso a longo prazo. Até o presente momento, nenhum estudo avaliou seus efeitos tóxicos com o uso agudo de altas doses. Assim, o objetivo desse estudo foi quantificar os alcaloides harmina, harmalina, tetrahidroharmina e dimetiltriptamina presentes no chá, bem como avaliar parâmetros sanguíneos de lesão hepática e renal em ratos Wistar que receberam diferentes doses da bebida. Foi encontrado elevação nos níveis séricos de AST e ureia nos animais tratados com 3 e 4 ml/kg de ayahuasca contendo 0,10 mg/mL de harmalina, 2,43 mg/mL de harmina, 1,43 mg/mL de tetrahidroharmina e 1,40 mg/mL de dimetiltriptamina, o que condiz com dano ao fígado e rins, respectivamente. Tendo em vista que as doses que demonstraram potencial tóxico são 3 e 4 vezes maiores do que a dose usualmente utilizada, concluiu-se que, o uso moderado da bebida, por uma única vez (forma avaliada neste estudo) parece seguro. No entanto, o uso indiscriminado pode causar efeitos tóxicos e lesão a órgãos com função metabólica e excretora.

Palavras-chave: Ayahuasca; Alcaloides; Toxicidade.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, não foi possível concluir os efeitos da ayahuasca sobre os danos encefálicos causados pela administração intraperitoneal de lipopolissacarídeo, já que esta não foi capaz de promover as mudanças em parâmetros encefálicos compatíveis com a neuroinflamação. Foram levantadas hipóteses sobre qual viés afetou o resultado do estudo, e concluiu-se que a não validade do modelo de neuroinflamação ocorreu por conta do pó liofilizado de lipopolissacarídeo utilizado, que por ser extremamente sensível apresenta facilmente alterações em suas características físicas e químicas.

Em relação aos achados toxicológicos, observou-se que as doses de 3 e 4 ml/kg de ayahuasca apresentaram potencial hepatotóxico e nefrotóxico devido às alterações nos níveis de AST e ureia. Entretanto, esses valores são equivalentes a 3 e 4 vezes a dose usualmente utilizada por indivíduos em rituais. Concluiu-se então, que o uso moderado da bebida, por uma única vez, que foi a única forma de utilização abordada neste estudo, parece ser seguro. No entanto, mais estudos são necessários para obtermos respostas relacionadas ao perfil de segurança do uso crônico da ayahuasca.

REFERÊNCIAS

1. Guerra MCB. Efeito do LPS e de anti-inflamatórios sobre a secreção de S100B em cultura de astrócitos. [Porto Alegre]: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2014.
2. Shastri A, Bonifati DM, Kishore U. Innate immunity and neuroinflammation. Mediators Inflamm. 2013;2013.
3. Streit WJ, Mrak RE, Griffin WST. Microglia and neuroinflammation: A pathological perspective. J Neuroinflammation [Internet]. 2004 Jul 30 [cited 2020 Mar 3];1(1):14. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15285801
4. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms Underlying Inflammation in Neurodegeneration. Vol. 140, Cell. NIH Public Access; 2010. p. 918–34.
5. Skelly DT, Hennessy E, Dansereau M-A, Cunningham C. A systematic analysis of the peripheral and CNS effects of systemic LPS, IL-1β, [corrected] TNF-α and IL-6 challenges in C57BL/6 mice. PLoS One [Internet]. 2013 [cited 2019 Oct 22];8(7):e69123. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23840908
6. Cruz-Machado S da S. Lipopolissacarídeo (LPS): ativador e regulador da transcrição gênica via fator de transcrição NFKB. Rev da Biol. 2010 Jun;4:40–3.
7. Silva MG da, Daros GC, Bitencourt RM De. Anti-inflammatory activity of ayahuasca : therapeutical implications in neurological and psychiatric diseases. Behav Brain Res [Internet]. 2020;400. Available from: https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113003
8. Morales-García JA, De La Fuente Revenga M, Alonso-Gil S, Rodríguez-Franco MI, Feilding A, Perez-Castillo A, et al. The alkaloids of Banisteriopsis caapi, the plant source of the Amazonian hallucinogen Ayahuasca, stimulate adult neurogenesis in vitro. Sci Rep. 2017;7(1):1–13.
9. Pires APS, Oliveira CDR, Yonamine M. Ayahuasca: A review of pharmacological and toxicological aspects. Rev Ciencias Farm Basica e Apl. 2010;31(1):15–30.
10. dos Santos RG, Osório FL, Crippa JAS, Hallak JEC. Antidepressive and

anxiolytic effects of ayahuasca: A systematic literature review of animal and human studies. Rev Bras Psiquiatr. 2016;38(1):65–72.

11. dos Santos RG, Osório FL, Crippa JAS, Riba J, Zuardi AW, Hallak JEC. Antidepressive, anxiolytic, and antiaddictive effects of ayahuasca, psilocybin and lysergic acid diethylamide (LSD): a systematic review of clinical trials published in the last 25 years. Ther Adv Psychopharmacol. 2016;6(3):193–213.
12. Santos RG dos, Hallak JEC. Effects of the Natural β -Carboline Alkaloid Harmine , a Main Constituent of Ayahuasca , in Memory and in the Hippocampus : A Systematic Literature Review of Preclinical Studies Effects of the Natural β -Carboline Alkaloid Harmine , a Main Constituent of. J Psychoactive Drugs [Internet]. 2016;00(00):1–10. Available from: http://dx.doi.org/10.1080/02791072.2016.1260189
13. Frecska E, Bokor P, Winkelman M. The therapeutic potentials of ayahuasca: Possible effects against various diseases of civilization. Front Pharmacol. 2016 Mar 2;7(MAR):1–17.
14. Dakic V, Minardi Nascimento J, Costa Sartore R, MacIel RDM, De Araujo DB, Ribeiro S, et al. Short term changes in the proteome of human cerebral organoids induced by 5-MeO-DMT. Sci Rep [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2019 Oct 22];7(1):1–13. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-12779-5
15. Domínguez-Clavé E, Soler J, Elices M, Pascual JC, Álvarez E, de la Fuente Revenga M, et al. Ayahuasca: Pharmacology, neuroscience and therapeutic potential. Brain Res Bull [Internet]. 2016 Sep [cited 2019 Oct 22];126(Pt 1):89–101. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26976063
16. Fontanilla D, Johannessen M, Hajipour AR, Cozzi N V, Jackson MB, Ruoho AE. The hallucinogen N,N-dimethyltryptamine (DMT) is an endogenous sigma-1 receptor regulator. Science [Internet]. 2009 Feb 13 [cited 2019 Oct 22];323(5916):934–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19213917
17. González-Maeso J, Weisstaub N V., Zhou M, Chan P, Ivic L, Ang R, et al. Hallucinogens Recruit Specific Cortical 5-HT 2A Receptor-Mediated Signaling Pathways to Affect Behavior. Neuron [Internet]. 2007 Feb 1 [cited 2019 Oct 22];53(3):439–52. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17270739

18. Ransohoff RM, Brown MA. Innate immunity in the central nervous system. J Clin Invest [Internet]. 2012 Apr 2 [cited 2020 Mar 3];122(4):1164–71. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22466658
19. Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. Int Immunol. 2009;21(4):317–37.
20. Davalos D, Grutzendler J, Yang G, Kim J V., Zuo Y, Jung S, et al. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. Nat Neurosci [Internet]. 2005 Jun 15 [cited 2020 Mar 3];8(6):752–8. Available from: http://www.nature.com/articles/nn1472
21. Carpentier PA, Begolka WS, Olson JK, Elhofy A, Karpus WJ, Miller SD. Differential activation of astrocytes by innate and adaptive immune stimuli. Glia. 2005 Feb;49(3):360–74.
22. Wohleb ES, Patterson JM, Sharma V, Quan N, Godbout JP, Sheridan JF. Knockdown of interleukin-1 receptor type-1 on endothelial cells attenuated stress-induced neuroinflammation and prevented anxiety-like behavior. J Neurosci [Internet]. 2014 Feb 12 [cited 2019 Oct 22];34(7):2583–91. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24523548
23. Leon CG, Tory R, Jia J, Sivak O, Wasan KM. Discovery and Development of Toll-Like Receptor 4 (TLR4) Antagonists: A New Paradigm for Treating Sepsis and Other Diseases. Pharm Res [Internet]. 2008 Aug 21 [cited 2020 Mar 3];25(8):1751–61. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s11095-008-9571-x
24. Noh H, Jeon J, Seo H. Systemic injection of LPS induces region-specific neuroinflammation and mitochondrial dysfunction in normal mouse brain. Neurochem Int [Internet]. 2014 Apr [cited 2019 Oct 22];69:35–40. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24607701
25. Tuin A, Huizinga-Van der Vlag A, van Loenen-Weemaes A-MMA, Meijer DKF, Poelstra K. On the role and fate of LPS-dephosphorylating activity in the rat liver. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol [Internet]. 2006 Feb [cited 2019 Oct 22];290(2):G377-85. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16223948
26. Glezer I, Simard AR, Rivest S. Neuroprotective role of the innate immune system by microglia. Neuroscience [Internet]. 2007 Jul 29 [cited 2020 Mar 3];147(4):867–83. Available from:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17459594

27. Netea M, Ferwerda G, van der Graaf C, Van der Meer JW, Kullberg BJ. Recognition of fungal pathogens by toll-like receptors. Curr Pharm Des [Internet]. 2006 Oct 28 [cited 2021 Dec 16];12(32):4195–201. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17100622/
28. Shoham S, Huang C, Chen J-M, Golenbock DT, Levitz SM. Toll-like receptor 4 mediates intracellular signaling without TNF-alpha release in response to Cryptococcus neoformans polysaccharide capsule. J Immunol [Internet]. 2001 Apr 1 [cited 2021 Dec 16];166(7):4620–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11254720/
29. Shimazu R, Akashi S, Ogata H, Nagai Y, Fukudome K, Miyake K, et al. MD-2, a Molecule that Confers Lipopolysaccharide Responsiveness on Toll-like Receptor 4. J Exp Med [Internet]. 1999 Jun 7 [cited 2021 Dec 16];189(11):1777. Available from: /pmc/articles/PMC2193086/
30. Kipp M, Norkute A, Johann S, Lorenz L, Braun A, Hieble A, et al. Brain-Region-Specific Astroglial Responses In Vitro After LPS Exposure. J Mol Neurosci [Internet]. 2008 Jun 29 [cited 2020 Mar 3];35(2):235–43. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18373222
31. Andrades M, Ritter C, De Oliveira MR, Streck EL, Fonseca Moreira JC, Dal-Pizzol F. Antioxidant treatment reverses organ failure in rat model of sepsis: Role of antioxidant enzymes imbalance, neutrophil infiltration, and oxidative stress. J Surg Res. 2011 May 15;167(2).
32. Netto MB, de Oliveira Junior AN, Goldim M, Mathias K, Fileti ME, da Rosa N, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction contributes to postoperative cognitive dysfunction in elderly rats. Brain Behav Immun. 2018 Oct 1;73:661–9.
33. Teixeira MSSR. Stress oxidativo e dano no dna na doença inflamatória intestinal. Arq Med. 2013;27(6):248–55.
34. Ferguson LR. Chronic inflammation and mutagenesis. Vol. 690, Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. Mutat Res; 2010. p. 3–11.
35. Macdonald J, Galley HF, Webster NR. Oxidative stress and gene expression in sepsis. Br J Anaesth [Internet]. 2003 Feb;90(2):221–32. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091217368964
36. Ramos VA, Ramos PA, Dominguez MC. Papel do estresse oxidativo na

manutenção da inflamação em pacientes com artrite reumatóide huvenil. J pediatr (Rio J). 2000;76:125–32.

37. Urrutia P, Aguirre P, Esparza A, Tapia V, Mena NP, Arredondo M, et al. Inflammation alters the expression of DMT1, FPN1 and hepcidin, and it causes iron accumulation in central nervous system cells. J Neurochem. 2013 Aug;126(4):541–9.
38. Urrutia PJ, Mena NP, Núñez MT. The interplay between iron accumulation, mitochondrial dysfunction, and inflammation during the execution step of neurodegenerative disorders. Vol. 5 MAR, Frontiers in Pharmacology. Frontiers Media SA; 2014.
39. Tremblay MĚ, Lowery RL, Majewska AK. Microglial interactions with synapses are modulated by visual experience. PLoS Biol. 2010 Nov;8(11).
40. Zhou H, Lapointe BM, Clark SR, Zbytnuik L, Kubes P. A Requirement for Microglial TLR4 in Leukocyte Recruitment into Brain in Response to Lipopolysaccharide. J Immunol. 2006 Dec 1;177(11):8103–10.
41. Dos Santos RG, Balthazar FM, Bouso JC, Hallak JEC. The current state of research on ayahuasca: A systematic review of human studies assessing psychiatric symptoms, neuropsychological functioning, and neuroimaging. J Psychopharmacol. 2016;30(12):1230–47.
42. Estrella-Parra EA, Almanza-Pérez JC, Alarcón-Aguilar FJ. Ayahuasca: Uses, Phytochemical and Biological Activities. Nat Products Bioprospect [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2020 Feb 18];9(4):251–65. Available from: /pmc/articles/PMC6646606/
43. McKenna DJ. Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: Rationale and regulatory challenges. In: Pharmacology and Therapeutics. Pergamon; 2004. p. 111–29.
44. Garrido RG, Sabino BD. Ayahuasca: entre o legal e o cultural. Saúde, Ética & Justiça. 2009;14(2):44–53.
45. Aghajanian GK, Marek GJ. Serotonin induces excitatory postsynaptic potentials in apical dendrites of neocortical pyramidal cells. Neuropharmacology. 1997 Apr;36(4–5):589–99.
46. Barbosa PCR, Giglio JS, Dalgalarrondo P. Altered States of Consciousness and Short-Term Psychological After-Effects Induced by the First Time Ritual Use of Ayahuasca in an Urban Context in Brazil Altered States of

Consciousness and Short-Terin Psychological After-Effects Induced b y the First Ti. J Psychoactive Drugs. 2005;37:193–201.

47. Cameron LP, Olson DE. Dark Classics in Chemical Neuroscience: N , N - Dimethyltryptamine (DMT). ACS Chem Neurosci. 2018;9:2344–57.
48. Horák M, Hasíková L, Verter N. Therapeutic Potential Ascribed to Ayahuasca by Users in the Czech Republic. J Psychoactive Drugs. 2018 Oct 20;50(5):430–6.
49. Almeida DF de, Silva ALP, Assis TJCF de. Dimetiltriptamina : alcalóide alucinógeno e seus efeitos no Sistema Nervoso Central. 2018;2(1):28–33.
50. Moura DJ, Richter MF, Boeira JM, Pêgas Henriques JA, Saffi J. Antioxidant properties of β-carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities. Mutagenesis [Internet]. 2007 Jul [cited 2020 Feb 18];22(4):293–302. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17545209
51. McKenna DJ, Towers GHN, Abbott F. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: Tryptamine and β-carboline constituents of Ayahuasca. J Ethnopharmacol [Internet]. 1984 Apr [cited 2020 Feb 19];10(2):195–223. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6587171
52. Farzin D, Mansouri N. Antidepressant-like effect of harmane and other β-carbolines in the mouse forced swim test. Eur Neuropsychopharmacol [Internet]. 2006 Jul [cited 2020 Feb 19];16(5):324–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16183262
53. Tse SY, Mak IT, Dickens BF. Antioxidative properties of harmane and beta-carboline alkaloids. Biochem Pharmacol [Internet]. 1991 Jul 15 [cited 2020 Feb 19];42(3):459–64. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1859459
54. Uemura T, Kanashiro M, Yamano T, Hirai K, Miyazaki N. Isolation, Structure, and Properties of the B-Carboline Formed from 5-Hydroxytryptamine by the Superoxide Anion-Generating System. J Neurochem [Internet]. 1988 Sep 1 [cited 2020 Feb 19];51(3):710–7. Available from: http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-4159.1988.tb01802.x
55. Christen S, Peterhans E, Stocker R. Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: possible implication for inflammatory diseases. Proc Natl Acad Sci

[Internet]. 1990 Apr 1 [cited 2020 Feb 19];87(7):2506–10. Available from: http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.87.7.2506

56. Hoon K, Sablin SO, Ramsay RR. Inhibition of monoamine oxidase A by β-Carboline derivatives. Arch Biochem Biophys. 1997 Jan 1;337(1):137–42.
57. Müller WE, Fehske KJ, Borbe HO, Wollert U, Nanz C, Rommelspacher H. On the neuropharmacology of Harmane and other β-carbolines. Pharmacol Biochem Behav. 1981;14(5):693–9.
58. Brierley DI, Davidson C, D.I. B, C. D. Developments in harmine pharmacology — Implications for ayahuasca use and drug-dependence treatment. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry [Internet]. 2012 Dec 3 [cited 2020 Feb 18];39(2):263–72. Available from: http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=2012579502
59. Strassman RJ, Qualls CR. Dose-Response Study of N, N-Dimethyltryptamine in Humans: I. Neuroendocrine, Autonomic, and Cardiovascular Effects. Arch Gen Psychiatry. 1994 Feb 1;51(2):85–97.
60. Jacob MS, Presti DE. Endogenous psychoactive tryptamines reconsidered: An anxiolytic role for dimethyltryptamine. Med Hypotheses. 2005 Jan 1;64(5):930–7.
61. Carbonaro TM, Gatch MB. Neuropharmacology of N,N-dimethyltryptamine. Vol. 126, Brain Research Bulletin. Elsevier Inc.; 2016. p. 74–88.
62. Callaway JC, McKenna DJ, Grob CS, Brito GS, Raymon LP, Poland RE, et al. Pharmacokinetics of Hoasca alkaloids in healthy humans. J Ethnopharmacol. 1999 Jun;65(3):243–56.
63. Carlini EA. Plants and the central nervous system. Vol. 75, Pharmacology Biochemistry and Behavior. Elsevier Inc.; 2003. p. 501–12.
64. de Osório FL, Sanches RF, Macedo LR, dos Santos RG, Maia-De-Oliveira JP, Wichert-Ana L, et al. Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: A preliminary report. Rev Bras Psiquiatr. 2015;37(1):13–20.
65. Malcolm BJ, Lee KC. Ayahuasca: An ancient sacrament for treatment of contemporary psychiatric illness? Ment Heal Clin [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2021 Dec 19];7(1):39–45. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29955496/

66. Brito-da-costa AM, Dias-da-silva D, Gomes NGM, Dinis-oliveira RJ, Madureira-carvalho Á. Toxicokinetics and Toxicodynamics of Ayahuasca Alkaloids N,N-Dimethyltryptamine (DMT), Harmine, Harmaline and Tetrahydroharmine: Clinical and Forensic Impact. Pharmaceuticals [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2021 Nov 24];13(11):1–39. Available from: /pmc/articles/PMC7690791/
67. Cameron LP, Olson DE. Dark Classics in Chemical Neuroscience: N, N-Dimethyltryptamine (DMT). ACS Chem Neurosci [Internet]. 2018 Oct 17 [cited 2021 Dec 19];9(10):2344–57. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30036036/
68. Sanches RF, De Lima Osório F, Santos RGD, Macedo LRH, Maia-De-Oliveira JP, Wichert-Ana L, et al. Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression a SPECT study. J Clin Psychopharmacol [Internet]. 2016 Feb [cited 2020 Feb 28];36(1):77–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26650973/
69. Pic-Taylor A, da Motta LG, de Morais JA, Junior WM, Santos A de FA, Campos LA, et al. Behavioural and neurotoxic effects of ayahuasca infusion (Banisteriopsis caapi and Psychotria viridis) in female Wistar rat. Behav Processes [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2020 Feb 28];118:102–10. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376635715001278
70. Rickli A, Moning OD, Hoener MC, Liechti ME. Receptor interaction profiles of novel psychoactive tryptamines compared with classic hallucinogens. Eur Neuropsychopharmacol [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2020 Feb 28];26(8):1327–37. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924977X16300426
71. Oliveira CDR, Moreira CQ, Sá LRM de, Spinosa H de S, Yonamine M. Maternal and Developmental Toxicity of Ayahuasca in Wistar Rats. 2010;89(March):207–12.
72. Colaço CS, Alves SS, Nolli LM, Pinheiro WO, de Oliveira DGR, Santos BWL, et al. Toxicity of ayahuasca after 28 days daily exposure and effects on monoamines and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in brain of Wistar rats. Metab Brain Dis [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2021 Dec 19];35(5):739–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32103409/
73. Bouso JC, González D, Fondevila S, Cutchet M, Fernández X, Ribeiro Barbosa PC, et al. Personality, psychopathology, life attitudes and neuropsychological

performance among ritual users of Ayahuasca: a longitudinal study. PLoS One [Internet]. 2012 Aug 8 [cited 2021 Dec 19];7(8). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22905130/

74. Volpi-Abadie J, Kaye AM, Kaye AD. Serotonin Syndrome. Ochsner J [Internet]. 2013 [cited 2021 Dec 19];13(4):533. Available from: /pmc/articles/PMC3865832/
75. Hoban DB, Connaughton E, Connaughton C, Hogan G, Thornton C, Mulcahy P, et al. Further characterisation of the LPS model of Parkinson's disease: A comparison of intra-nigral and intra-striatal lipopolysaccharide administration on motor function, microgliosis and nigrostriatal neurodegeneration in the rat. Brain Behav Immun [Internet]. 2013 Jan [cited 2019 Oct 22];27(1):91–100. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159112004618
76. Qin L, Liu Y, Hong J-S, Crews FT. NADPH oxidase and aging drive microglial activation, oxidative stress, and dopaminergic neurodegeneration following systemic LPS administration. Glia [Internet]. 2013 Jun [cited 2019 Oct 22];61(6):855–68. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23536230
77. Biesmans S, Meert TF, Bouwknecht JA, Acton PD, Davoodi N, De Haes P, et al. Systemic Immune Activation Leads to Neuroinflammation and Sickness Behavior in Mice. Mediators Inflamm [Internet]. 2013 [cited 2019 Nov 10];2013. Available from: http://dx.
78. Rodrigues JF. Sensibilidade à encefalopatia associada à sepse: comparação entre animais sedentários e não sedentários. [Tubarão]: Universidade do Sul de Santa Catarina; 2017.
79. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. Anal Biochem [Internet]. 1982 Oct [cited 2020 Mar 3];126(1):131–8. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/000326978290118X
80. Young LM, Kheifets JB, Ballaron SJ, Young JM. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. Agents Actions [Internet]. 1989 Mar [cited 2020 Mar 3];26(3–4):335–41. Available from: http://link.springer.com/10.1007/BF01967298
81. Esterbauer H, Cheeseman KH. [42] Determination of aldehydic lipid

peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In: Methods in Enzymology [Internet]. 1990 [cited 2020 Mar 3]. p. 407–21. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/007668799086134H

82. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz A-G, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In: Methods in Enzymology [Internet]. Methods Enzymol; 1990 [cited 2020 Mar 3]. p. 464–78. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/007668799086141H
83. Aebi H. Catalase in vitro. In: Methods in Enzymology [Internet]. 1984 [cited 2020 Mar 3]. p. 121–6. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0076687984050163
84. Bannister J V., Calabrese L. Assays for Superoxide Dismutase. In: Methods of biochemical analysis [Internet]. Methods Biochem Anal; 1987 [cited 2020 Mar 3]. p. 279–312. Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/9780470110539.ch5
85. Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Campos L. AST - PP [Internet]. Belo Horizonte; 2012. Available from: http://www.goldanalisa.com.br/arquivos/%7BE83DDC2A-663A-443A-8691-CB576A76F34E%7D_ast_pp.PDF
86. Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Campos L. ALT - PP. Belo Horizonte; 2012.
87. Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Campos L. Creatinina. 2013.
88. Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Campos L. Uréia - PP [Internet]. Belo Horizonte; 2012. Available from: www.goldanalisa.com.br

ANEXOS

ANEXO A- Parecer Aprovação do Comitê de Ética

Pró Reitoria Acadêmica - PROAC
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Palhoça, 10 de maio de 2021
Registro na CEUA Nº 20.037.2.10.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Rafael Mariano de Bitencourt

Prezado(a),

Viemos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Avaliação dos efeitos da ayahuasca nos parâmetros comportamentais, bioquímicos e toxicológicos em ratos submetidos ao modelo de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo", registrada com o nº 20.037.2.10.IV, sob a responsabilidade de Rafael Mariano de Bitencourt - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal 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) desta Instituição, em reunião de 10 de maio de 2021.

A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal: enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,

Prof. Sandro Melim Sgrott
Coordenador da Comissão

UNISUL - *Campus* Grande Florianópolis,
Avenida Pedra Branca, 25, Cidade Universitária, CEP 88137-270, Palhoça, SC.
Fone: (48) 3279-1036 / E-mail: ceua@unisul.br

Pró Reitoria Acadêmica - PROAC
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Palhoça, 10 de maio de 2021

CERTIFICADO

Em consonância à Orientação Técnica nº 08, de 16 de março de 2016, do CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), certificamos que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Avaliação dos efeitos da ayahuasca nos parâmetros comportamentais, bioquímicos e toxicológicos em ratos submetidos ao modelo de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo", registrada com o nº 20.037.2.10.IV, sob a responsabilidade de Rafael Mariano de Bitencourt - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo CONCEA, e foi **aprovado** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), desta Instituição, em reunião de 10 de maio de 2021.

Finalidade	☐ Ensino ☒ Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/01/2021 a 30/08/2021
Espécie/linhagem/raça	Rattus norvegicus, ratos *Wistar*
Nº de animais	120
Peso/Idade	250 – 300g | 60 dias
Sexo	machos
Origem	Biotério da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.

Prof. Sandro Melim Sgrott
Coordenador da Comissão

UNISUL - *Campus* Grande Florianópolis,
Avenida Pedra Branca, 25, Cidade Universitária, CEP 88137-270, Palhoça, SC.
Fone: (48) 3279-1036 / E-mail: ceua@unisul.br

Pró Reitoria Acadêmica - PROAC
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA

1) CADASTRO DE PROTOCOLO Nº: 20.037.2.10.IV

2) TÍTULO DO PROJETO: Avaliação dos efeitos da ayahuasca nos parâmetros comportamentais, bioquímicos e toxicológicos em ratos submetidos ao modelo de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo.

3) PROFESSOR(A) E/OU PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL (EIS):

Rafael Mariano de Bitencourt – Professor do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde - **AS DUAS VIAS DO Termo de Responsabilidade**, em consonância aos dispostos da Lei Arouca do Decreto 6899/2009 e do item VI da Res. Normativa 30 de 02/02/2016.

3) ESTUDANTES SOB ORIENTAÇÃO:

Marina Goulart da Silva.
Aluna de iniciação científica e voluntário em projetos de pesquisa que utilizaram modelos animais para avaliação de respostas comportamentais no Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos (NEUROIMet) de 2014/B – 2018/A e no Laboratório de Neurociência Comportamental (LabNeC)de 2018/B – 2019/A. Mestranda em Ciências da Saúde desde 2019/B. aluno de iniciação cientifica voluntária no laboratório com 6 anos de experiência prévia.

4) AUTOR (ES):

Rafael Mariano de Bitencourt;
Marina Goulart da Silva.

5) DATA DESTE PARECER CONSUBSTANCIADO:

10/05/2021.

6) LOCAL DE REALIZAÇÃO DA ETAPA EXPERIMENTAL:

Este projeto será realizado no Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos – NEUROIMet da UNISUL, Campus Tubarão.

7) PROJETO FINANCIADO COM FOMENTO INTERNO/EXTERNO:

Pró Reitoria Acadêmica - PROAC
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

[ ] Sim [x] Não

Nada digno de nota.

8) DATA DESTE PARECER CONSUBSTANCIADO:

10/05/2021.

9) SUMÁRIO DA PROPOSTA:

Em anexo no formulário padrão de submissão.

10) OBJETIVOS DO PROJETO:

Estão de acordo com a proposta do estudo, fundamentados em objetivo pontual e objetivos específicos que estão contemplados pela metodologia adotada e apresentada no item Material e Métodos.

11) ITENS METODOLÓGICOS E ÉTICOS:

Título [x] Adequado [ ] Inadequado

Comentários: Nada digno de nota.

Introdução [x] Adequada [ ] Inadequada

Comentários: Nada digno de nota.

Justificativa [x] Adequada [ ] Inadequada

Comentários: Nada digno de nota.

Objetivos [x] Adequados [ ] Inadequados

Comentários: Nada digno de nota.

Cronograma para execução da Proposta [X] Adequado [ ] Inadequado

Comentários: Nada digno de nota.

Orçamento e Fonte Financiadora [x] Adequado [ ] Inadequado

Comentários: Nada digno de nota.

Pró Reitoria Acadêmica - PROAC
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Referências [x] Adequadas [ ] Inadequadas

Comentários: Nada digno de nota.

12) INFORMAÇÕES RELATIVAS AOS ANIMAIS:

Grau de Invasividade: [ ] **GI** [x] **GII** [ ] **GIII** [ ] **GIV**

Comentários: Nada digno de nota.

Espécie: *Ratos Wistar machos* **Número Amostral** 170

Comentários: Nada digno de nota.

Redução Amostral: [ ] Sim [x] Não

Comentários: Nada digno de nota.

Substituição de Metodologia: [ ] Sim [x] Não
Se achar necessário, justifique e sugira uma nova metodologia:

Comentários: Nada digno de nota.

Aprimoramento da Metodologia: [ ] Sim [x] Não
Se achar necessário, justifique e sugira aprimoramentos da metodologia:

Comentários: Nada digno de nota.

Acomodação e manutenção dos animais: [x] Adequada [ ] Inadequada
Se achar inadequado cite abaixo as melhorias necessárias:

Comentários: Os animais serão mantidos no biotério de manutenção da UNISUL no bloco E do campus Tubarão.

Manipulação dos animais: [x] Adequada [ ] Inadequada
Se achar inadequado cite abaixo as melhorias necessárias:

Comentários: adequada.

Analgesia dos animais (se aplicável): [x] Adequada [ ] Inadequada
Se achar inadequado cite abaixo as melhorias necessárias com analgésico substituto:

Comentários: Não se aplica.

Anestesia dos animais (se aplicável): [x] Adequada [ ] Inadequada
Se achar inadequado cite abaixo as melhorias necessárias com anestésico substituto:

Não será necessária.

***Endpoints* humanitário**: [x] Adequados [ ] Inadequados
Se achar inadequado cite abaixo as melhorias necessárias com metodologia substituta:

Comentários: Nada digno de nota.

Eutanásia dos animais (se aplicável): [x] Adequada [ ] Inadequada
Se achar inadequado cite abaixo as melhorias necessárias com metodologia substituta:

Comentários: Não se aplica.

13) A PROPOSTA ESTÁ ADEQUADA À LEGISLAÇÃO VIGENTE:

[x] Adequada [ ] Inadequada

14) RECOMENDAÇÃO:

[x] Aprovação.

Comentários gerais referentes à Proposta:

Prezado pesquisador, o presente projeto apresenta objetivo pertinente e metodologia fundamentada em modelo descrito na literatura especializada. Além disso, ele atende os critérios mínimos solicitados pela CEUA e legislação vigente.

Pró Reitoria Acadêmica - PROAC
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Conclusões e/ou Itens de Pendência:

Comentários: Recomendo a aprovação dessa Emenda.

Embasamento Jurídico:

Lei Federal 11.794 de 08/10/2008 e Decreto nº 6.899/2009, de 15/07/2009;

Resolução nº 1000, de 11/05/2012 – CFMV;

Instruções Normativas nº1 à 38 do CONCEA;

Resolução CONSUN/UNISUL nº 380/2017, de 30/08/2017.

UNISUL - *Campus* Grande Florianópolis,
Avenida Pedra Branca, 25, Cidade Universitária, CEP 88137-270, Palhoça, SC.
Fone: (48) 3279-1036 / E-mail: ceua@unisul.br

ANEXO B – Produção científica publicada durante o período do Mestrado

DOI: 10.1111/bph.15316

CONFERENCE ABSTRACTS

Selected Abstracts From Pharmacology 2020

Posters, Monday 14th December

Poster Live - Cardiovascular & Respiratory Pharmacology 1

P001 | Deletion of AMPKα1 attenuates the anticontractile effect of perivascular adipose tissue (PVAT) in endothelium-intact mouse aorta

Ali Al-Ferlani

University of Glasgow

Introduction: PVAT surrounds most blood vessels and secretes vasoactive substances. Morphologically, mouse thoracic-PVAT is similar to brown adipose tissue (BAT) while abdominal-PVAT is composed of white adipose tissue (WAT). AMP-activated protein kinase α1 (AMPK α1) is expressed throughout the vessel wall, in adipose tissue and PVAT and we have demonstrated that AMPKα1 in thoracic-PVAT mediates an anticontractile effect on arteries without endothelium [1]. Since the endothelium can also modulate vascular tone through release of vasoactive substances, we wished to investigate how PVAT influences endothelial function.

Aims: To investigate the role of PVAT and AMPKα1 on endothelial function and vascular contractility.

Methods and Materials: Endothelium-intact thoracic and abdominal aortic rings from wild-type (Sv129) and AMPK α1 knockout (KO) mice (age 12–16 weeks, sex and weight-matched) were mounted on a wire myograph. Dose–response curves to the AMPK-independent vasodilator cromakalim were studied in phenylephrine- precontracted vessels with intact PVAT.

To rule out the possibility that cromakalim could induce effects via activation of AMPKα1 or eNOS in endothelial cells, cultured HUVECs were incubated with cromakalim (10 μM) for different durations. Acetyl-CoA carboxylase (ACC) and eNOS phosphorylation in homogenised HUVECs was studied using immunoblotting.

Results: 1- In thoracic aortic rings with intact PVAT there was no significant difference in relaxation to cromakalim between WT and KO vessels ($n = 6$; $P = 0.08$). However, in abdominal aortae, PVAT significantly augmented relaxation to cromakalim in WT mice compared to KO ($n = 8$; $P = 0.0001$). In WT aortae from either the thoracic or abdominal region, there was no significant difference in response to cromakalim between endothelium intact rings and denuded rings ($n = 3–5$; $P = 0.4$). 2- Cromakalim did not increase the phosphorylation of AMPK or eNOS in cultured HUVECs, unlike the direct AMPK activator, A769662.

Conclusion: AMPKα1 plays a role in the anticontractile effect of PVAT in the mouse abdominal but not thoracic aorta. The difference between thoracic and abdominal aortae might be due to the phenotype or secretory difference between BAT and WAT. In WT thoracic and abdominal aorta, an intact endothelium did not appear to increase the anticontractile effect of PVAT.

REFERENCE(S)

1. Almabrouk, T.A.M., Ugusman, A.B., Katwan, O.J., Salt, I.P. & Kennedy, S. 2016, "Deletion of AMPKα1 attenuates the anticontractile effect of perivascular adipose tissue (PVAT) and reduces adiponectin release: AMPK and PVAT function", *British journal of pharmacology*, vol. 174, no. 20, pp. 3398–3410.

P002 | Stimulation of the Platelet $P2Y_1$ Receptor by Endogenous Agonists Leads to a Dichotomy in Platelet Function

Kate Arkless; Richard Amison; Manu Shankar-Hari; Clive Page; Simon Pitchford

King's College London

Introduction/Background & aims: The hypothesis of a 'dichotomy in platelet activation' was introduced in 1988 to describe their separated functions in haemostasis compared to inflammation [1]. The purinergic receptor (P2YR), $P2Y_1$ mediates both haemostatic (aggregation) and inflammatory (motility, leukocyte recruitment) functions, following stimulation by its cognate agonist, adenosine diphosphate (ADP) [2]. However, effects of other potential endogenous agonists are unknown. In this study, P3-(5′-adenosyl) triphosphate (Ap3A), nicotinamide adenine dinucleotide (NAD+), ADP-ribose and uridine adenosine tetraphosphate (Up4A) were investigated using *in vitro* assays of haemostatic (aggregation) and inflammatory platelet function (chemotaxis).

Method/Summary of work: Platelets were isolated from citrated human blood as previously described [2]. Platelet rich plasma (PRP) was stimulated with increasing agonist concentrations (0/0.001/0.01/0. 1/ 1/10/100 μM) and *in vitro* platelet aggregation measured by light transmission aggregometry at 595 nm as previously

 © 2020 The British Pharmacological Society

Poster Live - Neuropharmacology 1

P095 | Effect of prenatal maternal stress on Mu opioid receptor density in brains of mice offspring

James Wallner

St. George's University of London

Introduction/Background & aims: Disruptions to foetal neurodevelopment has implications on offspring mental and physical health postpartum. These are known to be concomitant with prenatal maternal stress. Nonetheless, the mechanism underlining the effect of prenatal maternal stress on behavioural and psychological neurodevelopment of the offspring is unknown. Existing evidence suggests that stress at pregnancy may impact on the central m opioid receptor system [1]. Thus, this study aimed to investigate the impact of prenatal stress on m opioid receptor density in several brain regions of male mice.

Method/Summary of work: Pregnant C57BL/6J mice were randomly allocated to a "control" or "stressed" group. The "stressed" group was subjected to psychological stress via a restraint tube and light method for a period of 30 min, three times a day, from the 13th to the 18th day of gestation (equivalent to 167–232 in human gestation days). Control mice were undisturbed. All procedures were conducted in accordance with EU Directive 2010/EU/63. Brains from male mice offspring were collected at postnatal day 21 and serial horizontal sections (20 mm) cut and processed for quantitative m opioid receptor autoradiographic binding using well established protocol [2]. [^{3}H] [D-Ala^2, N-MePhe^4, Gly-ol]-enkephalin (DAMGO) (4 nM) in the presence or absence of 1 mM naloxone was used to determine non-specific and total binding respectively. Sections were apposed to Kodak MR-1 film for 10 weeks and image analysis of m opioid receptor density was carried out in specific brain regions using MCID elite 7.0.

Results/Discussion: Significantly higher m opioid receptor density was detected in the superior colliculus (87.0 ± 8.7 vs. 48.5 ± 9.0; $P < 0.0001$), inferior colliculus (96.8 ± 10.6 vs. 52.7 ± 11.6; $P < 0.001$) and habenula (248.4 ± 29.4 vs. 134.6 ± 32.8; $P < 0.0001$) of offspring from stressed mothers compared to controls (two ANOVA followed by Sidak post hoc comparison, mean ± SEM, $N = 4–5$). No significant differences were observed in any of the other regions analysed.

Conclusion(s): The results demonstrate a region-specific up regulation of m opioid receptors in prenatally stressed offspring suggesting that prenatal stress disrupts of m opioid receptor neurodevelopment; whether this influences the emotional status of the offspring in later life remains to be elucidated.

REFERENCES

1. Sanchez, M., Milanés, M., Pazos, A., Diaz, A., Laorden, M. (1996). Autoradiographic evidence of μ-opioid receptors down-regulation after prenatal stress in offspring rat brain. *Developmental Brain Res.*, *94*(1): 14–21.
2. Kitchen I, Slowe SJ, Matthes HW, Kieffer B. (1997) Quantitative autoradiographic mapping of μ-, δ- and κ-opioid receptors in knockout mice lacking the μ-opioid receptor gene. *Brain Res* 778:73–88.

P097 | The effects of chronic administration of p-cymene in an animal model of LPS-induced autism

Rick Wilhiam de Camargo[1]; Guilherme Cabreira Daros[1]; Marina Goulart da Silva[1]; Fabiana Durante de Medeiros[1]; Naiana da Rosa[1]; Caroline Liana Menschhein Medeiro[1]; Eduardo Medeiros Peretti[1]; Juliete Palandi[2]; Franciane Bobinski[1]; Jucélia Jeremias Fortunato[1]; Rafael Mariano de Bitencourt[1]

[1]University of Southern Santa Catarina; [2]Federal University of Santa Catarina

Introduction/Background & aims: Autism spectrum disorder (ASD) is a neuropsychiatric disorder characterized mainly by impaired social interaction and restrictive and repetitive behavior. Due to the scarcity of active drugs in the treatment of ASD, bioactive compounds have been studied. Among the most diverse alternatives, p-cymene stands out, a monoterpene found in various plants and foods with antioxidant, anti-inflammatory, antinociceptive, and antimicrobial effects [1]. In this context, the aim of this study was to evaluate the effect of chronic treatment with p-cymene on behavioral and memory responses and its possible ability to modulate pro-inflammatory cytokines in an animal model of ASD, induced by prenatal exposure to lipopolysaccharide (LPS) [2].

Method/Summary of work: To induce the experimental model, 24 pregnant Wistar rats were used, which received a single injection of LPS (100 μg/kg) or saline solution, intraperitoneally, on the 9.5th day of pregnancy. In this study, only male rats were used ($n = 72$). Immediately after weaning, the animals were treated with saline solution (1 ml/kg), risperidone (0.2 mg/kg) or p-cymene (100 mg/kg), intraperitoneally, for 22 days [3]. P-cymene (1-Isopropyl-4-methylbenzene, 4-Isopropyltoluene) was obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA, CAS: 99-87-6). Subsequently, 24 h after the last administration of the substances, the animals were evaluated for behavioral and memory assessment, and then for euthanasia, when the structures of interest (prefrontal cortex and hippocampus) were removed for analysis pro-inflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β, and IL-6).

Results/Discussion: Prenatal exposure to LPS increased the frequency of stereotyped movements and decreased parameters of social interaction, including sniffing, following, assembling, and allowing to ride. However, the chronic administration of p-cymene was not able to change behavioral and memory parameters. Regarding pro-inflammatory cytokines, there was an increase in IL-β and IL-6 in

An Acad Bras Cienc (2020) 92(4): e20200837 DOI 10.1590/0001-3765202020200837
Anais da Academia Brasileira de Ciências | *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*
Printed ISSN 0001-3765 I Online ISSN 1678-2690
www.scielo.br/aabc | www.fb.com/aabcjournal

HEALTH SCIENCES

Impact of prenatal lipopolysaccharide exposure on the development of rats

MARINA G. SILVA, GUILHERME C. DAROS, GABRIELA M. SANTOS, ISABELLA P. ANGELINO, RAFAEL M. BITENCOURT & JUCÉLIA J. FORTUNATO

Abstract: The intrauterine environment is influenced by several factors, genetic or environmental, which are essential in understanding the pathophysiological mechanisms of some diseases. In this study, the aim was to investigate the impact of prenatal lipopolysaccharide exposure on the development of rats. Fifty pregnant rats received intraperitoneal administration of lipopolysaccharide (100 µg/kg), or saline at the same dose, on the 9.5th day of pregnancy. The offspring of these rats were analyzed for indicators of brain and somatic development and maturation of physical characteristics. Reflex ontogenesis was also analyzed by vibrissae placement, negative geotaxis, palmar grasp, precipice aversion, decubitus recovery and acceleration reaction. Administration of lipopolysaccharide on the 9.5th gestational day caused delayed opening of the auditory pavilion, reduction in the length of the tail, body, cranial axes, and body weight. Thus, maternal infections can interfere in the intrauterine environment, impairing functional and structural aspects of the central nervous system, as well as the maturation of physical characteristics.

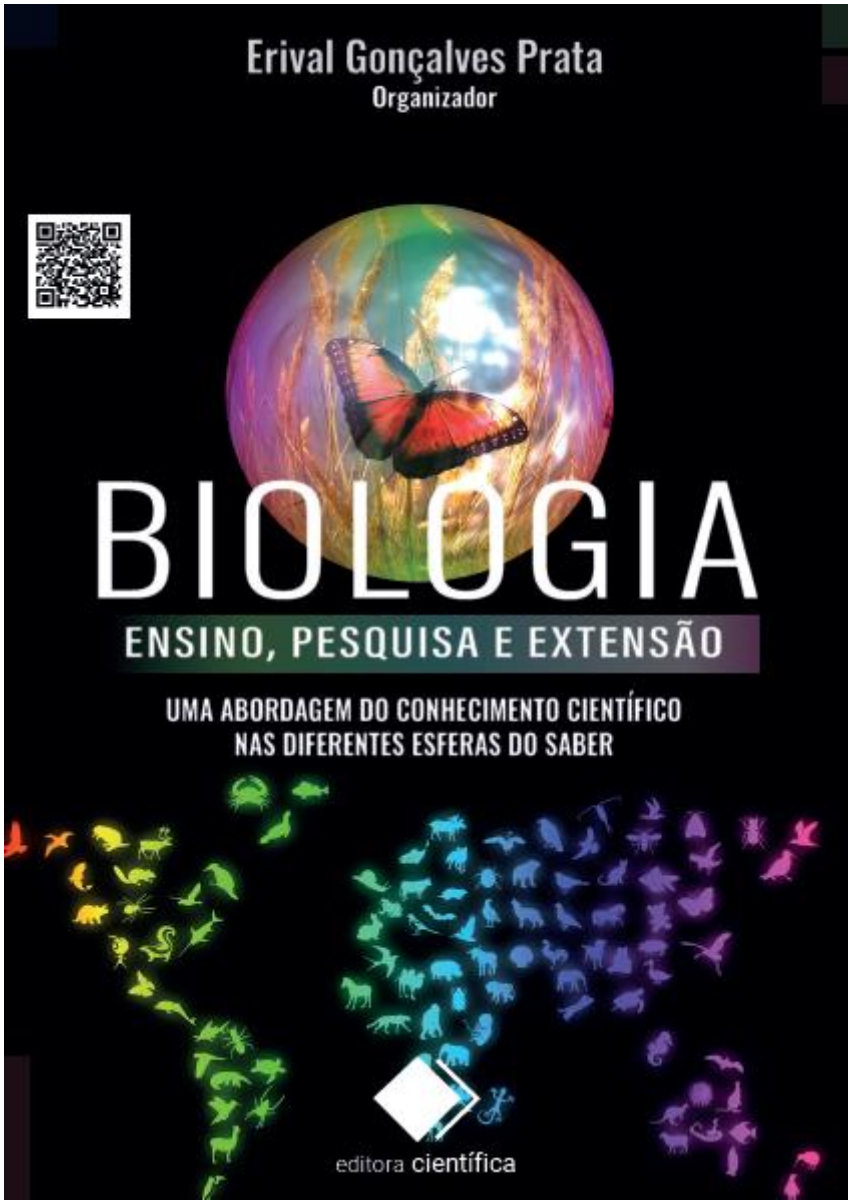
Key words: Developmental disorders, immune system, lipopolysaccharide, somatic development, sensory motor development.

INTRODUCTION

During the ontogenic period, the central nervous system (CNS) is influenced by several factors, genetic and environmental, that modulate epigenetic mechanisms and, therefore, the functioning of these systems. The impairment of these molecular mechanisms, mainly in critical periods, can cause irreversible changes, associated with neuropsychiatric disorders (Zakharova 2015, Keunen et al. 2015, Izvolskaia et al. 2018). In this context, the concept of programming was developed to explain the process by which the organism adapts to environmental insults, which generate stable changes in the phenotype, through changes in the proliferation and differentiation process (Deiró et al. 2008).

As adults, rodents exposed to adverse events during the intrauterine period — infections and pharmacological or nutritional manipulations — exhibit physiological and behavioral changes, including vulnerability to cognitive disabilities, reduced corticosterone response to stress and decreased social interaction (Izvolskaia et al. 2018). Further, the evidence indicates that these changes are not limited to animals exposed isolatedly, but also to their subsequent generation (Deiró et al. 2008).

Experimental studies usually use lipopolysaccharide (LPS), an endotoxin present in the outer membrane of gram-negative bacteria, to simulate a bacterial infection and


Erival Gonçalves Prata
Organizador
BIOLOGIA
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO
UMA ABORDAGEM DO CONHECIMENTO CIENTÍFICO
NAS DIFERENTES ESFERAS DO SABER
editora científica

12

Impact of prenatal lipopolysaccharide exposure on the development of rats

Marina Goulart da Silva
Guilherme Cabreira Daros
Gabriela Mazzuco dos Santos
Isabella Paes Angelino
Rafael Mariano de Bitencourt
Jucélia Jeremias Fortunato

Artigo original publicado em: 2020
Annals of the Brazilian Academy of Sciences - ISSN 1678-2690.
Oferecimento de obra científica e/ou literária com autorização do(s) autor(es) conforme Art. 5, inc. I da Lei de Direitos Autorais - Lei 9610/98
10.37885/210203024

ARTICLE IN PRESS

Behavioural Brain Research xxx (xxxx) xxx

Contents lists available at ScienceDirect

Behavioural Brain Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbr

Review

Anti-inflammatory activity of ayahuasca: therapeutical implications in neurological and psychiatric diseases

Marina Goulart da Silva *, Guilherme Cabreira Daros, Rafael Mariano de Bitencourt

[a] Behavioral Neuroscience Laboratory, Postgraduate Program in Health Sciences, University of South Santa Catarina, Av. José Acácio Moreira, 787, Dehon, 88704-900, Tubarão, Santa Catarina, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Ayahuasca
Ethnopharmacology
Neuroinflammation
Neurological diseases
Psychiatric disorders

ABSTRACT

Ayahuasca is a decoction with psychoactive properties, used for millennia for therapeutic and religious purposes by indigenous groups and the population of amazonian countries. As described in this narrative review, it is essentially constituted by β-carbolines and tryptamines, and it has therapeutic effects on behavioral disorders due to the inhibition of the monoamine oxidase enzyme and the activation of 5-hydroxytryptamine receptors, demonstrated through preclinical and clinical studies. It was recently observed that the pharmacological response presented by ayahuasca is linked to its anti-inflammatory action, attributed mainly to dimethyltryptamines (*N, N*-dimethyltryptamine and 5-methoxy-*N, N*-dimethyltryptamine), which act as endogenous systemic regulators of inflammation and immune homeostasis, also through sigma-1 receptors. Therefore, since neuroinflammation is among the main pathophysiological mechanisms related to the development of neurological and psychiatric diseases, we suggest, based on the available evidence, that ayahuasca is a promising and very safe therapeutic strategy since extremely high doses are required to reach toxicity. However, even so, additional studies are needed to confirm such evidence, as well as the complete elucidation of the mechanisms involved.

1. Introduction

The inflammatory response, when triggered inappropriately, can result in a series of problems to the body. When this occurs in the central nervous system, there are chances to develop neuropsychiatric problems, such as depression, anxiety, cognitive disorders, and neurodegenerative diseases, among many other possibilities [1–3]. For many of these disorders, neuroinflammation appears as one of the neurophysiopathological process components and can be an essential risk factor for the appearance of these pathologies [3]. Currently, most of these disorders are difficult to treat, and, in most cases, neurophysiopathological aspects related to neuroinflammation are not considered in pharmacotherapeutic approaches.

In this context, it is necessary to search for pharmacological alternatives that have anti-neuroinflammatory properties and, consequently, may be useful in treating neurophysiopathology present in several neuropsychiatric disorders. Among the possibilities that research has been presenting in recent years, there is an ancient psychoactive plant beverage of Amazonian origin called ayahuasca, which has been shown to perform anti-neuroinflammatory actions quite promising for the treatment of various neuropsychiatric disorders [4].

From in vitro studies [5], to studies in animals [6,7] and even in humans [8,9], there is much evidence that points to the pharmacotherapeutic potential of this psychoactive plant beverage, which has been used for millennia by Amazonian peoples and increasingly spread to various parts of the world through religious movements [4]. Thus, the current scientific evidence, mainly in humans, make the ayahuasca a pioneer between classic psychedelics, because it has pointed its anti-inflammatory activity.

In order to contribute to the scientific discussion on this topic, this narrative review will address the anti-inflammatory effects of ayahuasca and the possible implications of these effects as a pharmacotherapeutic alternative for the treatment of different neuropsychiatric disorders. For that, scientific articles from the last decades were searched, obtained in the Pubmed and Medline platforms.

* Corresponding author.
E-mail addresses: marina.goularts@gmail.com, marina.goulartds@gmail.com (M.G. da Silva), guilherme_daros@hotmail.com (G.C. Daros), bitencourtrm@gmail.com (R.M. de Bitencourt).

https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113003
Received 10 April 2020; Received in revised form 28 August 2020; Accepted 1 November 2020
Available online 6 November 2020
0166-4328/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

Please cite this article as: Marina Goulart da Silva, *Behavioural Brain Research*, https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113003

Journal of Racial and Ethnic Health Disparities
https://doi.org/10.1007/s40615-021-01035-2

Epidemiology of COVID-19 Among Indigenous Populations in Brazil

Marina Goulart da Silva[1,2] · Pablo Michel Barcelos Pereira[1,3] · Williams Ferreira Portela[3] · Guilherme Cabreira Daros[1] · Caio Roberto de Almeida Barbosa[4] · Bruna Muraro Vanassi[4] · Gabriel Oscar Cremona Parma[2,5] · Rafael Mariano de Bitencourt[1,2] · Betine Pinto Moehlecke Iser[2]

Received: 3 February 2021 / Revised: 29 March 2021 / Accepted: 30 March 2021
© W. Montague Cobb-NMA Health Institute 2021

Abstract

Background Due to social and geographical isolation, indigenous people are more vulnerable to adverse conditions; however, there is a lack of data on the epidemics' impact on these populations. Thus, this article's objective was to describe the epidemiological situation of COVID-19 in indigenous communities in Brazil.

Methods This descriptive observational study was carried out in indigenous communities in the municipality of Amaturá (Amazonas, Brazil). Individuals from the Alto Rio Solimões Special Indigenous Sanitary District (DSEI) who met the Sars-Cov-2 infection case definitions during the period between January and August 2020 were included. For case notification, the definitions adopted by the Ministry of Health of Brazil and by the Special Secretariat for Indigenous Health were considered.

Results Out of the entire population served by the Alto Rio Solimões DSEI ($n = 2890$), 109 indigenous people were suspected of having been infected with Sars-Cov-R during the study period; a total of 89 cases were actually confirmed (rate: 3.08 cases/100,000 inhabitants). Most patients diagnosed with COVID-19 were female (56.2%), with a mean age of 32.4 (± 23.6) years. Predominant symptoms were fever (76.4%), dry cough (64%), and headache (60.7%). Complications occurred in 7.9% of the patients; no deaths were reported.

Conclusion These results enhance the observation that indigenous populations, even if relatively isolated, are exposed to COVID-19. The disease cases assessed showed a favorable evolution, which does not mean reducing the need for caring of this population.

Keywords Health of indigenous people · Health of ethnic minorities · Coronavirus infections

Introduction

Sars-Cov-2, identified in December 2019 as a new type of human Coronavirus, is a highly transmissible virus which, until August 31, 2020, has been for the cause of almost 25 million disease cases worldwide and 800,000 deaths since its outbreak began [1–3].

However, there is little information about the impact of this pandemic on vulnerable populations, such as indigenous people, who are most susceptible due to their social and geographical isolation. In addition, the Unified Health System subsystem for indigenous people suffers from a lack of structure and resources for the treating of the most severe disease complications; they also lack logistical resources to help the health teams reach the riverside populations [4–7].

Until August 31, 2020, the 34 Special Indigenous Sanitary Districts (DSEI) in Brazil had notified 23,178 confirmed cases of coronavirus disease (COVID-19), according to the Special Secretariat for Indigenous Health (SESAI). The State of Amazonas recorded the highest number of deaths during the same period [8].

Marina Goulart da Silva and Pablo Michel Barcelos Pereira contributed equally to this work.

✉ Marina Goulart da Silva
marina.goulartds@gmail.com

[1] Behavioral Neuroscience Laboratory, University of South Santa Catarina, Tubarão, Santa Catarina, Brazil

[2] Postgraduate Program in Health Sciences, University of South Santa Catarina, Tubarão, Santa Catarina, Brazil

[3] Alto Rio Solimões Indigenous Special Health District, Tabatinga, Amazonas, Brazil

[4] Medical College, University of South Santa Catarina, Tubarão, Santa Catarina, Brazil

[5] Geoprocessing Laboratory, University of South Santa Catarina, Palhoça, Santa Catarina, Brazil

Published online: 12 April 2021

Published online: 2021-08-11

Original Papers

Thieme

Effects of Chronic Administration of *P*-Cymene in an Animal Model of LPS-Induced Autism

OPEN ACCESS

Authors

Rick Wilhiam de Camargo[1], Marina Goulart da Silva[1], Guilherme Cabreira Daros[1], Fabiana Durante de Medeiros[2], Naiana da Rosa[2], Caroline Liana Menschhein Medeiros[1], Eduardo de Medeiros Peretti[2], Juliete Palandi[3], Franciane Bobinski[4], Jucélia Jeremias Fortunato[5], Rafael Mariano de Bitencourt[1]

Affiliations

1 Behavioral Neuroscience Laboratory (LabNeC), Graduate Program in Health Sciences, University of Southern Santa Catarina, Santa Catarina, Brazil
2 Laboratory of Neurobiology of Inflammatory and Metabolic Processes (NeuroIMet), Graduate Program in Health Sciences, University of Southern Santa Catarina, Santa Catarina, Brazil
3 Laboratory of Neuropathology Experimentation (LEN), Graduate Program in Neurosciences, Center of Biological Sciences, Federal University of Santa Catarina, Santa Catarina, Brazil
4 Experimental Neuroscience Laboratory (LaNEx), Graduate Program in Health Sciences, University of Southern Santa Catarina, Santa Catarina, Brazil
5 Medical School, University of Southern Santa Catarina, Santa Catarina, Brazil

Key words

p-cymene, maternal immune activation, autism spectrum disorder, lipopolysaccharides, proinflammatory cytokines

received 18.11.2020
revised 30.03.2021
accepted 23.04.2021

Bibliography

Planta Med Int Open 2021; 8: e104–e113
DOI 10.1055/a-1491-1866
ISSN 2509-9264
© 2021. The Author(s).

This is an open access article published by Thieme under the terms of the Creative Commons Attribution-NonDerivative-NonCommercial-License, permitting copying and reproduction so long as the original work is given appropriate credit. Contents may not be used for commercial purposes, or adapted, remixed, transformed or built upon. (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany

Correspondence

Prof. Dr. Rafael Mariano de Bitencourt
University of Southern Santa Catarina – UNISUL
787 Avenue José Acácio Moreira
Dehon, Tubarão
88704900 Santa Catarina
Brazil
Tel.: +55 48 3621-3363
rafael.bitencourt2@unisul.br

ABSTRACT

p-Cymene is a monoterpene found in over 100 plant species. It shows a range of biological activity, including anti-inflammatory and antimicrobial effects. It is possibly a new therapeutic alternative for autism spectrum disorder characterized by deficits in interaction and behavioral abnormalities. These symptoms can occur in response to maternal immune activation through prenatal exposure to lipopolysaccharide. Thus, this study aimed to evaluate the behavioral, memory, and biochemical effects of chronic administration of *p*-cymene in an animal model of autism by prenatal maternal exposure to lipopolysaccharide. Twenty-four pregnant Wistar rats were used, who received 100 µg/kg of lipopolysaccharide or saline intraperitoneally (i.p.) on the 9.5 gestational day. After birth, the male offspring remained with the mothers until weaning and underwent model validation tests on postnatal day 30. From postnatal day 31 on, chronic administration, via i.p., of saline (1 mL/kg), risperidone (0.2 mg/kg), or *p*-cymene (100 mg/kg) for 22 days was performed. The animals were submitted to behavioral (postnatal day 52) and memory tests (postnatal days 52–53) and subsequently sacrificed (postnatal day 54) when their brain structures were removed for quantification of proinflammatory cytokines (TNF-α, interleukin 1β, and interleukin 6). Prenatal exposure to lipopolysaccharide significantly increased episodes of stereotyped movement ($p = 0.0001$) and decreased parameters of social interaction in offspring, including sniffing, following, mounting, and allowing mounting ($p = 0.0043$, $p < 0.0001$, $p = 0.0009$, and $p = 0.0200$, respectively). Chronic *p*-cymene treatment was not significant for behavioral, memory, and biochemical tests. However, due to their pharmacokinetic characteristics, *p*-cymene nanomaterials' formulation may be an exciting alternative to be tested for further results.

ORIGINAL ARTICLE

Marina Goulart da Silva[1]
https://orcid.org/0000-0001-5354-7948

Guilherme Cabreira Daros[1]
https://orcid.org/0000-0001-7402-9154

Rafael Mariano de Bitencourt[1]
https://orcid.org/0000-0003-4694-3808

Betine Pinto Moehlecke Iser[1]
https://orcid.org/0000-0001-6061-2541

Psychiatric hospitalizations in Brazil: exploratory and trend analysis from 2009 to 2019

Internações psiquiátricas no Brasil: análise exploratória e de tendência de 2009 a 2019

DOI: 10.1590/0047-2085000000303

ABSTRACT

Objective: To examine the rates of psychiatric hospitalization and the average length of stay, in Brazil, from 2009 to 2019, according to sociodemographic variables and character of the hospitalization (elective or urgency). **Methods:** This is an ecological study, with data collected from the Hospital Information System of the Unified Health System (SIH/SUS). Hospital admission rates were described according to diagnosis, sex, and age group. Percentage variation and rate ratios were calculated. To evaluate the time series, the data were submitted to linear regression analysis. **Results:** The rate of hospitalization for mental disorders decreased from 14.2/10,000 in 2009 to 11.2 in 2019, with the most significant variation occurring between mental and behavioral disorders due to alcohol use. The men had about twice as many episodes as the women in all the years evaluated. Higher rates were found in the age group of 30 and 59 years. The length of stay also decreased in the period. Besides, the urgency character presented almost 82% of the total hospitalizations. **Conclusion:** There was a reduction in hospital admissions for mental disorders in the analyzed period, demonstrating the relevance of mental health care changes resulting from the Psychiatric Reform.

KEYWORDS

Mental health, mental disorders, hospitalization.

RESUMO

Objetivo: Examinar as taxas de hospitalização psiquiátrica e o tempo médio dessas internações, no Sistema Único de Saúde (SUS) do Brasil, de 2009 a 2019, segundo variáveis sociodemográficas e caráter da internação (eletiva ou urgência). **Métodos:** Trata-se de um estudo ecológico, com dados coletados do Sistema de Informações Hospitalares (SIH/SUS). Foram descritas as taxas de internação hospitalar conforme diagnóstico, sexo e faixa etária. Calcularam-se a variação percentual e a razão das taxas. Para avaliação da série temporal, os dados foram submetidos à análise de regressão linear. **Resultados:** A taxa de internação hospitalar por transtornos mentais reduziu de 14,2/10.000 em 2009 para 11,2 em 2019, tendo a maior variação ocorrido entre os transtornos mentais e comportamentais devidos ao uso de álcool. O sexo masculino apresentou cerca de duas vezes mais episódios que o sexo feminino, em todos os anos avaliados. Maiores taxas foram verificadas na faixa etária de 30 e 59 anos. O tempo de internação também apresentou redução no período. Além disso, o caráter de urgência apresentou quase 82% do total de internações. **Conclusões:** Houve redução das internações hospitalares por transtornos mentais no período analisado, demonstrando a relevância das mudanças na assistência em saúde mental advindas da Reforma Psiquiátrica.

PALAVRAS-CHAVE

Saúde mental, transtornos mentais, hospitalização.

Received in: July/27/2020. **Approved in:** Nov/11/2020

1 Universidade do Sul de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Tubarão, SC, Brasil.
Address for correspondence: Marina Goulart da Silva. Av. José Acácio Moreira, 787, Dehon – 88704001 – Tubarão, SC, Brasil. Telefone: +55 (48) 3621-3363.
E-mail: marina.goulartds@gmail.com

CC BY

EUROPEAN JOURNAL OF NEUROLOGY
Volume 28, Supplement 1, June 2021

Abstracts of the 7th Congress of the European Academy of Neurology

Virtual Congress

Disclaimer:
This abstract volume has been produced using author-supplied copy. Editing has been restricted to some corrections of spelling and style where appropriate. No responsibility is assumed for any claims, instructions, methods or drug dosages contained in the abstracts: it is recommended that these are verified independently.

ean
european academy of neurology

HEAD OFFICE: Breite Gasse 4/7
1070 Vienna, Austria

PHONE: +43 1 889 05 03
FAX: +43 1 889 05 03 13
E-MAIL: headoffice@ean.org
WEB: www.ean.org

ISSN 1468-1331 (202106)28:6+1

Sleep disorders

EPR-343

Effect of short-term and long-term use of melatonin in young rats on behavioral parameters in adulthood

T. Denicol, G. Costa Bernardes, E. Bagio, K. Mathias, T. Cidreira, L. Joaquim, R. Simon Machado, E.V. Rosa Lanzzarin, M. Goulart, G. Cabreira Darosa, R. Mariano Bitencourt, F. Petronilho
Tubarão, Brazil

Background and aims: Melatonin (MTL) acts not only on circadian rhythm, but also on neuronal modulation. In the hippocampus, MTL receptors are found in regions of the mossy fiber pathway (CA3) and Schaffer collateral pathway (CA1). MTL significantly alters synaptic transmission and long-term potentiation in CA1, it is an excitatory via that has synapses probably related to the formation of episodic memory, changes in it can generate behavioral modifications. With the knowledge of MTL receptors in the brain and the pathways that are linked to cognition, it corroborates the need for studies that evaluate the performance of animals and their actions after prolonged exposure to the drug during the youth until reaching adult life.
Methods: 43 male Wistar rats (250–350g) were used and divided into three groups: group Saline + saline (n=13); MLT + short-term melatonin group (n=15), and MLT+ long-term melatonin group (n=15).
Results: The use of MLT did not result in significant behavioral changes for depressive behavior. However, a decrease in locomotor activity was found in the group of short term MLT treatment and it was verified responses of increased social interaction, decreased anxiety-like behavior and improved memory and learning only the MLT long-term group.
Conclusion: Since there was no adverse effect on the cognition of the animals studied, MTL is an interesting alternative to be used during the neurodevelopment period.
Disclosure: The authors report no disclosure.

EPR-344

Complementary and alternative medicine use in narcolepsy

B. Finger, A. Triller, M. Yildizli, U. Kallweit
Institut für Immunologie, Witten, Germany

Background and aims: Narcolepsy is a rare chronic brain disorder. Management includes non-pharmacological and symptomatic pharmacological treatment. Complementary and alternative medicine (CAM) use is frequent (30-45%) in the general population in Germany. The aim of our study was to evaluate the frequency and patient characteristics of CAM use in German narcolepsy patients.
Methods: For assessment an online survey was used. Demographic, disease-related data (i.e. symptoms, medication); and frequency and impact of CAM use were assessed. 23 commonly used CAM methods were predetermined on the questionnaire. They were divided in five subgroups: holistic medical systems, biological-, energetic, mind body-, and body based therapies.
Results: 172 completed questionnaires were included into analysis (n=44 male, n=127 female; n=121 narcolepsy type 1 (NT1), n=51 type 2 (NT2)). 32 % (n=55) of the patients reported CAM use regarding narcolepsy in the present or past. Most frequently, biological therapies, vitamins and trace elements (58%) in particular; and mind body therapies – i.e. meditation (45.5%) were used. Body based and mind body CAMs were used particularly by NT1 patients (22% vs. 10% NT2; and 34% vs. 24%). 26/55 patients using CAM described this as helpful (NT1: 61%; NT2: 40%). 16% of all 172 patients did not take any pharmacological treatment, but 43% of them used CAM.
Conclusion: The use of CAM in narcolepsy patients is common (1/3), however the impact seems to be limited. The common use of mind body therapies points to the need of further psychological well-being.
Disclosure: Nothing to disclose.