



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**

***CAMPUS CHAPECÓ***

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS - PPGCB**

**CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

**EFEITOS DO EXTRATO DE *Centella asiatica* NO ESTRESSE OXIDATIVO E  
SISTEMA PURINÉRGICO DE ANIMAIS SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO  
MATERNAL E AO ISOLAMENTO SOCIAL**

**CHAPECÓ**

**2024**

**PAULA DALLAGNOL**

**EFEITOS DO EXTRATO DE *Centella asiatica* NO ESTRESSE OXIDATIVO E  
SISTEMA PURINÉRGICO DE ANIMAIS SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO  
MATERNAL E AO ISOLAMENTO SOCIAL**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

**ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> MARGARETE DULCE BAGATINI**

**COORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ZULEIDE MARIA IGNÁCIO**

**CHAPECÓ**

**2024**

## Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Dallagnol, Paula

EFEITOS DO EXTRATO DE Centella asiatica NO ESTRESSE  
OXIDATIVO E SISTEMA PURINÉRGICO DE ANIMAIS SUBMETIDOS À  
PRIVAÇÃO MATERNAL E AO ISOLAMENTO SOCIAL / Paula  
Dallagnol. -- 2024.  
69 f.:il.

Orientadora: Doutora Margarete Dulce Bagatini  
Co-orientadora: Doutora Zuleide Maria Ignácio  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da  
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Biomédicas, Chapecó, SC, 2024.

1. transtorno depressivo maior. 2. citocina  
pró-inflamatória. 3. citocina anti-inflamatória. 4.  
C.asiatica. 5. nucleotídeos. I. Bagatini, Margarete  
Dulce, orient. II. Ignácio, Zuleide Maria, co-orient.  
III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

**PAULA DALLAGNOL**

**EFEITOS DO EXTRATO DE *Centella asiatica* NO ESTRESSE OXIDATIVO E  
SISTEMA PURINÉRGICO DE ANIMAIS SUBMETIDOS À PRIVAÇÃO  
MATERNAL E AO ISOLAMENTO SOCIAL**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 15/07/2024.

BANCA EXAMINADORA



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Margarete Dulce Bagattini – UFFS Orientadora



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Zuleide Maria Ignácio – UFFS Coorientadora



---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Jossimara Polettini – UFFS Avaliadora



---

Prof.<sup>o</sup>. Dr.<sup>o</sup>. Walter Antônio Romam Júnior – UNOCHAPECÓ Avaliador



Documento assinado digitalmente  
GABRIELA GONCALVES DE OLIVEIRA  
Data: 13/08/2024 19:31:10-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Gabriela Gonçalves de Oliveira – UFFS Avaliadora

## RESUMO

A *Centella asiatica* (*C.asiatica*) é uma planta medicinal que apresenta efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes. Alguns distúrbios, como o Transtorno Depressivo Maior (TDM) e o estresse, podem provocar respostas inflamatórias e desequilíbrio oxidativo no organismo. Neste estudo buscou-se estabelecer os efeitos do tratamento crônico com a *C. asiatica* no estresse oxidativo e no sistema purinérgico, em um modelo animal. Trata-se de um estudo experimental com ratos Wistar machos e fêmeas, divididos em 5 grupos de tratamento, denominados controle salina, estresse salina, estresse escitalopram, *C.asiatica* e ácido madecássico. Os ratos foram expostos ao modelo de estresse pela privação maternal e isolamento social no início da fase adulta e submetidos ao tratamento conforme o protocolo, exceto o grupo controle. A administração dos compostos ocorreu por método de gavagem durante o período estabelecido pelo protocolo. Ao término do tratamento os ratos foram eutanasiados e as amostras biológicas coletadas, compostas por soro e tecido de córtex pré-frontal, acondicionadas em microtubos, mantidas em -20°C. Foram realizadas análises de marcadores para estresse oxidativo e do sistema purinérgico. A análise estatística ocorreu por meio de ANOVA *one-way*, seguida do teste *post-hoc* de Tukey, sendo adotado o nível de significância de  $p < 0.05$ . As análises revelaram que o tratamento crônico com a *C. asiatica* e o composto ativo ácido madecássico apresentou efeitos moduladores no estresse oxidativo em resultados de TBARS, vitamina C, NPSH dos grupos machos e fêmeas. Este dado sugere a presença de atividade antioxidante exceto em ROS no grupo fêmea. As atividades na hidrólise de ATP, ADP e AMP do sistema purinérgico atenuaram a atividade enzimática como resposta protetora da membrana celular. É possível verificar que o tratamento crônico com a *C. asiatica* e o composto ativo ácido madecássico possuem efeitos modulatórios no estresse oxidativo e no sistema purinérgico, resultado que corrobora para elucidar os mecanismos relacionados ao tratamento do TDM.

**Palavras-chave:** transtorno depressivo maior; citocina pró-inflamatória; citocina anti-inflamatória; *C.asiatica*; nucleotídeos; ATP; ectonucleotidasas.

## ABSTRACT

*Centella asiatica* (*C. asiatica*) is a medicinal plant that has anti-inflammatory and antioxidant effects. Some disorders, such as Major Depressive Disorder (MDD) and stress, can cause inflammatory responses and oxidative imbalance in the body. In this study we seek to establish the effects of chronic treatment with *C. asiatica* on oxidative stress and the purinergic system, in an animal model. This is an experimental study with male and female Wistar rats, divided into 5 treatment groups, called saline control, saline stress, escitalopram stress, *C. asiatica* and madecassic acid. The rats were exposed to the stress model due to maternal deprivation and social isolation in early adulthood and underwent treatment according to the protocol, except for the control group. The compounds were administered by gavage method during the period established by the protocol. At the end of treatment, the rats were euthanized and biological samples were collected, consisting of serum and prefrontal cortex tissue, packed in microtubes, kept at -20°C. Analyzes of markers for oxidative stress and the purinergic system were carried out. Statistical analysis occurred using *one-way ANOVA*, followed by Tukey's *post-hoc test*, adopting a significance level of  $p < 0.05$ . The analyzes revealed that chronic treatment with *C. asiatica* and the active compound madecassic acid had modulating effects on oxidative stress in TBARS, vitamin C, NPSH results in male and female groups. This data suggests the presence of antioxidant activity except in ROS in the female group. The activities in the hydrolysis of ATP, ADP and AMP of the purinergic system attenuated the enzymatic activity as a protective response of the cell membrane. It is possible to verify that chronic treatment with *C. asiatica* and the active compound madecassic acid have modulatory effects on oxidative stress and the purinergic system, a result that proves the mechanisms related to the treatment of MDD.

**Keywords:** major depressive disorder; pro-inflammatory cytokine; anti-inflammatory cytokine; *C. asiatica*; nucleotides; ATP; ectonucleotidases.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA1: Sistema purinérgico.....	25
FIGURA2: Síntese do modelo experimental.....	32
FIGURA 3-A: Valores de resultados do TBARS no grupo macho.....	36
FIGURA 3-B: Valores de resultados do TBARS no grupo fêmea.....	37
FIGURA 4-A: Valores de resultados de vitamina C no grupo macho.....	38
FIGURA 4-B: Valores de resultados de vitamina C no grupo fêmea.....	39
FIGURA 5-A: Valores de resultados do NPSH no grupo macho.....	40
FIGURA 5-B: Valores de resultados do NPSH no grupo fêmea.....	41
FIGURA 6-A: Valores de resultados do ROS no grupo macho.....	42
FIGURA 6-B: Valores de resultados do ROS no grupo fêmea.....	42
FIGURA 7-A: Valores de resultados da hidrólise de ATP no grupo macho.....	44
FIGURA 7-B: Valores de resultados da hidrólise de ATP no grupo fêmea.....	44
FIGURA 8-A: Valores de resultados da hidrólise de ADP no grupo macho.....	45
FIGURA 8-B: Valores de resultados da hidrólise de ADP no grupo fêmea.....	46
FIGURA 9-A:Valores de resultados da hidrólise de AMP no grupo macho.....	47
FIGURA 9-B: Valores de resultados da hidrólise de AMP no grupo fêmea.....	48

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

°C	graus celsius
3'	extremidade 3' da fita DNA
5'	extremidade 5' da fita DNA
5-HT	5-hidroxitriptofano
A1	receptores de adenosina A1
A1R	receptores de adenosina A1R
A2A	receptores de adenosina A2A
A2AR	receptores de adenosina A2AR
A2B	receptores de adenosina A2B
A3	receptores de adenosina A3
AAP	aminoantipirina
Abs	absorbância
ADO	adenosina
ADP	adenosina difosfato
AM	grupo estresse + ácido madecássico (AM)
AMP	adenosina monofosfato
ANOVA	análise de variância
ASC	domínio de recrutamento de caspases
ATP	adenosina 5-trifosfato
ATP	adenosina trifosfato
BH4	tetrahidrobiopterina
BHE	barreira hematoencefálica
BIOCHUFFS	biotério setorial da universidade federal da fronteira sul (UFFS), <i>Campus</i> Chapecó
<i>C. asiatica</i>	<i>CENTELLA asiatica</i>
CA	grupo estresse + <i>C. asiatica</i>
CD26	adenosina deaminase ADA
CD39	enzima NTPDase-1
CD73	enzima 5'-nucleotidase
cDNA	ácido desoxirribonucleico complementar

CEUA	comitê de ética no uso de animais
COBEA	colégio brasileiro de experimentação animal
CS	grupo controle + salina (CS)
DAMP	padrão molecular associado ao dano
DMEM	meio de eagle modificado por dulbecco
DNase	enzima de degradação do DNA
DTNB	2,2'-dinitro-5,5'-ditiodibenzoico
DTT	ditiotreitól
E-NPPs	ectonucleotídeo fosfodiesterase/pirofosfatase
EROS	espécies reativas de oxigênio
ROS	espécies reativas de oxigênio
ES	grupo estresse + salina (ES)
ESC	grupo estresse + escitalopram (ESC)
EUA	Estados Unidos da America
F2	2-isoprostanos
FC	fator de correção
Fe	ferro
g/L	gramas por litro
Gi	proteína-G Gi
Gq	proteína-G Gq
h	hora
H2O2	peróxido de hidrogênio
HOCl	ácido hipocloroso
HPA	hipotálamo-hipófise-adrenal
I	complexo um mitocondrial
IDO	indoleamina 2,3-dioxigenase
IFN- $\gamma$	interferon-gama
III	complexo três mitocondrial
IL-1	interleucina-1
IL-18	interleucina 18
IL-1 $\alpha$	interleucina-1 $\alpha$
IL-1 $\beta$	interleucina-1 $\beta$

IL-2	interleucina-2
IL-6	interleucina-6
IS	isolamento social
IV	complexo quatro mitocondrial
K	potássio
LRR	domínio de repetição rica em leucina
M	molar
MDA	malondialdeído
mg	magnésio
mg	miligrama
mg/kg	miligramas por quilograma
min	minuto
ml	mililitro
mm	milímetro
Na	sódio
NACHT	proteína 3 que contém domínio de pirina da família NLR
ng	nanograma
NK	células natural killer
NLRP3	família NLR3 contendo 3 domínios de pirina
nM	nanomolar
NMDA	receptor N- metil-D-aspartato
nmol	nanomole
NPSH	tióis não-proteicos
P	valor de significância
P1	família de receptores purinérgico de nucleosídeo
P2	família de receptores purinérgico de nucleotídeos
P2X	receptores purinérgicos P2X
P2X1	receptores purinérgicos P2X1
P2X7	receptores purinérgicos P2X7
P2Y	receptores purinérgicos P2Y
P2Y1	receptores purinérgicos P2Y1
P2Y11	receptores purinérgicos P2Y11

P2Y13	receptores purinérgicos P2Y13
P2Y14	receptores purinérgicos P2Y14
P2Y2	receptores purinérgicos P2Y2
P2Y4	receptores purinérgicos P2Y4
P2Y6	receptores purinérgicos P2Y6
pH	potencial hidrogeniônico
PM	privação maternal
PYD	domínio pirina tipo PYD
PYRIN	domínio pirina
RNA	ácido ribonucleico
rpm	rotações por minuto
SNC	sistema nervoso central
SNS	sistema nervoso simpático
TBA	ácido tiobarbitúrico
TBARS	substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	ácido tricloroacético
TDM	transtorno depressivo maior
TLRs	receptores semelhantes a Toll
TNF- $\alpha$	fator de necrose tumoral-alfa
TRX	tio redoxina
TXNIP	thioredoxin-interacting protein
ug/ml	micrograma por mililitro
uL	microlitro
uM	micromolar
$\alpha$	alfa
$\beta$	beta
$\gamma$	gama

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
<	menor que
=	igual
>	maior que
/	por ou para
~	aproximadamente
±	mais/menos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>19</b>
3.1 TDM .....	19
3.1 RESPOSTA IMUNOLÓGICA .....	21
3.2 INFLAMAÇÃO .....	23
3.3 SISTEMA PURINÉRGICO .....	24
3.5 ESTRESSE OXIDATIVO .....	27
3.6 COMPOSTOS NATURAIS .....	28
3.7 <i>C.asiatica</i> .....	29
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>31</b>
4.1 MODELO ANIMAL .....	31
4.2 DESENHO EXPERIMENTAL - PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL	32
4.3 TRATAMENTO .....	33
4.4 AMOSTRA .....	34
4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS .....	34
<b>4.6.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</b> .....	<b>34</b>
<b>4.6.2 Vitamina C</b> .....	<b>35</b>

<b>4.6.3</b>	<b>Tiois não proteicos (NPSH)</b> .....	<b>35</b>
<b>4.6.4</b>	<b>Espécies Reativas de Oxigênio (ROS)</b> .....	<b>35</b>
<b>4.6.5</b>	<b>Enzimas do sistema purinérgico</b> .....	<b>36</b>
4.6.5.1	<i>Normalização das proteínas</i> .....	36
4.6.5.2	<i>Avaliação das enzimas que hidrolisam nucleotídeos e nucleosídeo de adenina</i> .....	36
<b>4.6.6</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>36</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>52</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo maior (TDM) é um dos quadros psicopatológicos que afeta a saúde mental de grande parte da população mundial. Sua etiologia é multifatorial, ou seja, envolve fatores biopsicossociais, aspectos ambientais e outras doenças de base (Anderson *et al.*, 2020). Mundialmente, a incidência do TDM está estimada em 4,4% (WHO, 2017), sendo um dos transtornos mentais mais prevalentes e conseqüentemente faz parte das estatísticas associadas à morbidade e mortalidade. As projeções para o ano de 2030 apontam que o TDM estará relacionado à sobrecarga do sistema de saúde em âmbito global, incluindo conseqüências diretas, como o crescimento da taxa de suicídio na população acometida (Pan *et al.*, 2019).

O TDM reflete significativamente na condição de vida do indivíduo, visto que alguns sintomas, como a perda de interesse ou prazer e humor deprimido, podem estar fortemente correlacionados ao risco de suicídio em casos mais graves. Paralelamente, distúrbios inflamatórios se associam ao contexto fisiopatológico dos transtornos neuropsiquiátricos, sendo a inflamação um mecanismo relevante para investigações clínicas do TDM (American Psychiatric Association, 2022).

Alterações de humor podem ser percebidas em pacientes com quadro infeccioso ou inflamatório. As concentrações de citocinas pró-inflamatórias presentes no plasma variam consideravelmente no estado de estresse agudo, bem como em situações de estresse crônico. Tal cenário se relaciona à influência psicológica sobre moléculas moduladoras do sistema imunológico (Strike *et al.*, 2004).

Estudos de metanálise abordam a correlação entre a depressão e a inflamação (Jia, 2021) e, nesse contexto o processo inflamatório se relaciona ao TDM que eleva os níveis de citocinas pró-inflamatórias, reduzindo os níveis de 5-hidroxitriptofano (5-HT) periférico. O desbalanço provocado pelo processo inflamatório é prejudicial para a manutenção de hormônios relacionados ao prazer e ao bem-estar, assim como a inflamação está intimamente ligada a distúrbios cardiometabólicos (Strike *et al.*, 2004).

A analogia entre as vias neuroinflamatórias e o desenvolvimento fisiopatológico do TDM pode estar associada a processos inflamatórios fora do sistema nervoso central (SNC) assim como a outros distúrbios (Pan, 2019) como diabetes melito, doenças cardíacas (Hodes *et al.*, 2015; Beurel; Toups; Nemeroff, 2020) e alguns tipos de cânceres (Kessler; Bromet, 2013). Ademais, as citocinas pró-inflamatórias geradas pelas comorbidades do TDM são

moléculas sinalizadoras do sistema imune que ativam as defesas para corrigir disfunções orgânicas. Esse recrutamento do sistema imunológico pode ocorrer de maneira desequilibrada, gerando danos às estruturas quando houver a produção exacerbada de citocinas (Audet; Anisman, 2013).

O aumento nos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) estão associados aos casos de TDM (Mazza *et al.*, 2021; Almeida *et al.*, 2021; Caldieraro *et al.*, 2018; Audet; Anisman, 2013; Miller; Raison, 2016, Pan, 2019). A desregulação nos níveis das citocinas no cérebro, bem como desbalanços oxidativos ou nitrosativos, por exemplo, afetam a neurogênese, a homeostase neural e o manejo de indivíduos com TDM (Calabrese *et al.*, 2014).

O processo inflamatório interfere negativamente na eficácia do tratamento do TDM. Alguns mecanismos e estruturas são conhecidos e podem se comparar a esse panorama clínico como o eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HPA) e o Sistema Nervoso Simpático (SNS) que possuem potencial para produzir respostas imunomoduladoras e hiperinflamatórias (Tang *et al.*, 2021).

Os mecanismos biológicos desregulados podem induzir danos e ativar o inflamassoma (NLRP3), um complexo proteico citosólico, com alta capacidade de lesão celular. Essa engenharia sinalizadora no sistema nervoso decorre das células mieloides, que podem ser estimuladas por microrganismos patogênicos e não patogênicos, o que demonstra a proximidade na relação estresse e inflamação (Miller e Raison, 2016; Weber; Godbout; Sheridan, 2017).

O aumento de necessidades metabólicas e energéticas em situações patológicas, como estresse ou inflamação, leva à mediação da sinalização extracelular de purinas, outro mecanismo considerado importante no desfecho do TDM. O sistema purinérgico vem ganhando espaço e protagonismo na compreensão do mecanismo biológico da depressão. A sinalização extracelular do sistema das purinas contempla os nucleotídeos ATP, ADP e AMP e o nucleosídeo adenosina, além dos receptores da família P1 e P2 e ectoenzimas (Gonçalves; Andrejew; Gubert; 2022).

Considerados biomarcadores, os componentes do sistema purinérgico são importantes preditores para avaliar a presença de alterações extracelulares, verificadas através da presença dos nucleotídeos e nucleosídeos, e estão relacionados ao TDM, que conforme Zhang, *et al.*, (2022) apresentam a interação dos receptores purinérgicos com mecanismos associados a

várias doenças psiquiátricas. Mediante modulações na expressão de receptores ou ectoenzimas, é possível também modular a sinalização inflamatória e conseqüentemente o dano causado pela desordem celular ou sistêmica. O uso de terapia medicamentosa já é uma realidade frente ao tratamento do TDM, todavia, carrega consigo diversos efeitos colaterais indesejados e limites terapêuticos e principalmente quanto ao manejo individualizado nos transtornos neuropsiquiátricos (Lee; Bae, 2017).

O uso de terapias complementares às tradicionais nos transtornos neuropsiquiátricos se faz importante, sobretudo ao minimizar os efeitos indesejados e atender os indivíduos com resistência à resposta terapêutica padrão. Compostos provenientes de plantas estão se tornando promissores com o avanço de pesquisas científicas, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Nesse sentido, com o objetivo de realizar uma investigação ampla sobre a relação do TDM, sistema purinérgico e o estresse oxidativo, este estudo se propôs a investigar novos compostos terapêuticos com potencial de modulação, tais como a *C. asiatica* e do composto ativo ácido madecássico. Para avançar, é essencial entender como certos mecanismos nas bases neurobiológicas que envolvem inflamação controlada por receptores, nucleotídeos, nucleosídeos e espécies reativas de oxigênio podem ajudar na detecção precoce, no tratamento e na melhoria dos prognósticos do TDM.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar a modulação de componentes do sistema purinérgico e do estresse oxidativo em células e tecido de córtex pré-frontal de ratos Wistar submetidos à privação maternal e ao isolamento social no início da fase adulto jovem em tratamento crônico com *C. asiatica* e o ácido madecássico.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Verificar a hidrólise dos nucleotídeos ATP, ADP e AMP em tecido do córtex pré-frontal de ratos machos e fêmeas submetidos a privação maternal na infância e isolamento social no início da fase adulta;

Avaliar o efeito do tratamento crônico com *C. asiatica* e o ácido madecássico em parâmetros de estresse oxidativo: substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico (TBARS), vitamina C, tiois não proteicos (NPSH) e espécies reativas de oxigênio (ROS) em soro de ratos machos e fêmeas submetidos a privação maternal na infância e isolamento social no início da fase adulta;

Avaliar as diferenças de respostas ao estresse e defesas antioxidantes nos ratos machos e fêmeas submetidos a estresse e privação maternal na infância e isolamento social no início da fase adulta.

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 TDM**

O TDM é o diagnóstico psiquiátrico mais comum a nível de população mundial, apresentando-se como uma condição incapacitante (Willner; Scheel-Krüger; Belzung; 2013), com características como perda de prazer, tristeza, irritabilidade, alterações do sono, fadiga e elevação do risco de suicídio (American Psychiatric Association, 2022), aumentando o índice de mortalidade nos indivíduos afetados (Carlessi *et al.*, 2021). Clinicamente o TDM é considerado heterogêneo e, entre as estruturas cerebrais envolvidas na fisiopatologia do diagnóstico, estudos sugerem desregulação no sistema límbico e também no córtex pré-frontal (Pitsillou *et al.*, 2020).

Os pacientes com TDM têm maior probabilidade de tentativas de suicídio quando comparados com o restante da população (Undurraga *et al.*, 2012). A prevalência do TDM é maior em até duas vezes nas mulheres em relação aos homens (Grigoriadis; Robinson, 2007) e a ocorrência é preponderante do final da adolescência e se estende até a vida adulta (Kessler; Bromet, 2013). Além disso, cerca de 30% a 50% dos pacientes são resistentes à resposta terapêutica do tratamento com antidepressivos padrões (Willner; Scheel-Krüger; Belzung; 2013; Hodes *et al.*, 2015). Há portanto um expressivo impacto de sobrecarga econômica e social (Ferrari *et al.*, 2010).

Um período bastante delicado ocorre em pacientes em estado de depressão severa. Ao iniciar o tratamento, os medicamentos geralmente necessitam de um período de aproximadamente quinze dias para início dos efeitos terapêuticos (Ibanez *et al.*, 2014)

São fatores de risco para o desenvolvimento do TDM condições como história familiar de depressão, abuso e negligência na infância, indivíduos do sexo feminino e fatores estressores recentes (Beurel; Toups; Nemeroff, 2020). Além disso, indivíduos com comportamentos nocivos para a saúde estão ligados ao TDM, como tabagismo, consumo de bebida alcoólica, obesidade, não aderir aos tratamentos e desregulações biológicas, a exemplo de hiperatividade do eixo HPA e função imune prejudicada estão ligados ao TDM (Kessler; Bromet, 2013). O eixo HPA está bem estabelecido na literatura científica como um dos fatores envolvidos na fisiopatologia de diversos transtornos psiquiátricos (Keller *et al.*, 2017).

A hipótese mais aceita sobre a etiologia do TDM é a deficiência monoaminérgica, que promove redução de níveis de serotonina, noradrenalina e dopamina na fenda sináptica (Carlessi *et al.*, 2021). Uma pesquisa avaliou imagens da estrutura cerebral e identificou modificações em redes neurais, envolvendo principalmente a molécula de serotonina (Zhang, 2016).

Estudos realizados ainda na década de 1930, fizeram correlação entre a desregulação do estresse com a depressão e foram os primeiros a associar que o desajuste do eixo HPA comprometeria a homeostase corporal (Tan; Yip, 2018). Apesar disso, o estresse crônico estaria associado a uma elevação de glicocorticóides (Troubat *et al.*, 2021), estimulando demasiadamente o organismo pelo não controle de *feedback* de regulação do eixo HPA (Bao, 2012; Jeon; Kim, 2018), tornando essa hipótese bastante sólida e muito estudada.

Pesquisas evidenciaram que num subconjunto de pacientes deprimidos, a inflamação estava alterada, sugerindo ser um potencial marcador biológico do TDM. Estudos utilizando plasma periférico constataram a presença de citocinas pró-inflamatórias em níveis elevados há décadas no TDM (Maes *et al.*, 1995). Entretanto, o mecanismo necessita de esclarecimentos em especial sobre o aspecto de que o artifício de inflamação periférica estaria correlacionado com a depressão, ou seja, pela regulação inflamatória dar-se pelos mecanismos dos antidepressivos tradicionais (Hodes, *et al.*, 2015). Contribuindo com essa evidência, Reus *et al.*, (2017), sugerem haver uma relação entre o processo inflamatório e os níveis de citocinas elevadas no TDM ao promover dano oxidativo periférico bem como central.

Nos estudos em humanos, os níveis de marcadores inflamatórios, principalmente, IL-6 e células periféricas como leucócitos, estão expressos em níveis aumentados no TDM, assim como evidências robustas vem consolidando o papel da inflamação no desenvolvimento de transtornos de humor (Howren; Lamkin; Suls, 2009; Hodes *et al.*, 2015). Em indivíduos com TDM, uma metanálise demonstrou que os níveis de IL-1, IL-2, IL-6 e TNF- $\alpha$  foram mais

significativos em comparação ao aumento de níveis de citocinas pró-inflamatórias (Dowlat, 2010) assim como, alterações neuroendócrinas e dos neurotransmissores no TDM são relacionadas às citocinas IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  (Phillips; Fahimi, 2018). Nessas pesquisas, o estresse no início da infância promoveu o aumento da inflamação periférica, potencializando o desenvolvimento de transtornos tanto na infância quanto na vida adulta e demonstrando relação com o sistema imunológico (Johnson; Kaffman, 2018).

Além de presença de níveis de citocinas pró-inflamatórias circulantes, é possível constatar o aumento do número de leucócitos, os quais podem ser associados à elevação dos marcadores inflamatórios (Hodes *et al.*, 2015). Um estudo sugere que mulheres tendem a ser mais propensas a desenvolver o TDM visto que sofrem mais interferências pelo estresse, o que, conseqüentemente, favorece a inflamação (Carlessi *et al.*, 2021).

Interferências hormonais podem provocar reações parecidas com o estresse, desencadeando alterações em regiões cerebrais envolvidas com a expressão emocional sugerindo correlações entre o estresse e os mecanismos ligados as citocinas pró-inflamatórias que comprometem a neurotransmissão nos circuitos cerebrais (Gądek-Michalska *et al.*, 2013).

Conforme apresentado, as pesquisas apontam que o TDM apresenta uma condição psicopatológica complexa tanto na sintomatologia clínica, quanto na fisiopatologia e resposta terapêutica ao tratamento. A crescente incidência do quadro depressivo, somada às lacunas existentes na compreensão do fenômeno e nas falhas decorrentes de medidas terapêuticas, reforça a importância do tema em estudo.

### 3.2 RESPOSTA IMUNOLÓGICA

O sistema imune inato é composto pelas células imunes periféricas e originárias de células-tronco hematopoiéticas na medula óssea (Scheiermann; Frenette; Hidalgo, 2015) tais como células mielóides compostas por granulócitos, monócitos, macrófagos, células dendríticas e linfócitos inatos, como células *natural killer* (NK) (Hodes *et al.*, 2015). Ao ser recrutado na presença de um patógeno, o sistema imune produz uma resposta liberando mediadores inflamatórios, que podem atuar de maneira local ou sistêmica, e são comumente as citocinas pró-inflamatórias: a interleucina-1 $\alpha$  e  $\beta$  (IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$  e IL-6 (Dantzer, 2009).

Nesse sentido, a percepção dos mecanismos de acionamento, pelo sistema inato, ocorre de diversas maneiras (Vitkovic *et al.*, 2000; Mou *et al.*, 2022) e pressupõe que a

passagem se dá por meio de difusão nas regiões onde órgãos circumventriculares não passam pela barreira hemato encefálica (BHE). Duas respostas importantes inatas acontecem em vias diferentes no organismo: a via humoral, onde receptores semelhantes a *Toll* (TLRs) em órgão circumventriculares e plexo coróide, atuam na detecção de padrões moleculares associados a patógenos e produzem citocinas pró-inflamatórias; e a via dos nervos aferentes, onde citocinas acionam os nervos primários viscerais e abdominais. Os transportadores de citocinas na BHE compreendem uma terceira via, que atua em formato de transporte saturável (Dantzer *et al.*, 2008) e uma quarta via ocorre por meio dos macrófagos perivasculares e células endoteliais das vênulas do cérebro que tem receptores de IL-1 (Konsman *et al.*, 2004). Há pouco conhecimento sobre como a movimentação das células imunes ocorre no cérebro para a ativação da sinalização de citocinas pró-inflamatórias, bem como, suas consequências comportamentais. No entanto, essas ligações são importantes para doenças do SNC (Dantzer *et al.*, 2008).

Ghasemi *et al.* (2017) refere que o cérebro faz a modulação do sistema imunológico central e periférico envolvendo adjuvantes como os neurotransmissores, os hormônios endócrinos e as citocinas. A desregulação do sistema imunológico estaria relacionada ao *feedback* negativo, produzindo estímulo do eixo HPA que culmina em circulação de glicocorticóides em níveis elevados, e esse mecanismo se dá por ação das citocinas inflamatórias, principalmente relacionada ao estresse crônico (Ignácio *et al.*, 2019).

Considerando a hipótese que a desregulação do sistema imunológico está relacionada com a etiologia do TDM (Dantzer, 2009) um estudo realizado em camundongos submetidos a estresse crônico, avaliou o efeito do antidepressivo fluoxetina e apresentou níveis reduzidos de citocinas pró-inflamatórias verificadas em sangue periférico e tecido cerebral no grupo submetido ao tratamento após 60 dias (Lu *et al.*, 2017). Ainda, pode-se observar redução do comportamento anedônico que possivelmente reduziria os sintomas depressivos.

Indivíduos com TDM tendem a ter as funções executivas impactadas, comprometendo a adaptação psicossocial, o desempenho cognitivo e ocupacional (Zuckerman *et al.*, 2018). As funções executivas são comandadas pelo lobo frontal e compreendem principalmente memória de trabalho, inibição e flexibilidade cognitiva (Miyake *et al.*, 2000; Friedman; Miyake, 2017). Um estudo com adolescentes depressivos, avaliou a função executiva e sugere haver maior influência no risco para disfunção executiva nos estados de desregulação imunológica em indivíduos depressivos (Peters *et al.*, 2019).

### 3.3 INFLAMAÇÃO

A inflamação pode ser caracterizada por uma ampla gama de estímulos como patógenos microbianos e moléculas geradas endogenamente, onde o reconhecimento imune inato desempenha papéis fundamentais com resposta imunovascular dos tecidos (Into *et al.*, 2017). Num contexto histórico, iniciou-se a investigação dessa hipótese por associação quando um estudo relacionou que pacientes desenvolveram TDM ao fazerem tratamento para hepatite C utilizando interferon (Schaefer *et al.*, 2005). Esse estudo em associação com outros achados semelhantes em doenças crônicas como cardiovasculares, advindas de dados epidemiológicos, sugere a relação da inflamação com o desencadeamento do TDM (Tang *et al.*, 2021).

A existência de uma correlação bem sustentada entre a depressão aumentar níveis inflamatórios e a inflamação desencadear depressão foi relatada em um estudo que avaliou plasma e líquido cefalorraquidiano e em outros estudos pós-morte (Alcocer-Gómez *et al.*, 2014).

Padrões de estresse como isolamento social são preditores de altos níveis de citocinas pró-inflamatórias centrais e periféricas (Möller, 2013). As descobertas relacionando fatores estressores físicos e psicológicos oferecem uma robusta predição para o desenvolvimento de TDM. A resposta inflamatória possui relação com o eixo HPA, onde em condições de homeostase o eixo HPA promove ação inibitória no sistema imune. No entanto, na condição crônica pode ocorrer a resistência aos glicocorticóides, circunstância essa que as células imunológicas não têm sensibilidade. Na inflamação crônica também ocorre o processo de resistência aos glicocorticóides pelas citocinas pró inflamatórias, reduzindo o *feedback* inibitório do hormônio liberador de corticotropina (Tang *et al.*, 2021).

As funções neuronais são fortemente afetadas sob ação permanente de citocinas inflamatórias, levando a interrupções de síntese, bem como da recaptação e da liberação de neurotransmissores (Beurel; Toups; Nemeroff, 2020). Desta forma, a redução da síntese de monoaminas e a intensificação dos transportadores de monoaminas como a recaptação sináptica são mecanismos envolvidos com as citocinas pró-inflamatórias (Tang *et al.*, 2021).

Em relação a neuroinflamação, pesquisas recentes sugerem que ações antidepressivas são demonstradas quando há impedimento para violação da BHE, ou seja, quando é protegida da ação das citocinas periféricas (Menard *et al.*, 2017). Postula-se que a neuroinflamação exacerbada na resposta imune torna-se aumentada quando há comunicação entre a microglia e

a estrutura do endotélio cerebral fazendo recrutamento de monócitos (Biltz *et al.*, 2022). Uma metanálise analisou o líquido cefalorraquidiano e o parênquima cerebral de pacientes com TDM e propôs aumento nos níveis de IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ , no entanto, percebeu redução nos oligodendrócitos e nos astrócitos (Wang; Miller, 2018).

Desregulações no SNC, estresse e depressão são refletidas na presença e elevação nos níveis de marcadores inflamatórios como a IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e TNF- $\alpha$ . Contudo, a IL-1 $\beta$  reduz a neurogênese no hipocampo bem como a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) que está associada a comportamento depressivo (Iwata; Ota; Duman, 2013).

Chamberlain *et al.*, (2019) apontam que a inflamação de baixo grau está associada a depressão resistente ao tratamento. Corrobora com esse achado, outro estudo com pacientes com TDM que não apresentaram resposta anti-inflamatória no tratamento e revelaram-se indivíduos resistentes a esse, ou seja, mediante a presença de citocinas apresentam um efeito anti-inflamatório no sistema imune e por consequência menor resposta terapêutica (Syed *et al.*, 2018).

Um aspecto importante é proposto por Syed *et al.*, (2018) em um estudo ao avaliar as citocinas anti e pró-inflamatórias, sugere que haja uma alteração no equilíbrio dessas que promove ação antidepressiva, dado que pacientes deprimidos resistentes ao tratamento apresentam níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias em relação aos níveis de citocinas pró-inflamatórias dos pacientes com resposta ao tratamento (Kubera *et al.*, 2001).

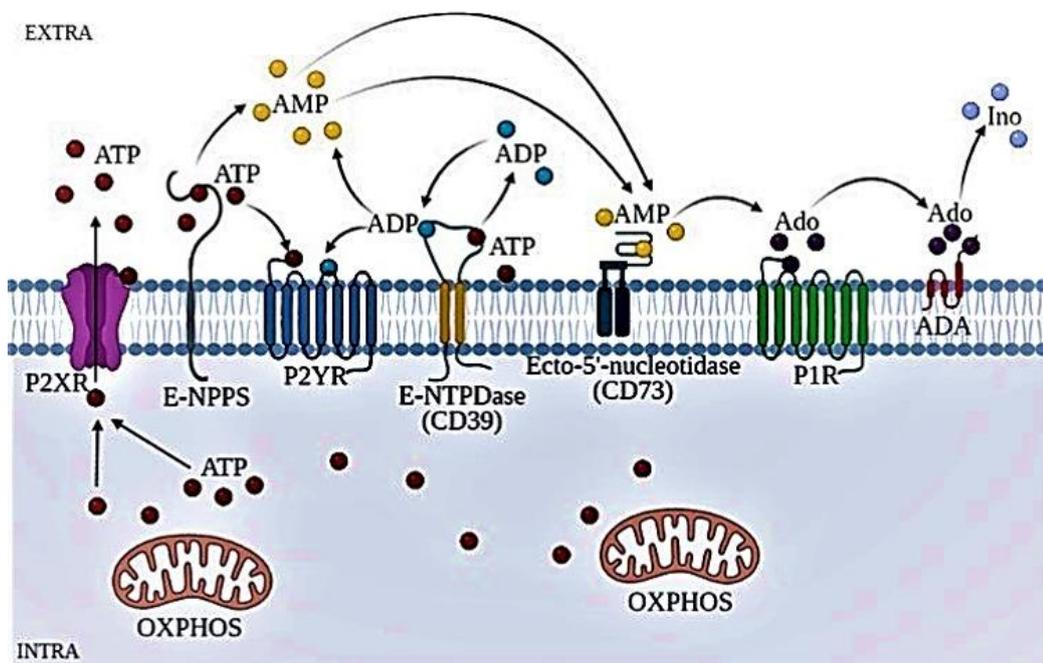
### 3.4 SISTEMA PURINÉRGICO

No início da década de 1970, Geoffrey Burnstock lançou a “hipótese do nervo purinérgico” na qual postula que a adenosina trifosfato (ATP) tem papel de neurotransmissor específico no SNC (Burnstock, 1972). Na cascata do sistema purinérgico o ponto inicial é dado pela presença do ATP extracelular. Nesse meio o ATP sofre o processo de hidrólise pela enzima NTPDase-1 (CD39), que a degrada em adenosina difosfato (ADP); o ADP sofre o processo de hidrólise pela enzima CD39 e é degradado em adenosina monofosfato (AMP); para hidrólise do ATP em AMP a enzima atuante é ectonucleotídeo fosfodiesterase/pirofosfatase (E-NPPs); o AMP sofre também o processo de hidrólise e se transforma em adenosina (ADO); para a hidrólise do AMP a enzima atuante é a ecto-5’-

nucleotidase (CD73); o processo termina com a hidrólise da ADO em inosina. Para a hidrólise da ADO a enzima atuante é a adenosina deaminase ADA (CD26) (Burnstock, 2013).

O sistema purinérgico possui receptores das famílias P1 e P2. O P1 é o receptor de adenosina, um nucleosídeo que se liga a A1, A2A e A2B e A3 e se acoplam a proteínas G. O P2 é um receptor de nucleotídeo sendo dividido em receptor P2Y e P2X. O P2Y é um canal metabotrópico e desmembrado em famílias: P2Y1, P2Y2, P2Y4 e P2Y6 que são ligados a proteína Gq; o receptor P2Y11 está ligado à proteína Gs; os receptores P2Y12, P2Y13 e P2Y14 estão ligados a proteína Gi (Sperlagh, 2012; Di Virgilio, 2012; Burnstock, 2013). Por sua vez, receptores P2X são canais ionotrópicos, receptores de ATP e ADP, ligados à membrana plasmática e subdivididos em P2X1-7 (Di Virgilio, 2012). Na Figura 1, Silva *et al.*, (2022) demonstram a atuação do sistema purinérgico.

Figura 1 - Sistema Purinérgico



Fonte: (Silva *et al.*, 2022).

Os receptores A1 e A2A atuam na regulação da liberação de neurotransmissores monoamínicos no efeito antidepressivo da privação do sono, principalmente da serotonina. No estresse crônico, níveis de adenosina são reduzidos exercendo desequilíbrio ao realizar a ligação com A1R e A2AR. A adenosina quando em baixas concentrações, faz a ativação de A1R, bloqueando a liberação e reduzindo a concentração de 5-HT no hipotálamo, mecanismo que sugere desencadear a depressão (Liu *et al.*, 2019).

A ADO atua com função imunossupressora, ao passo que ativa células T regulatórias mediando a liberação de IL-10 que é uma citocina anti-inflamatória. Em relação ao aspecto imunológico, compreende-se que os receptores P1 reduzem ou inibem a secreção de quimiocinas, ao passo que os receptores P2 realizam ação contrária. Esse processo culmina na contribuição da migração de leucócitos, visto que os nucleotídeos e o nucleosídeo favorecem a regulação de quimiocinas (Ferrari *et al.*, 2016).

No SNC as vias sinalizadoras purinérgicas são muito expressas (Di Virgilio *et al.*, 2009). Os receptores são reguladores de processos como inflamação, vasodilatação e neurotransmissão (Welsh; Kucenas, 2018). O receptor ionotrópico P2X7 é o mais estudado no SNC (Sperlagh, 2012) e constitui-se como o principal integrante de ligação do ATP extracelular (Burnstock, 2012), que oferece grande permeabilidade para as células (Troubat *et al.*, 2021). Esse receptor é expresso em vários tipos de células, principalmente as imunes desempenhando a mediação da sinalização do ATP (Jian, 2012). O ATP extracelular, liberado por células saudáveis ou não, é mediado pelo P2X7, que por meio de ligantes controla o canal iônico da superfície celular (Troubat, *et al.*, 2021).

No SNC o sistema purinérgico desempenha diversas funções e é constituído por moléculas sinalizadoras, enzimas e receptores. O mecanismo consiste em degradação, sinalização, ação e inativação extracelular de ATP culminando em adenosina como produto de degradação (Sperlagh *et al.*, 2012). Posteriormente, descobriu-se que o ATP extracelular possui funções múltiplas, além de neurotransmissor, atua como modulador pré e pós-sináptico, de modo que as pesquisas também evidenciam a sinalização purinérgica como alvo terapêutico para doenças do SNC (Sperlagh, 2012).

No entanto, a presença de ATP em excesso no meio extracelular pode atuar como padrão molecular associado ao dano (DAMP) (Di Virgilio *et al.*, 2009), e sua permanência por longos períodos e em excesso desencadeia neurodegeneração e toxicidade. Os receptores P2 atuam como amplificadores do ATP e da inflamação, sendo que no neurônio os receptores P2X tornam-se ativados desencadeando a liberação de citocinas pró-inflamatórias. A desregulação dos receptores P2X pode favorecer o desenvolvimento de doença neuro inflamatória crônica (Abbracchio *et al.*, 2009).

Desta forma, relação de inflamação com liberação de ATP pode se estabelecer com a presença de DAMP. A inflamação estéril, sem presença de patógeno, causada por estresse sistêmico ou psicológico, estimula as células a responderem com liberação de citocinas e quimiocinas (Fleshner; Frank; Maier, 2017). Como descrito anteriormente, o ATP faz ligação

com o receptor P2X7 e ocorre a liberação de IL-1 $\beta$  que culmina em inflamação, e o efluxo de potássio intracelular reduz as concentrações e ativa o NLRP3, um complexo proteico que aciona a produção da caspase-1 (Stoffels *et al.*, 2015).

Sendo assim, o sistema purinérgico por vez pode contribuir para a ativação da maquinaria do NLRP3 que é uma estrutura que tem três domínios: um domínio PYRIN (PYD) amino-terminal, um domínio NACHT de ligação a nucleotídeos contendo atividade ATPase e um domínio de repetição rica em leucina (LRR) carboxi-terminal (Seoane *et al.*, 2020). Juntamente a esse processo está a interleucina 18 (IL-18); nesse complexo sistema de ativação do NLRP3 e maturação da caspase-1 ocorre o processamento da IL-1 $\beta$  e IL-18. O NLRP3 ativa-se por disfunção mitocondrial e por ação de espécies reativas de oxigênio (EROS), ligando-se a um domínio de recrutamento de caspases (ASC) para a formação de seu complexo (Kelley *et al.*, 2019).

A associação do NLRP3 como sinalizador de dano neuroinflamatório pelo envolvimento forte na maturação da IL-1, infere na potencial relação com sintomas do TDM (Tang *et al.*, 2021). Exemplificando, um estudo em camundongos utilizando antagonista do receptor P2X7 reverteu comportamento anedônico e de ansiedade promovidos por estresse crônico, ao bloquear a liberação de IL-1 $\beta$  e TNF. É possível estabelecer a relação que a liberação de ATP decorrente do estresse é detectada pelo sistema imunológico promovendo a interação com P2X7 e a formação do NLRP3 (Iwata *et al.*, 2016).

### 3.5 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo acontece quando a síntese de radicais livres excede a capacidade do corpo de fazer a compensação com moléculas antioxidantes, acionando múltiplas vias capazes de estimular a ação inflamatória (Rawdin *et al.*, 2013).

As EROS em condições de homeostase são importantes e fundamentais para a função cognitiva e plasticidade sináptica (Corrigan *et al.*, 2023). Em contraponto, aumento na quantidade de EROS que caracterizam condição patológica impedem o mecanismo regulatório de antioxidantes endógenos com capacidade de provocar dano neuronal, provocado por metabólitos oxidativos em altas concentrações (O'farrell; Harkin, 2017).

A inflamação ativada atua conjuntamente com o aumento do estresse oxidativo e nitrosativo, condição que favorece a diminuição da neurogênese, bem como, lesão às células

em áreas relevantes para o humor: córtex pré-frontal, hipocampo e a amígdala (Tang *et al.*, 2021).

Conforme Rawdin *et al.*, (2013) a análise de sangue periférico de indivíduos com TDM para identificar marcadores de estresse oxidativo através do isoprostanos F2 resultou na presença e na correlação com a citocina pró-inflamatória IL-6. Esses mesmos indivíduos pesquisados, após tratamento com sertralina, apresentaram reversão dos sintomas depressivos, sugerindo a desagregação do sistema serotoninérgico e consequente fragmentação dos componentes de estresse oxidativo e inflamação como somatórios nesse processo. Em adição, a tetrahydrobiopterina (BH4) é um cofator que atua na conversão de tirosina em dopamina, no entanto, por indução do estresse oxidativo, as citocinas inflamatórias provocam redução dos níveis de BH4 desencadeando quadro de fadiga no indivíduo (Felger *et al.*, 2013).

Em pacientes com TDM citocinas inflamatórias aumentam as EROS mitocondriais que convergem com o aumento da expressão de diversas citocinas pró-inflamatórias (Alcocer-Gómez *et al.*, 2014). As EROS também estão relacionadas com a produção do NRLP3, onde a TXNIP, uma proteína que faz interação com a tioredoxina (TRX), atua com regulação negativa da atividade redutase, tendo como resultado ativação do NLRP3. Cabe destacar que não está bem estabelecido o mecanismo desencadeador deste processo (Jin; Flavell, 2010).

A elevação da produção de EROS também é relacionada com as citocinas pró-inflamatórias ao passo que, ao estimular a produção de indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO), essa enzima reduz o triptofano ocasionando em aumento de metabólitos de 3-hidroxiquinurenina e ácido quinolônico (Maes *et al.*, 2011).

O TDM incursa com disfunção bioenergética, bem como com redução do metabolismo energético. Estudos estabelecem que em ratos o estresse crônico moderado inibe os complexos mitocondriais I, III, IV no córtex cerebral e cerebelo dos animais. No entanto, pode ser revertido com administração da cetamina, o antagonista do receptor N- metil-D- aspartato (NMDA) (Sharma; Akundi, 2019).

### 3.6 COMPOSTOS NATURAIS

Os compostos naturais podem fornecer funções biológicas (Wong; Barron; Abdullah, 2021). A fitoterapia em estudos envolvendo distúrbios cerebrais ganhou notoriedade nas últimas décadas, quando pesquisas realizadas em modelos animais levantaram informações acerca dos benefícios preventivos e protetores dos extratos de ervas (Sahraei *et al.*, 2022).

É sabido que existem cerca de 5 mil espécies de plantas no planeta com potencial terapêutico e a natureza histórica das ervas medicinais estimula o interesse em pesquisar as potencialidades ainda pouco conhecidas (Lokanathan *et al.*, 2016). Nessa perspectiva, os produtos naturais e seus derivados são importantes fontes de pesquisa com finalidade terapêutica para a população, visto que geralmente são acessíveis, saudáveis e constituídos por compostos potenciais a tornarem-se fontes medicamentosas promissoras (Wong; Barron; Abdullah, 2021).

### 3.7 *C. asiatica*

A *C. asiatica* é uma planta tradicional da família Apiaceae, cultivada na China, sudeste asiático e Malásia, muito utilizada na medicina Ayurvédica (Orhan, 2012) pelas propriedades neuroprotetoras e por atuar com propriedades regeneradoras (Lokanathan *et al.*, 2016). Na medicina indiana é utilizada para melhora das funções cognitivas (Shinomol; Muralidhara; Bharath; 2011) e também consumida em sucos e saladas (Wong; Barron; Abdullah, 2021). No Brasil a *C. asiatica* é conhecida como Cairuçu-asiático, Centelha, Codagem e Pata-de-mula (Anand *et al.*, 2010).

O principal componente químico de ação farmacológica da *C. asiatica* é o ácido madecássico (Sun *et al.*, 2020), com capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica (BHE) e potencial de atingir células do SNC, mesmo quando administrado periféricamente (Wong; Barron; Abdullah, 2021).

As propriedades anti-inflamatórias da *C. asiatica* estão relacionadas à presença de glicosídeos triterpenoides: asiaticosídeo e madecassosídeo. Os triterpenos são: ácido asiático, ácido madecássico, asiaticosídeo, madecassósido e ácido brâhmico e os efeitos benéficos desse composto foram demonstrados em parâmetros do estresse oxidativo (Anand *et al.*, 2010; Orhan, 2012). São compostos presentes na *C. asiatica* os fenólicos assim como os triterpenos que são predominantes constituintes da planta, destacando-se o ácido madecássico como principal triterpeno e mais presente na sua composição (Arora *et al.*, 2018; Wong; Barron; Abdullah, 2021). Além destes mencionados, a folha contém potássio (K), ferro (Fe), sódio (Na), magnésio (Mg) e ácido ascórbico (Lokanathan *et al.*, 2016).

Os estudos que investigam os compostos da *C. asiatica* para uso terapêutico inferem que as melhoras cognitivas são decorrentes do mecanismo antioxidante possibilitado pela planta (Arora *et al.*, 2018). Os derivados da *C. asiatica* exercem efeitos neuroprotetores contra

morte celular decorrente dos radicais livres e também da toxicidade decorrente do neurotransmissor glutamato, sendo que o ácido madecássico tem atividade anti-inflamatória notável (Arora *et al.*, 2018).

A *C. asiatica* possui níveis elevados de polifenóis e flavonóides que atuam como antioxidantes, para os quais um estudo com ensaios de atividades *in vivo* e *in vitro* demonstraram a supressão de EROS. O mesmo estudo, ainda observou a capacidade redutora de inativação de hidroxilas das EROS com extrato metanólico de *C. asiatica* (Anand *et al.*, 2010)

Em ratos com disfunção de memória em decorrência do estresse oxidativo a suplementação de *C. asiatica* proporcionou melhora no desempenho, indicando relação entre função cognitiva e efeito antioxidante (Prakash; Kumar, 2013). A *C. asiatica* também mostrou-se potente em ratos, eliminando radicais livres, reduzindo a peroxidação lipídica e elevando a atividade de enzimas antioxidantes endógenas, o que sugere que a *C. asiatica* atua inibindo a atividade da via da enzima caspase-9 relacionada com a ativação da apoptose (Lokanathan *et al.*, 2016).

Um estudo realizado com ratos Wistar utilizou *C. asiatica*, mais especificamente o extrato aquoso, e mostrou atenuação do estresse oxidativo, da atividade inflamatória bem como da apoptose (Rather *et al.*, 2019). Corroborando com estes resultados, outro estudo demonstrou que a atividade antioxidante da *C. asiatica* também teve efeitos na inibição da peroxidação lipídica e aumentou a catalase em tecido hepático de ratos, revelando seu potencial antioxidante (Intararuchikul *et al.*, 2019)

A *C. asiatica* tem capacidade de permeabilidade para atravessar a BHE para fitoquímicos, no entanto, não está bem estabelecido na literatura científica o mecanismo de transporte (Wong; Barron; Abdullah, 2021). Porém, foi constatada a presença de fitoquímico no tecido cerebral após administração periférica da *C. asiatica* (Anukunwithaya *et al.*, 2017) e concentrações suficientes para exercer efeitos neuroterapêuticos (Wong; Barron; Abdullah, 2021).

São conhecidos na literatura os benefícios da *C. asiatica* na doença de Alzheimer e Parkinson, pelos efeitos antioxidantes (Gray *et al.*, 2018; Teerapattarakan *et al.*, 2018). Especula-se que a *C. asiatica* tenha papel importante na mitocôndria, especificamente na regulação da função e atuando no potencial de membrana (Wong; Barron; Abdullah, 2021).

Em um estudo realizado com modelo animal, ratos submetidos a isquemia e tratados com *C. asiatica* apresentaram redução nos níveis de citocinas, estabelecendo a relação de efeito anti-inflamatório (Luo *et al.*, 2014).

Estudos em pacientes com câncer demonstraram que a *C. asiatica* promoveu a modulação da atividade inflamatória, reduzindo as citocinas pró-inflamatórias e aumentando as citocinas anti-inflamatórias (Naidoo *et al.*, 2017). Outro estudo com camundongos avaliou a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativo, onde o extrato de *C. asiatica* apresentou função antioxidante, com redução dos níveis de EROS e malondialdeído (Orhan, 2012). Além disso, outro estudo observou que em macrófagos de camundongos a *C. asiatica* reduziu a expressão de óxido nítrico e a produção de mediadores anti-inflamatórios (Cho *et al.*, 2020).

A fórmula molecular do ácido madecássico possui a seguinte composição: C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>6</sub> e peso molecular de 504,7g/mol. Há detecção mesmo que baixa de concentração no plasma de centella asiatica por administração via oral após 48 horas e o ácido madecássico é um ingrediente ativo (ANUKUNWITHAYA *et al.*, 2016). Há detecção mesmo que baixa de concentração no plasma de *C. asiatica* por administração via oral após 48 horas e o ácido madecássico é um ingrediente ativo (YIN *et al.*, 2012).

A literatura conhecida até o momento pouco tem investigado e constatado sobre as relações entre a análise do sistema purinérgico com *C. asiatica* e o ácido madecássico. Esta correlação se faz pertinente tendo em vista pesquisas que indicam os efeitos benéficos da planta na mediação anti-inflamatória, sustentando a importância de mais pesquisas neste campo.

## **4 METODOLOGIA**

Trata-se de um estudo quantitativo, analítico, descritivo, experimental, desenvolvido no Biotério Setorial da Universidade Federal da Fronteira Sul - BIOCHUFFS, da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS *Campus* Chapecó).

### **4.1 MODELO ANIMAL**

Foram utilizados ratos albinos Wistar machos e fêmeas, provenientes do BIOCHUFFS. Os animais do grupo controle permaneceram alojados em uma gaiola ventilada, com serragem e dimensões de 414 x 344 x 174 mm com capacidade para até 5 animais separados por gênero.

Os animais que passaram por isolamento social permaneceram em gaiola individual, ventilada, com serragem. As gaiolas são em polipropileno, inquebrável, autoclavável, resistente a ácidos, com dimensões de 160 x 265 x 115 mm. O acesso à dieta e água foi livre (*ad libitum*). A sala foi mantida em temperatura ambiente variando de 22 a 25°C com umidade de 55±10% e ciclo de claro/escuro de 12 horas (07h às 19h). Os procedimentos foram realizados conforme as normas do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) para minimizar o sofrimento dos animais, conforme os Princípios Éticos de Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O estudo foi aprovado na CEUA da UFFS sob o protocolo número 1912270922.

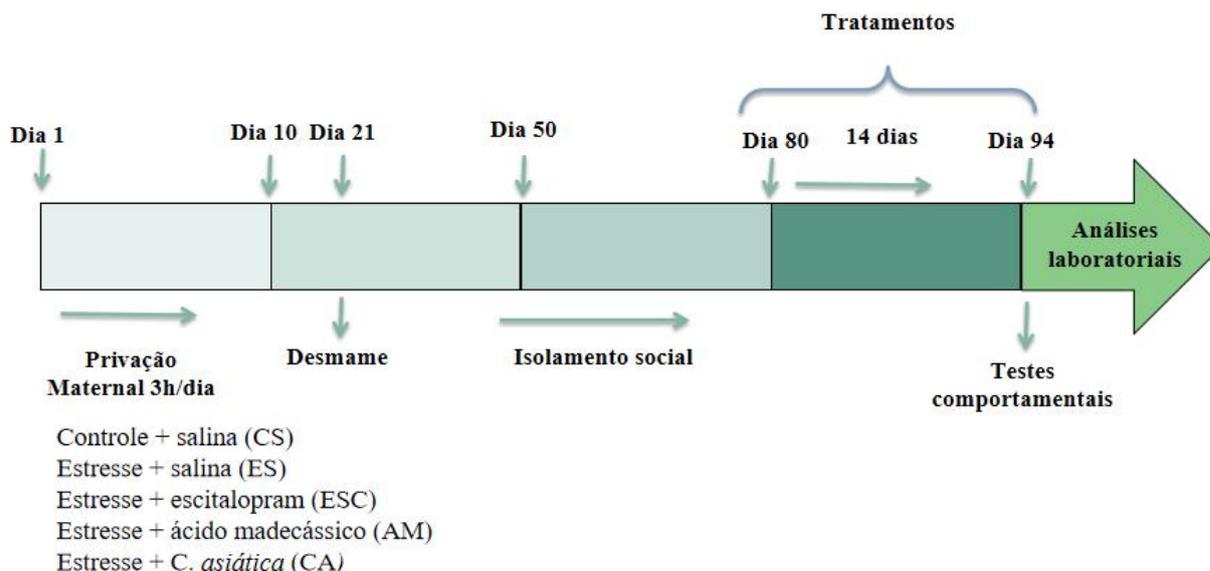
#### 4.2 DESENHO EXPERIMENTAL - PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL NO INÍCIO DA FASE ADULTA

O desenho experimental encontra-se esquematizado na Figura 2. Os animais submetidos à privação maternal foram privados do convívio materno do dia 01 (um) de vida até o dia 10 (dez) por 3h diárias e após repostos na gaiola com a mãe. Posteriormente permaneceram com a mãe até o desmame no dia 21 (vinte um), e, após este período, foram mantidos 5 (cinco) animais por gaiola, separados por machos e fêmeas. No dia 50 (cinquenta) foram submetidos ao isolamento social, e alojados em gaiolas individuais. O tratamento farmacológico e fitoterápico iniciou no dia 80 (oitenta) até o dia 94 (noventa e quatro) e após esse período foram submetidos à eutanásia.

Os animais do grupo controle não sofreram alterações de alojamento e mantiveram-se na gaiola com a mãe até o desmame. Após o desmame foram mantidos 5 (cinco) animais por gaiola, separados por machos e fêmeas até o dia 94, quando foram submetidos a eutanásia.

Os grupos experimentais foram compostos por um n (número) de 10 (dez) animais/grupo para machos e para fêmeas, totalizando 5 (cinco) grupos de tratamento constituídos na seguinte divisão: controle + salina (CS), estresse + salina (ES), estresse + escitalopram (ESC), estresse + ácido madecássico (AM) e estresse + *C. asiatica* (CA).

Figura 2 - Síntese do modelo experimental



Fonte: o autor.

#### 4.3 TRATAMENTO

Os animais foram submetidos ao tratamento farmacológico por meio de gavagem via oral, por um período de 14 (quatorze dias) estabelecendo o tempo de uso crônico do fármaco na literatura. O controle positivo foi realizado com antidepressivo escitalopram (10mg/kg) (Lexapro®), *C. asiatica* (30mg/kg) e o ácido madecássico (10mg/kg).

A preparação do extrato foi feita com separação da planta e secagem à temperatura ambiente ( $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ ), após triturado em moinho de facas (Ciemlab®, CE 430), selecionadas em peneira (425  $\mu\text{m}$ ; 35 Tyler/Mesch) armazenadas e identificadas com proteção da luz. O extrato foi produzido por meio de maceração (5 dias) à temperatura ambiente com as folhas moídas a seco (100g) e etanol a 70% (1:20, p/v). Foi filtrado por funil de Büchner e os extratos hidroalcoólicos concentrados via evaporação sob pressão reduzida, liofilizadas, pesadas e armazenadas à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ . A identificação botânica da planta foi realizada pelo Herbário da Universidade Comunitária de Chapecó - UNOCHAPECÓ, Chapecó, SC, Brasil, onde contém guardada uma exsicata.

O composto ativo ácido madecássico foi fabricado pela Cayman Chemical sediada em Michigan nos Estado Unidos e adquirido por meio da empresa Interprise Instrumentos Analíticos LTDA, na quantidade de 1grama em forma sólida e cristalina, com pureza de 95%.

A dose de escitalopram foi determinada após revisão em estudos prévios que utilizaram este fármaco como controle positivo em modelos animais por ser um antidepressivo clássico (PAŁASZ et al., 2016; FARAHBAKHSI et al., 2022; GROLLI et al., 2023);

#### 4.4 AMOSTRA

As amostras foram compostas por sangue periférico, o qual foi separado em plasma, soro e células periféricas mononucleares, e por tecido cerebral compreendendo a estrutura do córtex pré-frontal, coletado conforme a técnica histológica de Paxinos e Watson (Paxinos; Watson, 1997). As amostras coletadas foram acondicionadas em microtubos individuais com capacidade de 2ml e armazenadas em ultra-freezer -80°C para posterior análise dos parâmetros bioquímicos. Na estrutura do córtex pré-frontal coletada, foi realizado preparo da amostra através da adição de 500 µL de solução salina e realizado processo de sonicação com os parâmetros de pulso por 20 segundos e pausa de 10 segundos em amplitude de 50 para cada amostra. O volume total de cada amostra foi determinado pela quantidade de material coletado em cada etapa de separação, contabilizando minimamente 2ml. O excedente foi acondicionado em microtubo adicional.

#### 4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

##### **4.6.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

A quantificação dos níveis de TBARS nas amostras foi realizada segundo a metodologia de Jentsch (Jentsch *et al.*, 1996), que visa medir a formação de malondialdeído (MDA), uma substância formada pela peroxidação lipídica (LPO). Esse processo ocorre quando as espécies reativas de oxigênio reagem com lipídios de membrana, causam alterações na membrana, incluindo permeabilidade prejudicada, perda de seletividade e perturbação dos componentes da matriz extracelular. A peroxidação lipídica é avaliada pela interação entre o malondialdeído e o ácido tiobarbitúrico (TBA), o qual forma, quando aquecido, um composto de coloração rosada, medido com um espectrofotômetro em 532 nm (Choi *et al.*, 2012; Noh *et al.*, 2015).

A curva padrão foi preparada com solução de MDA 0,03 mM. As amostras foram compostas por soro e avaliadas em triplicatas e pipetados nos tubos 55  $\mu$ L de água destilada, 100  $\mu$ L de ácido ortofosfórico 1%, 25  $\mu$ L de TBA 0,1 M e 20  $\mu$ L da amostra. Após o preparo, as amostras foram incubadas por 45 minutos a 90°C e, em seguida, lidas no espectrofotômetro de microplacas com absorvância a 532 nm. Para o cálculo, as médias das absorvâncias foram multiplicadas pelo fator de correção (FC), dividido pelo volume de amostra e expresso em nmol MDA/mL (Choi *et al.*, 2012; Noh *et al.*, 2015).

#### **4.6.2 Vitamina C**

A vitamina C é um antioxidante exógeno que atua transformando as EROS em formas inertes. Para a técnica foram utilizados 500 $\mu$ l sobrenadante de amostra de plasma + 500 $\mu$ l de TCA 10% posteriormente agitado no vórtex e centrifugado por 15 minutos a 3500 rpm. Retirado o sobrenadante e colocado nos tubos para incubar por 2 horas a 37°C. A análise de vitamina C foi realizada pelo método de Jacques-Silva *et al.*, (2001) com leitura de absorvância em 520 nm, sendo que os resultados são expressos em gramas/litro (g/L).

#### **4.6.3 Tiois não proteicos (NPSH)**

Para determinação dos NPSH foi utilizada a metodologia de Ellman (1959). Para tal, utilizaram-se as amostras desproteinizadas de soro. Na desproteinação foram utilizados 150  $\mu$ L de amostra + 150  $\mu$ L de TCA 10% seguido de agitação em vórtex e centrifugação por 10 minutos a 2.000 rpm. Na análise utilizaram-se 40 $\mu$ l do sobrenadante. Os tiois reagem com o 2,2'-dinitro-5,5'-ditiodibenzoico (DTNB) gerando um composto de coloração amarela, com leitura a 412 nm, sendo que o resultado foi expresso em  $\mu$ mol/mL de plasma.

#### **4.6.4 Espécies reativas de oxigênio (EROS)**

Para o procedimento de ROS foi utilizada amostra de soro proteinizado na quantidade de 10  $\mu$ L e adicionado 240  $\mu$ L de TRIS – HCl (10 mM , pH 7,4) e 10  $\mu$ L de Dicloro com posterior incubação por 30 min no escuro e feita a leitura a por fluorímetro em = 525nm seguindo a fórmula  $\lambda = \sigma X = 488$  nm no equipamento Varioskan® (Yin *et al.*, 2017).

## 4.6.5 Enzimas do sistema purinérgico

### 4.6.5.1 Normalização das proteínas

Para realizar as análises das moléculas do sistema purinérgico de interesse, a quantidade de proteínas na amostra de linfócitos foi normalizada em concentrações de 0,1-0,2 mg/mL com solução salina.

Para a determinação de proteínas utilizou-se a técnica de Bradford, (Bradford *et al.*, 1976) que normaliza as proteínas com a curva padrão usando curva de Correção do Comassie, utilizando Albumina Bovina (0,1 mg/mL) como padrão. Para a determinação utiliza-se em cada poço 250µL de Azul de Comassie filtrado e 5 µL da amostra. Para obter o resultado da concentração de proteínas deve-se aplicar o cálculo: ((Abs da amostra-Abs do branco) X FC)/0.05 (5 µL).

### 4.6.5.2 Avaliação das enzimas que hidrolisam nucleotídeos e nucleosídeo de adenina

A atividade das enzimas E-NTPDase e E-5'-Nucleotidase foi realizada em tecido de córtex pré-frontal, segundo método Pilla *et al.*, (1996) modificado por Lunkes *et al.*, (2003). A atividade da enzima E-NPP foi realizada nas amostras citadas de acordo com o método de (Fürstenau *et al.*, 2006).

## 4.6.6 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados inicialmente realizamos o teste para identificação dos outliers e removidos de acordo com ROUT Q = 5% . Posteriormente aplicamos o teste de normalidade de Shapiro-Wilk test. Para dados não paramétricos utilizamos o teste Kruskal-Wallis seguido do teste *post-hoc* de Dunns's e para dados paramétricos foi utilizado foi realizada ANOVA *one-way* com múltiplas comparações, seguido do teste *post-hoc* de Tukey pelo software GraphPad Prism 9.0.0. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os dados paramétricos foram apresentados como média com o erro padrão da média e os dados não paramétricos foram apresentados como mediana com o 95% de IC.

## 5 RESULTADOS

Na análise da Figura 3-A, a análise de Kruskal-Wallis revelou uma interação significativa nos níveis de TBARS ( $p < 0,0001$ ) entre os grupos. Os resultados da análise dos níveis de TBARS no soro de ratos machos expostos a diferentes tratamentos evidenciaram efeitos significativos tanto do estresse quanto da intervenção com ESC, AM e CA. Observou-se um aumento significativo nos níveis de TBARS no grupo ES quando comparado ao grupo controle (\*CS + ES:  $p = 0,0474$ ), indicando que o modelo testado gera peroxidação lipídica significativa. Ao comparar o grupo ES com os tratamentos experimentais, observou-se uma redução significativa nos níveis de TBARS nos grupos tratados com AM e CA (\*\*\*ES + AM:  $p = 0,0006$ ; \*\*\*ES + CA:  $p = 0,0003$ ), indicando o potencial desses compostos em atenuar o estresse oxidativo. Além disso, observou-se que os tratamentos com *C. asiatica* e ácido madecássico conseguiram reduzir os níveis de TBARS quando comparados ao grupo ESC (\*\*AM + ESC  $p = 0,0044$ ; \*\*CA + ESC  $p = 0,0020$ ).

Na análise da Figura 3 - B, a ANOVA *one-way* identificou uma interação significativa nos níveis de TBARS ( $F = 5,92$ ;  $p < 0,0007$ ) entre os grupos. Os resultados indicam uma redução dos níveis de TBARS no grupo fêmea ao comparar os grupos expostos, ES com AM, e ES com CA. Ao comparar os grupos, houve uma diminuição significativa dos níveis de TBARS nos grupos ES e AM (\*\*ES + AM  $p = 0,0017$ ) e entre ES e CA (\*\*ES + CA  $p = 0,0012$ ), reforçando o potencial desses tratamentos em atenuar o estresse oxidativo em ratas expostas ao estresse. Esses resultados sugerem que tanto o ácido madecássico quanto a *C. asiatica* têm potencial em reduzir os efeitos do estresse oxidativo em fêmeas, assim como observado também o mesmo efeito em ratos machos.

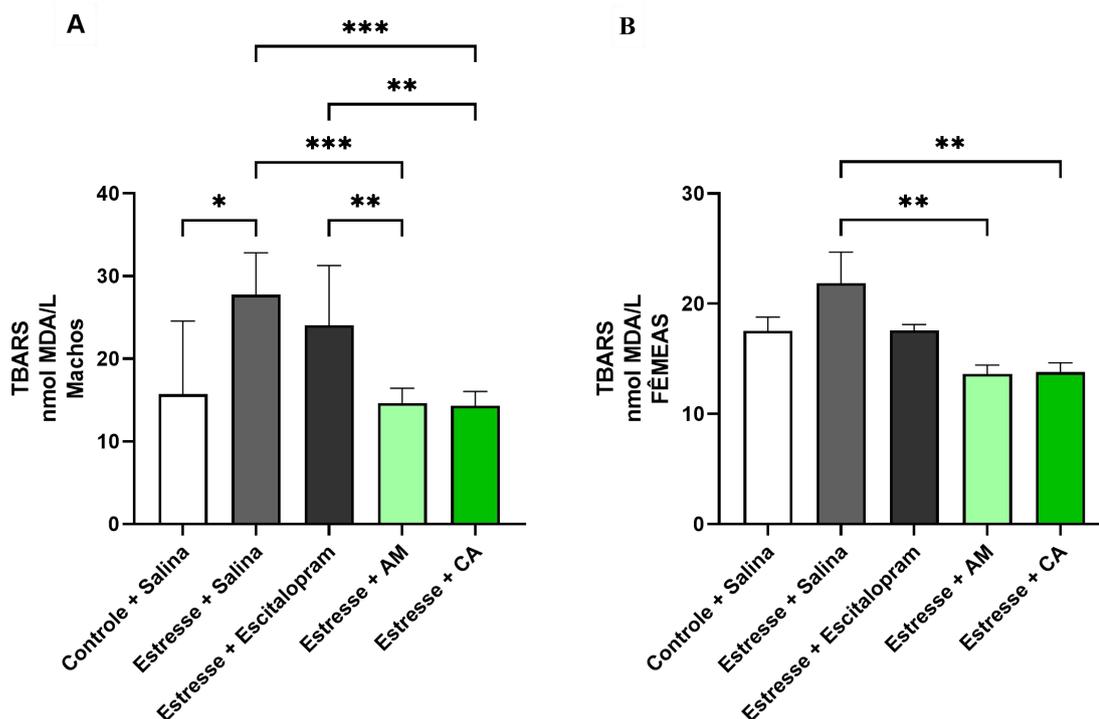


Figura 3-A. Análise de TBARS em grupo de machos com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de TBARS no soro dos ratos machos. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test *pos-hoc* de Dunns's. \* $p < 0,05$ . \*\* $p < 0,01$ . \*\*\* $p < 0,001$

Figura 3-B. Análise de TBARS em grupo de fêmeas com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de TBARS no soro dos ratas fêmeas. Os dados são apresentados com média  $\pm$  erro padrão da média. A análise estatística: ANOVA *one-way* e o test *pos-hoc* de Tukey's. \*\* $p < 0,01$ .

Os resultados de Kruskal-Wallis para os grupos machos representados na Figura 4-A ( $p=0.0003$ ) confirmam a significância das diferenças nos níveis de vitamina C entre os grupos experimentais, sugerindo que há influência do estresse e dos tratamentos nas concentrações dessa vitamina. Na análise da Figura 4-A, observa-se dados significativos sobre os níveis de vitamina C em ratos machos. Nota-se uma redução dos níveis de vitamina C do grupo ESC em comparação com o grupo ES e em relação ao grupo CS (\*\*CS + ESC  $p=0,0049$ ; \*\*ES + ESC  $p=0,0212$ ). Esses resultados sugerem um consumo maior de vitamina C no grupo exposto ao ESC, o que não ocorreu nos grupos tratados com ácido madecássico e *C. asiatica*. Este cenário, considerando os compostos naturais, sugere certo grau de preservação e não uso de vitamina C.

Para as fêmeas representadas na Figura 4-B, os resultados da ANOVA ( $F= 14,31$ ;  $p < 0,0001$ ) mostram uma redução nos níveis de vitamina C nos grupos ES em comparação com

CS (\*CS + ES  $p=0.0224$ ) sugerindo que o modelo experimental gerou um ambiente pró-oxidativo com base no uso da vitamina C como agente antioxidante. Além disso, houve um aumento nos níveis de vitamina C no grupo ESC em comparação com ES e o AM (\*ES + ESC  $p=0,0464$  e ES + AM \* $p=0,0236$ ) demonstrando um efeito positivo sobre os níveis de antioxidantes. Também foi observado que o tratamento com ácido madecássico e *C. asiatica* promoveu redução dos níveis de vitamina C em comparação com o grupo CS.

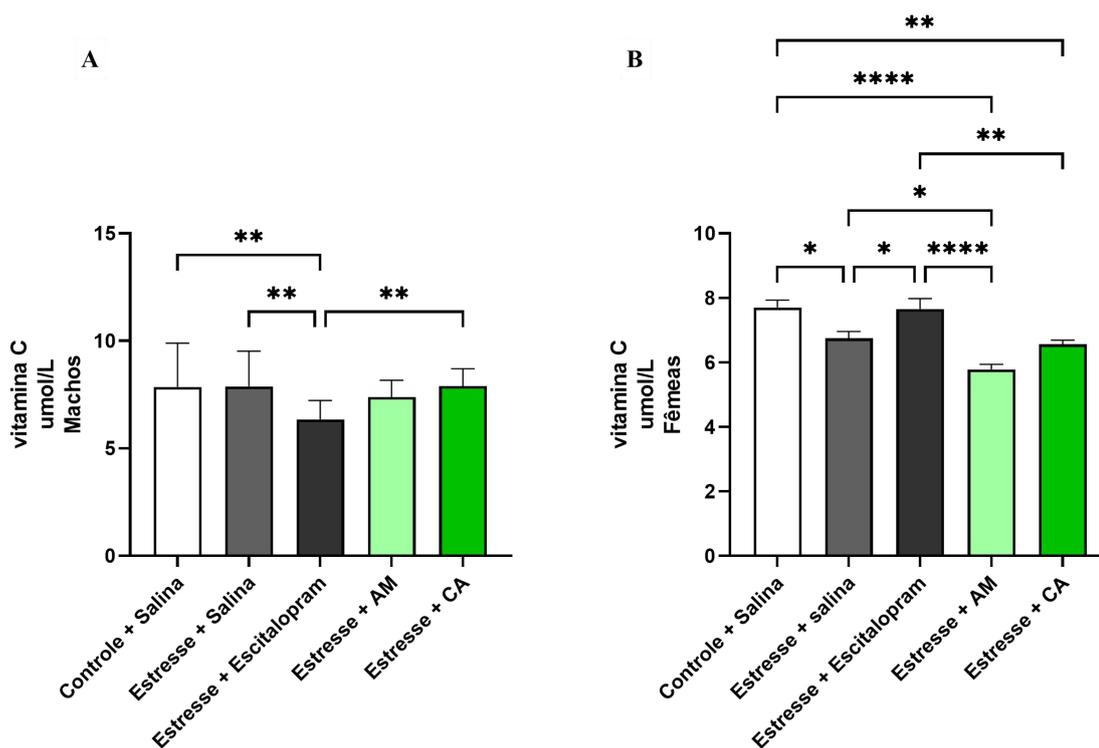


Figura 4-A. Análise de vitamina C em grupo de machos com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de vitamina C no soro dos ratos machos. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test pos-hoc de Dunns's. \*\* $p<0,01$ .

Figura 4-B. Análise de vitamina C em grupo de fêmeas com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de vitamina C no soro dos ratas fêmeas. Os dados são apresentados com média  $\pm$  erro padrão da média. A análise estatística: ANOVA *one-way* e o test *pos-hoc* de Tukey's. \* $p<0,05$ . \*\* $p<0,01$ . \*\*\*\* $P<0.0001$

Na análise da Figura 5 - A, os resultados de Kruskal-Wallis mostrou uma interação significativa nos níveis de NPSH ( $p=0.0011$ ) entre os grupos machos. Na comparação entre os grupo CA e ES com CS, percebeu-se uma diferença significativa (\*\*ES + CA  $p=0,0013$ ; \*CA + CS  $p=0,0139$ ), sugerindo que a *C. asiatica* teve efeito benéfico na preservação dos níveis de NPSH quando comparada com o grupo ES, demonstrando efeito positivo do tratamento. Além

disso, o tratamento com a *C. asiatica* conseguiu manter níveis acima do controle de NPSH indicando efeito protetor contra o estresse oxidativo.

A análise de Kruskal-Wallis reconheceu uma interação significativa nos níveis de NPSH ( $p=0,0008$ ) entre os grupos fêmeas, conforme apresentado na análise da Figura 5 - B. Ao comparar o grupo CA com o grupo CS e ESC percebe-se uma diferença significativa ( $***CA + CS p=0,0005$ ;  $**CA + ESC p=0,0074$ ), sugerindo que a *C. asiatica* mantém os níveis de NPSH e demonstra efeito positivo do tratamento mesmo acima do controle e também comparado com o tratamento clássico padrão com o ESC.

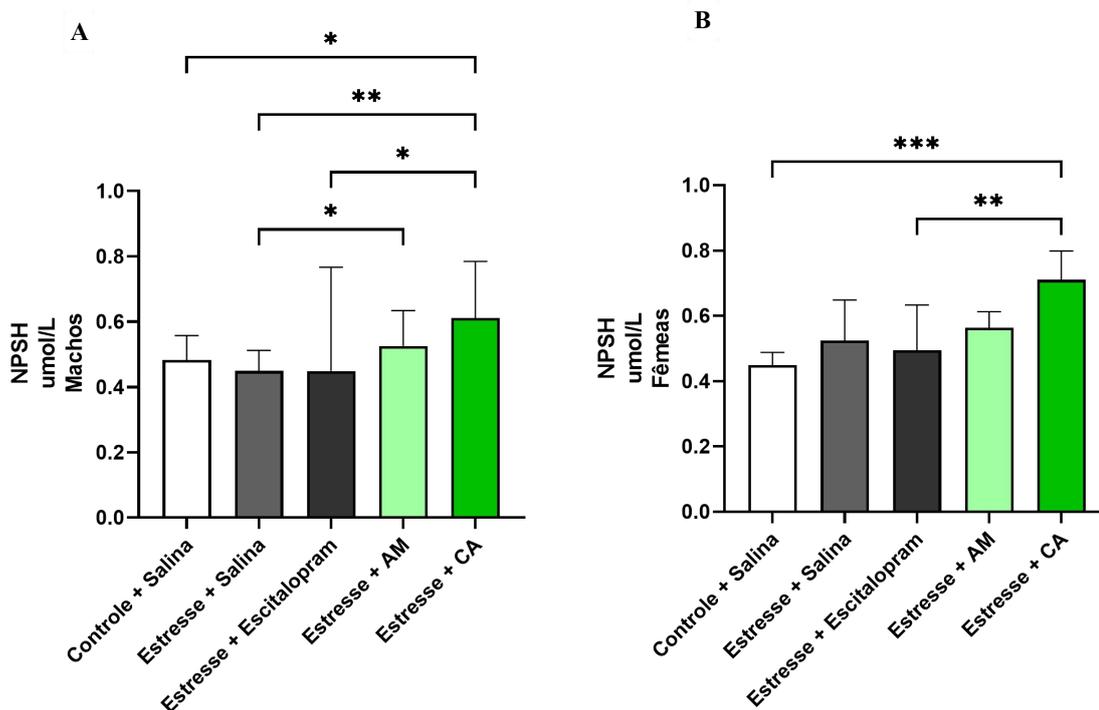


Figura 5-A. Análise de NPSH em grupo de machos com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de NPSH no soro dos ratos machos. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test *pos-hoc* de Dunns's. \* $p < 0,05$ . \*\* $p < 0,01$ .

Figura 5-B. Análise de NPSH em grupo de fêmeas com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de NPSH no soro das ratas fêmeas. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test *pos-hoc* de Dunns's. \*\* $p < 0,01$ . \*\*\* $p < 0,001$ .

Conforme análise da Figura 6-A, a ANOVA *one-way* indicou uma interação significativa nos níveis de ROS ( $F= 5,89$ ;  $p=0.0006$ ) entre os grupos. O grupo ES demonstrou que o modelo experimental gerou aumento dos níveis de ROS enquanto que o tratamento com

ácido madecássico e *C. asiatica* foi capaz de neutralizar as ROS. Na comparação de ES com AM e CA verificou-se uma diferença significativa (\*\*ES + AM  $p=0,0064$ ; \*\*\*ES e CA  $p=0,0006$ ) ao apresentar diminuição dos níveis de ROS, sugerindo que o tratamento teve efeito benéfico, de maneira que a planta pode auxiliar na neutralização desse biomarcador nocivo e na proteção das células contra danos oxidativos.

Com relação a Figura 6-B, os resultados da análise de Kruskal-Wallis mostrou uma interação significativa nos níveis de ROS ( $p=0,0001$ ) entre os grupos. Observou-se que, diferentemente do grupo macho, as fêmeas tratadas com *C. asiatica* apresentaram um aumento nos níveis de ROS em comparação com os demais grupos (\*\*CA + AM  $p<0,0020$ ; \*CA + ESC  $p=0,0492$ ).

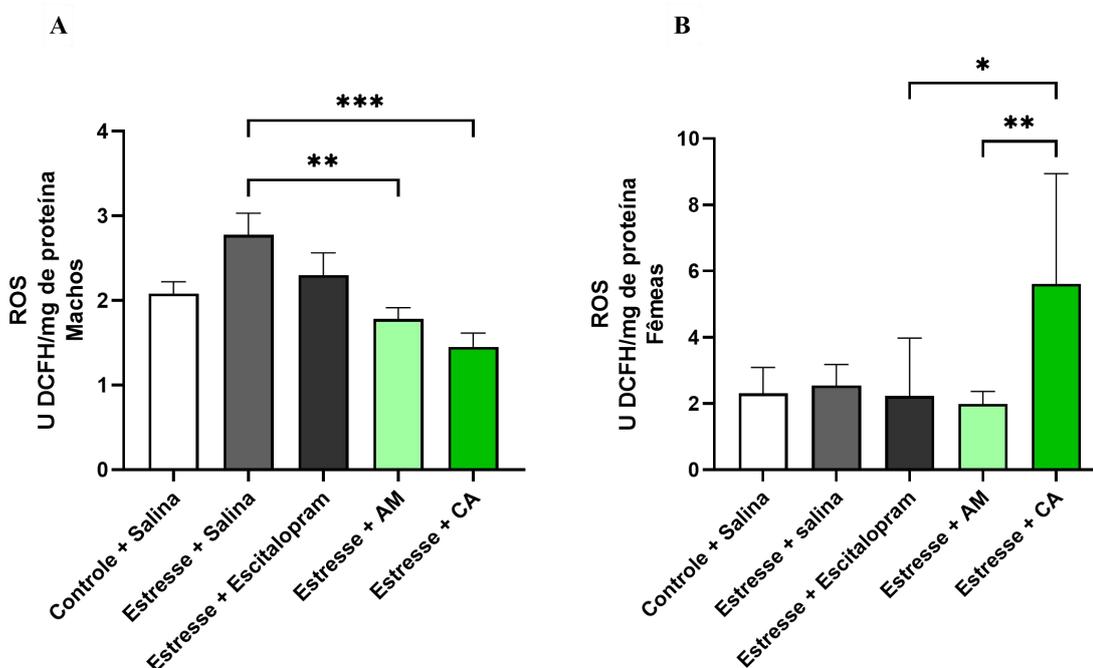


Figura 6 - A. Análise de ROS em grupo de machos com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de ROS no soro dos ratos machos. Os dados são apresentados com média  $\pm$  erro padrão da média. A análise estatística: ANOVA *one-way* e o test *pos-hoc* de Tukey's. \*\* $p < 0,01$ . \*\*\* $p < 0,001$ .

Figura 6 - B. Análise de ROS em grupo de fêmeas com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de ROS no soro das ratas fêmeas. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test *pos-hoc* de Dunns's. \* $p < 0,05$ . \*\* $p < 0,01$ .

Na análise da Figura 7 - A, os resultados da análise de Kruskal-Wallis mostraram uma interação significativa nos níveis de ATP ( $p=0,0002$ ) entre os grupos. Identificou-se que

houve redução dos níveis de hidrólise de ATP do grupo CA em relação ao grupo ES e ao grupo tratado com ESC, o mesmo se observou ao comparar a CA com o grupo controle (\*\*CA + CS  $p=0,0005$ ; \*ES + CA  $p=0,0048$ ; \*CA + ESC  $p=0,0011$ ). Estes resultados sugerem que o extrato de *C. asiatica* promove proteção ao reduzir o dano celular, podendo minimizar a permeabilidade da membrana e, conseqüentemente, o extravasamento do ATP extracelular.

Com base na Figura 7 - B, os resultados da análise de Kruskal-Wallis revelaram uma interação significativa nos níveis de ATP ( $p=0,0009$ ) entre os grupos. Observou-se que o grupo tratado com *C. asiatica* apresentou redução nos níveis de hidrólise de ATP. Quando comparado o grupo CA com o grupo CS e ES verificou-se uma diferença significativa (\*\*CA + CS  $p=0,0048$ ; \*\*CA + ES  $p=0,0068$  e \*ESC + CA= $0.0143$ ), sugerindo que a *C. asiatica* teve efeito benéfico na diminuição dos níveis de hidrólise de ATP, semelhante aos resultados do grupo de machos.

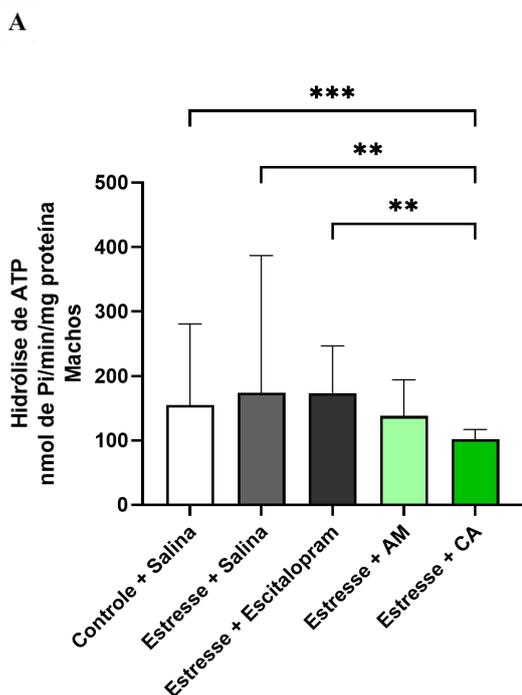


Figura 7-A. Análise da hidrólise do ATP em grupo de machos com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de ATP em tecido de córtex dos ratos machos. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test *pos-hoc* de

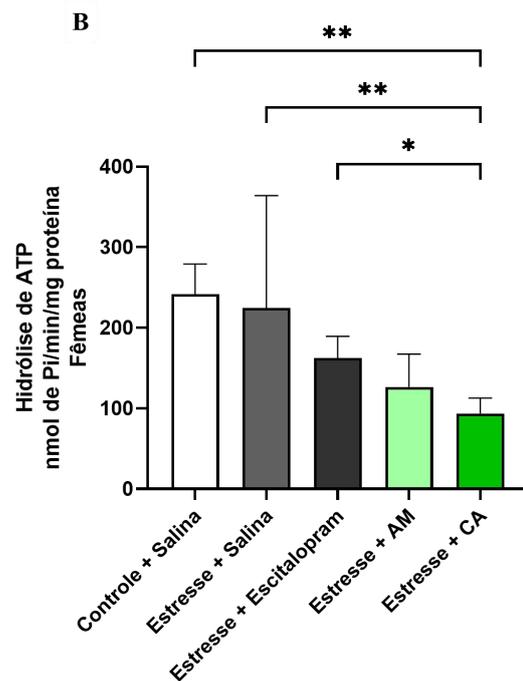


Figura 7-B. Análise da hidrólise do ATP em grupo de fêmeas com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de ATP em tecido de córtex das ratas fêmeas. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test *pos-hoc* de

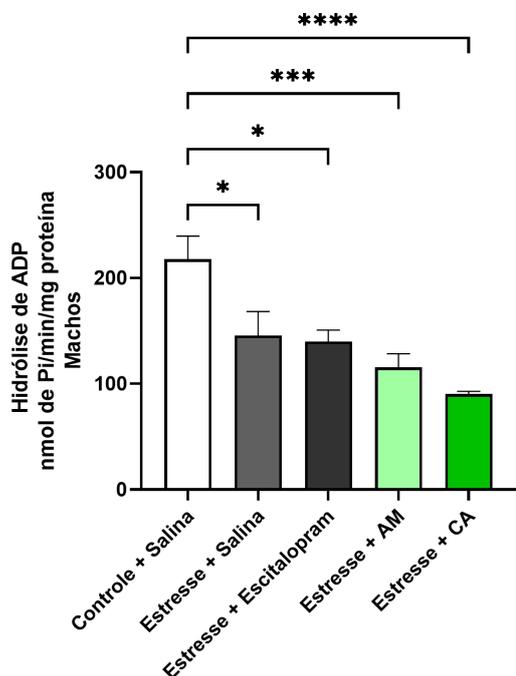
Dunns's. \*\*p<0,01. \*\*\*p<0.001.

Dunns's. \*p<0,05. \*\*p<0,01

Na análise da Figura 8 - A, a ANOVA *one-way* reconheceu uma interação significativa nos níveis de ADP ( $F= 4,52$ ;  $p<0,0001$ ) entre os grupos machos. Percebeu-se a diminuição dos níveis de hidrólise de ADP do grupo tratado com CA, AM, ESC e ES em relação ao CS (\*\*\*\*CA + CS  $p<0,0001$ ; \*\*\*AM + CS  $p=0,0004$ ; \*ESC + CS  $p=0,0117$  e \*ES + CS  $p=0,0225$ ). Estes resultados sugerem efeito protetor significativo da *C. asiatica* e do composto ácido madecássico, que também foi percebido no grupo que recebeu tratamento com medicamento padrão escitalopram.

A partir da Figura 8 - B, os resultados de Kruskal-Wallis mostraram uma interação significativa nos níveis de ADP ( $p<0.0001$ ) entre os grupos fêmeas. Observou-se a diminuição dos níveis de hidrólise de ADP do grupo tratado com CA, AM, ESC em relação ao CS (\*\*\*\*CA + CS  $p<0,0001$ ; \*\*\*AM + CS  $p=0,0001$ ; \*\*ET + CS  $p=0,0039$ ). Estes resultados sugerem que os grupos de tratamentos CA e AM tiveram maior atividade dos níveis de hidrólise de ADP, e o grupo tratado com ESC também obteve resultados semelhantes aos do grupo macho. Pode-se atribuir a redução dos níveis de hidrólise de ADP aos níveis reduzidos de hidrólise do ATP, visto que a sequência de degradação enzimática ocorre pela degradação do ATP.

A



B

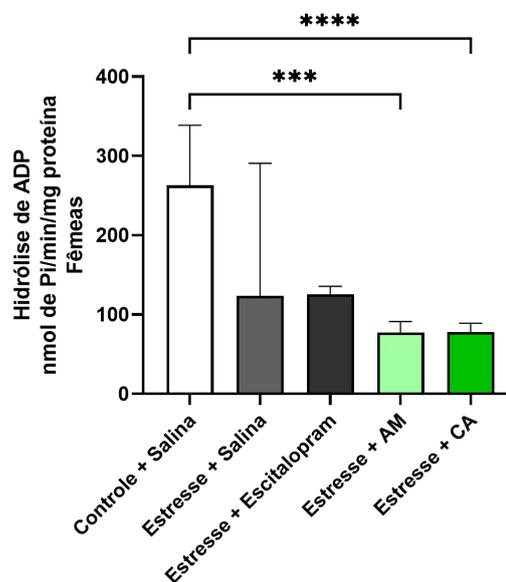


Figura 8-A. Análise da hidrólise de ADP em grupo de machos com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de ADP em tecido de córtex dos ratos machos. Os dados são apresentados com média  $\pm$  erro padrão da média. A análise estatística: ANOVA *one-way* e o test *post-hoc* de *Tukey's*. \* $p < 0,05$ . \*\*\* $p < 0,001$ . \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Figura 8-B. Análise da hidrólise de ADP em grupo de fêmeas com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de ADP em tecido de córtex das ratas fêmeas. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: *Kruskal-Wallis* e o test *post-hoc* de *Dunn's*. \*\*\* $p < 0,001$ . \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Na análise da Figura 9 - A, os resultados de *Kruskal-Wallis* mostrou uma interação significativa nos níveis de AMP ( $p < 0,0001$ ) entre os grupos machos. Os tratamentos com CA, AM e ESC mostraram resultados significativos ao reduzir os níveis de hidrólise de AMP em comparação com o grupo ES (\*\*\*\*CA + ES  $p < 0,0001$ , \*\*AM + ES  $p = 0,0040$  e \*ESC + ES  $p = 0,0170$ ). A CA apresentou ação maior em comparação com o grupo CS (\*\*\*CA + CS  $p = 0,0008$ ) na redução dos níveis de hidrólise de AMP. Estes resultados sugerem que os tratamentos com *C. asiatica* e ácido madecássico conseguem oferecer proteção celular e o mesmo é observado no tratamento padrão estabelecido com escitalopram.

Na análise, os resultados de *Kruskal-Wallis* revelam uma interação significativa nos níveis de AMP ( $p < 0,0001$ ) entre os grupos fêmeas, conforme apresentado na Figura 9 - B. Observou-se que os tratamentos com CA, AM mostraram resultados significativos ao reduzir

os níveis de hidrólise de AMP em comparação com o grupo ES (\*\*\*\*CA + ES  $p < 0,0001$  e o \*\*\*AM + ES  $p = 0,0002$ ). Ao analisar o grupo CA e AM em comparação com o grupo CS também identificou-se diferença significativa (\*\*CA + CS  $p = 0,0003$  e o \*\* $p = 0,0037$ ), sugerindo que o grupo CA promoveu uma redução dos níveis de hidrólise de AMP. Ao analisar o grupo CA e ESC também mostrou redução nos níveis de hidrólise de AMP (\*\*ESC + CA  $p = 0,0095$ ).

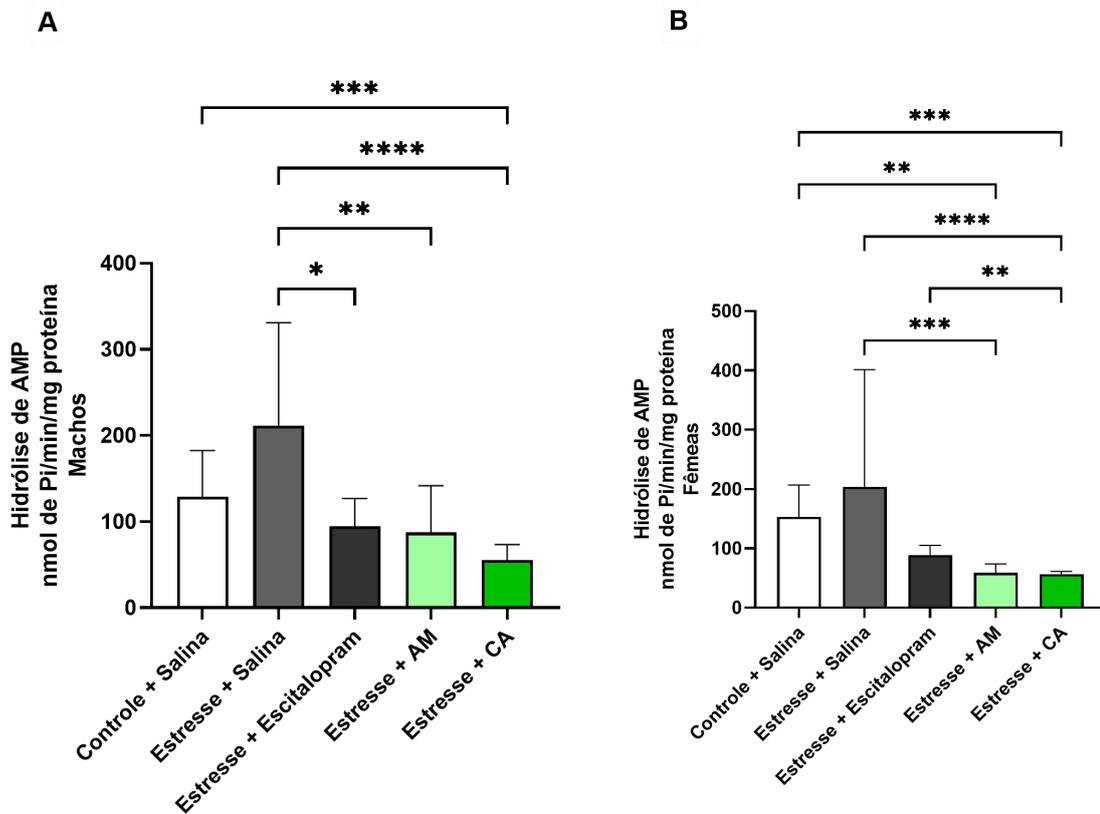


Figura 9-A. Análise da hidrólise de AMP em grupo de machos com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de AMP no soro dos ratos machos. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test *pos-hoc* de Dunns's. \* $p < 0,05$ . \*\* $p < 0,01$ . \*\*\* $p < 0,001$ . \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Figura 9-B. Análise da hidrólise de AMP grupo de fêmeas com múltiplas comparações. Efeitos do estresse PM+IS e tratamentos com CA (30 mg/kg), AM (10 mg/kg) e ESC (10 mg/kg) sobre os níveis de AMP no soro das ratas fêmeas. Os dados são apresentados com mediana mais IC. A análise estatística: Kruskal-Wallis e o test *pos-hoc* de Dunns's. \*\* $p < 0,01$  \*\*\* $p < 0,001$ . \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo verificou que o tratamento crônico com extrato hidroalcoólico da *C. asiatica* e o composto ativo ácido madecássico apresentou efeitos moduladores no estresse oxidativo e no sistema purinérgico de ratos Wistar machos e fêmeas, submetidos a um modelo de estresse por meio da privação materna e do isolamento social na fase jovem adulta. Os protocolos de estresse aplicados promoveram alterações fisiopatológicas celulares e metabólicas, evidenciadas nas análises de TBARS, vitamina C, NPSH e ROS e o tratamento crônico com *C. asiatica* e o ácido madecássico reverteram essas alterações.

Ao analisar os resultados de TBARS, identificou-se que o estresse induziu dano celular evidenciado pelo aumento de níveis de TBARS no grupo ES, especialmente nos machos, em comparação com o grupo CS. O tratamento com fármacos padrão reduziu os níveis de TBARS em comparação aos do grupo ES. Também observado esse efeito nos grupos tratados *C. asiatica* e o ácido madecássico. Corroborando com estes resultados, um estudo verificou que o uso de biocompostos derivados de plantas, como extrato aquoso de *C. asiatica* e o ácido madecássico, apresentou resultados promissores, reduzindo significativamente os níveis de TBARS aos do grupo controle, indicando ação citoprotetora (Kuswati; Wiyono; Akhmad, 2018).

Os danos celulares podem ser atribuídos como consequência da ação dos radicais livres, moléculas instáveis que reagem com as membranas celulares (Kuswati; Wiyono; Akhmad, 2018; Sabaragamuwa; Perera; Fedrizzi, 2018). Nesse sentido, um estudo em modelo animal com ratos submetidos a déficit de cognição observou que o uso do AM promoveu restauração dos níveis de peroxidação lipídica (Xu *et al.*, 2012). Essa ação bioprotetora antioxidante (Junsai *et al.*, 2024) pode ser atribuída à capacidade desses compostos de neutralizar os radicais livres e minimizar o dano oxidativo às células (Sabaragamuwa; Perera; Fedrizzi, 2018).

A vitamina C desempenha um papel crucial na proteção das membranas celulares contra a lipoperoxidação, atuando como antioxidante e eliminando os radicais livres. No entanto, na presença de íons de metais de transição como o ferro, a vitamina C pode induzir reações de peroxidação lipídica, levando à produção de dienos conjugados. Além disso, observou-se que a vitamina C interage com lipídios e tocoferóis da membrana, como alfa-tocoferol e gama-tocoferol, para protegê-los e regenerá-los contra a peroxidação, mantendo assim a integridade e a função da membrana (Vedder *et al.*, 1999; Erdemir *et al.*, 2014; Cimen *et al.*, 2015).

O consumo da vitamina C nos níveis apresentados neste estudo pode estar relacionada ao fato de que os hormônios de estrogênio, especificamente estrona e 17beta-estradiol, reduzem a peroxidação lipídica em vários sistemas de células cerebrais, incluindo homogenatos de cérebro de rato, células HT 22 do hipocampo, culturas neocorticais primárias de ratos e homogenatos cerebrais humanos (HBHs) (Vedder *et al.*, 1999). Somado a estes resultados, estudos indicaram que o uso prolongado da fluoxetina, além dos ISRS pode promover lesão testicular e conseqüentemente aumento do estresse oxidativo. Revelou-se que ocorre redução nos níveis de testosterona em decorrência do uso dos ISRS por desencadear o dano celular (Erdemir *et al.*, 2014; El Sayed *et al.*, 2021).

Ainda, outro estudo revelou que análises dos níveis de marcadores de estresse oxidativo em pacientes depressivos se aproximaram daqueles observados em indivíduos saudáveis, sugerindo que o escitalopram ajuda a normalizar o estresse oxidativo em pessoas com depressão maior (Cimen *et al.*, 2015). Este dado fortalece os resultados encontrados em nossa pesquisa laboratorial, quando analisamos os dados apresentados no grupo fêmeas.

As análises de NPSH revelam que o estresse possui a capacidade de alterar os níveis dos metabólitos da glutathiona (GSH), defesa antioxidante não enzimática abundante no interior das células, cenário este observado no grupo ES, com o aumento do consumo de NPSH, como forma de restaurar o equilíbrio oxidativo (Hafiz *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2016). Algumas estratégias podem contribuir para a manutenção do estado antioxidante intracelular, podendo assim modular a atividade da GSH e de seus subprodutos, como visto no grupo ESC tratado com fármacos padrão, onde os níveis de NPSH se mantiveram próximos aos do grupo CS. A ingestão de compostos naturais também possui efeitos promissores na atividade antioxidante, como evidenciado neste estudo pelos resultados obtidos com a administração de *C. asiatica* e o ácido madecássico, onde se observou aumento do metabolismo da GSH, pelo acúmulo de NPSH, tióis não proteicos necessários para o equilíbrio do estresse oxidativo, além dos vistos no grupo CS.

Nesse sentido, o grupo tratado com escitalopram regulou a níveis próximos ao do controle dos metabólitos da GSH. Os grupos tratados com compostos naturais *C. asiatica* e o ácido madecássico, demonstram um acúmulo na produção de NPSH, sugerindo aumento na atividade metabólica da GSH. O aumento no consumo de NPSH nos machos é significativamente maior no grupo ES, sugerindo o uso dos tióis para o equilíbrio redox. Tanto o grupo de ratos machos como o grupo das fêmeas apresentaram elevação gradual de níveis de NPSH e da concentração de antioxidantes, sugerindo resposta adaptativa mais

eficiente ao desequilíbrio redox. O escitalopram e os compostos naturais antioxidantes *C. asiatica* e o ácido madecássico podem modular a resposta ao estresse e reduzir o consumo de GSH, possivelmente por mecanismos relacionados à diminuição do estresse oxidativo e à modulação da resposta inflamatória, visto que a *C. asiatica* possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatória.

Evidências sugerem relação entre antidepressivos, principalmente os inibidores ISRSs e anti-inflamatórios. Estudos demonstram que alguns antidepressivos podem atuar como agentes anti-inflamatórios, enquanto certos anti-inflamatórios apresentam propriedades antidepressivas (Chen *et al.*, 2016) e que o ácido madecássico promove restauração dos níveis de GSH em córtex cerebral de ratos submetidos a déficit de cognição (Xu *et al.*, 2012). Contudo, o uso de compostos bioativos como o *C. asiatica* e o ácido madecássico parecem aumentar o metabolismo da GSH, matriz produtora de tióis não proteicos, importante defesa antioxidante contra o estresse oxidativo (Hafiz *et al.*, 2020). Os triterpenos podem elevar a atividade da GSH, aumentar as defesas antioxidantes e levar a neutralização do estresse oxidativo (Sun *et al.*, 2020).

Ao analisar os resultados de ROS do grupo macho pode-se inferir que o estresse crônico demonstra um efeito significativo na produção de ROS, moléculas instáveis que podem causar danos celulares e teciduais (Herbet *et al.*, 2017). Estudos indicam que a exposição prolongada ao estresse induz o aumento dos processos oxidativos e a diminuição das defesas antioxidantes, tornando as células mais suscetíveis a lesões (Cieślak; Wojtczak, 2018; Sachdev; Ansari; Ansari, 2023).

O composto ativo ácido madecássico, atua como um “escudo” protetor contra danos celulares, prevenindo a peroxidação lipídica e preservando a integridade das membranas das células, além disso, modula a resposta apoptótica, revertendo o estado pró-apoptótico que pode levar à morte prematura (Xu *et al.*, 2012; Bandopadhyay *et al.*, 2023). Os resultados do nosso estudo indicam que o estresse aumenta a produção de ROS e os tratamentos com *C. asiatica* e o ácido madecássico podem reduzir ou reverter significativamente estes níveis através da doação de elétrons (Bartolomei *et al.*, 2021) e da estimulação da atividade metabólica da GSH e seus derivados (Hafiz *et al.*, 2020). Compostos triterpênicos, como *C. asiatica* e o ácido madecássico, demonstram notável capacidade de eliminar e potencial de reduzir radicais livres, protegendo as células contra danos oxidativos (Bandopadhyay *et al.*, 2023). A diminuição das EROS e o aumento da GSH fortalecem as defesas celulares contra os danos oxidativos (Giustarini *et al.*, 2023) que foi observado nos resultados do grupo macho,

diferentemente dos resultados obtidos no grupo fêmea, o qual o *C. asiatica* e o ácido madecássico não apresentaram efeitos nas defesas antioxidantes contra ROS.

Em relação ao sistema purinérgico, os protocolos de estresse aumentaram os níveis de hidrólise de ATP, ADP e AMP e os tratamentos crônicos reverteram as alterações. Na análise das Figuras 7-A e B apresentados nos resultados, é possível perceber que o grupo tratado com ESC apresentou alterações transitórias na hidrólise de ATP em ambos os sexos. Essa modulação, positiva ou negativa, na atividade das enzimas CD39 e CD73 do sistema purinérgico sugere uma resposta adaptativa ao estresse. A ativação foi mais expressiva nos machos, indicando maior suscetibilidade ao estresse neste grupo. O tratamento com escitalopram reduziu a hidrólise de ATP em ambos os sexos, possivelmente por inibir as enzimas hidrolíticas do ATP do sistema purinérgico. A *C. asiatica* e o ácido madecássico apresentaram efeito significativo em relação ao grupo controle, reduzindo expressivamente a atividade hidrolítica das enzimas, sugerindo ação protetora da membrana celular. A presença de ATP no meio extracelular induz condições pró-inflamatórias, corroborando com o modelo experimental em que a privação maternal e o isolamento social induzem neuroinflamação (Dou *et al.*, 2018).

Um estudo que avaliou a atividade de ATPase em modelo animal com ratos Wistar epiléticos revelou que o tratamento com *C. asiatica* inibiu a peroxidação lipídica, melhorou as atividades de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase, Ca<sup>2+</sup>-ATPase e Mg<sup>2+</sup>-ATPase, mantendo o equilíbrio de gradiente iônico. Estes resultados sugerem que os fatores bioativos presentes em extratos de *C. asiatica* oferecem neuroproteção, modulando direta ou indiretamente as atividades das ATPases (Visweswari *et al.*, 2010).

A alteração da hidrólise de ATP no grupo ESC pode ser atribuída à ativação das enzimas CD39 e CD73 do sistema purinérgico. Essas enzimas catabolizam ATP em adenosina e fosfato inorgânico, gerando nucleosídeos e nucleotídeos que podem modular a resposta inflamatória e neuroinflamatória (Aminin; Illes, 2021). A ativação mais intensa das enzimas nos machos sugere maior suscetibilidade ao estresse nesse sexo, resultado que corrobora com outros estudos (Brivio; Lopez; Chen, 2020; Swaab; Bao, 2020). O escitalopram, por ser um ISRS, reduziu a hidrólise de ATP em ambos os sexos, já a serotonina pode modular a atividade das enzimas purinérgicas, diminuindo a neuroinflamação e promovendo efeitos antidepressivos (Vasiliiu, 2022). A *C. asiatica* e o ácido madecássico, também apresentaram efeito significativo na redução da hidrólise de ATP. Seus mecanismos de ação podem envolver a modulação da expressão gênica e da atividade das enzimas purinérgicas, além de

propriedades anti-inflamatórias (Hafiz *et al.*, 2020). A presença de ATP no meio extracelular induz condições pró-inflamatórias, corroborando com o modelo experimental de estresse e privação materna que é sugestivo de neuroinflamação (Zanta; Assad; Suchecki, 2023). O ATP extracelular pode ativar receptores purinérgicos P2X e P2Y, liberando citocinas pró-inflamatórias e contribuindo para a neurodegeneração (Territo; Zarrinmayeh, 2021; Imraish; Abu-Thiab; Hammad, 2023).

Ainda no sistema purinérgico, ao analisar a Figura 8. A e B apresentadas nos resultados, é perceptível que houve diminuição na hidrólise do ADP através da modulação da enzima CD39, tanto nos grupos machos quanto fêmeas. Dessa forma, também se observa que os compostos naturais *C. asiatica* e o ácido madecássico atenuam ainda mais a atividade enzimática. Ao observarmos a diminuição da atividade da enzima CD39, pode-se indicar um potencial mecanismo de adaptação da enzima ao estresse (Bangasser; Wiersielis, 2018; Catale; Carola; Viscomi, 2022). Essa modulação é bastante intensificada pela presença dos compostos naturais *C. asiatica* e o ácido madecássico, sugerindo um perceptível efeito modulatório da neuroinflamação (Sun *et al.*, 2020). É importante ressaltar que essa análise se baseia em um único estudo, a ampliação das pesquisas neste tema com testes complementares são necessários para confirmar ou refutar os resultados e elucidar os mecanismos moleculares subjacentes. No entanto, os resultados propostos são promissores e indicam que a modulação da hidrólise de ADP por compostos naturais pode ser uma estratégia promissora para o tratamento de distúrbios relacionados ao estresse e à neuroinflamação.

Por fim, a análise da hidrólise de AMP, apresentadas nas Figuras 9. A e B, demonstra a modulação da atividade da enzima CD73 e seus efeitos nos níveis de hidrólise de AMP em machos e fêmeas. Em ambos os sexos, o grupo ES apresentou aumento significativo da atividade da CD73 e consequente modulação dos níveis de AMP quando comparado ao grupo CS, com efeito mais expressivo em ratos machos. Já, nos grupos estressados tratados com escitalopram, *C. asiatica* e o ácido madecássico, observou-se redução considerável da atividade da CD73 em relação ao grupo estressado tratado com salina. A análise comparativa entre os sexos revelou um padrão similar de alterações na atividade hidrolítica de AMP.

Esse resultado corrobora com estudos anteriores que demonstram a ativação da CD73 como um mecanismo de adaptação ao estresse e que possivelmente existe o envolvimento do eixo HPA (Pasquini *et al.*, 2021). A CD73 catalisa a conversão de AMP em ADO e fosfato inorgânico, modulando o ambiente purinérgico extracelular e influenciando diversas funções fisiológicas, incluindo a neuroinflamação e a neuroproteção (Antonioli *et al.*, 2019). As

análises revelam que os compostos escitalopram, ácido madecássico e *C. asiatica* modulam a atividade da CD73, o que pode ser clinicamente relevante (Huang *et al.*, 2021), considerando os fatores que podem ser desencadeados a partir da não metabolização de AMP em adenosina e seu contexto sinalizador, favorável à pró-inflamação (Vasiliu, 2022). Já as análises comparativas entre machos e fêmeas indicam um padrão similar de alterações na atividade hidrolítica da CD73 e seus efeitos nos níveis de AMP. Os resultados deste estudo fornecem evidências importantes para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para distúrbios relacionados ao estresse. A modulação da atividade da CD73 por fármacos e compostos naturais pode ser uma abordagem promissora para reduzir a neuroinflamação e promover a neuroproteção. No entanto, mais pesquisas são necessárias para determinar a eficácia e a segurança dessas abordagens em contextos clínicos específicos.

Portanto, o presente estudo demonstra os efeitos neuroprotetores promissores do *C. asiatica* e o ácido madecássico frente a danos celulares induzidos por estresse oxidativo. A análise de TBARS revelou uma redução significativa na formação desses compostos em células expostas ao *C. asiatica* e o ácido madecássico. O efeito neuroprotetor pode ser atribuído à atividade antioxidante intrínseca do *C. asiatica* e o ácido madecássico, compostos fenólicos que neutralizam radicais livres e protegem as células contra danos oxidativos (Sun *et al.*, 2020).

Além da ação antioxidante direta, o *C. asiatica* e o ácido madecássico também parecem modular a atividade de enzimas e possivelmente dos receptores envolvidos no sistema purinérgico nas células neurais. A administração do *C. asiatica* e o ácido madecássico diminuiu as atividades hidrolíticas das enzimas CD39 e CD73, responsáveis pela degradação de nucleotídeos extracelulares reveladas nas análises de hidrólises do ATP, ADP e do AMP. A redução da atividade enzimática poderia levar ao acúmulo de nucleotídeos, que possuem potencial pró-inflamatório ao se ligarem a receptores específicos (Puchalowiz *et al.*, 2014). Porém, como mecanismo adaptativo, a redução dos níveis na hidrólise de ATP, ADP e AMP pode ter sido acionada para preservação de membrana celular. No entanto, a análise de TBARS não evidenciou danos celulares significativos, inclusive abaixo dos controles, sugerindo que a neuroproteção mediada pelo *C. asiatica* e ácido madecássico não se limita à modulação da atividade enzimática.

É possível que a inativação de receptores de membranas para nucleotídeos contribua para a resposta neuroprotetora, impedindo a ativação de vias inflamatórias. Por outro lado,

consideramos neste estudo a capacidade de proteção da membrana atribuída a diminuição nos níveis da hidrólise de ATP, ADP e AMP.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se considerar que a *C. asiatica* e o composto ácido madecássico possuem atividade biológica sobre as células de diferentes espécies, incluindo o ser humano. Verificou-se neste estudo os parâmetros de estresse oxidativo em soro, tais como TBARS, vitamina C, NPSH e ROS em relação ao efeito sob o tratamento crônico com *C. asiatica*. Os resultados obtidos sobre o estresse oxidativo e defesas antioxidantes entre ratos machos e fêmeas se mostraram similares, reforçando a capacidade antioxidante dos compostos naturais em promover resposta positiva de equilíbrio oxidativo. O tratamento crônico com a *C. asiatica* e o ácido madecássico consegue modificar a resposta do organismo sobre o estresse oxidativo, exceto no grupo de fêmeas, no entanto, são necessárias análises aprofundadas para explorar os mecanismos associados ao estresse oxidativo induzidos por ROS.

Em relação às hidrólises dos nucleotídeos ATP, ADP e AMP no tecido do córtex pré-frontal os resultados mostram que o tratamento com *C. asiatica* e ácido madecássico apresenta efeitos neuroprotetores que atenuam danos celulares e modulam a atividade das enzimas CD39, CD73 e seus efeitos no sistema purinérgico.

Este estudo, baseado em um modelo experimental controlado, contribui para ampliar a compreensão de mecanismos moleculares ligados aos efeitos neuroprotetores decorrentes do tratamento crônico com *C. asiatica* e ácido madecássico. A abrangência dos resultados obtidos, juntamente com os dados da literatura, abre caminho para o desenvolvimento de novas perspectivas tanto de desfechos terapêuticos quanto da compreensão da etiologia associada a distúrbios psiquiátricos como o TDM.

## REFERÊNCIAS

ABBRACCHIO, Maria P.; BURNSTOCK, Geoffrey; VERKHRATSKY, Alexei; et al. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. **Trends in Neurosciences**, v. 32, n. 1, p. 19–29, 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016622360800249X>>. Acesso em: 19 nov. 2023.

ALCOCER-GÓMEZ, Elísabet; DE MIGUEL, Manuel; CASAS-BARQUERO, Nieves; *et al.* NLRP3 inflammasome is activated in mononuclear blood cells from patients with major depressive disorder. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 36, p. 111–117, 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159113005163>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

ALMEIDA, D. B. *et al.* A relação entre marcadores inflamatórios e depressão: uma revisão da literatura. **Scire salutis**, [s. l.], v. 11, ed. 1, 2021. DOI 10.6008/CBPC2236-9600.2021.001.0010. Disponível em: <http://www.sustenere.co/index.php/sciresalutis/article/view/CBPC2236-9600.2021.001.0010/2432>. Acesso em: 20 mar. 2022.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (Org.), **Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5-TR**, Fifth edition, text revision. Washington, DC: American Psychiatric Association Publishing, 2022.

AMININ, Dmitry; ILLES, Peter. Purinergic Signaling in Neuroinflammation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12895, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/23/12895>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

ANAND, T; MAHADEVA, Naika; PHANI, Kumar G; *et al.* Antioxidant and DNA Damage Preventive Properties of Centella asiatica (L) Urb. **Pharmacognosy Journal**, v. 2, n. 17, p. 53–58, 2010. Disponível em: <<http://www.phcogfirst.com/article/380>>. Acesso em: 9 out. 2023.

ANDERSON, Kevin M.; COLLINS, Meghan A.; KONG, Ru; *et al.* Convergent molecular, cellular, and cortical neuroimaging signatures of major depressive disorder. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 40, p. 25138–25149, 2020. Disponível em: <<https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2008004117>>. Acesso em: 22 nov. 2023.

ANTONIOLI, Luca; FORNAI, Matteo; BLANDIZZI, Corrado; *et al.* Adenosine signaling and the immune system: When a lot could be too much. **Immunology Letters**, v. 205, p. 9–15, 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016524781830172X>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

ANUKUNWITHAYA, Tosapol; TANTISIRA, Mayuree; TANTISIRA, Boonyong; *et al.* Pharmacokinetics of a Standardized Extract of Centella asiatica ECa 233 in Rats. **Planta Medica**, v. 83, n. 08, p. 710–717, 2016. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0042-122344>>. Acesso em: 12 ago. 2024.

ANUKUNWITHAYA, Tosapol; TANTISIRA, Mayuree; SHIMADA, Tsutomu; *et al.* Multiple Oral Dosing Pharmacokinetics of Standardized Extract of Centella asiatica ECa 233 and Its Inductive Effect on Efflux Transporters in Rats. **Planta Medica International Open**, v. 4, n. 02, p. e66–e73, 2017. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0043-114669>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

ARORA, Renu; KUMAR, Ritesh; AGARWAL, Amit; *et al.* Comparison of three different extracts of *Centella asiatica* for anti-amnesic, antioxidant and anticholinergic activities: in vitro and in vivo study. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 1344–1352, 2018. DOI:

10.1016/j.biopha.2018.05.156. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332217362078>>. Acesso em: 20 out. 2023.

AUDET, Marie-Claude; ANISMAN, Hymie. Interplay between pro-inflammatory cytokines and growth factors in depressive illnesses. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 7, 2013. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2013.00068/abstract>>. Acesso em: 24 maio 2023.

BANDOPADHYAY, Shinjini; MANDAL, Sujata; GHORAI, Mimosha; et al. Therapeutic properties and pharmacological activities of asiaticoside and madecassoside: A review. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 27, n. 5, p. 593–608, 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jcmm.17635>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

BANDOPADHYAY, Shinjini; MANDAL, Sujata; GHORAI, Mimosha; et al. Therapeutic properties and pharmacological activities of asiaticoside and madecassoside: A review. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 27, n. 5, p. 593–608, 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jcmm.17635>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

BANGASSER, Debra A.; WIERSIELIS, Kimberly R. Sex differences in stress responses: a critical role for corticotropin-releasing factor. **Hormones**, v. 17, n. 1, p. 5–13, 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s42000-018-0002-z>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

BAO, A.-M.; RUHÉ, H.G.; GAO, S.-F.; et al. Neurotransmitters and neuropeptides in depression. In: Handbook of Clinical Neurology. [s.l.]: Elsevier, 2012, v. 106, p. 107–136. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444520029000085>>. Acesso em: 2 set. 2023.

BARTOLOMEI, Beatrice; GENTILE, Giuseppe; ROSSO, Cristian; et al. Turning the Light on Phenols: New Opportunities in Organic Synthesis. **Chemistry – A European Journal**, v. 27, n. 65, p. 16062–16070, 2021. Disponível em: <<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chem.202102276>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

BEUREL, Eléonore; TOUPS, Marisa; NEMEROFF, Charles B. The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: Double Trouble. **Neuron**, v. 107, n. 2, p. 234–256, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627320304311>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

BILTZ, Rebecca G.; SAWICKI, Caroline M.; SHERIDAN, John F.; et al. The neuroimmunology of social-stress-induced sensitization. **Nature Immunology**, v. 23, n. 11, p. 1527–1535, 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41590-022-01321-z>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003269776905273>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

BRIVIO, Elena; LOPEZ, Juan Pablo; CHEN, Alon. Sex differences: Transcriptional signatures of stress exposure in male and female brains. **Genes, Brain and Behavior**, v. 19, n. 3, p. e12643, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/gbb.12643>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

BURNSTOCK, G. Discovery of purinergic signalling, the initial resistance and current explosion of interest. **British Journal of Pharmacology**, v. 167, n. 2, p. 238–255, 2012. Disponível em: <<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1476-5381.2012.02008.x>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

BURNSTOCK, G. Purinergic nerves. **Pharmacological Reviews**, v. 24, n. 3, p. 509–581, 1972.

BURNSTOCK, G. Purinergic Signalling: Pathophysiology and Therapeutic Potential. **The Keio Journal of Medicine**, v. 62, n. 3, p. 63–73, 2013. DOI: 10.2302/kjm.2013-0003-RE Disponível em: <[https://www.jstage.jst.go.jp/article/kjm/62/3/62\\_2013-0003-RE/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/kjm/62/3/62_2013-0003-RE/_article)>. Acesso em: 3 maio 2023.

CALABRESE, Francesca; ROSSETTI, Andrea C.; RACAGNI, Giorgio; *et al.* Brain-derived neurotrophic factor: a bridge between inflammation and neuroplasticity. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 8, 2014. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2014.00430/abstract>>. Acesso em: 24 maio 2023.

CALDIERARO, Marco Antonio; MCKEE, Madison; LEISTNER-SEGAL, Sandra; *et al.* Val66Met polymorphism association with serum BDNF and inflammatory biomarkers in major depression. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v. 19, n. 5, p. 402–409, 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15622975.2017.1347713>>. Acesso em: 9 jul. 2024.

CARLESSI, Anelise S.; BORBA, Laura A.; ZUGNO, Alexandra I.; *et al.* Gut microbiota–brain axis in depression: The role of neuroinflammation. **European Journal of Neuroscience**, v. 53, n. 1, p. 222–235, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ejn.14631>>. Acesso em: 3 set. 2023.

CATALE, Clarissa; CAROLA, Valeria; VISCOMI, MariaTeresa. Early life stress-induced neuroinflammation and neurological disorders: a novel perspective for research. **Neural Regeneration Research**, v. 17, n. 9, p. 1971, 2022. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.4103/1673-5374.335152>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

CHAMBERLAIN, Samuel R.; CAVANAGH, Jonathan; DE BOER, Peter; *et al.* Treatment-resistant depression and peripheral C-reactive protein. **British Journal of Psychiatry**, v. 214, n. 1, p. 11–19, 2019. Disponível em: <[https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007125018000661/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007125018000661/type/journal_article)>. Acesso em: 28 nov. 2023.

CHEN, Chien-Li; TSAI, Wen-Hao; CHEN, Chun-Jen; *et al.* *Centella asiatica* extract protects against amyloid  $\beta$ 1–40-induced neurotoxicity in neuronal cells by activating the antioxidative

defence system. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 6, n. 4, p. 362–369, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2225411015000784>>. Acesso em: 26 jun. 2024.

CHO, Y.; VUONG, H.; HA, J. *et al.* Inhibition of Inflammatory Responses by *Centella asiatica* via Suppression of IRAK1-TAK1 in Mouse Macrophages. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 48, n. 05, p. 1103–1120, 2020. DOI: 10.1142/S0192415X20500548. Disponível em: <<https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S0192415X20500548>>. Acesso em: 7 maio 2023.

CHOI, Anna L.; SUN, Guifan; ZHANG, Ying; *et al.* Developmental Fluoride Neurotoxicity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 10, p. 1362–1368, 2012. Disponível em: <<https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.1104912>>. Acesso em: 20 fev. 2023.

CIEŚLAK, Marek; WOJTCZAK, Andrzej. Role of purinergic receptors in the Alzheimer's disease. **Purinergic Signalling**, v. 14, n. 4, p. 331–344, 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s11302-018-9629-0>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

CIMEN, Behzat; GUMUS, Cihan Banu; CETIN, Ihsan; *et al.* The Effects of Escitalopram Treatment on Oxidative/ Antioxidative Parameters in Patients with Depression. **Klinik Psikofarmakoloji Bülteni-Bulletin of Clinical Psychopharmacology**, v. 25, n. 3, p. 272–279, 2015. Disponível em: <<https://psychiatry-psychopharmacology.com/en/the-effects-of-escitalopram-treatment-on-oxidative-antioxidative-parameters-in-patients-with-depression-13187>>. Acesso em: 4 jun. 2024.

CORRIGAN, Myles; O'ROURKE, Aoife M.; MORAN, Barry; *et al.* Inflammation in the pathogenesis of depression: a disorder of neuroimmune origin. **Neuronal Signaling**, v. 7, n. 2, p. NS20220054, 2023. Disponível em: <<https://portlandpress.com/neuronalsignal/article/7/2/NS20220054/233189/Inflammation-in-the-pathogenesis-of-depression-a>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

DANTZER, Robert. Cytokine, Sickness Behavior, and Depression. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v. 29, n. 2, p. 247–264, 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889856109000034>>. Acesso em: 24 maio 2023.

DANTZER, Robert; O'CONNOR, Jason C.; FREUND, Gregory G.; *et al.* From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 46–56, 2008. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrn2297>>. Acesso em: 28 jun. 2024.

DI VIRGILIO, F.; CERUTI, S.; BRAMANTI, P. *et al.* Purinergic signalling in inflammation of the central nervous system. **Trends in Neurosciences**, v. 32, n. 2, p. 79–87, 2009. DOI: 10.1016/j.tins.2008.11.003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223608002786>>. Acesso em: 25 abr. 2023.

DI VIRGILIO, Francesco; CERUTI, Stefania; BRAMANTI, Placido; *et al.* Purinergic signalling in inflammation of the central nervous system. **Trends in Neurosciences**, v. 32, n.

2, p. 79–87, 2009. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223608002786>>. Acesso em: 25 abr. 2023.

DOU, Lei; CHEN, Yi-Fa; COWAN, Peter J.; et al. Extracellular ATP signaling and clinical relevance. **Clinical Immunology**, v. 188, p. 67–73, 2018. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521661617307982>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

DOWLATI, Yekta; HERRMANN, Nathan; SWARDFAGER, Walter; et al. A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. **Biological Psychiatry**, v. 67, n. 5, p. 446–457, 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322309012293>>. Acesso em: 21 maio 2023.

ELLMAN, George L. **Tissue sulfhydryl groups**. Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 82, n. 1, p. 70–77, 1959. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003986159900906>>. Acesso em: 21 set. 2023.

EL SAYED, Yasmeen; ALI, Nagah; ELSHAZLY, Amal; et al. The Role of Vitamin D on Fluoxetine Induced Testicular Toxicity in Adult Male Rats. **Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology**, v. 0, n. 0, p. 0–0, 2021. Disponível em:  
<[https://mjfmct.journals.ekb.eg/article\\_170587.html](https://mjfmct.journals.ekb.eg/article_170587.html)>. Acesso em: 29 jun. 2024.

ERDEMIR, Fikret; ATILGAN, Dogan; FIRAT, Fatih; *et al.* The effect of Sertraline, Paroxetine, Fluoxetine and Escitalopram on testicular tissue and oxidative stress parameters in rats. **International braz j urol**, v. 40, n. 1, p. 100–108, 2014. Disponível em:  
<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1677-55382014000100100&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-55382014000100100&lng=en&tlng=en)>. Acesso em: 4 jun. 2024.  
**Esdatdos Unidos da América: Academic Press**, 1997. Disponível em:

FARAHBAKHS, Zahra; RADAHMADI, Maryam. The protective effects of escitalopram on synaptic plasticity in the CA1 region of chronically stressed and non-stressed male rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 82, n. 8, p. 747–757, 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jdn.10224>>. Acesso em: 2 jan. 2024.

FELGER, Jennifer C.; LI, Li; MARVAR, Paul J.; *et al.* Tyrosine metabolism during interferon-alpha administration: Association with fatigue and CSF dopamine concentrations. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 31, p. 153–160, 2013. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159112004722>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

FERRARI, Davide; MCNAMEE, Eóin N.; IDZKO, Marco; *et al.* Purinergic Signaling During Immune Cell Trafficking. **Trends in Immunology**, v. 37, n. 6, p. 399–411, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490616300072>>. Acesso em: 19 nov. 2023.

FLESHNER, Monika; FRANK, Matthew; MAIER, Steven F. Danger Signals and Inflammasomes: Stress-Evoked Sterile Inflammation in Mood Disorders. **Neuropsychopharmacology**, v. 42, n. 1, p. 36–45, 2017. Disponível em:  
<<https://www.nature.com/articles/npp2016125>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

FRIEDMAN, Naomi P.; MIYAKE, Akira. Unity and diversity of executive functions: Individual differences as a window on cognitive structure. **Cortex**, v. 86, p. 186–204, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010945216301071>>. Acesso em: 18 nov. 2023.

FÜRSTENAU, Cristina Ribas; TRENTIN, Danielle Da Silva; BARRETO-CHAVES, Maria Luiza Morais; et al. Ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase as part of a multiple system for nucleotide hydrolysis by platelets from rats: Kinetic characterization and biochemical properties. **Platelets**, v. 17, n. 2, p. 84–91, 2006. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09537100500246641>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

GADEK-MICHALSKA, Anna; TADEUSZ, Joanna; RACHWALSKA, Paulina; et al. Cytokines, prostaglandins and nitric oxide in the regulation of stress-response systems. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 6, p. 1655–1662, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1734114013715275>>. Acesso em: 22 maio 2023.

GHASEMI, Mehdi; PHILLIPS, Cristy; FAHIMI, Atoossa; et al. Mechanisms of action and clinical efficacy of NMDA receptor modulators in mood disorders. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 80, p. 555–572, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763417301458>>. Acesso em: 21 maio 2023.

GIUSTARINI, Daniela; MILZANI, Aldo; DALLE-DONNE, Isabella; et al. How to Increase Cellular Glutathione. **Antioxidants**, v. 12, n. 5, p. 1094, 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3921/12/5/1094>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

GONÇALVES, M. C. B.; ANDREJEW, R.; GUBERT, C. The Purinergic System as a Target for the Development of Treatments for Bipolar Disorder. **CNS Drugs**, v. 36, n. 8, p. 787–801, 2022. DOI: 10.1007/s40263-022-00934-0. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s40263-022-00934-0>>. Acesso em: 3 maio 2023.

GRAY, Nora E.; ZWEIG, Jonathan A.; CARUSO, Maya; et al. *Centella asiatica* attenuates hippocampal mitochondrial dysfunction and improves memory and executive function in  $\beta$ -amyloid overexpressing mice. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 93, p. 1–9, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044743118302252>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

GRIGORIADIS, Sophie; ROBINSON, Gail Erlick. Gender Issues in Depression. **Annals of Clinical Psychiatry**, v. 19, n. 4, p. 247–255, 2007. Disponível em: <<http://www.portico.org/Portico/article?article=pf1m9kf7xh>>. Acesso em: 14 maio 2023.

GROLI, Roberta Eduarda; BERTOLLO, Amanda Gollo; BEHENCK, João Paulo; et al. Quetiapine effect on depressive-like behaviors, oxidative balance, and inflammation in serum of rats submitted to chronic stress. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 396, n. 7, p. 1423–1433, 2023. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s00210-023-02406-8>>. Acesso em: 2 jan. 2024.

HAFIZ, Zetty Zulikha; AMIN, Muhammad 'Afif Mohd; JOHARI JAMES, Richard Muhammad; et al. Inhibitory Effects of Raw-Extract Centella asiatica (RECA) on Acetylcholinesterase, Inflammations, and Oxidative Stress Activities via In Vitro and In Vivo. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 892, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/4/892>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

HERBET, Mariola; KORGA, Agnieszka; GAWROŃSKA-GRZYWACZ, Monika; et al. Chronic Variable Stress Is Responsible for Lipid and DNA Oxidative Disorders and Activation of Oxidative Stress Response Genes in the Brain of Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1–10, 2017. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/omcl/2017/7313090/>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

HODES, G. E.; KANA, V.; MENARD, C. *et al.* Neuroimmune mechanisms of depression. **Nature Neuroscience**, v. 18, n. 10, p. 1386–1393, 2015. DOI: 10.1038/nn.4113. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nn.4113>>. Acesso em: 6 maio 2023.

HOWREN, M Bryant; LAMKIN, Donald M.; SULS, Jerry. Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. **Psychosomatic Medicine**, v. 71, n. 2, p. 171–186, 2009. Disponível em: <<https://journals.lww.com/00006842-200902000-00006>>. Acesso em: 28 jun. 2024.

HUANG, Zhao; XIE, Na; ILLES, Peter; et al. From purines to purinergic signalling: molecular functions and human diseases. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, n. 1, p. 162, 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41392-021-00553-z>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

IBANEZ, Grazielle; MERCEDES, Bruna Paiva Do Carmo; VEDANA, Kelly Graziani Giacchero; et al. Adesão e dificuldades relacionadas ao tratamento medicamentoso em pacientes com depressão. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 67, n. 4, p. 556–562, 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-71672014000400556&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-71672014000400556&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em: 7 ago. 2024.

IGNÁCIO, Zuleide M.; DA SILVA, Renato S.; PLISSARI, Marcos E.; *et al.* Physical Exercise and Neuroinflammation in Major Depressive Disorder. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 12, p. 8323–8335, 2019. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12035-019-01670-1>>. Acesso em: 21 maio 2023.

IMRAISH, Amer; ABU-THIAB, Tuqa; HAMMAD, Hana. P2X and P2Y Receptor Antagonists Reduce Inflammation in ATP-induced Microglia. **Pharmacy Practice**, v. 21, n. 1, p. 01–07, 2023. Disponível em: <<https://www.pharmacypractice.org/index.php/pp/article/view/2788>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

INTARARUCHIKUL, Thidarat; TEERAPATTARAKAN, Narudol; RODSIRI, Ratchanee; *et al.* Effects of Centella asiatica extract on antioxidant status and liver metabolome of rotenone-treated rats using GC–MS. **Biomedical Chromatography**, v. 33, n. 2, p. e4395, 2019. Disponível em: <<https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmc.4395>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

INTO, Takeshi; HORIE, Toshi; INOMATA, Megumi; *et al.* Basal autophagy prevents autoactivation or enhancement of inflammatory signals by targeting monomeric MyD88. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1009, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-017-01246-w>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

IWATA, Masaaki; OTA, Kristie T.; DUMAN, Ronald S. The inflammasome: Pathways linking psychological stress, depression, and systemic illnesses. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 31, p. 105–114, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159112005387>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

IWATA, Masaaki; OTA, Kristie T.; LI, Xiao-Yuan; *et al.* Psychological Stress Activates the Inflammasome via Release of Adenosine Triphosphate and Stimulation of the Purinergic Type 2X7 Receptor. **Biological Psychiatry**, v. 80, n. 1, p. 12–22, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322315010367>>. Acesso em: 25 abr. 2023.

JACQUES-SILVA, Maria Caroline; NOGUEIRA, Cristina W.; BROCH, Luis Carlos; *et al.* Diphenyl Diselenide and Ascorbic Acid Changes Deposition of Selenium and Ascorbic Acid in Liver and Brain of Mice: DEPOSITION OF SELENIUM AND ASCORBIC ACID IN LIVER AND BRAIN OF MICE. **Pharmacology & Toxicology**, v. 88, n. 3, p. 119–125, 2001. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1034/j.1600-0773.2001.d01-92.x>>. Acesso em: 20 fev. 2023.

JENTZSCH, Axel M.; BACHMANN, Heini; FÜRST, Peter; *et al.* Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 2, p. 251–256, 1996. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0891584995020438>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

JEON, Sang Won; KIM, Yong-Ku. The role of neuroinflammation and neurovascular dysfunction in major depressive disorder. **Journal of Inflammation Research**, v. 11, p. 179–192, 2018. Disponível em: <<https://www.dovepress.com/the-role-of-neuroinflammation-and-neurovascular-dysfunction-in-major-d-peer-reviewed-fulltext-article-JIR>>. Acesso em: 3 set. 2023.

JIA, Xiaoning; GAO, Zhihua; HU, Hailan. Microglia in depression: current perspectives. **Science China Life Sciences**, v. 64, n. 6, p. 911–925, 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s11427-020-1815-6>>. Acesso em: 23 maio 2023.

JIN, Chengcheng; FLAVELL, Richard A. The missing link: how the inflammasome senses oxidative stress. **Immunology & Cell Biology**, v. 88, n. 5, p. 510–512, 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/icb.2010.56>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

JOHNSON, Frances K.; KAFFMAN, Arie. Early life stress perturbs the function of microglia in the developing rodent brain: New insights and future challenges. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 69, p. 18–27, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159117301976>>. Acesso em: 9 maio 2023.

JUNSAI, Thammaphorn; TANGPANITHANDEE, Supawit; SRIMANGKORNKAEW, Passaraphorn; *et al.* Sub-chronic oral toxicity of a water-soluble extract of *Centella asiatica*

(Centell-S) in Wistar rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 185, p. 114509, 2024. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691524000759>>. Acesso em: 4 jun. 2024.

KELLER, J; GOMEZ, R; WILLIAMS, G; *et al.* HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. **Molecular Psychiatry**, v. 22, n. 4, p. 527–536, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/mp2016120>>. Acesso em: 22 nov. 2023.

KELLEY, Nathan; JELTEMA, Devon; DUAN, Yanhui; *et al.* The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 13, p. 3328, 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/20/13/3328>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

KESSLER, Ronald C.; BROMET, Evelyn J. The Epidemiology of Depression Across Cultures. **Annual Review of Public Health**, v. 34, n. 1, p. 119–138, 2013. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-publhealth-031912-114409>>. Acesso em: 10 maio 2023.

KONSMAN, Jan Pieter; VIGUES, Stephan; MACKERLOVA, Ludmila; *et al.* Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: Relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by peripheral inflammatory stimuli. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 472, n. 1, p. 113–129, 2004. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cne.20052>>. Acesso em: 24 maio 2023.

KUBERA, Marta; MAES, Michael; HOLAN, Vladimir; *et al.* Prolonged desipramine treatment increases the production of interleukin-10, an anti-inflammatory cytokine, in C57BL/6 mice subjected to the chronic mild stress model of depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 63, n. 1–3, p. 171–178, 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165032700001828>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

KUSWATI, -; WIYONO, Nanang; AKHMAD, Syaefudin Ali. *Centella asiatica* decrease bax expression In prefrontal cortex of rat models. **Bangladesh Journal of Medical Science**, v. 18, n. 1, p. 112–117, 2018. Disponível em: <<https://banglajol.info/index.php/BJMS/article/view/39560>>. Acesso em: 4 jun. 2024.

LEE, Gihyun; BAE, Hyunsu. Therapeutic Effects of Phytochemicals and Medicinal Herbs on Depression. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1–11, 2017. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/6596241/>>. Acesso em: 21 maio 2023.

LIU, Ying-Jiao; CHEN, Jiao; LI, Xun; *et al.* Research progress on adenosine in central nervous system diseases. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 25, n. 9, p. 899–910, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cns.13190>>. Acesso em: 24 maio 2023.

LOKANATHAN, Yogeswaran; OMAR, Norazzila; AHMAD PUZI, Nur Nabilah; *et al.* Recent Updates in Neuroprotective and Neuroregenerative Potential of *Centella asiatica*. **The Malaysian journal of medical sciences: MJMS**, v. 23, n. 1, p. 4–14, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4975583/>>. Acesso em: 08 out 2023.

LU, Yanxia; HO, Cyrus S.; LIU, Xin; *et al.* Chronic administration of fluoxetine and pro-inflammatory cytokine change in a rat model of depression. **PLOS ONE**, v. 12, n. 10, p. e0186700, 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0186700>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

LUNKES, Gilberto Inácio; LUNKES, Daniela; STEFANELLO, Francieli; *et al.* Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides in diabetes and associated pathologies. **Thrombosis Research**, v. 109, n. 4, p. 189–194, 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0049384803001786>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

LUO, Yuan; YANG, Yi-Ping; LIU, Jie; *et al.* Neuroprotective effects of madecassoside against focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats. **Brain Research**, v. 1565, p. 37–47, 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899314004855>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

MAES, M.; LEONARD, B.E.; MYINT, A.M.; *et al.* The new ‘5-HT’ hypothesis of depression: Cell-mediated immune activation induces indoleamine 2,3-dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites (TRYCATs), both of which contribute to the onset of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 3, p. 702–721, 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278584610005117>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

MAZZA , Mario Gennaro *et al.* Persistent psychopathology and neurocognitive impairment in COVID-19 survivors: Effect of inflammatory biomarkers at three-month follow-up. **Cell**, [s. l.], 2021. DOI 10.1016/j.bbi.2021.02.021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33639239/>. Acesso em: 2 abr. 2022.

MENARD, Caroline; PFAU, Madeline L.; HODES, Georgia E.; *et al.* Social stress induces neurovascular pathology promoting depression. **Nature Neuroscience**, v. 20, n. 12, p. 1752–1760, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41593-017-0010-3>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

MILLER, Andrew H.; RAISON, Charles L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 1, p. 22–34, 2016. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nri.2015.5>>. Acesso em: 23 maio 2023.

MIYAKE, Akira; FRIEDMAN, Naomi P.; EMERSON, Michael J.; *et al.* The Unity and Diversity of Executive Functions and Their Contributions to Complex “Frontal Lobe” Tasks: A Latent Variable Analysis. **Cognitive Psychology**, v. 41, n. 1, p. 49–100, 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001002859990734X>>. Acesso em: 18 nov. 2023.

MÖLLER, Marisa; DU PREEZ, Jan L.; VILJOEN, Francois P.; *et al.* Social isolation rearing induces mitochondrial, immunological, neurochemical and behavioural deficits in rats, and is reversed by clozapine or N-acetyl cysteine. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 30, p. 156–167, 2013. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159112005417>>. Acesso em: 22 maio 2023.

MOU, Yi; DU, Yu; ZHOU, Lixing; et al. Gut Microbiota Interact With the Brain Through Systemic Chronic Inflammation: Implications on Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Aging. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 796288, 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.796288/full>>. Acesso em: 28 jun. 2024.

NAIDOO, D. B.; CHUTURGOON, A. A.; PHULUKDAREE, A.; et al. *Centella asiatica* modulates cancer cachexia associated inflammatory cytokines and cell death in leukaemic THP-1 cells and peripheral blood mononuclear cells (PBMC's). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 377, 2017. DOI: 10.1186/s12906-017-1865-2.

Disponível em:

<<http://bmccomplementalternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-017-1865-2>>. Acesso em: 7 maio 2023.

NOH, Mi Ra; KIM, Jee In; HAN, Sang Jun; et al. C/EBP homologous protein (CHOP) gene deficiency attenuates renal ischemia/reperfusion injury in mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, v. 1852, n. 9, p. 1895–1901, 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925443915001702>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

O'FARRELL, Katherine; HARKIN, Andrew. Stress-related regulation of the kynurenine pathway: Relevance to neuropsychiatric and degenerative disorders. **Neuropharmacology**, v. 112, p. 307–323, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390815302008>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

ORHAN, I. E. *Centella asiatica* (L.) Urban: From Traditional Medicine to Modern Medicine with Neuroprotective Potential. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1–8, 2012. DOI: 10.1155/2012/946259. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/946259/>>. Acesso em: 7 maio 2023.

PAŁASZ, Artur; SUSZKA-ŚWITEK, Aleksandra; FILIPCZYK, Łukasz; et al. Escitalopram affects spexin expression in the rat hypothalamus, hippocampus and striatum. **Pharmacological Reports**, v. 68, n. 6, p. 1326–1331, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1734114016301402>>. Acesso em: 2 jan. 2024.

PAN, Zihang; PARK, Caroline; BRIETZKE, Elisa; et al. Cognitive impairment in major depressive disorder. **CNS Spectrums**, v. 24, n. 1, p. 22–29, 2019. Disponível em: <[https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1092852918001207/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1092852918001207/type/journal_article)>. Acesso em: 22 nov. 2022

PASQUINI, Silvia; CONTRI, Chiara; BOREA, Pier Andrea; et al. Adenosine and Inflammation: Here, There and Everywhere. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7685, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/14/7685>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

PAXINOS, George; WATSON, Charles. **The Rat Brainin Stereotaxic Coordinates**.<http://mikrokirurgi.se/wp-content/uploads/2013/10/Paxinos-The-rat-brain-in-stereotaxiccoordinates.pdf>. Acesso em 7 maio 2023.

PETERS, Amy T.; REN, Xinguo; BESSETTE, Katie L.; et al. Interplay between pro-inflammatory cytokines, childhood trauma, and executive function in depressed adolescents. **Journal of Psychiatric Research**, v. 114, p. 1–10, 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022395618311907>>. Acesso em: 28 jun. 2024.

PHILLIPS, Cristy; FAHIMI, Atoossa. Immune and Neuroprotective Effects of Physical Activity on the Brain in Depression. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, p. 498, 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2018.00498/full>>. Acesso em: 22 maio 2023.

PILLA, C.; EMANUELLI, T.; FRASSETTO, S. S.; et al. ATP diphosphohydrolase activity (apyrase, EC 3.6.1.5) in human blood platelets. **Platelets**, v. 7, n. 4, p. 225–230, 1996. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09537109609023582>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

PITSILLOU, Eleni; BRESNEHAN, Sarah M.; KAGARAKIS, Evan A.; et al. The cellular and molecular basis of major depressive disorder: towards a unified model for understanding clinical depression. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 1, p. 753–770, 2020. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11033-019-05129-3>>. Acesso em: 20 out. 2023.

PRAKASH, Atish; KUMAR, Anil. Mitoprotective effect of *Centella asiatica* against aluminum-induced neurotoxicity in rats: possible relevance to its anti-oxidant and anti-apoptosis mechanism. **Neurological Sciences**, v. 34, n. 8, p. 1403–1409, 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10072-012-1252-1>>. Acesso em: 25 jun. 2024.

PUCHAŁOWICZ, Kamila; TARNOWSKI, Maciej; BARANOWSKA-BOSIACKA, Irena; et al. P2X and P2Y Receptors—Role in the Pathophysiology of the Nervous System. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 12, p. 23672–23704, 2014. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/15/12/23672>>. Acesso em: 28 jun. 2024.

RATHER, A. Mashoque; JUSTIN-THENMOZHI, A; MANIVASAGAM, T; et al. Asiatic Acid Attenuated Aluminum Chloride-Induced Tau Pathology, Oxidative Stress and Apoptosis Via AKT/GSK-3 $\beta$  Signaling Pathway in Wistar Rats. **Neurotoxicity Research**, v. 35, n. 4, p. 955–968, 2019. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12640-019-9999-2>>. Acesso em: 19 out. 2023.

RAWDIN, B.J.; MELLON, S.H.; DHABHAR, F.S.; et al. Dysregulated relationship of inflammation and oxidative stress in major depression. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 31, p. 143–152, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159112004977>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

RÉUS, Gislaine Z.; FERNANDES, Gabrielly C.; DE MOURA, Airam B.; et al. Early life experience contributes to the developmental programming of depressive-like behaviour, neuroinflammation and oxidative stress. **Journal of Psychiatric Research**, v. 95, p. 196–207,

2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022395617305356>>. Acesso em: 9 maio 2023.

SABARAGAMUWA, Rasangani; PERERA, Conrad O.; FEDRIZZI, Bruno. *Centella asiatica* (Gotu kola) as a neuroprotectant and its potential role in healthy ageing. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 88–97, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224417305587>>. Acesso em: 4 jun. 2024.

SACHDEV, Swati; ANSARI, Shamim Akhtar; ANSARI, Mohammad Israil. ROS Generation in Plant Cells Orchestrated by Stress. In: SACHDEV, Swati; ANSARI, Shamim Akhtar; ANSARI, Mohammad Israil (Eds.). *Reactive Oxygen Species in Plants*. Singapore: **Springer Nature Singapore**, 2023, p. 23–43. Disponível em: <[https://link.springer.com/10.1007/978-981-19-9884-3\\_2](https://link.springer.com/10.1007/978-981-19-9884-3_2)>. Acesso em: 29 jun. 2024.

SAHRAEI, R.; AMINYAVARI, S.; *et al.* The Ameliorative Impact of *Centella asiatica* on the Working Memory Deficit in Streptozotocin-induced Rat Model of Alzheimer Disease. **Basic and Clinical Neuroscience Journal**, v. 13, n. 1, p. 25–34, 2022. <http://dx.doi.org/10.32598/bcn.2021.144.4> Disponível em: <<https://bcn.iuums.ac.ir/article-1-1699-en.html>>. Acesso em: 20 out. 2023.

SCHAEFER, Martin; SCHWAIGER, Markus; GARKISCH, Andrea S.; *et al.* Prevention of interferon-alpha associated depression in psychiatric risk patients with chronic hepatitis C. **Journal of Hepatology**, v. 42, n. 6, p. 793–798, 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168827805001807>>. Acesso em: 27 nov. 2023.

SCHEIERMANN, Christoph; FRENETTE, Paul S.; HIDALGO, Andrés. Regulation of leucocyte homeostasis in the circulation. **Cardiovascular Research**, v. 107, n. 3, p. 340–351, 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/circovasres/article-lookup/doi/10.1093/cvr/cvv099>>. Acesso em: 8 maio 2023.

SEOANE, Paula I.; LEE, Bali; HOYLE, Christopher; *et al.* The NLRP3–inflammasome as a sensor of organelle dysfunction. **Journal of Cell Biology**, v. 219, n. 12, p. e202006194, 2020. Disponível em: <<https://rupress.org/jcb/article/219/12/e202006194/191204/The-NLRP3-inflammasome-as-a-sensor-of-organelle>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

SHARMA, Shilpa; AKUNDI, Ravi S. Mitochondria: A Connecting Link in the Major Depressive Disorder Jigsaw. **Current Neuropharmacology**, v. 17, n. 6, p. 550–562, 2019. Disponível em: <<http://www.eurekaselect.com/160189/article>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

SHINOMOL, G.K.; MURALIDHARA, M.S.; BHARATH, M. Exploring the Role of “Brahmi” (*Bacopa monnieri* and *Centella asiatica*) in Brain Function and Therapy. **Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery**, v. 5, n. 1, p. 33–49, 2011. DOI:10.2174/187221411794351833. Disponível em: <<http://www.eurekaselect.com/91169/article>>. Acesso em: 16 out. 2023.

SILVA, Gilnei Bruno da; YAMAUCHI, Milena Ayumi; ZANINI, Daniela; *et al.* Novel possibility for cutaneous melanoma treatment by means of rosmarinic acid action on purinergic signaling. **Purinergic Signalling**, v. 18, n. 1, p. 61–81, 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s11302-021-09821-7>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

SPERLÁGH, Beata; CSÖLLE, Cecília; RÓMEÓ, D. Andó; *et al.* **The role of purinergic signaling in depressive disorders.** v. v. 14, n. 4, p. 231–238, 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23269209/>>. Acesso em: 8 maio 2023.

STOFFELS, Monique; ZAAL, Ruben; KOK, Nina; *et al.* ATP-Induced IL-1 $\beta$  Specific Secretion: True Under Stringent Conditions. **Frontiers in Immunology**, v. 6, 2015. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fimmu.2015.00054/abstract>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

STRIKE, Philip C.; WARDLE, Jane; STEPTOE, Andrew. Mild acute inflammatory stimulation induces transient negative mood. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 57, n. 2, p. 189–194, 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022399903005695>>. Acesso em: 23 maio 2023.

SUN, B.; WU, L.; WU, Y. *et al.* Therapeutic Potential of *Centella asiatica* and Its Triterpenes: A Review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 568032, 2020. DOI: 10.3389/fphar.2020.568032. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2020.568032/full>>. Acesso em: 6 maio 2023.

SWAAB, Dick F.; BAO, Ai-Min. Sex differences in stress-related disorders: Major depressive disorder, bipolar disorder, and posttraumatic stress disorder. In: Handbook of Clinical Neurology. [s.l.]: Elsevier, 2020, v. 175, p. 335–358. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444641236000230>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

SYED UMESALMA, Shaik Amjad. Protective Effect of *Centella asiatica* against Aluminium-Induced Neurotoxicity in Cerebral Cortex, Striatum, Hypothalamus and Hippocampus of Rat Brain- Histopathological, and Biochemical Approach. **Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis**, v. 06, n. 01, 2015. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/open-access/protective-effect-of-centella-asiatica-against-aluminiuminduced-neurotoxicity-2155-9929.1000212.php?aid=36879>>. Acesso em: 9 out. 2023.

TAN, Sy; YIP, A. Hans Selye (1907–1982): Founder of the stress theory. **Singapore Medical Journal**, v. 59, n. 4, p. 170–171, 2018. Disponível em: <<http://www.smj.org.sg/article/hans-selye-1907%E2%80%931982-founder-stress-theory>>. Acesso em: 28 jun. 2024.

TANG, Mimi; LIU, Ting; JIANG, Pei; *et al.* The interaction between autophagy and neuroinflammation in major depressive disorder: From pathophysiology to therapeutic implications. **Pharmacological Research**, v. 168, p. 105586, 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661821001705>>. Acesso em: 21 nov. 2023.

TEERAPATTARAKAN, Narudol; BENYA-APHIKUL, Hattaya; TANSAWAT, Rossarin; *et al.* Neuroprotective effect of a standardized extract of *Centella asiatica* ECa233 in rotenone-induced parkinsonism rats. **Phytomedicine**, v. 44, p. 65–73, 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944711318301284>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

TERRITO, Paul R.; ZARRINMAYEH, Hamideh. P2X7 Receptors in Neurodegeneration: Potential Therapeutic Applications From Basic to Clinical Approaches. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 15, p. 617036, 2021. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2021.617036/full>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

TROUBAT, Romain; BARONE, Pascal; LEMAN, Samuel; *et al.* Neuroinflammation and depression: A review. **European Journal of Neuroscience**, v. 53, n. 1, p. 151–171, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ejn.14720>>. Acesso em: 10 maio 2023.

UNDURRAGA, J.; BALDESSARINI, R. J. VALENTI, Marc; *et al.* Suicidal Risk Factors in Bipolar I and II Disorder Patients. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 73, n. 06, p. 778–782, 2012. DOI: 10.4088/JCP.11m07041. Disponível em: <<http://article.psychiatrist.com/?ContentType=START&ID=10007702>>. Acesso em: 3 maio 2023.

VASILIU, Octavian. Investigational Drugs for the Treatment of Depression (Part 1): Monoaminergic, Orexinergic, GABA-Ergic, and Anti-Inflammatory Agents. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 884143, 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2022.884143/full>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

VEDDER, H.; ANTHES, N.; STUMM, G.; *et al.* Estrogen Hormones Reduce Lipid Peroxidation in Cells and Tissues of the Central Nervous System. **Journal of Neurochemistry**, v. 72, n. 6, p. 2531–2538, 1999. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1471-4159.1999.0722531.x>>. Acesso em: 4 jun. 2024.

VISWESWARI, G; SIVA PRASAD, K; LOKANATHA, V; *et al.* The antiepileptic effect of Centella asiatica on the activities of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup>-ATPases in rat brain during pentylenetetrazol-induced epilepsy. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 42, n. 2, p. 82, 2010. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.4103/0253-7613.64504>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

VITKOVIC, L; KONSMAN, J P; BOCKAERT, J; *et al.* Cytokine signals propagate through the brain. **Molecular Psychiatry**, v. 5, n. 6, p. 604–615, 2000. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/4000813>>. Acesso em: 28 jun. 2024.

YIN, Zeyuan; ZHAO, Xue; YANG, Dan; *et al.* LFG-500, a newly synthesized flavonoid, induces apoptosis in human ovarian carcinoma SKOV3 cells with involvement of the reactive oxygen species-mitochondria pathway. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 13, n. 6, p. 2819–2827, 2017. Disponível em: <<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2017.4343>>. Acesso em: 10 jul. 2024.

WANG, Alexandre K; MILLER, Brian J. Meta-analysis of Cerebrospinal Fluid Cytokine and Tryptophan Catabolite Alterations in Psychiatric Patients: Comparisons Between Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Depression. **Schizophrenia Bulletin**, v. 44, n. 1, p. 75–83, 2018. Disponível em:

<<http://academic.oup.com/schizophreniabulletin/article/44/1/75/3074362>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

WEBER, Michael D; GODBOUT, Jonathan P; SHERIDAN, John F. Repeated Social Defeat, Neuroinflammation, and Behavior: Monocytes Carry the Signal. **Neuropsychopharmacology**, v. 42, n. 1, p. 46–61, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/npp2016102>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

WELSH, Taylor G.; KUCENAS, Sarah. Purinergic signaling in oligodendrocyte development and function. **Journal of Neurochemistry**, v. 145, n. 1, p. 6–18, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jnc.14315>>. Acesso em: 19 nov. 2023.

WILLNER, Paul; SCHEEL-KRÜGER, Jørgen; BELZUNG, Catherine. The neurobiology of depression and antidepressant action. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 10, p. 2331–2371, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763412002163>>. Acesso em: 9 maio 2023.

WONG, Jia Hui; BARRON, Anna M.; ABDULLAH, Jafri Malin. Mitoprotective Effects of *Centella asiatica* (L.) Urb.: Anti-Inflammatory and Neuroprotective Opportunities in Neurodegenerative Disease. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 687935, 2021. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.687935/full>>. Acesso em: 7 maio 2023.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION**. [Constituição (2017)]. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. [S. l.: s. n.], 2017. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

XU, Min-fang; XIONG, Yu-yun; LIU, Jian-kang; et al. Asiatic acid, a pentacyclic triterpene in *Centella asiatica*, attenuates glutamate-induced cognitive deficits in mice and apoptosis in SH-SY5Y cells. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 33, n. 5, p. 578–587, 2012. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/aps20123>>. Acesso em: 21 jun. 2024.

YIN, Mei-Chin; LIN, Ming-Cheng; MONG, Mei-Chin; et al. Bioavailability, Distribution, and Antioxidative Effects of Selected Triterpenes in Mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 31, p. 7697–7701, 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf302529x>>. Acesso em: 12 ago. 2024.

ZANTA, Natália Cristina; ASSAD, Nadyme; SUCHECKI, Deborah. Neurobiological mechanisms involved in maternal deprivation-induced behaviours relevant to psychiatric disorders. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 16, p. 1099284, 2023. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2023.1099284/full>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

ZHANG, Ying; YIN, Hai-Yan; RUBINI, Patrizia; et al. A Possible Causal Involvement of Neuroinflammatory, Purinergic P2X7 Receptors in Psychiatric Disorders. **Current Neuropharmacology**, v. 20, n. 11, p. 2142–2155, 2022. Disponível em: <<https://www.eurekaselect.com/201612/article>>. Acesso em: 6 maio 2023.

ZUCKERMAN, Hannah; PAN, Zihang; PARK, Caroline; et al. Recognition and Treatment of Cognitive Dysfunction in Major Depressive Disorder. **Frontiers in Psychiatry**, v. 9, p. 655, 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyt.2018.00655/full>>. Acesso em: 18 nov. 2023.