



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E
BIOLOGIA CELULAR

ÉVERTON RENAN QUARESMA DOS SANTOS

**Avaliação do óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*
Ducke) em modelo de depressão induzida por álcool em
ratas adolescentes**

Belém – Pará

2023

ÉVERTON RENAN QUARESMA DOS SANTOS

**Avaliação do óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*
Ducke) em modelo de depressão induzida por álcool em
ratas adolescentes**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular, área de concentração Neurociências, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Neurociências.

Orientadora: Prof. Dra. Cristiane do Socorro F. Maia

Coorientador: Prof. Dr. José Guilherme S. Maia

Belém – Pará

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD Sistema de Bibliotecas da
Universidade Federal do Pará

Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

-
- S237a Santos, Éverton Renan Quaresma dos.
Avaliação do óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*
Ducke) em modelo de depressão induzida por álcool em ratos
adolescentes / Éverton Renan Quaresma dos Santos. — 2023.
105 f. : il. color.
- Orientador(a): Prof^a. Dra. Cristiane do Socorro Ferraz Maia
Coorientador(a): Prof. Dr. José Guilherme Soares Maia Tese
(Doutorado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós- Graduação
em Neurociências e Biologia Celular, Belém, 2023.
1. *Aniba rosaeodora*. 2. óleo essencial. 3. linalol. 4. binge. 5.
depressão. I. Título.

CDD 615

FOLHA DE APROVAÇÃO

Éverton Renan Quaresma dos Santos

Avaliação do óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em modelo de depressão induzida por álcool em ratas adolescentes

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Neurociências.

Área de concentração: Neurociências

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Edinaldo e Sandra, por todo o amor, apoio e incentivo durante esta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pois ele foi meu alicerce nos momentos mais difíceis desta trajetória.

Aos meus pais Edinaldo e Sandra, que me ensinaram a ser uma pessoa de bem e sempre persistir nos meus objetivos. Obrigado por toda paciência e confiança.

Ao meu irmão e tia, Everson e Simone, por sempre apoiarem os meus projetos.

À minha noiva Bianca, que esteve comigo em todos os momentos deste percurso. É a pessoa mais especial que eu já encontrei na vida.

À profa. Dra. Cristiane Maia, por ter aceitado me orientar e ter confiado este projeto a mim, me estendendo a mão desde o primeiro momento desta jornada. Agradeço por todos os ensinamentos e conselhos, pois eles foram fundamentais ao meu crescimento, tanto profissional quanto pessoal. Com certeza, é um dos exemplos que quero seguir na vida acadêmica. Muito obrigado por ter estado comigo nos momentos que eu mais precisei.

Ao prof. Dr. José Guilherme Maia, por ter aceitado me coorientar e ser sempre muito solícito às demandas do estudo. É um prazer ser contemplado com toda a sua sabedoria, experiência e humildade.

Aos profs. Drs. Bruno Pinheiro, Enéas Fontes Júnior e Marta Chagas, por toda a contribuição para o aprimoramento do trabalho. Muito obrigado por toda a ajuda e solidariedade.

Aos meus colegas de laboratório, que se tornaram amigos pessoais, Brenda, Lucas e Sarah. Muito obrigado por todo o apoio que me deram na pesquisa e no pessoal. Vocês são pessoas fantásticas, e serei eternamente grato. Tenham certeza, sempre que precisarem, podem contar comigo.

Aos estagiários e IC's, que contribuíram efetivamente nos dias de testes, bem como no auxílio dos cuidados com os animais no biotério. Muito obrigado a todos.

À técnica Rafaela e à profa. Dra. Eloísa Andrade, que contribuíram para a extração e análise fitoquímica do óleo essencial, respectivamente. Muito grato por toda a presteza e generosidade.

Ao prof. Dr. Rommel Burbano e sua equipe, que contribuíram para as avaliações da expressão de genes e dos níveis de citocinas. Eu sou grato a Deus por ter conhecido uma pessoa tão incrível.

Ao prof. Dr. Rafael Lima e aos doutorandos Jorddy Cruz e Paulo Mendes, que foram fundamentais para a análise da atividade antioxidante do óleo essencial e dos parâmetros biológicos do estresse oxidativo. Muito obrigado por serem sempre muito solícitos e parceiros.

A CAPES pelo auxílio financeiro, tanto para o projeto quanto para o pessoal.

EPÍGRAFE

“Em tudo dai graças, porque esta é a vontade de Deus em Cristo Jesus para convosco.”

1 Tessalonicenses 5:18

RESUMO

A depressão é um distúrbio de prevalência mundial, que afeta a funcionalidade e a qualidade de vida das pessoas. O óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) rico em linalol apresenta atividades sobre o sistema nervoso central (SNC), incluindo do tipo antidepressiva. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do óleo essencial em ratas adolescentes através de um modelo de depressão induzida por álcool em padrão *binge*. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e analisado por um sistema duplo de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG-DIC). A capacidade antioxidante *in vitro* do óleo essencial foi determinada no ensaio de eliminação do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•). Ratos Wistar fêmeas, com 29 dias de idade, receberam por via oral água destilada ou etanol (3 g/kg/dia) em 4 episódios de *binge* e por via intranasal solução salina ou óleo de pau-rosa (35 mg/kg) uma vez ao dia por 28 dias. Após o tratamento experimental, foram realizados os testes *splash* e nado forçado. A expressão gênica do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e S100B, os parâmetros biológicos do estresse oxidativo e os níveis de citocinas pró-inflamatórias foram determinados no córtex pré-frontal e hipocampo. O grupo OEPR+EtOH aumentou o tempo de autolimpeza e diminuiu o tempo de imobilidade, ambos de maneira significativa em comparação ao grupo EtOH nos testes *splash* e nado forçado, respectivamente. Os efeitos comportamentais do óleo essencial foram relacionados à modulação positiva de genes de BDNF e S100B, à restauração dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) e da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), além da atenuação do aumento de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF- α) induzidos pelo álcool. Os resultados sugerem que o óleo essencial melhorou o perfil depressivo induzido pelo álcool através de um mecanismo neuroprotetor ao modular positivamente a expressão gênica de fatores neurotróficos, reequilibrar o estado antioxidante e atenuar o processo inflamatório, possivelmente pela ação do linalol.

Palavras-chave: aromaterapia; *Aniba rosaeodora*; óleo essencial; pau-rosa; linalol; *binge*; anedonia; depressão.

ABSTRACT

Depression is a prevalent disorder worldwide, which affects the functionality and quality of life of the people. The linalool-rich rosewood essential oil (*Aniba rosaeodora* Ducke) displays activities on the central nervous system (CNS), including of antidepressant-type. The work aimed to evaluate the effect of the essential oil in adolescent female rats through a model of binge drinking-induced depression. The essential oil was extracted by hydrodistillation and analyzed by a dual system of gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID). The in vitro antioxidant capacity of the essential oil was determined in the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) radical scavenging assay. Female Wistar rats, 29 days old, received distilled water or ethanol (3 g/kg/day) orally in 4 binge episodes, and saline solution or rosewood oil (35 mg/kg) intranasally once a day for 28 days. After the experimental treatment, splash and forced swimming tests were performed. The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and S100B gene expression, biological parameters of the oxidative stress and levels of pro-inflammatory cytokines were determined in the prefrontal cortex and hippocampus. The OEPR+EtOH group increased self-cleaning time and decreased immobility time, both significantly compared to the EtOH group in the splash and forced swimming tests, respectively. The essential oil behavioral effects were related to positive modulation of BDNF and S100B genes, to restoration of glutathione (GSH) and Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) levels, in addition to the attenuation of the increase of thiobarbituric acid reactive species (TBARS), Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor α (TNF- α) induced by alcohol. The results suggest that essential oil improved the alcohol-induced depressive profile through a neuroprotective mechanism by positively modulating the gene expression of neurotrophic factors, rebalancing the antioxidant status and attenuating the inflammatory process, possibly due to the linalool action.

Keywords: aromatherapy; *Aniba rosaeodora*; essential oil; rosewood; linalool; binge; anhedonia; depression.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - As vias envolvidas no efeito antidepressivo do linalol.....	18
Figura 2 - Anormalidades estruturais cerebrais em pacientes depressivos	24
Figura 3 - Mecanismos fisiopatológicos relacionados aos efeitos deletérios do consumo de etanol.....	27
Figura 4 - Representação esquemática dos efeitos tóxicos (painel A) e tróficos (painéis B e C) de S100B.....	28
Figura 5 - Interações das citocinas pró-inflamatórias em outros fatores fisiopatológicos da depressão	31
Figura 6 - Anatomia nasal referente à via intranasal.....	35
Figura 7 - Voucher (painel A), folhas (painel B) e tronco (painel C) de <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke (pau-rosa).....	38
Figura 8 - Linalol.....	39
Figura 9 - Os enantiômeros (-)-linalol e (+)-linalol.....	41
Figura 10 - Representação de alvos de interação do linalol em vários fatores fisiopatológicos da depressão	44
Figura 11 - Tratamento experimental com óleo essencial de pau-rosa (OEPR) e solução de etanol (EtOH)	53
Figura 12 - Teste <i>splash</i>	55
Figura 13 - Teste do nado forçado	56
Figura 14 - Desenho experimental dos ensaios comportamentais e biológicos.....	61
Figura 15 - Cromatograma do óleo essencial de pau-rosa.....	63
Figura 16 - Efeitos do tratamento experimental no teste <i>splash</i> , parâmetro tempo de lambida/autolimpeza.....	64
Figura 17 - Efeitos do tratamento experimental no teste do nado forçado, parâmetro tempo de imobilidade.....	65

Figura 18 - Efeitos do tratamento experimental na expressão gênica de BDNF no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B).....	66
Figura 19 - Efeitos do tratamento experimental na expressão gênica de S100B no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B).....	67
Figura 20 - Efeitos do tratamento experimental nos níveis de GSH no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B)	68
Figura 21 - Efeitos do tratamento experimental nos níveis de TEAC no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B)	69
Figura 22 - Efeitos do tratamento experimental nos níveis de TBARS no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B)	69
Figura 23 - Efeitos do tratamento experimental nas concentrações de IL-1 β no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B).....	70
Figura 24 - Efeitos do tratamento experimental nas concentrações de IL-6 no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B).....	71
Figura 25 - Efeitos do tratamento experimental nas concentrações de TNF- α no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B)	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Componentes do óleo essencial de pau-rosa (%).....	63
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT _{1A}	Receptor serotoninérgico
α_2	Receptor noradrenérgico
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AKT	Proteína quinase B
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BrdU	Bromodesoxiuridina
CaMKII	Proteína quinase II dependente de cálcio-calmodulina
COX-2	Cicloxigenase 2
CRF	Fator de liberação de corticotrofina
CG-DIC	Cromatografia gasosa com detector por ionização de chama
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
e.p.m	Erro padrão médio
EtOH	Solução de etanol
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial
GSH	Glutathiona reduzida
H ₂ Odest.	Água destilada
HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-6	Interleucina-6
IL-17A	Interleucina-17A
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IFN- γ	Interferon- γ
LCR	Líquido cefalorraquidiano
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos 1
MDA	Malondialdeído

MIP-1 α	Proteína inflamatória de macrófago 1 α
NF- κ B	Fator nuclear kappa B
NMDA	N-metil-D-aspartato
NOAEC	Concentração sem efeitos adversos observáveis
NOAEL	Nível sem efeitos adversos observáveis
NOS2	Óxido nítrico sintase 2
NPCs	Células progenitoras neurais
Nrf2	Fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2
OEPR	Óleo essencial de pau-rosa
ON	Óxido nítrico
PGE2	Prostaglandina E2
qRTPCR	PCR quantitativo de transcrição reversa
RAGE	Receptor para produtos finais de glicação avançada
S100B	Proteína ligante de cálcio
SNC	Sistema nervoso central
S.S	Solução salina
SUS	Sistema Único de Saúde
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
TEAC	Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox
TLR	Receptor do tipo toll
TrkB	Receptor da tropomiosina quinase B

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Saúde mental	18
1.1.1	DEPRESSÃO.....	20
1.1.2	CONSUMO DE ÁLCOOL E DEPRESSÃO.....	25
1.2	Modelo de depressão induzida por álcool	26
1.3	Aromaterapia	32
1.3.1	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	36
1.3.2	ÓLEO ESSENCIAL DE PAU-ROSA.....	37
2	OBJETIVOS	49
2.1	Objetivo geral.....	49
2.2	Objetivos específicos.....	49
3	METODOLOGIA	51
3.1	Obtenção do material vegetal.....	51
3.2	Extração dos óleos essenciais.....	51
3.3	Análise e identificação dos componentes.....	51
3.4	Animais de experimentação.....	52
3.5	Tratamento farmacológico.....	52
3.6	Grupos experimentais.....	53
3.7	Ensaio comportamentais.....	54
3.7.1	TESTE <i>SPLASH</i>	54
3.7.2	TESTE DO NADO FORÇADO.....	55
3.8	Coleta de tecidos.....	56
3.9	Avaliação da expressão gênica de BDNF e S100B.....	57
3.10	Avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo.....	57
3.10.1	<i>IN VITRO</i>	57

3.10.2 <i>IN VIVO</i>	58
3.11 Avaliação de citocinas	60
3.12 Análise estatística	61
4 RESULTADOS	63
4.1 Análise e características do óleo essencial de pau-rosa	63
4.2 Comportamento tipo anedonia e tipo depressivo	64
4.3 Efeitos do tratamento experimental na expressão gênica de BDNF e S100B	65
4.4 Capacidade antioxidante <i>in vitro</i> do óleo essencial de pau-rosa	67
4.5 Efeitos do tratamento experimental <i>in vivo</i> nos parâmetros de estresse oxidativo	67
4.6 Efeitos do tratamento experimental nos níveis de citocinas	70
5 DISCUSSÃO	74
6 CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS	85

I INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A prevalência global de doenças que afetam a saúde mental cresceu consideravelmente nas últimas décadas (GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2022). O surgimento da pandemia de COVID-19 agravou ainda mais esse cenário, pois muitos determinantes de saúde mental foram destacados, elevando a prevalência de transtornos mentais comuns, como a depressão (GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2022). Assim, tanto a prevalência quanto a carga global de depressão tiveram um aumento significativo com o advento da pandemia, particularmente entre mulheres e jovens (COVID-19 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2021).

Vários fatores dificultam o tratamento de distúrbios do sistema nervoso central (SNC), como a falta de acesso por um elevado percentual da população mundial ao tratamento farmacológico convencional e ocorrências negativas relacionadas aos fármacos sintéticos (RATES, 2001). Assim, o emprego de óleos essenciais constitui uma das alternativas usadas para o tratamento de muitos transtornos mentais, por conta das atividades biológicas dos seus constituintes majoritários (MELO *et al.*, 2021; WHO, 2011). Além disso, diante do crítico cenário de aumento dos casos de transtornos mentais causado pela pandemia, incluindo a depressão, os óleos essenciais se tornam uma importante ferramenta terapêutica, pois além do seu uso na aromaterapia, eles são fontes para pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos (GURIB-FAKIM, 2006; ZHANG *et al.*, 2021).

A aromaterapia é uma técnica terapêutica natural realizada pela inalação, massagem e banho com óleos essenciais para a saúde e bem-estar físico, emocional e espiritual, sendo muito utilizada para tratar dores e transtornos de saúde mental, como a depressão (COOKSLEY, 1996; FREEMAN *et al.*, 2019; HER; CHO, 2021). Estudos relataram que a aromaterapia com diferentes óleos essenciais possui efeito positivo no humor e reduz sintomas de estresse, ansiedade e depressão de pacientes submetidos a métodos invasivos e desconfortáveis. Outros óleos essenciais apresentam efeitos “harmonizantes” em humanos (AGATONOVIC-KUSTRIN *et al.*, 2020; SUGAWARA *et al.*, 2013).

O óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) rico em linalol surge como potencial candidato a integrar o arsenal terapêutico para desordens emocionais, visto que estudos apontaram suas atividades sobre o SNC, incluindo a

atividade antidepressiva (SANTOS *et al.*, 2018). A figura 1 apresenta um resumo da ação do linalol, presente em teor elevado no óleo essencial de pau-rosa, sobre os fatores fisiopatológicos da depressão.

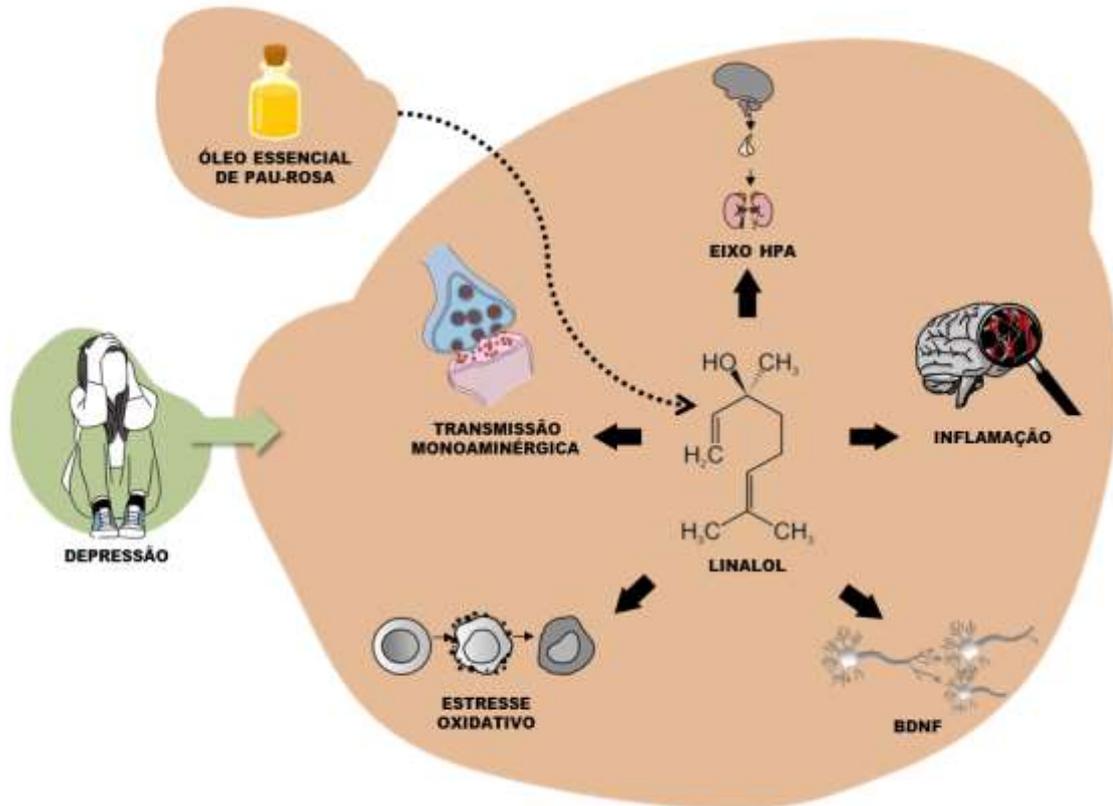


Figura 1: As vias envolvidas no efeito antidepressivo do linalol. Abreviações: BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro, HPA: hipotálamo-hipófise-adrenal.

Fonte: Modificado de Santos *et al.* (2022).

1.1 Saúde mental

O estado de bem-estar mental é caracterizado pela capacidade do indivíduo de reconhecer suas habilidades, lidar com o estresse ambiental, ser produtivo e contribuir com a sua comunidade (WHO, 2003). De forma oposta, o transtorno mental impacta negativamente no comportamento, regulação emocional ou cognição do acometido, interferindo na sua funcionalidade (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Distúrbios mentais têm sido reconhecidos como um grave problema de Saúde Pública e uma das principais causas de incapacidade, especialmente pela perda de produtividade das pessoas afetadas (TRIVEDI *et al.*, 2014).

Nas últimas décadas, os casos de transtornos mentais têm aumentado em todo o mundo, afetando cerca de 10% da população mundial e sendo responsáveis por 30% da carga global de doenças não fatais (GODOS *et al.*, 2020). No estudo de carga global de doenças realizado em 2019, os transtornos depressivos e de ansiedade permaneceram na liderança da lista de doenças mentais, com prevalência e carga de incapacidade maior que diversas outras doenças. A alta prevalência persistente desses transtornos é alarmante, pois além de prejudicarem a saúde por si só, também aumentam o risco de outros desfechos de saúde, como o suicídio (GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2022).

O baixo índice nos cuidados básicos à saúde mental, ausência de financiamento em programas de prevenção e tratamento, e o envelhecimento populacional, uma tendência demográfica global que se intensificou durante o século XXI, são alguns dos fatores responsáveis pelo aumento dos casos (CANADIAN INSTITUTE FOR HEALTH INFORMATION, 2011; UNITED NATIONS, 2015). Além desses fatores pré-existentes, o surgimento da pandemia de COVID-19 criou um ambiente em que muitos determinantes de saúde mental foram exacerbados. De acordo com pesquisas epidemiológicas, os efeitos psicológicos diretos da pandemia e seus impactos socioeconômicos de longo prazo na população mundial aumentaram a prevalência de transtornos mentais comuns (GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2022).

A pandemia criou uma crise mundial, levando mais de 6,5 milhões de pessoas a óbito e forçando bilhões ao isolamento social. As medidas de autoisolamento e quarentena aumentaram casos de depressão, ansiedade, insônia, uso nocivo de álcool e drogas ou comportamento suicida, pois mudaram o modo de vida, rotinas e meios de subsistência das pessoas (WHO, 2022).

A faixa etária de jovens e adolescentes também é considerada um fator de risco para distúrbios de saúde mental no contexto pandêmico (HOSSAIN *et al.*, 2020). Dessa forma, diversos estudos foram realizados para avaliar a prevalência de condições mentais nesse subgrupo populacional. De acordo com os dados, jovens e adolescentes do mundo todo e de diferentes origens apresentaram taxas mais altas de ansiedade e depressão durante a pandemia, sendo que o sexo feminino apresentou maior risco para esses sintomas (DUAN *et al.*, 2020; JONES; MITRA; BHUIYAN, 2021; LI *et al.*, 2021; ZHOU *et al.*, 2020). Esses últimos achados estão de acordo com estudos anteriores, reforçando ser o gênero feminino mais suscetível à

sintomatologia depressiva e ansiosa (VAN DROOGENBROECK; SPRUYT; KEPPENS, 2018).

O relatório sobre a carga global de doenças identificou os transtornos depressivos, entre eles a depressão, como os mais frequentes entre todos os problemas de saúde mental. Com o advento da pandemia, os estudos preliminares já sinalizam para o agravamento desse cenário, com projeções alarmantes para um futuro próximo (GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2022).

1.1.1 DEPRESSÃO

Os transtornos depressivos incluem duas subcategorias principais, a depressão maior e a distímia, um tipo de depressão persistente de baixa intensidade (WHO, 2017). A depressão é um distúrbio grave, comum e recorrente, que causa prejuízos psicológicos, físicos e sociais, afetando a funcionalidade e a qualidade de vida das pessoas (KESSLER; BROMET, 2013). Atualmente, sua proporção global é estimada em 3,8% e o número absoluto em 280 milhões de pessoas, com maior prevalência entre mulheres (WHO, 2023). A depressão apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade, sendo caracterizada pelo humor deprimido, perda de interesse ou prazer, sentimentos de culpa, baixa autoestima, distúrbios de sono e apetite, diminuição de energia e falta de concentração. Um episódio depressivo pode ser leve, moderado ou grave, de acordo com o número e gravidade dos sintomas (WHO, 2023).

Os estudos epidemiológicos relatam que a depressão está ligada a fatores como o gênero, a idade e o estado civil. Em relação ao gênero, as mulheres apresentam um risco duas vezes maior quando comparadas aos homens (WHO, 2023). Quanto ao estado civil, taxas mais elevadas de depressão ocorrem em indivíduos divorciados. O fator idade, porém, apresenta dados contrastantes. Em países desenvolvidos, a prevalência de depressão geralmente diminui com a idade, enquanto em países de renda média e baixa essa relação se mostrou inversa (HERRMAN *et al.*, 2022).

O curso crônico recorrente da depressão ocorre em uma proporção significativa de pacientes que buscam tratamento (HERRMAN *et al.*, 2022). A prevalência estimada da doença ao longo da vida dos acometidos é de duas a três vezes maior que a prevalência de 12 meses, e que entre um terço e metade desses

casos longevos apresentam episódios recorrentes em um determinado ano. Entretanto, esses dados ainda são subestimados, pois uma parcela dos pacientes depressivos não relatou o seu histórico de depressão em estudos transversais (HERRMAN *et al.*, 2022; MOFFITT *et al.*, 2010; PATTEN *et al.*, 2012). A terapia farmacológica antidepressiva, a psicoterapia ou sua combinação são os tratamentos mais utilizados e ambos demonstraram ser eficazes no combate a doença (LEICHSENRING *et al.*, 2016; WHO, 2023).

Mesmo antes da pandemia, a depressão já figurava como um dos transtornos mentais mais prevalentes em todo o mundo (HERRMAN *et al.*, 2022). Porém, um aumento substancial, especialmente entre mulheres e os mais jovens, foi estimado na prevalência e carga global do transtorno depressivo maior e de ansiedade pelo estudo sobre o impacto da pandemia realizado em 2020 (COVID-19 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2021). Os aumentos na prevalência estiveram associados à elevação das taxas de infecção e a redução da mobilidade humana. Esses dois indicadores de impacto do COVID-19 foram incorporados aos efeitos combinados de outros fatores, como disseminação do vírus, bloqueios, fechamento de escolas e empresas, diminuição das interações sociais, entre outros. Os países mais atingidos pela pandemia em 2020 tiveram os maiores aumentos na prevalência desses transtornos (COVID-19 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2021).

A depressão é um distúrbio complexo que provavelmente envolve uma infinidade de circuitos e, apesar de décadas de pesquisas, assim como, o impacto na carga total de doenças de saúde mental, sua etiologia e fisiopatologia ainda não estão totalmente elucidadas (BELUJON; GRACE, 2017). A patogênese da depressão apresenta causas multifatoriais, resultando da desregulação de diversos neurotransmissores e sistemas metabólicos. Nesse contexto, o envolvimento da redução de neurotransmissores monoaminérgicos ou a modificação dos seus receptores, a desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), o processo inflamatório, o estresse oxidativo e a disfunção de fatores neurotróficos têm sido historicamente apontados. Além disso, a via glutamatérgica também apresenta potencial envolvimento indireto na etiologia da doença (FERRARI; VILLA, 2017; LEONARD, 2014; VILLAS BOAS *et al.*, 2019).

De acordo com a teoria das monoaminas, as disfunções serotoninérgicas e noradrenérgicas estão intimamente relacionadas a episódios depressivos. Assim, medicamentos clássicos utilizados na prática clínica têm por objetivo farmacológico

aumentar a concentração de monoaminas na fenda sináptica, através dos inibidores da recaptação de serotonina, noradrenalina ou de ambas (CLEARE, 2004; VILLAS BOAS *et al.*, 2019). Evidências do envolvimento do sistema dopaminérgico na depressão são menos robustas. No entanto, os efeitos da dopamina estão ligados à regulação do humor, sistema recompensa e circuitos motivacionais. Por essa razão, antidepressivos específicos têm sido usados para aumentar os níveis de dopamina, inibindo sua recaptação ou agindo como agonista do receptor dopaminérgico (CAMARDESE *et al.*, 2014).

Diversas evidências também descrevem o envolvimento do estresse ambiental no desenvolvimento da depressão (PAYKEL, 2001). Vários circuitos e mediadores são compartilhados entre estresse e depressão, fato que interfere no curso clínico da doença. Portanto, a desregulação da resposta ao estresse causa alterações morfofuncionais no SNC, que pode desencadear a depressão (GOLD; MACHADO-VIEIRA; PAVLATOU, 2015). Pacientes depressivos apresentam aumento da secreção de cortisol, mecanismos disfuncionais de resposta aos glicocorticóides, aumento da secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e alteração dos níveis do fator de liberação de corticotrofina (CRF) (JESULOLA; MICALOS; BAGULEY, 2018).

A regulação positiva da inflamação na depressão também tem sido confirmada em várias investigações (PAUDEL *et al.*, 2018). Pacientes com depressão apresentam desregulação nos sinais químicos da resposta inflamatória, como o aumento da concentração de mediadores de fase aguda, aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias e seus receptores, além de altos níveis de quimiocinas e moléculas de adesão (VILLAS BOAS *et al.*, 2019). Vários processos conhecidos da fisiopatologia depressiva podem sofrer interferência da ativação central exacerbada da resposta inflamatória, incluindo estresse oxidativo, neurogênese e apoptose (BEN MENACHEM-ZIDON, 2008; GOSHEN *et al.*, 2007). Portanto, a eficácia antidepressiva dos anti-inflamatórios também foi relatada (MILLER; RAISON, 2016).

O envolvimento do estresse oxidativo com os transtornos depressivos também tem sido alvo de extensa pesquisa nos últimos anos. Diversos trabalhos destacam que o desequilíbrio oxidativo desempenha um papel fundamental na etiologia da depressão e, assim, a mesma tem sido relacionada ao aumento de radicais livres e redução da concentração de antioxidantes (WIGNER *et al.*, 2018).

Dessa maneira, pessoas acometidas pela doença apresentam baixos níveis de vitamina E, ácido úrico, albumina, glutatona e níveis alterados de catalase e superóxido dismutase (WIGNER *et al.*, 2018).

Além desses fatores fisiopatológicos já citados, a redução do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) apoia a hipótese neurotrófica da depressão. A neuroplasticidade tem sido relacionada a estímulos de estresse. Condições de estresse podem gerar mudanças nos processos neurais e na contagem de neurônios (FERRARI; VILLA, 2017). Os transtornos depressivos podem estar intimamente ligados a esse comprometimento da plasticidade estrutural e da resiliência celular, com destaque para a deficiência de fatores neurotróficos, como o BDNF e a neurotrofina-3 (MANJI; DREVETS; CHARNEY, 2001; SHARMA *et al.*, 2016).

Nas estruturas de controle do humor, como o hipocampo e o córtex pré-frontal, a transmissão sináptica é comprometida pela redução de BDNF. Além disso, a redução de BDNF também diminui a neurogênese. É importante notar que o aumento das concentrações de monoaminas gerado pelos medicamentos antidepressivos atuais estimula, através de mecanismos adaptativos, a regulação positiva do BDNF (COBB *et al.*, 2013; DUMAN, 2002; DUMAN; LI, 2012). Portanto, de acordo com as teorias monoaminérgica e inflamatória, o BDNF está envolvido com os demais fatores etiológicos relacionados à depressão (VILLAS BOAS *et al.*, 2019).

Embora várias vias estejam relacionadas ao desenvolvimento da depressão, o córtex pré-frontal e o hipocampo têm sido frequentemente implicados na fisiopatologia e progressão da doença (BELLEAU; TREADWAY; PIZZAGALLI, 2019). Estruturalmente, o hipocampo compõe o Sistema Límbico e está conectado por fibras nervosas a áreas cerebrais associadas à emoção, como o córtex pré-frontal e a amígdala. O hipocampo apresenta muitos receptores de glicocorticóides e glutamato, modulando o eixo HPA e o tornando mais propenso ao estresse e à depressão (LIU *et al.*, 2017). O córtex pré-frontal está intimamente relacionado à depressão por ser uma área cerebral de controle do comportamento, envolvido na regulação do afeto, incluindo emoções negativas, e na modulação de funções cognitivas, como a motivação, ação direcionada e controle da atenção (LIU *et al.*, 2017).

Diversos estudos meta-analíticos evidenciaram que indivíduos depressivos apresentam volumes reduzidos do hipocampo e córtex pré-frontal em comparação a controles saudáveis (figura 2) (BELLEAU; TREADWAY; PIZZAGALLI, 2019; LIU *et al.*, 2017). As reduções estruturais foram associadas a marcadores de progressão da doença, como o maior número de episódios depressivos, maior tempo de duração e ocorrência de depressão refratária. Além disso, as estimativas morfológicas foram impactadas pela utilização de antidepressivos, através do aumento dos volumes de ambas as áreas cerebrais. No entanto, a presença de outras comorbidades psiquiátricas implica em reduções volumétricas mais pronunciadas (BELLEAU; TREADWAY; PIZZAGALLI, 2019).

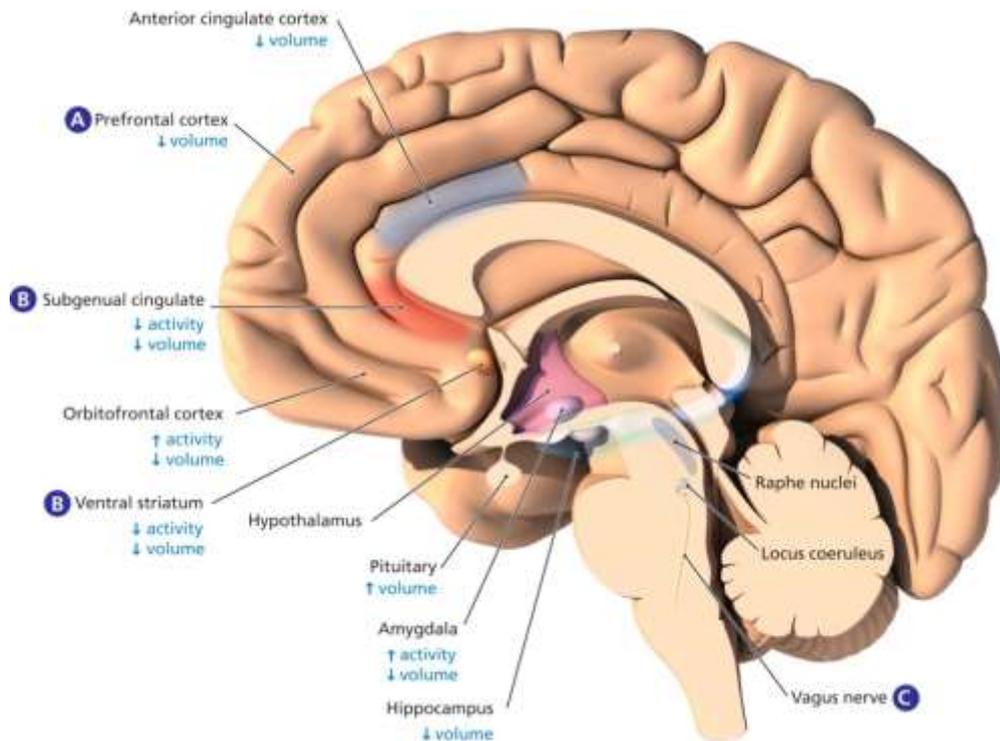


Figura 2: Anormalidades estruturais cerebrais em pacientes depressivos.
Fonte: Modificado de aan het Rot, Mathew e Charney (2009).

Os transtornos psiquiátricos, como os de ansiedade e de humor, comumente acontecem simultaneamente ao transtorno por uso de álcool. O transtorno depressivo é a condição de saúde mental mais prevalente entre indivíduos com transtorno por uso de álcool. Essa ocorrência concomitante está relacionada ao agravamento e pior prognóstico para ambos os transtornos quando comparado aos mesmos de maneira isolada, incluindo um maior risco de comportamento suicida (MCHUGH; WEISS, 2019).

1.1.2 CONSUMO DE ÁLCOOL E DEPRESSÃO

O álcool é uma das mais antigas substâncias psicoativas e se mantém como a droga neurotóxica mais utilizada pelas pessoas (BOUTROS; SEMENOVA; MARKOU, 2014). Em virtude do baixo custo, ampla disponibilidade e ser de fácil acesso, o consumo de álcool é favorecido em todo o mundo (WHO, 2014). Contudo, o seu uso abusivo é um grave problema de Saúde Pública com consequências sociais e várias complicações clínicas, como alterações comportamentais, distúrbios metabólicos e insuficiência hepática (LISDAHL *et al.*, 2013; PREEDY; WATSON, 2004). Cerca de 3 milhões de mortes por ano são atribuídas ao álcool, que está entre as principais causas de morte evitável no mundo todo (WITKIEWITZ; LITTEN; LEGGIO, 2019).

A forma mais comum do uso indevido de álcool entre adolescentes e adultos jovens é o *binge drinking* (consumo intermitente e episódico de etanol), caracterizado pelo consumo de altas doses de álcool em um curto período seguido por um período de abstinência (CREGO *et al.*, 2010; JACOBUS; TAPERT, 2013; PETIT *et al.*, 2013). Esse padrão de consumo resulta em níveis de álcool no sangue de 0,08 g/dL ou mais, geralmente alcançado após o consumo de quatro ou mais doses para mulheres ou cinco ou mais doses para homens, em um período de 2 horas (FLORES-BONILLA; RICHARDSON, 2020). Além disso, a forma de *binge* da utilização do álcool acontece, de maneira mais frequente, três dias por semana entre os adolescentes (PILATTI *et al.*, 2018). Nessa fase, a intoxicação causada pelo uso excessivo de álcool compromete as habilidades físicas e mentais dos indivíduos (FLORES-BONILLA; RICHARDSON, 2020). No Brasil, esse padrão de consumo vem aumentando entre o gênero feminino, particularmente entre os mais jovens, indicando que esse grupo passou a apresentar maiores riscos relacionado aos efeitos deletérios do álcool (FERNANDES *et al.*, 2018).

Apesar de pesquisas de grandes grupos populacionais sugerirem que a prevalência de depressão induzida pelo álcool é pequena, evidências apontam que o consumo de álcool atua como um fator de risco para a incidência de depressão, visto que pessoas com transtorno por uso de álcool em comparação as que não possuem foram 2,3 vezes mais propensas a apresentar depressão durante doze meses de análise dessa associação (GRANT *et al.*, 2004). Além disso, quase 33%

dos pacientes em tratamento para o transtorno por uso de álcool apresentaram sintomas depressivos. De fato, pacientes com transtorno por uso de álcool em tratamento apresentaram prevalência muito maior de transtorno depressivo induzido por substâncias, quando comparados com avaliações de amostras da população geral (MCHUGH; WEISS, 2019).

Estudos que avaliaram o desenvolvimento simultâneo de transtorno por uso de álcool e depressão relataram evidências mistas. Alguns trabalhos indicam que a depressão, geralmente, precede o início do transtorno por uso de álcool, enquanto outros sugerem a relação inversa. Além disso, alguns estudos descrevem que a ordem varia de acordo com o sexo, indicando que as mulheres são mais suscetíveis a ter o início de depressão mais precoce que os homens (MCHUGH; WEISS, 2019). Apesar dos estudos apresentarem dados contrastantes na avaliação concomitante entre a etiologia da depressão e o transtorno por uso de álcool, a íntima relação entre os dois distúrbios é bem estabelecida, incluindo em estudos pré-clínicos.

1.2 Modelo de depressão induzida por álcool

A administração de álcool em padrão *binge* em animais na adolescência induz comprometimentos neurocomportamentais e motores, assim como déficits cognitivos associados ao dano oxidativo em áreas centrais, como o córtex pré-frontal e o hipocampo, sendo um paradigma bem estabelecido pelo nosso grupo de pesquisa. A administração oral de álcool na dose de 3 g/kg/dia em um único episódio de *binge* alterou o tecido hepático, promoveu comprometimento motor e perfil ansiogênico em roedores. O tratamento alcoólico em 4 e 5 repetidos ciclos de *binge*, além de agravar o dano hepático, oxidativo e motor, persistir com o efeito ansiogênico e promover déficits de memória, induz perfil do tipo anedônico ao reduzir o tempo de autolimpeza no teste *splash*, e perfil do tipo depressivo ao aumentar o tempo de imobilidade no teste do nado forçado (BELÉM-FILHO *et al.*, 2018; FERNANDES *et al.*, 2018a; FERNANDES *et al.*, 2018b; LAMARÃO-VIEIRA *et al.*, 2019; NASCIMENTO *et al.*, 2020; QUEIROZ *et al.*, 2022).

Vários estudos descreveram a íntima relação do perfil depressivo induzido pelo álcool com alterações em fatores neurotróficos (BRIONES; WOODS, 2013; CALDWELL *et al.*, 2008; HAUSER *et al.*, 2011), em parâmetros do estresse oxidativo (BELÉM-FILHO *et al.*, 2018; FERNANDES *et al.*, 2018b; LAMARÃO-

VIEIRA *et al.*, 2019; NASCIMENTO *et al.*, 2020; QUEIROZ *et al.*, 2022) e em citocinas pró-inflamatórias (figura 3) (RAISON; CAPURON; MILLER, 2006).

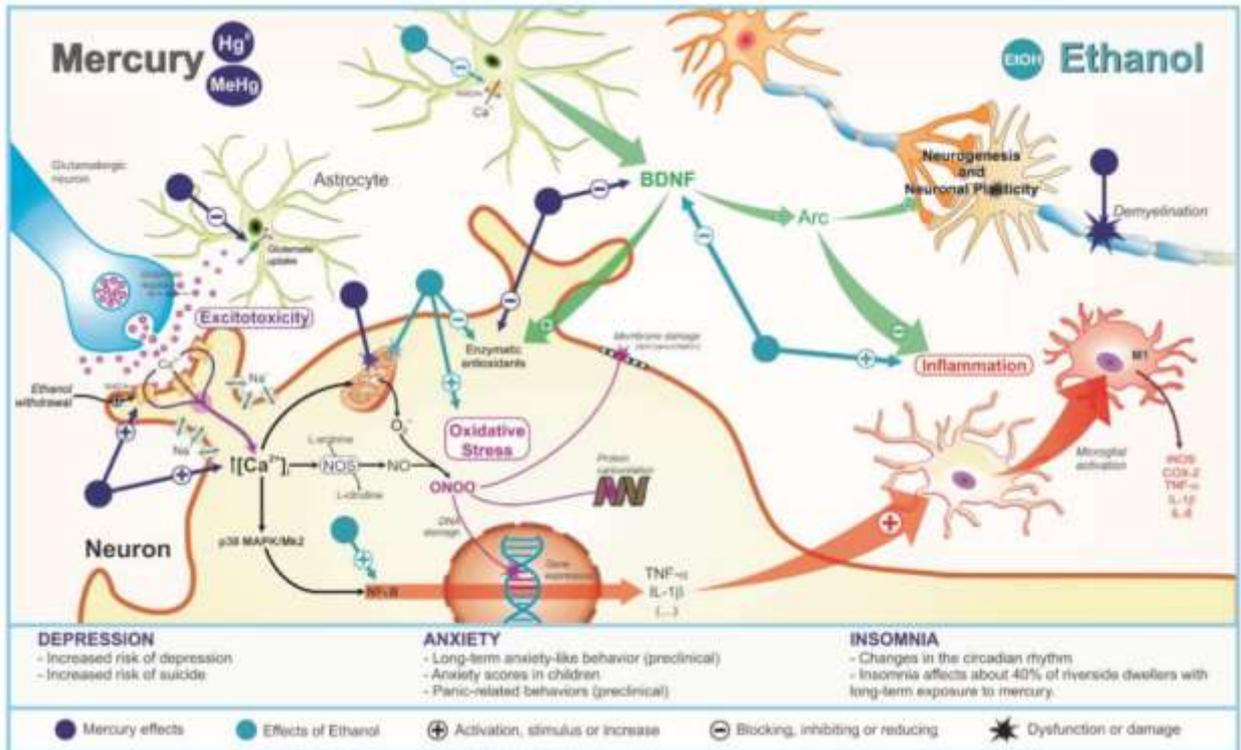


Figura 3: Mecanismos fisiopatológicos relacionados aos efeitos deletérios do consumo de etanol. Abreviações: BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro, COX-2: cicloxigenase 2, IL-1 β : interleucina-1 β , IL-6: interleucina-6, iNOS: óxido nítrico sintase induzível, MAPK: proteína quinase ativada por mitógeno, NF- κ B: fator nuclear kappa B, NMDA: N-metil-D-aspartato, NO: óxido nítrico, NOS: óxido nítrico sintase, TNF- α : fator de necrose tumoral α .

Fonte: Modificado de Luz *et al.* (2021).

Evidências têm demonstrado que a exposição ao álcool reduz a expressão de RNAm de BDNF em diferentes áreas do SNC de roedores, como o hipocampo e o córtex pré-frontal (BRIONES; WOODS, 2013; CALDWELL *et al.*, 2008; HAUSER *et al.*, 2011; MACLENNAN; LEE; WALKER, 1995; TAPIA-ARANCIBIA *et al.*, 2001). Além disso, algumas dessas investigações demonstraram que a regulação negativa de BDNF esteve associada a comportamento do tipo depressivo induzido pelo álcool (BRIONES; WOODS, 2013; CALDWELL *et al.*, 2008; HAUSER *et al.*, 2011). Briones e Woods (2013) também reportaram que a exposição ao álcool durante a adolescência reduziu a capacidade do BDNF de ativar o receptor da tropomiosina quinase B (TrkB), reduzindo também a sobrevivência e diferenciação de células progenitoras neurais (NPCs).

Além do BDNF, a proteína S100B também pode agir como fator neurotrófico. S100B é uma proteína ácida que se liga ao cálcio e influencia várias respostas celulares, sendo encontrada principalmente no tecido do SNC. Por sua atuação no tecido nervoso, a proteína tem sido investigada como um biomarcador em transtornos neuropsiquiátricos, como a depressão (KROKSMARK; VINBERG, 2018; SCHROETER *et al.*, 2013).

A atividade de S100B no SNC varia de acordo com o local e concentração. No espaço intracelular, a proteína tem efeito proliferativo, enquanto fora da célula, secretada ou vazada por lesão, o efeito pode ser trófico ou tóxico a depender da sua concentração. Em concentrações nanomolares, S100B possui atividade neurotrófica, estimulando o crescimento e a diferenciação de neurônios e astrócitos. Em concentrações micromolares, pode induzir apoptose (figura 4) (SCHROETER *et al.*, 2013).

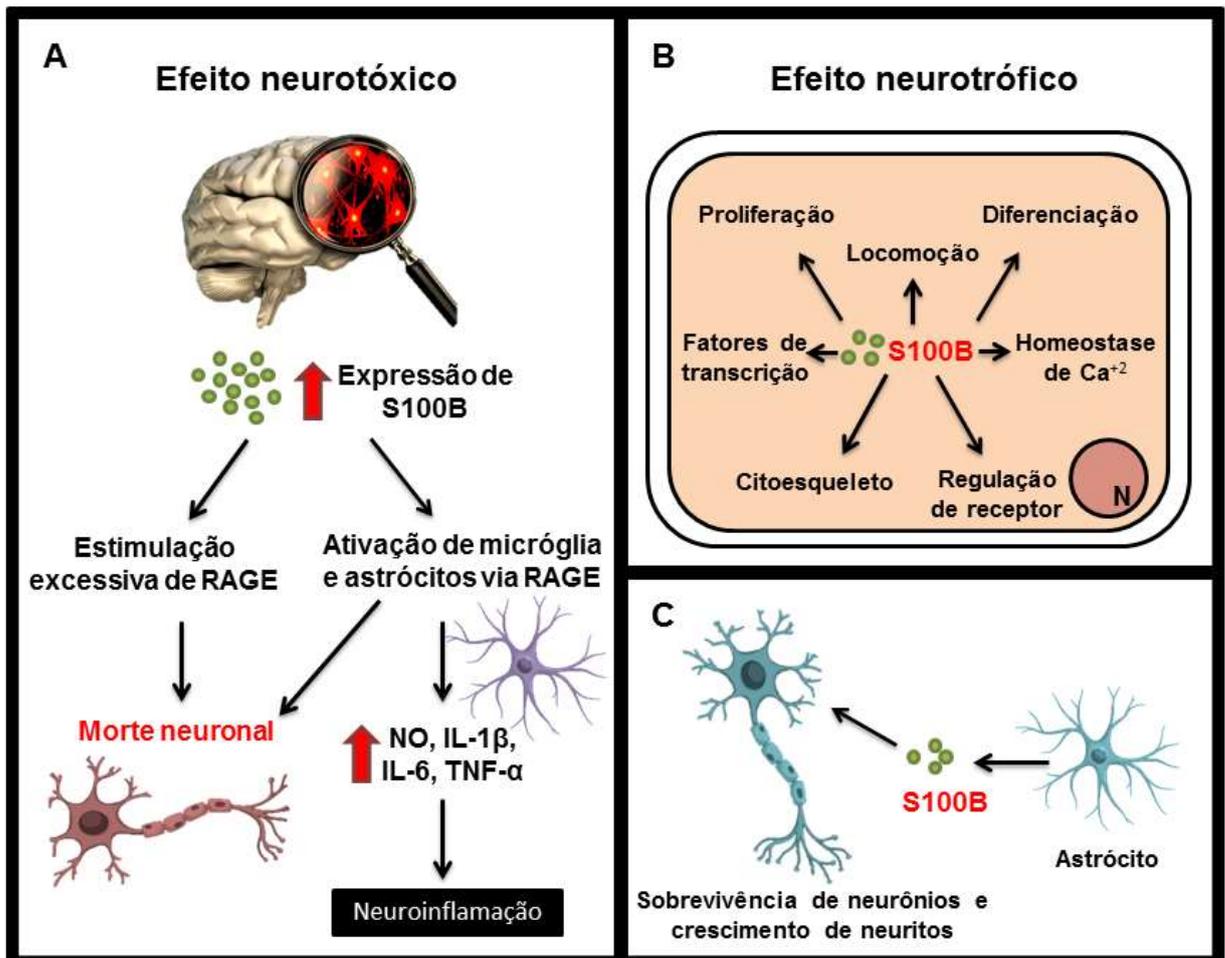


Figura 4: Representação esquemática dos efeitos tóxicos (painel A) e tróficos (painéis B e C) de S100B. Painel A: Efeito neurodegenerativo e neuroinflamatório de alta concentração extracelular de S100B; Painel B: Efeito regulador e trófico de baixa concentração intracelular de S100B; Painel C: Efeito trófico de baixa concentração extracelular de S100B. Abreviações: RAGE: receptor para

produtos finais de glicação avançada, NO: óxido nítrico, IL-1 β : interleucina-1 β , IL-6: interleucina-6, TNF- α : fator de necrose tumoral α .
Fonte: Autor.

Em estudos pré-clínicos, o aumento da expressão de S100B no hipocampo foi associado a comportamentos do tipo depressivo após o estresse crônico. Contrariamente, um trabalho descreveu a redução de S100B hipocampal em ratos adultos após estresse leve crônico, efeito que foi revertido pelo tratamento com fluoxetina (FRANKLIN; XU; DUMAN, 2018). Apesar do mecanismo pelo qual S100B induz sintomas depressivos ainda não esteja elucidado, existe uma forte relação entre a depressão e alterações centrais e periféricas de S100B em pacientes acometidos (SCHROETER *et al.*, 2013).

Abordando a influência do álcool na expressão de S100B, várias evidências surgiram através de estudos pré-clínicos de que a intoxicação alcoólica grave induz danos celulares cerebrais agudos, que pode ser a causa de altos níveis séricos de S100B observados (BRIN; BORUCKI; AMBROSCH, 2011). Além disso, há evidências de que o consumo de álcool em padrão *binge* reduz a quantidade necessária para gerar dano cerebral em ratos em desenvolvimento (FADDA; ROSSETTI, 1998).

Durante a ingestão crônica de álcool, ocorre uma modulação positiva compensatória de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) glutamatérgicos (WEDEKIND *et al.*, 2011). A exposição ao etanol e a ativação patológica desses receptores produzem neurodegeneração do hipocampo (PRENDERGAST *et al.*, 2004). A excitotoxicidade glutamatérgica e o desequilíbrio do cálcio intracelular podem elevar a expressão de S100B (VIZUETE *et al.*, 2022). Outra estreita relação de S100B acontece com o ACTH. A proteína também é secretada na hipófise após estimulação do eixo HPA e secreção de ACTH. O etanol, por sua vez, altera a atividade do eixo HPA e estimula a secreção do hormônio (RIVIER, 1996).

Altas concentrações de S100B provocam a morte neuronal de forma direta através da estimulação excessiva do receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) e indireta através da ativação dependente de RAGE da micróglia e de astrócitos, os quais liberam óxido nítrico (ON) e fatores pró-inflamatórios, como a interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF- α), contribuindo para apoptose e neuroinflamação tecidual (LANGEH; SINGH, 2021; SORCI *et al.*, 2010).

De fato, a excitotoxicidade provoca a geração de radicais livres, contribuindo para o desequilíbrio oxidativo (COLLINS; NEAFSEY, 2012). A resposta inflamatória tardia causada pelo estresse oxidativo aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio, que, por sua vez, acentuam o processo inflamatório. Dessa forma, o estresse oxidativo e a resposta inflamatória constituem as principais vias envolvidas nos comprometimentos desencadeados pelo consumo de álcool (COLLINS; NEAFSEY, 2012; DONG; WANG; QIN, 2009; TAPIA-ROJAS *et al.*, 2018).

Como já mencionado, estudos clínicos e pré-clínicos apontam o importante papel do estresse oxidativo na fisiopatologia da depressão (WIGNER *et al.*, 2018). Além disso, evidências robustas reportam que a elevação central e periférica de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , IL-6 e TNF- α , também contribui para comportamentos depressivos (RAISON; CAPURON; MILLER, 2006). A elevação dessas citocinas destacada pelo estresse oxidativo, que ocorre pela ativação de vias de transdução através de receptores do tipo toll (TLR), incluindo a via do fator nuclear kappa B (NF- κ B), altera o metabolismo da serotonina, noradrenalina e dopamina em áreas do SNC importantes para a regulação emocional, psicomotora e recompensa, estimula hormônios do eixo HPA, como o CRF, além de comprometer fatores neurotróficos, como o BDNF (figura 5) (RAISON; CAPURON; MILLER, 2006).

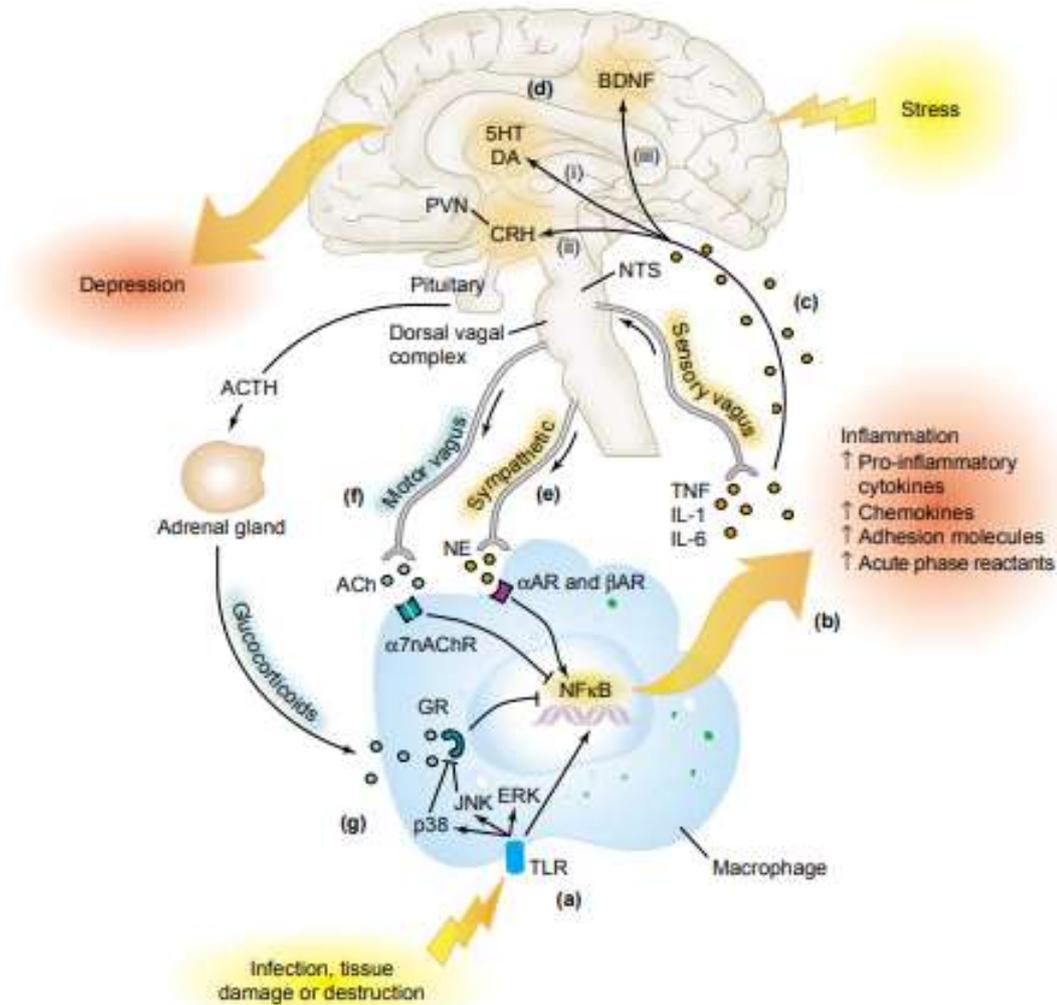


Figura 5: Interações das citocinas pró-inflamatórias em outros fatores fisiopatológicos da depressão. Abreviações: 5-HT: serotonina, ACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ACh: acetilcolina, BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro, CRH: hormônio liberador de corticotrofina, DA: dopamina, GR: receptores de glicocorticoides, IL-1: interleucina-1, IL-6: interleucina-6, MAPK: proteína quinase ativada por mitógeno, NF-κB: fator nuclear kappa B, NE: noradrenalina, PVN: núcleo paraventricular, TLR: receptor do tipo toll, TNF-α: fator de necrose tumoral α.

Fonte: Modificado de Raison, Capuron e Miller (2006).

As citocinas acessam o SNC e aumentam a síntese de mediadores inflamatórios locais, como a cicloxigenase 2 (COX-2), prostaglandina E2 (PGE2), ON, além de outras citocinas e quimiocinas, estando também associadas ao desequilíbrio oxidativo (FELGER; LOTRICH, 2013). Evidências apontam que essas citocinas podem reduzir a função do transportador vesicular de monoaminas 2, aumentar a expressão dos transportadores de serotonina e dopamina, com aumento da recaptação na fenda sináptica, induzir a síntese da enzima indoleamina 2,3-dioxigenase, que degrada o triptofano, principal precursor da serotonina, e interferir na sinalização do receptor TrkB, reduzindo BDNF (FELGER; LOTRICH, 2013; NG *et al.*, 2018).

O protocolo de exposição alcoólica em padrão *binge* induz um desequilíbrio bioquímico oxidativo caracterizado, entre outros, pela alteração nos níveis de malondialdeído (MDA), glutatona reduzida (GSH) e na capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) (FERNANDES *et al.*, 2018b; LAMARÃO-VIEIRA *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2022). O MDA é um importante biomarcador relacionado à peroxidação lipídica dos ácidos graxos de fosfolipídios da membrana plasmática, que reagem com o oxigênio produzindo hidroperóxidos lipídicos (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014). A glutatona, um indicador do estado redox celular, apresenta várias funções antioxidantes, atuando como cofator das glutatonas peroxidases, as quais reduzem o peróxido de hidrogênio e os hidroperóxidos lipídicos (CHA *et al.*, 2017). O TEAC é um ensaio que avalia a capacidade antioxidante total e tem por objetivo principal inibir reações de lipoperoxidação (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

A administração de álcool em padrão *binge* também foi responsável pelo aumento de citocinas e mediadores pró-inflamatórios, como óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e COX-2 no córtex pré-frontal de camundongos adultos jovens tratados na adolescência (MONTESINOS *et al.*, 2015), e de interleucina-17A (IL-17A), IL-1 β , proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), proteína inflamatória de macrófago 1 α (MIP-1 α) e fractalcina no córtex pré-frontal de camundongos fêmeas adolescentes (PASCUAL *et al.*, 2017). Estudos em modelos animais e humanos também revelaram que o protocolo aumenta a expressão de TLRs, TNF- α , IL-1 β e alarminas em diferentes regiões do cérebro adolescente (PASCUAL; MONTESINOS; GUERRI, 2018). O modelo animal de exposição alcoólica em padrão *binge* é uma ferramenta importante para avaliar os efeitos deletérios do etanol, incluindo a indução de comportamentos do tipo depressivo, no atual cenário dos problemas de saúde mental.

Devido à elevação progressiva de transtornos mentais nas últimas décadas, seguido do agravamento dos indicadores de saúde mental gerados pela pandemia, além das dificuldades de acesso aos tratamentos convencionais, houve o aumento do interesse por recursos terapêuticos de práticas integrativas e complementares, como a aromaterapia, que possam prevenir e recuperar tais distúrbios, incluindo a depressão (BARNETT *et al.*, 2021; ÖZLÜ *et al.*, 2022).

1.3 Aromaterapia

Várias condições dificultam o tratamento dos transtornos de saúde mental, como fatores negativos relacionados aos fármacos sintéticos, incluindo a ocorrência de reações adversas e terapia ineficaz, o uso incorreto ou abuso de medicamentos e pela falta de acesso ao tratamento farmacológico clássico por um grande percentual da população mundial. Nesse contexto, as terapias alternativas e o uso terapêutico de bioativos naturais, especialmente dos derivados de plantas, constituem a primeira grande ferramenta para o tratamento de muitas doenças (MELO *et al.*, 2021; RATES, 2001; WHO, 2011).

A Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares foi instituída no Sistema Único de Saúde (SUS) pela portaria Nº 971, de 3 de maio de 2006 (BRASIL, 2006). A partir das Portarias Nº 849, de 27 de março de 2017 e Nº 702, de 21 de março de 2018, o Ministério da Saúde expandiu suas políticas nacionais de práticas integrativas e complementares em saúde no âmbito do SUS, e nesse sentido, a aromaterapia passou a compor a lista de procedimentos disponibilizados entre 24 novas práticas integrativas (BRASIL, 2017; BRASIL, 2018).

A aromaterapia é uma prática complementar em crescente expansão no mundo todo, movimentando anualmente cerca de 30 bilhões de dólares nos Estados Unidos, e com expectativa de crescimento para 5 trilhões de dólares para o mercado global até 2050 (FARRAR; FARRAR, 2020). No entanto, suas aplicações atuais remontam a proposições realizadas no século passado, quando René Gattefossé, um químico e perfumista francês, elaborou o termo aromaterapia e publicou um livro com o mesmo nome (GATTEFOSSE, 1993). Esta prática é definida como o uso terapêutico de óleos essenciais de plantas aromáticas, realizada por inalação, massagem ou banho para a saúde e bem-estar físico, emocional e espiritual, integrando o campo maior da fitoterapia, e sendo muito utilizada para aliviar dores e transtornos psiquiátricos, incluindo ansiedade e depressão (COOKSLEY, 1996; FREEMAN *et al.*, 2019).

Através do trato respiratório e da pele, os componentes voláteis acessam o corpo humano, interagindo com o sistema límbico e regulando a sinalização para o hipotálamo (HER; CHO, 2021). Pela inalação, os constituintes dos óleos essenciais provocam sinalizações no sistema olfatório e estimulam a liberação de neurotransmissores, como serotonina e dopamina pelo SNC, melhorando, assim, sintomas de transtornos mentais, incluindo a depressão (LV *et al.*, 2013).

De fato, a via intranasal é estrategicamente importante, possuindo certas vantagens em detrimento da via oral e intraperitoneal, sendo um método não invasivo que fornece transporte rápido e direto de compostos para o SNC, envolvendo possivelmente o nervo olfatório, além da via sistêmica (PARDESHI; BELGAMWAR, 2013). A anatomia e fisiologia nasal contribuem para o mecanismo de transporte de substâncias da cavidade nasal para o cérebro (LOCHHEAD; THORNE, 2012).

A região olfatória constitui apenas 3 a 5% da área total de superfície da cavidade nasal, mas tem papel importante relacionado à administração de medicamentos intranasais (ILLUM, 2004). Os axônios de neurônios sensoriais olfatórios penetram a camada epitelial basal e convergem com axônios adicionais para formar feixes na lâmina própria subjacente. O nervo olfatório, então, atravessa a placa cribiforme do osso etmóide para entrar na cavidade craniana e fazer sinapse no bulbo olfatório. Assim, a informação olfativa é enviada a várias áreas do SNC, como o núcleo olfatório anterior, tubérculo olfatório, córtex piriforme, amígdala e córtex entorrinal (figura 6) (LOCHHEAD; THORNE, 2012; PETERSON *et al.*, 2014).

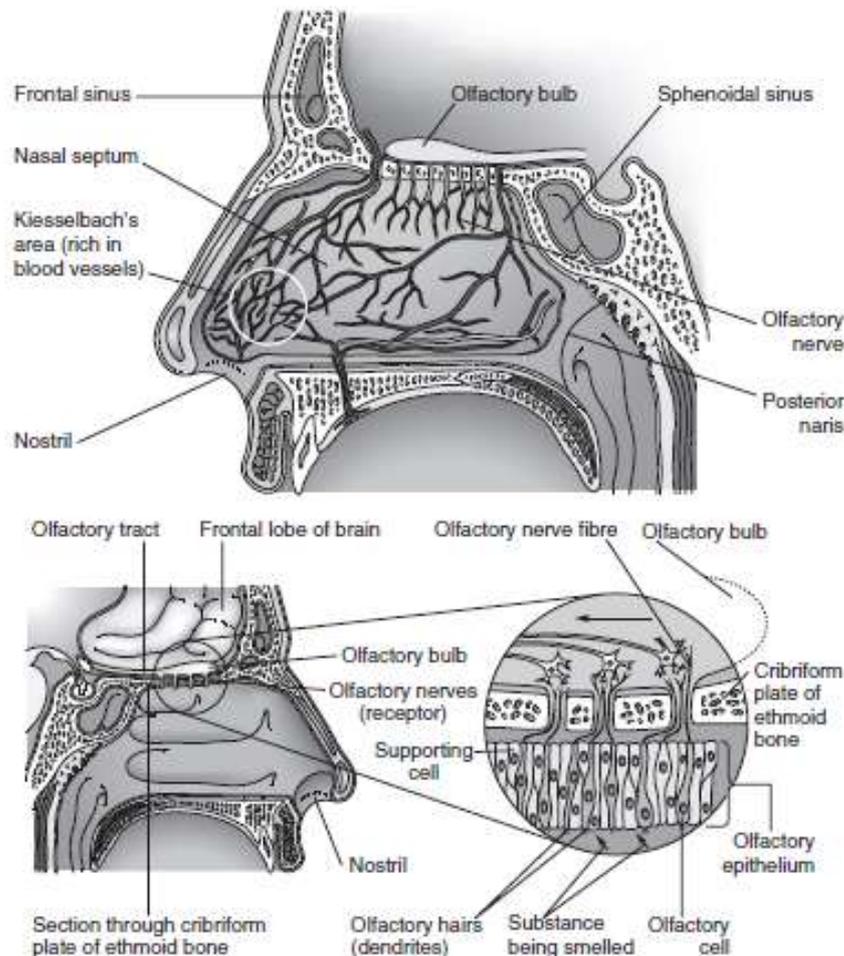


Figura 6: Anatomia nasal referente à via intranasal.
Fonte: Carson (2015).

Os mecanismos e vias específicas que moléculas utilizam para atravessar o epitélio nasal em direção ao SNC não são totalmente esclarecidos. Alguns estudos sugerem que a passagem ocorre através do nervo olfatório do epitélio nasal para o bulbo olfatório. Para que substâncias acessem locais centrais após administração intranasal, é necessário o transporte através de barreiras epiteliais, transporte da mucosa nasal para locais próximos da superfície cerebral pial e dispersão para outras regiões do SNC (LOCHHEAD; THORNE, 2012). A relação anatômica peculiar entre a cavidade nasal e o encéfalo fornece uma via direta para que compostos contornem a barreira hematoencefálica e acessem o SNC (LOCHHEAD; THORNE, 2012; PETERSON *et al.*, 2014). Além disso, por conta da lipofilicidade, os constituintes dos óleos essenciais são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica e interagir com o SNC (BAGETTA *et al.*, 2010; ORAFIDIYA *et al.*, 2004).

Desse modo, diversos estudos foram realizados demonstrando o efeito da aromaterapia sobre fatores físicos, mentais e psicológicos humanos através da elevação do humor, redução do estresse, estimulação do relaxamento muscular e melhora da qualidade do sono (ALI *et al.*, 2015; HER; CHO, 2021; SMITH; KYLE, 2008). Outras investigações descreveram que a aromaterapia baseada nos óleos essenciais de lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), bergamota (*Citrus bergamia* Risso) e laranja (*Citrus sinensis* L.) promoveu a regulação do humor e reduziu a sintomatologia do estresse, ansiedade e depressão de pacientes submetidos a cirurgias, métodos invasivos, exames endoscópicos, hemodiálise e procedimentos odontológicos. Além disso, a inalação dos óleos essenciais de *ylang ylang* (*Cananga odorata* Hook.), hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.) e hortelã (*Mentha spicata* L.) por humanos apresentou efeitos “harmonizantes” (AGATONOVIC-KUSTRIN *et al.*, 2020; SUGAWARA *et al.*, 2013).

Com o quadro de prevalência e expectativa de aumento, principalmente após o surgimento da pandemia do COVID-19, além do impacto sobre a morbidade e mortalidade, especialmente entre mulheres e jovens, da carga global de transtornos mentais torna-se fundamental a inclusão de práticas integrativas e complementares no rol de procedimentos ofertados aos pacientes (BARNETT *et al.*, 2021; ÖZLÜ *et al.*, 2022). Além disso, diante desse contexto, tão fundamental quanto à inserção de tratamentos complementares é a investigação e descoberta de novos compostos capazes de interagir com o SNC. Assim, os óleos essenciais se destacam, pois além da sua utilização na aromaterapia, eles são possíveis fontes para pesquisas e desenvolvimento de novos medicamentos que possam auxiliar no tratamento dos transtornos mentais, como a depressão (GURIB-FAKIM, 2006; ZHANG *et al.*, 2021).

1.3.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são líquidos oleosos e hidrofóbicos altamente concentrados formados por compostos complexos, voláteis e naturais, caracterizados por forte odor, e são produzidos por plantas aromáticas como metabólitos secundários (SATTAYAKHOM; WICHIT; KOOMHIN, 2023; WANI *et al.*, 2021). São obtidos de diferentes partes do material vegetal, como raízes, frutas, madeira, cascas, galhos, folhas, sementes, brotos, rizomas, flores e, em certas espécies botânicas, de toda a planta. Os óleos essenciais são armazenados em

células secretoras, canais, cavidades, células epidérmicas ou tricomas glandulares, e são extraídos geralmente por técnicas de arraste a vapor ou hidrodestilação (SATTAYAKHOM; WICHIT; KOOMHIN, 2023; WANI *et al.*, 2021).

Terpenóides e fenilpropanóides são os constituintes voláteis presentes nos óleos essenciais, determinando suas características organolépticas e diversas propriedades biológicas. A variação de odor e sabor dos óleos essenciais depende de vários fatores, incluindo o tipo vegetal, localização geográfica, época de colheita, métodos de secagem e técnicas envolvidas na extração (SATTAYAKHOM; WICHIT; KOOMHIN, 2023).

Historicamente, os óleos essenciais têm sido usados na medicina tradicional por suas propriedades observadas na natureza, como as atividades antibacteriana, antifúngica e inseticida. A partir do século XIX, também houve o aumento da sua utilização como ingredientes de aroma e sabor. Cerca de 300 óleos essenciais dentre três mil conhecidos são comercialmente importantes, particularmente para as indústrias farmacêutica, alimentícia, agrônômica, sanitária, cosmética e de perfumaria (WANI *et al.*, 2021).

Estudos relataram as inúmeras propriedades biológicas dos óleos essenciais, que incluem atividades sobre o SNC, como aliviar o estresse, reduzir a ansiedade e tratar a depressão (RAMSEY *et al.*, 2020). Nesse sentido, o óleo essencial de pau-rosa (OEPR) (*Aniba rosaeodora* Ducke, Lauraceae) é utilizado na medicina tradicional amazônica, entre outras propriedades, por seus efeitos anticonvulsivante e antidepressivo (LAWLESS, 2002; PRICE; PRICE, 1999).

1.3.2 ÓLEO ESSENCIAL DE PAU-ROSA

A família Lauraceae é considerada a mais diversa em plantas lenhosas, sendo conhecidas cerca de 50 gêneros e 2.500 a 3.000 espécies distribuídas em latitudes tropicais e subtropicais (XAVIER *et al.*, 2021). O gênero *Aniba* é um membro dessa família e apresenta grande valor ecológico e econômico (CONTIM *et al.*, 2005). O alto valor econômico se dá por conta do óleo essencial encontrado em grande quantidade principalmente no lenho das espécies do gênero (MARQUES, 2001). É constituído por 48 espécies neotropicais que ocorrem na América central e América do Sul, com mais de 50% localizadas na Amazônia brasileira (MABBERLEY, 1990; XAVIER *et al.*, 2021). Após séculos de exploração

desordenada na região amazônica e o grande interesse comercial que o gênero *Aniba* desperta, várias espécies estão extintas ou em perigo de extinção, a exemplo da *Aniba rosaeodora* Ducke (figura 7) (ALCÂNTARA *et al.*, 2010).

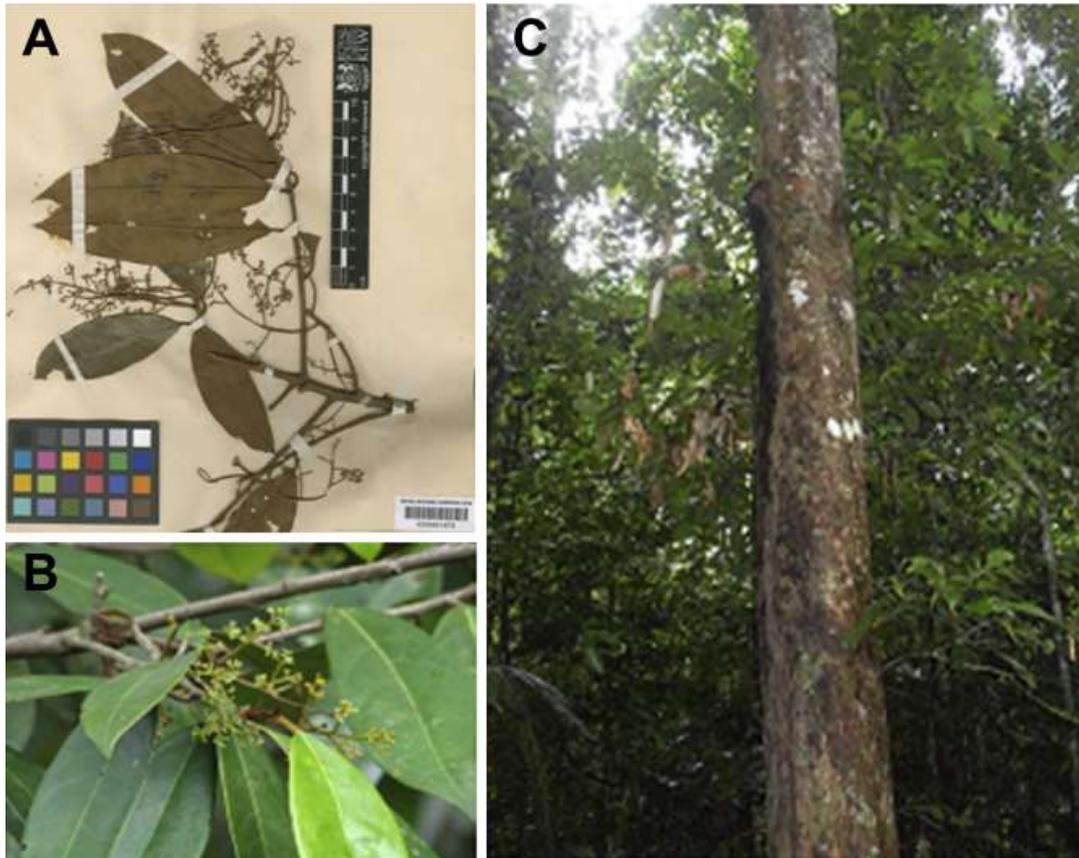


Figura 7: Voucher (painel A), folhas (painel B) e tronco (painel C) de *Aniba rosaeodora* Ducke (pau-rosa).

Fonte: Flora e Funga do Brasil (2023) (painel A); modificado de Preedy (2015) (painéis B e C).

Esta espécie possui os nomes vernáculos no Brasil de pau-rosa, pau-rosaitaúba, pau-rosa-mulatinho e pau-rosa-imbaúba. Na Guiana Francesa e França é denominada de *bois de rose femelle*, na Guiana de cara-cara, no Suriname de *enclit rosenhout* e nos Estados Unidos e Inglaterra de *rosewood*. Além disso, na região amazônica, ela também é conhecida como o “verdadeiro pau-rosa” (SAMPAIO; FERRAZ; CAMARGO, 2003).

O pau-rosa é uma árvore perene encontrada predominantemente em áreas de terra firme úmida, mas também está presente em áreas de campinarana, com preferências por platôs e nascentes de igarapés. Possui uma distribuição geográfica ampla, ocorrendo em toda a bacia amazônica, incluindo os estados brasileiros do Acre, Amapá, Amazonas, Pará e Roraima, além das porções amazônicas da Guiana, Venezuela, Peru e Colômbia (PREEDY, 2015). Sua árvore caracteriza-se por ser de grande porte, em que suas dimensões podem atingir os 30 metros de

altura por 2 metros de diâmetro. Além disso, possui tronco reto, cilíndrico e uma casca pardo-amarelada ou avermelhada que se desprende facilmente em grandes placas. A sua copa estreita ou ovalada ocupa o dossel superior ou intermediário da floresta (PREEDY, 2015; SAMPAIO; FERRAZ; CAMARGO, 2003).

Possui grande importância econômica no mercado internacional, especialmente para a indústria de cosméticos, devido à extração do seu óleo essencial constituído majoritariamente por linalol (80-97%), o qual é utilizado como constituinte de perfumes (figura 8). Embora o linalol esteja presente em todas as partes da árvore, o óleo essencial é extraído geralmente da madeira (LAWLESS, 2002; LETIZIA *et al.*, 2003). Nas últimas décadas, as exportações do óleo têm declinado. Vários fatores contribuem para essa redução, incluindo fontes vegetais em estado de exaustão, altos custos de logística e produção, regulamentações governamentais mais rigorosas e o comércio do linalol sintético produzido pela indústria (MAIA *et al.*, 2007).

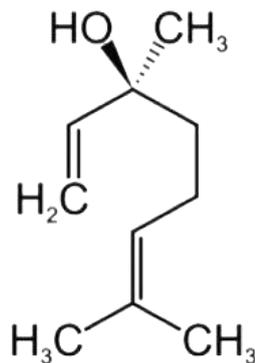


Figura 8: Linalol.

Fonte: Modificado de Santos *et al.* (2022).

Na medicina tradicional, o óleo de pau-rosa é usado como analgésico, antimicrobiano, antisséptico, bactericida, anticonvulsivante, antidepressivo, afrodisíaco, regenerador de tecidos, tônico e contra a insônia (LAWLESS, 2002; PRICE; PRICE, 1999). Com base nos relatos da utilização etnofarmacológica do óleo foram realizadas investigações a respeito das suas atividades biológicas. Os estudos relataram que o OEPR apresentou potencial ação anticancerígena ao induzir seletivamente apoptose em células pré-cancerosas e cancerosas de pele (SOEUR *et al.*, 2011), quando também induziu sedação e atuou na inibição do potencial de ação composto em roedores (ALMEIDA *et al.*, 2009) e na inibição da adenilato-ciclase na retina de pinto (SAMPALIO *et al.*, 2012). O OEPR rico em linalol

também induziu bradicardia vaso-vagal e reflexo depressor em ratos (SIQUEIRA *et al.*, 2014). Além disso, demonstrou efeito anestésico eficaz em peixes, com rápida indução e recuperação (KIZAK *et al.*, 2018).

O nosso grupo de pesquisa investiga a atividade sobre o SNC de óleos essenciais da Amazônia desde 2016. No estudo intitulado “Linalool-rich essential oils from the Amazon display antidepressant-type effect in rodents”, óleos essenciais de espécies aromáticas da Amazônia, ricos em linalol, que inclui o OEPR, apresentaram atividade do tipo antidepressiva em modelos comportamentais clássicos por conta desse constituinte majoritário (SANTOS *et al.*, 2018). Uma simples administração intraperitoneal do OEPR (35 mg/kg) ou do padrão linalol (30 mg/kg) em ratos adultos aumentou o tempo de autolimpeza no teste *splash* e reduziu o tempo de imobilidade no teste do nado forçado (SANTOS *et al.*, 2018).

O linalol (C₁₀H₁₈O), também denominado 3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol, é um monoterpeno acíclico, álcool terciário e constituinte volátil majoritário de óleos essenciais de inúmeras espécies de plantas aromáticas, representando cerca de 70% do total de terpenóides desses vegetais (STASHENKO; MARTINEZ, 2008). O composto está presente nos óleos essenciais de mais de 200 espécies de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas de diferentes famílias, amplamente distribuídas no mundo todo (APROTOSOAIÉ *et al.*, 2014). Fatores como clima, época de colheita, órgão vegetal, técnica de extração e fatores abióticos, que determinam o quimiotipo da espécie, podem influenciar a concentração de linalol na composição dos óleos essenciais de plantas aromáticas (PEREIRA *et al.*, 2018).

Além do pau-rosa (MAIA *et al.*, 2007; MAIA; MOURÃO, 2016), as principais fontes naturais de linalol também compreendem a macacaporanga (*Aniba parviflora* [Meiss.] Mez), outra espécie de Lauraceae da Amazônia, com teor de 32% a 40% no seu óleo essencial (TRANCHIDA *et al.*, 2008; MAIA; MOURÃO, 2016), e a caatinga-de-mulata (*Aeollanthus suaveolens* Matt. ex Spreng., Lamiaceae) com teor entre 31,6% e 49,3% (MAIA; ZOGHBI; ANDRADE, 2003). Fontes naturais importantes de linalol também incluem o óleo de coentro (*Coriandrum sativum* L., Apiaceae), óleo de lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill., Lamiaceae), e os óleos quimiotípicos de manjerição (*Ocimum basilicum* L., Lamiaceae) e das espécies *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl e *C. osmophloeum* Kaneh (SANTOS *et al.*, 2022).

O grupo hidroxila funcionaliza a molécula do linalol, a qual possui baixo peso molecular. Por conta do grupo funcional álcool em sua estrutura química, o linalol

apresenta certa polaridade e se torna quimicamente mais reativo. A estrutura apolar do hidrocarboneto torna o composto pouco solúvel em água, entretanto, muito solúvel em óleos fixos, propilenoglicol e solventes orgânicos (ILC *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2018). O linalol é passível de modificações químicas, como oxidação, glicosilação, esterificação e metilação. A transformação secundária mais comum é a oxidação, que gera óxidos de linalol furânicos ou pirânicos, frequentemente presentes em aromas florais, vinhos e mamão (ILC *et al.*, 2016; RAGUSO, 2016).

O linalol em temperatura ambiente é um líquido aromático incolor ou levemente amarelado. O monoterpene possui um odor refrescante, descrito como uma mistura de aromas florais e amadeirados, similar ao óleo de bergamota ou lavanda francesa (API *et al.*, 2022). Por conta das propriedades quirais do carbono terciário hidroxilado, dois enantiômeros ocorrem na natureza: o (3S)-(+)-linalol (coriandrol) e o (3R)-(-)-linalol (licareol) (figura 9). Os enantiômeros do linalol apresentam diferentes fragrâncias, sendo o coriandrol relatado como doce, floral e herbáceo, enquanto o licareol tem um aroma do tipo lavanda. Portanto, o linalol é uma mistura racêmica que também é encontrada em algumas frutas, a exemplo do maracujá e damasco (APROTOSOAIE *et al.*, 2014).

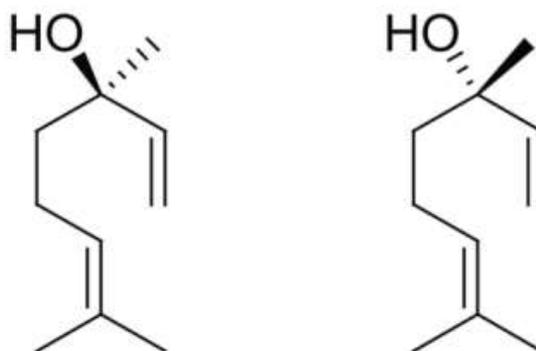


Figura 9: Os enantiômeros (-)-linalol e (+)-linalol.
Fonte: Camargo e Vasconcelos (2014).

Baseado nos dados de parâmetros para a saúde, o linalol não é alérgico e não promove efeito de sensibilização na pele. Entretanto, os produtos da auto-oxidação do linalol são alérgenos de contato (API *et al.*, 2022; APROTOSOAIE *et al.*, 2014). De acordo com a Associação Internacional de Fragrâncias, o linalol somente é adequado para uso com níveis de peróxido até 20 mmol/L, sendo recomendada a adição de um antioxidante durante a produção (API *et al.*, 2022). O monoterpene

não apresenta fototoxicidade e genotoxicidade. Em relação à toxicidade reprodutiva do linalol em animais, o nível sem efeitos adversos observáveis (NOAEL) para o desenvolvimento é de 1000 mg/kg/dia, enquanto para a fertilidade é de 750 mg/kg/dia. Baseado no peso de ratos avaliados, os dados de toxicidade de dose repetida revelaram um NOAEL de 250 mg/kg/dia em um estudo de toxicidade dérmica (API *et al.*, 2022; APROTOSOAIÉ *et al.*, 2014). Em um estudo que avaliou a toxicidade de fitoconstituintes *in silico*, o linalol apresentou efeito de sensibilização da pele, hepatotoxicidade e toxicidade de desenvolvimento em modelos computacionais (DANIYAN *et al.*, 2021).

As evidências da toxicidade por via inalatória do linalol são escassas. As poucas realizadas relatam condições genéricas. Em uma dessas investigações, a inalação de 20 a 50 mg de linalol por 1 hora (volume do aparato não informado) reduziu a motilidade de camundongos em 73%. Nenhuma morte foi relatada para as concentrações avaliadas (BUCHBAUER *et al.*, 1993). Anteriormente, a inalação de 27 mg de linalol em uma caixa de 8,4 litros de volume, aproximadamente 3.200 mg/m³, por 90 minutos também reduziu a motilidade sem causar nenhuma morte (BUCHBAUER *et al.*, 1991). Portanto, a CL50 foi determinada como sendo maior que 3,2 mg/L, embora a toxicidade aguda por inalação do linalol não esteja disponível no relatório OECD 403 (*Organisation for Economic Cooperation and Development*) (EUROPEAN CHEMICALS AGENCY, 2023).

Em outro estudo, uma concentração sem efeitos adversos observáveis (NOAEC) de 63 mg/m³ de linalol inalado por 2 semanas foi relatada para ratos. Os efeitos do tratamento foram limitados a achados microscópicos não adversos na cavidade nasal e a inflamação e alterações epiteliais na mucosa nasal foram similares entre os grupos controle e o exposto ao tratamento (API *et al.*, 2022). Esse NOAEC expresso em mg/kg de peso pulmonar/dia para ratos é de 2.412,5 mg/kg/dia (API *et al.*, 2022). Além disso, a dose intranasal de 25 mg/kg de linalol administrada em ratos a cada 24h por um mês através de um nebulizador não causou mortes por toxicidade (BARRERA-SANDOVAL; OSORIO; CARDONA-GOMEZ, 2019). É importante ressaltar que esses estudos utilizaram o vapor de linalol na administração dos animais.

Plantas aromáticas ricas em linalol são usadas na medicina tradicional para aliviar sintomas de várias condições de saúde, como dos transtornos neuropsiquiátricos (ELISABETSKY; MARSCHNER; SOUZA, 1995; JIA *et al.*, 1999).

Por conta do uso tradicional, diversas investigações utilizando ensaios *in vitro* e *in vivo* foram realizadas. Muitas evidências apontaram as atividades do linalol sobre o SNC, incluindo efeito anticonvulsivante, sedativo, ansiolítico e antidepressivo (APROTOSOAIE *et al.*, 2014; HOSSEINI; BOSKABADY; KHAZDAIR, 2021; PEREIRA *et al.*, 2018; WESTON-GREEN; CLUNAS; JIMENEZ NARANJO, 2021).

O efeito anticonvulsivante do linalol foi relatado em modelos de convulsões relacionadas ao glutamato (ELISABETSKY; BRUM; SOUZA, 1999), e dos enantiômeros e do racemato através de crises induzidas por pentilenotetrazol e picrotoxina em camundongos (SOUSA *et al.*, 2010). O mecanismo de ação anticonvulsivante proposto se dá pela interação direta do linalol com receptores NMDA (BRUM; ELISABETSKY; SOUZA, 2001).

A atividade sedativa do linalol é outra propriedade bioativa bem documentada. Óleos essenciais ricos em linalol, como o de pau-rosa e o da espécie *Litsea glaucescens* Kunth, bem como o padrão linalol exibiram efeitos sedativos em roedores (ALMEIDA *et al.*, 2009; GUZMAN-GUTIERREZ *et al.*, 2012; LINCK *et al.*, 2009). Em outro protocolo, a administração intracerebroventricular do óleo de coentro e do linalol promoveram atividade sedativa similar em pintos recém-nascidos (GASTON *et al.*, 2016).

A ação ansiolítica do linalol também possui diversos relatos. Em testes comportamentais clássicos, a inalação de linalol apresentou efeito do tipo ansiolítico, sem induzir o mesmo efeito em animais anósmicos (HARADA *et al.*, 2018), além de ter aumentado a interação social e reduzido o comportamento agressivo dos animais (LINCK *et al.*, 2010). Além disso, o flumazenil bloqueou o efeito do linalol, indicando sua interação com a transmissão GABAérgica (HARADA *et al.*, 2018). Outros trabalhos descreveram a ação do tipo ansiolítica de óleos ricos em linalol (*Cinnamomum osmophloeum* Kaneh e *Lavandula angustifolia* Mill.), dos enantiômeros e da mistura racêmica do composto (CAPUTO *et al.*, 2018; CHENG; SHEEN; CHANG, 2014).

Nos últimos anos, evidências da atividade antidepressiva do linalol passaram a ser cada vez mais robustas, relatando a interação do monoterpene com alvos em vários fatores fisiopatológicos relacionados à depressão (figura 10) (PEREIRA *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2022; WESTON-GREEN; CLUNAS; JIMENEZ NARANJO, 2021). Trabalhos reforçaram o papel das monoaminas ao descreverem o

envolvimento da atividade antidepressiva do linalol com o sistema monoaminérgico (SANTOS *et al.*, 2022).

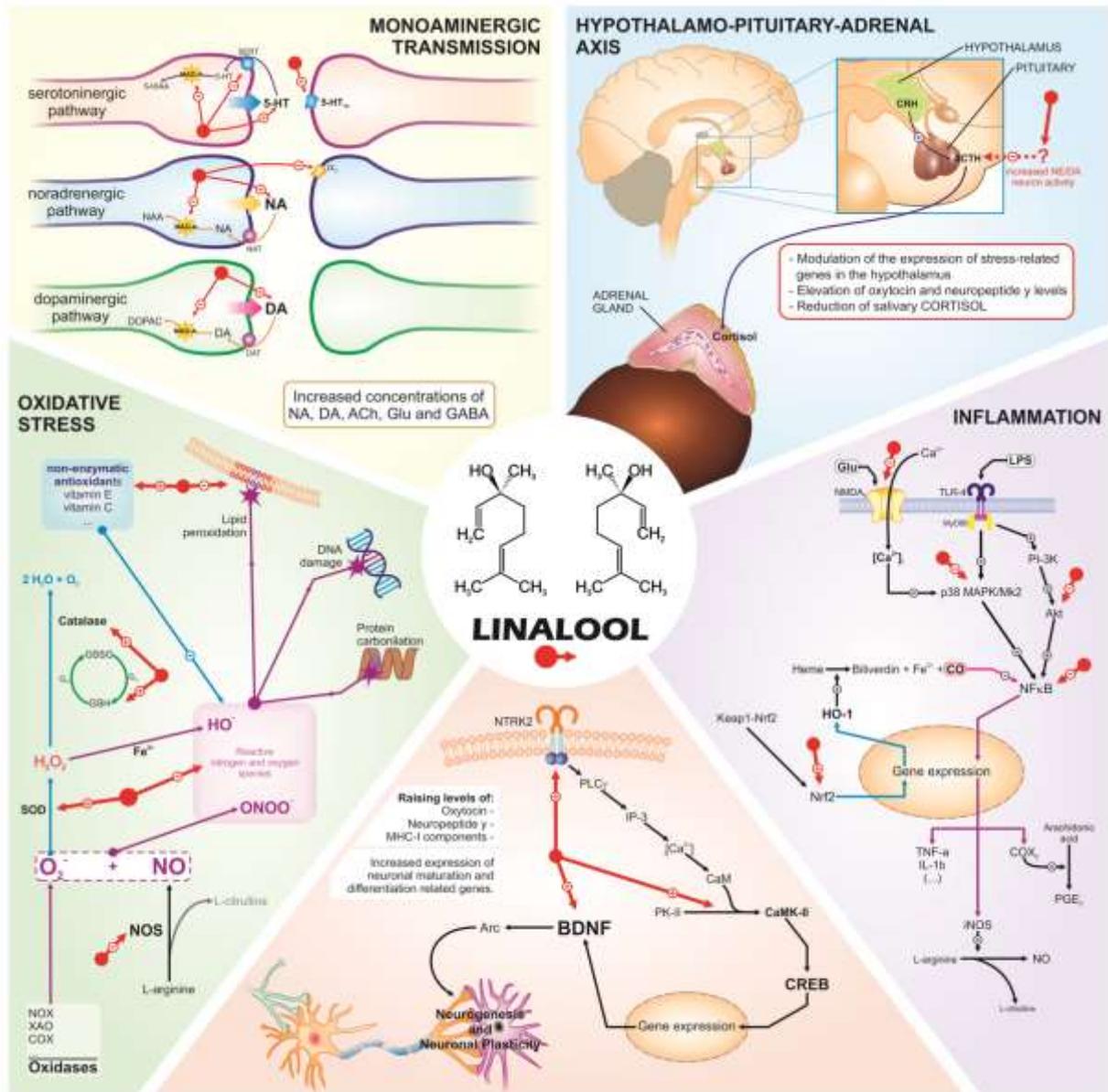


Figura 10: Representação de alvos de interação do linalol em vários fatores fisiopatológicos da depressão. Abreviações: 5-HT_{1A}: receptor serotoninérgico, α₂: receptor noradrenérgico, α₁: receptor noradrenérgico, ACTH: hormônio adrenocorticotrófico, AKT: proteína quinase B, BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro, BrdU: bromodesoxiuridina, CaMKII: proteína quinase II dependente de cálcio-calmodulina, COX-2: ciclooxigenase 2, HO-1: heme oxigenase-1, IL-1β: interleucina-1β, iNOS: óxido nítrico sintase induzível, LPS: lipopolissacarídeos, MAPK: proteína quinase ativada por mitógeno, NF-κB: fator nuclear kappa B, NMDA: N-metil-D-aspartato, ON: óxido nítrico, NOS2: óxido nítrico sintase 2, Nrf2: fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2, PGE2: prostaglandina E2, TLR4: receptor do tipo toll 4, TNF-α: fator de necrose tumoral α.

Fonte: Santos *et al.* (2022).

Guzman-Gutierrez *et al.* (2012) descreveram que o óleo essencial de *Litsea glaucescens* Kunth apresentou atividade do tipo antidepressiva, bem como os seus constituintes linalol e β-pineno. Posteriormente, a atividade do tipo antidepressiva do

linalol foi ratificada e o possível mecanismo de ação foi avaliado. Os dados revelaram que o efeito antidepressivo do linalol se deve a sua interação com a via serotoninérgica através de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos e com a via noradrenérgica através de receptores α_2 noradrenérgicos (GUZMAN-GUTIERREZ *et al.*, 2015). Em um modelo *in vitro*, o óleo de lavanda e o linalol inibiram a recaptação de serotonina, assim como medicamentos clássicos da prática clínica (LÓPEZ *et al.*, 2017).

No entanto, a patogênese da depressão não pode ser explicada exclusivamente pela hipótese monoaminérgica. Com a evolução científica, outros fatores passaram a apresentar papel de destaque na fisiopatologia da doença. Nesse contexto, o linalol desponta como um composto bioativo promissor para o tratamento dos transtornos depressivos. De fato, além do envolvimento do linalol no sistema monoaminérgico, diversos estudos também revelam sua interação com fatores ambientais, endócrinos, inflamatórios, imunológicos, metabólicos, mediadores de estresse oxidativo e componentes celulares, moleculares e epigenéticos da plasticidade, ou seja, com uma variedade de fatores etiopatológicos relacionados à depressão. Recentemente, o envolvimento do monoterpene com novas abordagens da doença, como o eixo microbiota-intestino-cérebro e o sistema glutamatérgico também foi apontado (SANTOS *et al.*, 2022).

Em modelos experimentais, a interação do linalol com a modulação do eixo HPA foi objeto de estudos. As evidências sugerem que a inalação de linalol modula a expressão de genes no hipotálamo de animais estressados, promovendo a redução do cortisol (YAMAMOTO *et al.*, 2013) e restaurando níveis de ocitocina e neuropeptídeo Y (YOSHIDA *et al.*, 2017). Em voluntários humanos saudáveis, a inalação do óleo de lavanda e linalol modulou a resposta ao estresse através de alterações em parâmetros fisiológicos, incluindo a redução do cortisol (ATSUMI; TONOSAKI, 2007; HOFERL; KRIST; BUCHBAUER, 2006; KIM *et al.*, 2012).

A atividade anti-inflamatória do linalol é bem estabelecida. Vários trabalhos descreveram que o composto reverte os principais sinais químicos da inflamação no SNC (HUO *et al.*, 2013), incluindo a redução da expressão de genes da COX-2 e de óxido nítrico sintase 2 (NOS2) (SABOGAL-GUAQUETA *et al.*, 2019), e dos níveis de TNF- α , IL-1 β , ON, iNOS, PGE2 e COX-2 (BARRERA-SANDOVAL; OSORIO; CARDONA-GOMEZ, 2019; LI *et al.*, 2015; SABOGAL-GUAQUETA; OSORIO; CARDONA-GOMEZ, 2016).

Outros estudos reportaram a capacidade antioxidante do linalol no estresse oxidativo relacionado à depressão (ELGENDY, 2004; SANTOS *et al.*, 2022). O linalol apresentou efeito protetor no estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio no tecido nervoso de cobaias (CELIK; OZKAYA, 2002) em um modelo de neurotoxicidade induzida por acrilamida em ratos (MEHRI; MESHKI; HOSSEINZADEH, 2015) e no protocolo *in vitro* de lesão neuronal induzida por privação de oxigênio e glicose (PARK *et al.*, 2016). A neuroproteção foi mediada pela redução de radicais peroxil e da peroxidação lipídica, além do aumento das concentrações de catalase, superóxido dismutase e glutatona (MEHRI; MESHKI; HOSSEINZADEH, 2015; PARK *et al.*, 2016).

A interação do linalol com fatores neurotróficos, principalmente o BDNF, ainda carece de evidências mais robustas. Entretanto, avaliações recentes passaram a descrever essa estreita relação. Estudos pré-clínicos revelaram que o linalol restaurou a expressão de proteínas importantes para a plasticidade sináptica, como a proteína quinase II dependente de cálcio-calmodulina (CaMKII), o BDNF e o TrkB (XU *et al.*, 2017), e aumentou a expressão de genes que codificam a ocitocina, o neuropeptídeo Y, moléculas de classe I do complexo de histocompatibilidade primária, além de genes relacionados à diferenciação neuronal, desenvolvimento de neurites e fatores reguladores de transcrição (NAKAMURA *et al.*, 2010; YOSHIDA *et al.*, 2017).

Além do padrão linalol, óleos essenciais ricos em linalol também foram investigados. O óleo essencial de lavanda aumentou a concentração de BDNF, ocitocina e o número de células positivas de bromodesoxiuridina (BrdU), um marcador de proliferação celular neuronal (SÁNCHEZ-VIDAÑA *et al.*, 2019), enquanto o óleo essencial de manjeriço modulou positivamente a expressão de genes e proteínas de BDNF (AYUOB *et al.*, 2017).

De acordo com os trabalhos reportados, além de atuar sinergicamente sobre os fatores fisiopatológicos, o linalol pode interagir com diferentes alvos dentro de um mesmo fator, indicando vários possíveis mecanismos de ação antidepressiva. Portanto, a possível propriedade pleiotrópica do linalol pode lhe conferir capacidade antidepressiva por mecanismos diretos, como o envolvimento com vários neurotransmissores e mecanismos indiretos, como respostas adaptativas (SANTOS *et al.*, 2022). Esses estudos lançam luz sobre o atual cenário de dificuldades de acesso ao tratamento de doenças de saúde mental, como a depressão.

A depressão é um transtorno mental grave de prevalência mundial, que afeta a funcionalidade e a qualidade de vida das pessoas. Além disso, a pandemia provocou um aumento, especialmente entre mulheres e jovens, na prevalência e carga global da doença. Nesse contexto, se tornam fundamentais a inclusão de tratamentos alternativos, como a aromaterapia, e o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos que possam contribuir na prática clínica de pacientes depressivos. A atividade do OEPR rico em linalol sobre o SNC, principalmente como antidepressivo, o aponta como uma possível ferramenta para o arsenal terapêutico. Considerando a relevância e o impacto social da depressão e o pouco conhecimento que ainda existe sobre o óleo de pau-rosa, estudos que explorem suas atividades centrais, mecanismos de ação e usos em diferentes vias de administração são urgentes e de essencial importância para fomentar o conhecimento e para a possível descoberta de novos medicamentos.

II OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do tipo antidepressivo do óleo de pau-rosa em ratas adolescentes submetidas ao tratamento com álcool em padrão *binge*.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar a composição química do óleo essencial;
- Avaliar o efeito do óleo essencial em comportamento relacionado à anedonia e depressão nos *testes splash* e nado forçado, respectivamente;
- Avaliar o efeito do óleo essencial na expressão gênica de BDNF e S100B no córtex pré-frontal e hipocampo através de PCR quantitativo de transcrição reversa (qRT-PCR);
- Avaliar o efeito do óleo essencial no balanço oxidativo *in vitro* e *in vivo*;
- Avaliar o efeito do óleo essencial nas concentrações das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α no córtex pré-frontal e hipocampo por *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

III METODOLOGIA

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção do material vegetal

As amostras de galhos de *Aniba rosaeodora* Ducke foram coletadas em um plantio experimental do Prof. Milton Mota, no campus da Universidade Federal Rural da Amazônia, em janeiro de 2020, localizada na Avenida Presidente Tancredo Neves, bairro Terra Firme, município de Belém, estado do Pará, Brasil, com as coordenadas 1° 27' 31" S / 48° 26' 4.5" W.

3.2 Extração dos óleos essenciais

As amostras foram secas por 48 horas, moídas e submetidas à hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo Clevenger (100 g, 3 h). Os óleos foram secos com sulfato de sódio anidro e o seu teor percentual foi calculado com base no peso seco da planta. A umidade das amostras foi calculada usando uma balança com medição de umidade por infravermelho. A mistura dos óleos das amostras foi mantida em frasco âmbar e armazenada a temperatura de 5°C.

3.3 Análise e identificação dos componentes

A análise dos componentes dos óleos foi realizada no laboratório Adolpho Ducke, do Museu Paraense Emílio Goeldi, usando-se um sistema duplo de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG-DIC) Shimadzu QP-2010, equipado com coluna capilar de sílica DB-5ms (30m x 0,25mm; com 0,25 µm de espessura do filme), nas seguintes condições operacionais: hidrogênio como gás de arraste, na velocidade linear de 36,5 cm/s; tipo de injeção sem divisão de fluxo, volume: 1 µL (2 µL de óleo em 1 mL de hexano); temperatura do injetor e detector a 250 °C, programa de temperatura da coluna de 60-250°C, com gradiente de 3°C/min. A identificação dos componentes voláteis foi feita com base na comparação de seus tempos de retenção linear com padrões autênticos, usando-se também uma série homóloga de n-alcanos injetados nas mesmas condições das análises e padrões de fragmentação observados nos espectros de massas de

amostras autênticas existentes nas bibliotecas do sistema de dados e da literatura (ADAMS, 2007; MONDELLO, 2011; NIST, 2011).

3.4 Animais de experimentação

Antes da execução, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais, da Universidade Federal do Pará e obedeceu às normas estabelecidas por Guias de Cuidado e Uso de Animais Laboratoriais (COMMITTEE FOR THE UPDATE OF THE GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS, 2011), com aprovação de número 7090270319. Para a utilização do óleo essencial, este projeto foi cadastrado na plataforma SISGEN sob o número AA6B112.

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) fêmeas, idade de 29 dias (n=51), obtidos do Biotério da Universidade Federal do Pará. Os animais foram mantidos no biotério da Faculdade de Farmácia em condições padronizadas de temperatura (25°C), exaustão de ar e ciclo de luz claro/escuro de 12 horas (06:00 – 18:00h). Os animais foram mantidos com ração peletizada e água *ad libitum* em caixas de polipropileno (50 x 35 x 15 cm) forradas com maravalha e com grades metálicas em grupos de 3 ou 4 animais por caixa para evitar estresse por isolamento. A idade dos animais foi escolhida através da definição de adolescência a partir da maturação sexual e de características neurocomportamentais e fisiológicas típicas dessa faixa etária, que ocorrem aproximadamente após 28 dias de vida pós-natal. A fase adulta do animal se inicia por volta de 60 dias de vida (SPEAR, 2000).

Os experimentos comportamentais foram realizados no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento, da Faculdade de Farmácia, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Pará. Os animais foram levados para o local dos testes com uma hora de antecedência para aclimação e ambientação. Os testes comportamentais não excederam o horário de 18:00h para evitar alterações relacionadas ao ciclo circadiano dos animais.

3.5 Tratamento farmacológico

Os animais receberam por via oral (gavagem) através de cânula oro-gástrica (Insight, Brasil) água destilada (H₂Odest.) ou solução de etanol (EtOH) (20 p/v)

(Êxodo, Brasil) na dose de 3 g/kg/dia (LAUING *et al.*, 2008; LINDTNER *et al.*, 2013) em 4 episódios de *binge* (3 dias consecutivos seguido de 4 dias de abstinência por semana), e por via intranasal 0,1 mL de solução salina (S.S) para cada 100 g de peso do animal ou OEPR na dose de 35 mg/kg uma vez ao dia por 28 dias consecutivos. A dose do óleo utilizada foi a mesma do estudo anterior (SANTOS *et al.*, 2018). O tratamento foi iniciado aos 29 dias de vida e finalizado aos 56 dias pós-natal (figura 11). Dessa forma, o tratamento se deu do início ao fim da adolescência das ratas. O OEPR foi solubilizado em S.S momentos antes da administração por via intranasal em um volume final de 0,1 mL para cada 100 g de peso do animal. A pesagem dos animais foi realizada semanalmente para o ajuste do volume final.

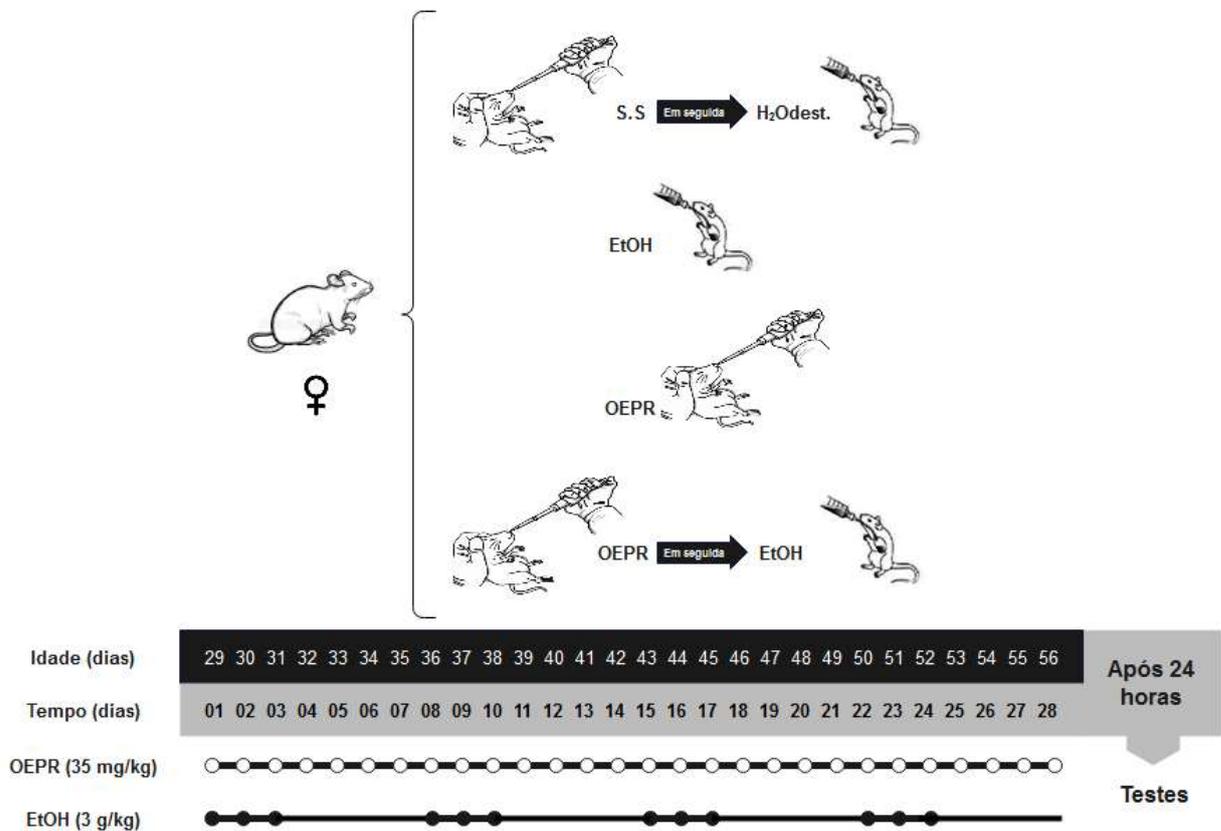


Figura 11: Tratamento experimental com óleo essencial de pau-rosa (OEPR) e solução de etanol (EtOH). Ratos Wistar fêmeas receberam por via oral água destilada (H₂Odest.) ou EtOH (20 p/v) na dose de 3 g/kg/dia em 4 episódios de *binge* (3 dias consecutivos seguido de 4 dias de abstinência por semana), e por via intranasal 0,1 mL de solução salina (S.S) para cada 100 g de peso do animal ou OEPR na dose de 35 mg/kg uma vez ao dia por 28 dias consecutivos. O tratamento foi iniciado aos 29 dias de vida e finalizado aos 56 dias pós-natal (início ao fim da adolescência). Os ensaios comportamentais ocorreram 24 horas após o término do tratamento.

Fonte: Autor.

3.6 Grupos experimentais

Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais: controle, EtOH, OEPR e OEPR+EtOH.

- Grupo 1: animais submetidos aos testes comportamentais após 28 dias de administração intranasal (uma vez ao dia) de veículo (S.S 0,9%) e de administração oral de H₂Odest. em 4 episódios de *binge* (3 dias consecutivos/semana): 10 animais;
- Grupo 2: animais submetidos aos testes comportamentais após administração oral de EtOH em 4 episódios de *binge* (3 dias consecutivos/semana): 12 animais;
- Grupo 3: animais submetidos aos testes comportamentais após 28 dias de administração intranasal (uma vez ao dia) do OEPR (35 mg/kg): 10 animais;
- Grupo 4: animais submetidos aos testes comportamentais após 28 dias de administração intranasal (uma vez ao dia) do OEPR (35 mg/kg) e de administração oral de EtOH em 4 episódios de *binge* (3 dias consecutivos/semana): 10 animais.

Os animais foram expostos aos ensaios comportamentais 24 horas após o término do tratamento farmacológico. Após 24 horas do teste *splash* e nado forçado, amostras do córtex pré-frontal e do hipocampo foram coletadas para a avaliação da expressão de genes de BDNF e S100B, avaliação biológica dos parâmetros de estresse oxidativo e do conteúdo de citocinas.

3.7 Ensaios comportamentais

3.7.1 TESTE *SPLASH*

O teste *splash* (figura 12) é um modelo farmacologicamente validado, apoiado no comportamento motivacional (comportamento de autolimpeza), que é oposto a alguns sintomas de depressão, tal como a apatia (WILLNER, 2005). Assim, a anedonia e efeitos do tipo depressor estão relacionados à redução do tempo de autolimpeza (BUTELMAN *et al.*, 2019). A anedonia, que é caracterizada por perda de interesse ou prazer, é um sintoma transdiagnóstico associado a comprometimentos no processamento de aversão e recompensa, e está presente

especialmente em pacientes depressivos (LIANG *et al.*, 2022). O teste foi realizado seguindo o protocolo proposto por Isingrini *et al.* (2010), com algumas modificações (FREITAS *et al.*, 2013).

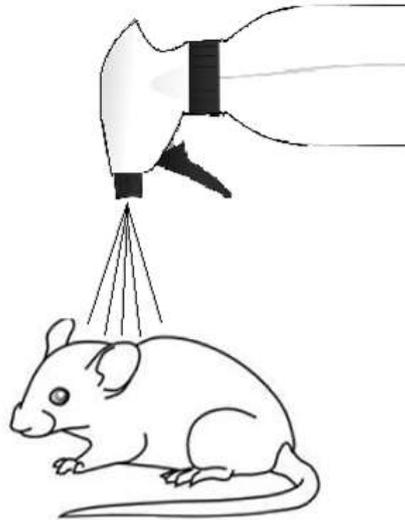


Figura 12: Teste *splash*.
Fonte: Belém Filho (2015).

O teste consiste em esguichar solução de sacarose a 10% na pelagem que reveste o dorso do animal, o qual é colocado de maneira individual em caixa de acrílico (9 x 7 x 11cm). Devido à viscosidade da solução de sacarose, que adere a pele do animal, ele inicia o comportamento de autolimpeza. Após a aplicação da solução de sacarose, foi registrado manualmente durante 5 minutos o tempo de autolimpeza como um índice de autocuidado e comportamento motivacional.

3.7.2 TESTE DO NADO FORÇADO

O teste do nado forçado (figura 13) foi executado de acordo com o proposto por Porsolt, Le Pichon e Jalfre (1977). No teste, o animal é colocado em um cilindro com água suficiente para que não consiga se apoiar no fundo do aparato. Dessa forma, o nado constitui um estressor intenso, que não pode ser controlado. Inicialmente, o animal nada intensamente e apresenta perspectiva de fuga eminente através de tentativas de escalada. Porém, com a impossibilidade, o animal passa a demonstrar um típico comportamento de imobilidade, que é caracterizado por simples movimentos suficientes para mantê-lo flutuando.

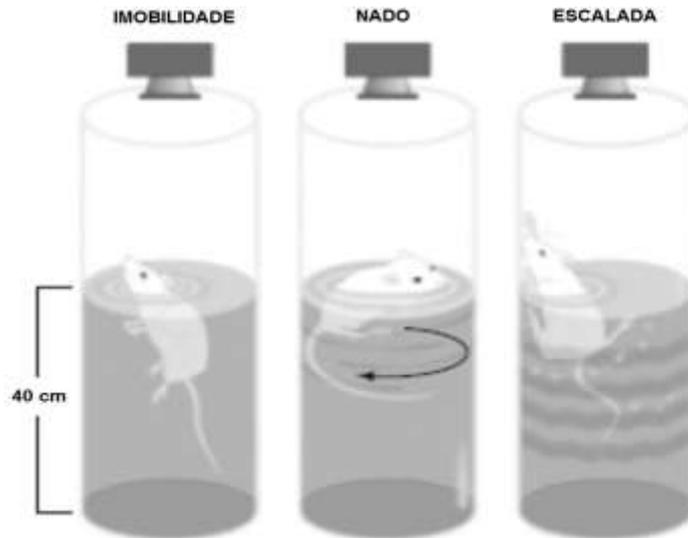


Figura 13: Teste do nado forçado.
 Fonte: Modificado de Cryan, Markou e Lucki (2002).

O teste é conhecido como o modelo do “desespero comportamental”. Em animais com comportamento do tipo depressivo, o tempo de imobilidade tende a ser maior. Esse período de imobilidade é acompanhado de hipotermia, a qual se prolonga por cerca de 30 minutos após a exposição. O animal também pode apresentar comportamento apático, principalmente se tiver desistido de fugir do ambiente, caracterizando o estado do tipo depressivo (CRYAN; MARKOU; LUCKI, 2002; PORSOLT; LE PICHON; JALFRE, 1977). Alterações em neurotransmissores são observadas, o que pode contribuir na elucidação da patogênese da depressão, assim como colaborar para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas ou fármacos.

Os animais foram submetidos ao teste de maneira individual, sendo colocados no cilindro de vidro (50 cm de altura por 30 cm de diâmetro) com uma coluna de água de 40 cm a uma temperatura de $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Os animais ficaram no teste por 5 minutos, onde os primeiros 2 minutos foram considerados habituação ao ambiente aversivo. A seguir, foi contabilizado manualmente o tempo de imobilidade nos 3 minutos finais do teste. Após o ensaio, cada animal foi retirado da água, seco com auxílio de flanela e colocado na gaiola com maravalha.

3.8 Coleta de tecidos

Após 24 horas dos ensaios comportamentais, os animais foram anestesiados com isoflurano e, a partir da abolição dos reflexos, amostras do córtex pré-frontal e

hipocampo foram coletadas após craniotomia. As amostras frescas de tecido foram adicionadas em microtubos com 1 mL de solução do kit comercial AllPrep e armazenadas em freezer a -80°C para posterior análise do RNAm de BDNF e S100B, dos níveis de GSH, TEAC e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), além das concentrações de IL-1 β , IL-6 e TNF- α .

3.9 Avaliação da expressão gênica de BDNF e S100B

O RNA total de cada amostra foi extraído com Tri-reagent (Applied Biosystems, EUA), seguindo as instruções do fabricante. A concentração e a qualidade do RNA foram determinadas através do espectrofotômetro NanoDrop (Kisker, Alemanha) e eletroforese em gel de agarose a 1%, respectivamente. O DNA complementar foi sintetizado utilizando o *kit High-Capacity cDNA Archive* (Applied Biosystems, Polônia).

A expressão de RNAm de BDNF e S100B foi avaliada por qRT-PCR com *primers* e sondas TaqMan adquiridas como *Assays-on-demand Products for Gene Expression* (Applied Biosystems, EUA). O gene GAPDH foi selecionado como um controle interno para entrada de RNA e eficiência da transcrição reversa. Todas as reações qRT-PCR em tempo real foram realizadas em triplicata. Por fim, os dados foram previamente analisados com o método $2^{-\Delta\text{Ct}}$, o qual foi calculado segundo o proposto por Livak e Schmittgen (2001).

3.10 Avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo

3.10.1 *IN VITRO*

Para avaliar a TEAC *in vitro* do óleo de pau-rosa foi realizado o ensaio DPPH \cdot . O potencial antioxidante do óleo essencial foi determinado de acordo com sua equivalência ao potente antioxidante Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcromono-2-carboxílico), um análogo sintético hidrossolúvel da vitamina E.

MÉTODO DPPH

O método foi realizado para avaliar o potencial do óleo essencial em inibir o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•), um cromóforo violeta, originando o produto hidrogenado DPPH, que é amarelo ou incolor (BLOIS, 1958). O teste foi realizado de acordo com o método proposto por (BLOIS, 1958). Inicialmente, foi determinada a absorvância de 0,1 mM da solução de DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) diluída em etanol. A seguir, 0,6 mL de solução de DPPH•, 0,35 mL de água destilada e 0,05 mL da amostra foram misturadas e colocadas em banho-maria a 37 °C por 30 min. Em seguida, as absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro Nm Kasvi a 517 nm. O Trolox foi utilizado como solução padrão para a curva de calibração. O resultado foi expresso em mM. O valor encontrado para a amostra foi comparado com o padrão Trolox (1 mM).

3.10.2 *IN VIVO*

A avaliação biológica dos parâmetros de estresse oxidativo foi realizada em amostras de córtex pré-frontal e hipocampo dos animais após o tratamento experimental.

DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS

A determinação da concentração de proteínas totais foi realizada segundo o método proposto por Bradford (1976) e adaptado por Stoscheck (1990). Essa técnica consiste na ligação das proteínas ao corante *Coomassie Brilliant blue*, resultando em um composto de cor azul e absorvância máxima em comprimento de onda de 595 nm. Após os dados obtidos dos parâmetros de estresse oxidativo, foi realizada a correção por proteínas (RODRIGUES *et al.*, 2023).

DETERMINAÇÃO DE GSH

A determinação das concentrações de GSH foi realizada de acordo com o método de Ellman (1959). Essa técnica é baseada na capacidade da GSH em reduzir o ácido-5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico (Sigma-Aldrich) a ácido 5-tio-2-nitrobenzóico, que foi quantificado por espectrofotometria no comprimento de onda

de 412 nm. A concentração de GSH foi expressa em $\mu\text{g/g}$ de proteína em tecido homogeneizado.

DETERMINAÇÃO DA TEAC

A determinação da capacidade antioxidante total foi realizada através da técnica TEAC. O método foi executado como o proposto por Miller *et al.* (1993) com modificações (RE *et al.*, 1999). O ensaio é uma técnica colorimétrica baseada na reação entre o ABTS (Sigma Aldrich A1888) e o persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$; Sigma-Aldrich 60490), que produz o radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (radical 2,2-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato], sal de diamônio), um cromóforo de coloração verde/azul. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/g}$ de proteína no homogenato de tecido.

DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE TBARS

A determinação de TBARS, um dos protocolos utilizados para a avaliação da peroxidação lipídica, foi realizada pelo método de Kohn e Liversedge (1944), com adaptações (PERCARIO; VITAL; JABLONKA, 1994). A técnica é baseada na reação do MDA e outros compostos com o ácido tiobarbitúrico (TBA; Sigma-Aldrich T5500) em pH 2,5 e 94°C de temperatura, formando o complexo MDA-TBA (cor rosa) com absorvância em 535nm. Como a reação não é específica para o MDA, visto que o TBA pode reagir com açúcares, aminoácidos, proteínas e bilirrubina, é utilizado o termo substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (MAYNE, 2003). A concentração elevada de TBARS é um indicador do estresse oxidativo, visto que o MDA é um importante biomarcador da peroxidação lipídica (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014).

O método consiste no preparo inicial de fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4 75 mM, Synth, 35210) em água acidificada (pH 2,5), solução utilizada na preparação do TBA (10nM). Adicionou-se 100 μL de amostra a 500 μL da solução de TBA, que em seguida foi levado ao banho-maria (94°C por 60 minutos). Após a incubação e resfriamento a temperatura ambiente por 10 minutos, foi adicionado 4 mL de álcool 1-butílico. Após a homogeneização em vórtex e posterior centrifugação a 2500 rpm por 10 minutos do homogenato, foi coletado 1 mL do sobrenadante para

leitura espectrofotométrica a 535 nm. Os resultados foram expressos em nM/g de proteína.

3.11 Avaliação de citocinas

A fração proteica de cada amostra foi extraída com Tri-reagent (Applied Biosystems, EUA), seguindo as instruções do fabricante. As citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α foram detectadas por kits comerciais desenvolvidos para a avaliação de citocinas da espécie (Merck, Alemanha). As citocinas presentes nas amostras de córtex pré-frontal e hipocampo foram determinadas por ELISA, de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante. Inicialmente, 10 μ L do homogenado de cada amostra foram adicionados a cada poço de uma placa de 96 poços que já estavam preenchidos com 40 μ L de diluente fornecido com o kit. Esse procedimento foi realizado em triplicata. Em seguida, a placa foi incubada a 37°C por 30 min, seguido pela adição de 10 μ L de solução de cromatina A e solução de cromatina B. O processo foi concluído adicionando 50 μ L de solução de bloqueio a cada poço. Após 15 min na ausência de luz, a microplaca foi avaliada por leitor em comprimento de onda de 450 nm (ELX808, BioTek, EUA). O ensaio tem uma sensibilidade menor que 0,1 picograma por mililitro (pg/mL) de dose mínima detectável de citocinas e não mostrou nenhuma reatividade cruzada nas diferentes citocinas relacionadas. Todas as etapas experimentais a partir do tratamento farmacológico estão descritas na figura 14.

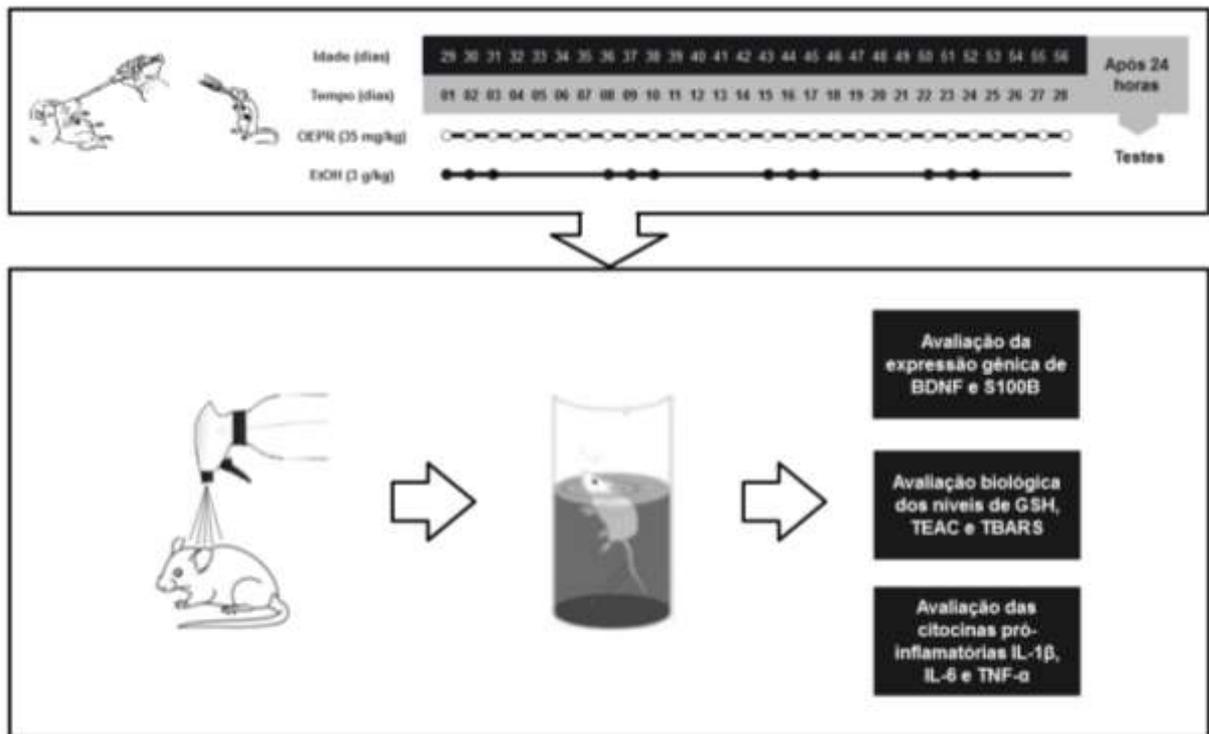


Figura 14: Desenho experimental dos ensaios comportamentais e biológicos.
Fonte: Autor.

3.12 Análise estatística

Primeiramente, foi realizado o teste de distribuição gaussiana (normalidade) para cada grupo experimental pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Após a verificação da homogeneidade de dados, foi utilizada ANOVA uma via seguido de teste de Bonferroni para comparações *post hoc*, e quando necessário, foi utilizado o teste t. Para os dados que não apresentaram distribuição gaussiana, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido de teste de Dunns para comparações *post hoc*, e quando necessário, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Os dados de cada grupo foram expressos como a média \pm erro padrão médio (e.p.m.) e a probabilidade utilizada para a existência de diferença significativa foi $p < 0,05$. Para a construção dos gráficos e análise estatística foi utilizado o *software* GraphPad Prism 8.0.2.

IV RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Análise e características do óleo essencial de pau-rosa

Os óleos essenciais de galhos de pau-rosa tiveram um rendimento médio de 2,8%, apresentando um teor de umidade de 10,4%. O óleo apresentou uma coloração amarelo claro e um perfume floral e amadeirado, com densidade de 0,8665 g/mL. Após análise, o óleo de pau-rosa apresentou um teor de 93,4% de linalol. Óleos de pau-rosa são constituídos dos isômeros (+)-linalol e (-)-linalol, de um modo geral, na proporção 1:1. O cromatograma e os componentes do óleo são apresentados na figura 15 e Tabela 1, respectivamente.

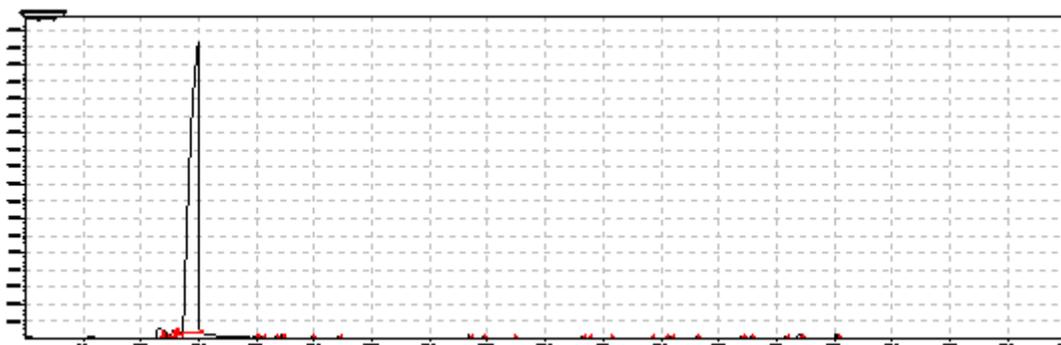


Figura 15: Cromatograma do óleo essencial de pau-rosa.
Fonte: Autor.

Tabela 1 - Componentes do óleo essencial de pau-rosa (%).

TR	Constituintes	(%)
10.908	Óxido de <i>cis</i> -linalol	2,83
11.483	Óxido de <i>trans</i> -linalol	0,82
12.475	Linalol	93,41
15.167	Óxido de <i>cis</i> -linalol (piranóide)	0,37
15.775	TR: 15.775	0,06
16.100	α -Terpineol	0,23
17.383	Nerol	0,05
18.542	Geraniol	0,12
24.192	α -Copaeno	0,23
24.800	β -Elemeno	0,05
26.100	(<i>E</i>)-Cariofileno	0,03
29.083	β -Selineno	0,13
29.383	α -Selineno	0,09
30.308	δ -Cadineno	0,02
32.108	(<i>E</i>)-Nerolidol	0,03
32.700	Espatulenol	0,05
32.925	Óxido de Cariofileno	0,12
34.025	Epóxido de Humuleno II	0,05
35.958	Pogostol	0,13
36.367	14-hidroxi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno	0,15

Continuação

37.883	TR: 37.883	0,18
38.508	Nootkatol	0,52
40.075	Benzoato de benzila	0,33

Fonte: Autor.

TR: tempo de retenção na coluna capilar DB-5 ms.

Devido o alto teor de linalol presente no óleo essencial e do nosso grupo já ter demonstrado que a atividade do tipo antidepressiva de óleos essenciais da Amazônia, entre eles o pau-rosa, se deve proporcionalmente ao linalol (SANTOS *et al.*, 2018), foi utilizada a amostra do óleo de pau-rosa (93,4% de linalol) para o tratamento das ratas adolescentes.

4.2 Comportamento tipo anedonia e tipo depressivo

Após 24 horas do fim do tratamento experimental, as ratas adolescentes foram submetidas aos testes *splash* e nado forçado para a avaliação dos parâmetros relacionados aos comportamentos do tipo anedônico e do tipo depressivo, respectivamente. No teste *splash*, foi avaliado o parâmetro tempo de lambidas/autolimpeza, que é apresentado na figura 16. Nos grupos tratados com EtOH e OEPR houve redução significativa do tempo de autolimpeza em relação ao grupo controle. Além disso, o grupo OEPR+EtOH aumentou o parâmetro de maneira significativa em relação aos grupos EtOH e OEPR, sem apresentar diferença significativa ao grupo controle. [Tempo de autolimpeza: EtOH ($p < 0,01$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,05$) em relação ao controle; OEPR+EtOH ($p < 0,001$) em relação ao EtOH e ($p < 0,01$) em relação ao OEPR].

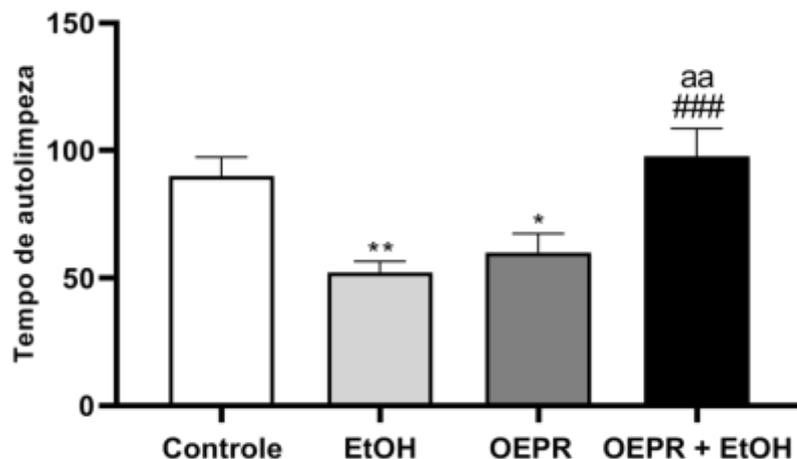


Figura 16: Efeitos do tratamento experimental no teste *splash*, parâmetro tempo de lambida/autolimpeza. Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 10-12 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle *($p < 0,05$) e **($p < 0,01$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ###($p < 0,001$); aDiferença significativa em relação ao grupo OEPR aa($p < 0,01$). Teste ANOVA uma via seguido do teste de Bonferroni.
Fonte: Autor.

Após o teste *splash*, os animais foram avaliados no teste do nado forçado através do parâmetro comportamental tempo de imobilidade (figura 17). O grupo EtOH aumentou significativamente o parâmetro em comparação ao grupo controle. Por outro lado, o grupo OEPR+EtOH reduziu o tempo de imobilidade em relação ao grupo EtOH e não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. O grupo OEPR também não foi significativamente diferente do controle [Tempo de imobilidade: EtOH ($p < 0,01$) em relação ao controle; OEPR+EtOH ($p < 0,01$) em relação ao EtOH].

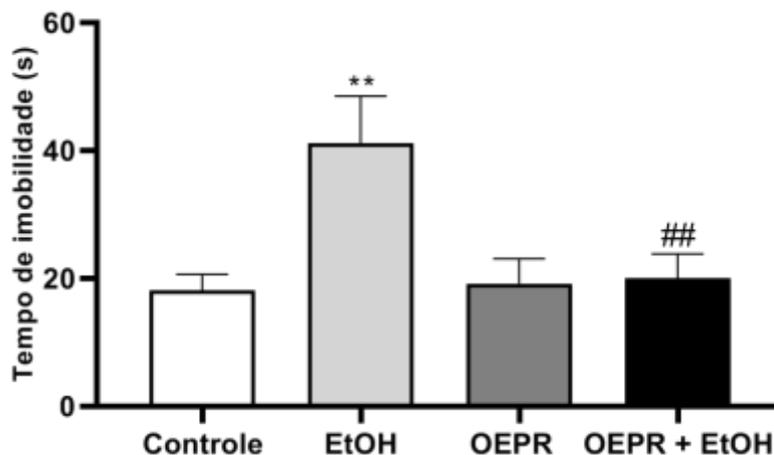


Figura 17: Efeitos do tratamento experimental no teste do nado forçado, parâmetro tempo de imobilidade. Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 10-12 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle **($p < 0,01$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ##($p < 0,01$). Teste ANOVA uma via seguido do teste de Bonferroni.
Fonte: Autor.

4.3 Efeitos do tratamento experimental na expressão gênica de BDNF e S100B

Após 24 horas dos ensaios comportamentais, amostras do córtex pré-frontal e hipocampo foram coletadas para avaliação da expressão gênica de BDNF e S100B. A figura 18 apresenta o efeito do tratamento na expressão de RNAm de BDNF em ambas as amostras. No grupo EtOH, houve uma redução significativa na expressão de genes de BDNF no córtex pré-frontal (figura 18, painel A) em relação ao grupo controle. No entanto, no grupo tratado com OEPR, ocorreu o aumento significativo

na expressão de BDNF comparado ao controle e OEPR+EtOH. No grupo OEPR+EtOH, houve aumento na expressão da proteína em relação aos grupos controle e EtOH [Expressão de BDNF no córtex pré-frontal: EtOH ($p < 0,01$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,001$) em relação ao controle e ($p < 0,05$) em relação ao OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle e ($p < 0,001$) em relação ao EtOH].

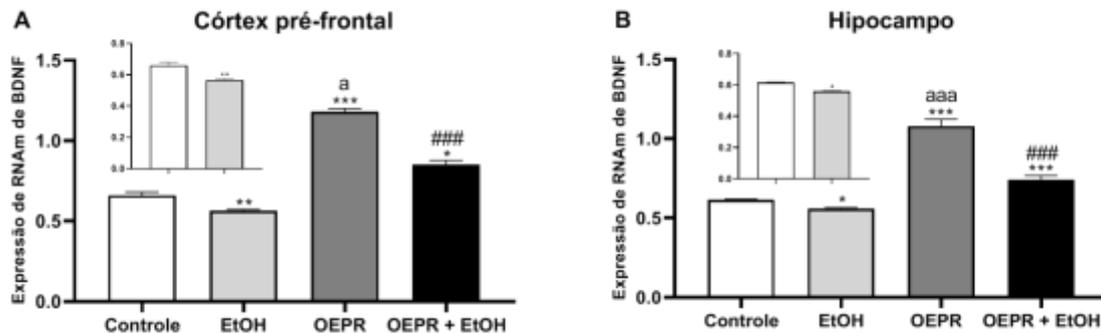


Figura 18: Efeitos do tratamento experimental na expressão gênica de BDNF no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B). Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 10 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$), **($p < 0,01$) e ***($p < 0,001$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ###($p < 0,001$); aDiferença significativa em relação ao grupo OEPR+EtOH a($p < 0,05$) e aaa($p < 0,001$). Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunns, e teste de Mann Whitney se necessário.

Fonte: Autor.

Dados similares ao córtex pré-frontal são observados no hipocampo (figura 18, painel B), em que uma redução da expressão gênica de BDNF foi apresentada pelo grupo EtOH em comparação ao controle. Além disso, o grupo OEPR aumentou a expressão de BDNF em relação ao controle e OEPR+EtOH. No grupo OEPR+EtOH, houve aumento em relação ao controle e EtOH [Expressão de BDNF no hipocampo: EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,001$) em relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle e EtOH].

O efeito do tratamento sobre a expressão de RNAm de S100B nas amostras de córtex pré-frontal e hipocampo é apresentado na figura 19. No córtex pré-frontal (figura 19, painel A), todos os grupos tratados aumentaram a expressão de S100B em relação ao grupo controle. No grupo OEPR, além do controle, também ocorreu aumento em relação ao OEPR+EtOH. O grupo OEPR+EtOH apresentou aumento da expressão de S100B em comparação ao controle e EtOH [Expressão de S100B no córtex pré-frontal: EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,001$) em

relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle e ($p < 0,05$) em relação ao EtOH].

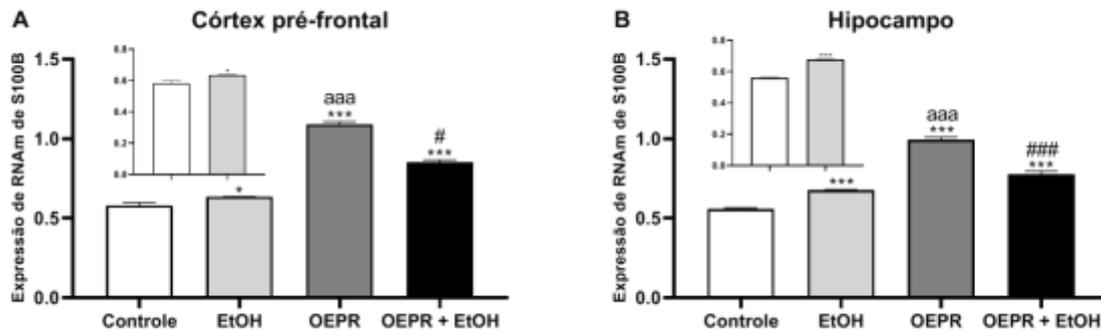


Figura 19: Efeitos do tratamento experimental na expressão gênica de S100B no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B). Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 10 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) e ***($p < 0,001$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ($p < 0,05$) e ###($p < 0,001$); aDiferença significativa em relação ao grupo OEPR+EtOH aaa($p < 0,001$). Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunns, e teste de Mann Whitney se necessário.

Fonte: Autor.

Assim como no córtex pré-frontal, houve aumento da expressão de S100B nas amostras de hipocampo (figura 19, painel B) em todos os grupos tratados quando comparados ao controle. O grupo OEPR novamente aumentou a expressão de S100B em relação ao controle e OEPR+EtOH. Quanto ao grupo OEPR+EtOH, além do controle, também ocorreu aumento de S100B em relação ao EtOH [Expressão de S100B no hipocampo: EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,001$) em relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle e EtOH].

4.4 Capacidade antioxidante *in vitro* do óleo essencial de pau-rosa

A eliminação dos radicais DPPH• foi apresentada como TEAC usando o Trolox de controle positivo (1 mM). Uma equação linear foi plotada para avaliar o valor diretamente dependente da atividade antioxidante investigada. Portanto, tem-se a seguinte equação da reta: DPPH• $y = 0,2261x - 0,0094$ $R^2 = 0,9831$. O valor obtido no ensaio DPPH• foi 0,762 ($\pm 0,048$).

4.5 Efeitos do tratamento experimental *in vivo* nos parâmetros de estresse oxidativo

Amostras de córtex pré-frontal e hipocampo também foram coletadas para avaliação biológica dos parâmetros de estresse oxidativo, incluindo GSH, TEAC e TBARS. O efeito do tratamento nos níveis de GSH em ambas as amostras está representado na figura 20. No córtex pré-frontal (figura 20, painel A), ocorreu uma redução significativa do parâmetro no grupo EtOH em comparação ao controle, enquanto o grupo OEPR+EtOH aumentou os níveis de GSH em relação ao EtOH, sem apresentar diferença significativa ao controle [Níveis de GSH no córtex pré-frontal: EtOH ($p < 0,01$) em relação ao controle; OEPR+EtOH ($p < 0,05$) em relação ao EtOH]. No hipocampo (figura 20, painel B), apenas o grupo EtOH apresentou diferença significativa ao reduzir a concentração de GSH em relação ao controle [Níveis de GSH no hipocampo: EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle].

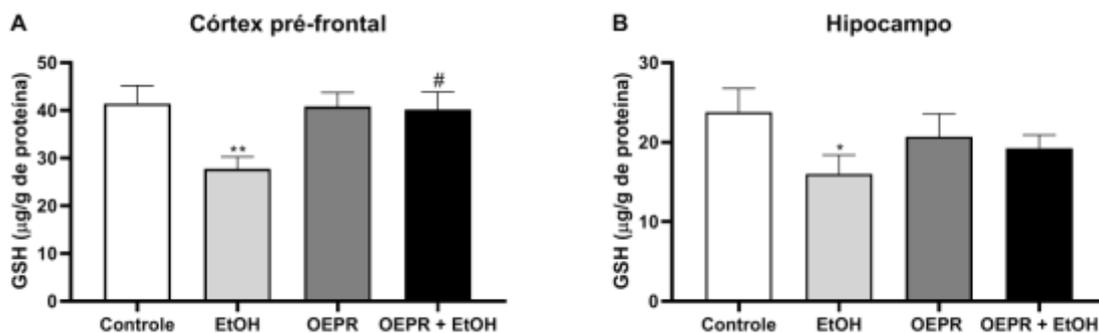


Figura 20: Efeitos do tratamento experimental nos níveis de GSH no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B). Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 7-10 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) e **($p < 0,01$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ($p < 0,05$). Teste ANOVA uma via seguido do teste de Bonferroni (painel A). Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunns (painel B).

Fonte: Autor.

A figura 21 apresenta o efeito do tratamento nos níveis de TEAC nas amostras avaliadas. No córtex pré-frontal (figura 21, painel A), o grupo EtOH reduziu o parâmetro em relação ao controle, e o grupo OEPR+EtOH aumentou significativamente os níveis de TEAC em relação ao grupo EtOH, sem diferença ao controle [Níveis de TEAC no córtex pré-frontal: EtOH ($p < 0,01$) em relação ao controle; OEPR+EtOH ($p < 0,01$) em relação ao EtOH]. No hipocampo (figura 21, painel B), somente o EtOH apresentou significância ao reduzir o parâmetro em relação ao controle [Níveis de TEAC no hipocampo: EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle].

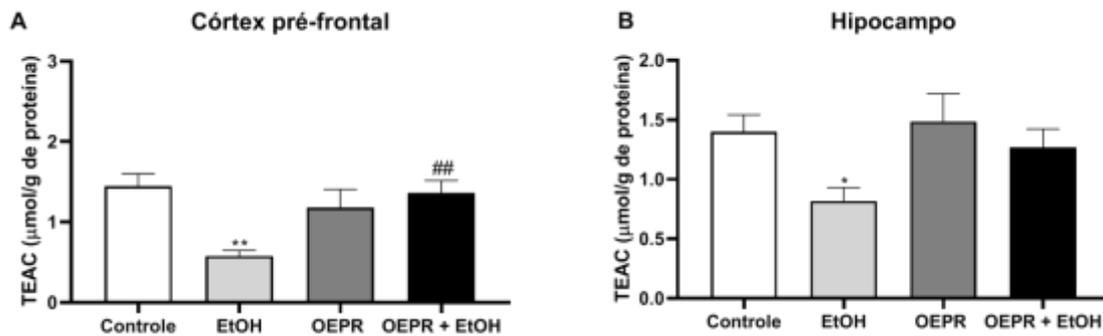


Figura 21: Efeitos do tratamento experimental nos níveis de TEAC no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B). Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 6-8 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle *($p < 0,05$) e **($p < 0,01$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ##($p < 0,01$). Teste ANOVA uma via seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autor.

Para a avaliação do efeito do tratamento na peroxidação lipídica foi determinado os níveis de TBARS no córtex pré-frontal e hipocampo (figura 22). No córtex pré-frontal (figura 22, painel A), o EtOH aumentou significativamente o parâmetro em relação ao controle. No grupo OEPR+EtOH, houve aumento do parâmetro em relação ao controle e redução significativa em comparação ao EtOH [Níveis de TBARS no córtex pré-frontal: EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle; OEPR+EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle e ($p < 0,01$) em relação ao EtOH].

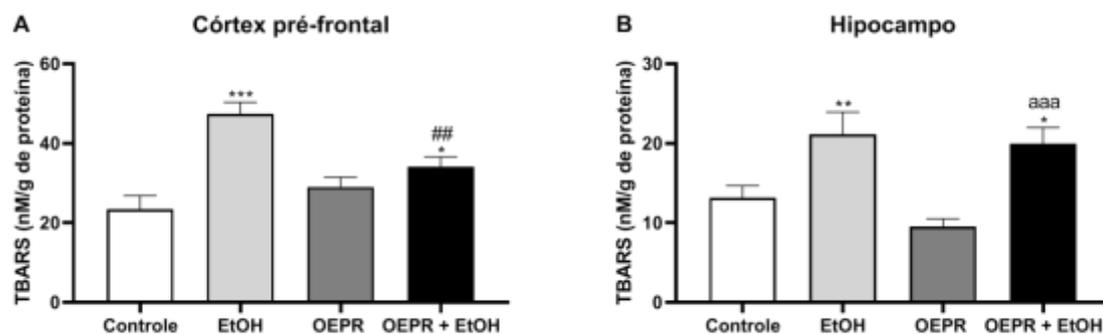


Figura 22: Efeitos do tratamento experimental nos níveis de TBARS no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B). Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 5-10 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle *($p < 0,05$), **($p < 0,01$) e ***($p < 0,001$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ##($p < 0,01$); aDiferença significativa em relação ao grupo OEPR aaa($p < 0,001$). Teste ANOVA uma via seguido do teste de Bonferroni. Fonte: Autor.

No hipocampo (figura 22, painel B), o EtOH aumentou de forma significativa o nível de TBARS comparado ao controle, enquanto o OEPR+EtOH aumentou em relação ao controle e OEPR [Níveis de TBARS no hipocampo: EtOH ($p < 0,01$) em

relação ao controle; OEPR+EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle e ($p < 0,001$) em relação ao OEPR].

4.6 Efeitos do tratamento experimental nos níveis de citocinas

O efeito do tratamento experimental sobre as concentrações das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α foi determinado nas duas amostras cerebrais coletadas. A avaliação de IL-1 β no córtex pré-frontal e hipocampo é apresentada na figura 23. Na primeira área central analisada (figura 23, painel A), o grupo EtOH aumentou significativamente a concentração de IL-1 β em relação ao controle. O óleo isolado (grupo OEPR), no entanto, reduziu de forma significativa a citocina pró-inflamatória em relação ao controle e OEPR+EtOH. O grupo OEPR+EtOH, apesar de ter apresentado aumento em relação ao controle, reduziu significativamente o parâmetro comparado ao EtOH [Concentração de IL-1 β no córtex pré-frontal: EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,001$) em relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle e ($p < 0,001$) em relação ao EtOH].

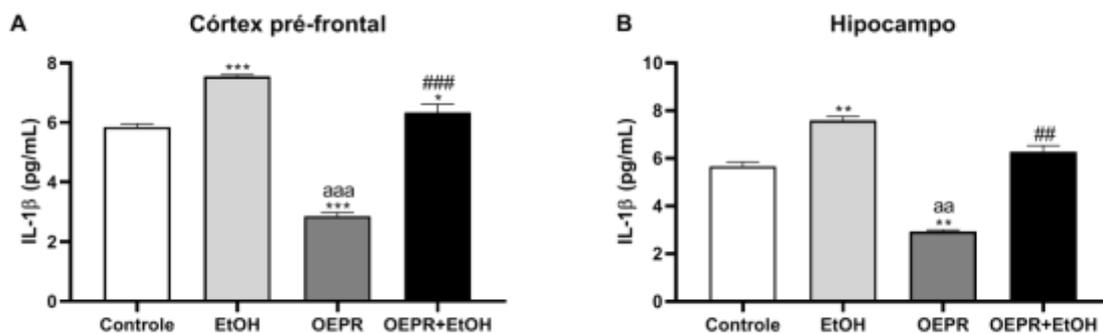


Figura 23: Efeitos do tratamento experimental nas concentrações de IL-1 β no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B). Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 5 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$), **($p < 0,01$) e ***($p < 0,001$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ##($p < 0,01$) e ###($p < 0,001$); aDiferença significativa em relação ao grupo OEPR+EtOH aa($p < 0,01$) e aaa($p < 0,001$). Teste ANOVA uma via seguido do teste de Bonferroni (painel A). Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunns, e teste de Mann Whitney se necessário (painel B).

Fonte: Autor.

No hipocampo (figura 23, painel B), houve aumento da concentração da citocina no grupo EtOH em relação ao controle, enquanto o grupo OEPR reduziu significativamente os níveis de IL-1 β ao controle e OEPR+EtOH. No grupo OEPR+EtOH, houve redução significativa do parâmetro em relação ao EtOH, sem

diferença ao controle [Concentração de IL-1 β no hipocampo: EtOH ($p < 0,01$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,01$) em relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,01$) em relação ao EtOH].

A figura 24 apresenta o efeito do tratamento nas concentrações de IL-6 em ambas as amostras. No córtex pré-frontal (figura 24, painel A), ocorreu o aumento significativo da citocina no grupo EtOH em relação ao controle. O grupo OEPR reduziu significativamente a concentração de IL-6 em relação ao controle e OEPR+EtOH. O grupo OEPR+EtOH aumentou o parâmetro em comparação ao controle, mas reduziu de maneira significativa em relação ao EtOH [Concentração de IL-6 no córtex pré-frontal: EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,001$) em relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle e EtOH].

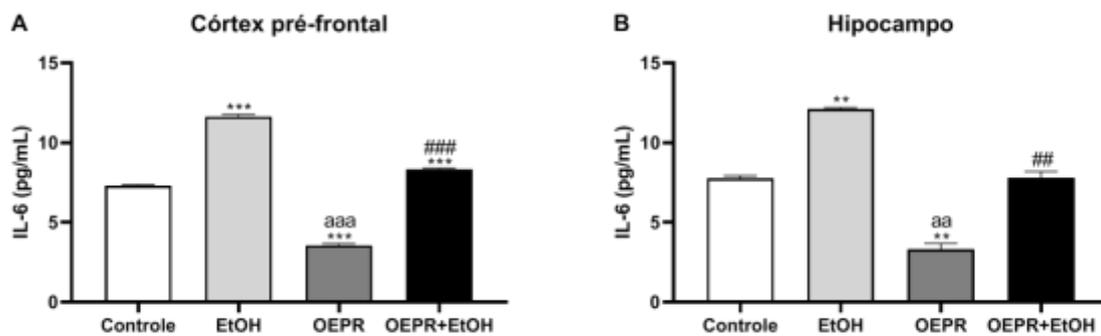


Figura 24: Efeitos do tratamento experimental nas concentrações de IL-6 no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B). Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 5 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle **($p < 0,01$) e ***($p < 0,001$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ##($p < 0,01$) e ###($p < 0,001$); aDiferença significativa em relação ao grupo OEPR+EtOH aa($p < 0,01$) e aaa($p < 0,001$). Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunns, e teste de Mann Whitney se necessário (painel B).

Fonte: Autor.

Nas amostras de hipocampo (figura 24, painel B), o EtOH aumentou as concentrações da citocina em comparação ao controle. Novamente, o grupo OEPR reduziu de maneira significativa IL-6 em comparação ao controle e OEPR+EtOH, enquanto esse último reduziu o parâmetro em relação ao EtOH, sem diferença ao controle [Concentração de IL-6 no hipocampo: EtOH ($p < 0,01$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,01$) em relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,01$) em relação ao EtOH].

Por fim, foram determinadas as concentrações de TNF- α no córtex pré-frontal e hipocampo dos roedores (figura 25). No córtex pré-frontal (figura 25, painel A), o

EtOH aumentou a concentração de TNF- α em relação ao controle, enquanto o grupo OEPR diminuiu a concentração da citocina em relação ao controle e OEPR+EtOH. No OEPR+EtOH, houve aumento significativo de TNF- α comparado ao controle e redução em relação ao EtOH [EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,001$) em relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle e EtOH].

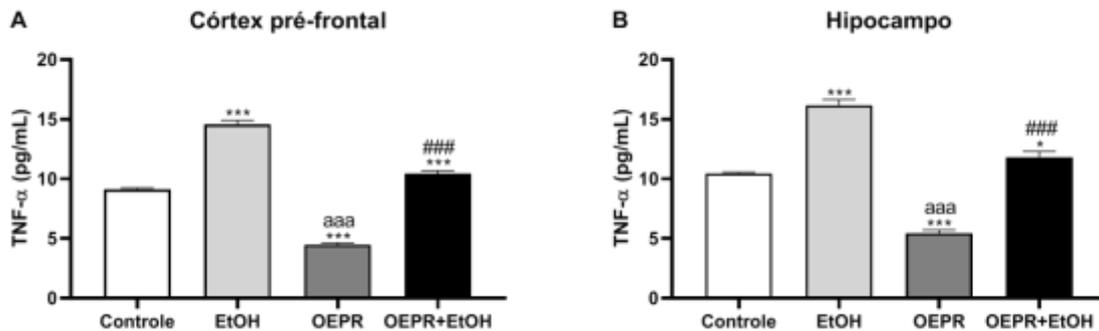


Figura 25: Efeitos do tratamento experimental nas concentrações de TNF- α no córtex pré-frontal (painel A) e hipocampo (painel B). Resultados expressos como a média \pm e.p.m. de 5 animais por grupo. *Diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) e ***($p < 0,001$); #Diferença significativa em relação ao grupo EtOH ###($p < 0,001$); aDiferença significativa em relação ao grupo OEPR aaa($p < 0,001$). Teste ANOVA uma via seguido do teste de Bonferroni.
Fonte: Autor.

Resultados similares de TNF- α no córtex pré-frontal foram encontrados no hipocampo (figura 25, painel B). O grupo EtOH aumentou de maneira significativa a concentração da citocina em comparação ao controle. O grupo OEPR novamente reduziu significativamente TNF- α em relação ao controle e OEPR+EtOH, enquanto nesse último, ocorreu aumento em relação ao controle e redução em relação ao EtOH [EtOH ($p < 0,001$) em relação ao controle; OEPR ($p < 0,001$) em relação ao controle e OEPR+EtOH; OEPR+EtOH ($p < 0,05$) em relação ao controle e ($p < 0,001$) em relação ao EtOH].

V DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Diversos fatores interferem no rendimento e composição química de óleos essenciais, que incluem diferentes técnicas de extração, parte do material vegetal utilizado, idade da planta e época de colheita (NATTUDURAI *et al.*, 2017). Variações ambientais e técnicas também influenciam no rendimento e teor de linalol do óleo de pau-rosa. A maior precipitação de água do período chuvoso, por exemplo, aumenta o rendimento do óleo ao facilitar sua separação no método de hidrodestilação. No entanto, folhas velhas e a maior circulação de água nessa parte vegetal pode reduzir a concentração de linalol. Na madeira, produtos oxidados do linalol são mais observados em troncos antigos (MAIA *et al.*, 2007). Além disso, o óleo extraído do tronco, que é comercializado no mercado internacional e usado em produtos cosméticos, tem aproximadamente metade do rendimento real existente na espécie por conta da baixa eficiência das destilarias de campo, variando de 0,7 a 1,2% (MAIA *et al.*, 2007). Almeida *et al.* (2009) obtiveram um rendimento de 1% no processo de destilação em campo, enquanto que em laboratório foi de 2,1%.

Em nossa investigação anterior, o óleo essencial das folhas de pau-rosa apresentou um rendimento de 1,8% e teor de linalol de 88,6% (SANTOS *et al.*, 2018). No trabalho atual, o óleo de galhos apresentou maior rendimento (2,8%) e concentração de linalol (93,4%). O maior rendimento pode ter ocorrido pela coleta do material vegetal ter sido realizada em janeiro, período de maior precipitação pluviométrica na região amazônica, e o alto teor de linalol pode estar relacionado a uma idade jovem da amostra vegetal. Em outro trabalho, o óleo de pau-rosa obtido de galhos finos apresentou um rendimento de 2,8% e teor de linalol de 93,6% (TELES *et al.*, 2021), dados similares aos encontrados na presente avaliação.

Após a realização dos ensaios comportamentais, os dados do grupo OEPR sugerem redução do tempo de autolimpeza em relação ao controle no teste *splash*, sem apresentar diferença significativa no tempo de imobilidade também em relação ao controle no teste do nado forçado. Esses resultados contrastam com o nosso estudo anterior, no qual tanto o óleo de pau-rosa quanto o padrão linalol aumentaram o tempo de autolimpeza e reduziram o tempo de imobilidade sobre o controle, apresentando atividade do tipo antidepressiva (SANTOS *et al.*, 2018). É importante destacar que os modelos de estudo, as vias de administração, os tempos

de tratamento e os gêneros utilizados nas duas avaliações são diferentes. O fator comum foi a dose de 35 mg/kg do óleo de pau-rosa.

No presente estudo, o tratamento subcrônico com o óleo essencial pode ter ativado os sistemas inibitórios do SNC, visto que o óleo de pau-rosa após uma simples administração intraperitoneal de 200 e 300 mg/kg induziu sedação em roedores (ALMEIDA *et al.*, 2009) e nas concentrações de 250 e 300 $\mu\text{l L}^{-1}$ apresentou efeito anestésico em peixes (KIZAK *et al.*, 2018).

Por outro lado, na presente investigação, os resultados sugerem que o óleo de pau-rosa rico em linalol promoveu melhora do perfil anedônico e depressivo induzido pelo álcool, prevenindo as alterações comportamentais observadas no grupo EtOH. De acordo com os dados, o grupo OEPR+EtOH aumentou o tempo de autolimpeza e diminuiu o tempo de imobilidade, ambos de maneira significativa em comparação ao grupo EtOH e sem diferenças significativas em relação ao controle nos testes *splash* e nado forçado, respectivamente.

O efeito do tipo antidepressivo do óleo de pau-rosa foi descrito pela primeira vez no nosso estudo anterior (SANTOS *et al.*, 2018). No entanto, as evidências da atividade antidepressiva de outros óleos essenciais ricos em linalol e do padrão linalol foram apresentadas, inclusive com atenuação dos comprometimentos comportamentais induzidos por diferentes agentes.

Em um modelo animal de estresse induzido pela privação de sono, o linalol reduziu o tempo de imobilidade no teste do nado forçado, aumentou os níveis de serotonina no hipocampo e atenuou a redução dos níveis plasmáticos de serotonina (LEE; JUNG; JUNG, 2018). Posteriormente, a inalação do óleo essencial de lavanda rico em linalol melhorou o comportamento do tipo depressivo em um modelo de depressão, ansiedade e redução da neurogênese induzidas por corticosterona. Houve redução do tempo de imobilidade nos animais tratados com óleo e corticosterona em relação aos tratados somente com corticosterona e o grupo do óleo isolado não apresentou diferença ao controle (SÁNCHEZ-VIDAÑA *et al.*, 2019). Esses achados são similares aos da presente avaliação. A inalação do óleo essencial de manjerição também atenuou o estado depressivo após exposição ao estresse moderado imprevisível (AYUOB *et al.*, 2017).

Após 24 horas dos testes comportamentais, amostras do córtex pré-frontal e hipocampo foram coletadas para a realização dos ensaios biológicos. Na avaliação da expressão gênica, nossos dados sugerem que o grupo OEPR aumentou

marcadamente a expressão de genes de BDNF no córtex pré-frontal e hipocampo, com aproximadamente o dobro da expressão em relação ao controle. Além disso, os dados indicam que o óleo promoveu efeito neuroprotetor em ambas as áreas cerebrais dos animais expostos ao etanol (OEPR+EtOH), pois também houve aumento da expressão de BDNF, ainda que abaixo do grupo OEPR, mas significativamente acima do controle e EtOH.

É a primeira vez que o efeito do óleo de pau-rosa é avaliado quanto à expressão de BDNF. Entretanto, o efeito de outros óleos ricos em linalol e do próprio composto isolado na expressão de BDNF já foram descritos. Na pesquisa conduzida por Sánchez-Vidaña *et al.* (2019), o óleo de lavanda aumentou a neurogênese, a complexidade dendrítica e o número de células positivas de BrdU. Por outro lado, altas concentrações de BDNF e ocitocina só foram registradas no grupo do óleo de lavanda isolado. Isso pode ter ocorrido pelo menor teor de linalol encontrado no óleo da espécie comparado ao alto teor presente no óleo de pau-rosa. Na avaliação de Ayuob *et al.* (2017), o óleo de manjerição reduziu a atrofia de células nervosas, restaurou o número reduzido de astrócitos e diminuiu células apoptóticas nervosas e gliais no hipocampo. Segundo o estudo, o mecanismo de ação antidepressiva ocorre através da modulação positiva da expressão gênica e proteica de BDNF.

Em um modelo animal da doença de Alzheimer, o óleo de lavanda e o linalol restauraram a expressão reduzida de proteínas associadas à plasticidade sináptica, incluindo CaMKII, o BDNF e o TrkB (XU *et al.*, 2017). Em outro estudo pré-clínico, o linalol modulou a conectividade sináptica, o desenvolvimento e a plasticidade neuronal no hipotálamo de animais sujeitos ao estresse por restrição (YOSHIDA *et al.*, 2017). Em uma investigação similar anterior, o (-)-linalool aumentou a expressão gênica relacionada à diferenciação neuronal e a fatores reguladores da transcrição (NAKAMURA *et al.*, 2010). Esses estudos corroboram com os nossos achados, contribuindo para a compreensão de que o efeito neuroprotetor e modulador positivo do óleo de pau-rosa rico em linalol na expressão gênica de BDNF, um dos possíveis mecanismos da sua atividade antidepressiva, ocorre pela ação do linalol.

O efeito do tratamento sobre a expressão de genes de S100B também foi avaliado. Os resultados do presente estudo sugerem que o óleo de pau-rosa (grupo OEPR), assim como na expressão de BDNF, aumentou consideravelmente a expressão de S100B no córtex pré-frontal e no hipocampo. Novamente, os dados apresentam aproximadamente o dobro da expressão em comparação ao controle.

De acordo com os dados, também houve aumento significativo da expressão de S100B no grupo OEPR+EtOH em relação ao controle e EtOH tanto no córtex pré-frontal quanto no hipocampo. Combinado com os achados da avaliação biológica dos parâmetros do estresse oxidativo e das concentrações das citocinas pró-inflamatórias, além dos dados da expressão de genes de BDNF, os resultados sugerem que o efeito do óleo de pau-rosa na expressão gênica de S100B ocorreu, possivelmente, na via neurotrófica da proteína.

A abordagem neurotrófica de S100B foi relatada anteriormente. Em uma investigação com pacientes em síndrome de abstinência alcoólica aguda, os autores propuseram que níveis séricos mais altos de S100B no início do tratamento estavam dentro da faixa neuroprotetora e trófica, e provavelmente representaram um mecanismo protetor e contrarregulador a neurotoxicidade mediada por glutamato induzida pelo álcool (WEDEKIND *et al.*, 2011).

Em uma pesquisa pré-clínica, a fluoxetina aumentou a expressão de genes e proteínas S100B aos 90 dias pós-natais, caso os ratos tenham sido tratados entre os dias 21 e 35 pós-natal, e após 24 horas do fim do tratamento em praticamente todos os estágios de desenvolvimento. O estudo pontua que o período referente à periadolescência no desenvolvimento cerebral de ratos é altamente sensível ao tratamento com fluoxetina, um medicamento clássico da prática clínica antidepressiva (BOCK *et al.*, 2013). É válido ressaltar o período comum de tratamento entre esse último trabalho e a nossa investigação. Nesse sentido, o aumento da expressão de S100B pode ser uma característica de moléculas antidepressivas durante esse período de desenvolvimento pós-natal.

A fluoxetina aumenta os níveis de serotonina, que por sua vez estimula a expressão de S100B via receptor 5-HT_{1A} (BOCK *et al.*, 2013). Adicionalmente, além de S100B, a sobrevivência e maturação de neurônios serotoninérgicos são também promovidas pela própria serotonina e pelo BDNF. Além disso, o BDNF estimula a expressão local de S100B. Dessa forma, a via serotoninérgica pode ser influenciada indiretamente pelo BDNF através da estimulação da expressão de S100B (DJALALI *et al.*, 2005). É importante destacar que o linalol interage com receptores 5-HT_{1A} serotoninérgicos pós-sinápticos (GUZMAN-GUTIERREZ *et al.*, 2015) e apresenta efeito modulador positivo no BDNF (SANTOS *et al.*, 2022).

Para a determinação da capacidade antioxidante *in vitro* do óleo de pau-rosa foi realizado o ensaio DPPH•. O resultado do método DPPH• confirmou que o óleo

de pau-rosa foi ativo na presença dos radicais DPPH• e apresentou uma boa capacidade antioxidante. A atividade antioxidante *in vitro* do óleo de pau-rosa possui poucas evidências. Para o linalol diferentes achados foram descritos na literatura científica.

Em trabalhos recentes, o óleo de pau-rosa e o linalol apresentaram eficiente atividade antioxidante dependente da concentração através da inibição de radicais ABTS•+ (TELES *et al.*, 2021), e a encapsulação do óleo essencial em nanoemulsão de quitosana aumentou a atividade antioxidante nos ensaios ABTS•+ e DPPH• (SINGH *et al.*, 2022). Em avaliações anteriores, o linalol apresentou atividade antioxidante significativa com um efeito inibitório médio na hemólise eritrocitária (ELGENDY; SEMEIH, 2019), além de alto potencial em inibir a peroxidação lipídica no método do β -caroteno, porém, fraca atividade na inibição de radicais DPPH• (DUARTE *et al.*, 2016). Além disso, o monoterpene exibiu capacidade antioxidante abaixo de 25% e fraca eliminação de radicais no método DPPH• (REN *et al.*, 2018; TORRES-MARTÍNEZ *et al.*, 2018). A falta de padronização dos resultados torna difícil sua interpretação, o que pode gerar relatos divergentes para a mesma amostra (DENG; CHENG; YANG, 2011).

Posteriormente, o efeito do óleo de pau-rosa sobre o perfil antioxidante nas áreas cerebrais investigadas foi avaliado pelos níveis de GSH e TEAC. Os resultados indicaram o córtex pré-frontal como mais sensível ao tratamento com óleo essencial, o qual restaurou o estado antioxidante prevenindo as alterações induzidas pelo álcool. Os dados sugerem que o grupo OEPR+EtOH aumentou significativamente os níveis de GSH e TEAC em relação ao grupo EtOH, sem apresentar diferença ao controle.

O trabalho atual apresenta pela primeira vez o efeito do óleo de pau-rosa no perfil redox de áreas do SNC. No entanto, a atividade antioxidante do linalol em diferentes tecidos e linhagens celulares foi relatada. De acordo com esses estudos, o linalol aumentou as concentrações de catalase, superóxido dismutase e glutatona em diferentes áreas do SNC, em outros sistemas corporais, além de diferentes culturas de células e apresentou capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio (GUNASEELAN *et al.*, 2017; MEHRI; MESHKI; HOSSEINZADEH, 2015; ONER *et al.*, 2019; PARK *et al.*, 2016; THAPA *et al.*, 2019, WU *et al.*, 2014). Em um trabalho recente, o linalol melhorou a atividade sérica da capacidade antioxidante total, superóxido dismutase, catalase e glutatona peroxidase na hepatotoxicidade e

nefrotoxicidade induzidas por tetracloreto de carbono em ratos (MAZANI *et al.*, 2022).

O efeito do óleo de pau-rosa na peroxidação lipídica foi avaliado pelos níveis de TBARS. Novamente, o córtex pré-frontal apresentou maior sensibilidade ao tratamento. Os dados da análise sugerem que o grupo OEPR+EtOH, apesar de ter apresentado diferença em relação ao controle, reduziu significativamente o parâmetro em relação ao grupo EtOH. Nesse sentido, o óleo de pau-rosa rico em linalol atenuou a peroxidação lipídica, apresentando uma tendência de prevenir essa alteração induzida pelo álcool.

Esses resultados corroboram com as evidências descritas na literatura. Em modelos animais, o linalol reduziu os níveis de MDA induzida por acrilamida no córtex cerebral (MEHRI; MESHKI; HOSSEINZADEH, 2015), induzida por doxorrubicina no coração e rins (ALTINOZ *et al.*, 2022; ONER *et al.*, 2019), induzida por tetracloreto de carbono no fígado (MAZANI *et al.*, 2022) e por ácido acético no cólon (TEKELI *et al.*, 2018). O linalol também apresentou atividade neuroprotetora ao reverter o aumento dos teores de nitritos e lipoperoxidação no corpo estriado, hipocampo e córtex pré-frontal de ratos hemiparkinsonianos (DE LUCENA *et al.*, 2020). Os trabalhos indicam que os mecanismos do efeito antioxidante do linalol são baseados principalmente na modulação enzimática antioxidante, bem como na atividade de eliminação de radicais livres (SANTOS *et al.*, 2022). A ativação da via de sinalização do fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) foi proposta como um mecanismo alternativo para a atividade antioxidante do linalol (WU *et al.*, 2014). O Nrf2 induz a transcrição de genes relacionados a vias antioxidantes, como a via dependente de glutathiona, além de modular respostas inflamatórias e imunes (HE; ANTONUCCI; KARIN, 2020).

A partir da avaliação biológica dos parâmetros do estresse oxidativo, os nossos resultados sugerem um efeito neuroprotetor do óleo de pau-rosa aos danos oxidativos gerados pelo álcool, ao aumentar os níveis de GSH e TEAC, além de atenuar o aumento de TBARS no córtex pré-frontal induzido pelo álcool. Destaca-se que o óleo essencial, assim como na avaliação do comportamento do tipo depressivo, só apresentou atividade nos parâmetros do estresse oxidativo na presença de um indutor de dano, visto que o grupo OEPR não demonstrou diferença em relação ao controle.

Os efeitos do tratamento experimental no perfil inflamatório das áreas coletadas também foram investigados. A partir da avaliação das concentrações de citocinas pró-inflamatórias, os dados sugerem que o óleo de pau-rosa isolado (grupo OEPR) apresentou efeito anti-inflamatório ao reduzir os níveis de todas as citocinas analisadas nas amostras de córtex pré-frontal e hipocampo. Além disso, de modo geral, o óleo de pau-rosa rico em linalol atenuou o aumento das citocinas induzido pelo álcool, prevenindo completamente as alterações nas citocinas IL-1 β e IL-6 no hipocampo (grupo OEPR+EtOH).

O efeito anti-inflamatório do óleo de pau-rosa carece de evidências. Contrariamente, a atividade anti-inflamatória do linalol é bem documentada. Em modelos experimentais de inflamação *in vitro* e *in vivo*, o linalol inibiu a resposta inflamatória e reverteu os principais sinais químicos da inflamação no SNC através da redução de citocinas e mediadores pró-inflamatórios, incluindo IL-1 β , TNF- α , ON, NOS2, iNOS, proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), COX-2 e PGE2 (HUO *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2015; SABOGAL-GUAQUETA; OSORIO; CARDONA-GOMEZ, 2016; SABOGAL-GUAQUETA *et al.*, 2019).

A administração intranasal diária de 25 mg/kg de linalol por um mês em ratos isquêmicos apresentou efeito anti-inflamatório por meio da redução dos níveis de IL-1 β e COX-2 no córtex cerebral e hipocampo, promovendo atividade protetora microglial em apoio à recuperação neurológica e cognitiva. A atividade anti-inflamatória do linalol também foi observada em culturas de astrócitos e micróglia após excitotoxicidade induzida por glutamato (BARRERA-SANDOVAL; OSORIO; CARDONA-GOMEZ, 2019).

Periféricamente, em estudos pré-clínicos, o linalol diminuiu as concentrações de IL-6 e TNF- α no tecido pulmonar (WU *et al.*, 2014), e de IL-1 β , TNF- α e interferon- γ (IFN- γ) no baço e linfonodos mesentéricos (LEE *et al.*, 2018). Os trabalhos descritos na literatura científica sugerem diferentes mecanismos para a atividade anti-inflamatória do linalol, com foco no bloqueio de receptores NMDA, das vias da proteína quinase B (AKT), MAPK e NF- κ B, da supressão da expressão de moléculas sinalizadoras da via do TLR4, além da ativação da via do Nrf2 (SANTOS *et al.*, 2022).

A partir da análise dos ensaios comportamentais e biológicos, nossos dados indicam que os efeitos comportamentais do óleo de pau-rosa rico em linalol foram relacionados à modulação positiva de genes de BDNF e S100B, à restauração dos

níveis de GSH e TEAC, além da atenuação do aumento de TBARS, IL-1 β , IL-6 e TNF- α induzidos pelo álcool.

VI CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

Após a realização da análise fitoquímica, da avaliação em comportamentos do tipo anedônico e depressivo e dos ensaios biológicos, os resultados sugerem que o óleo essencial de pau-rosa rico em linalol melhorou o perfil depressivo induzido pelo álcool através de um mecanismo neuroprotetor ao modular positivamente a expressão gênica de fatores neurotróficos, reequilibrar o estado antioxidante e atenuar o processo inflamatório, possivelmente pela ação do linalol.

VII REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AAN HET ROT, M.; MATHEW, S. J.; CHARNEY, D. S. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. **CMAJ**, v. 180, n. 3, p. 305-313, feb. 2009.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil componentes by gas chromatography/mass spectrometry**. 4th ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007.

AGATONOVIC-KUSTRIN, S.; KUSTRIN, E.; GEGECHKORI, V.; MORTON, D. W. Anxiolytic Terpenoids and Aromatherapy for Anxiety and Depression. *In*: GUEST, P. C. (ed). **Reviews on New Drug Targets in Age-Related Disorders**. Campinas: Springer Cham, 2020. p. 283-296.

ALCÂNTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. L.; JUNIOR, V. F. V.; LIMA, E. S. Composição química de óleos essenciais de espécies de Aniba e Licaria e suas atividades antioxidante e antiagregante plaquetária. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 141-145, 2010.

ALMEIDA, R. N.; ARAÚJO, D. A. M.; GONÇALVES, J. C. R.; MONTENEGRO, F. C.; SOUSA, D. P.; LEITE, J. R.; MATTEI, R.; BENEDITO, M. A. C.; CARVALHO, J. G. B.; CRUZ, J. S.; MAIA, J. G. S. Rosewood oil induces sedation and inhibits compound action potential in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, n. 3, p. 440-443, jul. 2009.

ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 8, p. 601-611, 2015.

ALTINOZ, E.; ONER, Z.; ELBE, H.; UREMIS, N.; UREMIS, M. Linalool exhibits therapeutic and protective effects in a rat model of doxorubicin-induced kidney injury by modulating oxidative stress. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 5, p. 2024-2030, sep. 2022.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. 5th ed. 2013.

API, A. M.; BELSITO, D.; BOTELHO, D.; BRUZE, M.; BURTON, G. A. JR.; BUSCHMANN, J.; CANCELLIERI, M. A.; DAGLI, M. L.; DATE, M.; DEKANT, W.; DEODHAR, C.; FRYER, A. D.; JONES, L.; JOSHI, K.; KUMAR, M.; LAPCZYNSKI, A.; LAVELLE, M.; LEE, I.; LIEBLER, D. C.; MOUSTAKAS, H.; NA, M.; PENNING, T. M.; RITACCO, G.; ROMINE, J.; SADEKAR, N.; SCHULTZ, T. W.; SELECHNIK, D.; SIDDIQI, F.; SIPES, I. G.; SULLIVAN, G.; THAKKAR, Y.; TOKURA, Y. Update to RIFM fragrance ingredient safety assessment, linalool, CAS Registry number 78-70-6. **Food and Chemical Toxicology**, p. 193-219, jan. 2022.

APROTOSOAIE, A. C.; HÂNCIANU, M.; COSTACHE, I. -I.; MIRON, A. Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 29, n. 4, p. 193-219, mar. 2014.

ARAÚJO, V. C.; CORRÊA, G. C.; MAIA, J. M. S.; MARX, M. C.; MAGALHÃES, M. T.; SILVA, M. L.; GOTTLIEB, O. R. Óleos essenciais da Amazônia contendo linalol. **Acta Amazônica**, v. 1, n. 3, p. 45-47, dez. 1971.

ATSUMI, T.; TONOSAKI, K. Smelling lavender and rosemary increases free radical scavenging activity and decreases cortisol level in saliva. **Psychiatry Research**, v. 150, n. 1, p. 89-96, feb. 2007.

AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 1-31. 2014.

AYUOB, N. N.; FIRGANY, A. E.-D. L.; EL-MANSY, A. A.; ALI, S. Can *Ocimum basilicum* relieve chronic unpredictable mild stress-induced depression in mice? **Experimental and Molecular Pathology**, v. 103, n. 2, p. 153-161, oct. 2017.

BAGETTA, G.; MORRONE, L. A.; ROMBOLÀ, L.; AMANTEA, D.; RUSSO, R.; BERLIOCCI, L.; SAKURADA, S.; SAKURADA, T.; ROTIROTI, D.; CORASANITI, M. T. Neuropharmacology of the essential oil of bergamot. **Fitoterapia**, v. 81, n. 6, p. 453-461, sep. 2010.

BARNETT, P.; BARNETT, M.; BORGUETA, E.; MORENO, J. V.; WATSON, J. COVID-19: an organizational-theory-guided holistic self-caring and resilience project. **Journal of Holistic Nursing**, v. 39, n. 4, p. 325-335, dec. 2021.

BARRERA-SANDOVAL, A. M.; OSORIO, E.; CARDONA-GOMEZ, G. P. Microglial-targeting induced by intranasal linalool during neurological protection postischemia. **European journal of pharmacology**, v. 857, p. 1-15, aug. 2019.

BELÉM-FILHO, I. J. A. **Efeitos neurocomportamentais e no estresse oxidativo da exposição concomitante ao metilmercúrio e etanol em ratos da adolescência à fase adulta**. 2015, 111 f, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Pará, 2015.

BELÉM-FILHO, I. J. A.; RIBERA, P. C.; NASCIMENTO, A. L.; GOMES, A. R. Q.; LIMA, R. R.; CRESPO-LOPEZ, M. E.; MONTEIRO, M.C.; FONTES-JÚNIOR, E.A.; LIMA, M.O.; MAIA, C. S. F. Low doses of methylmercury intoxication solely or associated to ethanol binge drinking induce psychiatric-like disorders in adolescent female rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 60, p. 184-194, jun. 2018.

BELLEAU, E. L.; TREADWAY, M. T.; PIZZAGALLI, D. A. The impact of stress and major depressive disorder on hippocampal and medial prefrontal cortex morphology. **Biological psychiatry**, v. 85, n. 6, p. 443-453, mar. 2019.

BELUJON, P.; GRACE, A. A. Dopamine system dysregulation in major depressive disorders. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 12, p. 1036-1046, dec. 2017.

BEN MENACHEM-ZIDON, O.; GOSHEN, I.; KREISEL, T.; BEN MENAHEM, Y.; REINHARTZ, E.; BEN HUR, T.; YIRMIYA, R. Intrahippocampal transplantation of transgenic neural precursor cells overexpressing interleukin-1 receptor antagonist blocks chronic isolation-induced impairment in memory and neurogenesis. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 9, p. 2251-2262, aug. 2008.

BOCK, N.; KOC, E.; ALTER, H.; ROESSNER, V.; BECKER, A.; ROTHENBERGER, A.; MANZKE, T. Chronic fluoxetine treatment changes S100B expression during postnatal rat brain development. **Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology**, v. 23, n. 7, p. 481-489, sep. 2013.

BOUTROS, N.; SEMENOVA, S.; MARKOU, A. Adolescent intermitente ethanol exposure diminishes anhedonia during ethanol withdrawal in adulthood. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 6, p. 856-864, jun. 2014.

BRADFORD, M. 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, may. 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006. **Diário oficial da União**, Brasília, 4 maio 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 849, de 27 de março de 2017. **Diário oficial da União**, Brasília, 28 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 702, de 21 de março de 2018. **Diário oficial da União**, Brasília, 22 mar. 2018.

BRIN, T.; BORUCKI, K.; AMBROSCH, A. The influence of experimental alcohol load and alcohol intoxication on S100B concentrations. **Shock**, v. 36, n. 4, p. 356-360, oct. 2011.

BRIONES, T. L.; WOODS, J. Chronic binge-like alcohol consumption in adolescence causes depression-like symptoms possibly mediated by the effects of BDNF on neurogenesis. **Neuroscience**, v. 254, p. 324-334, dec. 2013.

BUCHBAUER, G.; JIROVETZ, L.; JÄGER, W.; DIETRICH, H.; PLANK, C. Aromatherapy: evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 46, n. 11-12, p. 1067-1072, nov. 1991.

BUCHBAUER, G.; JIROVETZ, L.; JÄGER, W.; PLANK, C.; DIETRICH, H. Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 82, n. 6, p. 660-664, jun. 1993.

BUTELMAN, E. R.; MCELROY, B. D.; PRISINZANO, T. E.; KREEK, M. J. J. Impact of pharmacological manipulation of the k-opioid receptor system on self-grooming and anhedonic-like behaviors in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 370, n. 1, p. 1-8 jul. 2019.

CALDWELL, K. K.; SHEEMA, S.; PAZ, R. D.; SAMUDIO-RUIZ, S. L.; LAUGHLIN, M. H.; SPENCE, N. E.; ROEHLK, M. J.; ALCON, S. N.; ALLAN, A. M. Fetal alcohol spectrum disorder-associated depression: evidence for reductions in the levels of brain-derived neurotrophic factor in a mouse model. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 90, n. 4, p. 614-624, oct. 2008.

CAMARDESE, G.; DI GIUDA, D.; DI NICOLA, M.; COCCIOLILLO, F.; GIORDANO, A.; JANIRI, L.; GUGLIELMO, R. Imaging studies on dopamine transporter and depression: A review of literature and suggestions for future research. **Journal of Psychiatric Research**, v. 51, p. 7-18, apr. 2014.

CAMARGO, S. B.; VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpene. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 381-387, dez. 2014.

CANADIAN INSTITUTE FOR HEALTH INFORMATION. **Return on Investment: Mental Health Promotion and Mental Illness Prevention**. 2011. 28 p.

CARSON, C. How essentials oils work. *In*: BUCKLE, J. (ed). **Clinical aromatherapy essential oils in healthcare**. 3rd ed. Saint Louis: Elsevier, 2015. p. 15-36.

CELIK, S.; OZKAYA, A. Effects of intraperitoneally administered lipoic acid, vitamin E, and linalool on the level of total lipid and fatty acids in guinea pig brain with oxidative stress induced by H₂O₂. **J. Biochem. Mol. Biol.**, v. 35, n. 6, p. 547-552, nov. 2002.

CHA, S. J.; KIM, H.; CHOI, H. J.; LEE, S.; KIM, K. Protein glutathionylation in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1-9, 2017.

CLEARE, J. A. Biological Models of Unipolar Depression. *In*: POWER, M. (ed). **Mood Disorders: A Handbook of Science and Practice**. Chichester: Wiley & Sons, 2004. p. 29-46.

COBB, J. A.; SIMPSON, J.; MAHAJAN, G. J.; OVERHOLSER, J. C.; JURJUS, G. J.; DIETER, L.; HERBST, N.; MAY, W.; RAJKOWSKA, G.; STOCKMEIER, C. A. Hippocampal volume and total cell numbers in major depressive disorder. **Journal of Psychiatric Research**, v. 47, n. 3, p. 299-306, mar. 2013.

COLLINS, M. A.; NEAFSEY, E. J. Ethanol and adult CNS neurodamage: oxidative stress, but possibly not excitotoxicity. **Frontiers in Bioscience**, v. 4, n. 4, p. 1358-1367, jan. 2012.

COMMITTEE FOR THE UPDATE OF THE GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS. **Guide for the care and use of laboratory animals**. 8th ed. Washington: National Academies Press, 2011.

CONTIM, L. A. S.; CARVALHO, C. R.; MARTINS, F. A.; FREITAS, D. V. Nuclear DNA content and karyotype of rosewood (*Aniba rosaeodora*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 28, n. 4, p. 754-757, dec. 2005.

COOKSLEY, V. **Aromatherapy: A Lifetime Guide to Healing With Essential Oils**. Paramus: Prentice-Hall, 1996.

COVID-19 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS. Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. **The Lancet**, v. 398, n. 10312, p. 1700-1712, nov. 2021.

CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 5, p. 238-245, may. 2002.

CREGO, A.; RODRIGUEZ-HOLGUÍN, S.; PARADA, M.; MOTA, N.; CORRAL, M.; CADAVEIRA, F. Reduced anterior pré-frontal cortex activation in young binge drinkers during a visual working memory task. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 109, n. 1-3, p. 45-56, jun. 2010.

DANIYAN, M. O.; ADEYIPO, T. F.; OYEMITAN, I. A.; OKWUESE, P. B.; EKUNDINA, V. O.; AKANMU, M. A. *In vivo* and *in silico* studies of *Dennettia tripetala* essential oil reveal the potential harmful effects of habitual consumption of the plant seed. **Toxicology reports**, v. 8, p. 1488-1497, aug. 2021.

DE LUCENA, J. D.; GADELHA-FILHO, C. V. J.; DA COSTA, R. O.; DE ARAÚJO, D. P.; LIMA, F. A. V.; NEVES, K. R. T.; DE BARROS VIANA, G. S. L-linalool exerts a neuroprotective action on hemiparkinsonian rats. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, v. 393, n. 6, p. 1077-1088, jun. 2020.

DENG, J.; CHENG, W.; YANG, G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1430-1435, 2011.

DJALALI, S.; HOLTJE, M.; GROSSE, G.; ROTHE, T.; STROH, T.; GROSSE, J.; DENG, D. R.; HELLWEG, R.; GRANTYN, R.; HORTNAGL, H.; AHNERT-HILGER, G. Effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on glial cells and serotonergic neurones during development. **Journal of Neurochemistry**, v. 92, n. 3, p. 616-627, feb. 2005.

DONG, X.-X.; WANG, Y.; QIN, Z.-H. Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 30, n. 4, p. 379-387, apr. 2009.

DOS SANTOS, V. R. N.; FERREIRA, M. K. M.; BITTENCOURT, L. O.; MENDES, P. F. S.; SOUZA-MONTEIRO, D.; BALBINOT, K. M.; PINHEIRO, J. DE J. V.; CHARONE, S.; PESSAN, J. P.; LIMA, R. R. Maternal fluoride exposure exerts different toxicity patterns in parotid and submandibular glands of offspring rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 13, p. 1-13, jun. 2022.

DOS SANTOS, V. R. N.; FRAZÃO, D. R.; FERREIRA, R. DE O.; MENDES, P. F. S.; BAIA-DA-SILVA, D. C.; SOUZA-MONTEIRO, D.; BITTENCOURT, L. O.; DE MOURA, J. D. M.; PERDIGÃO, J. M.; TEIXEIRA, B. J. B.; VARELA, E. L. P.;

BALBINOT, G. DE S.; PERCÁRIO, S.; ROGEZ, H.; RÖSING, C. K.; COLLARES, F. M.; LIMA, R. R. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) attenuates oxidative stress and alveolar bone damage in experimental periodontitis in rats. **Antioxidants**, v. 11, n. 10, p. 1-13, sep. 2022.

DUAN, L.; SHAO, X.; WANG, Y.; HUANG, Y.; MIAO, J.; YANG, X.; ZHU, G. An investigation of mental health status of children and adolescents in china during the outbreak of COVID-19. **Journal of Affective Disorders**, v. 275, p. 112-118, oct. 2020.

DUARTE, A.; LUIS, A.; OLEASTRO, M.; DOMINGUES, F. C. Antioxidant properties of coriander essential oil and linalool and their potential to control *Campylobacter* spp. **Food Control**, v. 61, p. 115-122, mar. 2016.

DUMAN, R. S. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. **European Psychiatry**, v. 17, Suppl. 3, p. 306-310, jul. 2002.

DUMAN, R. S.; LI, N. A neurotrophic hypothesis of depression: role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists. **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.**, v. 367, n. 1601, p. 2475-2484, sep. 2012.

ELGENDY, E. M. Photooxygenation of natural α -terpinene. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v. 143, n. 9, p. 337-339, nov. 2004.

ELGENDY, E. M.; SEMEIH, M. Y. Phyto-monoterpene linalool as precursor to synthesis epoxides and hydroperoxides as anti carcinogenic agents via thermal and photo chemical oxidation reactions. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 966-973, nov. 2019.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 82, n. 1, p. 70-77, may. 1959.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY. **Linalool: Acute Toxicity**. Helsinque, 2023. Disponível em: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14501/7/3/1>. Acesso em: 10 maio 2023.

FADDA, F.; ROSSETTI, Z.L. Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. **Progress in Neurobiology**, v. 56, n. 4, p. 385-431, nov. 1998.

FARRAR, A. J.; FARRAR, F. C. Clinical aromatherapy. **The Nursing clinics of North America**, v. 55, n. 4, p. 489-504, dec. 2020.

FELGER, J. C.; LOTRICH, F. E. Inflammatory cytokines in depression: Neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience*, v. 246, n. 199-229, 2013.

FERNANDES, L. M. P.; CARTÁGENES, S. C.; BARROS, M. A.; CARVALHEIRO, T. C. V. S.; CASTRO, N. C. F.; SCHAMNE, M. G.; LIMA, R. R.; PREDIGER, R. D.; MONTEIRO, M. C.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; CUNHA, R. A.; MAIA, C. S. F. Repeated cycles of binge-like ethanol exposure induce immediate and delayed

neurobehavioral changes and hippocampal dysfunction in adolescent female rats. **Behavioural Brain Research**, v. 350, p. 99-108, sep. 2018.

FERNANDES, L. M. P.; LOPES, K. S.; SANTANA, L. N. S.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; RIBEIRO, C. H. M. A.; SILVA, M. C. F.; PARAENSE, R. S. O.; CRESPO-LÓPEZ, M. E.; GOMES, A. R. Q.; LIMA, R. R.; MONTEIRO, M. C.; MAIA, C. S. F. Repeated cycles of binge-like ethanol intake in adolescent female rats induce motor function impairment and oxidative damage in motor cortex and liver, but not in blood. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1-14, sep. 2018.

FERRARI, F.; VILLA, R. F. The neurobiology of depression: an integrated overview from biological theories to clinical evidence. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 7, p. 4847-4865, sep. 2017.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. **Lauraceae**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB78444>. Acesso em: 22 set. 2023.

FLORES-BONILLA, A; RICHARDSON, H. N. Sex differences in the neurobiology of alcohol use disorder. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 40, n. 2, p. 4, oct. 2020.

FRANKLIN, T. C.; XU, C.; DUMAN, R. S. Depression and sterile inflammation: Essential role of danger associated molecular patterns. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 72, p. 2-13, aug. 2018.

FREEMAN, M.; AYERS, C.; PETERSON, C.; KANSAGARA, D. **Aromatherapy and Essential Oils: A Map of the Evidence**. Washington: Department of Veterans Affairs, 2019.

FREITAS, A. E.; MACHADO, D. G.; BUDNI, J.; NEIS, V. B.; BALEN, G. O.; LOPES, M. W.; SOUZA, L. F.; DAFRE, A. L.; LEAL, R. B.; RODRIGUES, A. L. S. Fluoxetine modulates hippocampal cell signaling pathways implicated in neuroplasticity in olfactory bulbectomized mice. **Behavioural Brain Research**, v. 237, p. 176-184, jan. 2013.

GATTEFOSSE, R. M. **Gattefosse's Aromatherapy: The First Book on Aromatherapy**. Saffron Walden: CW Daniel, 1993. 176 p.

GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **Lancet Psychiatry**, v. 9, n. 2, p. 137-150, feb. 2022.

GODOS, J.; CURRENTI, W.; ANGELINO, D.; MENA, P.; CASTELLANO, S.; CARACI, F.; GALVANO, F.; DEL RIO, D.; FERRI, R.; GROSSO, G. Diet and mental health: review of the recent updates on molecular mechanisms. **Antioxidants**, v. 9, n. 4, p. 346, apr. 2020.

GOLD, P. W.; MACHADO-VIEIRA, R.; PAVLATOU, M. G. Clinical and biochemical manifestations of depression: relation to the neurobiology of stress. **Neural Plasticity**, v. 2015, p. 1-11, 2015.

GOSHEN, I.; KREISEL, T.; OUNALLAH-SAAD, H.; RENBAUM, P.; ZALZSTEIN, Y.; BEN-HUR, T.; LEVY-LAHAD, E.; YIRMIYA, R. A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes. **Psychoneuroendocrinology**, v. 32, n. 8-10, p. 1106-1115, 2007.

GOTTLIEB, O. R.; FINEBERG, M.; GUIMARÃES, M. L.; MAGALHÃES, M. T.; MARAVALHAS, M. Notes on brazilian rosewood. **Perfumery and Essential Oil**, v. 55, n. 4, p. 253-257, 1964.

GRANT, B. F.; STINSON, F. S.; DAWSON, D. A.; CHOU, S. P.; DUFOUR, M. C.; COMPTON, W.; PICKERING, R. P.; KAPLAN, K. Prevalence and co-occurrence of substance use disorders and independent mood and anxiety disorders: results from the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions. **Archives of General Psychiatry**, v. 61, n. 8, p. 807-816, aug. 2004.

GUNASEELAN, S.; BALUPILLAI, A.; GOVINDASAMY, K.; RAMASAMY, K.; MUTHUSAMY, G.; SHANMUGAM, M.; THANGAIYAN, R.; ROBERT, B. M.; PRASAD, N. R.; PONNIRESAN, V. K.; RATHINARAJ, P. Linalool prevents oxidative stress activated protein kinases in single UVB-exposed human skin cells. **PLoS One**, v. 12, n. 5, p. 1-20, may. 2017.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, feb. 2006.

GUZMAN-GUTIERREZ, S. L.; GOMEZ-CANSINO, R.; GARCIA-ZEBADUA, J. C.; JIMENEZ-PEREZ, N. C.; REYES-CHILPA, R. Antidepressant activity of *Litsea glaucescens* essential oil: identification of β -pinene and linalool as active principles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 673-679, sep. 2012.

GUZMAN-GUTIERREZ, S. L.; BONILLA-JAIME, H.; GOMEZ-CANSINO, R.; REYES-CHILPA, R. Linalool and β -pinene exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway. **Life Sciences**, v. 128, p. 24-29, may. 2015.

HAUSER, S. R.; GETACHEW, B.; TAYLOR, R. E.; TIZABI, Y. Alcohol induced depressive-like behavior is associated with a reduction in hippocampal BDNF. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 100, n. 2, p. 253-258, dec. 2011.

HE, F.; ANTONUCCI, L.; KARIN, M. NRF2 as a regulator of cell metabolism and inflammation in cancer. **Carcinogenesis**, v. 41, n. 4, p. 405-416, jun. 2020.

HER, J.; CHO, M.-K. Effect of aromatherapy on sleep quality of adults and elderly people: A systematic literature review and meta-analysis. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 60, aug. 2021.

HERRMAN, H.; PATEL, V.; KIELING, C.; BERK, M.; BUCHWEITZ, C.; CUIJPERS, P.; FURUKAWA, T. A.; KESSLER, R. C.; KOHRT, B. A.; MAJ, M.; MCGORRY, P.;

REYNOLDS, C. F.; WEISSMAN, M. M.; CHIBANDA, D.; DOWRICK, C.; HOWARD, L. M.; HOVEN, C. W.; KNAPP, M.; MAYBERG, H. S.; PENNINX, B. W. J. H.; XIAO, S.; TRIVEDI, M.; UHER, R.; VIJAYAKUMAR, L.; WOLPERT, M. Time for united action on depression: a Lancet-World Psychiatric Association Commission. **Lancet**, v. 399, n. 10328, p. 957-1022, mar. 2022.

HOFERL, M.; KRIST, S.; BUCHBAUER, G. Chirality influences the effects of linalool on physiological parameters of stress. **Planta Medica**, v. 72, n. 13, p. 1188-1192, 2006.

HOSSAIN, M. M.; TASNIM, S.; SULTANA, A.; FAIZAH, F.; MAZUMDER, H.; ZOU, L.; MCKYER, E. L. J.; AHMED, H. U.; MA, P. Epidemiology of mental health problems in COVID-19: a Review. **F1000Research**, v. 9, p. 1-16, jun. 2020.

HOSSEINI, M.; BOSKABADY, M. H.; KHAZDAIR, M. R. Neuroprotective effects of *Coriandrum sativum* and its constituent, linalool: a review. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 11, n. 5, p. 436-450, oct. 2021.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, mar. 2005.

HUO, M.; CUI, X.; XUE, J.; CHI, G.; GAO, R.; DENG, X.; GUAN, S.; WEI, J.; SOROMOU, L. W.; FENG, H.; WANG, D. Anti-inflammatory effects of linalool in RAW 264.7 macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model. **Journal of Surgical Research**, v. 180, n. 1, p. e47-e54, mar. 2013.

ILC, T.; PARAGE, C.; BOACHON, B.; NAVROT, N.; WERCK-REICHHART, D. Monoterpenol oxidative metabolism: Role in plant adaptation and potential applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1-16, apr. 2016.

ILLUM, L. Is nose-to-brain transport of drugs in man a reality? **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 56, n. 1, p. 3-17. Jan. 2004

ISINGRINI, E.; CAMUS, V.; LE GUIQUET, A. M.; PINGAUD, M.; DEVERS, S.; BELZUNG, C. Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. **PloS One**, v. 5, n. 4, p. 1-8, apr. 2010.

JACOBUS, J.; TAPERT, S. F. Neurotoxic effects of alcohol in adolescence. **Annual Review of Clinical Psychology**, v. 9, n. 1, p. 703-721, 2013.

JESULOLA, E.; MICALOS, P.; BAGULEY, I. J. Understanding the pathophysiology of depression: from monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? **Behavioural Brain Research**, v. 341, p. 79-90, apr. 2018.

JONES, E. A. K.; MITRA, A. K.; BHUIYAN, A. R. Impact of COVID-19 on mental health in adolescents: a systematic review. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 18, n. 5, p. 1-9, mar. 2021.

KESSLER, R. C.; BROMET, E. J. The epidemiology of depression across cultures. **Annual Review of Public Health**, v. 34, p. 119-138, 2013.

KIM, I-H.; KIM, C.; SEONG, K.; HUR, M-H.; LIM, H. M.; LEE, M. S. Essential oil inhalation on blood pressure and salivary cortisol levels in prehypertensive and hypertensive subjects. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, v. 2012, p. 1-9, 2012.

KIZAK, V.; CAN, E.; DANABAŞ, D.; CAN, Ş. S. Evaluation of anesthetic potential of rosewood (*Aniba rosaeodora*) oil as a new anesthetic agent for goldfish (*Carassius auratus*). **Aquaculture**, v. 493, p. 296-301, aug. 2018.

KOHN, H. I.; LIVERSEDGE, M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 82, n. 3, p. 292-300, nov. 1944.

KROKSMARK, H.; VINBERG, M. Does S100B have a potential role in affective disorders? A literature review. **Nordic Journal of Psychiatry**, v. 72, n. 7, p. 1-9, oct. 2018.

KUBITZKI, K.; RENNER, S. **Lauraceae I (Aniba and Aiouea)**. Flora Neotropica. Monograph 31. New York: New York Botanical Garden, 1982. 125.

LAMARÃO-VIEIRA, K.; PAMPLONA-SANTOS, D.; NASCIMENTO, P. C.; CORRÊA, M. G.; BITTENCOURT, L. O.; DOS SANTOS, S. M.; CARTÁGENES, S. C.; FERNANDES, L. M. P.; MONTEIRO, M. C.; MAIA, C. S. F.; LIMA, R. R. Physical exercise attenuates oxidative stress and morphofunctional cerebellar damages induced by the ethanol binge drinking paradigm from adolescence to adulthood in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 1-14, feb. 2019.

LANGHE, U.; SINGH, S. Targeting S100B protein as a surrogate biomarker and its role in various neurological disorders. **Current Neuropharmacology**, v. 19, n. 2, p. 265-277, 2021.

LAUING, K.; HIMES, R.; RACHWALSKI, M.; STROTMAN, P.; CALLACI, J. J. Binge alcohol treatment of adolescent rats followed by alcohol abstinence is associated with site-specific differences in bone loss and incomplete recovery of bone mass and strength. **Alcohol.**, v. 42, n. 8, p. 649-656, dec. 2008.

LAWLESS, J. **The encyclopedia of essential oils**. London: Thorsons, 2002.

LEE, B. K.; JUNG, A. N.; JUNG, Y-S. Linalool ameliorates memory loss and behavioral impairment induced by REM-sleep deprivation through the serotonergic pathway. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 26, n. 4, p. 368-373, jul. 2018.

LEE, S.-C.; WANG, S.-Y.; LI, C.-C.; LIU, C.-T. Anti-inflammatory effect of cinnamaldehyde and linalool from the leaf essential oil of *Cinnamomum osmophloeum* Kanehira in endotoxin-induced mice. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 1, p. 211-220, jan. 2018.

LEICHSENDRING, F.; STEINERT, C.; HOYER, J. Psychotherapy versus pharmacotherapy of depression: What's the evidence? **Z Psychosom. Med. Psychother.**, v. 62, n. 2, p. 190-195, 2016.

LEONARD, B. E. Impact of inflammation on neurotransmitter changes in major depression: an insight into the action of antidepressants. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 48, p. 261-267, jan. 2014.

LETIZIA C. S.; COCCHIARA, J.; LALKO, J.; API, A. M. Fragrance material review on linalool. **Food Chem. Toxicol.**, v. 41, n. 7, p. 943-964, jul. 2003.

LI, Y.; LV, O.; ZHOU, F.; LI, Q.; WU, Z.; ZHENG, Y. Linalool inhibits LPS-induced inflammation in BV2 microglia cells by activating Nrf2. **Neurochem. Res.**, **2015**, 40(7), 1520-1525.

LI, W.; ZHANG, Y.; WANG, J.; OZAKI, A.; WANG, Q.; CHEN, Y.; JIANG, Q. Association of home quarantine and mental health among teenagers in Wuhan, China, during the COVID-19 pandemic. **JAMA Pediatrics**, v. 175, n. 3, p. 313-316, mar. 2021.

LIANG, S.; WU, Y.; HANXIAORAN, L.; GREENSHAW, A. J.; LI, T. Anhedonia in depression and schizophrenia: brain reward and aversion circuits. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 18, p. 1385-1396, jul. 2022.

LINDTNER, C.; SCHERER, T.; ZIELINSKI, E.; FILATOVA, N.; FASSHAUER, M.; TONKS, N. K.; PUCHOWICZ, M.; BUETTNER, C. Binge drinking induces whole-body insulin resistance by impairing hypothalamic insulin action. **Science Translational Medicine**, v. 5, n. 170, p. 1-26, jan. 2013.

LISDAHL, K. M.; THAYLER, R.; SQUEGLIA, L. M.; TAPER, S. F. Recent binge drinking predicts smaller cerebellar volumes in adolescents. **Psychiatry Research**, v. 211, n. 1, p. 17-23, jan. 2013.

LIU, W.; GE, T.; LENG, Y.; PAN, Z.; FAN, J.; YANG, W.; CUI, R. The role of neural plasticity in depression: From hippocampus to prefrontal cortex. **Neural Plasticity**, 2017, p. 1-11, 2017.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, dec. 2001.

LOCHHEAD, J. J.; THORNE, R. G. Intranasal delivery of biologics to the central nervous system. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 7, p. 614-628, may. 2012.

LÓPEZ, V.; NIELSEN, B.; SOLAS, M.; RAMIREZ, M. J.; JAGER, A. K. Exploring pharmacological mechanisms of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on central nervous system targets. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, n. 280, p. 1-8, may. 2017.

LUZ, D. A.; CARTÁGENES, S. C.; DA SILVEIRA, C. C. S. M.; PINHEIRO, B. G.; FERRARO, K. M. M. M.; FERNANDES, L. M. P.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; MAIA, C. D. S. F. Methylmercury plus Ethanol Exposure: How Much Does This Combination Affect Emotionality? **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 23, p. 1-15, dec. 2021.

LV, X. N.; LIU, Z. J.; ZHANG, H.J.; TZENG, C. M. Aromatherapy and the central nerve system (CNS): therapeutic mechanism and its associated genes. **Current Drug Targets**, v. 14, n. 8, p. 872-879, jul. 2013.

MABBERLEY, D. J. **The plant-book**: A portable dictionary of the higher plants. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 706 p.

MACLENNAN, A. J.; LEE, N.; WALKER, D. W. Chronic ethanol administration decreases brain-derived neurotrophic factor gene expression in the rat hippocampus. **Neuroscience Letters**, v. 197, n. 2, p. 105-108, sep. 1995.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; COUTO, H. A. R.; MARX, F.; HENKE, C. Plant sources of Amazon rosewood oil. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1906-1910, 2007.

MANJI, H. K.; DREVETS, W. C.; CHARNEY, D. S. The cellular neurobiology of depression. **Nature Medicine**, v. 7, n. 5, p. 541-547, may. 2001.

MARQUES, C. A. Importância econômica da família Lauraceae Lindl. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 195-206, jan. 2001.

MAYNE, S. T. Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 933S-940S, mar. 2003.

MAZANI, M.; REZAGHOLIZADEH, L.; SHAMSI, S.; MAHDAVIFARD, S.; OJARUDI, M.; SALIMNEJAD, R.; SALIMI, A. Protection of CCl₄-induced hepatic and renal damage by linalool. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 3, p. 963-971, may. 2022.

MCHUGH, R. K.; WEISS, R. D. Alcohol use disorder and depressive disorders. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 40, n. 1, p. e1-e8, jan. 2019.

MEHRI, S.; MESHKI, M. A.; HOSSEINZADEH, H. Linalool as a neuroprotective agent against acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rats. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 2, p. 162-166, apr. 2015.

MELO, E. M.; SILVA, D. V. N.; MARTINS, J. G.; VEIGA, D. P.; PEREIRA, P. M.; CRUZ, R. C. R.; ALMEIDA-JUNIOR, S. Mini-revisão sobre óleos essenciais utilizados na aromaterapia e sua ação farmacológica. *In*: ALMEIDA-JUNIOR, S. (org.). **Produtos naturais e suas aplicações**. 1. ed. Guarujá: Científica Digital, 2021. p. 143-155.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84, n. 4, p. 407-412, apr. 1993.

MILLER, A. H.; RAISON, C. L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. **Nature Reviews. Immunology**, v. 16, n. 1, p. 22-34, jan. 2016.

MOFFITT, T. E.; CASPI, A.; TAYLOR, A.; KOKAUA, J.; MILNE, B. J.; POLANCZYK, G.; POULTON, R. How common are common mental disorders? Evidence that lifetime prevalence rates are doubled by prospective versus retrospective ascertainment. **Psychological Medicine**, v. 40, n.6, p. 899-909, jun. 2010.

MONDELLO, L. **FFNSC 2: Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds 2**, Mass Spectral Database. 2nd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011.

MONTESINOS, J.; PASCUAL, M.; PLA, A.; MALDONADO, C.; RODRIGUEZ-ARIAS, M.; MINARRO, J.; GUERRI, C. TLR4 elimination prevents synaptic and myelin alterations and long-term cognitive dysfunctions in adolescent mice with intermittent ethanol treatment. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 45, p. 233-244, mar. 2015.

NAKAMURA, A.; FUJIWARA, S.; ISHIJIMA, T.; OKADA, S.; NAKAI, Y.; MATSUMOTO, I.; MISAKA, T.; ABE, K. Neuron differentiation-related genes are up-regulated in the hypothalamus of odorant-inhaling rats subjected to acute restraint stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 7922-7929, jul. 2010.

NASCIMENTO, C. P.; LUZ, D. A.; DA SILVA, C. C. S.; MALCHER, C. M. R.; FERNANDES, L. M. P.; DALLA SANTA, H. S.; GOMES, A. R. Q.; MONTEIRO, M. C.; RIBEIRO, C. H. M. A.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; MAIA, C. S. F. *Ganoderma lucidum* ameliorates neurobehavioral changes and oxidative stress induced by ethanol binge drinking. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1-12, jul. 2020.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (NIST). **Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH, v. 2.0d)**. Gaithersburg: The NIST Mass Spectrometry Data Center, 2014.

NATTUDURAI, G.; BASKAR, K.; PAULRAJ, M. G.; ISLAM, V. I. H.; IGNACIMUTHU, S.; DURAI PANDIYAN, V. Toxic effect of *Atalantia monophylla* essential oil on *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus oryzae*. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 24, n. 2, p. 1619-1629, jan. 2017.

NG, A.; TAM, W. W.; ZHANG, M. W.; HO, C. S.; HUSAIN, S. F.; MCINTYRE, R. S.; HO, R. C. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in elderly patients with depression or alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-12, aug. 2018.

OHASHI, S. T.; ROSA, L. S.; SANTANA, J. A. Brazilian rosewood oil: sustainable production and oil quality management. **Perfumer & Flavorist**, v. 22, p. 1-4, 1997.

ONER, Z.; ALTINOZ, E.; ELBE, H.; EKINCI, N. The protective and therapeutic effects of linalool against doxorubicin-induced cardiotoxicity in Wistar albino rats. **Human and Experimental Toxicology**, v. 38, n. 7, p. 803-813, jul. 2019.

ORAFIDIYA, L. O.; AGBANI, E. O.; IWALEWA, E. O.; ADELUSOLA, K. A. A.; OYEDAPO, O. O. Studies on the acute and sub-chronic toxicity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. leaf. **Phytomedicine**, v. 11, n. 1, p. 71-76, jan. 2004.

ÖZLÜ, Z. K.; KLİNÇ, T.; ÖZLÜ, İ.; ÜNAL, H.; TORAMAN, R. L. The relationship between individuals' use of complementary and alternative medicine during the pandemic in Turkey and their attitudes towards perceived COVID-19 risk. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 56, p. 1-6, dec. 2022.

PARDESHI, C. V.; BELGAMWAR, V. S. Direct nose to brain drug delivery via integrated nerve pathways bypassing the blood–brain barrier: an excellent platform for brain targeting. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 10, n. 7, p. 957-972, jul. 2013.

PARK, H.; SEOL, G. H.; RYU, S.; CHOI, I-Y. Neuroprotective effects of (-)-linalool against oxygen-glucose deprivation-induced neuronal injury. **Archives of Pharmacal Research**, v. 39, n. 4, p. 555-564, apr. 2016.

PASCUAL, M.; MONTESINOS, J.; MARCOS, M.; TORRES, J. L.; COSTA-ALBA, P.; GARCÍA-GARCÍA, F.; LASO, F. J.; GUERRI, C. Gender differences in the inflammatory cytokine and chemokine profiles induced by binge ethanol drinking in adolescence. **Addiction Biology**, v. 22, n. 6, p. 1829-1841, nov. 2017.

PASCUAL, M.; MONTESINOS, J.; GUERRI, C. Role of the innate immune system in the neuropathological consequences induced by adolescent binge drinking. **Journal of Neuroscience Research**, v. 96, n. 5, p. 765-780, may. 2018.

PATTEN, S. B.; WILLIAMS, J. V.; LAVORATO, D. H.; BULLOCH, A. G.; D'ARCY, C.; STREINER, D. L. Recall of recent and more remote depressive episodes in a prospective cohort study. **Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.**, v. 47, n. 5, p. 691-696, may. 2012.

PAUDEL, Y. N.; SHAIKH, M. F.; SHAH, S.; KUMARI, Y.; OTHMAN, I. Role of inflammation in epilepsy and neurobehavioral comorbidities: Implication for therapy. **European Journal of Pharmacology**, v. 837, p. 145-155, oct. 2018.

PAYKEL, E. S. The evolution of life events research in psychiatry. **Journal of Affective Disorders**, v. 62, n. 3, p. 141-149, feb. 2001.

PERCARIO, S.; VITAL, A. C. C.; JABLONKA, F. Dosagem do malondialdeído. **NewsLab**, v. 2, n. 6, p. 46-50, 1994.

PEREIRA, I.; SEVERINO, P.; SANTOS, A. C.; SILVA, A. M.; SOUTO, E. B. Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B, Biointerfaces**, v. 171, p. 566–578, nov. 2018.

PETERSON, A.; BANSAL, A.; HOFMAN, F.; CHEN, T. C.; ZADA, G. A systematic review of inhaled intranasal therapy for central nervous system neoplasms: an emerging therapeutic option. **Journal of Neuro-oncology**, v. 116, n. 3, p. 437-446, feb. 2014.

PETIT, G.; KORNREICH, C.; VERBANCK, P.; CIMOCHOWSKA, A.; CAMPANELLA, S. Why is adolescence a key period of alcohol initiation and who is prone to develop long-term problem use? A review of current available data. **Socioaffective Neuroscience & Psychology**, v. 3, n. 1, p. 1-14, dec. 2013.

PILATTI, A.; ETKIN, P.; PARRA, E. U.; PAUTASSI, R. M. Association between attendance to pregame events and alcohol-related consequences in argentinean youth. **Health and Addictions**, v. 18, n. 1, p. 5-16, 2018.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-732, apr. 1977.

PRENDERGAST, M. A.; HARRIS, B. R.; MULLHOLLAND, P. J.; BLANCHARD, J. A.; GIBSON, D. A.; HOLLEY, R. C.; LITTLETON, J. M. Hippocampal CA1 region neurodegeneration produced by ethanol withdrawal requires activation of intrinsic polysynaptic hippocampal pathways and function of N-methyl-d-aspartate receptors. **Neuroscience**, v. 124, n. 4, p. 869-877, 2004.

PREEDY, V.; WATSON, R. R. **Comprehensive Handbook of Alcohol Related Pathology**. 1st ed. Oxford: Academic Press, 2004. 2192 p.

PREEDY, V. R. **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. London: Academic Press, 2015. 930 p.

PRICE, S.; PRICE, L. **Aromatherapy for health professionals**. 2nd ed. London: Churchill Livingstone, 1999. 394 p.

QUEIROZ, L. Y.; DE OLIVEIRA, I. G.; CARTÁGENES, S. C.; FERNANDES, L. M. P.; DOS SANTOS, S. M.; FERREIRA, W. A. S.; MELLO JUNIOR, F. A. R.; BITTENCOURT, L. O.; PAIVA, E. B. C.; BURBANO, R. M. R.; DE OLIVEIRA, E. H. C.; MONTEIRO, M. C.; LIMA, R. R.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; MAIA, C. D. S. F. Repeated cycles of binge-like ethanol exposure induces neurobehavioral changes during short- and long-term withdrawal in adolescent female rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 1-11, oct. 2022.

RAGUSO, R. A. More lessons from linalool: insights gained from a ubiquitous floral volatile. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 32, p. 31-36, aug. 2016.

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

RAMSEY, J. T.; SHROPSHIRE, B. C.; NAGY, T. R.; CHAMBERS, K. D.; LI, Y.; KORACH, K. S. Essential oils and health. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 93, n. 2, p. 291-305, jun. 2020.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603-613, may. 2001.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. (9-10), p. 1231-1237, may. 1999.

REN, G.; XUE, P.; SUN, X.; ZHAO, G. Determination of the volatile and polyphenol constituents and the antimicrobial, antioxidant, and tyrosinase inhibitory activities of the bioactive compounds from the by-product of *Rosa rugosa* Thunb. var. plena Regal tea. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 18, n. 1, p. 1-9, nov. 2018.

RIVIER, C. Alcohol stimulates ACTH secretion in the rat: mechanisms of action and interactions with other stimuli. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 20, n. 2, p. 240-254, apr. 1996.

RODRIGUES, A. D. N.; DA SILVA, D. C. B.; BAIA-DA-SILVA, D. C.; MENDES, P. F. S.; FERREIRA, M. K. M.; ROCHA, G. S.; FREIRE, M. A. M.; FERNANDES, L. M. P.; MAIA, C. D. S. F.; GOMES-LEAL, W.; LIMA, R. R. Aerobic physical training attenuates oxidative stress in the spinal cord of adult rats induced by binge-like ethanol intake. **Antioxidants**, v. 12, n. 5, p. 1-14, may. 2023.

SABOGAL-GUAQUETA, A. M.; OSORIO, E.; CARDONA-GOMEZ, G. P. Linalool reverses neuropathological and behavioral impairments in old triple transgenic Alzheimer's mice. **Neuropharmacology**, v. 102, p. 111-120, 2016.

SABOGAL-GUAQUETA, A. M.; HOBBIE, F.; KEERTHI, A.; OUN, A.; KORTHOLT, A.; BODDEKE, E.; DOLGA, A. Linalool attenuates oxidative stress and mitochondrial dysfunction mediated by glutamate and NMDA toxicity. **Biomed. Pharmacother.**, v. 118, p. 1-12, oct. 2019.

SAMPAIO, P. T. B.; FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C. Pau-rosa: *Aniba rosaeodora* Ducke Lauraceae. In: FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C. (ed.). **Manual de sementes da Amazônia**. Manaus: INPA, 2003. p. 1-6.

SAMPAIO, L. F. S.; MAIA, J. G. S.; PARIJÓS, A. M.; SOUZA, R. Z.; BARATA, L. E. S. Linalool from rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) oil inhibits adenylate cyclase in the retina, contributing to understanding its biological activity. **Phytotherapy Research: PTR**, v. 26, n. 1, p. 73-77, jan. 2012.

SÁNCHEZ-VIDAÑA, D. I.; PO, K. K.-T.; FUNG, T. K.-H.; CHOW, J. K.-W.; LAU, W. K.-W.; SO, P.-K.; LAU, B. W.-M.; TSANG, H. W.-H. Lavender essential oil ameliorates depression-like behavior and increases neurogenesis and dendritic complexity in rats. **Neuroscience Letters**, v. 701, p. 180-192, may. 2019.

SANTOS, E. R. Q.; MAIA, C. S. F.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; MELO, A. S.; PINHEIRO, B. G.; MAIA, J. G. S. Linalool-rich essential oils from the Amazon display antidepressant-type effect in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 43-49, feb. 2018.

SANTOS, E. R. Q.; MAIA, J. G. S.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; MAIA, C. S. F. Linalool as a therapeutic and medicinal tool in depression treatment: A review. **Current Neuropharmacology**, v. 20, n. 6, p. 1073-1092, 2022.

SATTAYAKHOM, A.; WICHIT, S.; KOOMHIN, P. The effects of essential oils on the nervous system: A scoping review. **Molecules**, v. 28, n. 9, p. 1-23, apr. 2023.

SCHROETER, M.; SACHER, J.; STEINER, J.; SCHOENKNECHT, P.; MUELLER, K. Serum S100B represents a new biomarker for mood disorders. **Current Drug Targets**, v. 14, n. 11, p. 1237-1248, oct. 2013.

SHARMA, A. N.; DA COSTA E SILVA, B. F.; SOARES, J. C.; CARVALHO, A. F.; QUEVEDO, J. Role of trophic factors GDNF, IGF-1 and VEGF in major depressive disorder: A comprehensive review of human studies. **Journal of Affective Disorders**, v. 197, p. 9-20, jun. 2016.

SINGH, B. K.; CHAUDHARI, A. K.; DAS, S.; TIWARI, S.; MAURYA, A.; SINGH, V. K.; DUBEY, N. K. Chitosan encompassed *Aniba rosaeodora* essential oil as innovative green candidate for antifungal and antiaflatoxigenic activity in millets with emphasis on cellular and its mode of action. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1-19, aug. 2022.

SIQUEIRA, R. J.; RODRIGUES, K. M.; DA SILVA, M. T.; CORREIA JUNIOR, C. A.; DUARTE, G. P.; MAGALHÃES, P. J.; DOS SANTOS, A. A.; MAIA, J. G.; DA CUNHA, P. J.; LAHLOU, S. Linalool-rich rosewood oil induces vago-vagal bradycardic and depressor reflex in rats. **Phytotherapy Research: PTR**, v. 28, n.1, p. 42-48, jan. 2014.

SMITH, M. C.; KYLE, L. Holistic foundations of aromatherapy for nursing. **Holistic Nursing Practice**, v. 22, n. 1, p. 3-9, jan. 2008.

SORCI, G.; BIANCHI, R.; RIUZZI, F.; TUBARO, C.; ARCURI, C.; GIAMBANCO, I.; DONATO, R. S100B protein, a damage-associated molecular pattern protein in the brain and heart, and beyond. **Cardiovascular Psychiatry and Neurology**, v. 2010, p. 1-13, 2010.

SPEAR, L. P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 4, p. 417-463, jun. 2000.

STASHENKO, E. E.; MARTINEZ, J. R. Sampling flower scent for chromatographic analysis. **Journal of Separation Science**, v. 31, n. 11, p. 2022-2031, jun. 2008.

STOSCHECK, C. M. Quantitation of protein. **Methods in Enzymology**, v. 182, p. 50-68, 1990.

SUGAWARA, Y.; SHIGETHO, A.; YONEDA, M.; TUCHIYA, T.; MATUMURA, T.; HIRANO, M. Relationship between mood change, odour and its physiological effects in humans while inhaling the fragrances of essential oils as well as linalool and its enantiomers. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 3312-3338, mar. 2013.

TAPIA-ARANCIBIA, L.; RAGE, F.; GIVALOIS, L.; DINGEON, P.; ARANCIBIA, S.; BEAUGE, F. Effects of alcohol on brain-derived neurotrophic factor mRNA expression in discrete regions of the rat hippocampus and hypothalamus. **Journal of Neuroscience Research**, v. 63, n. 2, p. 200-208, jan. 2001.

TAPIA-ROJAS, C.; CARVAJAL, F. J.; MIRA, R. G.; ARCE, C.; LERMA-CABRERA, J. M.; ORELLANA, J. A.; CERPA, W.; QUINTANILLA, R. A. Adolescent binge alcohol exposure affects the brain function through mitochondrial impairment. **Molecular Neurobiology**, v. 55, n. 5, p. 4473-4491, may. 2018.

TEKELI, İ. O.; ATEŞŞAHİN, A.; SAKIN, F.; ASLAN, A.; ÇERİBAŞI, S.; YİPEL, M. Protective effects of conventional and colon-targeted lycopene and linalool on ulcerative colitis induced by acetic acid in rats. **Inflammopharmacology**, may. 2018.

TELES, A. M.; SILVA-SILVA, J. V.; FERNANDES, J. M. P.; CALABRESE, K. D. S.; ABREU-SILVA, A. L.; MARINHO, S. C.; MOUCHREK, A. N.; FILHO, V. E. M.; ALMEIDA-SOUZA, F. *Aniba rosaeodora* (var. *amazonica* Ducke) essential oil: chemical composition, antibacterial, antioxidant and antitrypanosomal activity. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2021.

THAPA, D.; RICHARDSON, A. J.; ZWEIFEL, B.; WALLACE, R. J.; GRATZ, S. W. Genoprotective effects of essential oil compounds against oxidative and methylated DNA damage in human colon cancer cells. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 7, p. 1979-1985, jul. 2019.

TRIVEDI, J. K.; TRIPATHI, A.; DHANASEKARAN, S.; MOUSSAOUI, D. Preventive psychiatry: concept appraisal and future directions. **Int. J. Soc. Psychiatry**, v. 60, n. 4, p. 321-329, jun. 2014.

TORRES-MARTÍNEZ, R.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, Y. M.; RÍOS-CHÁVEZ, P.; SAAVEDRA-MOLINA, A.; LÓPEZ-MEZA, J. E.; OCHOA-ZARZOSA, A.; GARCIGLIA, R. S. Antioxidant activity of the essential oil and its major terpenes of *Satureja macrostema* (Moc. and Sessé ex Benth.) Briq. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, p. S875-S880, jan. 2018.

UNITED NATIONS. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. **World Population Ageing 2015**. New York: United Nations, 2015. 149 p.

VAN DROOGENBROECK, F.; SPRUYT, B.; KEPPENS, G. Gender differences in mental health problems among adolescents and the role of social support: results from the Belgian health interview surveys 2008 and 2013. **BMC Psychiatry**, v. 18, n. 1, p. 1-9, jan. 2018.

VILLAS BOAS, G. R.; BOERNGEN DE LACERDA, R.; PAES, M. M.; GUBERT, P.; ALMEIDA, W. L. D. C.; RESCIA, V. C.; DE CARVALHO, P. M. G.; DE CARVALHO, A. A. V.; OESTERREICH, S. A. Molecular aspects of depression: A review from neurobiology to treatment. **European Journal of Pharmacology**, v. 851, p. 99-121, may. 2019.

VIZUETE, A. F. K.; MUSSULINI, B. H.; ZENKI, K. C.; BAGGIO, S.; PASQUALOTTO, A.; ROSEMBERG, D. B.; BOGO, M. R.; DE OLIVEIRA, D. L.; RICO, E. P. Prolonged ethanol exposure alters glutamate uptake leading to astrogliosis and neuroinflammation in adult zebrafish brain. **Neurotoxicology**, v. 88, p. 57-64, jan. 2022.

WANI, A. R.; YADAV, K.; KHURSHEED, A.; RATHER, M. A. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. **Microbial Pathogenesis**, v. 152, p. 1-14, mar. 2021.

WEDEKIND, D.; NEUMANN, K.; FALKAI, P.; MALCHOW, B.; ENGEL, K. R.; JAMROZINSKI, K.; HAVEMANN-REINECKE, U. S100B and homocysteine in the acute alcohol withdrawal syndrome. **Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.**, v. 261, n. 2, p. 133-138, mar. 2011.

WESTON-GREEN, K.; CLUNAS, H.; JIMENEZ NARANJO, C. A review of the potential use of pinene and linalool as terpene-based medicines for brain health: Discovering novel therapeutics in the flavours and fragrances of cannabis. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, p. 1-19, aug. 2021.

WIGNER, P.; CZARNY, P.; GALECKI, P.; SU, K.-P.; SLIWINSKI, T. The molecular aspects of oxidative & nitrosative stress and the tryptophan catabolites pathway (TRYCATs) as potential causes of depression. **Psychiatry Research**, v. 262, p. 566-574, apr. 2018.

WILLNER, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: Consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. **Neuropsychobiology**, v. 52, n. 2, p. 90-110, 2005.

WITKIEWITZ, K.; LITTEN, R. Z.; LEGGIO, L. Advances in the science and treatment of alcohol use disorder. **Science Advances**, v. 5, n. 9, p. 1-11, sep. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Investing in mental health**. Geneva: WHO, 2003. 48 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The world medicines situation 2011**. Traditional medicines: global situation, issues and challenges. 3rd ed. Geneva: WHO, 2011. 14 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global status report on alcohol and health**. Geneva: WHO, 2014. 376 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Depression and other common mental disorders**: global health estimates. Geneva: WHO, 2017. 20 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Coronavirus disease (COVID-19) pandemic**. Geneva, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Acesso em: 23 jun. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Depressive disorder (depression)**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>. Acesso em: 11 set. 2023.

WU, Q.; YU, L.; QIU, J.; SHEN, B.; WANG, D.; SOROMOU, L. W.; FENG, H. Linalool attenuates lung inflammation induced by *Pasteurella multocida* via activating Nrf-2 signaling pathway. **International Immunopharmacology**, v. 21, n. 2, p. 456-463, aug. 2014.

XAVIER, J. K. A. M.; MAIA, L.; FIGUEIREDO, P. L. B.; FOLADOR, A.; RAMOS, A. R.; ANDRADE, E. H.; MAIA, J. G. S.; SETZER, W. N.; DA SILVA, J. K. R. Essential oil composition and DNA barcode and identification of *Aniba* species (Lauraceae) growing in the Amazon region. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 1-19, mar. 2021.

XIA, E.-Q.; SONG, Y.; AI, X.-X.; GUO, Y.-J.; XU, X.-R.; LI, H.-B. A new high-performance liquid chromatographic method for the determination and distribution of linalool in *Michelia alba*. **Molecules**, v. 15, n. 7, p. 4890-4897, jul. 2010.

XU, P.; WANG, K.; LU, C.; DONG, L.; GAO, L.; YAN, M.; AIBAI, S.; YANG, Y.; LIU, X. The protective effect of lavender essential oil and its main component linalool against the cognitive deficits induced by D-galactose and aluminum trichloride in mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1-11, 2017.

YAMAMOTO, N.; FUJIWARA, S.; SAITO-IIZUMI, K.; KAMEI, A.; SHINOZAKI, F.; WATANABE, Y.; ABE, K.; NAKAMURA, A. Effects of inhaled (S)-linalool on hypothalamic gene expression in rats under restraint stress. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 77, n. 12, p. 2413-2418, 2013.

YOSHIDA, K.; YAMAMOTO, N.; FUJIWARA, S.; KAMEI, A.; ABE, K.; NAKAMURA, A. Inhalation of a racemic mixture (R, S)-linalool by rats experiencing restraint stress alters neuropeptide and MHC class I gene expression in the hypothalamus. **Neuroscience Letters**, v. 653, p. 314-319, jul. 2017.

ZHANG, Y.; LONG, Y.; YU, S.; LI, D.; YANG, M.; GUAN, Y.; ZHANG, D.; WAN, J.; LIU, S.; SHI, A.; LI, N.; PENG, W. Natural volatile oils derived from herbal medicines: A promising therapy way for treating depressive disorder. **Pharmacological Research**, v. 164, feb. 2021.

ZHOU, S. J.; ZHANG, L. G.; WANG, L. L.; GUO, Z. C.; WANG, J. Q.; CHEN, J. C.; LIU, M.; CHEN, X.; CHEN, J. X. Prevalence and socio-demographic correlates of psychological health problems in chinese adolescents during the outbreak of COVID-19. **European Child & Adolescent Psychiatry**, v. 29, n. 6, p. 749-758, jun. 2020.