UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

Ayahuasca, DMT e Fluoxetina: Análise do Perfil Inflamatório das Citocinas Séricas em Ratos com Depressão Induzida por LPS.

Daniel Do Nascimento Sousa

Orientadora: Dra. Eloisa Dutra Caldas

Brasília – DF

FEVEREIRO/2025

DANIEL DO NASCIMENTO SOUSA

Ayahuasca, DMT e Fluoxetina: Análise do Perfil Inflamatório das Citocinas Séricas em Ratos com Depressão Induzida por LPS.

Trabalho de conclusão de curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Orientadora: Dra. Eloisa Dutra Caldas

Brasília – DF

FEVEREIRO/2025

Ficha Catalográfica

dS725a

do Nascimento Sousa, Daniel.
Ayahuasca, DMT e Fluoxetina: Análise do Perfil Inflamatório das Citocinas Séricas em Ratos com Depressão Induzida por LPS. / Daniel do Nascimento Sousa;

Orientador: Eloisa Dutra Caldas. -- Brasília, 2025.
29 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação - Medicina Veterinária) -- aqui Universidade de Brasília, 2025.

1. Depressão. 2. Ayahuasca. 3. DMT. 4. Fluoxetina. 5. Neuroinflamação. I. Dutra Caldas, Eloisa , orient. II. Título.

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Daniel do Nascimento Sousa

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: Ayahuasca, DMT e Fluoxetina: Análise do Perfil Inflamatório das Citocinas Séricas em Ratos com Depressão Induzida por LPS

Ano: 2025

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

gov.br Documento assinado digitalmente
DANIEL DO NASCIMENTO SOUSA
Data: 25/02/2025 12:31:54-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Daniel do Nascimento Sousa

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: Daniel do Nascimento Sousa

Título: Ayahuasca, DMT e Fluoxetina: Análise do Perfil Inflamatório das Citocinas Séricas em Ratos com Depressão Induzida por LPS.

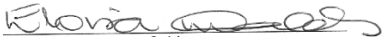
Trabalho de conclusão de curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em: 22 / 02 / 2025

Banca Examinadora

Profa. Dra. Eloisa Dutra Caldas

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: 

Profa. Dra. Patricia Diniz Andrade

Instituição: Universidade de Brasília

gov.br Documento assinado digitalmente
PATRICIA DINIZ ANDRADE
Data: 24/02/2025 22:14:51-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Assinatura:_____

Profa. Dra. Daniela Mara de Oliveira

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura gov.br Documento assinado digitalmente
DANIELA MARA DE OLIVEIRA
Data: 25/02/2025 08:57:20-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Brasília, 22 de fevereiro de 2025.

AGRADECIMENTOS

A trajetória até aqui foi marcada por inúmeras experiências e vivências, sem as quais nada disso teria feito sentido. Foi nesse percurso que ri, chorei, realizei, decidi, mudei de ideia, me desconectei para depois me reconectar. Aprendi novas formas de ver, sentir, pensar e sonhar. Essa, sem dúvida, é a maior herança que carrego comigo.

Aos meus pais, Joana Darc e Francisco Avelino, pela oportunidade da vida, por me ensinarem a ler e escrever, e por lutarem por mim em cada etapa do caminho.

À minha tia e amiga Iara Dantas, peça fundamental na minha construção. Sem antes perceber, em você, o amor pela natureza e a curiosidade de experienciar a vida, talvez eu nunca tivesse chegado até aqui. Infelizmente, você não está presente para ler este agradecimento, mas sei que, de alguma forma, pode sentir todo o meu amor e gratidão por ter sido a pessoa extraordinária que foi.

À minha orientadora, Eloisa Dutra Caldas, por me acolher e reacender em mim o caminho da curiosidade por meio da investigação científica. Por todas as conversas, risadas, orientações e aprendizados, meu sincero agradecimento.

À minha namorada e melhor amiga, Gabriele Louise, a quem dedico meu mais profundo amor e admiração. Obrigado por estar ao meu lado nos melhores e piores dias, e por, mesmo nos momentos mais difíceis, ser o motivo do riso mais sincero que eu poderia dar. Por todas as experiências incríveis que compartilhamos, pelas cachoeiras que visitamos e pela nova família que tive o privilégio de conhecer. Você é a estrela do mais belo sonho que eu poderia sonhar.

Aos amigos que me acompanharam nesta jornada, alguns de longa data, outros que a graduação me presenteou. Obrigado por todos os momentos memoráveis, a vida sem vocês certamente perderia parte do seu tempero.

Às políticas de assistência estudantil, que me permitiram ter acesso à universidade, moradia, alimentação e a saúde mental.

À minha psicóloga, pelo apoio essencial ao longo dessa caminhada.

A todas as pessoas que, de alguma forma, até mesmo com um simples sorriso, contribuíram para a construção do caminho.

E às medicinas da floresta, por toda cura e aprendizados.

"Infeliz dele, que jamais pôde ver um punhado de flores brilhando com sua luz interior própria e quase pulsando sob a pressão do significado do qual são portadoras; jamais pôde perceber que aquilo que a rosa, a íris e o cravo significavam de modo tão intenso não era nada mais, nada menos que o que elas *eram* – uma transitoriedade que era, não obstante, vida eterna; um perpétuo parecer que era, ao mesmo tempo, puro Ser; um feixe de particularidades minúsculas e irrepetíveis em que, por um paradoxo inefável, ainda que autoevidente, era possível vislumbrar a fonte divina de toda a existência."

– **Aldous Huxley, As portas da Percepção.**

RESUMO

O presente estudo investigou os efeitos da ayahuasca (aya), DMT e fluoxetina na modulação do perfil inflamatório de citocinas séricas em ratos *Wistar* com depressão induzida por lipopolissacarídeo (LPS). Foram utilizados 126 ratos divididos em quatro grupos tratados (aya em 3 doses diferentes e DMT), controle negativo (solução salina), controle LPS e controle positivo (fluoxetina, um antidepressivo). As citocinas pró-inflamatórias (IL-1α, TNF-α, IL-12p70, IFN-γ e IL-17A) e anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) foram avaliadas por citômetro de fluxo. Foi observado que a ayahuasca e a DMT reduziram significativamente os níveis de citocinas pró-inflamatórias em relação ao grupo LPS, o que está diretamente relacionado à modulação do estado inflamatório observado na depressão, uma condição amplamente associada à inflamação crônica. A DMT, em particular, apresentou um efeito anti-inflamatório mais acentuado que a fluoxetina em alguns parâmetros, sugerindo seu potencial terapêutico na atenuação dos mecanismos imunoinflamatórios envolvidos na fisiopatologia da depressão. Os resultados mostram o potencial da ayahuasca e da DMT na modulação imunológica e na redução de citocinas pró-inflamatórias; no entanto, estudos adicionais são essenciais para entender melhor esses efeitos e avaliar sua aplicabilidade clínica no tratamento da depressão. Pesquisas futuras poderão elucidar de forma mais detalhada como essas substâncias afetam o sistema imunológico e seu papel terapêutico. Este estudo faz parte de uma investigação maior, cujos resultados podem fornecer um contexto adicional para a interpretação dos dados apresentados, contribuindo para uma compreensão mais profunda do potencial antidepressivo desses compostos.

Palavras-chave: Ayahuasca, depressão, DMT, fluoxetina, citocinas, LPS.

ABSTRACT

This study investigated the effects of ayahuasca (AYA), DMT, and fluoxetine on modulating the serum cytokine inflammatory profile in Wistar rats with LPS-induced depression. A total of 126 rats were allocated into treatment groups—ayahuasca at three different doses and DMT—and control groups comprising a negative control (saline solution), an LPS control, and a positive control (fluoxetine, an antidepressant). Pro-inflammatory cytokines (IL-1α, TNF-α, IL-12p70, IFN-γ, and IL-17A) and anti-inflammatory cytokines (IL-4 and IL-10) were measured by flow cytometry. Both ayahuasca and DMT significantly reduced the levels of pro-inflammatory cytokines compared to the LPS control, indicating effective modulation of the inflammatory state associated with depression, a condition often linked to chronic inflammation. Notably, DMT exhibited a more pronounced anti-inflammatory effect than fluoxetine on certain parameters, suggesting its potential therapeutic role in mitigating the immuno-inflammatory mechanisms underlying depression. These findings underscore the promise of ayahuasca and DMT in immune modulation and the reduction of pro-inflammatory cytokines; however, further studies are necessary to elucidate these effects fully and assess their clinical applicability in depression treatment. Future research may offer deeper insights into the mechanisms by which these substances influence the immune system and their overall therapeutic potential. This study is part of a larger investigation whose results may provide additional context for interpreting these data and contribute to a more comprehensive understanding of the antidepressant potential of these compounds.

Keywords: Ayahuasca, depression, DMT, fluoxetine, cytokines, LPS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estruturas químicas dos principais alcaloides presentes na ayahuasca, da serotonina e fluoxetina, um antidepressivo inibidor de recaptação seletivo da serotonina

Figura 2: Protocolo de experimento.

Figura 3: Concentração de a) IL-1α; b) TNF- α; c) IL-12p70; d) IFN-γ; e) IL-10; e f) IL-4 (pg/mL) em ratos com depressão induzida por LPS tratados com fluoxetina, ayahuasca e DMT. n = 6 a 9 por grupo. Análise não paramétrica por Kruskal-Wallis com correção do teste de Dunn.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AYA - Ayahuasca

BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (Brain-Derived Neurotrophic Factor)

DMT - N,N-Dimetiltriptamina

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetracético

FLU - Fluoxetina

HPA - Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

IFN-γ - Interferon Gama

IL-1α - Interleucina 1 Alfa

IL-4 - Interleucina 4

IL-6 - Interleucina 6

IL-10 - Interleucina 10

IL-12p70 - Interleucina 12 Subunidade p70

IL-17A - Interleucina 17A

IL-1β - Interleucina 1 Beta

IL-8 - Interleucina 8

IP - Intraperitoneal

iMAO - Inibidores da Monoamina Oxidase

ISRS - Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina

LC-MS/MS - Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas Tandem

LPS - Lipopolissacarídeo

MOCDs - Células Derivadas de Monócitos (Monocyte-Derived Cells)

NF-κB - Fator Nuclear Kappa B

PBS - Solução Salina Tampão de Fosfato (Phosphate Buffered Saline)

pc - Peso Corporal

TNF-α - Fator de Necrose Tumoral Alfa (Tumor Necrosis Factor Alpha)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO **1**

2. MATERIAIS E MÉTODOS **4**

2.1. ANIMAIS

2.2. AYAHUASCA E DMT

2.3. DESENHO DO ESTUDO

2.4. ANÁLISE DAS CITOCINAS NO SORO

2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

3. RESULTADOS **7**

3.1. CITOCINAS INFLAMATÓRIAS (IL-1α, TNF-α, IL-12p70, IFN-γ e IL-17A)

3.2. CITOCINAS ANTI-INFLAMATÓRIAS (IL-4 E IL-10)

4. DISCUSSÃO **9**

4.1. AYAHUASCA E DMT

4.2. COMPARAÇÃO COM A FLUOXETINA

5. CONCLUSÃO **12**

6. REFERÊNCIAS **13**

1. INTRODUÇÃO

A depressão é uma condição neuropsiquiátrica prevalente que afeta milhões de pessoas globalmente, trazendo não apenas limitações funcionais, mas também uma redução considerável na qualidade de vida (Malhi *&* Mann, 2018). Estudos recentes destacam a ligação entre a depressão e a inflamação crônica, sugerindo que as citocinas pró-inflamatórias desempenham um papel crucial na fisiopatologia da doença (Beurel *et al*., 2020). As citocinas periféricas têm sido relacionadas à função cerebral, ao bem-estar e à cognição (Bollen *et al*., 2017). Essas citocinas podem agir diretamente sobre os neurônios e as células de suporte, como astrócitos e microglia, após atravessarem a barreira hematoencefálica, ou ainda por meio de sinais transmitidos pelas vias aferentes, como o nervo vago (Miller & Raison, 2016). O papel da inflamação na causa e no agravamento da depressão é reforçado pela evidência de que níveis elevados de IL-6 na infância aumentam o risco de depressão em fases posteriores da vida (Li *et al*., 2022; Mac Giollabhui *et al*., 2021) , além das evidências de ativação microglial e neuroinflamação encontradas nos cérebros de pacientes com depressão em exames post mortem (Dean *et al*., 2010).

Entre os componentes do sistema imunológico, a micróglia desempenha um papel crucial na recuperação de tecidos e na manutenção da homeostase no sistema nervoso (Orihuela *et al*., 2016). Sob condições normais, a micróglia permanece em um estado desativado, promovendo a produção de fatores anti-inflamatórios e neurotróficos; no entanto, quando a inflamação se torna persistente, a micróglia é ativada, geralmente devido à hiperativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), o que pode agravar a resposta inflamatória e contribuir para a progressão da depressão (Rahimian *et al*., 2021; Smith *et al*., 2012). Esse contexto neuro inflamatório ressalta a necessidade de intervenções que possam modular eficazmente a resposta inflamatória no cérebro.

A ayahuasca é uma bebida de origem amazônica tradicionalmente utilizada por povos originários e comunidades ayahuasqueiras na América do Sul (Labate & Assis, 2018). É preparada principalmente por duas plantas: *Psychotria viridis* e *Banisteriopsis caapi*. A *P. viridis* contém o composto psicodélico N,N-dimetiltriptamina (N,N-DMT) (Figura 1), que atua como agonista dos receptores de serotonina e sigma-1, exercendo efeitos anti-inflamatórios importantes (Carbonaro & Gatch, 2016). A *B. caapi* é rica em inibidores da monoamina oxidase (iMAO), como harmina, harmalina e tetrahidroharmina (Figura 1), desempenhando um papel

crucial na preservação da DMT contra a degradação gastrointestinal e permitindo que ele alcance o sistema nervoso central e exerça seus efeitos psicotrópicos (Riba *et al*., 2012). Estas substâncias são de interesse devido ao seu potencial modulador do sistema imunológico e da resposta inflamatória (Santos *et al*., 2022; Liu *et al*., 2017).

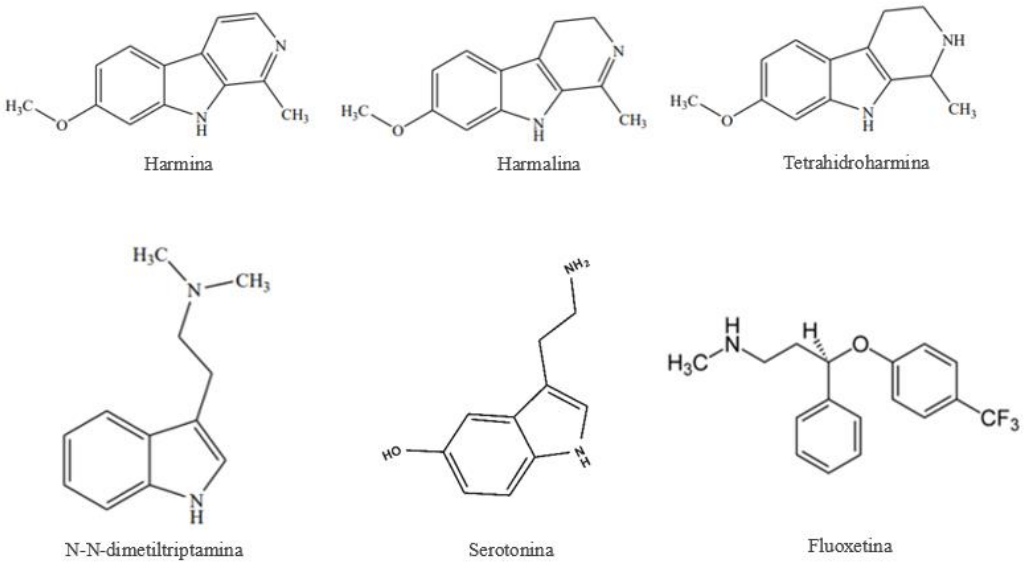


Figura 2- Estruturas químicas dos principais alcaloides presentes na ayahuasca, da serotonina e fluoxetina, um antidepressivo inibidor de recaptação seletivo da serotonina

In vitro, os componentes da *B. caapi* foram capazes de induzir uma resposta anti-inflamatória nas células da micróglia, pela redução da liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-17, TNF-α e IFN-γ) e aumento da liberação de citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) (Santos *et al*., 2022). Em estudos com camundongos, a harmina demonstrou potencial anti-inflamatório ao inibir a atividade transcricional do NF-κB estimulada por LPS e TNF-α em macrófagos. Além disso, reduziu os níveis de IL-6, IL-1β e TNF-α (Liu *et al*., 2017). De maneira semelhante, a DMT inibiu a produção de compostos pró-inflamatórios IL-1β, IL-6, IL-8 e TNF-α, e aumentou os níveis de IL-10 por meio de ações no receptor sigma-1 em células derivadas de monócitos (MOCDs) (Szabo *et al*., 2014 & 2015).

A fluoxetina (Figura 1), é um dos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS) utilizados no tratamento da depressão mais indicado em crianças e adolescentes com depressão (Zhou *et al*., 2020). Embora eficaz na modulação imunológica, possui um longo tempo de resposta inicial, variando de 2 a 4 semanas (Machado-Vieira *et al*., 2010), e uma taxa de

responsividade abaixo de 50% (Fava, 2000), atributo que está diretamente relacionado ao aumento do risco de suicídio nos períodos iniciais de tratamento (Hammad *et al*., 2006; Seemüller *et al*., 2009). Este contexto destaca o interesse renovado com a ayahuasca e a DMT, cujos ensaios clínicos recentes sugerem um rápido e sustentado alívio dos sintomas depressivos com uma única dose (Palhano-Fontes *et al*., 2019; Falchi-Carvalho *et al*., 2024), o que está em sintonia com a nova abordagem dos antidepressivos de ação rápida, que visa preencher a lacuna deixada por substâncias amplamente utilizadas no tratamento clínico da depressão.

O presente estudo é parte de uma investigação mais ampla, cujo objetivo principal é avaliar a possível reversão do estado depressivo em ratos *Wistar* induzido por lipopolissacarídeo (LPS) pelo tratamento de ayahuasca e DMT. O LPS induz uma ação inflamatória nos animais, mimetizando um estado "depressivo". Os parâmetros investigados no projeto incluem os níveis de monoaminas e seus metabólitos em diferentes regiões cerebrais, os níveis de BDNF no hipocampo, parâmetros comportamentais associados à depressão, neurogênese em áreas específicas do cérebro e os níveis de citocinas séricas, que é o foco do presente estudo. Serão investigados os níveis das citocinas inflamatórias (IL-1α, TNF-A, IL-12p70, IFN-γ e IL-17A) e anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) buscando elucidar os mecanismos envolvidos, com foco especial na regulação da resposta inflamatória.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais

Foram utilizados 126 ratos machos da linhagem *Wistar*, com idade de 4 semanas e peso médio de 160g, provenientes do Instituto de Biologia da USP, São Paulo. Os ratos foram aclimatados por 10 dias em condições controladas no biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UnB). Durante o período de aclimatação, os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com grade zincada, em estantes ventiladas da Alesco®, sob temperatura controlada (23 ± 2°C), umidade relativa (45-60%) e ciclo claro/escuro de 12h/12h. Os animais receberam ração comercial para roedores (Purina®) e água filtrada *ad libitum*.

2.2. Ayahuasca e DMT

A ayahuasca utilizada neste estudo foi preparada pela União do Vegetal em 2011, sendo a mesma empregada em pesquisas anteriores conduzidas pelo nosso grupo (Pic-Taylor *et al*., 2015; Melo Junior *et al*., 2016; Andrade *et al*., 2018; Santos *et al*., 2017; Motta *et al*., 2018). Ela foi armazenada a -20 °C até o momento da condução do estudo.

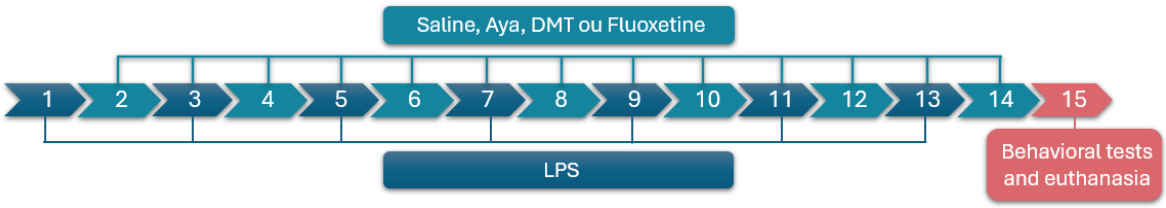
Para o presente estudo, o material foi reanalisado em 2022 por LC-MS/MS 6500+ QTRAP (*AB Sciex, Framingham, EUA*), indicando concentrações de 0,24 mg/mL de DMT, 1,53 mg/mL de harmina, 0,37 mg/mL de harmalina e 0,42 mg/mL de tetraidroharmina. Uma dose ritualística utilizada em rituais religiosos da (1X, Aya1) corresponde a 150 mL para um indivíduo de 70 kg, contendo 0,514 mg/kg pc de DMT, 3,28 mg/kg pc de harmina, 0,793 mg/kg pc de harmalina e 0,900 mg/kg pc de tetraidroharmina.O DMT foi sintetizado pela Prof. Dra. Maria Lucília Santos, do Instituto de Química da UnB. A pureza deste padrão foi confirmada por LC-MS/MS, 1H e 13C-NMR (Varian Mercury Plus Spectrometer 7.05 T operando a 300 MHz para 1H e a 75.46 MHz para 13C) e LCMSD TOF (Agilent 1100 Series).

2.3. Desenho do Estudo

Os animais foram alocados em 7 grupos de 18 animais: Controle, Controle LPS (LPS), fluoxetina (FLU), ayahuasca 0.5X (Aya0.5), ayahuasca 1X (Aya1), ayahuasca 2X (Aya2) e DMT. Os animais não receberam qualquer tipo de enriquecimento ambiental, para não interferir no modelo de depressão por estresse.

Os animais foram tratados diariamente pela manhã durante 14 dias. No dia 1, os animais dos grupos LPS, FLU, Aya 0.5, Aya1, Aya2 e DMT receberam, por via intraperitoneal (IP), 0,5 mg/kg de LPS, dose que foi repetida a cada 2 dias nesses mesmos grupos. A partir do dia 2, os animais dos grupos controle e LPS começaram a ser tratados por gavagem com 2 mL de solução salina, bem como os grupos Aya e FLU (10 mg/kg, manipulado pela Farmacotécnica®). As doses de ayahuasca foram selecionadas com base em nossos estudos anteriores, que mostraram que a ingestão diária de ayahuasca em doses 4X ou superiores é fatal para ratos *Wistar* machos e fêmeas (Santos *et al*., 2017; Motta *et al*., 2018). Os animais do grupo DMT receberam diariamente por via IP, 6,6 mg/kg pc de DMT, ressuspendida em solução de PBS, dose correspondente àquela presente na Aya 2X. Esse protocolo baseia-se naquele descrito por Geng *et al*., 2019. e está ilustrado na Figura 2.

Figura 3 - Protocolo de experimento.



No 15º dia, os animais foram submetidos a testes de comportamento em campo aberto e natação forçada, em seguida, encaminhados para eutanásia. Os animais foram anestesiados com uma combinação de cetamina (100 mg/kg, i.p.) e xilazina (10 mg/kg, i.p.). Após a verificação da sedação e da ausência de dor, 12 animais por grupo foram encaminhados para a coleta de aproximadamente 2mL sangue via punção transcardíaca, que foi acondicionado em tubo contendo anticoagulante EDTA. Após a punção, os animais, ainda sob forte efeito sedativo e analgésico, foram imediatamente guilhotinados. O sangue foi centrifugado e o plasma armazenado a -80°C para posterior análise dos níveis de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias.

O cérebro dos animais decapitados foi dissecado para separação das áreas cerebrais para análise de monoaminas ou retirados inteiros para posterior análise dos fatores neurotróficos após serem submetidos à perfusão cardíaca.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal da UnB (n.º 23106.012384/2022-44).

2.4. Análise das citocinas no soro

Foram analisadas as citocinas pró-inflamatórias IL-1α, IL-12p70, IL-17A, Fator de Necrose Tumoral (TNF-α) e Interferon-γ (IFN-γ) e as citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10, que foram adquiridas da *BD Biosciences* (San José, EUA). O ensaio foi realizado de acordo com as especificações do fabricante. As amostras foram incubadas por 1 hora com esferas revestidas de anticorpos (esferas de captura) e por mais 2 horas com o anticorpo de detecção (reagente de detecção). Após a incubação, a placa foi lavada uma vez e o complexo (esfera de captura-citocina-anticorpo de detecção) foi suspenso em tampão de ensaio do kit. Foi utilizado o citômetro LSRFortessa™ BD para aquisição de dados, e o software FCAP 3.0 (BD Biosciences®, EUA) utilizado para análise dos dados. Uma curva padrão foi realizada para gerar uma análise quantitativa subsequente expressa em pg/mL. As análises foram realizadas no Centro de Pesquisa de Morfologia e Imunologia Aplicada da Faculdade de Medicina, sob a supervisão da Prof. Tatiana Karla dos Santos Borges.

2.5. Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 10.3.1, com análise pelo teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas de Dunn (não paramétrico). Os valores são expressos como médias ± erro padrão da média (SEM). Diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Citocinas inflamatórias (IL-1α, TNF-α, IL-12p70, IFN-γ e IL-17A)

A Figuras 3a a 3d mostram os níveis das citocinas inflamatórias nos grupos experimentais. Os animais do grupo LPS apresentaram um aumento significativo nos níveis de IL-1α comparado ao grupo controle ($p < 0,01$) (Figura 3a), sugerindo uma forte indução da resposta pró-inflamatória causada pela administração de LPS. Embora tenha sido observado um aumento importante nos níveis de TNF-α (Figura 3b), IL-12p70 (Figura 3c) e IFN-γ (Figura 3d) do grupo LPS comparado ao grupo controle, esses aumentos não foram estatisticamente significativos ($p > 0.05$).

Os grupos tratados com ayahuasca e DMT reduziram significativamente os níveis de IL-1α, TNF-α e IL-12p70. Destaca-se que a redução de IL-1α no grupo Aya0,5 foi comparável à do grupo fluoxetina ($p < 0,001$), enquanto o grupo tratado com DMT apresentou uma redução com maior nível de significância ($p < 0,0001$). O grupo DMT também foi o mais eficaz na redução dos níveis de IL-12p70 ($p < 0,001$).

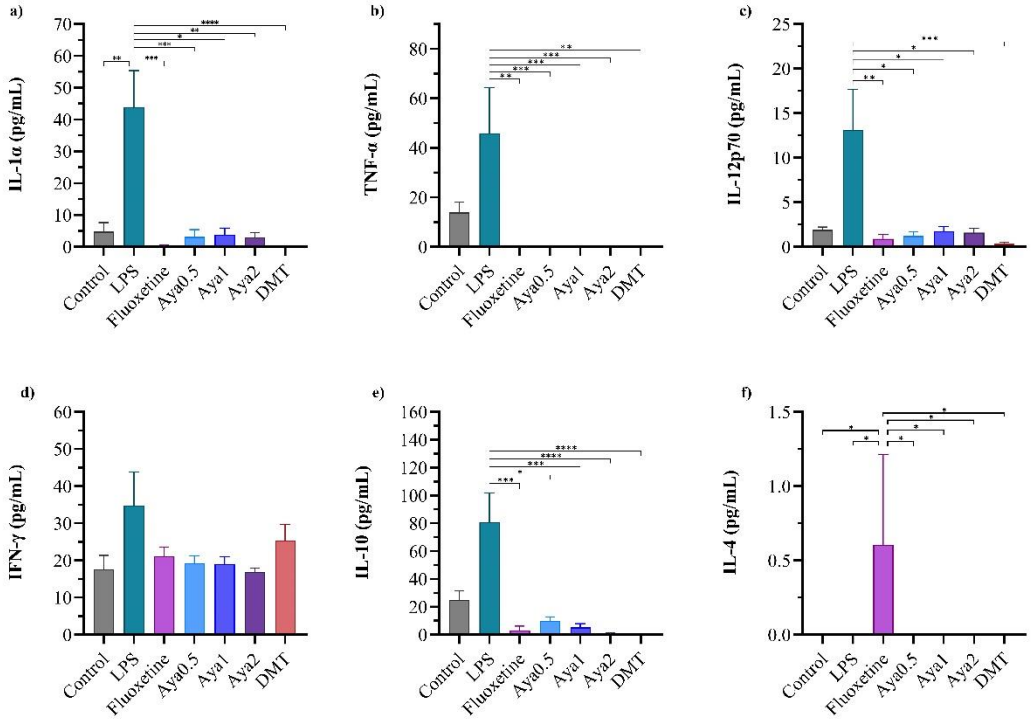


Figura 4- Concentração de a) IL-1α; b) TNF- α; c) IL-12p70; d) IFN-γ; e) IL-10; e f) IL-4 (pg/mL) em ratos com depressão induzida por LPS tratados com fluoxetina, ayahuasca e DMT. n = 6 a 9 por grupo. Análise não paramétrica por Kruskal-Wallis com correção do teste de Dunn.

3.2. Citocinas anti-inflamatórias (IL-10 e IL-4)

Os animais tratados com fluoxetina, diferentes dosagens de ayahuasca e DMT não apresentaram diferenças significativa na citocina IL-10 comparadas ao grupo controle, mas houve uma diminuição significativa induzido pelo LPS em todos os grupos tratados (Figura 3e). Os animais tratados com fluoxetina foram os únicos que apresentaram resposta à IL-4, com diferença significativa em relação a todos os outros grupos (Figura 3f).

4. DISCUSSÃO

4.1. Ayahuasca e DMT

Nos animais do grupo LPS, observou-se um aumento significativo nos níveis de IL-1α e um importante aumento nas concentrações séricas de TNF-α, IL-12p70 e IFN-γ, indicando uma resposta pró-inflamatória acentuada. O aumento observado nas citocinas pró-inflamatórias é condizente com os achados da literatura, onde, em resposta à inflamação mediada por LPS, as células da micróglia induzem a produção de TNF-α, IL-1β e IL-6 em ratos submetidos a injeção de LPS intracerebral (Ishijima & Nakajima, 2021).

O aumento de IL-10 observado no grupo LPS pode ser atribuído a vários processos regulatórios dessa citocina anti-inflamatória, que desempenham um papel central no controle da inflamação e na modulação da resposta imunológica. A IL-10 é produzida por diversas células imunes, como Tregs, células Th1, Th17, macrófagos e células dendríticas (DCs) (Antoniv & Ivashkiv, 2011), e age inibindo a sinalização de receptores do tipo Toll (TLR) nas APCs (células apresentadoras de antígenos) (Kawai & Akira, 2006). Isso ocorre por meio da ativação da via Jak-STAT, que leva à fosforilação de STAT3, um fator que suprime a produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α e IL-6 (Liu *et al*., 2013). Além disso, a IL-10 induz a expressão de microRNAs e proteínas que promovem a degradação de componentes chave da sinalização inflamatória, regulando a atividade de moléculas como MyD88 e NFκB, essenciais para a amplificação da resposta imune (Chang *et al*., 2009; Rossato *et al*., 2012). A sinalização da IL-10 leva à expressão da proteína tristetraprolina (TTP), que se liga a sequências ricas em AU no mRNA e promove a desestabilização dos mRNAs de TNF-α e IL-1α, dessa forma, a IL-10 atua diretamente no controle da inflamação, prevenindo tanto a ativação exacerbada das APCs quanto a produção de citocinas inflamatórias, modulando assim o equilíbrio entre defesa imunológica e dano tecidual (Schaljo *et al*., 2009).

A ayahuasca e a DMT demonstraram eficácia na modulação da resposta inflamatória em ratos com depressão induzida por LPS. Os resultados mostraram uma redução significativa nas citocinas pró-inflamatórias IL-1α, TNF-α e IL-12p70. Notavelmente, a concentração de IL-10 no plasma dos animais tratados apresentou um comportamento oposto ao observado no grupo LPS. Esse fenômeno pode ser compreendido pelo mecanismo de regulação negativa da IL-10 em resposta à inflamação, que atua de forma antagônica às citocinas pró-inflamatórias (Rossato

et al., 2012). Esses achados corroboram evidências anteriores (Voss Jr. & Winkelhake, 1974; House *et al*., 1994; Nkadimeng *et al*., 2021) sobre o potencial das substâncias psicodélicas em influenciar o sistema imunológico e reduzir a neuroinflamação associada à depressão.

Alguns psicodélicos clássicos têm a capacidade de impactar tanto a imunidade inata quanto a adaptativa do organismo, frequentemente se manifestando pela inibição das respostas inflamatórias e pela apresentação de antígenos, além de uma regulação específica e diferenciada da proliferação e da função de certos subtipos de linfócitos, como os linfócitos T citotóxicos (CTLs) e as células NK (Szabo, 2015) Um estudo preliminar indicou que o ácido lisérgico dietilamida (LSD) pode interferir na produção de anticorpos em coelhos (Voss Jr. & Winkelhake, 1974). Neste trabalho, observou-se que o LSD alterava o perfil de anticorpos das células B ativadas, levando à produção de proteínas de baixo peso molecular ao influenciar o processo de tradução. Resultados como esses estão alinhados com descobertas de outro grupo que demonstrou que a exposição *in vitro* a altas concentrações de LSD (100 μM) pode inibir significativamente a proliferação e a secreção de IL-2, IL-4 e IL-6 por células B, além de bloquear a ativação de células T citotóxicas CD8+ (House *et al*., 1994). A psilocibina, substância produzida, principalmente, por fungos do gênero *Psilocybe*, suprimiu a resposta inflamatória induzida pela estimulação com LPS em macrófagos humanos U937 (Nkadimeng *et al*., 2021). Os resultados sugerem que essa supressão ocorre pela inibição de mediadores pró-inflamatórios, como COX-2 e citocinas pró-inflamatórias.

A DMT e seu análogo 5-MeO-DMT, por meio dos receptores sigma 1 e receptores serotoninérgicos, são conhecidos por reduzir os níveis de IL-1β, IL-6, IL-8 e TNF-α, enquanto aumentam IL-10 em células dendríticas derivadas de monócitos humanos sob desafio imunológico (Szabo *et al*., 2014). Esse efeito é comparável à ação anti-inflamatória observada em alguns antidepressivos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS), inibidores seletivos de recaptação de serotonina e norepinefrina (IRSNs) e tricíclicos (Köhler *et al*., 2016; Strawbridge *et al*., 2015), bem como em certas terapias anti-inflamatórias (Kappelmann *et al*., 2016). O 5-MeOH também afeta o sistema glutamatérgico por meio dos receptores NMDA (N-Metil-D-Aspartato) e AMPA (-amino-3-hidroxi-5-metil-4 isoxazolproprionato) (Dakic *et al*., 2017; Lima da Cruz *et al*., 2018; Ly *et al*., 2018) envolvidos na plasticidade sináptica e nas respostas imunes pela inibição das vias do fator nuclear kappa B (NF-κB) (Yu *et al*., 2008; Dakic *et al*., 2017). Essa interação complexa sugere que as propriedades imunomoduladoras

dos psicodélicos vão além da simples regulação de citocinas, oferecendo potenciais novos caminhos terapêuticos para condições inflamatórias relacionadas a distúrbios psiquiátricos.

4.2. Comparação com a Fluoxetina

Os resultados mostraram que, apesar de a fluoxetina, um antidepressivo ISRS, ter apresentado efeitos imunomoduladores, a ayahuasca e a DMT mostraram-se igualmente, ou até mais eficazes, em determinados parâmetros inflamatórios. A redução de IL-1α em relação ao grupo LPS observada com a fluoxetina ($p < 0,001$) foi comparável ao grupo Aya0.5, enquanto o grupo DMT apresentou uma redução ainda mais significativa ($p < 0,0001$), sugerindo que a DMT pode agir de maneira mais potente que a fluoxetina. Outro ponto importante é o aumento de IL-4 observado somente no grupo fluoxetina, o que reforça seu papel anti-inflamatório.

5. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam que a ayahuasca e a DMT podem modular a resposta inflamatória associada à depressão induzida por LPS, demonstrado pelas reduções significativas das citocinas pró-inflamatórias IL-1α, TNF-α e IL-12p70. Esses dados sugerem que ambos os compostos desempenham um papel importante na regulação dos processos neuroimunes relacionados à depressão. Entretanto, para aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos nessa imunomodulação e avaliar a viabilidade clínica dessas substâncias, investigações adicionais são essenciais.

Nos próximos passos, a pesquisa se concentrará no desenvolvimento e validação de métodos analíticos por LC-MS/MS, com o objetivo de quantificar com precisão as monoaminas (dopamina, serotonina e norepinefrina) e seus metabólitos. Paralelamente, serão mensurados os níveis de BDNF em diversas regiões cerebrais de ratos Wistar submetidos à indução de depressão e tratados com ayahuasca e DMT. A integração desses novos dados com os resultados já obtidos sobre citocinas séricas e comportamento animal permitirá uma análise mais abrangente das interações entre os sistemas neuroquímico e imunológico.

Essas análises integrativas ajudarão a entender melhor os efeitos neurobiológicos da ayahuasca e da DMT, apontando seu potencial no tratamento da depressão e contribuindo para aprimorar as abordagens clínicas em transtornos depressivos.

6. REFERÊNCIAS

Andrade TS, Oliveira R, Grisolia CK, Domingues I, ZubenMVV, Caldas ED, Pic-Taylor A (**2018**) Exposure to ayahuasca induces developmental and behavioral alterations on early life stages of zebrafish. Chem Biol Interact 293:133–140

Antoniv TT, Ivashkiv LB. **(2011)** Interleukin-10-induced gene expression and suppressive function are selectively modulated by the PI3K-Akt-GSK3 pathway. Immunology. 2011; 132:567–577. [PubMed: 21255011]

Beurel, E., Toups, M., & Nemeroff, C. B. **(2020)**. The bidirectional relationship of depression and inflammation: double trouble. Neuron, 107(2), 234-256.

Bollen J, Trick L, Llewellyn D, Dickens C. **(2017)** The effects of acute inflammation on cognitive functioning and emotional processing in humans: a systematic review of experimental studies. J Psychos Res 2017; 94: 47–55.

Carbonaro, TM and Gatch, MB **(2016)** Neuropharmacology of N,N-dimethyltryptamine. Brain Research Bulletin 126, 74–88.

Chang J, Kunkel SL, Chang CH. **(2009)** Negative regulation of MyD88-dependent signaling by IL-10 in dendritic cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 106:18327–18332. [PubMed: 19815506]

Dakic V, Minardi Nascimento J, Costa Sartore R, Maciel RM, de Araujo DB, Ribeiro S, Martins-de-Souza D, and Rehen SK **(2017)** Short term changes in the proteome of human cerebral organoids induced by 5-MeO-DMT. Sci Rep 7:12863.

Dean B, Tawadros N, Scarr E, Gibbons AS. Regionally-specific changes in levels of tumour necrosis factor in the dorsolateral prefrontal cortex obtained postmortem from subjects with major depressive disorder. J Affect Disord. 2010;120(1-3):245-248. doi:10.1016/j.jad.2009.04.027

Falchi-Carvalho, Marcelo, *et al*. (**2024**) The Antidepressant Effects of Vaporized N, N-Dimethyltryptamine: An Open-Label Pilot Trial in Treatment-Resistant Depression. Psychedelic Medicine.

Fava M. **(2000)** New approaches to the treatment of refractory depression. J. Clin. Psychiatry. 2000;61:26–32.

Geng C, Guo Y, Qiao Y, *et al*. **(2019)** UPLC-Q-TOF-MS profiling of the hippocampus reveals metabolite biomarkers for the impact of Dl-3-n-butylphthalide on the lipopolissaccharide-induced rat model of depression. Neuropsychiatr Dis Treat. 2019;15:1939-1950

Hammad TA, Laughren T, Racoosin J. **(2006)** Suicidality in Pediatric Patients Treated With Antidepressant Drugs. *Arch Gen Psychiatry.* 2006;63(3):332–339. doi:10.1001/archpsyc.63.3.332

House RV, Thomas PT, Bhargava HN. **(1994)** Immunological consequences of in vitro exposure to lysergic acid diethylamide (LSD). *Immunopharmacol Immunotoxicol* (1994) 16(1):23–40. doi: 10.3109/08923979409029898.

Ishijima T, Nakajima K. **(2021)** Inflammatory cytokines TNF-α, IL-1β, and IL-6 are induced in endotoxin- stimulated microglia through different signaling cascades. Sci Prog. 2021 Oct;104(4):368504211054985.

Kappelmann N, Lewis G, Dantzer R, Jones PB, Khandaker GM. **(2016)** Antidepressant activity of anti-cytokine treatment: a systematic review and meta-analysis of clinical trials of chronic inflammatory conditions. Mol Psychiatry. 2018 Feb;23(2):335-343. doi: 10.1038/mp.2016.167. Epub 2016 Oct 18. PMID: 27752078; PMCID: PMC5794896.

Kawai T, Akira S. **(2006)** TLR signaling. Cell Death Differ. 2006; 13:816–825. [PubMed: 16410796]

Köhler S, Cierpinsky K, Kronenberg G, Adli M. **(2016)** The serotonergic system in the neurobiology of depression: Relevance for novel antidepressants. Journal of Psychopharmacology. 2016;30(1):13-22.

Labate, B.C.; Assis, G.L. **(2018)** A critical review of the literature on the diaspora of Brazilian ayahuasca religions. In The Expanding World Ayahuasca Diaspora, 1st ed.; Labate, B., Cavnar, C., Eds.; Routledge: New York, NY, USA, 2018; pp. 1–21

Li Y, Jinxiang T, Shu Y, *et al*. (2022) Childhood trauma and the plasma levels of IL-6, TNF-α are risk factors for major depressive disorder and schizophrenia in adolescents: A cross-sectional and case-control study. J Affect Disord. 2022;305:227-232.

Lima da Cruz RV, Moulin TC, Petiz LL, and Leão RN **(2018)** A single dose of 5-MeO DMT stimulates cell proliferation, neuronal survivability, morphological and functional changes in adult mice ventral dentate gyrus. Front Mol Neurosci 11:312

Liu WH, Liu JJ, Wu J, Zhang LL, Liu F, Yin L, Zhang MM, Yu B. **(2013)** Novel mechanism of inhibition of dendritic cells maturation by mesenchymal stem cells via interleukin-10 and the JAK1/STAT3 signaling pathway. PLoS One. 2013; 8:e55487. [PubMed: 23383203]

Liu X, Li M, Tan S, Wang C, Fan S, Huang C. **(2017)** Harmine is an inflammatory inhibitor through the suppression of NF-κB signaling. Biochem Biophys Res Commun. 2017;489(3):332-338.

Ly C, Greb AC, Cameron LP, Wong JM, Barragan EV, Wilson PC, Burbach KF, Soltanzadeh Zarandi S, Sood A, Paddy MR, *et al*. **(2018)** Psychedelics promote structural and functional neural plasticity. Cell Rep 23:3170–3182.

Mac Giollabhui N, Ng TH, Ellman LM, Alloy LB. (2021) The longitudinal associations of inflammatory biomarkers and depression revisited: systematic review, meta-analysis, and meta-regression. Mol Psychiatry. 2021;26(7):3302-3314.

Machado-Vieira, R., Baumann, J., Wheeler-Castillo, C., Latov, D., Henter, I. D., Salvadore, G., & Zarate, C. A. (**2010**). The Timing of Antidepressant Effects: A Comparison of Diverse Pharmacological and Somatic Treatments. Pharmaceuticals (Basel, Switzerland), 3(1), 19–41.

Malhi, G. S., & Mann, J. J. **(2018)**. Depression. The Lancet, 392(10161), 2299–2312.

Melo Junior W, Souza Filho J, Grisolia CG, Caldas ED, Pic-Taylor A (**2016**) Genotoxic evaluations in Wistar rats of the hallucinogenic plant extract ayahuasca. Int J Phytomed 8:249–225

Miller AH, Raison CL. **(2016)** The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. Nat Rev Immunol 2016; 16: 22–34.

Motta LC, DeMorais JA, Tavares ACAM, Vianna LMS,Mortari MR, Amorim RFB, Carvalho RR, Paumgartten FJR, Pic-Taylor A, Caldas ED (**2018**) Maternal and developmental toxicity of the hallucinogenicplant-based beverage ayahuasca in rats. Reprod Toxicol 77:1–10

Nkadimeng SM, Steinmann CML, Eloff JN. **(2021)** Anti-Inflammatory Effects of Four Psilocybin-Containing Magic Mushroom Water Extracts in vitro on 15-Lipoxygenase Activity and on Lipopolysaccharide-Induced Cyclooxygenase-2 and Inflammatory Cytokines in Human U937 Macrophage Cells. *J Inflamm Res*. 2021;14:3729-3738. Published 2021 Aug 5.

Orihuela, R., McPherson, C. A., and Harry, G. J. **(2016)** Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *British Journal of Pharmacology*, 173: 649–665.

Palhano-Fontes F, Barreto D, Onias H, *et al*. (**2019**) Rapid antidepressant effects of the psychedelic ayahuasca in treatment-resistant depression: a randomized placebo-controlled trial. Psychological Medicine.49(4):655-663.

Pic-Taylor A, DaMotta LG, DeMorais JA,Melo JuniorW, Santos AFA, Campos LA, Mortari MR, Von Zuben MV, Caldas ED (**2015**) Behavioural and neurotoxic effects of ayahuasca infusion (Banisteriopsis caapi and Psychotria viridis) in female Wistar rat. Behav Process 118:102–110

R. Strawbridge, D. Arnone, A. Danese, A. Papadopoulos, A. Herane Vives, A.J. Cleare, **(2015)** Inflammation and clinical response to treatment in depression: A meta-analysis, European Neuropsychopharmacology, Volume 25, Issue 10, 2015, Pages 1532-1543, ISSN 0924-977X, https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.06.007.

Rahimian, R.; Wakid, M.; O'Leary, L.A.; Mechawar, N. **(2021)** The emerging tale of micróglia in psychiatric disorders. Neurosci. Biobehav. Rev. 2021, 131, 1–29.

Riba, J.; McIlhenny, E.H.; Valle, M.; Bouso, J.C.; Barker, S.A. **(2012)** Metabolism and disposition of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids after oral administration of ayahuasca. Drug Test. Anal. 2012, 4, 610–616.

Rossato M, Curtale G, Tamassia N, Castellucci M, Mori L, Gasperini S, Mariotti B, De Luca M, Mirolo M, Cassatella MA, *et al*. **(2012)** IL-10-induced microRNA-187 negatively regulates TNF-alpha, IL-6, and IL-12p40 production in TLR4-stimulated monocytes. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012; 109:E3101–3110.

Santos AFA, Vieira ALS, Pic-Taylor A, Caldas ED (**2017**) Reproductive effects of the psychoactive beverage ayahuasca in male Wistar rats after chronic exposure. Braz J Pharmacognosy 27(3):353–360

Santos BWL, Moreira DC, Borges TKDS, Caldas ED. **(2022)** Components of Banisteriopsis caapi, a Plant Used in the Preparation of the Psychoactive Ayahuasca, Induce Anti-Inflammatory Effects in Micróglial Cells. Molecules. 2022;27(8):2500. Published 2022 Apr 13.

Schaljo B, Kratochvill F, Gratz N, Sadzak I, Sauer I, Hammer M, Vogl C, Strobl B, Muller M, Blackshear PJ, *et al*. **(2009)** Tristetraprolin is required for full anti-inflammatory response of murine macrophages to IL-10. J Immunol. 2009; 183:1197–1206. [PubMed: 19542371]

Seemüller F, Schennach-Wolff R, Obermeier M, Henkel V, Möller HJ, Riedel M. **(2009)** Does early improvement in major depression protect against treatment emergent suicidal ideation?. *J Affect Disord*. 2010;124(1-2):183-186.

Smith, J.A.; Das, A.; Ray, S.K.; Banik, N.L. **(2012)** Role of pro-inflammatory cytokines released from micróglia in neurodegenerative diseases. Brain Res. Bull. 2012, 87, 10–20

Szabo A, Kovacs A, Frecska E, Rajnavolgyi E (**2014**) Psychedelic N,N-Dimethyltryptamine and 5-Methoxy-N,N-Dimethyltryptamine Modulate Innate and Adaptive Inflammatory Responses through the Sigma-1 Receptor of Human Monocyte-Derived Dendritic Cells. PLOS ONE 9(8): e106533.

Szabo A. **(2015)** Psychedelics and Immunomodulation: Novel Approaches and Therapeutic Opportunities. Front Immunol. 2015;6:358. Published 2015 Jul 14. doi:10.3389/fimmu.2015.00358

Voss EW Jr, Winkelhake JL. **(1974)** Mechanism of lysergic acid diethylamide interference with rabbit antibody biosynthesis. Proc Natl Acad Sci USA (1974) 71(4):1061–4. doi:10.1073/pnas.71.4.1061.

Yu B., Becnel J., Zerfaoui M., Rohatgi R., Boulares A. H., Nichols C. D. **(2008)**. Serotonin 5-hydroxytryptamine(2A) receptor activation suppresses tumor necrosis factor-alpha-induced inflammation with extraordinary potency. J. Pharmacol. Exp. Ther. 327 316–323.

Zhou, X., Teng, T., Zhang, Y., Del Giovane, C., Furukawa, T. A., Weisz, J. R., Li, X., Cuijpers, P., Coghill, D., Xiang, Y., Hetrick, S. E., Leucht, S., Qin, M., Barth, J., Ravindran, A. V., Yang, L., Curry, J., Fan, L., Silva, S. G., Cipriani, A., … Xie, P. **(2020).** Comparative efficacy and acceptability of antidepressants, psychotherapies, and their combination for acute treatment of children and adolescents with depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. *The lancet. Psychiatry*, *7*(7), 581–601.