

## OS EFEITOS ANTIDEPRESSIVOS DA CETAMINA EM CAMUNDONGOS SÃO SEXO-DEPENDENTES

Eduardo M. do Vale<sup>1\*</sup>, Nathallia C. Coelho<sup>1</sup>, Savila M. Andrade<sup>1</sup>, Arisson R. A. de Araujo<sup>1</sup>, Glauce Socorro Barros Viana<sup>2</sup>

1. Estudante de IC da Fac.de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte

2. Professora e Pesquisadora da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte

### Resumo:

Evidências clínicas mostram que mulheres são mais susceptíveis à depressão do que homens, o que parece ser, pelo menos em parte, resultado da influência da flutuação hormonal relacionada ao ciclo reprodutivo feminino, no comportamento. A Cetamina (CET) é anestésico e antagonista não seletivo de receptores glutamatérgicos que, ao contrário dos antidepressivos convencionais, produz efeitos antidepressivos mais rapidamente. Estudos pré-clínicos demonstraram que, de modo semelhante ao ser humano, fêmeas respondem mais intensamente aos efeitos antidepressivos da CET. O objetivo do trabalho foi comparar os efeitos antidepressivos agudos da CET, em baixas doses, em camundongos fêmeas e machos. Para isso foram utilizados camundongos de ambos os sexos distribuídos nos seguintes grupos: Controle (tratado com salina) e CET nas doses de 0,5, 1, 2, 5 e 10 mg/kg, ip. e a Imipramina (IMI, 30 mg/kg, ip.) foi utilizada como droga de referência. Trinta minutos após os tratamentos, os animais foram submetidos ao teste do nado forçado para avaliação da atividade antidepressiva-símile. O parâmetro analisado foi o tempo de imobilidade durante 5 minutos. Os dados foram analisados por ANOVA e Turkey como teste *post hoc* e considerados significativos para  $p < 0.05$ . Os resultados mostraram que, enquanto machos só apresentaram redução no tempo de imobilidade e, portanto, atividade antidepressiva nas doses de 5 e 10 mg/kg, com relação ao grupo Controle (Controle:  $147.2 \pm 9.417$ ; CET2:  $140.8 \pm 15.20$ ; CET5:  $91.4 \pm 15.73$ ; CET10:  $62.4 \pm 8.20$ ; IMI:  $59.0 \pm 14.52$ ), as fêmeas já responderam de modo significativo com a dose de 1 mg/kg (Controle:  $116.8 \pm 7.27$ ; CET0,5:  $95 \pm 13.96$ ; CET1:  $74.2 \pm 9.47$ ; CET2:  $56.2 \pm 3.914$ ; CET5:  $42.9 \pm 6.497$ ; CET10:  $35.5 \pm 6.395$ ; IMI30:  $50.6 \pm 6.464$ ). A IMI respondeu de modo semelhante nos grupos de animais machos e fêmeas. Parece que os hormônios gonadais aumentam os efeitos antidepressivos da CET em fêmeas. Por outro lado, o receptor alvo da rapamicina (mTOR) no cérebro tem sido proposto como mediador dos efeitos rápidos da CET, contudo parece que esse não é o alvo molecular em fêmeas. Mostramos que

camundongos fêmeas são mais susceptíveis aos efeitos antidepressivos da CET, corroborando com os achados clínicos. Contudo, mais estudos são necessários para melhor esclarecer o mecanismo de ação da CET em fêmeas.

Autorização legal: O Projeto foi desenvolvido de acordo com as normas internacionais que regem a experimentação com animais de laboratório (Guide for the Care and Use of Laboratory animals, NIH, USA 2011). O Projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Experimentação e Uso de Animais (CEUA) da Estácio/FMJ (No. 2014-0004).

Palavras-chave: Depressão, Cetamina e Antidepressivos.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq.

### Introdução:

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) a Depressão, que pode ser definida pela recorrência de episódios depressivos onde o paciente sofre de humor deprimido, anedonia e redução de atividades por no mínimo duas semanas, é uma doença de alcance mundial que não se particulariza por grau de desenvolvimento econômico, afetando mais de 300 milhões de pessoas. Tem um caráter polimórfico em suas manifestações, com uma evolução final temível: o suicídio. Ainda segundo a OMS cerca de 800 mil pessoas morrem anualmente no mundo, devido ao suicídio depressivo, que prevalece na faixa etária entre 15 e 29 anos de idade.

Os antidepressivos tradicionais demoram cerca de semanas a meses para trazerem uma minimização sintomática, além do fato de serem ineficazes em 30-40% dos pacientes deprimidos, e, devido a isso, percebe-se a necessidade da procura por novas formas terapêuticas que sejam mais eficazes em um intervalo de tempo menor. A Cetamina é conhecida no mercado pela sua ação anestésica, como antagonista não competitivo dos receptores de N-metil-d-aspartato (NMDA) e vem apresentando resultados promissores como via alternativa para o tratamento da depressão. Quando administrada em doses

sub-ansésmicas já de forma aguda, tem seu efeito observado, que pode persistir por dias a semanas. Além disso evidências indicam que a CET é eficaz no caso de pacientes refratários ao tratamento convencional.

O efeito antidepressivo da Cetamina apresenta, apesar de tudo, uma variação, quando se trata do sexo, todavia ainda sob pesquisa pré-clínica, acreditando-se na sua relação com hormônios gonadais-dependentes, uma vez que necessitou-se doses menores do anestésico em camundongos fêmeas para ter resultados comparáveis a doses maiores quando o estudo foi realizado com machos.

### Objetivos:

Diante do exposto, adotamos como objetivo comprovar e analisar a relação efeito antidepressivo da CET com sexo no teste do nado forçado em camundongos. Para isso utilizamos doses ainda menores que aquelas dos trabalhos científicos mais atuais e relacionados ao tema.

### Metodologia:

**Material de estudo e Drogas:** Foram utilizados camundongos, do Biotério da Estácio-FMJ, Wistar machos e fêmeas com peso médio de 24 g mantidos com livre acesso a comida e água em uma sala de animais com temperatura mantida em 22° com ciclo de 12h claro-escuro. A Cetamina utilizada é o Cetamin 50 ml, produzido pela Syntec e a Imipramina foi a Tofranil 10mg produzido pela NOVARTIS. Os animais foram divididos em grupos (n=10-12 por grupo) e os camundongos foram tratados via I.P. com solução salina, sendo o Controle (C-), com Imipramina na dose de 30 mg/kg (IMI30) e Cetamina nas doses de 1 e 2 mg/kg, apenas nas fêmeas, 5 e 10 mg/kg (CET1, 2, 5 e 10), para ambos os sexos.

**Teste do Nado Forçado (Porsolt et al., 1976):** O teste se define como método para avaliação, individual, de uma atividade antidepressiva executada por alguma droga ou substância a ser testada. Essa análise é feita cronometrando-se o tempo de imobilidade do animal, em um ambiente silencioso, no tempo de cinco minutos, permitindo um período inicial de adaptação de um minuto. Assim quanto menor o tempo de imobilidade (em segundos), maior será a atividade antidepressiva-símile do animal. O teste é realizado em cilindro de vidro transparente (40x35x25 cm<sup>3</sup>) com com água numa altura de 15 cm e temperatura média de 25°C. .

**Métodos de análise:** Os dados foram analisados por ANOVA e Turkey como teste post hoc e considerados significativos para

p<0.05 no programa estatístico GraphPad Prism, versão 5.0.

### Resultados e Discussão:

Diante da análise dos testes de avaliação antidepressiva da CET nos animais, observou-se uma redução significativa do tempo de imobilidade, em segundos, tanto nos machos, nas doses de 5 e 10 mg/kg, quanto nas fêmeas, sendo que nestas o efeito antidepressivo-símile já se manifestou a partir da dose de 1 mg/kg.

Nos camundongos machos, a resposta, em relação ao grupo controle, só foi perceptiva e portanto significativa do ponto de vista estatístico, a partir do grupo CET5, com uma redução de 39%, enquanto no CET10 foi de 58,7%, sendo que este último apresentou um resultado, semelhante ao do grupo IMI30.

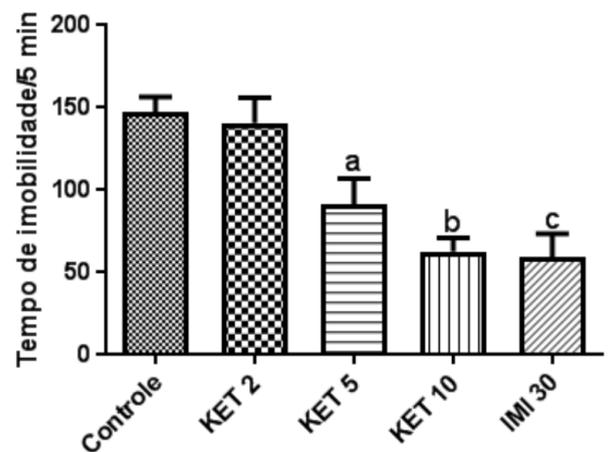


Gráfico 1: Redução do Tempo de Imobilidade dos animais machos em segundos. Apresentando resultados somente nas doses de 5 e 10 g/kg em relação ao grupo controle.

Nos camundongos fêmeas, a atividade antidepressiva da CET com relação ao grupo controle foi de 49%, logo na dose de 1 mg/kg, sendo seguida pelas doses de 2, 5 e 10, com 57%, 58.9% e 72,3%, respectivamente. Interessante ressaltar que e a atividade da CET10 foi também maior que o IMI30.

Os resultados encontrados indicam que o tratamento com a Cetamina induz efeitos comportamentais diferentes em camundongos machos e fêmeas e, portanto, estes dados tiveram implicações para o uso sexo-dependente da ketamina em ambiente de pesquisa experimental e clínica.

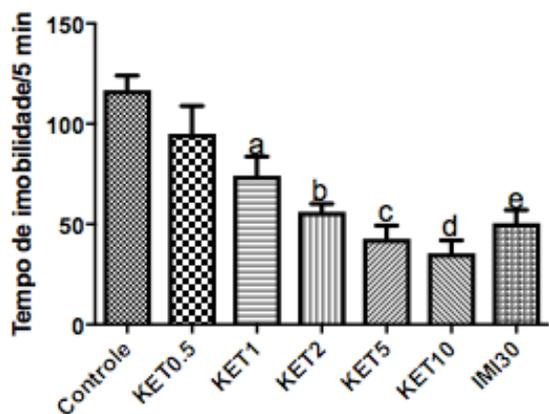


Gráfico 2: Redução do tempo de imobilidade dos animais fêmeas em segundos, já apresentando resposta significativa a partir da dose de 1mg/kg.

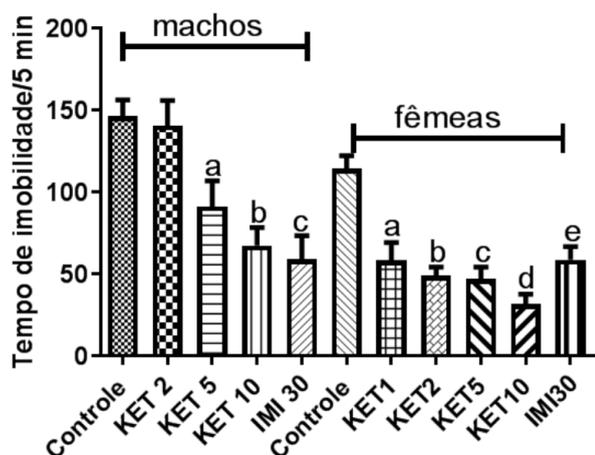


Gráfico 3: Redução do tempo de imobilidade dos animais machos e fêmeas em segundos, sob análise comparativa. Interessante observar que a resposta a IMI30 foi semelhante em ambos os sexos

### Efeito antidepressivo da Cetamina (CET) em camundongos machos e fêmeas, avaliado pelo teste do Nado Forçado.

Grup o/ Dose s (mg/ kg)	Machos	% de redu ção (T.I)	Fêmeas	% de redu ção (T.I)
Contr ole	147.2 ± 9.43(17)	-	116.8 ± 7.268 (21)	-
0.5	-	-	95.0 ± 13.96 (8)	-
1	-	-	74.2 ± 9.47 (19)	-
2	140.8 ± 15.20 (11)	-	56.2 ± 13.91(23)	57
5	91.4 ± 15.73 (14)	39	42.9 ± 6.50 (14)	58.9

Grup o/ Dose s (mg/ kg)	Machos	% de redu ção (T.I)	Fêmeas	% de redu ção (T.I)
10	62.4 ± 8.20 (15)	58,7	35.5 ± 6.40 (15)	72.3
IMI30	59 ± 14.52(15)	59.9	50.6 ± 6.46 (23)	56.7

Os valores(tempo de imobilidade, T.I., em segundos cuja redução indica a atividade antidepressiva) são médias ± epm do nº de animais em parênteses.

Nos estudos pré-clínicos, a mTOR ,no córtex mediano pré-frontal, e o Fator 2 de Alongamento da Tradução Eucariótica (eEF2), no hipocampo, têm sido propostos como mediadores críticos das ações rápidas antidepressivas da cetamina, no entanto não há trabalhos científicos que evidenciem a mediação pela fosforilação de mTOR ou eEF2 dessa sensibilidade aumentada à Cetamina nos camundongos fêmeas.

### Conclusões:

Mostramos que camundongos fêmeas são mais susceptíveis aos efeitos antidepressivos-símile da CET e assim reduzem de modo significativo, o tempo de imobilidade no teste do nado forçado, em doses menores, quando comparadas a camundongos machos. Estes dados suportam as evidências já constatadas no ser humano, onde mulheres são mais sensíveis à fenômenos depressivos do que homens. Apesar de evidências indicarem a participação de hormônios gonadais, mais estudos são necessários para esclarecer o fenômeno, estimulando assim estudos translacionais que sejam esclarecidas esta maior susceptibilidade de mulheres à patologia.

### Referências bibliográficas

CARRIER, N., KABBAJ, M. Sex differences in the antidepressant-like effects of ketamine. (2013) *Neuropharmacology*, 70, pp. 27-34.

KESSLER, R. C. et al. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *The Journal of the American Medical Association*, v. 289, n. 23, p. 3095-3105, 2003.

LI, C. T. et al. The effects of low-dose ketamine on the prefrontal cortex and amygdala in treatment-resistant depression: A randomized controlled study. *Human Brain Mapping*, v. 37, n. 3, p. 1080-1090, 2016.

NAUGHTON, M.; CLARKE, G.; OLIVIA, F. O.; CRYAN, J. F.; DINAN, T. G. A review of ketamine in affective disorders: current evidence of clinical efficacy, limitations of use and pre-clinical evidence on proposed mechanisms of action. *Journal of affective disorders*, v. 156, p. 24-35, 2014.

PHAM TH, MENDEZ-DAVID I, DEFAIX C, GUIARD BP, TRITSCHLER L, DAVID DJ, et al. Ketamine treatment involves medial prefrontal cortex serotonin to induce a rapid antidepressant-like activity in BALB/cJ mice. *Neuropharmacology*. 2016.

PORSOLT, R.D., LE PICHON, M., JALFRE, M. Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. (1977) *Nature*, 266 (5604), pp. 730-732.

SALAND, S.K., DUCLOT, F., KABBAJ, M. Integrative analysis of sex differences in the rapid antidepressant effects of ketamine in preclinical models for individualized clinical outcomes. (2017) *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 14, pp. 19-26.

THELEN, C., SENS, J., MAUCH, J., PANDIT, R., PITYCHOUTIS, P.M. Repeated ketamine treatment induces sex-specific behavioral and neurochemical effects in mice. (2016) *Behavioural Brain Research*, 312, pp. 305-312.

PORSOLT, R.D., BERTIN, A., & JAFRE, M. "Behavioural despair" in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *Eur. J.Pharmacol.* 51, 291-294 (1978).