



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

LUCAS TEIXEIRA NUNES BORGES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DA CETAMINA NO COMPORTAMENTO,
ESTRESSE OXIDATIVO E ELETROENCEFALOGRAMA EM MODELO DE
DEPRESSÃO-SÍMILE INDUZIDO POR DEXAMETASONA EM RATOS ADULTOS**

FORTALEZA

2023

LUCAS TEIXEIRA NUNES BORGES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DA CETAMINA NO COMPORTAMENTO,
ESTRESSE OXIDATIVO E ELETROENCEFALOGRAMA EM MODELO DE
DEPRESSÃO-SÍMILE INDUZIDO POR DEXAMETASONA EM RATOS ADULTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima.

Fortaleza

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

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

- B732a Borges, Lucas Teixeira Nunes.
Avaliação dos efeitos agudos da cetamina no comportamento, estresse oxidativo e eletroencefalograma em modelo de depressão-símile induzido por dexametasona em ratos adultos / Lucas Teixeira Nunes Borges. – 2023.
98 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.
Coorientação: Prof. Dr. Ricardo de Freitas Lima.
1. Cetamina. 2. Depressão. 3. Dexametasona. 4. Eletroencefalograma. 5. Estresse Oxidativo. I. Título.

LUCAS TEIXEIRA NUNES BORGES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DA CETAMINA NO COMPORTAMENTO,
ESTRESSE OXIDATIVO E ELETROENCEFALOGRAMA EM MODELO DE
DEPRESSÃO-SÍMILE INDUZIDO POR DEXAMETASONA EM RATOS ADULTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Aprovada em: 10/07/2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Arlandia Cristina Lima Nobre de Moraes
Universidade de Fortaleza (Unifor)

Prof. Dr. Luis Rafael Leite Sampaio
Universidade Regional do Cariri (URCA)

Profa. Dra. Maria Angelina da Silva Medeiros
Universidade de Fortaleza (Unifor)

Profa. Dra. Samira da Silva Valvassori
Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC)

Ao nosso amado Deus.
Aos meus amados pais Anete e Luciano.
Aos meus amados avós Alfredina e Miguel.
Ao meu amado Allan.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, por estar sempre comigo, pelas bênçãos que recebo todos os dias, por sempre colocar pessoas maravilhosas no meu caminho e pela permissão da conclusão dessa etapa tão importante, meu eterno agradecimento.

Aos meus pais Anete e Luciano, aos meus avós Alfredina e Miguel e ao Allan, pelo amor incondicional, por serem meu porto seguro, pelos exemplos de dignidade e perseverança, por me apoiarem sempre, meu eterno agradecimento.

À minha orientadora Profa. Silvânia, por ter me dado a oportunidade de chegar até aqui, por ser uma pessoa tão maravilhosa e acolhedora, por estar sempre disposta a ajudar e por todos os ensinamentos, meu eterno agradecimento.

Ao meu coorientador Prof. Ricardo, por todo suporte e paciência nessa caminhada, por toda ajuda e por ter dedicado seu tempo, meu eterno agradecimento.

À banca examinadora, pelas preciosas contribuições, pelo tempo concedido, pela atenção e disponibilidade, meu eterno agradecimento.

Ao Prof. Roberto César, em nome da coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, aos docentes e funcionários pela disponibilidade e por estarem sempre dispostos a ajudar, meu eterno agradecimento.

Aos médicos veterinários Dra. Gabriela e Dr. Wesley, Marta e toda a equipe dos biotérios, pela ajuda de suma importância na execução da pesquisa, por todo tempo, disponibilidade e atenção, meu eterno agradecimento.

À minha amiga Virna, pela compreensão, pelo suporte, pela confiança, pelo incentivo, por estar sempre disposta a ajudar, meu eterno agradecimento.

Aos alunos de iniciação científica Rodrigo, Thamyres, Mateus, Lucas e Ana Júlia pela disponibilidade, seriedade e dedicação, pois a ajuda de vocês foi essencial, meu eterno agradecimento.

À minha amiga Rízzia, por estar sempre disposta a ajudar, pelos ensinamentos que recebi, por ser uma inspiração como ser humano e na psiquiatria, meu eterno agradecimento.

Aos meus amigos Talita, Morgana, Patrick, Jamyle, Maurício, Charliene e Kátia por toda a ajuda, pelas palavras de incentivo e pelos momentos de alegria compartilhados, meu eterno agradecimento.

Aos amigos discentes e a todos que direta ou indiretamente me ajudaram ao longo dessa jornada, meu eterno agradecimento.

À CAPES-PROEX pelo apoio financeiro concedido à pesquisa.

**“Se quiseres acordar toda a humanidade,
então acorda-te a ti mesmo; se quiseres
eliminar o sofrimento no mundo, então
elimina a escuridão e negativismo em ti
próprio. Na verdade, a maior dádiva que
podes dar ao mundo é aquela da tua
própria auto-transformação”**

(Lao Tzu)

RESUMO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DA CETAMINA NO COMPORTAMENTO, ESTRESSE OXIDATIVO E ELETROENCEFALOGRAMA EM MODELO DE DEPRESSÃO-SÍMILE INDUZIDO POR DEXAMETASONA EM RATOS ADULTOS

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é uma doença psiquiátrica grave e de profunda preocupação de saúde pública. Os antidepressivos atualmente disponíveis estão associados com diversas limitações, incluindo o longo início terapêutico. Nesse aspecto, a cetamina (*ketamine* - KET) apresenta-se como alternativa com ação antidepressiva rápida. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos agudos comportamentais, no estresse oxidativo e eletroencefalográficos da cetamina em modelo de depressão-símile induzido por dexametasona (DEX) em ratos adultos. Para isso, foram utilizados ratos *Wistar* machos, adultos, com peso entre 250-350g. Inicialmente, foi feito estudo para seleção da dose de DEX para indução de depressão-símile. Após essa etapa, os animais foram tratados com DEX na dose de 1,5 mg/kg por 14 dias via subcutânea (SC) e tratados de forma aguda com KET na dose de 10 mg/kg por via intraperitoneal (IP) no último dia de tratamento; após duas horas, foram realizados os testes de campo aberto, nado forçado, labirinto em cruz elevada, preferência à sacarose, dosagens do estresse oxidativo e eletroencefalograma (EEG). Os resultados demonstraram que o efeito ansiogênico e de depressão-símile induzidos pela DEX foram revertidos pela KET nos testes de labirinto em cruz elevada, nado forçado e preferência à sacarose. A KET também reverteu o aumento dos níveis de malondialdeído induzidos pela DEX no hipocampo. A administração de DEX reduziu a onda beta *high*. Por outro lado, KET sozinha aumentou a banda teta, mostrando efeito antidepressivo no EEG. Em conclusão, os resultados demonstraram efeitos antidepressivos, ansiolíticos e de redução da peroxidação lipídica da cetamina. Dessa forma, esse estudo colabora com o redirecionamento da cetamina como fármaco antidepressivo rápido.

Palavras-chave: cetamina; depressão; dexametasona; eletroencefalograma; estresse oxidativo.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE ACUTE EFFECTS OF KETAMINE ON BEHAVIOR, OXIDATIVE STRESS AND ELECTROENCEPHALOGRAM IN A DEXAMETHASONE-INDUCED DEPRESSION-SIMILE MODEL IN ADULT RATS

Major Depressive Disorder (MDD) is a serious psychiatric illness of deep public health concern. The currently available antidepressants are associated with several limitations, including the long therapeutic initiation. In this regard, ketamine (KET) is presented as an alternative with rapid antidepressant action. Thus, the aim of the study was to evaluate the acute behavioral, oxidative stress and electroencephalographic effects of ketamine in a dexamethasone (DEX)-induced depression-like model in adult rats. For this, adult male Wistar rats weighing between 250-350g were used. Initially, a study was carried out to select the dose of DEX to induce depression-like. After this step, the animals were treated with DEX at a dose of 1.5 mg/kg for 14 days subcutaneously (SC) and acutely treated with KET at a dose of 10 mg/kg intraperitoneally (IP) on the last day of treatment; after two hours, the open field, forced swimming, elevated plus maze, sucrose preference, oxidative stress and electroencephalogram (EEG) tests were performed. The results showed that the anxiogenic and depression-like effects induced by DEX were reversed by KET in the elevated plus maze, forced swimming and sucrose preference tests. KET also reversed the DEX-induced increase in malondialdehyde levels in the hippocampus. DEX management reduced the high beta wave. On the other hand, KET alone increased the theta band, showing antidepressant effect on EEG. In conclusion, the results demonstrated antidepressant, anxiolytic and lipid peroxidation reduction effects of ketamine. Thus, this study collaborates with the redirection of ketamine as a rapid antidepressant drug.

Keywords: ketamine; depression; dexamethasone; electroencephalogram; oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Hipóteses fisiopatológicas da depressão	21
Figura 2: Hiperativação do eixo HPA e seus efeitos	23
Figura 3: Desregulação do eixo HPA na depressão	25
Figura 4: Mecanismo de ação da DEX	27
Figura 5: Mecanismo de ação antidepressivo da KET	31
Figura 6: Atividades das bandas cerebrais	34
Figura 7: Delineamento experimental da seleção de dose da DEX e avaliação do peso corporal	40
Figura 8: Delineamento experimental do estudo piloto com KET e avaliação da glicemia no modelo de depressão-símile	41
Figura 9: Delineamento experimental da avaliação comportamental e do estresse oxidativo	42
Figura 10: Delineamento experimental do estudo eletroencefalográfico	44
Figura 11: Teste de campo aberto	45
Figura 12: Teste de labirinto em cruz elevada	46
Figura 13: Teste de nado forçado	47
Figura 14: Teste de preferência à sacarose	48

Figura 15: Avaliação do peso corporal	49
Figura 16: Avaliação da glicemia capilar	49
Figura 17: Determinação das concentrações de GSH	51
Figura 18: Determinação das concentrações de TBARS	52
Figura 19: Determinação das concentrações de nitrito	53
Figura 20: Realização do EEG	55
Figura 21: Avaliação do número de quadrantes cruzados no teste de campo aberto	57
Figura 22: Avaliação do número de <i>rearing</i> no teste de campo aberto	58
Figura 23: Avaliação do número de <i>grooming</i> no teste de campo aberto	59
Figura 24: Avaliação do tempo de imobilidade (s) no teste de nado forçado	60
Figura 25: Avaliação do tempo de <i>climbing</i> (s) no teste de nado forçado	61
Figura 26: Avaliação do peso corporal (g)	62
Figura 27: Avaliação do tempo de imobilidade (s) no teste de nado forçado	63
Figura 28: Avaliação do tempo de <i>climbing</i> (s) no teste de nado forçado	64
Figura 29: Avaliação da glicemia (mg/dL)	65
Figura 30: Avaliação do número de quadrantes cruzados no teste de campo aberto	66
Figura 31: Avaliação do número de <i>rearing</i> no teste de campo aberto	67

Figura 32: Avaliação do número de <i>grooming</i> no teste de campo aberto	68
Figura 33: Avaliação do número de entrada nos braços abertos (NEBA) no teste de labirinto em cruz elevada	69
Figura 34: Avaliação do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) (s) no teste de labirinto em cruz elevada	70
Figura 35: Avaliação do tempo de imobilidade (s) no teste de nado forçado	71
Figura 36: Avaliação do tempo de <i>climbing</i> (s) no teste de nado forçado	72
Figura 37: Avaliação da porcentagem de preferência à sacarose no teste de preferência à sacarose	73
Figura 38: Avaliação da GSH ($\mu\text{g/g}$ de tecido) em hipocampo	74
Figura 39: Avaliação do MDA ($\mu\text{g/g}$ de tecido) em hipocampo	75
Figura 40: Avaliação de nitrito (nM/g de tecido) em hipocampo	76
Figura 41: Avaliação do poder espectral médio da banda delta (<4Hz) no EEG	77
Figura 42: Avaliação do poder espectral médio da banda teta (4-8Hz) no EEG	78
Figura 43: Avaliação do poder espectral médio da banda alfa (8-13Hz) no EEG	79
Figura 44: Avaliação do poder espectral médio da banda beta low (13-25Hz) no EEG	80
Figura 45: Avaliação do poder espectral médio da banda beta high (25-30Hz) no EEG	81

Figura 46: Avaliação do poder espectral médio da banda gama low (30-50Hz) no EEG
..... 82

Figura 47: Avaliação do poder espectral médio da banda gama high (50-100Hz) no EEG
..... 83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ADT	Antidepressivo Tricíclico
AMPA	α -amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
ANOVA	Análise de variância
AP	Ântero-posterior
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	Centímetro
CRF	Fator Liberador de Corticotrofina
DA	Dopamina
DEX	Dexametasona
dL	Decilitro
DRT	Depressão Resistente ao Tratamento
DSM-5	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - 5ª edição
DV	Dorso-ventral
EEF2K	Fator de Alongamento Eucariótico 2 Quinase
EEG	Eletroencefalograma
EPM	Erro Padrão da Média
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
ERN	Espécie Reativa de Nitrogênio
g	Grama
GABA	Ácido Gama-aminobutírico
GC	Glicocorticoide
GLU	Glutamato
GR	Receptor de Glicocorticoide
GRE	Elemento de Resposta ao Glicocorticoide
GSH	Glutationa Reduzida
GSK-3	Glicogênio Sintase Quinase-3
h	Hora
HC	Hipocampo
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

Hz	Hertz
IDO	Indoleamina 2,3-dioxigenase
IMAO	Inibidores da Monoaminoxidase
IP	Intraperitonal
ISRS	Inibidor Seletivo da Recaptção de Serotonina
IRSN	Inibidor da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina
IV	Intravenosa
KET	Cetamina
kg	Quilograma
LPS	Lipopolissacarídeo
m	Metro
MDA	Malondialdeído
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
ML	Médio-lateral
mM	Milimolar
mTORC1	Alvo da Rapamicina Complexo 1
NA	Noradrenalina
NaSSA	Noradrenérgico e Serotoninérgico Específico
NEBA	Número de Entrada nos Braços Abertos
NLRP3	NOD-símile proteína 3 contendo domínio de pirina
nm	Nanômetro
NMDA	N-metil-D-aspartato
NPDM	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
OMS	Organização Mundial de Saúde
PVT	Núcleo Paraventricular do Tálamo
s	Segundo
SC	Subcutânea
SNC	Sistema Nervoso Central
SPF	Livre de Patógeno Específico
TBARS	Espécie Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TPBA	Tempo de Permanência nos Braços Abertos

TrkB	Tropomiosina Quinase B
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
5-HT	Serotonina
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	20
1.1.	Transtorno Depressivo Maior	20
1.2.	Depressão: hipóteses fisiopatológicas	21
1.3.	Depressão: modelos de indução	24
1.4.	Depressão: tratamento	28
1.5.	Depressão X Cetamina	29
1.6.	Depressão X Estresse oxidativo	32
1.7.	Depressão X Eletroencefalograma	33
2.	JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	36
3.	OBJETIVOS	37
3.1.	Geral	37
3.2.	Específicos	37
4.	METODOLOGIA	38
4.1.	Animais	38
4.2.	Fármacos	38
4.3.	Modelo farmacológico de depressão-símile	38
4.4.	Delineamento experimental	39
4.4.1.	Seleção de dose da DEX e avaliação do peso corporal	39
4.4.2.	Estudo piloto com KET e avaliação da glicemia no modelo de depressão-símile	40
4.4.3.	Avaliação comportamental e do estresse oxidativo	41
4.4.4.	Estudo eletroencefalográfico	43
4.5.	Estudo comportamental	45
4.5.1.	Teste de campo aberto	45
4.5.2.	Teste de labirinto em cruz elevada	45
4.5.3.	Teste de nado forçado	46
4.5.4.	Teste de preferência à sacarose	47
4.6.	Avaliação do peso corporal	48
4.7.	Avaliação da glicemia capilar	49
4.8.	Estudo do estresse oxidativo	50
4.8.1.	Determinação das concentrações de GSH	50

4.8.2.	Determinação das concentrações de TBARS	51
4.8.3.	Determinação das concentrações de nitrito	52
4.9.	Teste eletroencefalográfico	54
4.9.1.	Realização do Eletroencefalograma	54
5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
6.	RESULTADOS	57
6.1.	Seleção de dose da DEX	57
6.2.	Avaliação do peso corporal	61
6.3.	Estudo piloto com KET	63
6.4.	Avaliação da glicemia capilar	65
6.5.	Testes comportamentais	66
6.5.1.	Teste de campo aberto	66
6.5.2.	Teste de labirinto em cruz elevada	68
6.5.3.	Teste de nado forçado	70
6.5.4.	Teste de preferência à sacarose	72
6.6.	Estudo do estresse oxidativo	73
6.6.1.	Dosagem de GSH	73
6.6.2.	Dosagem de TBARS	75
6.6.3.	Dosagem de nitrito	76
6.7.	Teste eletroencefalográfico	77
7.	DISCUSSÃO	84
8.	CONCLUSÃO	92
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

1. INTRODUÇÃO

1.1. Transtorno Depressivo Maior

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) ou depressão é uma das principais causas de incapacidade e um grande desafio mundial; com prevalência global de 4,4%, afeta negativamente as áreas sociais, afetivas e laborais, estando associado à obesidade, doenças cardíacas e morte precoce, incluindo suicídio. Os efeitos funcionais do TDM podem ser particularmente graves em adultos com comorbidades, levando à complexidade em opções de tratamentos (MARWAHA et al., 2023; WHO, 2017).

É um distúrbio psiquiátrico associado a acentuado sofrimento, morbidade, mortalidade e custo econômico. A prevalência ao longo da vida em adultos é estimada em 17%, sendo maior em mulheres do que em homens (21% e 13%, respectivamente). A Organização Mundial da Saúde (OMS) projeta que seja a principal causa de adoecimento até 2030 em todo o mundo (DWYER et al., 2020).

O Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais - 5ª edição (DSM-5) classifica-o por alterações no afeto, cognição e funções neurovegetativas com episódios que durem pelo menos duas semanas. Adicionalmente, cinco ou mais sintomas devem estar presentes, incluindo humor deprimido e/ou anedonia; outros sintomas são alteração no apetite, fadiga, sentimentos de inutilidade ou culpa, dificuldade de concentração, ideação suicida, dentre outros (PITSILLOU et al., 2020).

A Depressão Resistente ao Tratamento (DRT) desenvolve-se quando há falha em dois ciclos de tratamento. A incidência de remissão torna-se progressivamente menor desde o primeiro curso de tratamento com antidepressivo (36,8%) até o segundo (30,6%), terceiro (13,7%) e quarto (13,0%). Pacientes com DRT apresentam maior gravidade, duração da doença, incapacidade, doença física, incidência de hospitalização, risco de suicídio e custo econômico quando comparados a pacientes com depressão responsiva ao tratamento (GOODWIN et al., 2022).

1.2. Depressão: hipóteses fisiopatológicas

A depressão é causada pela influência mútua de fatores psicológicos e sociais, bem como de fatores epigenéticos. Os casos de depressão são heterogêneos em termos de influências genéticas, evolução clínica, alterações neurobiológicas e respostas ao tratamento com antidepressivos. Nas últimas décadas, estudos sobre a progressão da depressão relataram anormalidades em circuitos cerebrais e alterações moleculares e celulares no cérebro (SONG; KIM, 2021).

É uma doença que abrange várias etiologias, como a hipótese monoaminérgica, desenvolvida na década de 1960, sugerindo que as deficiências de serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA) desencadeiam a depressão; já a hipótese inflamatória propõe que a depressão é causada pela interação de citocinas pró-inflamatórias com o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), afetando síntese e recaptação de neurotransmissores, resistência aos glicocorticóides, excitotoxicidade, redução da expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e aumento do estresse oxidativo (figura 1) (PITSILLOU et al., 2020; ZAKARIA et al., 2022).

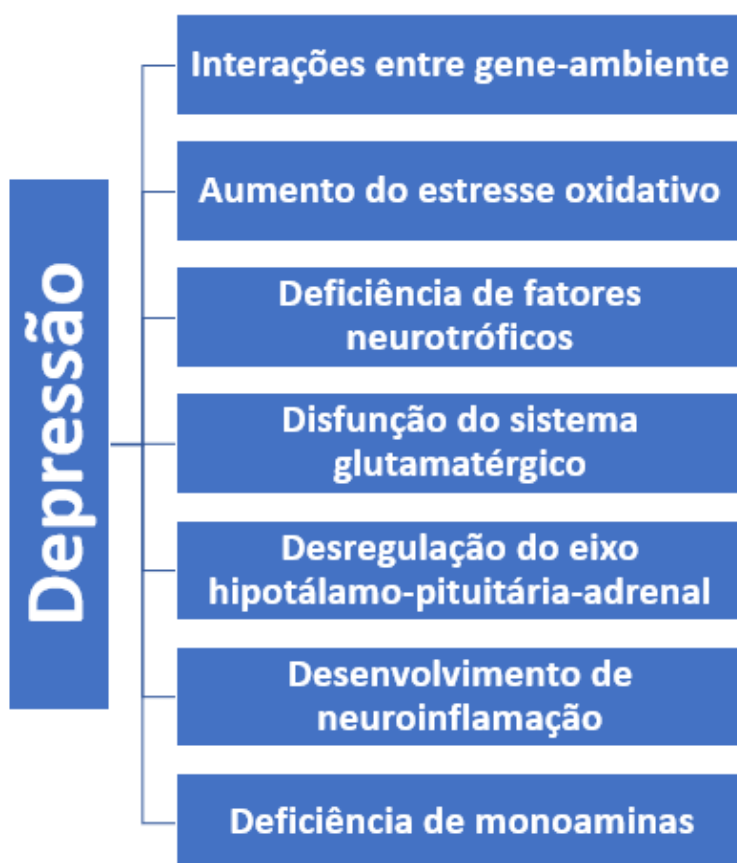


Figura 1: Hipóteses fisiopatológicas da depressão. A doença envolve uma complexa interação de fatores genéticos e ambientais. A figura destaca algumas das principais hipóteses envolvidas, que são alvos potenciais para os antidepressivos. A importância da predisposição genética é bem conhecida e juntamente com a adversidade no início da vida são os principais contribuintes. Processos implicados na fisiopatologia da depressão incluem: o sistema glutamatérgico, o eixo hipotalâmico-hipofisário, os fatores neurotróficos, neuroinflamação, estresse oxidativo, neurotransmissores, dentre outros. Fonte: Elaborada pelo autor.

O eixo HPA representa o sistema do hormônio do estresse que regula a liberação de glicocorticóides (GC's) pelas glândulas adrenais em resposta a estressores ambientais ou endógenos. Uma vez liberados, os GC's podem funcionar em praticamente todas as partes do corpo e regulam uma ampla gama de processos fisiológicos através de seus efeitos em receptores de glicocorticóides (GR's). Esse sistema é, portanto, fundamental na resposta ao estresse e na regulação da homeostase. Além dessas ações fisiológicas, os GC's podem promover *feedback* negativo sobre o eixo HPA em vários níveis, diretamente nos componentes do eixo e indiretamente através de estruturas cerebrais como hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala (TROUBAT et al., 2021).

Anormalidades no eixo HPA foram observadas em pacientes deprimidos, e caracterizam-se essencialmente por aumento na liberação de GC's, aumento da expressão de hormônio adrenocorticotrópico (*adrenocorticotropic hormone* - ACTH) e/ou no fator liberador de corticotrofina (*corticotropin-releasing factor* - CRF). Acredita-se que a maioria dessas desregulações do eixo HPA sejam impulsionadas principalmente por interrupções no *feedback* negativo dependentes de GR's no eixo HPA (ou seja, resistência aos GR's). Em terapias antidepressivas, melhorias nas respostas de *feedback* negativo precedem remissão da doença em pacientes deprimidos com anormalidades do eixo HPA (figura 2) (TARASOV et al., 2021; TROUBAT et al., 2021).

Estudos tem demonstrado (NOUSHAD SHAMOON et al., 2021; RAMÍREZ et al., 2018; TROUBAT et al., 2021) que o aumento do estresse prolongado, com desregulação do eixo HPA, pode interferir em várias vias biológicas, como ativação de micróglia e aumento de citocinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo/nitroativo; redução de fatores neurotróficos cerebrais; ampliação da via das quinureninas e consequentemente redução na síntese de serotonina e elevação de ácido quinolínico; aumento de glutamato e apoptose de células no sistema nervoso central (SNC) (figura 2).

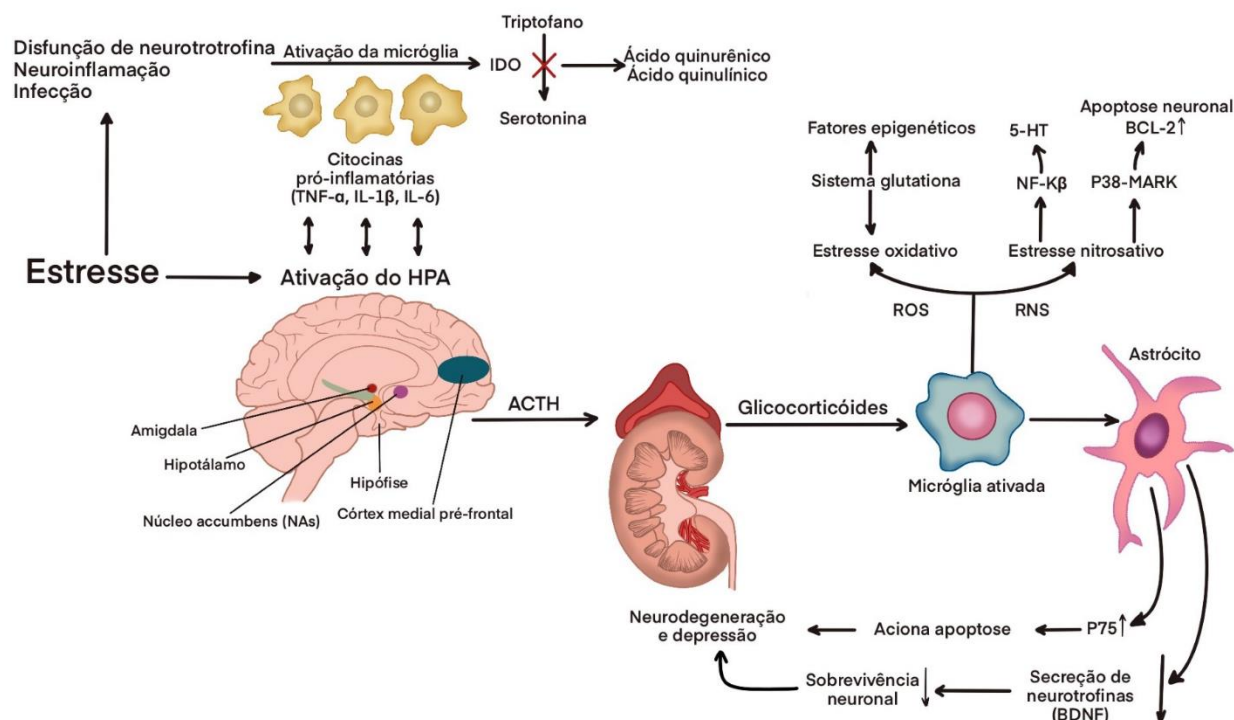


Figura 2: Hiperativação do eixo HPA e seus efeitos. Um fator estressor ativa o eixo HPA, com aumento dos níveis de GC's que são desencadeadores de estresse oxidativo e nitrosativo. O aumento da concentração de cortisol correlaciona-se com sintomas de depressão, reduzindo os níveis de glutaciona e indução de apoptose neuronal. A secreção de neurotrofinas responsáveis pela sobrevivência neuronal diminui, enquanto a concentração de gatilhos para apoptose aumenta. O sistema imunológico influencia o SNC através de citocinas pró-inflamatórias que, em altos níveis, levam à produção de substâncias neurotóxicas pela via do triptofano-quinurenina, alterando a atividade metabólica da serotonina. Abreviações: hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA); *adrenocorticotropic hormone* (ACTH); *tumour necrosis factor alpha* (TNF-α); interleucina-1-beta (IL-1β); interleucina-6 (IL-6); indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO); *reactive oxygen species* (ROS); *reactive nitrogen species* (RNS); *nuclear factor kappa B* (NF-κB); serotonina (5-HT); *mitogen activated protein kinase* (P38-MARK); *B cell lymphoma 2* (BCL-2); *neurotrophin receptor* (P75); *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF). Fonte: Adaptação realizada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

Alterações nos hormônios e na função endócrina podem desempenhar um papel importante na fisiopatologia da depressão. Anomalias primárias no eixo adrenal estão associadas a alterações de humor e medicamentos que interferem no sistema endócrino são muitas vezes acompanhados por efeitos relacionados ao humor e cognição. Essas observações clínicas levaram aos estudos das funções que os hormônios podem desempenhar na fisiopatologia da depressão e dos potenciais tratamentos direcionados à sistemas hormonais específicos (DWYER et al., 2020).

O hipocampo (HC) é uma estrutura cerebral do sistema límbico envolvida na memória e aprendizagem que tem importante relação com a depressão, pois reduções nos volumes hipocâmpais estão associadas com duração e severidade da doença; além disso, neurônios glutamatérgicos projetam-se no hipocampo, influenciando humor e ansiedade. A neurogênese do hipocampo atua de forma crucial na fisiopatologia da depressão bem como na sua etiologia e nos efeitos de fármacos antidepressivos; esse efeito é apoiado pelos seguintes achados: a) a neurogênese hipocâmpal está diminuída tanto em modelos animais de depressão quanto em pacientes em episódios depressivos; b) o uso crônico de fármacos antidepressivos induzem aumento na neurogênese do hipocampo; c) experimentalmente, um aumento induzido na neurogênese hipocâmpal reduz a capacidade do estresse de induzir um fenótipo depressivo-símile; e d) a ablação da neurogênese do hipocampo impede a capacidade dos antidepressivos de induzir a remissão da doença (SONG; KIM, 2021; TARASOV et al., 2021; TROUBAT et al., 2021).

Na reação do organismo ao estresse, mecanismos neuronais, endócrinos e imunológicos são ativados, incluindo ativação do eixo HPA, com aumento da secreção de GC's. Embora indispensável para lidar com eventos estressores, GC's podem ter um efeito negativo tanto na estrutura quanto na função das células cerebrais. O HC é abundante em GR's, dessa forma, é particularmente vulnerável ao estresse. Em consequência, exposição crônica e excessiva a GC's pode levar ao desenvolvimento de depressão. Assim, pacientes deprimidos apresentam hiperatividade do eixo HPA com elevados níveis de cortisol e aumento das glândulas adrenais (WRÓBEL et al., 2015).

1.3. Depressão: modelos de indução

Na clínica, com mecanismo fisiopatológico pouco claro e efeito terapêutico inconsistente, a depressão é considerada uma doença heterogênea. A modelagem animal desempenha um papel essencial na exploração dos mecanismos subjacentes da depressão. Ao analisar alguns dos principais sintomas da depressão que podem ser representados em um determinado modelo animal, um fármaco ou terapia específica podem ser aplicados. Embora não esteja claro se os pesquisadores conseguirão identificar os mecanismos biológicos da depressão com base nas manifestações observadas nos animais, os modelos de depressão podem descrever alterações moleculares e fisiopatológicas, utilizando critérios e métodos apropriados (HAO et al., 2019).

Os modelos animais de depressão devem imitar a condição humana nos seguintes aspectos: 1) melhora ou redução do comportamento com terapias antidepressivas efetivas (validade preditiva); 2) semelhança entre os sintomas clínicos e o fenótipo comportamental (validade de face); 3) semelhança entre os substratos neurobiológicos (validade de construto); e 4) desencadeamento da doença da mesma forma que o transtorno humano (validade etiológica). Modelos animais podem ser desenvolvidos por exposição a fatores etiológicos conhecidos da depressão, como estresse, criação seletiva, manipulações genéticas e administrações farmacológicas (LIMA et al., 2022).

Um dos mais fortes correlatos fisiopatológicos da depressão é a desregulação do eixo HPA, incluindo hipersecreção de GC's e alterações em seu *feedback* negativo (figura 3). Em modelos de depressão com roedores, a exposição repetida a GC's, como a dexametasona (DEX), reflete condições de carga de estresse crônico. Essa estratégia é amplamente utilizada para induzir o fenótipo de depressão e avaliar a eficácia de fármacos antidepressivos (DWYER et al., 2020; MORI et al., 2022; TROUBAT et al., 2021; WRÓBEL et al., 2015).

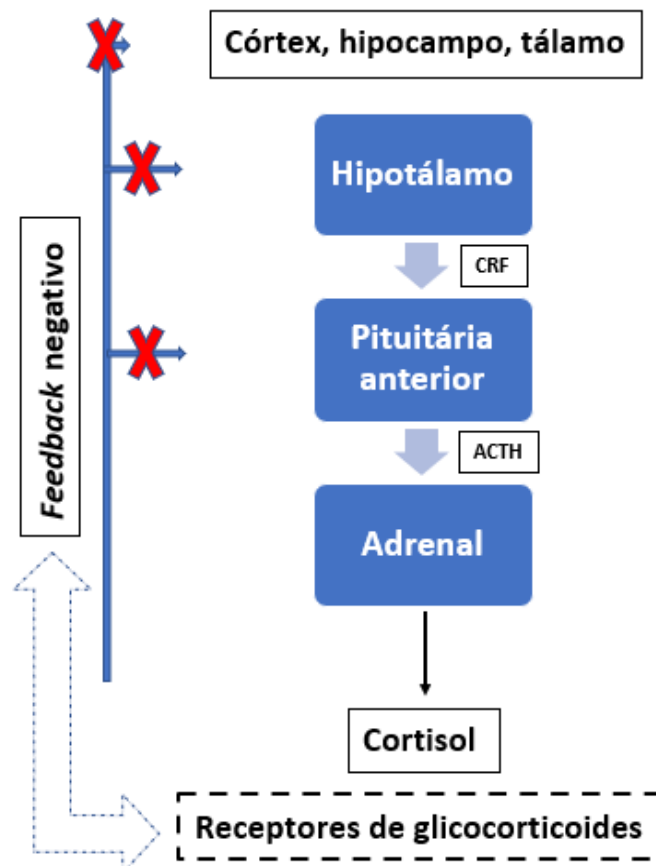


Figura 3: Desregulação do eixo HPA na depressão. O hipotálamo libera o CRF; estimulando a pituitária anterior a liberar ACTH na circulação periférica, que estimula o córtex das glândulas adrenais a liberar GC's (cortisol). A produção de GC's é controlada por *feedback* negativo e ocorre a nível da pituitária anterior, hipotálamo e estruturas superiores (córtex, hipocampo e tálamo) via ativação dos GR's. A hiperativação do eixo HPA por fator estressor ou uso de GC's de forma prolongada promovem dessensibilização e *downregulation* dos GR's e perda do controle por *feedback* negativo, levando a desregulação do eixo HPA e surgimento da depressão. Abreviações: adrenocorticotropin hormone (ACTH); corticotropin-releasing factor (CRF). Fonte: Adaptação realizada pelo autor.

A DEX é um potente glicocorticoide sintético, sendo 25 vezes mais potente que o cortisol, possui meia-vida longa de 36-72 hs e poucos efeitos mineralocorticoides. Dentre as ações dos corticosteroides, resultam efeitos anti-inflamatórios, antinociceptivos e imunossupressores (KING et al., 2020).

As ações mecânicas da DEX são mediadas pelos GR's, que são expressos constitutivamente por todos os tipos celulares, embora haja um variável espectro de sensibilidade aos GC's e respostas biológicas entre os tipos de tecido. Os GR's estão presentes no citoplasma em seu estado inativo, sendo sequestrados por complexos proteico (chaperonas) que consistem em proteína de choque térmico, imunofilinas e outros fatores que previnem a sua degradação. O mecanismo genômico ocorre com a ligação do GC ao GR, resultando na dissociação das proteínas chaperonas; os complexos GC-GR dimerizam-se e translocam para o núcleo e ligam-se ao elementos de resposta aos glicocorticóides (GRE) para ativar a transcrição de substâncias anti-inflamatórias, processo chamado de transativação, ou inibir fatores de transcrição pró-inflamatórios, nomeado como transrepressão. Além dos efeitos genômicos, os GC's também exercem ações não-genômicas agudas que ocorrem imediatamente após a ligação aos GR's, como translocação mitocondrial, interações com a membrana plasmática e alterações em vias de sinalização (figura 4) (MADAMSETTY et al., 2022; SINNI AH; YAZID; FLOWER, 2021).

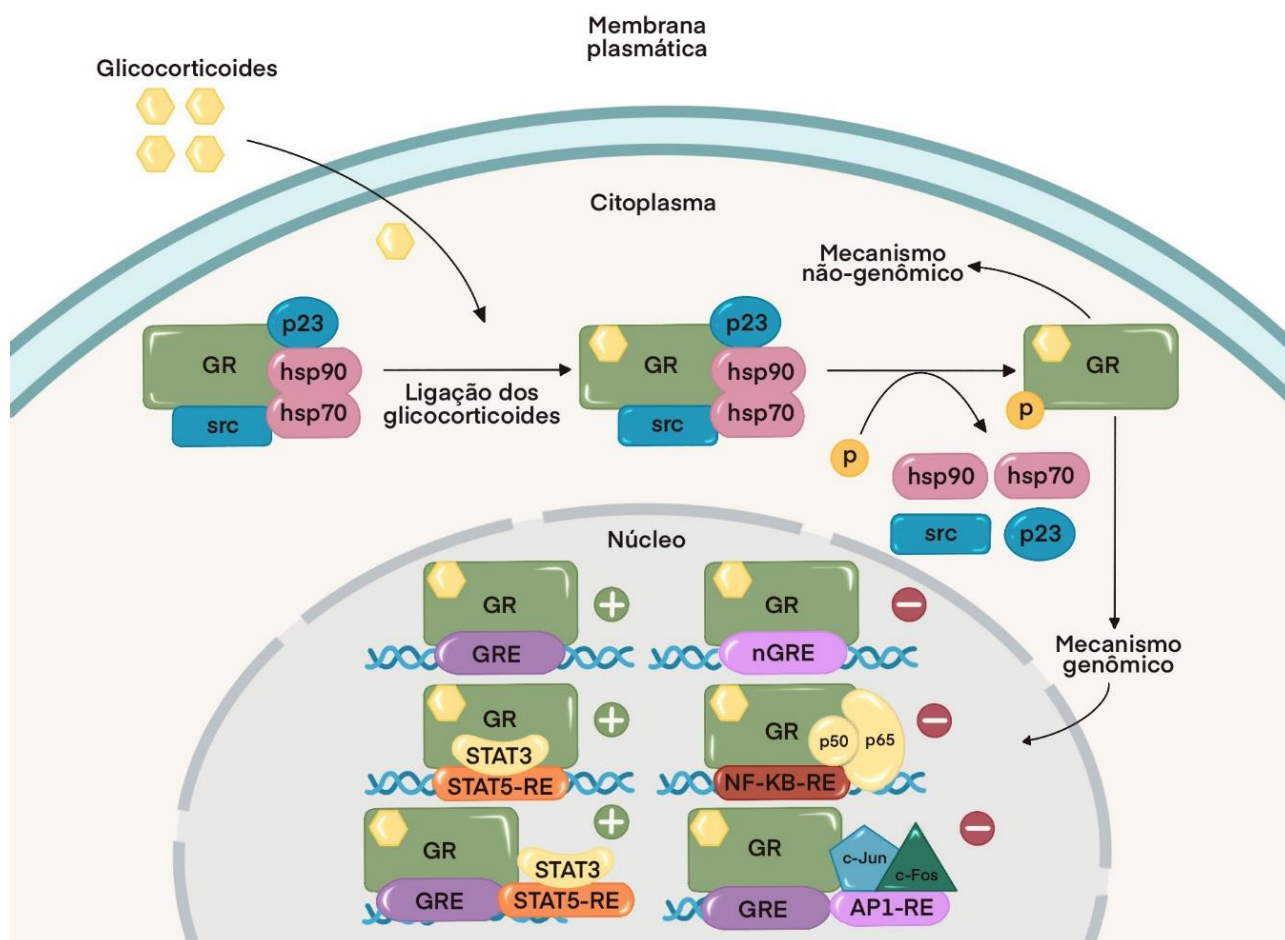


Figura 4: Mecanismo de ação dos glicocorticoides. As ações mecanísticas genômicas ocorrem com a ligação do GC ao GR, resultando na dissociação das proteínas chaperonas; os complexos GC-GR dimerizam-se e translocam para o núcleo e ligam-se aos GRE's para ativar a transcrição de substâncias anti-inflamatórias (transativação) ou inibir fatores de transcrição pró-inflamatórios (transrepressão). Além dos efeitos genômicos, os GC's também exercem ações não-genômicas agudas que ocorrem imediatamente após a ligação aos GR's, como translocação mitocondrial, interações com a membrana plasmática e alterações em vias de sinalização. Abreviações: *glucocorticoid receptor* (GR); proteína co-chaperona (p23); *heat shock protein 90* (hsp90); *heat shock protein 70* (hsp70); cinases de tirosina (src); *glucocorticoid response element* (GRE); *negative glucocorticoid response element* (nGRE); fatores de transcrição (STAT3, STAT5-RE, c-Jun, c-Fos, AP1-RE, p50, p65); nuclear factor kappa B (NF-KB-RE). Fonte: Adaptação realizada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

A DEX é comumente utilizada para tratar processos inflamatórios, autoimunes e distúrbios neuromusculares. Apesar de seus benefícios, o tratamento promove diminuição da massa muscular e prejuízo no metabolismo da glicose, com indução de resistência à insulina em roedores. Além disso, sua utilização prolongada aumenta a gliconeogênese e reduz a captação de glicose muscular (KIM et al., 2022).

1.4. Depressão: tratamento

Os modelos biomédicos definem depressão como um distúrbio de redes neurais, incorporando mudanças em áreas cerebrais amplamente distribuídas, onde os antidepressivos melhoram a plasticidade sináptica e atuam como moduladores de monoaminas (5-HT, NA e DA). Embora as diretrizes recomendem uma abordagem biopsicossocial abrangente para tratar a depressão e as evidências sugiram que intervenções psicológicas, apoio social e exercício físico sejam importantes, o tratamento medicamentoso é muitas vezes essencial na depressão moderada ou grave (MARWAHA et al., 2023).

Os primeiros medicamentos antidepressivos surgiram na década de 1950, sendo os inibidores da monoamina oxidase (IMAO), como a fenelzina, moclobemida e selegilina; e os antidepressivos tricíclicos (ADT's), por exemplo a imipramina, amitriptilina e clomipramina; já nas décadas de 1980 e 1990 são lançados os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS's), como a fluoxetina, sertralina e citalopram e os inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN's), por exemplo a duloxetina, venlafaxina e desvenlafaxina; ainda nos anos 1990 foram introduzidos os antidepressivos atípicos (trazodona, mirtazapina, bupropiona, vortioxetina e agomelatina), aumentando as chances de resposta ao tratamento (LI, 2020; NEMEROFF, 2020).

O mecanismo de ação da maioria dos antidepressivos clássicos envolve a inibição da recaptação de uma ou mais monoaminas, resultando em aumentos na transmissão monoaminérgica. Uma nova geração de antidepressivos, no entanto, combina dois ou mais mecanismos de ação. Esses medicamentos, denominados antidepressivos multimodais (por exemplo, vortioxetina), atuam em diferentes modos de sinalização neuronal, provocando efeitos em diferentes sistemas de neurotransmissão. Em alguns casos, o mecanismo de ação multimodal desses fármacos inclui agonismo ou antagonismo de certos receptores, visando efeitos em sintomas específicos associados à depressão, maior eficácia e melhor perfil de efeitos colaterais (SANCHES; QUEVEDO; SOARES, 2021).

Além dos antidepressivos, psicoterapias baseadas em evidências, mais notavelmente a terapia cognitivo-comportamental e psicoterapia interpessoal, são claramente eficazes no tratamento da depressão. Nos últimos anos, progressos notáveis foram alcançados no desenvolvimento e otimização de tratamentos não-farmacológicos somáticos, incluindo eletroconvulsoterapia, estimulação magnética transcraniana,

estimulação do nervo vago e estimulação cerebral profunda, além de outras modalidades, incluindo estimulação por corrente contínua e ultrassom focalizado (NEMEROFF, 2020).

Os antidepressivos existentes são predominantemente medicamentos de ação monoaminérgica, sendo os medicamentos de primeira linha mais amplamente utilizados os ISRS's, IRSN's, noradrenérgicos e serotoninérgicos específicos (NaSSA's) e ADT's. Em geral, esses fármacos são eficazes no tratamento da depressão e ansiedade, mas a maioria deles tem uma série de efeitos colaterais, incluindo atraso no início de ação (4–6 semanas), taxa de efetividade limitada (50–70%), falta de melhora cognitiva ou mesmo comprometimento cognitivo, disfunção sexual, tendências suicidas. Dessa forma, o desenvolvimento de novos medicamentos de início de ação rápido com melhora da função cognitiva e menos efeitos colaterais é uma grande demanda mundial (LI, 2020).

1.5. Depressão X Cetamina

O avanço mais importante na farmacoterapia da depressão nas últimas décadas foi a cetamina (KET), que está disponível desde a década de 1960 como anestésico dissociativo. Desde o início dos anos 2000, no entanto, seus efeitos de início rápido para tratamento de sintomas depressivos têm sido amplamente documentados. Administrada por via intravenosa (IV), em doses subanestésicas, seus efeitos parecem persistir por 72-96 hs, apesar de sua curta meia-vida. A KET pode produzir rápida e profunda redução nos sintomas depressivos após uma única infusão em doses subanestésicas em indivíduos com depressão, incluindo a DRT, resultando em uma mudança de paradigma na pesquisa da depressão e seus tratamentos farmacológicos (JELEN; STONE, 2021; SANCHES; QUEVEDO; SOARES, 2021).

O funcionamento do glutamato (GLU) está desregulado em áreas do cérebro que estão associados à depressão, dessa forma a KET introduziu o sistema glutamatérgico como um novo alvo farmacológico para o desenvolvimento de antidepressivos, abrindo caminho para o desenvolvimento de fármacos com mecanismos de ação semelhantes. No entanto, existem alguns riscos associados ao uso de KET, incluindo o risco de dissociação, estados psicóticos e seu potencial para abuso/dependência (MARWAHA et al., 2023; SANCHES; QUEVEDO; SOARES, 2021).

A KET é um derivado da arilciclohexilamina com ação antagonista não-competitiva em receptores ionotrópicos N-metil-D-aspartato (NMDA) glutamatérgicos, com propriedades farmacocinéticas bem conhecidas; possui rápida e alto volume de

distribuição, tempo de meia-vida curto e eliminação renal. É metabolizada pelo citocromo P450, o que pode levar a interações medicamentosas. A desvantagem do uso de KET é o amplo perfil de efeitos colaterais; além dos sintomas nas funções cardiopulmonar, urinária e gastrointestinal, os efeitos adversos mais problemáticos ocorrem no SNC, com sintomas dissociativos, além de perda de memória, hiperreflexia, clonus e queixas vestibulares (BORBÉLY et al., 2022).

Os efeitos antidepressivos da KET são mediados através do bloqueio não-competitivo de receptores NMDA em interneurônios inibitórios do ácido gama-aminobutírico (GABA) e em neurônios pós-sinápticos. Os rápidos efeitos antidepressivos da KET estão associados com aumentos na liberação de BDNF mediados pela ativação dos receptores AMPA (JELEN; STONE, 2021).

A KET bloqueia a ação inibitória GABAérgica, promovendo desinibição de neurônios piramidais e aumento na transmissão glutamatérgica; a maior ativação de receptores AMPA induz a liberação de BDNF que se liga em seu receptor tropomiosina quinase B (TrkB), ativando as vias de sinalização MEK/ERK e Akt/mTORC1, obtendo-se ampliação da neuroplasticidade e sinaptogênese; a ativação do alvo da rapamicina complexo 1 (mTORC1) inibe a ação da enzima glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3), que está desregulada na depressão. O antagonismo dos receptores NMDA pós-sinápticos também exerce efeito antidepressivo através da desativação do fator de alongamento eucariótico 2 quinase (EEF2K), aumentando a síntese de BDNF (figura 5) (JELEN; STONE, 2021).

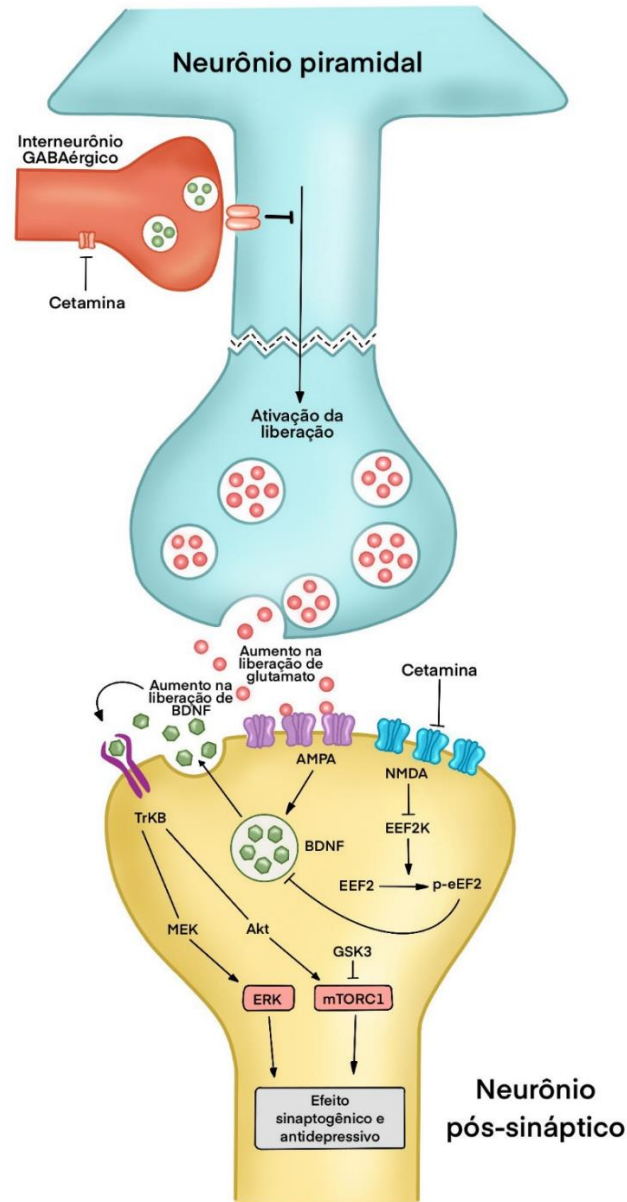


Figura 5: Mecanismo de ação antidepressivo da KET. A KET bloqueia seletivamente os receptores NMDA glutamatérgicos expressos em interneurônios inibitórios GABAérgicos. Isso leva à desinibição dos neurônios piramidais, disparo e liberação aumentados de GLU. O pico de GLU resultante estimula os receptores AMPA pós-sinápticos, levando ao aumento da liberação de BDNF que ativa os receptores TrkB e subsequentes vias de sinalização Akt/mTORC1 e MEK/ERK, levando ao aumento da síntese de proteínas necessárias para sinaptogênese; a ativação de mTORC1 inibe a ação da enzima GSK-3, que está desregulada na depressão. A KET também suprime a atividade dos receptores NMDA pós-sinápticos, desativando a EEF2K, resultando em aumento da síntese de BDNF e subsequente ativação de TrkB-mTORC1. Abreviações: N-metil-d-aspartato (NMDA); α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionico (AMPA); *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF); *eukaryotic elongation factor 2 kinase* (EEF2K); *eukaryotic elongation factor 2* (EEF2); *tropomyosin receptor kinase B* (TrkB); *mammalian target of rapamycin C1* (mTORC1); *serine-threonine kinases* (Akt, ERK); *serine-threonine protein* (MEK); *glycogen synthase kinase-3* (GSK-3). Fonte: Adaptação realizada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

1.6. Depressão X Estresse oxidativo

O cérebro é um órgão altamente suscetível à elevação do estresse oxidativo devido à sua elevada demanda de oxigênio. A depressão também está relacionada ao aumento do estresse oxidativo no cérebro. Pacientes deprimidos apresentaram espécies reativas de oxigênio (ERO's) e espécies reativas de nitrogênio (ERN's) elevadas devido a danos oxidativos no DNA após episódios depressivos (ZAKARIA et al., 2022).

O desequilíbrio entre a produção de radicais e o sistema de defesa antioxidante do organismo é conhecido como estresse oxidativo. A inflamação ativa é acompanhada pelo aumento do estresse oxidativo e nitrosativo, o que pode contribuir para a diminuição da neurogênese e dano das células em regiões cerebrais relevantes para o humor, como o HC (PITSILLOU et al., 2020; TANG et al., 2021).

O estresse oxidativo e nitrosativo são fatores inespecíficos que desempenham funções importantes na fisiopatologia da depressão. Pacientes deprimidos têm defesas antioxidantes mais baixas, como o sistema glutaciona, que pode causar danos às membranas celulares, aumentando peroxidação lipídica, danos a proteínas, DNA e mitocôndrias, e levar a respostas autoimunes secundárias dirigidas contra proteínas nitrosiladas modificadas redox e epítomos específicos oxidativos. Os níveis de glutaciona são mais baixos na depressão, devido ao estresse oxidativo, resultando em apoptose neuronal e redução na secreção de neurotrofinas responsáveis pela sobrevivência neuronal (TARASOV et al., 2021).

O cérebro de indivíduos deprimidos está comumente sob estresse oxidativo resultante da superprodução de ERO's. Além disso, danos às proteínas, lipídios e DNA celular foram observados, assim como morte celular. Outras alterações são nos fatores de crescimento e nas proteínas inflamatórias no cérebro depressivo. Com a demanda de estudos, será possível, no futuro, identificar biomarcadores que possam ser utilizados para fazer previsões específicas sobre o curso da depressão. Por sua vez, essas previsões podem moldar o desenvolvimento de tratamentos adequados e individualizados para pacientes com depressão. A detecção de mudanças precoces no cérebro de pacientes com depressão pode permitir gerenciar melhor a progressão dos sintomas (SONG; KIM, 2021).

1.7. Depressão X Eletroencefalograma

Os métodos de neuroimagem são importantes na obtenção de medicina de precisão para muitos transtornos psiquiátricos. Os exames de eletroencefalografia, ressonância magnética volumétrica cerebral, ressonância magnética funcional, difusão imagem tensor, espectroscopia de ressonância magnética, espectroscopia de infravermelho próximo, tomografia por emissão de pósitrons e tomografia por emissão de fóton único computadorizada tem sido utilizados como moderadores ou preditores na resposta ao tratamento ou recorrência de depressão (KANG; CHO, 2020).

Medidas como o eletroencefalograma (EEG) são comparativamente mais econômicas e escaláveis do que outras técnicas de neuroimagem, como uma potencial ferramenta clínica para prever a resposta ao tratamento. As oscilações do EEG referem-se à atividade elétrica cerebral e constituem um mecanismo onde o cérebro pode regular mudanças dentro de redes neuronais específicas. Essa atividade cerebral repetitiva surge por causa das interações de grandes populações de neurônios. Uma informação direta obtida pelo EEG é a potência da banda, uma vez que o sinal pode ser descrito no domínio da frequência e as principais bandas do EEG (alfa, beta, teta, delta e gama) são bem conhecidas. É fácil analisar as amplitudes de potência para cada banda. As amplitudes de potência em bandas de frequência específicas, estão associadas a diferentes atividades no cérebro (figura 6) (ALARIO; NICIU, 2021; KANG; CHO, 2020; SAMPAIO et al., 2017, 2018; WATTS et al., 2022).

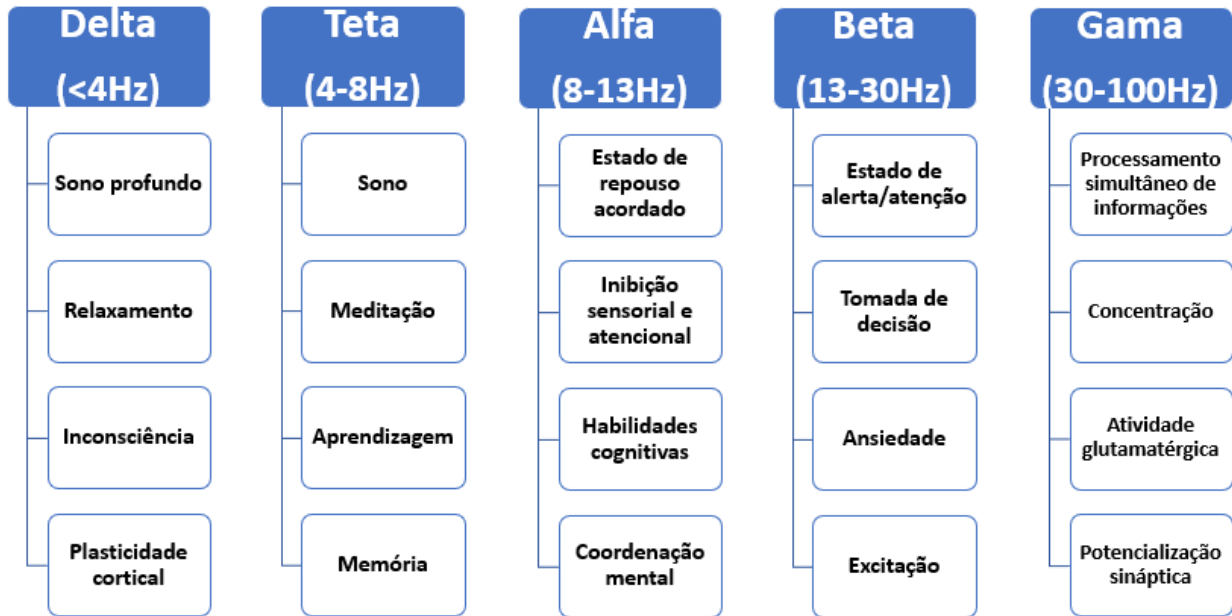


Figura 6: Atividades das bandas cerebrais. Correlações comportamentais e neurais de cada onda cerebral com suas respectivas frequências específicas. Fonte: Elaborada pelo autor. Adaptado de (ALARIO; NICIU, 2021; WATTS et al., 2022).

O HC é uma área cerebral importante para a etiologia da depressão; como tal, existem evidências de que a depressão pode estar relacionada a anormalidades em larga escala em sistemas corticais e subcorticais distribuídos em regiões frontal, temporal, parietal e occipital.

O HC é marca-passo do ritmo teta através de neurônios GABAérgicos do septo medial; enquanto neurônios glutamatérgicos mostraram intenso aumento de disparo teta, sugerindo que podem contribuir para o aumento do impulso tônico dos marca-passos associados ao teta (KOCSIS et al., 2022).

Assimetria alfa, que mede a potência relativa da banda alfa entre os hemisférios, particularmente em eletrodos frontais, demonstrou discriminar indivíduos com depressão de controles saudáveis. De forma similar, potências beta e gama low em regiões fronto-centrais mostraram estar negativamente correlacionadas com pontuações de desatenção na depressão. Além disso, oscilações beta locais intrínsecas no subgenuo cingulado foram inversamente relacionadas com sintomas depressivos. Em contextos específicos, os ritmos gama revelaram distinguir pacientes deprimidos de controles saudáveis, e vários antidepressivos também mostraram alterar as oscilações gama. Pacientes com depressão também evidenciaram uma estrutura de rede mais aleatória e diferenças em complexidade

do sinal, que podem servir como biomarcadores replicáveis de resposta ao tratamento e remissão (WATTS et al., 2022).

A busca de biomarcadores para a depressão revelou evidências prospectivas escassas para os principais modelos biológicos e para envolvimento etiológico de neuroimagem, fatores gastrointestinais, fatores neurotróficos, neurotransmissores, hormônios, imunologia e o estresse oxidativo. Portanto, há grande necessidade de estudos sobre a contribuição relativa de biomarcadores (em combinação com fatores psicossociais) a fim de compreender a etiologia da depressão e entender melhor seu curso clínico (KENNIS et al., 2020).

2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

A depressão é uma das principais causas mundiais de incapacidade e aumento nos custos socioeconômicos da saúde. O tratamento farmacológico disponível possui limitações, como início tardio da ação terapêutica (duas a quatro semanas) e até um terço dos pacientes não obtém uma resposta satisfatória, desenvolvendo a DRT (JELEN; STONE, 2021; WHO, 2017).

Os fármacos antidepressivos clássicos atuam na modulação de monoaminas, aumentando suas concentrações na fenda sináptica; no entanto, o sistema glutamatérgico também está desregulado na fisiopatologia da depressão e tem importante função haja visto que o GLU é o aminoácido excitatório mais abundante. Dessa forma, a KET introduziu o sistema glutamatérgico como um novo alvo farmacológico para o desenvolvimento de antidepressivos (MARWAHA et al., 2023).

A KET é classificada como anestésico dissociativo, contudo através do bloqueio de receptores NMDA em interneurônios GABAérgicos inibitórios e em neurônios pós-sinápticos exerce efeitos antidepressivos rápidos (JELEN; STONE, 2021). Em ensaio controlado randomizado, cruzado e duplo-cego, oito pacientes com diagnóstico de depressão, na ausência de medicamentos, foram tratados com KET (0,5 mg/kg, IV), mostrando efeito antidepressivo após quatro horas que aumentou progressivamente até 72hs (BERMAN et al., 2000).

A literatura tem mostrado ação antidepressiva rápida da KET, no entanto, é necessário compreender melhor sobre seus efeitos no comportamento e em áreas específicas do cérebro relacionadas à depressão em modelos pré-clínicos. O modelo animal de depressão-símile induzido por dexametasona é utilizado na literatura, contudo é usado no período pré-natal ou neonatal; além disso, a literatura é escassa na associação desse modelo em ratos adultos e tratamento com KET nos protocolos e parâmetros avaliados. Tendo em vista o exposto anteriormente, obteve-se a justificativa e relevância para o desenvolvimento da presente pesquisa.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

- Avaliar os efeitos agudos da cetamina no comportamento, estresse oxidativo e eletroencefalograma em modelo de depressão-símile induzido por dexametasona em ratos adultos.

3.2. Específicos

- Selecionar dose de dexametasona com objetivo de induzir depressão-símile em ratos adultos.
- Descrever efeitos glicêmicos e no peso corporal em ratos adultos submetidos ao modelo de depressão-símile induzido por dexametasona.
- Verificar os efeitos da cetamina nos comportamentos de ratos adultos submetidos ao modelo de depressão-símile induzido por dexametasona.
- Identificar efeitos da cetamina no estresse oxidativo de ratos adultos submetidos ao modelo de depressão-símile induzido por dexametasona.
- Avaliar efeitos da cetamina no eletroencefalograma de ratos adultos submetidos ao modelo de depressão-símile induzido por dexametasona.

4. METODOLOGIA

4.1. Animais

Os animais utilizados no estudo foram ratos *Wistar* machos adultos livres de patógenos específicos (*Specific Pathogen Free* – SPF) (250-350g), provenientes do biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM). Os animais foram mantidos em sala com temperatura e umidade controladas, sob ciclo claro/escuro de doze horas, com acesso *ad libitum* à comida e água. Ao entrar no biotério, vestimentas adequadas foram utilizadas para garantir o padrão sanitário SPF dos animais. Todos os experimentos foram conduzidos conforme guias do Instituto Nacional de Saúde para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório (ANIMALS, 2011). A pesquisa foi submetida à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará e aprovada sob o número de protocolo 8114150218.

4.2. Fármacos

Os fármacos utilizados na pesquisa foram a dexametasona (Azium® 2 mg/mL, MSD Saúde Animal) na dose de 1,5 mg/kg diluída em salina, administrada por via SC como modelo de depressão-símile e o cloridrato de cetamina (Cetamin® 100 mg/mL, Syntec) na dose de 10 mg/kg diluída em salina, administrado por via intraperitoneal (IP), como fármaco antidepressivo (XU et al., 2013). As diluições foram administradas em volume de 1mL a cada 350g de peso corporal.

4.3. Modelo farmacológico de depressão-símile

O modelo de depressão-símile utilizado foi por indução com DEX, administrada por 14 dias consecutivos na dose de 1,5 mg/kg, dosagem selecionada no presente estudo, em aplicação única diária pela manhã entre 9hs e 10hs por via subcutânea (SC).

4.4. Delineamento experimental

Os animais utilizados foram divididos aleatoriamente para formação dos grupos, sendo excluídos os que apresentaram movimento estereotipado ou indicativo de doença, como alterações na pelagem e ausência de vibrissas. A pesquisa foi dividida em quatro etapas: a) seleção de dose da DEX e avaliação do peso corporal; b) estudo piloto com KET e avaliação da glicemia no modelo de depressão-símile; c) avaliação comportamental e do estresse oxidativo; e d) estudo eletroencefalográfico. Para cada etapa do delineamento experimental foi solicitado novos animais; houve variação no número de animais por grupo entre cada etapa, devido a necessidade de repetição de alguns experimentos para confirmação dos resultados.

4.4.1. Seleção de dose da DEX e avaliação do peso corporal

Inicialmente, no estudo da seleção de dose da DEX para o modelo de depressão-símile, foram testadas três doses (0,5; 1,5 ou 5,0 mg/kg) (MORI et al., 2022; ZHENG et al., 2018), sendo os animais divididos em quatro grupos (n=7-17). O grupo controle foi tratado com salina por 14 dias, via SC; e os grupos DEX 0,5; 1,5 e 5,0 foram tratados com dexametasona nas doses de 0,5; 1,5 e 5,0 mg/kg, respectivamente, por 14 dias, via SC; no último dia de tratamento, 30 minutos após administração, foram realizados os testes comportamentais de campo aberto e nado forçado. O peso dos animais também foi avaliado no 0, 7^o e 14^o dias (figura 7).

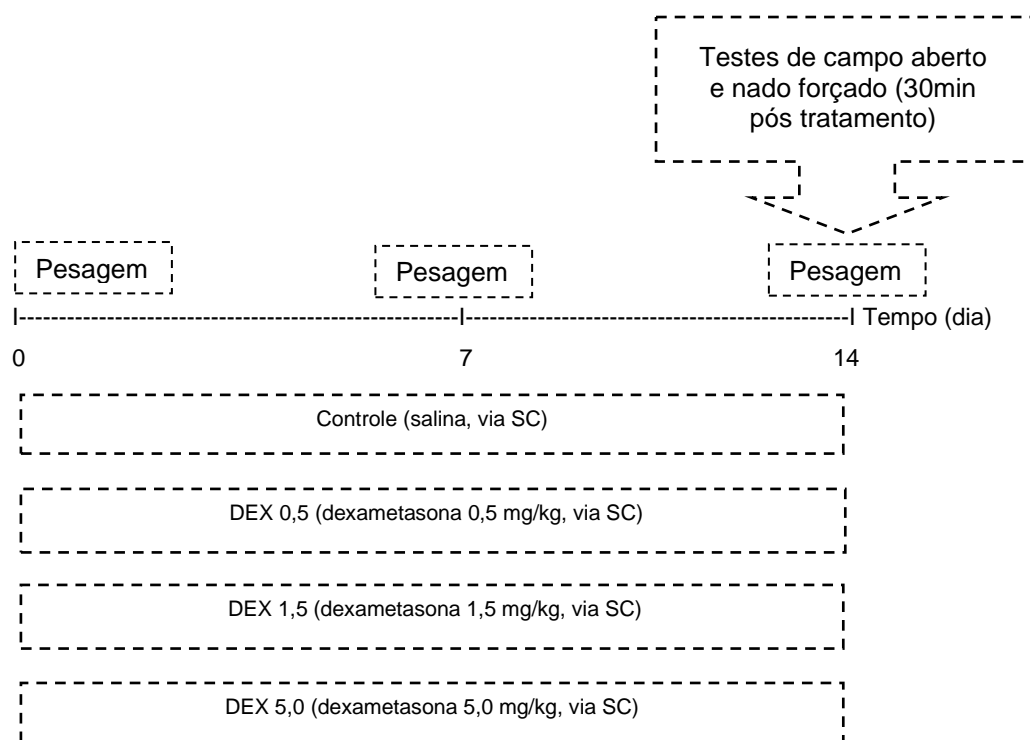


Figura 7: Delineamento experimental da seleção de dose da DEX e avaliação do peso corporal. Foram administrados salina ou dexametasona por 14 dias consecutivos. Controle (salina, via SC); DEX 0,5; 1,5 e 5,0 (dexametasona nas doses de 0,5; 1,5 e 5,0 mg/kg, respectivamente, via SC). Os testes de campo aberto e nado forçado foram realizados no último dia de tratamento, 30 minutos após administração. Os pesos dos animais também foram analisados no 0, 7^o e 14^o dias. Todas as soluções foram administradas em volume de 1mL a cada 350g de peso corporal. Ao final dos protocolos os animais foram eutanasiados por *overdose* anestésica. Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4.2. Estudo piloto com KET e avaliação da glicemia no modelo de depressão-símile

No estudo piloto para verificação dos efeitos agudos comportamentais da KET com duas horas após administração, os animais foram divididos em três grupos (n=14-17). O grupo controle foi tratado com salina por 14 dias, via SC; o grupo DEX foi tratado com dexametasona na dose de 1,5 mg/kg por 14 dias, via SC; e o grupo DEX+KET foi tratado com dexametasona na dose de 1,5 mg/kg por 14 dias, via SC e no último dia de tratamento, KET foi administrada na dose de 10 mg/kg, via IP. No 14^o dia de tratamento, duas horas após administração dos fármacos, foi realizado o teste de nado forçado. A glicemia do grupo DEX também foi avaliada no 0, 7^o e 14^o dias (figura 8).

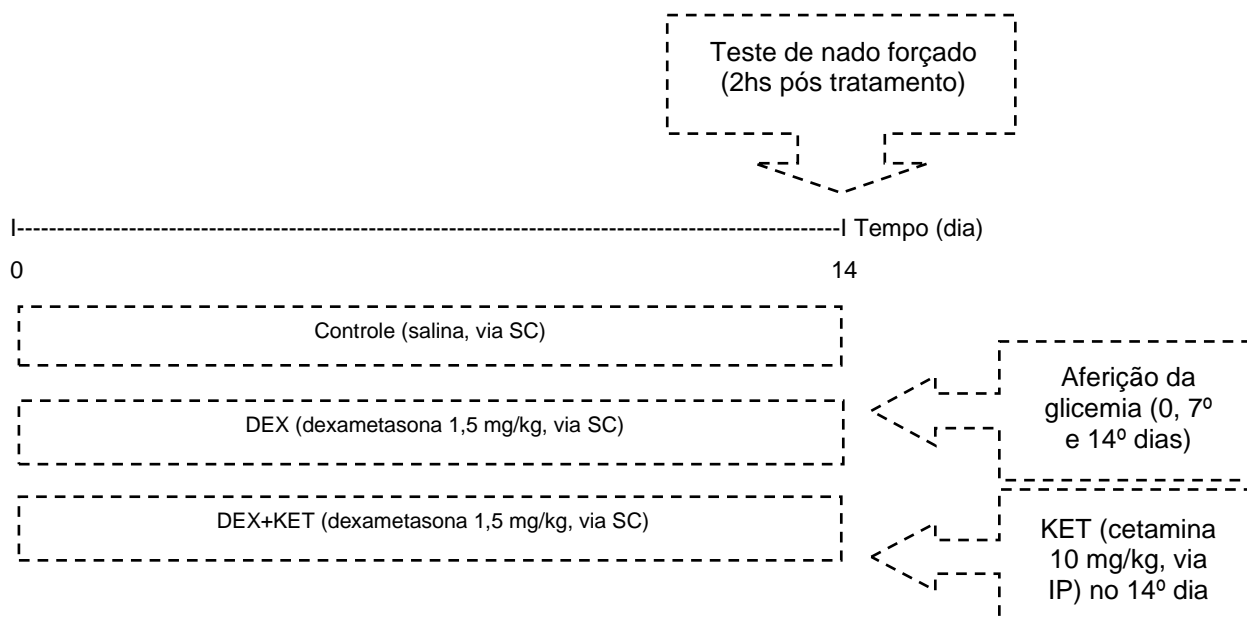


Figura 8: Delineamento experimental do estudo piloto com KET e avaliação da glicemia no modelo de depressão-símile. Foram administrados salina ou dexametasona por 14 dias consecutivos. Controle (salina, via SC); DEX (dexametasona na dose de 1,5 mg/kg, via SC); DEX+KET (dexametasona na dose de 1,5 mg/kg, via SC + cetamina na dose de 10 mg/kg, via IP). A KET foi administrada de forma aguda no 14º dia. O teste de nado forçado foi realizado no último dia de tratamento, duas horas após administração dos fármacos. A glicemia dos animais do grupo DEX também foi analisada no 0, 7º e 14º dias. Todas as soluções foram administradas em volume de 1mL a cada 350g de peso corporal. Ao final dos protocolos os animais foram eutanasiados por *overdose* anestésica. Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4.3. Avaliação comportamental e do estresse oxidativo

Após o estudo piloto, onde foi determinado o protocolo ideal, foi dado seguimento aos testes comportamentais e do estresse oxidativo, sendo os animais divididos em quatro grupos (n=7-17). O grupo controle foi tratado com salina por 14 dias, via SC; o grupo DEX foi tratado com dexametasona na dose de 1,5 mg/kg por 14 dias, via SC; o grupo KET foi tratado com salina por 14 dias, via SC e no último dia de tratamento foi administrado cetamina na dose de 10 mg/kg, via IP; e o grupo DEX+KET foi tratado com dexametasona na dose de 1,5 mg/kg por 14 dias, via SC e no último dia de tratamento, cetamina foi administrada na dose de 10 mg/kg, via IP.

No 14º dia de tratamento, duas horas após administração dos fármacos, foram realizados os testes de campo aberto, nado forçado e labirinto em cruz elevada; em seguida, os animais foram guilhotinados e tiveram os hipocampus coletados e

armazenados em freezer -80°C para posterior realização dos testes de estresse oxidativo (GSH, TBARS e nitrito). Foi escolhido o hipocampo para o estudo do estresse oxidativo, por ser uma área do sistema límbico que tem importante envolvimento com a depressão. Para o teste de preferência à sacarose, animais exclusivos foram utilizados, no entanto foi seguido o mesmo delineamento experimental ($n=7-10$) dos testes comportamentais já descritos anteriormente (figura 9).

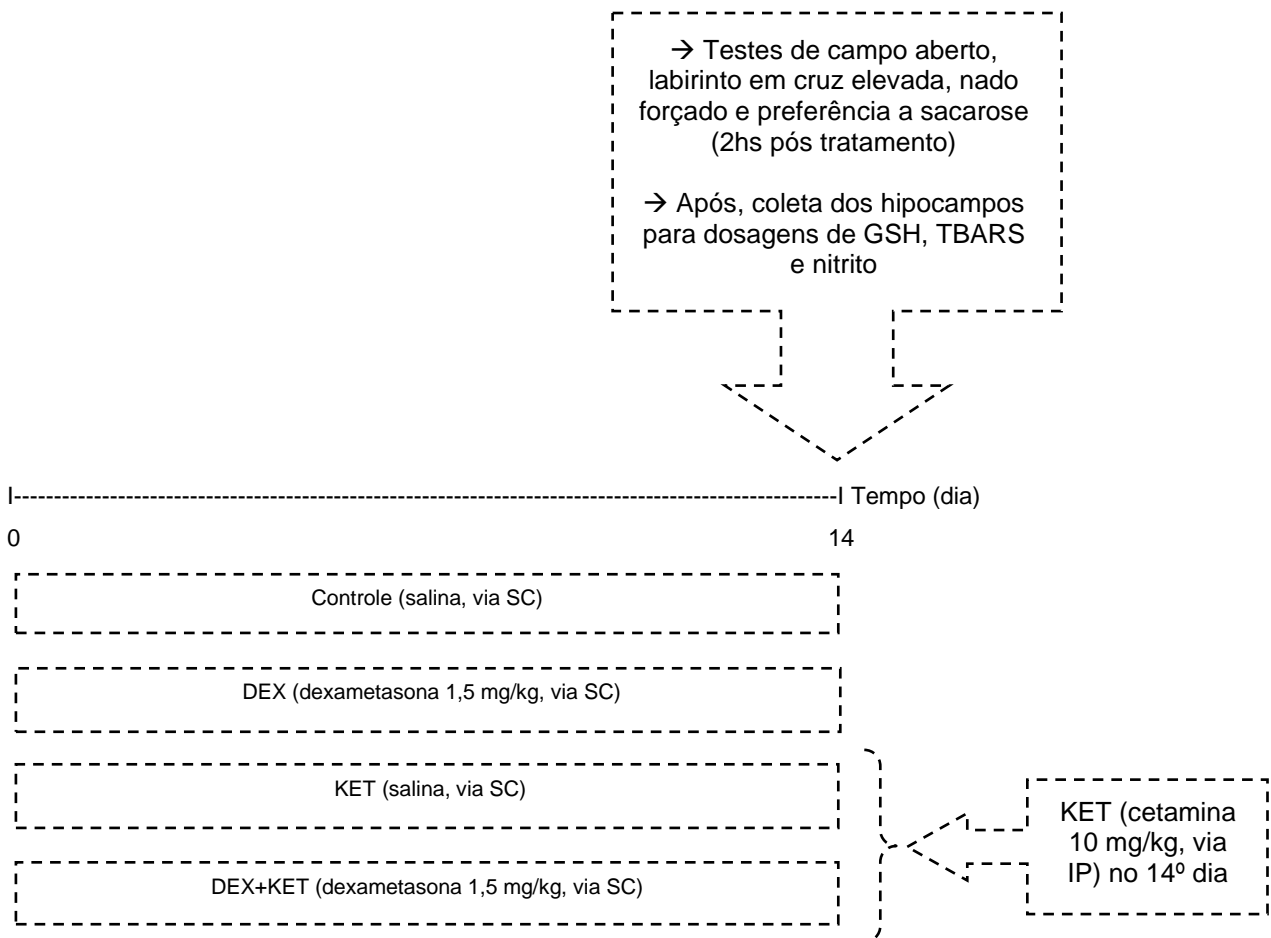


Figura 9: Delineamento experimental da avaliação comportamental e do estresse oxidativo. Foram administrados salina ou dexametasona por 14 dias consecutivos. Controle (salina, via SC); DEX (dexametasona na dose de 1,5 mg/kg, via SC); KET (salina, via SC + cetamina na dose de 10 mg/kg, via IP); DEX+KET (dexametasona na dose de 1,5 mg/kg, via SC + cetamina na dose de 10 mg/kg, via IP). A cetamina foi administrada de forma aguda no 14º dia, nos grupos que foram tratados com esse fármaco. Os testes de campo aberto, labirinto em cruz elevada e nado forçado foram realizados no último dia de tratamento, duas horas após administração dos fármacos. Em seguida, os animais foram guilhotinados e seus hipocampus foram coletados para análise do estresse oxidativo (GSH, TBARS e nitrito). Seguindo a mesma linha de tratamento, conforme protocolo específico, com outros grupos de animais, foi realizado o teste de preferência à sacarose. Todas as soluções foram administradas em volume de 1mL a cada 350g de peso corporal. Ao final do protocolo os animais do teste de preferência à sacarose foram eutanasiados por *overdose* anestésica. Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4.4. Estudo eletroencefalográfico

Finalizando o estudo, para avaliação dos efeitos agudos eletroencefalográficos da KET através do EEG, inicialmente os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para inserção de eletrodo no hipocampo direito. O hipocampo foi selecionado para o estudo eletroencefalográfico, pois é uma área do sistema límbico que tem importante envolvimento com sintomas depressivos, além de ser marca-passo para ondas teta, que são importantes para resposta antidepressiva.

Setenta e duas horas após o procedimento cirúrgico o tratamento dos animais foi iniciado, assim os animais foram divididos em quatro grupos (n=5). O grupo controle foi tratado com salina por 14 dias, via SC; o grupo DEX foi tratado com dexametasona na dose de 1,5 mg/kg por 14 dias, via SC; o grupo KET foi tratado com salina por 14 dias, via SC e no último dia de tratamento foi administrado cetamina na dose de 10 mg/kg, via IP; e o grupo DEX+KET foi tratado com dexametasona na dose de 1,5 mg/kg por 14 dias, via SC e no último dia de tratamento, cetamina foi administrada na dose de 10 mg/kg, via IP. O teste de EEG foi realizado no dia 0 (EEG basal), antes de iniciar os tratamentos, e no 14º dia duas horas após administração dos fármacos (figura 10).

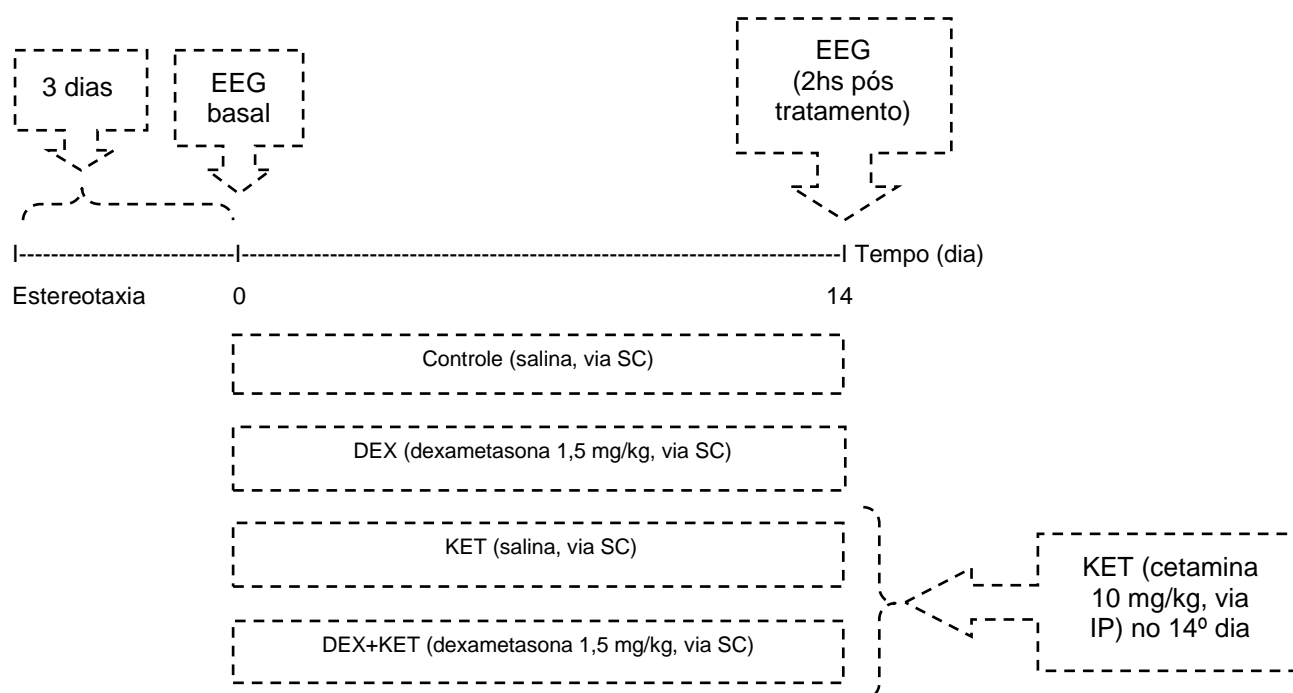


Figura 10: Delineamento experimental do estudo eletroencefalográfico. Inicialmente foi realizada estereotaxia nos animais para implantação de eletrodo no hipocampo direito. Após 3 dias da cirurgia estereotóxica, foram administrados salina ou dexametasona por 14 dias consecutivos. Controle (salina, via SC); DEX (dexametasona na dose de 1,5 mg/kg, via SC); KET (salina, via SC + cetamina na dose de 10 mg/kg, via IP); DEX+KET (dexametasona na dose de 1,5 mg/kg, via SC + cetamina na dose de 10 mg/kg, via IP); KET foi administrada de forma aguda no 14º dia. Os testes de EEG foram realizados no dia 0 (EEG basal) e no 14º dia, duas horas após administração dos fármacos. Todas as soluções foram administradas em volume de 1mL a cada 350g de peso corporal. Ao final dos protocolos os animais foram eutanasiados por *overdose* anestésica. Fonte: Elaborada pelo autor.

Ao término dos protocolos, os animais foram eutanasiados por *overdose* anestésica com KET na dose de 300 mg/kg em adição à xilazina na dose de 30 mg/kg, em volume de 1mL a cada 350g de peso corporal, via IP, sendo verificado se o animal foi à óbito por verificação da respiração e batimento cardíaco, logo após foram armazenados em freezer para posterior incineração.

4.5. Estudo comportamental

4.5.1. Teste de campo aberto

O teste de campo aberto foi feito de acrílico (paredes transparentes, 75x75x50 cm) e dividido em quatro quadrantes. Esse teste é utilizado para avaliar a atividade locomotora e exploratória dos animais (ARCHER, 1973). Individualmente, os animais foram colocados no centro da arena, e foram avaliados os parâmetros de número de quadrantes cruzados com as quatro patas (atividade locomotora), número de *rearing* (exploração vertical) e número de *grooming* (autolimpeza) ao longo de um período de cinco minutos, após um minuto para habituação. Antes de iniciar um novo teste, a arena foi limpa com álcool 70% para retirar odores, fezes e urina (figura 11).

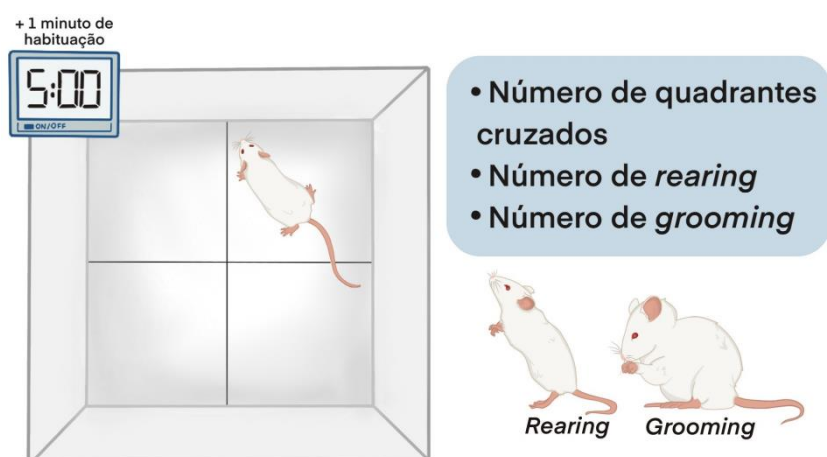


Figura 11: Teste de campo aberto. Individualmente, os animais foram colocados no centro da arena e foram avaliados os parâmetros de número de quadrantes cruzados com as quatro patas (atividade locomotora), número de *rearing* (exploração vertical) e número de *grooming* (autolimpeza) ao longo de um período de 5 min, após 1 min para habituação. Antes de iniciar um novo teste, a arena foi limpa com álcool 70% para retirar odores, fezes e urina. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.5.2. Teste de labirinto em cruz elevada

O labirinto em cruz elevada é um teste que avalia ansiedade e consiste em dois braços abertos (30x5x25 cm) e dois braços fechados (30x5x25 cm), conectados entre si por uma plataforma central (5x5 cm), formando uma cruz elevada a 45cm do chão. As paredes foram confeccionadas em acrílico transparente e o piso em acrílico preto. Os

animais, individualmente, foram colocados na plataforma central e durante cinco minutos foram observados os parâmetros de número de entrada nos braços abertos (NEBA) e tempo de permanência nos braços abertos (TPBA). Antes de iniciar um novo teste, a arena foi limpa com álcool 70% para retirar odores, fezes e urina (figura 12) (LISTER, 1987).



Figura 12: Teste de labirinto em cruz elevada. Os animais, individualmente, foram colocados na plataforma central e durante 5 min foram observados os parâmetros de número de entrada nos braços abertos (NEBA) e tempo de permanência nos braços abertos (TPBA). Antes de iniciar um novo teste, a arena foi limpa com álcool 70% para retirar odores, fezes e urina. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.5.3. Teste de nado forçado

Os animais foram individualmente colocados em um recipiente cilíndrico transparente aberto (22 cm de diâmetro x 50 cm de altura) com 30 cm de água à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Os parâmetros avaliados por um período de cinco minutos foram o tempo de imobilidade e tempo de *climbing* (escalada). A imobilidade foi interpretada como o animal parado na água, sem lutar, fazendo apenas movimentos mínimos necessários para manter sua cabeça acima da água (figura 13) (PORSOLT; BERTIN; JALFRE, 1977).

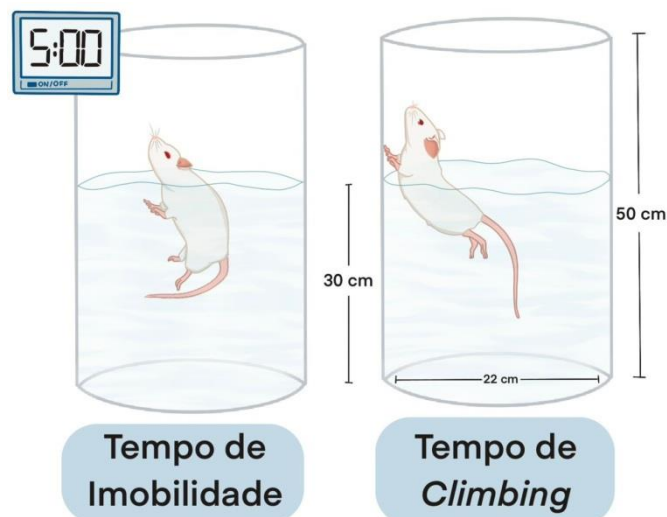


Figura 13: Teste de nado forçado. Os animais foram, individualmente, colocados em um recipiente cilíndrico transparente aberto com água. Os parâmetros avaliados por um período de 5 min foram o tempo de imobilidade e tempo de *climbing* (escalada). A imobilidade foi interpretada como o animal parado na água, sem lutar, fazendo apenas movimentos mínimos necessários para manter sua cabeça acima da água. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.5.4. Teste de preferência à sacarose

O teste de preferência à sacarose avalia anedonia, que é um comportamento de depressão-símile importante. Setenta e duas horas antes do teste, foi realizada habituação dos animais à sacarose de acordo com o protocolo: duas garrafas com solução de sacarose 1% foram colocadas em cada gaiola; após 24hs, uma das garrafas de sacarose foi substituída por água; após 24hs, os animais ficaram em jejum total por 24hs. Para a realização do teste, os animais foram alojados em gaiolas individuais e tiveram livre acesso a duas garrafas, uma com 100 mL de solução de sacarose 1% e outra com 100 mL de água (figura 14) (MAO et al., 2014). Após 1h de teste, os volumes de solução de sacarose e água consumidos foram medidos e a porcentagem de preferência à sacarose foi calculada pela fórmula:

$$[\text{consumo de sacarose} \div (\text{consumo de água} + \text{consumo de sacarose})] \times 100$$

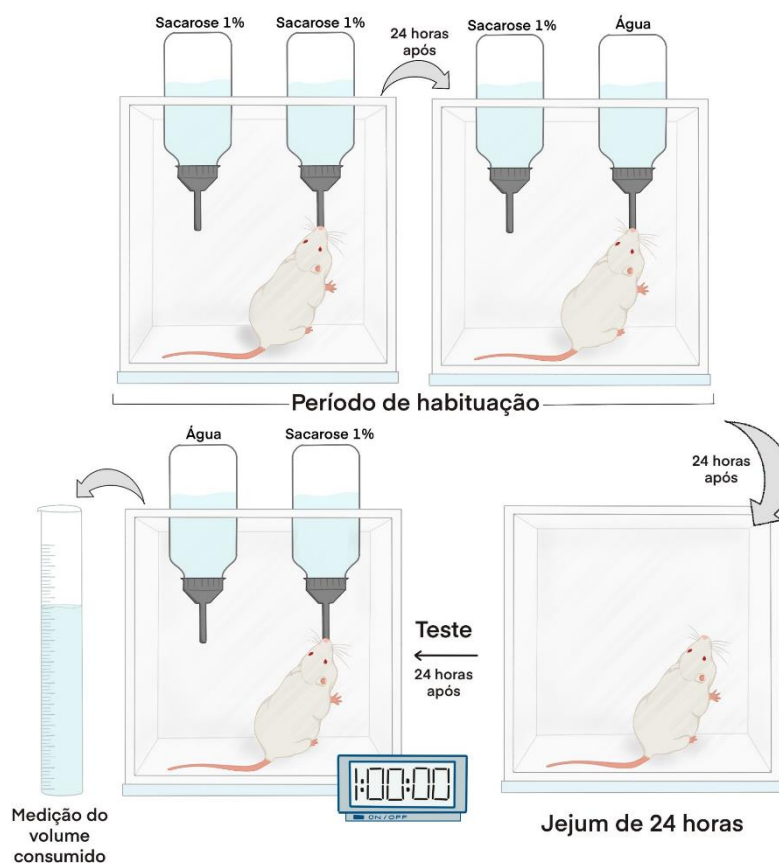


Figura 14: Teste de preferência à sacarose. Setenta e duas horas antes do teste, foi realizada habituação dos animais à sacarose de acordo com o protocolo: duas garrafas com solução de sacarose 1% foram colocadas em cada gaiola; após 24hs, uma das garrafas de sacarose foi substituída por água; após 24hs, os animais foram privados de água/sacarose e comida por 24hs. Para a realização do teste, os animais foram alojados em gaiolas individuais e tiveram livre acesso a duas garrafas, uma com 100 mL de solução de sacarose 1% e outra com 100 mL de água. Após 1h de teste, os volumes de solução de sacarose e água consumidos foram medidos e foi calculada a porcentagem de preferência à sacarose. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.6. Avaliação do peso corporal

O início do registro dos pesos dos animais foi no dia 0 (antes de iniciar os tratamentos), sendo os animais pesados em uma balança digital a cada sete dias durante 14 dias para a avaliação da variação de peso (figura 15).

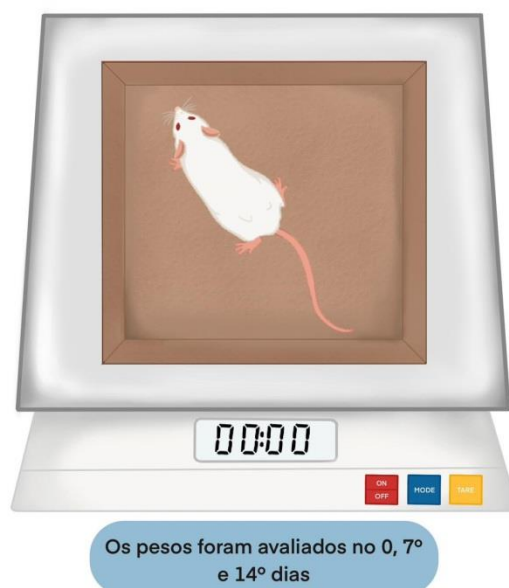


Figura 15: Avaliação do peso corporal. O início dos registros dos pesos dos animais foi no dia 0 (antes de iniciar os tratamentos), sendo os animais pesados em uma balança digital a cada sete dias durante 14 dias. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.7. Avaliação da glicemia capilar

O início do registro da glicemia capilar foi no dia 0 (antes de iniciar o tratamento), sendo o sangue coletado do final da cauda e utilizado fita reagente e glicosímetro One Touch Ultra Plus Flex (Johnson&Johnson®) como sistema de medição. As glicemias foram registradas a cada sete dias durante 14 dias para a avaliação da variação de glicemia capilar. Os animais não estavam em jejum durante as aferições da glicemia (figura 16).

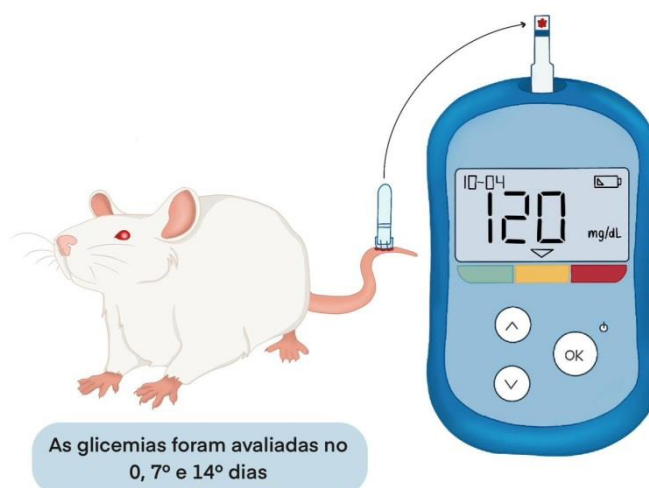


Figura 16: Avaliação da glicemia capilar. O início do registro da glicemia capilar foi no dia 0 (antes de iniciar o tratamento), sendo o sangue coletado do final da cauda e utilizado fita reagente e glicosímetro One Touch Ultra Plus Flex (Johnson&Johnson®) como sistema de medição. As glicemias foram registradas a cada sete dias durante 14 dias. Os animais não estavam em jejum durante as aferições da glicemia. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.8. Estudo do estresse oxidativo

4.8.1. Determinação das concentrações de GSH

A glutatona reduzida (GSH) é um importante antioxidante endógeno; o método para sua dosagem foi baseado na reação do reagente de Ellman (DTNB), com grupos tiol livres. Preparou-se homogenato dos hipocampos em tampão e foram adicionados 0,02M de EDTA e solução de ácido tricloroacético 50%. Após centrifugação (3000 rpm/15 min), os sobrenadantes dos homogenatos foram coletados e misturados com 0,4M de tampão tris-HCl + 0,01M de DTNB, pH 8,9. Os níveis de GSH foram determinados por absorvância em leitor de microplacas de ELISA a 412 nm, calculados com base em curva padrão e expressos como µg de GSH/g de tecido (figura 17) (SEDLAK; LINDSAY, 1968).

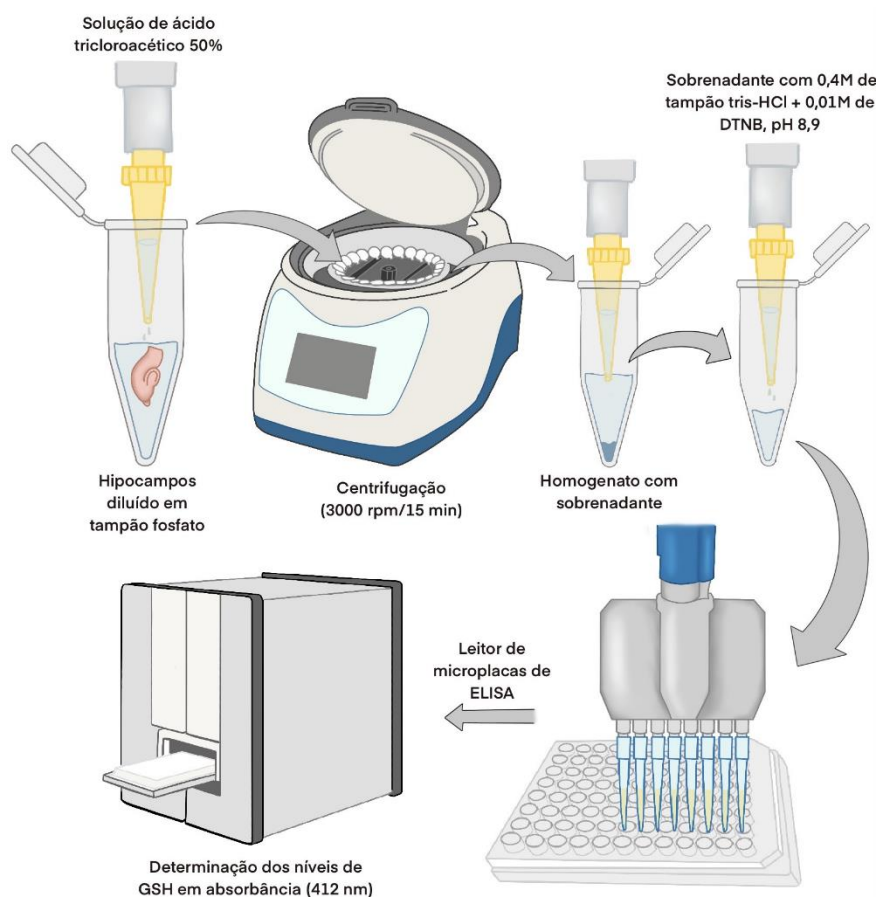


Figura 17: Determinação das concentrações de GSH. Preparou-se homogenato dos hipocâmpos em tampão e foram adicionados 0,02M de EDTA e solução de ácido tricloroacético 50%. Após centrifugação (3000 rpm/15 min), os sobrenadantes dos homogenatos foram coletados e misturados com 0,4M de tampão tris-HCl + 0,01M de DTNB, pH 8,9. Os níveis de GSH foram determinados por absorvância em leitor de microplacas de ELISA a 412 nm, calculados com base em curva padrão e expressos como μg de GSH/g de tecido. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.8.2. Determinação das concentrações de TBARS

As espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram avaliadas pela dosagem dos níveis de malondialdeído (MDA), que é um produto final da peroxidação lipídica. Os hipocâmpos foram homogeneizados em tampão 50mM (pH 7,4) e 63 μL dos homogenatos foram misturados a 100 μL de ácido perclórico 35%, sendo então centrifugados (7000 rpm/15 min); 150 μL dos sobrenadantes foram adicionados com 50 μL de ácido tiobarbitúrico 1,2%, e então, estas amostras foram aquecidas em banho-maria por 30 minutos. Após o resfriamento, o MDA foi determinado por absorvância em leitor de microplacas de ELISA a 535 nm, calculados com base em curva padrão e expresso em μg de MDA/g de tecido (figura 18) (ESTERBAUER; CHEESEMAN, 1990).

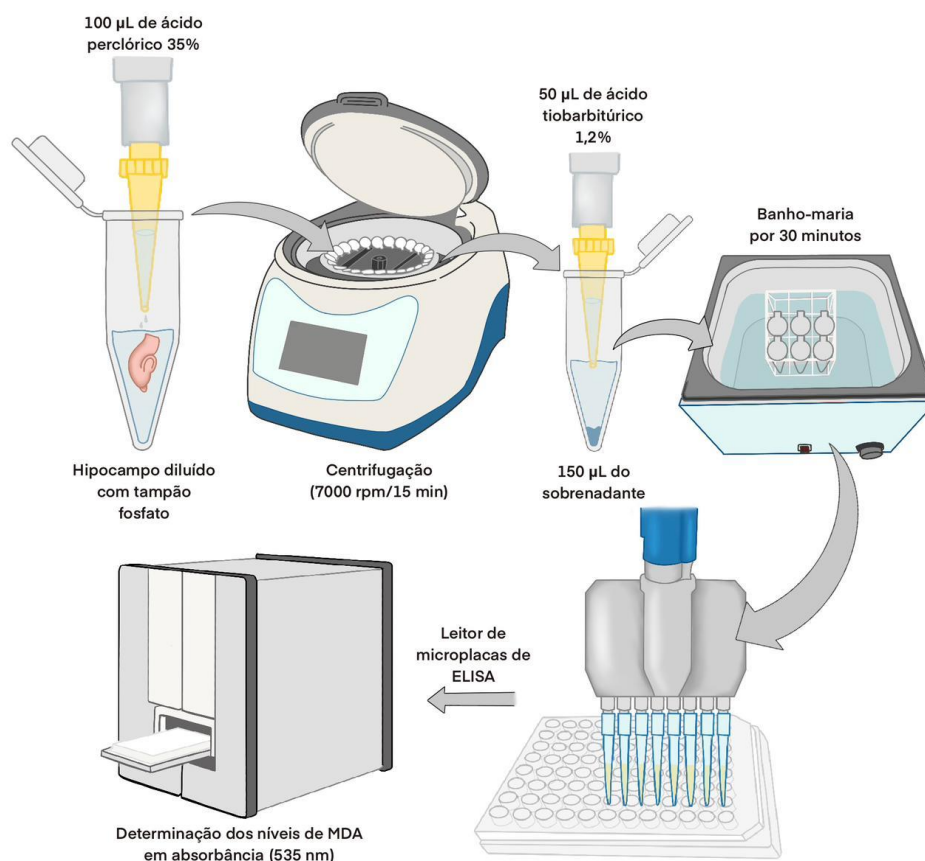


Figura 18: Determinação das concentrações de TBARS. Os hipocampus foram homogeneizados em tampão 50mM (pH 7,4) e 63 µL dos homogenatos foram misturados a 100 µL de ácido perclórico 35%, sendo então centrifugados (7000 rpm/15 min); 150 µL dos sobrenadantes foram adicionados com 50 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%, e então, estas amostras foram aquecidas em banho-maria por 30 min. Após o resfriamento, o MDA foi determinado por absorvância em leitor de microplacas de ELISA a 535 nm, calculados com base em curva padrão e expresso em µg de MDA/g de tecido. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.8.3. Determinação das concentrações de Nitrito

A determinação dos níveis de nitrito é utilizada para avaliar efeito na produção de óxido nítrico que está relacionado com processo inflamatório. Preparou-se homogenato dos hipocampus em tampão; após centrifugação (800 × g/10 min), os sobrenadantes dos homogenatos foram coletados e utilizou-se o protocolo da reação de Griess; 100 µL do reagente de Griess (sulfanilamida 1% + cloridrato de N-(1-naftil)- etilenodiamina (NEED) 0,1% + ácido fosfórico 5% + água destilada, 1:1:1:1) foi misturado a 100 µL dos sobrenadantes e incubados à temperatura ambiente por dez minutos. Os níveis de nitrito foram determinados por absorvância em leitor de microplacas de ELISA a 560 nm,

calculados com base em curva padrão e expressos em nM de nitrito/g de tecido (figura 19) (GREEN; TANNENBAUM; GOLDMAN, 1981).

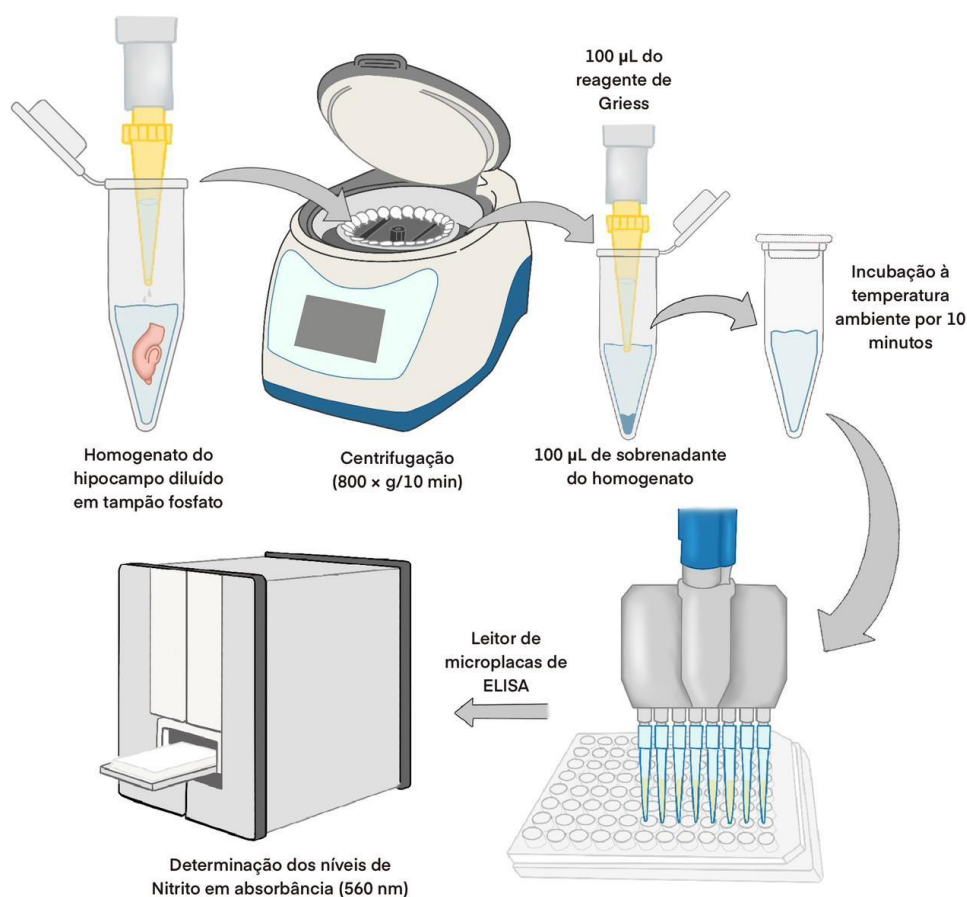


Figura 19: Determinação das concentrações de nitrito. Preparou-se homogenato dos hipocampus em tampão; após centrifugação (800 x g/10 min), os sobrenadantes dos homogenatos foram coletados e utilizou-se o protocolo da reação de Griess; 100 µL do reagente de Griess (sulfanilamida 1% + cloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina (NEED) 0,1% + ácido fosfórico 5% + água destilada, 1:1:1:1) foi misturado a 100 µL dos sobrenadantes e incubados à temperatura ambiente por 10 min. Os níveis de nitrito foram determinados por absorbância em leitor de microplacas de ELISA a 560 nm, calculados com base em curva padrão e expressos em nM de nitrito/g de tecido. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

4.9. Teste eletroencefalográfico

4.9.1. Realização do Eletroencefalograma

Para a realização do estudo eletroencefalográfico, foi necessário fazer previamente a cirurgia estereotáxica para implantação de eletrodo no hipocampo direito. Para a estereotaxia, foi feito protocolo anestésico com KET 10% (anestésico dissociativo na dose de 90 mg/kg, via IP) + xilazina 2% (miorelaxante, sedativo e analgésico na dose 9 mg/kg, via IP) + acepromazina 0,2% (tranquilizante na dose de 1 mg/kg, via SC) + butorfanol 1% (analgésico opioide e sedativo na dose de 1 mg/kg, via SC); foram utilizados lidocaína 2% (anestésico local na dosagem de 0,3 mL, com vasoconstrictor, para anestesia infiltrativa), cetoprofeno 1% (antiinflamatório/analgésico na dose de 5 mg/kg, via SC), pentabiótico veterinário® (antibiótico na dosagem de 0,2 mL, via intramuscular), soro ringer-lactato (repositor volêmico e eletrolítico na dosagem de 5 mL, via SC), lidocaína geleia 2% (anestésico local para proteção auricular). Os fármacos foram administrados com volume de 1 mL a cada 350g de peso corporal.

Outros cuidados com os animais também foram adotados, como realização da estereotaxia em mesa aquecedora, aplicação de lubrificante oftálmico durante a cirurgia, observação dos animais até completo retorno anestésico e alocação em caixas individuais até o fim do experimento.

Foi implantado eletrodo no hipocampo direito dos animais através de aparelho esterotáxico (Stoelting®, EUA), seguindo as coordenadas em milímetros: antero-posterior (AP) = - 4,0; médio-lateral (ML) = - 2,6 e dorso-ventral (DV) = - 3,5, a partir do bregma (PAXINOS; WATSON, 2005) com eletrodo torcido bipolar de fio NiCr, diâmetro de 150 µm. O eletrodo foi fixado ao crânio com acrílico dental, sendo três parafusos colocados na cavidade óssea, para utilização como eletrodo de referência e sustentação do acrílico.

O EEG quantitativo foi registrado continuamente durante 20 minutos, através de um sistema digital polygraph (dispositivo PowerLab 4/30). Os sinais foram amplificados em 20.000x, com taxa de amostragem de 1.000Hz e gravados usando a versão 7.3.1 Pro do software de aquisição LabChart (MIN et al., 2011). O EEG foi registrado individualmente em caixa de acrílico (0,3 x 0,5 x 0,4 m), através da conexão do cabo de aquisição a um micro-conector na cabeça do animal, estando o animal livre para locomover-se dentro da caixa durante o teste. As gravações do EEG foram analisadas através do software LabChart® 8

Add-ons, versão 8.0, sendo utilizado o EEG bruto como referência na análise das bandas específicas (figura 20).

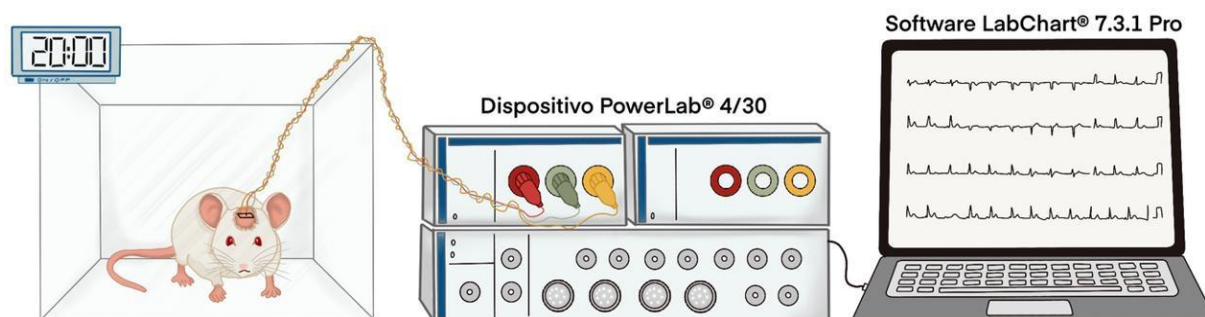


Figura 20: Realização do EEG. O EEG quantitativo foi registrado continuamente durante 20 min, através de um sistema digital polygraph (dispositivo PowerLab 4/30). Os sinais foram amplificados em 20.000x, com taxa de amostragem de 1.000Hz e gravados usando a versão 7.3.1 Pro do software de aquisição LabChart. O EEG foi registrado individualmente em caixa de acrílico, através da conexão do cabo de aquisição a um microconector na cabeça do animal, estando o animal livre para locomover-se dentro da caixa durante o teste. Fonte: Elaborada por Stéphanie Balestro através do software Procreate® para iPad.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados usando o software GraphPad Prism 8.0.1 (San Diego, CA, EUA). O teste de Shapiro-Wilk foi realizado para verificar a distribuição normal dos dados. As comparações dos resultados dos testes comportamentais, estresse oxidativo e glicemia capilar foram realizadas por análise de variância (ANOVA) *one-way* e Tukey como teste *post hoc* para comparações múltiplas; as comparações dos resultados do teste eletroencefalográfico e peso corporal foram realizadas por ANOVA *two-way* e Tukey como teste *post hoc* para comparações múltiplas. Os resultados foram considerados significativos para $P < 0,05$ e foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM).

6. RESULTADOS

6.1. Seleção de dose da DEX

O modelo farmacológico de indução de depressão-símile por DEX está estabelecido na literatura, no entanto não há uma convergência em relação à dose, havendo uma ampla variação entre dose mínima e máxima para indução do modelo. Dessa forma, foi feita uma seleção com três doses (0,5; 1,5 e 5,0 mg/kg) para escolher a dose com melhores efeitos depressores baseada nos testes comportamentais de campo aberto e de nado forçado.

No teste de campo aberto, o número de quadrantes cruzados foi aumentado significativamente apenas no grupo DEX 0,5 ($P=0,0010$) em comparação ao controle [$F(3,34)=11.20$, $P<0,0001$], evidenciando alteração na atividade locomotora somente na menor dose estudada (figura 21).

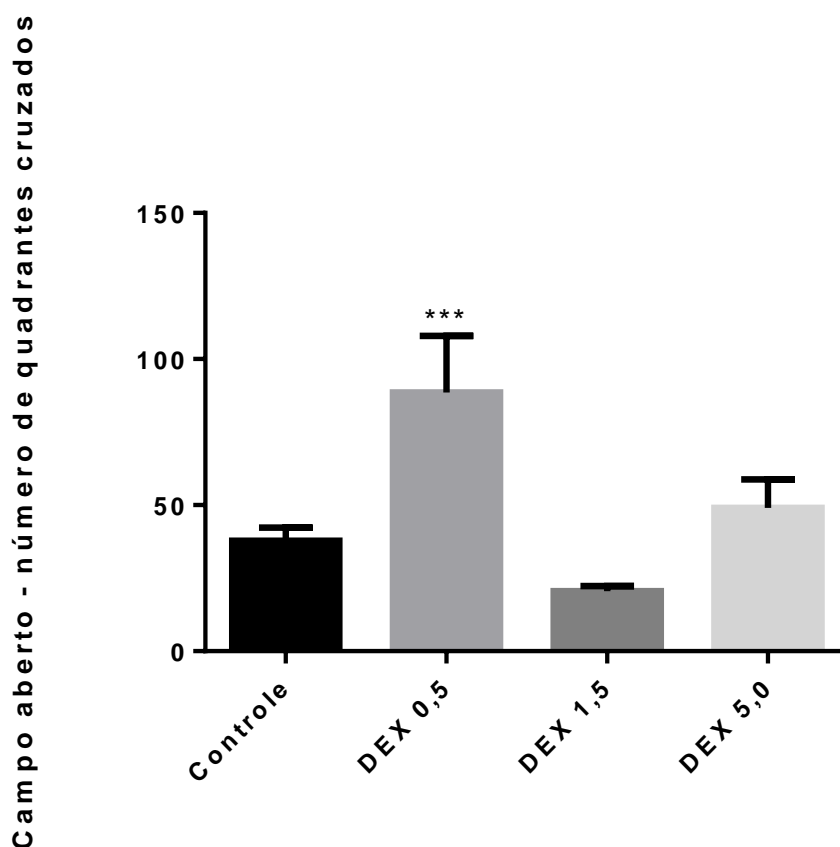


Figura 21: Avaliação do número de quadrantes cruzados no teste de campo aberto. Foi administrado salina ou DEX (0,5; 1,5 ou 5,0 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos. O teste ocorreu no último dia de tratamento, 30 minutos após administração. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7-17). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (***) $P < 0,001$ em comparação ao grupo controle).

No número de *rearing*, parâmetro avaliado no teste de campo aberto, não foi observada alteração significativa em nenhum dos grupos estudados em relação ao controle [$F(3,34)=0.5111$, $P=0,6773$] (figura 22).

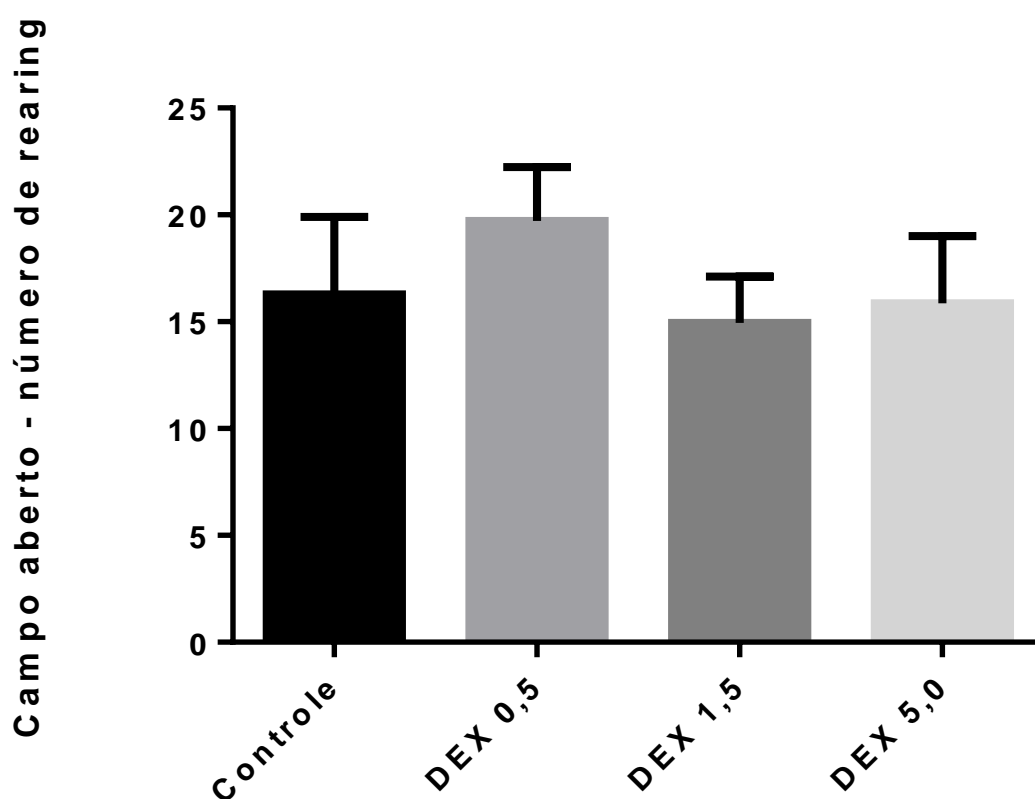


Figura 22: Avaliação do número de *rearing* no teste de campo aberto. Foi administrado salina ou DEX (0,5; 1,5 ou 5,0 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos. O teste ocorreu no último dia de tratamento, 30 minutos após aplicação do fármaco. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7-17). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc*.

Ainda no teste de campo aberto foi avaliado o número de *grooming*, não sendo observada alteração significativa em nenhum dos grupos estudados em relação ao controle [$F(3,34)=1.740$, $P=0,1773$] (figura 23).

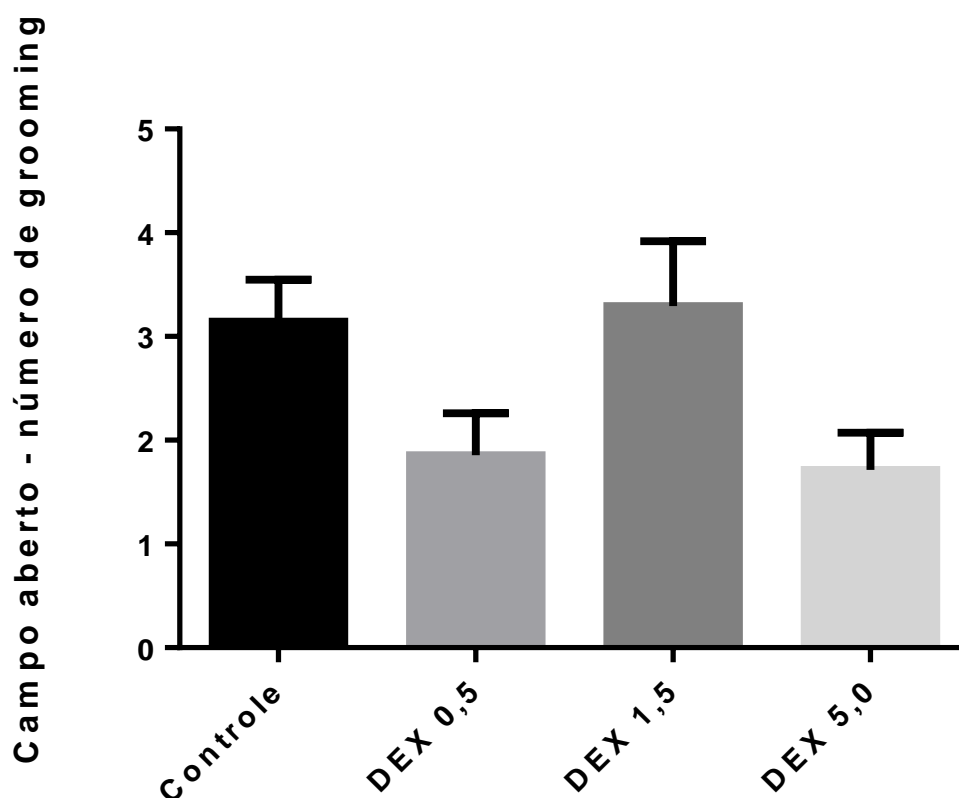


Figura 23: Avaliação do número de *grooming* no teste de campo aberto. Foi administrado salina ou DEX (0,5; 1,5 ou 5,0 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos. O teste ocorreu no último dia de tratamento, 30 minutos após aplicação do fármaco. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7-17). A análise estatística foi executada por *One-way ANOVA* seguido de Tukey como teste *post hoc*.

No teste de nado forçado, o tempo de imobilidade foi aumentado significativamente com as três doses estudadas DEX 0,5 ($P < 0,0001$), DEX 1,5 ($P < 0,0001$) e DEX 5,0 ($P < 0,0001$) em relação ao controle [$F(3,34) = 24,28$, $P < 0,0001$]. A elevação no tempo de imobilidade no teste de nado forçado em todas as doses avaliadas evidenciou o modelo de depressão-símile utilizado (figura 24).

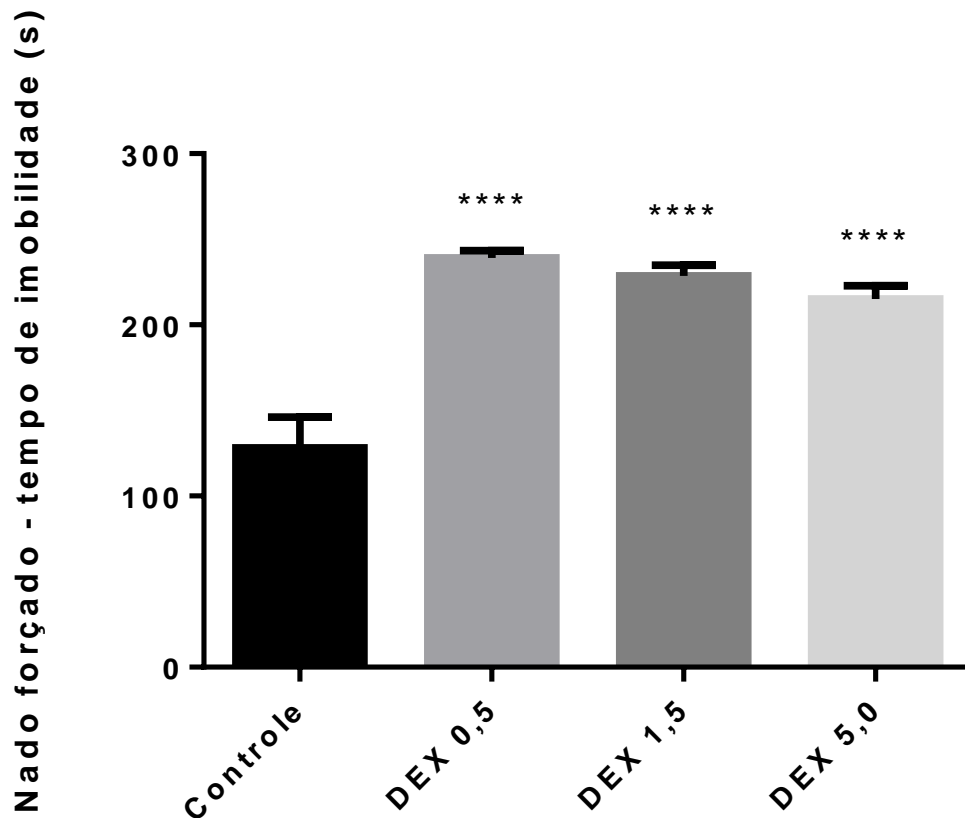


Figura 24: Avaliação do tempo de imobilidade (s) no teste de nado forçado. Foi administrado salina ou DEX (0,5; 1,5 ou 5,0 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos. O teste ocorreu no último dia de tratamento, 30 minutos após administração. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM ($n=7-17$). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (**** $P<0,0001$ em comparação ao grupo controle).

Em relação ao tempo de *climbing*, no teste de nado forçado, foi observada redução significativa nos grupos DEX 0,5 ($P=0,0003$) e DEX 1,5 ($P=0,0001$) quando comparados ao controle [$F(3,34)=10.14$, $P<0,0001$]. A redução no tempo de *climbing* corroborou com o modelo de depressão-símile utilizado (figura 25).

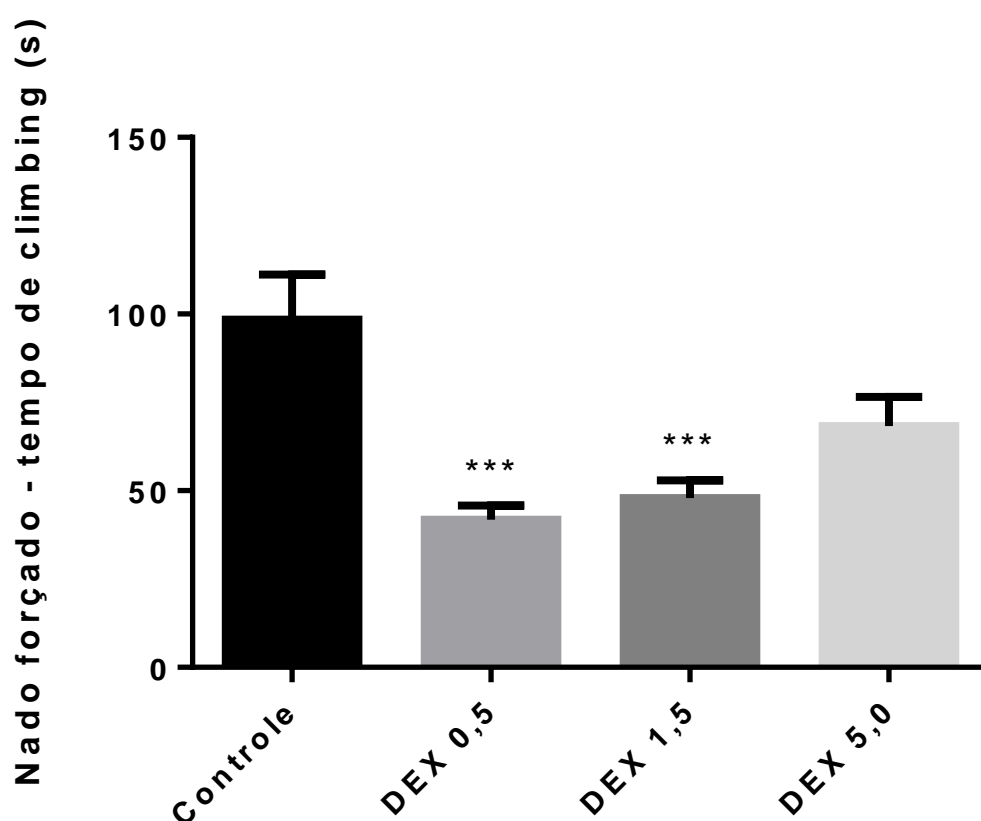


Figura 25: Avaliação do tempo de *climbing* (s) no teste de nado forçado. Foi administrado salina ou DEX (0,5; 1,5 ou 5,0 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos. O teste ocorreu no último dia de tratamento, 30 minutos após aplicação do fármaco. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7-17). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (***) $P < 0,001$ em comparação ao grupo controle).

6.2. Avaliação do peso corporal

Os efeitos da DEX no peso dos animais foram avaliados com três dosagens (0,5; 1,5 e 5,0 mg/kg). Os animais foram tratados por 14 dias por via SC, sendo realizadas pesagens no 0, 7^o e 14^o dia de tratamento.

Foram observados resultados significativos tanto para os fatores “tratamento” [$F(3,28)=14.02$, $P<0,0001$] quanto para “tempo” [$F(2,56)=233.9$, $P<0,0001$] com interação significativa entre ambos [$F(6,56)=153.2$, $P<0,0001$]. Ao analisar as comparações múltiplas, houve redução significativa do peso dos animais nos três grupos estudados tanto no 7º [(DEX 0,5 ($P<0,0001$), DEX 1,5 ($P<0,0001$) ou DEX 5,0 ($P<0,0001$)] quanto no 14º dia de tratamento [(DEX 0,5 ($P<0,0001$), DEX 1,5 ($P<0,0001$) ou DEX 5,0 ($P<0,0001$)] quando comparados ao controle. A diminuição no peso foi justificada pelo modelo de depressão-símile utilizado (figura 26).

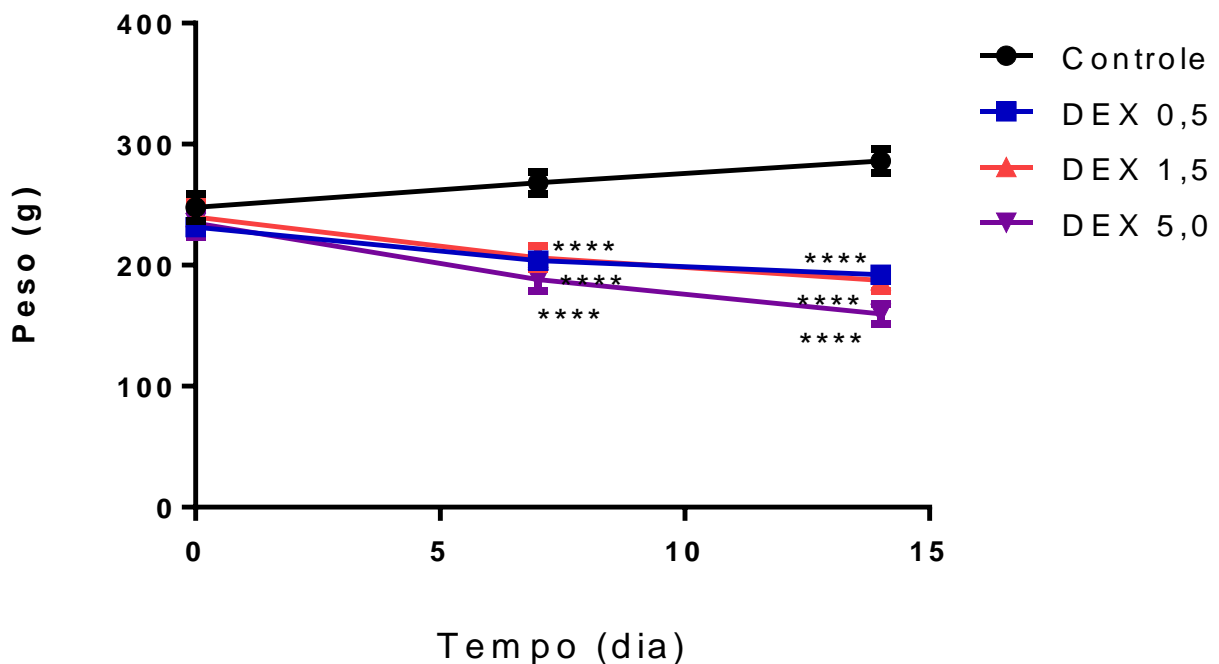


Figura 26: Avaliação do peso corporal (g). Foi administrado salina ou DEX (0,5; 1,5 ou 5,0 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos. Os animais foram pesados no 0, 7º e 14º dias de tratamento. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM ($n=7-10$). A análise estatística foi executada por *Two-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (**** $P<0,0001$ em comparação ao grupo controle).

Após análise dos resultados, foi selecionada a dose de DEX para o modelo de depressão-símile, sendo a dose escolhida de 1,5 mg/kg para dar prosseguimento à pesquisa, pois foi a dose com melhor efeito depressor, visto que as outras doses testadas não mostraram resultado satisfatório na atividade locomotora e/ou no tempo de *climbing*.

6.3. Estudo piloto com KET

Antes de proceder com os testes comportamentais, estresse oxidativo e EEG, foi realizado um estudo piloto para avaliar o efeito antidepressivo da administração aguda da KET (10 mg/kg) no modelo de depressão-símile induzido por DEX (1,5 mg/kg) utilizando o teste de nado forçado. Como a KET tem efeito relacionado ao tempo de administração, neste protocolo os efeitos antidepressivos da KET foram observados após duas horas da sua administração.

Em relação ao tempo de imobilidade no teste de nado forçado, o grupo DEX ($P < 0,0001$) elevou significativamente esse parâmetro em comparação ao controle [$F(2,41) = 25.59$, $P < 0,0001$], comportamento confirmatório do modelo de depressão-símile. Esse efeito foi revertido pela cetamina que reduziu significativamente o tempo de imobilidade na comparação entre os grupos DEX e DEX+KET ($P < 0,0001$), evidenciando efeito agudo antidepressivo da KET com duas horas após sua administração (figura 27).

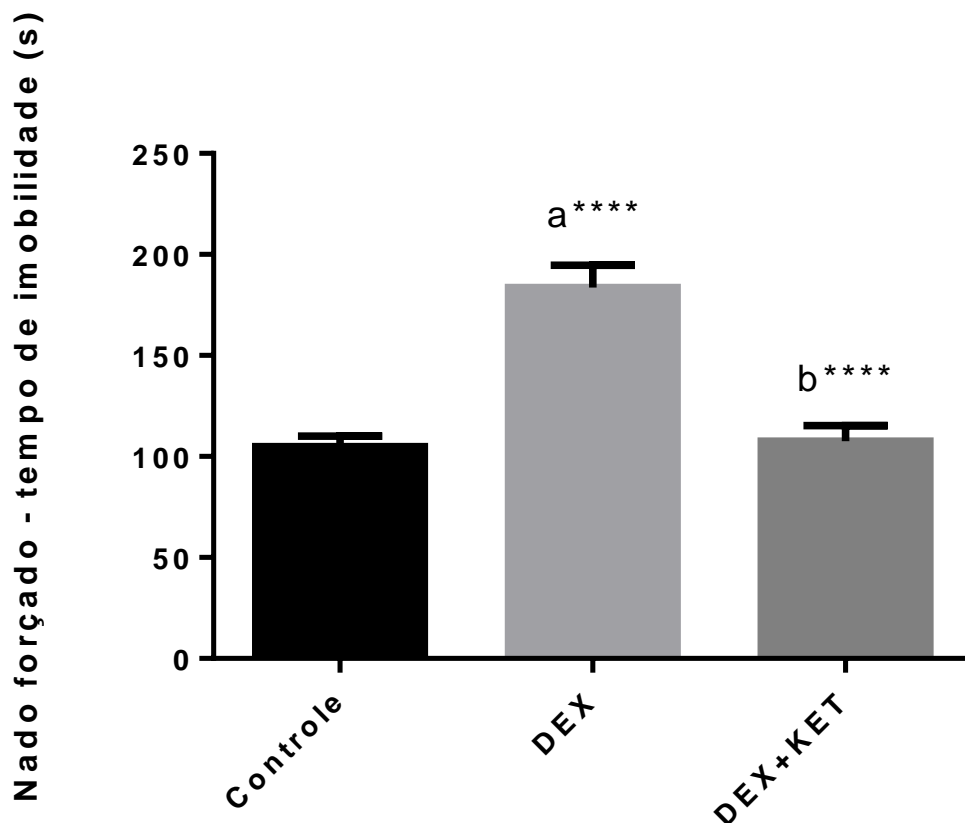


Figura 27: Avaliação do tempo de imobilidade (s) no teste de nado forçado. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=14-17). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (**** P<0,0001; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo DEX).

No parâmetro tempo de *climbing*, o grupo DEX (P<0,0001) reduziu esse comportamento significativamente quando comparado ao controle [F(2,36)=22.49, P<0,0001], efeito também confirmatório do modelo de depressão-símile, juntamente com o aumento no tempo de imobilidade. A redução no tempo de *climbing* foi revertida pela cetamina que aumentou significativamente esse comportamento na comparação entre os grupos DEX e DEX+KET (P<0,0001) (figura 28).

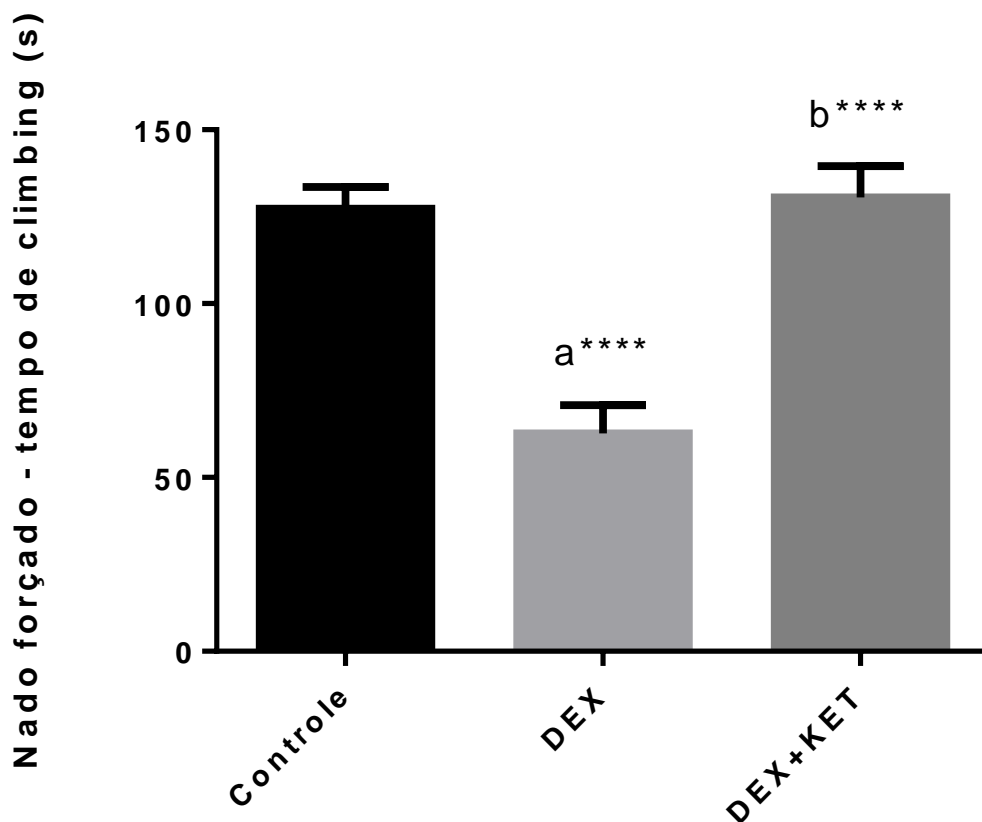


Figura 28: Avaliação do tempo de *climbing* (s) no teste de nado forçado. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=14-17). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (**** P<0,0001; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo DEX).

Após análise dos resultados do estudo piloto para verificar os efeitos agudos comportamentais da KET com duas horas, através do teste de nado forçado, foi evidenciado efeito antidepressivo tanto com reversão do tempo de imobilidade, quanto do tempo de *climbing*, dessa forma, a pesquisa seguiu com esse protocolo da KET.

6.4. Avaliação da glicemia capilar

Foi avaliado o efeito da DEX na glicemia dos animais na dosagem selecionada de DEX 1,5 mg/kg como modelo de depressão-símile.

Os resultados mostraram nenhuma alteração significativa entre os tempos estudados [$F(2,24)=1.585$, $P=0,2257$]. A DEX, nesse protocolo, não alterou significativamente a glicemia dos animais comparado com antes de iniciar o tratamento (figura 29).

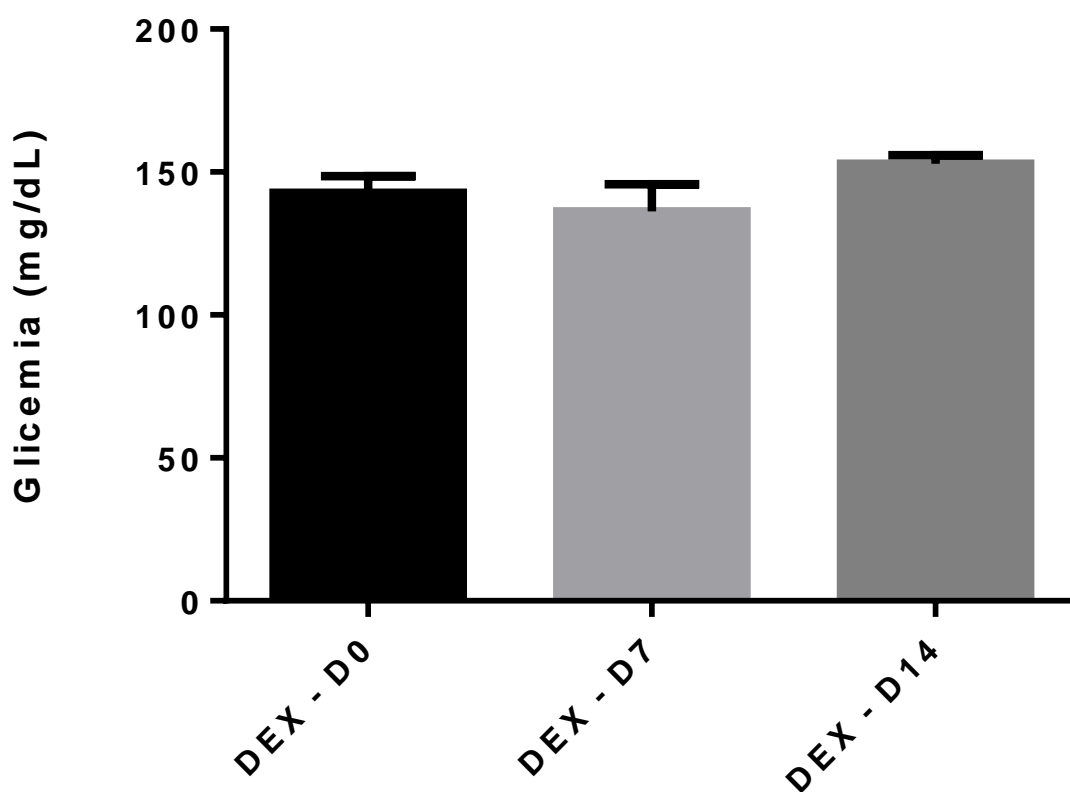


Figura 29: Avaliação da glicemia (mg/dL). Foi administrado DEX 1,5 mg/kg por 14 dias, via SC, em ratos. As glicemias foram aferidas no 0, 7º e 14º dia de tratamento. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=9). A análise estatística foi executada por *One-way ANOVA* seguido de Tukey como teste *post hoc*.

6.5. Testes comportamentais

6.5.1. Teste de campo aberto

Após seleção da dose de indução de depressão-símile da DEX e confirmação em estudo piloto do efeito antidepressivo da KET com duas horas da sua administração, a pesquisa seguiu com os testes comportamentais de campo aberto, labirinto em cruz elevada e nado forçado para avaliação de outros parâmetros, para verificar efeito ansiolítico da KET e estudar alterações comportamentais induzidas por esse fármaco.

Os resultados do parâmetro número de quadrantes cruzados não sofreram alteração significativa em nenhum dos grupos estudados, mostrando que cetamina e dexametasona isoladas ou em associação não alteraram a atividade locomotora dos animais [$F(3,24)=1.363$, $P=0,2780$] (figura 30).

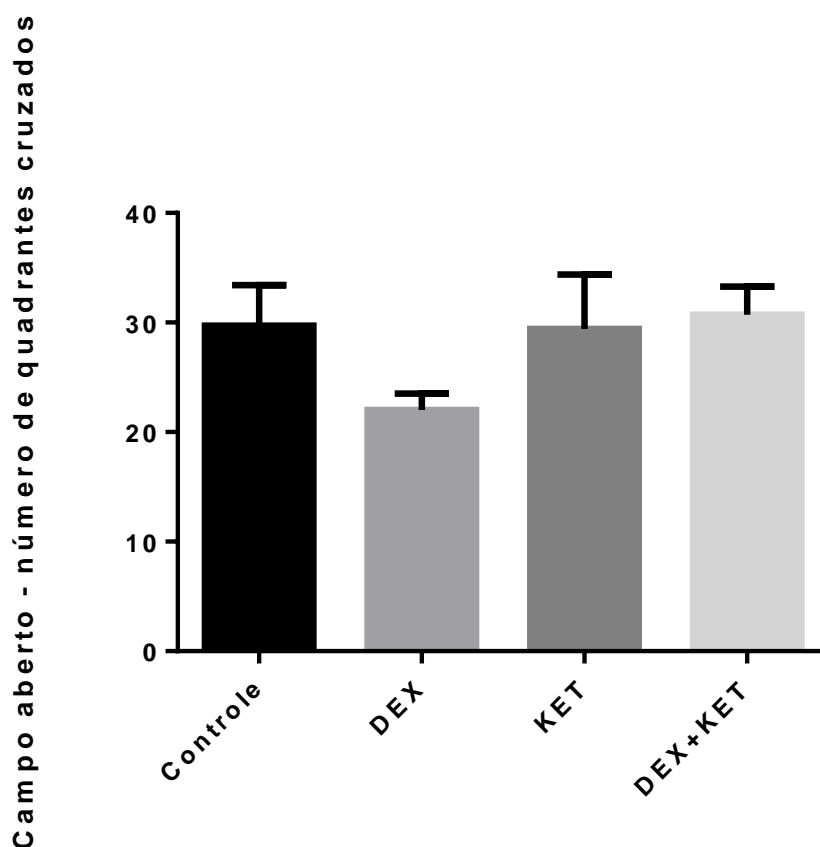


Figura 30: Avaliação do número de quadrantes cruzados no teste de campo aberto. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc*.

Em relação ao número de *rearing*, não foi observada alteração significativa em nenhum dos grupos estudados [$F(3,24)=1.968$, $P=0,1457$] (figura 31). Da mesma forma, também não houve alteração significativa no parâmetro número de *grooming* na comparação entre os grupos avaliados [$F(3,24)=0.4857$, $P=0,6954$] (figura 32).

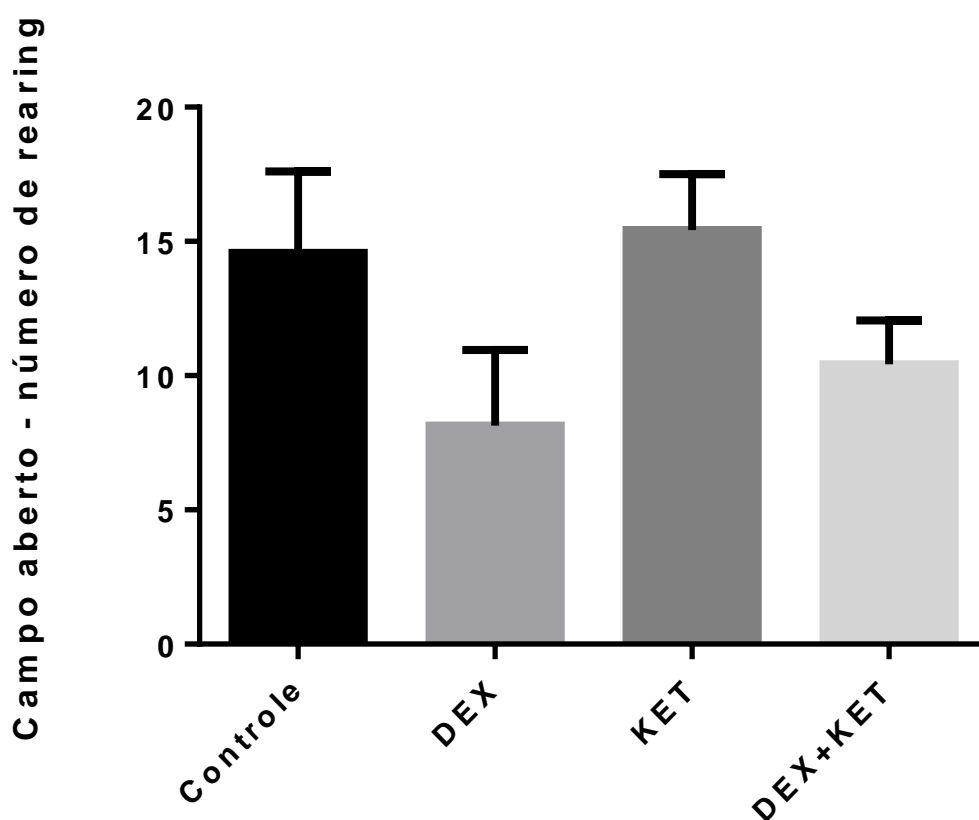


Figura 31: Avaliação do número de *rearing* no teste de campo aberto. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc*.

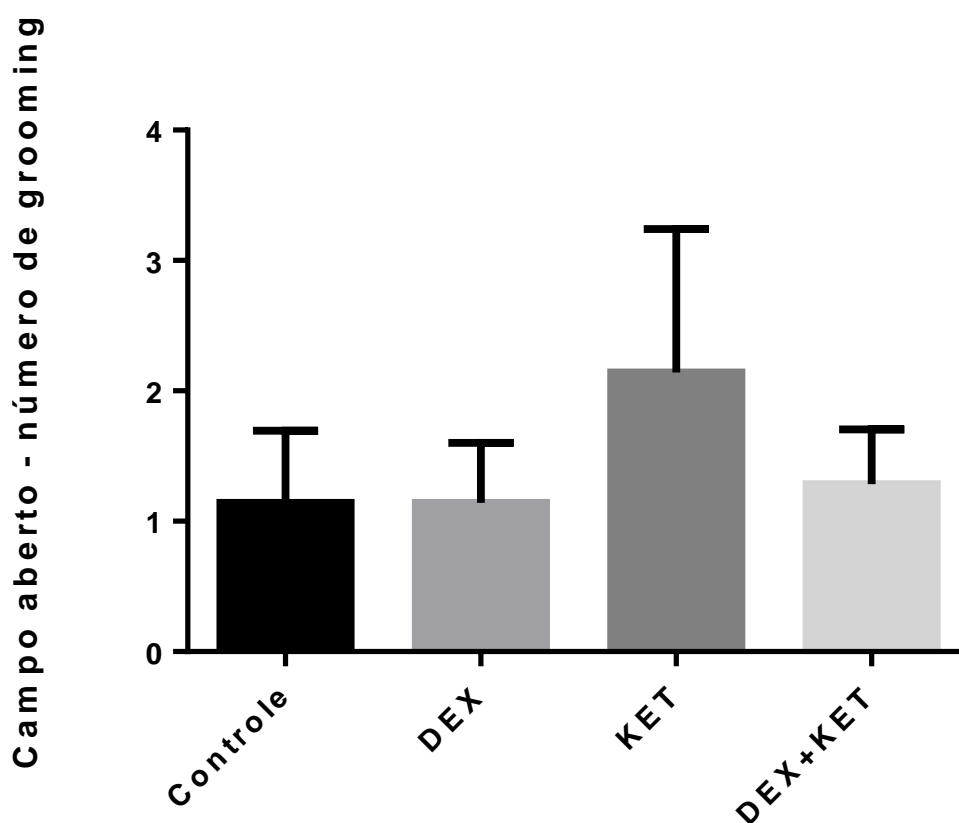


Figura 32: Avaliação do número de *grooming* no teste de campo aberto. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc*.

6.5.2. Teste de labirinto em cruz elevada

Os resultados em relação ao número de entradas no braço aberto (NEBA) mostraram que a cetamina isolada KET ($P=0,0046$) aumentou significativamente esse parâmetro em relação ao controle [$F(3,24)=15.73$, $P<0,0001$]. Também foi observado que a cetamina em associação nos animais com depressão-símile DEX+KET ($P=0,0002$) elevou significativamente o NEBA em comparação com o grupo modelo de depressão-símile DEX. Ambos os resultados encontrados corroboram para um efeito agudo ansiolítico da KET (figura 33).

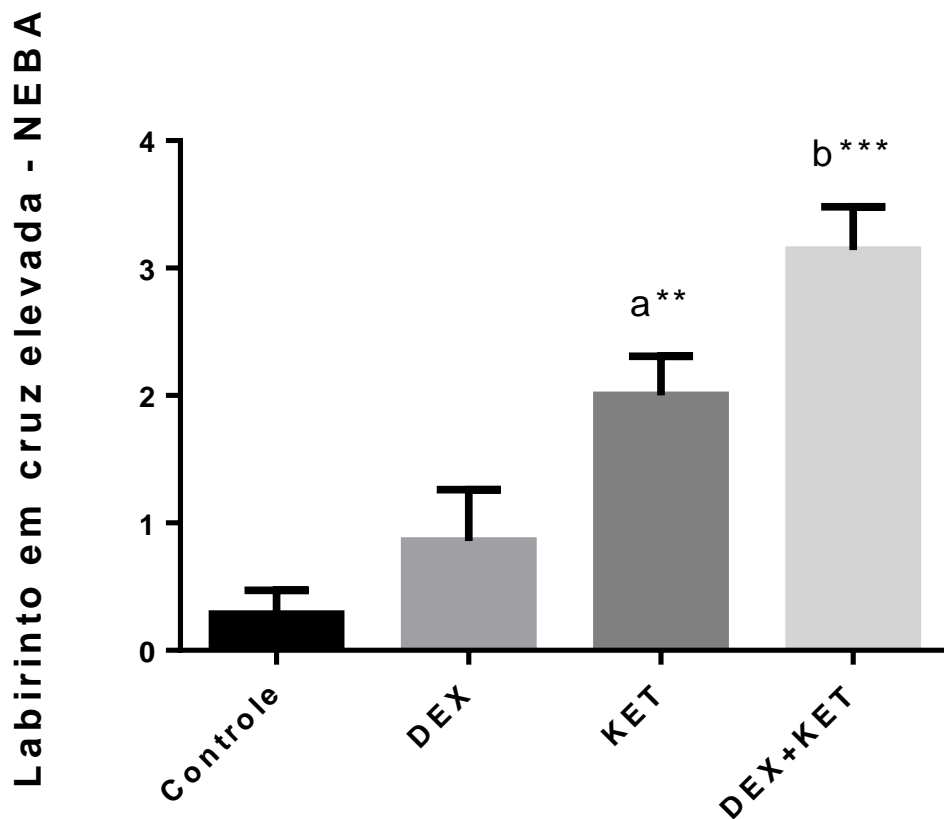


Figura 33: Avaliação do número de entrada nos braços abertos (NEBA) no teste de labirinto em cruz elevada. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo DEX).

Outro parâmetro analisado em conjunto é o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), que evidenciou resultados semelhantes aos do NEBA. A cetamina isolada KET ($P = 0,0010$) aumentou significativamente o TPBA em relação ao controle [$F(3,24) = 18.70$, $P < 0,0001$]. Também foi observado que a cetamina em associação com dexametasona nos animais com depressão-símile DEX+KET ($P < 0,0001$) elevou significativamente o TPBA em comparação com o grupo modelo de depressão-símile DEX. Em convergência com os resultados do NEBA, fortalece-se o efeito agudo ansiolítico da KET (figura 34).

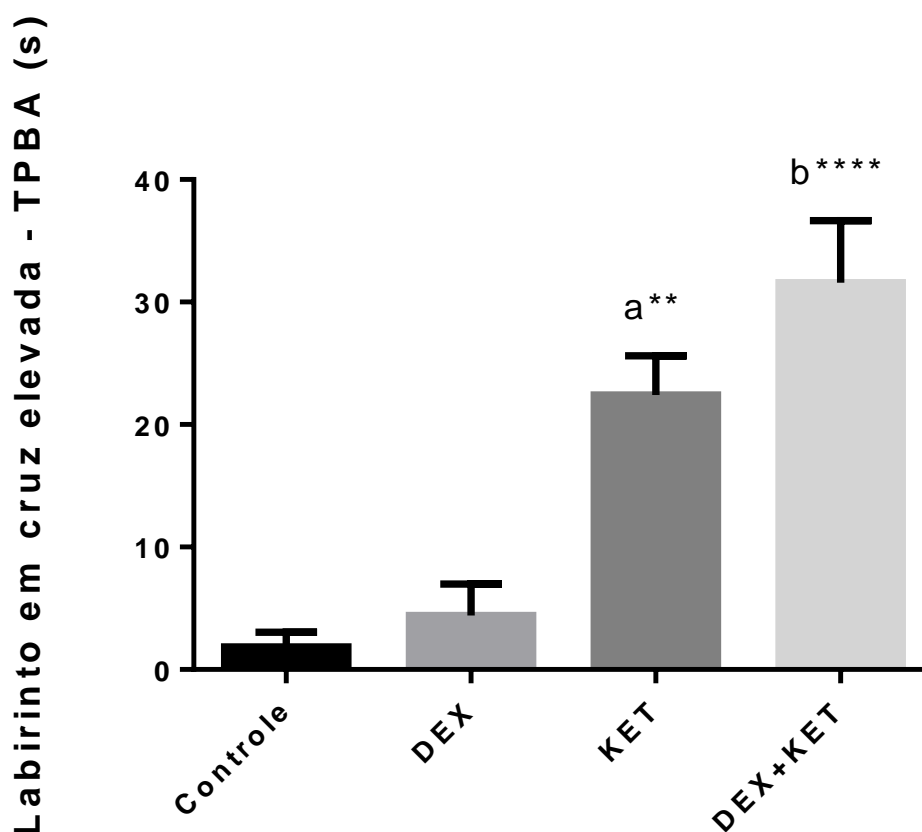


Figura 34: Avaliação do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) (s) no teste de labirinto em cruz elevada. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14^o dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (** $P < 0,01$; **** $P < 0,0001$; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo DEX).

6.5.3. Teste de nado forçado

No parâmetro tempo de imobilidade, o grupo DEX ($P < 0,0001$) aumentou significativamente quando comparado ao controle [$F(3,47)=17.03$, $P < 0,0001$], efeito do modelo de depressão-símile. Esse comportamento foi revertido pela KET que reduziu significativamente o tempo de imobilidade em comparação entre os grupos DEX e DEX+KET ($P < 0,0001$), mostrando efeito agudo antidepressivo (figura 35).

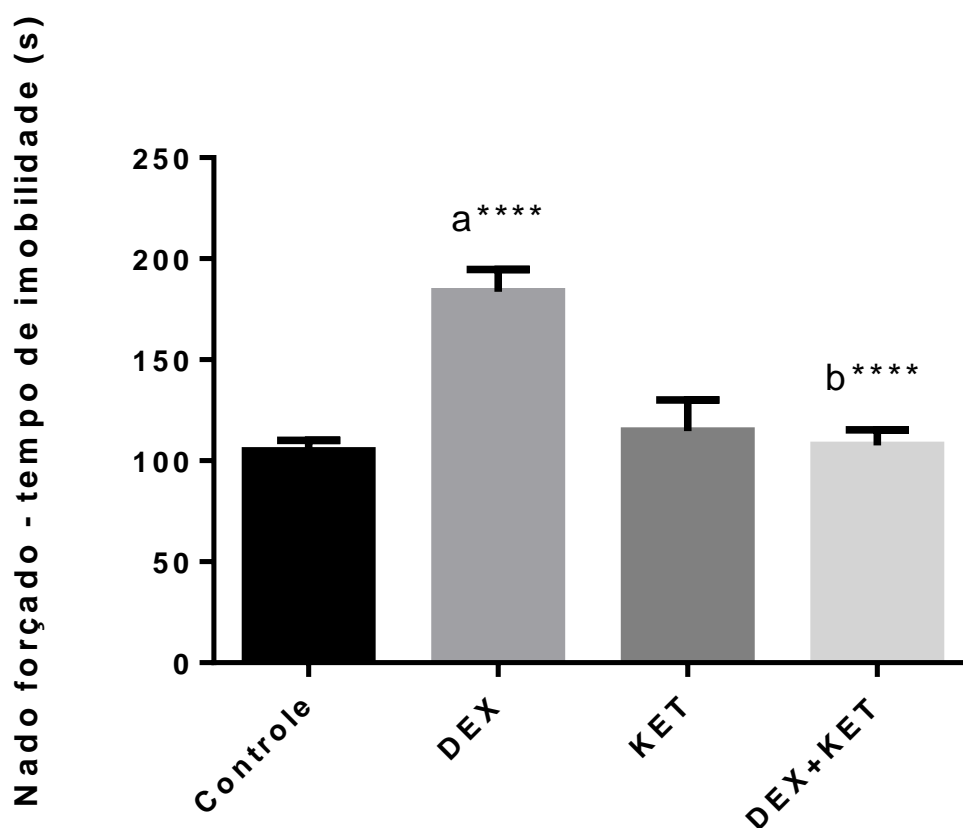


Figura 35: Avaliação do tempo de imobilidade (s) no teste de nado forçado. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média ± EPM (n=14-17). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (****P<0,0001; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo DEX).

Em relação ao tempo de *climbing*, o grupo DEX (P<0,0001) reduziu significativamente em comparação ao controle [F(3,42)=16.18, P<0,0001], efeito também do modelo de depressão-símile. A redução nesse parâmetro foi revertida pela KET que elevou significativamente o tempo de *climbing* em comparação entre os grupos DEX e DEX+KET (P<0,0001) (figura 36).

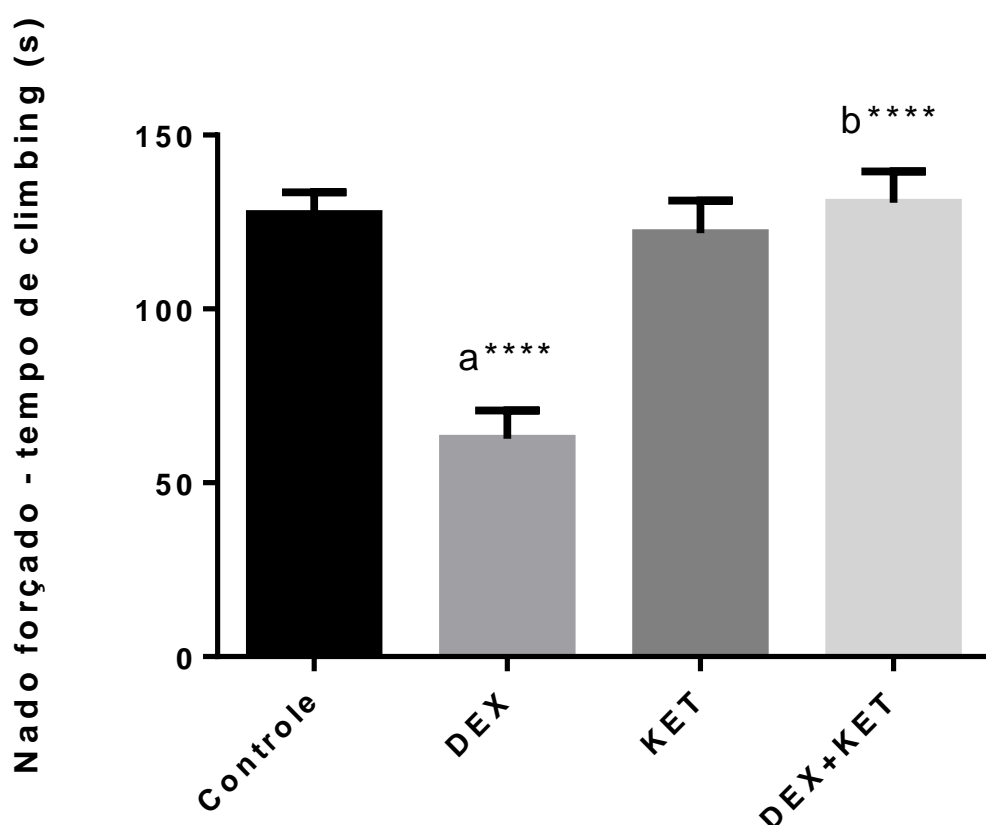


Figura 36: Avaliação do tempo de *climbing* (s) no teste de nado forçado. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=14-17). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (**** $P < 0,0001$; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo DEX).

6.5.4. Teste de preferência à sacarose

A anedonia é o comportamento avaliado no teste de preferência à sacarose, que é observado pelo quantitativo de ingestão de uma solução de sacarose. O grupo DEX ($P=0,0011$) reduziu significativamente a ingestão de sacarose quando comparado ao controle [$F(3,28)=8.672$, $P=0,0003$], comportamento do modelo de depressão-símile. A cetamina reverteu esse comportamento depressivo-símile ao elevar significativamente a ingestão de sacarose na comparação entre os grupos DEX e DEX+KET ($P=0,0031$), evidenciando, em convergência aos resultados do teste de nado forçado, efeito agudo antidepressivo (figura 37).

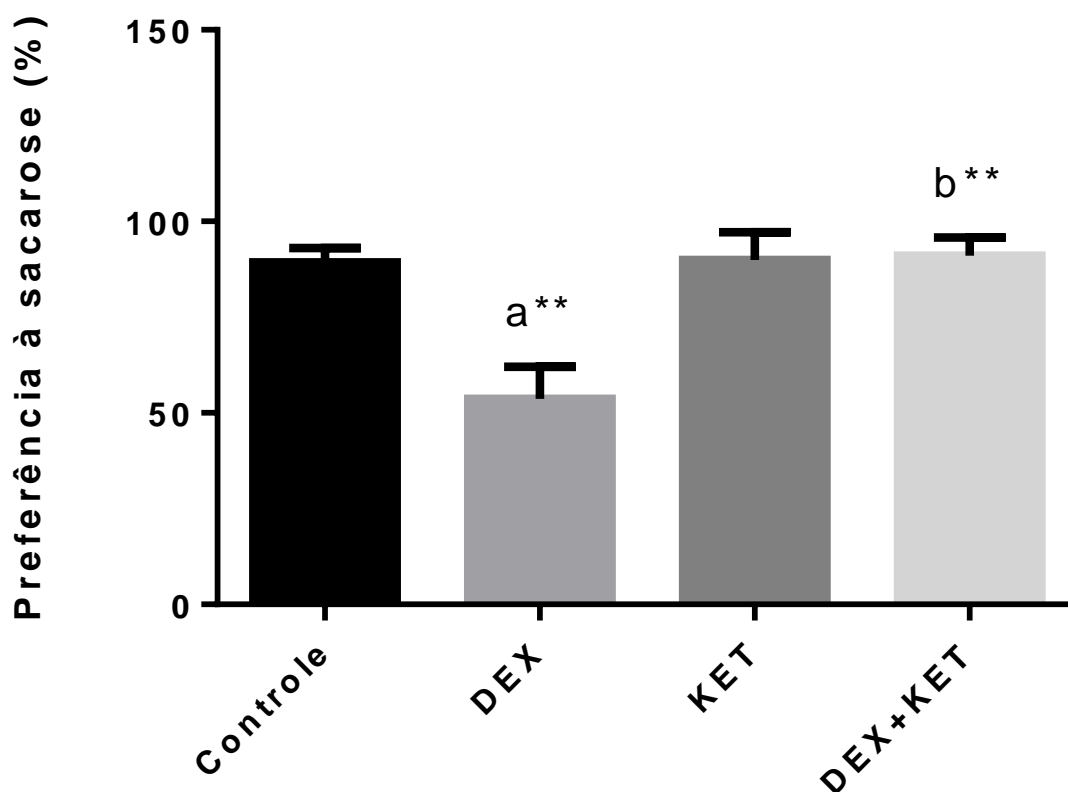


Figura 37: Avaliação da porcentagem de preferência à sacarose no teste de preferência à sacarose. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O pré-teste iniciou 72hs antes do teste para habituação à solução de sacarose. O teste ocorreu no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7-10). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (**P<0,01; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo DEX).

6.6. Estudo do estresse oxidativo

6.6.1. Dosagem de GSH

O estudo de estresse oxidativo foi realizado no hipocampo e avaliou alterações nos níveis de GSH, TBARS e nitrito, pois objetivou-se identificar efeitos antioxidantes agudos da KET no modelo de depressão-símile utilizado.

Na avaliação do estresse oxidativo em hipocampo, a enzima GSH diminuiu significativamente no grupo DEX ($P=0,0027$) em relação ao controle [$F(3,24)=6.756$, $P=0,0018$]. Nenhum efeito foi observado na presença do grupo KET (sozinho ou associado a DEX). A redução da enzima antioxidante GSH evidencia o modelo de depressão-símile utilizado (figura 38).

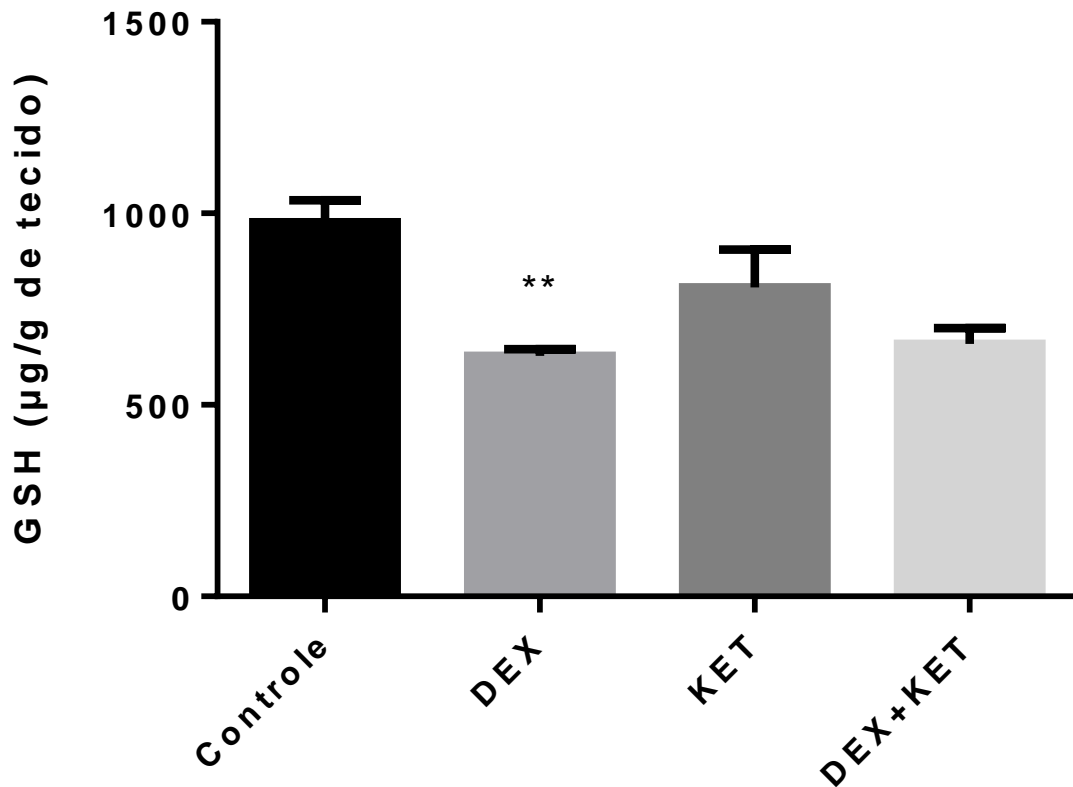


Figura 38: Avaliação da GSH ($\mu\text{g/g}$ de tecido) em hipocampo. Foi administrado salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14^o dia. Os animais foram sacrificados e a área foi coletada no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM ($n=7$). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (** $P<0,01$ em comparação ao grupo controle).

6.6.2. Dosagem de TBARS

No tocante à avaliação dos níveis de malondialdeído (MDA) no teste de TBARS, o grupo DEX ($P=0,0005$) aumentou significativamente esse parâmetro em comparação ao grupo controle [$F(3,24)=10.14$, $P=0,0002$], característico do modelo de depressão-símile. A cetamina reverteu esse efeito ao reduzir significativamente os níveis de MDA na comparação entre os grupos DEX e DEX+KET ($P=0,0016$), evidenciando efeito agudo antidepressivo (figura 39).

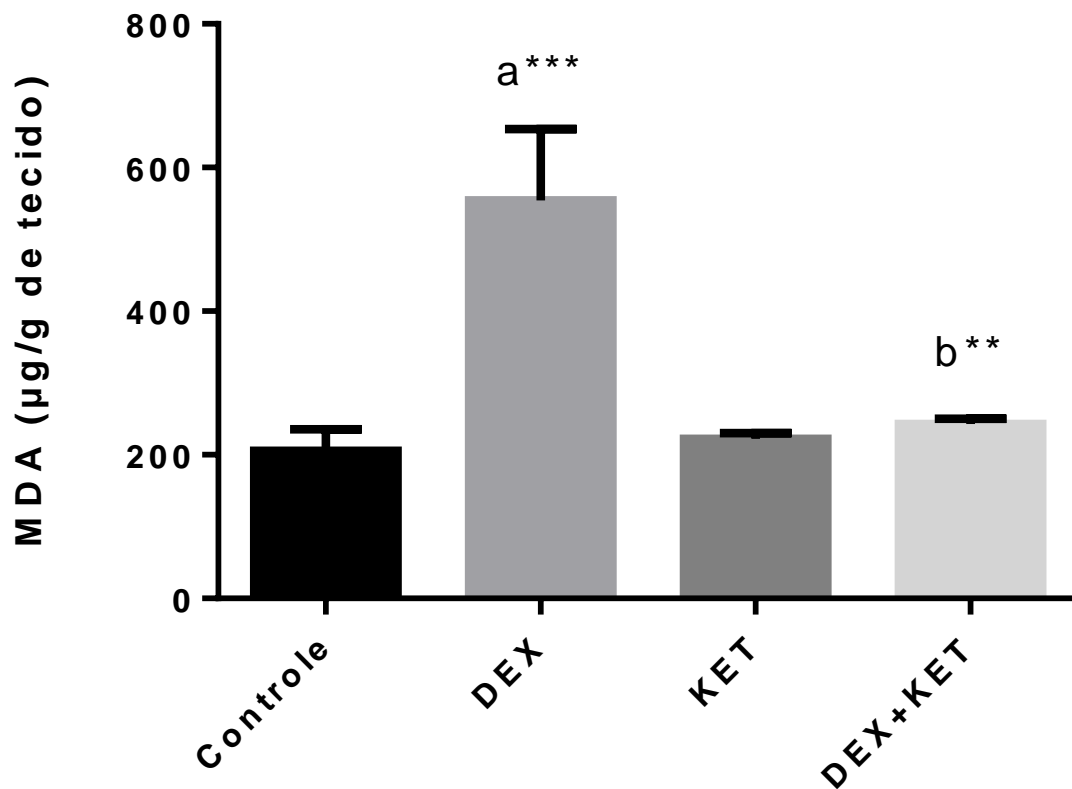


Figura 39: Avaliação do MDA ($\mu\text{g/g}$ de tecido) em hipocampo. Foi administrado salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. Os animais foram sacrificados e a área foi coletada no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM ($n=7$). A análise estatística foi executada por *One-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (** $P<0,01$; *** $P<0,001$; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo DEX).

6.6.3. Dosagem de nitrito

Em relação aos níveis de nitrito, nenhuma alteração significativa foi encontrada na comparação entre os grupos estudados [$F(3,16)=2.123$, $P=0,1374$] (figura 40).

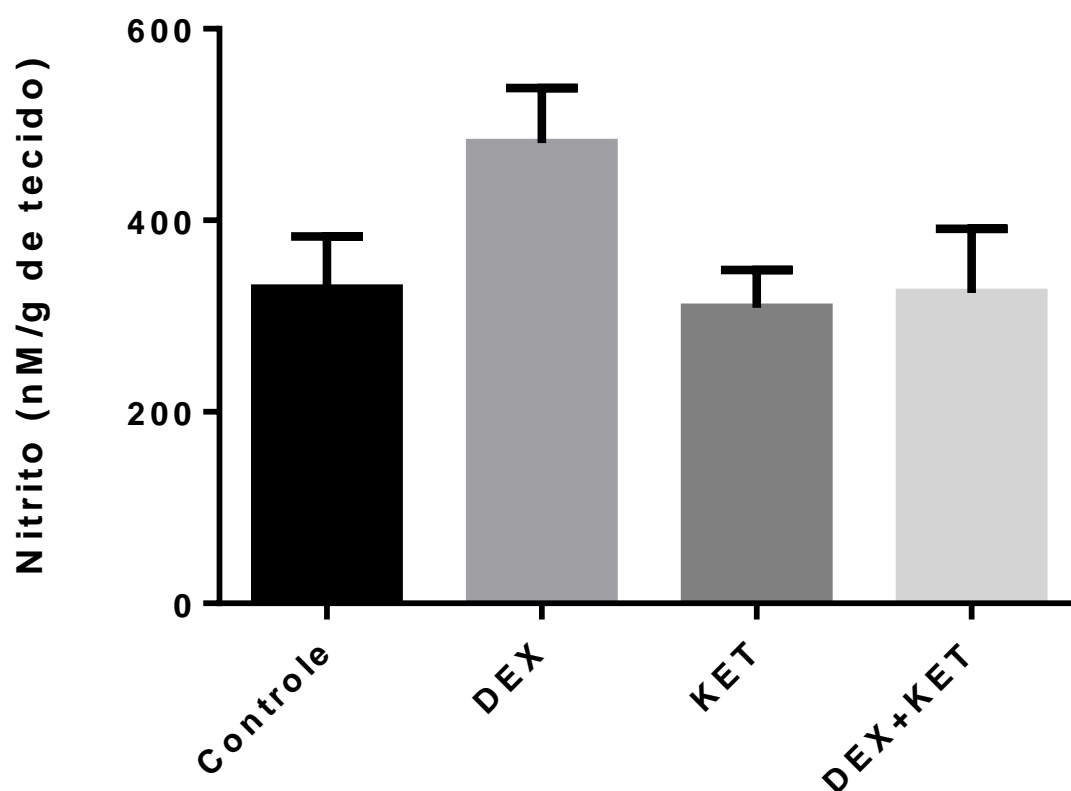


Figura 40: Avaliação de nitrito (nM/g de tecido) em hipocampo. Foi administrado salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC, em ratos; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. Os animais foram sacrificados e a área foi coletada no último dia de tratamento, duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=7). A análise estatística foi executada por *One-way ANOVA* seguido de Tukey como teste *post hoc*.

6.7. Teste eletroencefalográfico

O EEG foi realizado no hipocampo e avaliou a atividade elétrica através de alterações no poder espectral médio de sete ondas cerebrais (delta, teta, alfa, beta low, beta high, gama low e gama high), pois se objetivou investigar os efeitos antidepressivos agudos da KET no EEG no modelo de depressão-símile utilizado por DEX.

A primeira onda analisada foi a banda delta (<4Hz), não sendo observado resultados significativos tanto para o fator “tratamento” [$F(3,16)=0.4220$, $P=0,7398$] quanto para o fator “tempo” [$F(1,16)=0.4018$, $P=0,5351$], mas com interação significativa entre ambos [$F(3,16)=4.077$, $P=0,0250$]. Ao analisar as comparações múltiplas, não houve alteração significativa entre os grupos avaliados nem no dia 0 e nem no 14º dia (figura 41).

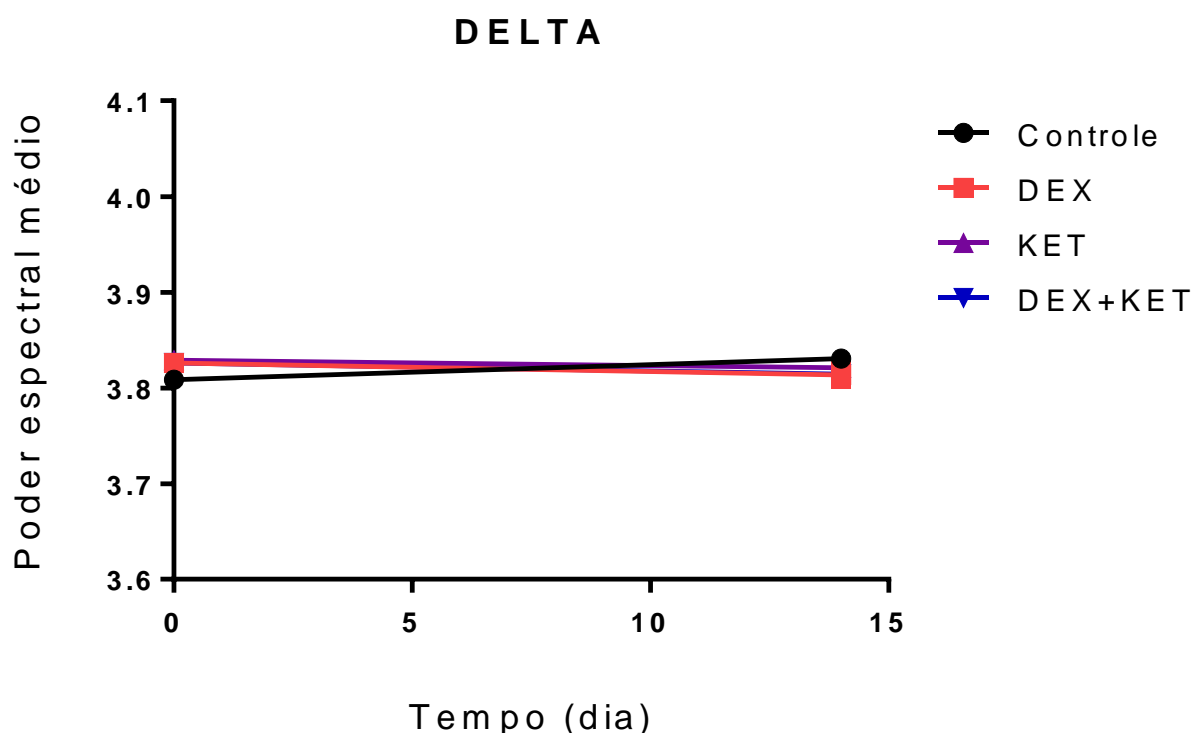


Figura 41: Avaliação do poder espectral médio da banda delta (<4Hz) no EEG. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no dia 0 (EEG basal) antes de iniciar os tratamentos e no 14º dia (último dia de tratamento), duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM ($n=5$). A análise estatística foi executada por *Two-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* ($*P<0,05$ em comparação ao grupo KET).

Em seguida, foi avaliada a banda teta (4-8Hz), onde foi observado resultado significativo para o fator “tratamento” [$F(3,16)=8.197$, $P=0,0016$], no entanto para o fator “tempo” não foi evidenciado resultado significativo [$F(1,16)=0.4546$, $P=0,5098$], contudo com interação significativa entre ambos [$F(3,16)=4.106$, $P=0,0244$]. Ao analisar as comparações múltiplas, no EEG do 14º dia, KET aumentou significativamente o poder espectral médio da banda teta quando comparado ao grupo controle ($P=0,0154$), mostrando um efeito agudo de bem-estar da KET. Outro achado foi uma redução significativa no poder espectral médio quando associado DEX+KET em comparação à KET ($P=0,0298$), evidenciando efeito de depressão-símile da DEX (figura 42).

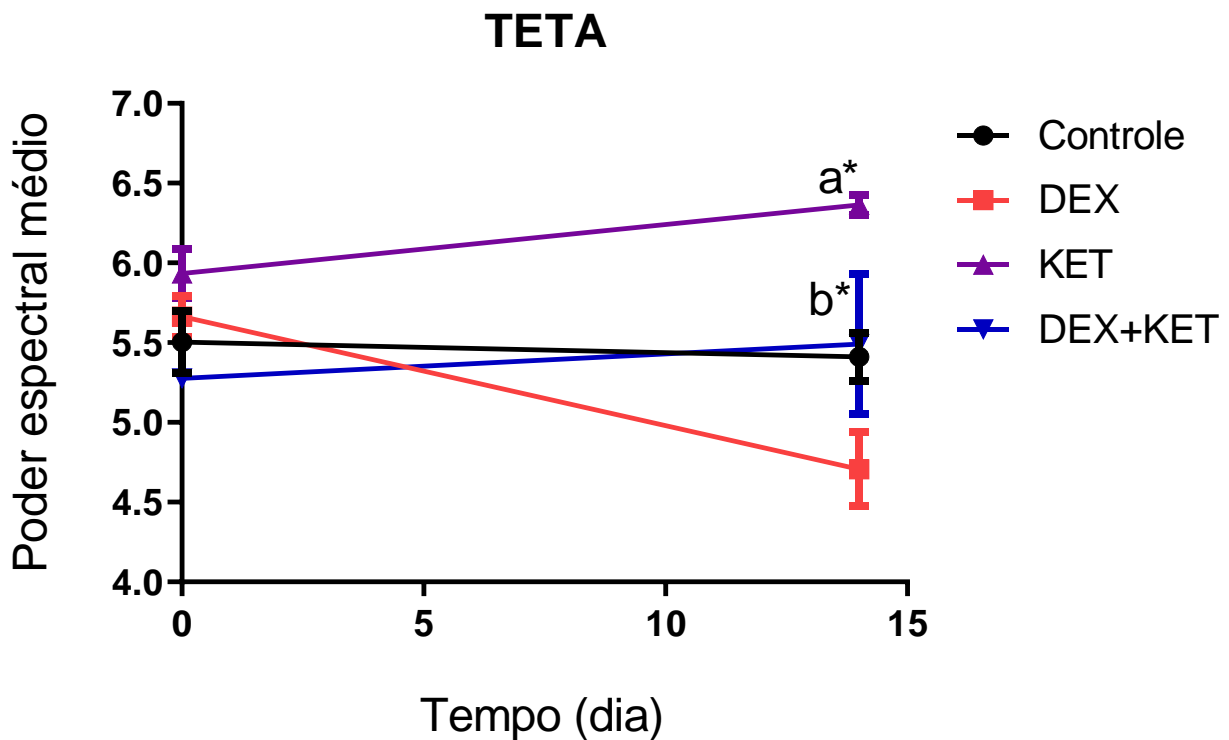


Figura 42: Avaliação do poder espectral médio da banda teta (4-8Hz) no EEG. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no dia 0 (EEG basal) antes de iniciar os tratamentos e no 14º dia (último dia de tratamento), duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM ($n=5$). A análise estatística foi executada por *Two-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* ($*P<0,05$; “a” em comparação ao grupo controle; “b” em comparação ao grupo KET).

Em relação à banda alfa (8-13Hz), foram observados resultados significativos tanto para os fatores “tratamento” [$F(3,16)=4.579$, $P=0,0169$] quanto para “tempo” [$F(1,16)=4.868$, $P=0,0423$] com interação significativa entre ambos [$F(3,16)=4.322$, $P=0,0206$]. Ao analisar as comparações múltiplas, houve alteração no EEG do 14º dia com redução significativa do poder espectral médio da banda alfa no grupo DEX+KET em comparação ao grupo KET ($P=0,0254$), corroborando com a ação de depressão-símile da DEX (figura 43).

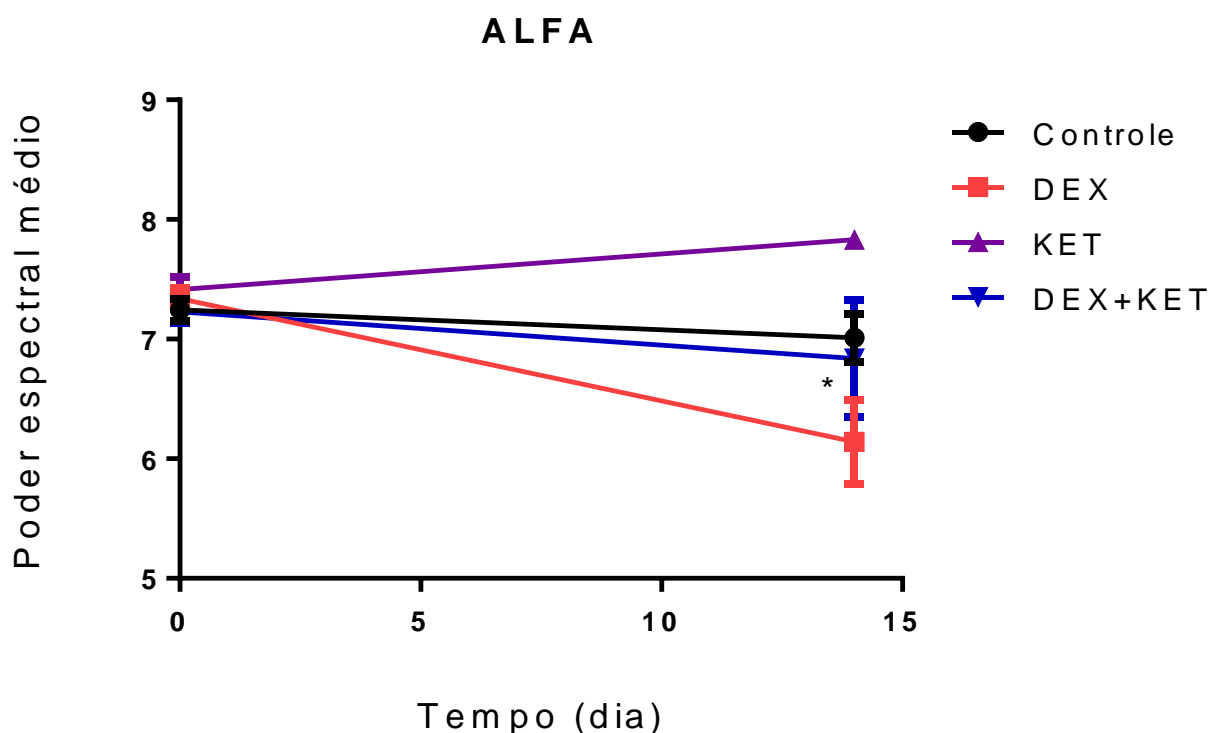


Figura 43: Avaliação do poder espectral médio da banda alfa (8-13Hz) no EEG. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no dia 0 (EEG basal) antes de iniciar os tratamentos e no 14º dia (último dia de tratamento), duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM ($n=5$). A análise estatística foi executada por *Two-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (* $P<0,05$ em comparação ao grupo KET).

No tocante à banda beta low (13-25Hz), não foram observados resultados significativos para os fatores “tratamento” [$F(3,16)=1.303$, $P=0,3078$], “tempo” [$F(1,16)=3.130$, $P=0,0959$] e interação entre ambos [$F(3,16)=1.302$, $P=0,3082$]. Ao analisar as comparações múltiplas, não houve alteração significativa entre os grupos avaliados nem no dia 0 e nem no 14º dia (figura 44).

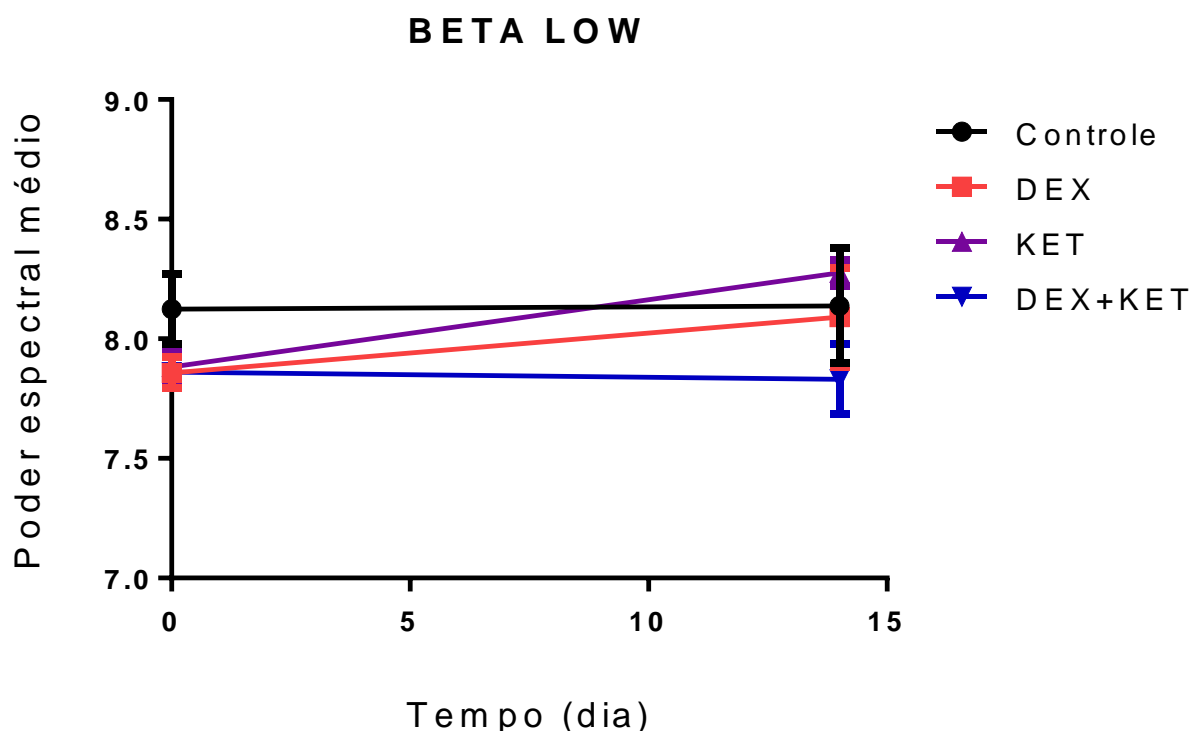


Figura 44: Avaliação do poder espectral médio da banda beta low (13-25Hz) no EEG. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no dia 0 (EEG basal) antes de iniciar os tratamentos e no 14º dia (último dia de tratamento), duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=5). A análise estatística foi executada por *Two-way ANOVA* seguido de Tukey como teste *post hoc*.

A próxima banda avaliada foi a beta high (25-30Hz), com resultado significativo para o fator “tratamento” [$F(3,16)=10.84$, $P=0,0004$], contudo para o fator “tempo” [$F(1,16)=0.002848$, $P=0,9581$] e para a interação entre ambos [$F(3,16)=1.709$, $P=0,2052$] não foi evidenciado resultado significativo. Ao analisar as comparações múltiplas, houve alteração no EEG do 14º dia com redução significativa do poder espectral médio da banda beta high no grupo DEX em comparação ao controle ($P=0,0285$), efeito de depressão-símile da DEX (figura 45).

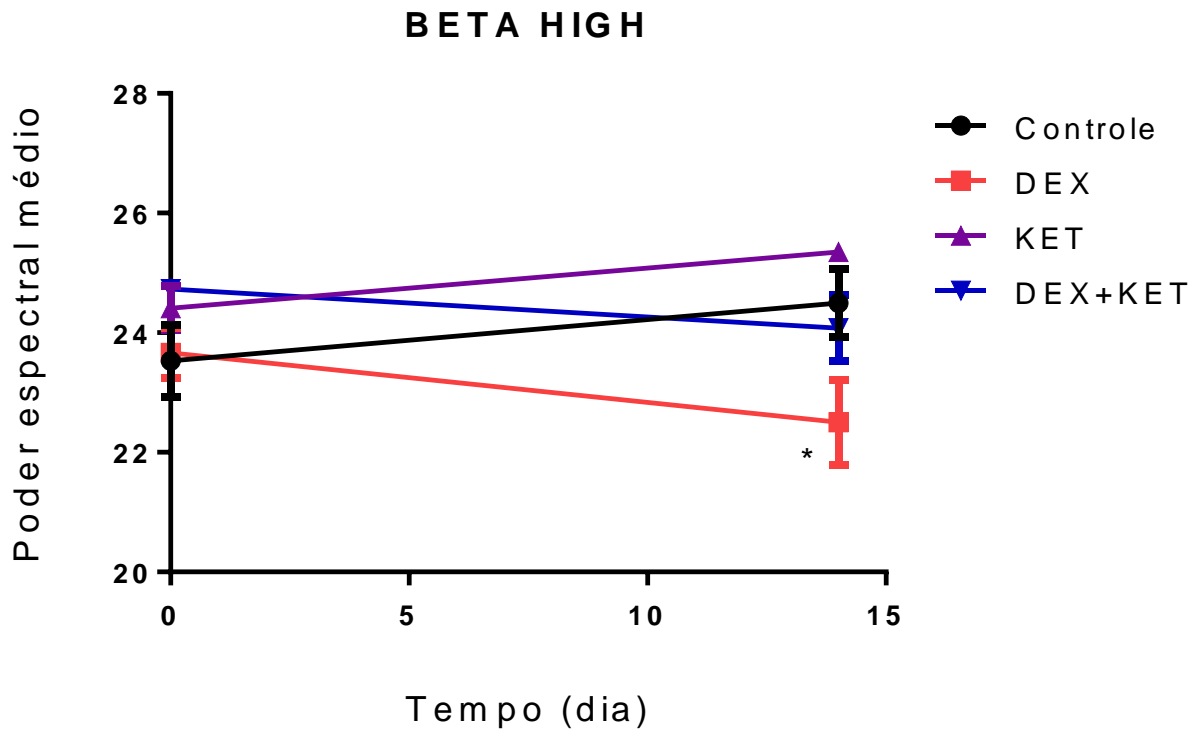


Figura 45: Avaliação do poder espectral médio da banda beta high (25-30Hz) no EEG. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no dia 0 (EEG basal) antes de iniciar os tratamentos e no 14º dia (último dia de tratamento), duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=5). A análise estatística foi executada por *Two-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc* (* $P < 0,05$ em comparação ao grupo controle).

Em relação à banda gama low (30-50Hz), não foram observados resultados significativos para os fatores “tratamento” [$F(3,16)=1.359$, $P=0,2910$], “tempo” [$F(1,16)=1.257$, $P=0,2787$] e interação entre ambos [$F(3,16)=1.957$, $P=0,1611$]. Ao analisar as comparações múltiplas, não houve alteração significativa entre os grupos avaliados nem no dia 0 e nem no 14º dia (figura 46).

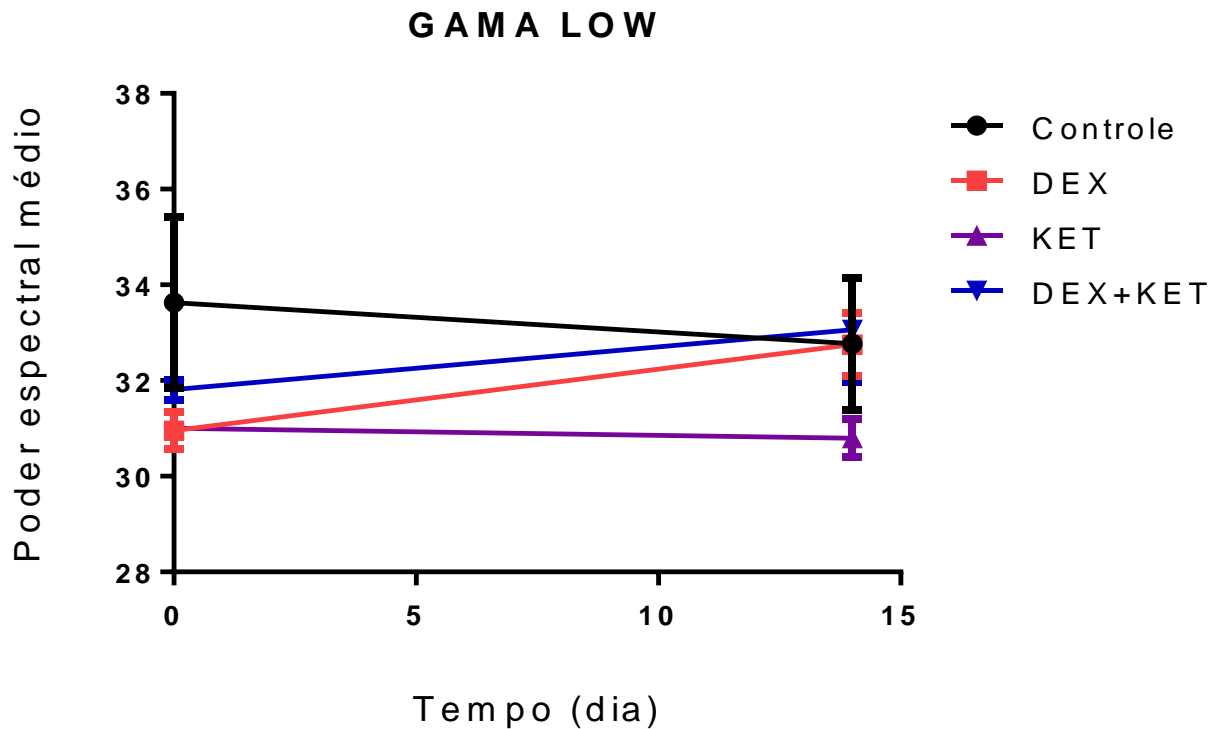


Figura 46: Avaliação do poder espectral médio da banda gama low (30-50Hz) no EEG. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14º dia. O teste ocorreu no dia 0 (EEG basal) antes de iniciar os tratamentos e no 14º dia (último dia de tratamento), duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=5). A análise estatística foi executada por *Two-way ANOVA* seguido de Tukey como teste *post hoc*.

A última banda analisada foi a gama high (50-100Hz), nessa onda também não foram observados resultados significativos para os fatores “tratamento” [$F(3,16)=1.814$, $P=0,1851$], “tempo” [$F(1,16)=1.152$, $P=0,2990$] e interação entre ambos [$F(3,16)=1.395$, $P=0,2806$]. Ao analisar as comparações múltiplas, não houve alteração significativa entre os grupos avaliados nem no dia 0 e nem no 14º dia (figura 47).

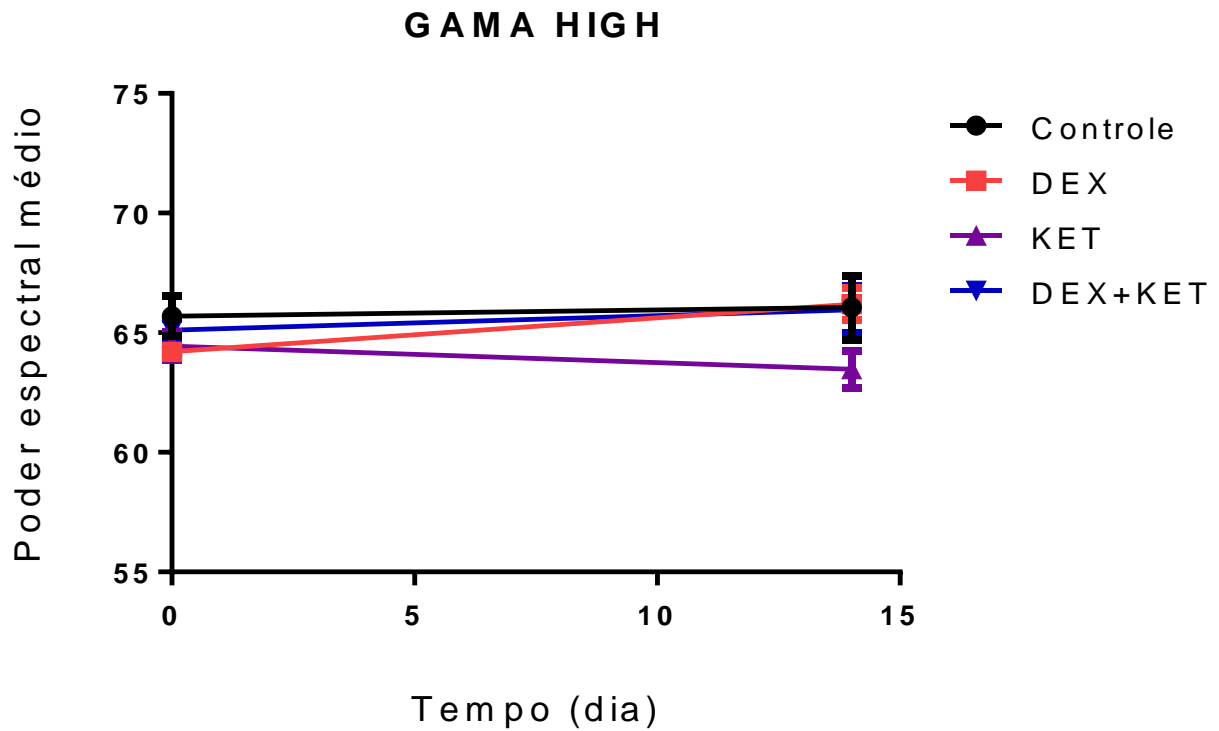


Figura 47: Avaliação do poder espectral médio da banda gama high (50-100Hz) no EEG. Foram administrados salina ou DEX (1,5 mg/kg) por 14 dias, via SC; administração aguda de KET (10 mg/kg), via IP, no 14^o dia. O teste ocorreu no dia 0 (EEG basal) antes de iniciar os tratamentos e no 14^o dia (último dia de tratamento), duas horas após aplicação dos fármacos. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM (n=5). A análise estatística foi executada por *Two-way* ANOVA seguido de Tukey como teste *post hoc*.

7. DISCUSSÃO

Os principais achados do estudo foram: a) dexametasona foi efetiva como modelo de depressão-símile na dose de 1,5 mg/kg, também apresentando redução do peso dos animais e sem alteração da glicemia; b) cetamina apresentou efeitos antidepressivo e ansiolítico rápidos no modelo de dexametasona; c) aumento na peroxidação lipídica ocasionado pela dexametasona foi revertido pela cetamina; e d) no EEG, a dexametasona reduziu a banda beta high, enquanto que a cetamina elevou a onda teta, mostrando efeito antidepressivo.

A primeira etapa da pesquisa foi determinar a dose da dexametasona para induzir o modelo de depressão-símile e avaliar do peso dos animais. Dessa forma, foram escolhidas três doses intermediárias baseadas na literatura (0,5; 1,5 e 5,0 mg/kg) para fazer um estudo comportamental e então selecionar a dose com melhor efeito depressogênico. Para isso, foram feitos os testes comportamentais de campo aberto e nado forçado. O modelo farmacológico de depressão-símile por administração de dexametasona é um modelo já estabelecido na literatura, no entanto os protocolos e as dosagens não são convergentes e podem variar bastante desde doses muito baixas de 15 µg/kg/dia até dosagens mais elevadas de 20 mg/kg/dia (ALHADDAD et al., 2023; MESRIPOUR; ALHIMMA; HAJHASHEMI, 2019).

No teste de campo aberto, a dexametasona, somente na menor dose, aumentou a atividade locomotora. Tendo em visto que esse aumento pode interferir nos resultados de outros testes comportamentais, essa dose foi descartada de ser utilizada como modelo de depressão-símile. Vale ressaltar que as outras duas doses não apresentaram nenhuma alteração. Em conformidade com os dados da presente pesquisa, um estudo com camundongos tratados com dexametasona (5,0 mg/kg, SC) por 56 dias, não mostraram alteração na atividade locomotora (MORI et al., 2022).

Outros parâmetros do teste de campo aberto, como número de *rearing* e *grooming* não evidenciaram alteração com a dexametasona. Os testes de *rearing* e *grooming* são realizados com o objetivo de confirmar os resultados da atividade locomotora. Em um outro estudo, com protocolo diferente do presente trabalho, camundongos tratados com corticosterona (25 µg/mL na água de beber) por quatro semanas, mostraram diminuição do *grooming* e aumento do *rearing*, sugerindo que a disfunção crônica do eixo HPA altera o comportamento através da supressão da função do núcleo paraventricular do tálamo (PVT), que é uma área que está correlacionada com o comportamento induzido por estresse, já

que o *rearing* e o *grooming* demonstraram ser influenciados pela estimulação do PVT independentemente (KINLEIN et al., 2019).

No teste de nado forçado, a dexametasona apresentou efeito depressor nas três doses estudadas, confirmando o desamparo aprendido e o modelo de depressão-símile. Achados semelhantes foram encontrados em outras pesquisas, tais como em ratos tratados com dexametasona (1,5 mg/kg, SC) por 21 dias, obtendo aumento no tempo de imobilidade tanto em machos quanto em fêmeas (ABDERRAHIM et al., 2022); da mesma forma, no tratamento de camundongos com dexametasona (20 mg/kg, SC) por 21 dias foi evidenciado aumento no tempo de imobilidade (ALHADDAD et al., 2023).

Na avaliação do tempo de *climbing*, a dexametasona reduziu a escalada nas duas menores doses; assim, esse parâmetro foi realizado para confirmar os resultados do tempo de imobilidade. Similarmente, camundongos tratados com dexametasona (4 mg/kg, IP) por 21 dias, o tempo de *climbing* foi reduzido (SKUPIO et al., 2015).

Após análise dos resultados, a dose de dexametasona de 0,5 mg/kg foi descartada por aumentar a atividade locomotora; a dosagem de 5,0 mg/kg foi eliminada por não reduzir o tempo de *climbing*; dessa forma, a dose selecionada para o modelo de depressão-símile foi a de 1,5 mg/kg.

A dexametasona, por atuar em GR's, fornece uma oportunidade experimental para estudar o efeito direto da ativação prolongada de GR's na indução de depressão. A administração prolongada de dexametasona induziu mudanças comportamentais relacionadas à depressão, dentre outros sintomas, a perda de peso (ABDERRAHIM et al., 2022).

Os resultados do estudo mostraram redução do peso corporal nas três dosagens estudadas a partir do sétimo dia. Um questionamento foi levantado sobre a relevante perda de peso dos animais e surgiu à dúvida se era um sintoma depressivo-símile ou possível desenvolvimento de diabetes pelo uso prolongado de glicocorticoide. De acordo com Kim et al. (2022), o tratamento agudo ou prolongado com dexametasona induz um desequilíbrio no *turnover* de proteínas, reduzindo a massa muscular. A dexametasona pode afetar a qualidade e a quantidade de proteínas, suprimindo a síntese e/ou ativando a degradação proteica. Em pesquisa com camundongos tratados com dexametasona (4 mg/kg, IP) por 21 dias, foi evidenciada, da mesma forma, redução do peso a partir do sétimo dia de tratamento (SKUPIO et al., 2015).

A segunda parte da pesquisa foi um estudo piloto (comportamento e avaliação da glicemia) com a cetamina, após duas horas da sua administração, no modelo de depressão-

símile por DEX. Tendo em vista que neste modelo, a cetamina (10 mg/kg, IP) não evidenciou resposta antidepressiva nos testes de nado forçado e preferência à sacarose no tempo de observação de trinta minutos após administração (dados não mostrados), foi determinado que todos os testes comportamentais fossem realizados após duas da administração da KET.

A determinação do tempo de observação da cetamina após sua administração é importante, pois a cetamina apresenta rápido início de ação dos efeitos antidepressivos, emergindo em duas a quatro horas após uma única administração intravenosa e induz remissão completa dos sintomas depressivos dentro de 24 horas em alguns pacientes (AAN HET ROT et al., 2012; KRYSTAL; SANACORA; DUMAN, 2013).

Como esperado, a dexametasona induziu um efeito de depressão-símile e a cetamina reverteu esse efeito, evidenciando efeito antidepressivo rápido. No trabalho de Zhang et al. (2014), utilizando modelo de exposição neonatal à dexametasona em camundongos, o tratamento agudo com R- ou S-cetamina (10 mg/kg, IP), 29hs após, mostrou aumento do tempo de imobilidade pela dexametasona e reversão pela cetamina.

Em relação ao tempo de *climbing*, o resultado do estudo confirmou o efeito antidepressivo visto no parâmetro da imobilidade, reforçando a dose e o tempo de efeito antidepressivo da cetamina com duas horas. Na pesquisa de Wojtas et al. (2022), o tempo de *climbing* após 24 horas da administração de cetamina (10 mg/kg, IP) em ratos, não mostrou alteração.

A administração crônica de glicocorticoides é amplamente utilizada em uma variedade de cenários clínicos, com a finalidade de alívio sintomático e prevenção da progressão de doenças. No entanto, esse uso está associado a vários efeitos adversos, incluindo a diabetes, cuja gravidade são tempo e dose dependentes (FILIPPOPOULOU et al., 2021).

Frente as alterações que o uso prolongado de glicocorticoides podem promover no metabolismo da glicose, com a possibilidade do desenvolvimento de diabetes mellitus, somado à perda de peso relevante dos animais tratados com dexametasona, foi realizada triagem através da glicemia capilar.

Os dados do trabalho não evidenciaram alteração glicêmica em nenhum dos dias de tratamento estudados. Dessa forma, a avaliação não traz suspeita do desenvolvimento de diabetes, assim a perda de peso dos animais foi atribuída como um sintoma depressivo-símile. Similarmente, em estudo com camundongos tratados com 28 dias de dexametasona (0,2 mg/kg, IP) não houve alteração da glicemia (ZHENG et al., 2018).

De acordo com os resultados favoráveis do estudo piloto para o protocolo de utilização aguda da cetamina (10 mg/kg, IP) com evidências de efeito antidepressivo após duas horas de sua administração no modelo de depressão-símile por dexametasona, foi utilizado esse protocolo no prosseguimento da pesquisa.

A terceira etapa do estudo foi à avaliação comportamental e do estresse oxidativo da cetamina. No teste de campo aberto, a cetamina não interferiu na atividade locomotora dos animais. Esse resultado é importante, pois demonstra que não haverá interferência nos outros testes comportamentais. Achado semelhante foi encontrado no modelo de depressão-símile por exposição pré-natal à dexametasona em ratas; o tratamento foi com dose única de cetamina (10 mg/kg, IP) e 24 horas após, não houve alteração na atividade locomotora (MICHAËLSSON et al., 2019).

Em relação aos números de *rearing* e *grooming* não foi evidenciada alteração em nenhum dos grupos estudados. Os resultados reforçam, juntamente com a atividade locomotora, que a cetamina não irá induzir falsas alterações na parte locomotora dos animais nos próximos testes comportamentais. Da mesma forma, nenhuma alteração nesses parâmetros foi encontrada em camundongos tratados uma hora antes com cetamina (10 mg/kg, IP) (FRAGA et al., 2018).

O próximo teste avaliado foi o labirinto em cruz elevada, onde a cetamina sozinha ou associada apresentou um efeito ansiolítico. Esse teste foi realizado, pois a depressão geralmente está associada com ansiedade, sendo relevante identificar que a cetamina também evidenciou efeito ansiolítico rápido.

No TPBA, os achados seguem em convergência com os dados do NEBA, reforçando efeito ansiolítico da cetamina. Dessa forma, no tratamento da depressão associada com ansiedade, a cetamina pode trazer um duplo benefício. Similarmente, no estudo de Papp et al. (2017) com ratos submetidos ao modelo do estresse leve crônico, tratados com cetamina (10 mg/kg, IP) por quatro dias, foram observados aumentos no NEBA e TPBA.

Em seguida, foi analisado o teste de nado forçado, onde os resultados reproduziram os efeitos encontrados no estudo piloto com a cetamina; observou-se também que a cetamina sozinha não interferiu na imobilidade dos animais; o teste de nado forçado é padrão-ouro para avaliar depressão-símile, dessa forma os resultados confirmam a ação antidepressiva rápida da cetamina após duas horas. No trabalho de Zhang et al. (2014), utilizando modelo de exposição neonatal à dexametasona em camundongos, o tratamento agudo com R- ou S-cetamina (10 mg/kg, IP), 29hs após, mostrou aumento do tempo de imobilidade pela dexametasona e reversão pela cetamina.

Em relação ao tempo de *climbing*, a dexametasona evidenciou efeito de depressão-símile e a cetamina reverteu esse efeito; constatou-se também que a cetamina sozinha não interferiu no movimento de escalada. Em confirmação com os dados do tempo de imobilidade, foi apresentado efeito antidepressivo rápido pela cetamina. Na pesquisa de Wojtas et al. (2022), o tempo de *climbing* após 24 horas de dose única de cetamina (10 mg/kg, IP) em ratos, não mostrou alteração.

Finalizando os testes comportamentais, o teste de preferência à sacarose foi realizado. Dexametasona mostrou efeito depressivo-símile, sendo revertido pela cetamina ao elevar a preferência pela sacarose, mostrando ação antidepressiva rápida; evidenciou-se também que a cetamina sozinha não interferiu na preferência pela sacarose. Este teste avalia anedonia, que é um sintoma importante no diagnóstico da depressão, sendo relevante na detecção de efeitos antidepressivos. Da mesma forma, em camundongos submetidos ao modelo de indução por lipopolissacarídeo (LPS), tratados com cetamina (6 mg/kg, IP), 24 horas após, o LPS reduziu esse parâmetro, e a cetamina reverteu esta ação do LPS (WALKER et al., 2013).

O estresse oxidativo e a inflamação são importantes na fisiopatologia da depressão, pois o cérebro é um órgão muito suscetível ao estresse oxidativo, uma vez que apresenta maior requerimento de energia. A cetamina mostrou proteger o cérebro contra o estresse oxidativo, reduzir inflamação e regular o metabolismo energético em ratos expostos ao modelo de privação materna (RÉUS et al., 2017).

Considerando os efeitos da depressão e da cetamina no estresse oxidativo cerebral, foram avaliados os níveis hipocâmpais de enzima antioxidante, peroxidação lipídica e estresse nitrosativo, como GSH, TBARS e nitrito, respectivamente.

No presente trabalho, a dexametasona reduziu os níveis de GSH, o que é observado no modelo de depressão-símile pelo aumento do estresse oxidativo; evidenciou-se também que a cetamina sozinha ou associada não interferiu nos níveis de GSH hipocâmpais. A dosagem de GSH foi realizada, pois é uma importante enzima antioxidante e reflete o nível de estresse oxidativo. No trabalho de Yang et al. (2020) com ratos submetidos ao modelo de dor pós-cirúrgica crônica, tratados com dose única de cetamina (20 mg/kg, IP), o GSH hipocâmpal do modelo não alterou, no entanto, a cetamina elevou esse parâmetro.

No teste de TBARS, a dexametasona aumentou os níveis de MDA, no entanto a cetamina reverteu esse efeito, reduzindo os danos da peroxidação lipídica. Esse teste foi realizado, pois o TBARS avalia a peroxidação lipídica, que está aumentada no estresse oxidativo. Concordando com os achados da presente pesquisa, Réus et al (20215)

observaram em ratos submetidos ao modelo de privação materna um aumento dos níveis de MDA hipocampal e uma reversão deste efeito pela administração da cetamina (RÉUS et al., 2015).

Finalizando as análises de estresse oxidativo, foi avaliado o nível de nitrito, onde a cetamina não exerceu influência no nitrito hipocampal, no entanto não foi testado seu efeito em outras áreas cerebrais, como córtex pré-frontal e corpo estriado. A dosagem de nitrito foi executada, por ser uma avaliação indireta da produção de óxido nítrico, que está relacionado com processo inflamatório na depressão. Abelaira et al. (2017) encontrou em estudo com ratos tratados com dose aguda de cetamina (15 mg/kg, IP), aumento de nitrito/nitrato no córtex pré-frontal.

Para melhor compreensão sobre resposta ao tratamento ou recorrência da depressão, o EEG pode ser uma ferramenta útil. Vale salientar que alguns pesquisadores exploraram o uso de EEG não invasivo para encontrar biomarcadores para fins de diagnóstico ou previsão do tratamento da depressão, por isso, a quarta e última etapa da pesquisa foi o estudo eletroencefalográfico hipocampal da cetamina (DE AGUIAR NETO; ROSA, 2019).

A análise da banda delta não mostrou alteração pela cetamina, no entanto essa onda é notável durante o sono profundo (WATTS et al., 2022), e a cetamina na dose antidepressiva utilizada não apresentou efeito sedativo. Contudo, na pesquisa de Mcmillan et al. (2020), 30 pacientes com depressão, tratados com cetamina (0,25 mg/kg, IV), o EEG três a quatro horas após, resultou em redução da banda delta.

Em relação à banda teta, a cetamina elevou essa onda, mostrando efeito antidepressivo, mas na associação com a dexametasona esse efeito foi perdido. A banda teta está marcadamente presente durante relaxamento e está entre os principais recursos para prever a resposta de antidepressivos como a cetamina (KANG; CHO, 2020; WATTS et al., 2022). De forma similar, uma relação foi observada entre aumento do poder teta frontal e resposta antidepressiva, com aumento da potência teta em respondedores à cetamina (ALARIO; NICIU, 2021).

O hipocampo é marca-passo do ritmo teta através de neurônios GABAérgicos do septo medial; enquanto neurônios glutamatérgicos mostraram intenso aumento de disparo teta, sugerindo que podem contribuir para a elevação do impulso tônico dos marca-passos associados ao teta (KOCISIS et al., 2022). Dessa forma, justificou-se as outras bandas cerebrais não sofrerem alteração com a cetamina no hipocampo.

Em seguida, foi analisada a banda alfa, onde a cetamina associada com a dexametasona apresentou efeito reduzido ao avaliar a cetamina sozinha. Embora incompletamente compreendida, a onda alfa reflete inibição sensorial/atencional e correlaciona habilidades cognitivas (ALARIO; NICIU, 2021; WATTS et al., 2022). Doses subanestésicas de cetamina mostraram diminuir a potência da onda alfa em indivíduos saudáveis; no entanto, não houve relação significativa entre alteração do espectro alfa e resposta antidepressiva (MCMILLAN et al., 2020).

Dando seguimento ao estudo eletroencefalográfico, foi verificada a banda beta, onde a cetamina não exerceu influência nesse parâmetro hipocampal; contudo, a dexametasona reduziu o poder espectral médio de beta high, o que caracteriza sintomas depressivos-símile. A banda beta está relacionada com comportamento de alerta, atenção e excitação (ALARIO; NICIU, 2021). Dessa forma, potências beta em regiões fronto-centrais mostraram estar negativamente correlacionadas com pontuações de desatenção na depressão. Além disso, oscilações beta no subgenua cingulado foram inversamente relacionadas com sintomas de depressão (WATTS et al., 2022). Estudo realizado por McMillan et al. (2020) demonstraram que alterações espectrais de EEG induzidas por cetamina aumentou a onda beta high e por outro lado, reduziu a faixa de beta low (MCMILLAN et al., 2020).

Concluindo as análises de EEG, foi avaliada a banda gama, onde a cetamina não exerceu influência nesse parâmetro hipocampal. A onda gama correlaciona-se com processamento simultâneo de informações, intensa concentração, atividade glutamatérgica e potencialização sináptica (ALARIO; NICIU, 2021; WATTS et al., 2022). A potência gama em eletrodos frontal, central e temporal está relacionada à resposta ao tratamento em pacientes com depressão (KANG; CHO, 2020).

De acordo com Mcmillan et al. (2020), as alterações de EEG induzidas por cetamina mostraram que o poder espectral das bandas gama low e gama high aumentaram. Tanto em animais quanto em humanos, doses subanestésicas de cetamina produzem aumento agudo na onda gama, cujos mecanismos são pensados incluir a inibição GABAérgica, que é modulada pela cetamina. O tempo para que se apresente alteração da banda gama ocorre em aproximadamente seis a nove horas após a infusão.

Em relação as limitações da pesquisa, surgiram devido a disponibilidade insuficiente de animais e ao enfrentamento da pandemia da COVID-19. Dessa forma, o estudo não foi conduzido também em ratas, para avaliar alterações pelo dimorfismo sexual; além da pesquisa não ter realizado testes comportamentais adicionais que estudassem outros sintomas depressivos-símiles, como sociabilidade e memória; não ter avaliado o estresse

oxidativo em outras áreas cerebrais, como córtex pré-frontal e corpo estriado; e não ter registrado o EEG após 24-72 horas do tratamento, pois as alterações nas bandas cerebrais parecem ocorrer mais tardiamente.

Estudos futuros com a cetamina são importantes para investigar suas ações neurobiológicas, buscando identificar novas vias de atuação na depressão. A realização da pesquisa em ratas é indicada para verificação de alterações pelo dimorfismo sexual; os testes comportamentais de interação social e labirinto em Y são sugeridos para avaliação de sociabilidade e memória, respectivamente; e as dosagens de BDNF, citocinas pró-inflamatórias e mieloperoxidase são recomendadas para verificação dos efeitos na sobrevivência neuronal e neuroinflamação.

8. CONCLUSÃO

O modelo de depressão-símile induzido por dexametasona foi efetivo na dosagem selecionada, apresentando comportamentos depressivos, como redução no peso dos animais sem interferir nos níveis glicêmicos, sendo um instrumento importante para o estudo da depressão e redirecionamento/descoberta de fármacos antidepressivos. A cetamina evidenciou efeitos antidepressivos e ansiolíticos observados nos testes comportamentais; mostrou também reduzir a peroxidação lipídica na avaliação do estresse oxidativo, além de elevar o poder espectral médio da banda teta, mostrando efeito antidepressivo no eletroencefalograma. Dessa forma, o presente estudo colabora com o redirecionamento da cetamina como fármaco antidepressivo rápido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAN HET ROT, M. et al. Ketamine for depression: where do we go from here? **Biological psychiatry**, v. 72, n. 7, p. 537–547, 1 out. 2012.
- ABDERRAHIM, L. et al. Sex differences in behavioral, cognitive and voluntary ethanol-intake effects in Dexamethasone-induced depression-like state in Wistar rat. **AIMS neuroscience**, v. 9, n. 2, p. 228–249, 2022.
- ABELAIRA, H. M. et al. Ketamine Exhibits Different Neuroanatomical Profile After Mammalian Target of Rapamycin Inhibition in the Prefrontal Cortex: the Role of Inflammation and Oxidative Stress. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 7, p. 5335–5346, 2017.
- ALARIO, A. A.; NICIU, M. J. Biomarkers of ketamine's antidepressant effect: a clinical review of genetics, functional connectivity, and neurophysiology. **Chronic stress (Thousand Oaks, Calif.)**, v. 5, 2021.
- ALHADDAD, A. et al. Rosiglitazone Mitigates Dexamethasone-Induced Depression in Mice via Modulating Brain Glucose Metabolism and AMPK/mTOR Signaling Pathway. **Biomedicines**, v. 11, n. 3, p. 860, 11 mar. 2023.
- ANIMALS, N. R. C. (US) C. FOR THE U. OF THE G. FOR THE C. AND U. OF L. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. National Academies Press (US), , 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>>. Acesso em: 28 nov. 2015
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205–235, maio 1973.
- BERMAN, R. M. et al. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. **Biological psychiatry**, v. 47, n. 4, p. 351–354, 15 fev. 2000.
- BORBÉLY, É. et al. Novel drug developmental strategies for treatment-resistant depression. **British journal of pharmacology**, v. 179, n. 6, p. 1146–1186, 1 mar. 2022.
- DE AGUIAR NETO, F. S.; ROSA, J. L. G. Depression biomarkers using non-invasive EEG: A review. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 105, p. 83–93, 1 out. 2019.
- DWYER, J. B. et al. Hormonal Treatments for Major Depressive Disorder: State of the Art.

The American journal of psychiatry, v. 177, n. 8, p. 686–705, 1 ago. 2020.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in enzymology**, v. 186, p. 407–21, 1990.

FILIPPOPOULOU, F. et al. Dexamethasone Administration in Mice Leads to Less Body Weight Gain over Time, Lower Serum Glucose, and Higher Insulin Levels Independently of NRF2. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 1, 1 jan. 2021.

FRAGA, D. B. et al. Anxiolytic effects of ascorbic acid and ketamine in mice. **Journal of psychiatric research**, v. 100, p. 16–23, 1 maio 2018.

GOODWIN, G. M. et al. Single-Dose Psilocybin for a Treatment-Resistant Episode of Major Depression. **The New England journal of medicine**, v. 387, n. 18, p. 1637–1648, 3 nov. 2022.

GREEN, L. C.; TANNENBAUM, S. R.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science (New York, N.Y.)**, v. 212, n. 4490, p. 56–8, 3 abr. 1981.

HAO, Y. et al. Selecting an Appropriate Animal Model of Depression. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 19, 1 out. 2019.

JELEN, L. A.; STONE, J. M. Ketamine for depression. **International review of psychiatry (Abingdon, England)**, v. 33, n. 3, p. 207–228, 2021.

KANG, S. G.; CHO, S. E. Neuroimaging Biomarkers for Predicting Treatment Response and Recurrence of Major Depressive Disorder. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 6, 1 mar. 2020.

KENNIS, M. et al. Prospective biomarkers of major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. **Molecular psychiatry**, v. 25, n. 2, p. 321–338, 1 fev. 2020.

KIM, Y. et al. Essential Amino Acid-Enriched Diet Alleviates Dexamethasone-Induced Loss of Muscle Mass and Function through Stimulation of Myofibrillar Protein Synthesis and Improves Glucose Metabolism in Mice. **Metabolites**, v. 12, n. 1, 1 jan. 2022.

KING, A. et al. A review of dexamethasone as an adjunct to adenotonsillectomy in the pediatric population. **Journal of anesthesia**, v. 34, n. 3, p. 445–452, 1 jun. 2020.

KINLEIN, S. A. et al. Role of corticosterone in altered neurobehavioral responses to acute stress in a model of compromised hypothalamic-pituitary-adrenal axis function.

Psychoneuroendocrinology, v. 102, p. 248–255, 1 abr. 2019.

KOCSIS, B. et al. Huygens synchronization of medial septal pacemaker neurons generates hippocampal theta oscillation. **Cell reports**, v. 40, n. 5, 2 ago. 2022.

KRYSTAL, J. H.; SANACORA, G.; DUMAN, R. S. Rapid-acting glutamatergic antidepressants: the path to ketamine and beyond. **Biological psychiatry**, v. 73, n. 12, p. 1133–1141, 15 jun. 2013.

LI, Y. F. A hypothesis of monoamine (5-HT) - Glutamate/GABA long neural circuit: Aiming for fast-onset antidepressant discovery. **Pharmacology & therapeutics**, v. 208, 1 abr. 2020.

LIMA, S. et al. The underestimated sex: A review on female animal models of depression. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 133, 1 fev. 2022.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180–5, 1987.

MADAMSETTY, V. S. et al. Dexamethasone: Insights into Pharmacological Aspects, Therapeutic Mechanisms, and Delivery Systems. **ACS biomaterials science & engineering**, v. 8, n. 5, 2022.

MAO, Q.-Q. et al. Brain-derived neurotrophic factor signalling mediates the antidepressant-like effect of piperine in chronically stressed mice. **Behavioural Brain Research**, v. 261, p. 140–145, 15 mar. 2014.

MARWAHA, S. et al. Novel and emerging treatments for major depression. **Lancet (London, England)**, v. 401, n. 10371, p. 141–153, 14 jan. 2023.

MCMILLAN, R. et al. Simultaneous EEG/fMRI recorded during ketamine infusion in patients with major depressive disorder. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 99, 20 abr. 2020.

MESRIPOUR, A.; ALHIMMA, F.; HAJHASHEMI, V. The effect of vitamin B6 on dexamethasone-induced depression in mice model of despair. **Nutritional neuroscience**, v. 22, n. 10, p. 744–749, 2019.

MICHAËLSSON, H. et al. The novel antidepressant ketamine enhances dentate gyrus proliferation with no effects on synaptic plasticity or hippocampal function in depressive-like rats. **Acta physiologica (Oxford, England)**, v. 225, n. 4, 1 abr. 2019.

MIN, B.-K. et al. Focused ultrasound-mediated suppression of chemically-induced acute epileptic EEG activity. **BMC neuroscience**, v. 12, p. 23, jan. 2011.

MORI, M. et al. Oxytocin treatment improves dexamethasone-induced depression-like symptoms associated with enhancement of hippocampal CREB-BDNF signaling in female mice. **Neuropsychopharmacology reports**, v. 42, n. 3, p. 356–361, 1 set. 2022.

NEMEROFF, C. B. The State of Our Understanding of the Pathophysiology and Optimal Treatment of Depression: Glass Half Full or Half Empty? **The American journal of psychiatry**, v. 177, n. 8, p. 671–685, 1 ago. 2020.

NOUSHAD SHAMOON et al. Physiological biomarkers of chronic stress: A systematic review Introduction. **International Journal Of Health Sciences**, v. 15, n. 5, p. 46–59, 2021.

PAPP, M. et al. Antidepressant, anxiolytic and procognitive effects of subacute and chronic ketamine in the chronic mild stress model of depression. **Behavioural pharmacology**, v. 28, n. 1, p. 1–8, 1 fev. 2017.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. 5. ed. [s.l: s.n.].

PITSILLOU, E. et al. The cellular and molecular basis of major depressive disorder: towards a unified model for understanding clinical depression. **Molecular biology reports**, v. 47, n. 1, p. 753–770, 1 jan. 2020.

PORSOLT, R. D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie**, v. 229, n. 2, p. 327–36, out. 1977.

RAMÍREZ, L. A. et al. A new theory of depression based on the serotonin/kynurenine relationship and the hypothalamicpituitary- adrenal axis. **Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud**, v. 38, n. 3, p. 437–450, 2018.

RÉUS, G. Z. et al. A single dose of S-ketamine induces long-term antidepressant effects and decreases oxidative stress in adulthood rats following maternal deprivation. **Developmental Neurobiology**, v. 75, n. 11, p. 1268–1281, nov. 2015.

RÉUS, G. Z. et al. Mechanism of synergistic action on behavior, oxidative stress and inflammation following co-treatment with ketamine and different antidepressant classes. **Pharmacological reports : PR**, v. 69, n. 5, p. 1094–1102, 1 out. 2017.

SAMPAIO, L. R. L. et al. Electroencephalographic study of chlorpromazine alone or combined with alpha-lipoic acid in a model of schizophrenia induced by ketamine in rats. **Journal of Psychiatric Research**, v. 86, p. 73–82, mar. 2017.

SAMPAIO, L. R. L. et al. Average spectral power changes at the hippocampal electroencephalogram in schizophrenia model induced by ketamine. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 32, n. 1, 2018.

SANCHES, M.; QUEVEDO, J.; SOARES, J. C. New agents and perspectives in the pharmacological treatment of major depressive disorder. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 106, 2 mar. 2021.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry**, v. 25, n. 1, p. 192–205, 24 out. 1968.

SINNIAH, A.; YAZID, S.; FLOWER, R. J. From NSAIDs to Glucocorticoids and Beyond. **Cells**, v. 10, n. 12, 1 dez. 2021.

SKUPIO, U. et al. Behavioral and molecular alterations in mice resulting from chronic treatment with dexamethasone: relevance to depression. **Neuroscience**, v. 286, p. 141–50, 12 fev. 2015.

SONG, J.; KIM, Y. K. Animal models for the study of depressive disorder. **CNS neuroscience & therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 633–642, 1 jun. 2021.

TANG, M. et al. The interaction between autophagy and neuroinflammation in major depressive disorder: From pathophysiology to therapeutic implications. **Pharmacological research**, v. 168, 1 jun. 2021.

TARASOV, V. V. et al. Biological Mechanisms of Atypical and Melancholic Major Depressive Disorder. **Current pharmaceutical design**, v. 27, n. 31, p. 3399–3412, 4 jun. 2021.

TROUBAT, R. et al. Neuroinflammation and depression: A review. **The European journal of neuroscience**, v. 53, n. 1, p. 151–171, 1 jan. 2021.

WALKER, A. K. et al. NMDA receptor blockade by ketamine abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in C57BL/6J mice. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 38, n.

9, p. 1609–1616, ago. 2013.

WATTS, D. et al. Predicting treatment response using EEG in major depressive disorder: A machine-learning meta-analysis. **Translational psychiatry**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2022.

WHO. **Depression**. Disponível em:

<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/>>. Acesso em: 1 nov. 2017.

WOJTAS, A. et al. Effect of Psilocybin and Ketamine on Brain Neurotransmitters, Glutamate Receptors, DNA and Rat Behavior. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 12, 1 jun. 2022.

WRÓBEL, A. et al. The effect of imipramine, ketamine, and zinc in the mouse model of depression. **Metabolic brain disease**, v. 30, n. 6, p. 1379–86, dez. 2015.

XU, S. X. et al. The activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase in rat hippocampus contributes to the rapid antidepressant effect of ketamine. **Behavioural brain research**, v. 253, p. 305–309, 5 set. 2013.

YANG, Y. et al. Ketamine relieves depression-like behaviors induced by chronic postsurgical pain in rats through anti-inflammatory, anti-oxidant effects and regulating BDNF expression. **Psychopharmacology**, v. 237, n. 6, p. 1657–1669, 1 jun. 2020.

ZAKARIA, F. H. et al. Pathophysiology of Depression: Stingless Bee Honey Promising as an Antidepressant. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27, n. 16, 1 ago. 2022.

ZHANG, J.; LI, S.; HASHIMOTO, K. R (-)-ketamine shows greater potency and longer lasting antidepressant effects than S (+)-ketamine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 116, p. 137–141, jan. 2014.

ZHENG, X. et al. Hyperglycemia Induced by Chronic Restraint Stress in Mice Is Associated With Nucleus Tractus Solitarius Injury and Not Just the Direct Effect of Glucocorticoids. **Frontiers in neuroscience**, v. 12, 19 dez. 2018.