



INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) Número de Publicação: **PT 1399143 E**

(51) Classificação Internacional:

A61K 31/221 (2006.01) **A61P 25/18** (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2002.05.24**

(30) Prioridade(s): **2001.05.29 IT RM20010**
2001.06.08 IT RM20010

(43) Data de publicação do pedido: **2004.03.24**

(45) Data e BPI da concessão: **2006.11.15**
001/2007

(73) Titular(es):

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE
RIUNITE S.P.A.

VIALE SHAKESPEARE, 47 I-00144 ROMA IT

(72) Inventor(es):

MENOTTI CALVANI

IT

LUIGI MOSCONI

IT

(74) Mandatário:

JOSÉ EDUARDO LOPES VIEIRA DE SAMPAIO

R DO SALITRE 195 RC DTO 1250-199 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **UTILIZAÇÃO DA ACETIL-L-CARNITINA NA PREPARAÇÃO DE UM MEDICAMENTO PARA TRATAR A ANEDONIA**

(57) Resumo:

RESUMO

"UTILIZAÇÃO DA ACETIL-L-CARNITINA NA PREPARAÇÃO DE UM
MEDICAMENTO PARA TRATAR A ANEDONIA"

A presente invenção diz respeito à utilização de uma alcanoíl-L-carnitina, ou de um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, para a preparação de um medicamento para o tratamento da anedonia.

DESCRIÇÃO

"UTILIZAÇÃO DA ACETIL-L-CARNITINA NA PREPARAÇÃO DE UM MEDICAMENTO PARA TRATAR A ANEDONIA"

A presente invenção diz respeito à utilização da acetil-L-carnitina na preparação de um medicamento para o tratamento da anedonia.

A anedonia representa um aspecto da personalidade normalmente presente em doentes com esquizofrenia e outras patologias (Can. Psychiatr. Assoc. J. Nov. de 1978; 23 (7):487-92) que se caracteriza por sensibilidade reduzida a estímulos que esses doentes anteriormente apreciavam.

J. Clin. Pharm. Ther. Out. de 2000; 25(5):363-71 divulga a utilização da sertralina no tratamento dessa patologia.

Psychopharmacology (Berl) 1992; 109(4):433-8 divulga a utilização da fluoxetina e da maprotilina no tratamento da anedonia.

Embora se utilizem comumente, quer a psicoterapia quer os medicamentos psicoactivos não se consideram úteis no tratamento dessa patologia (Can. Psychiatr. Assoc. J. Nov. de 1978; 23 (7):487-92). Não se conhecem outros medicamentos que possam ser úteis no tratamento da anedonia.

Devido ao facto de apenas alguns medicamentos se encontrarem disponíveis para o tratamento da anedonia, e considerando que quer a psicologia quer medicações psicoactivas são ineficazes, existe no campo médico uma

grande necessidade de medicamentos úteis para o tratamento dessa patologia.

Presentemente constatou-se que a acetil-L-carnitina se insere nos agentes úteis para o tratamento da anedonia.

Consequentemente, um objectivo da presente invenção consiste na utilização da acetil-L-carnitina ou de um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, na preparação de um medicamento para o tratamento da anedonia.

A expressão sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico da acetil-L-carnitina significa um qualquer dos seus sais derivados de um ácido que não origina efeitos tóxicos ou secundários indesejáveis. Os farmacologistas e os peritos em farmácia conhecem bem esses ácidos.

Exemplos desses sais são por exemplo: cloreto, brometo, orotato, aspartato ácido, citrato ácido, magnésio citrato, fosfato ácido, fumarato e fumarato ácido, magnésio fumarato, lactato, maleato e maleato ácido, mucato, oxalato ácido, pamoato, pamoato ácido, sulfato ácido, glucose fosfato, tartarato, tartarato ácido, magnésio tartarato, 2-amino-etanossulfonato, 2-amino-etanossulfonato de magnésio, colina tartarato e tricloroacetato.

Os exemplos seguintes ilustram melhor a presente invenção. No decurso dos ensaios experimentais apresentados seguidamente na presente memória descritiva, estudaram-se os efeitos da acetil-L-carnitina de acordo com um paradigma experimental baseado na anedonia, um modelo de um sintoma específico de stresse crónico.

O modelo de anedonia baseia-se na observação de que o facto de se exporem ratos alimentados ad libitum ("à vontade") a um stresse repetido inevitável impede o desenvolvimento de um comportamento apetitivo induzido e mantido através de alimentos de sabor muito intenso (açúcar baunilhado) (Behav. Pharmacol. 8:619-628, 1997).

Os animais tratados com acetil-L-carnitina demonstraram estarem totalmente protegidos contra os efeitos negativos de stresse sobre a aquisição de um comportamento apetitivo (VAB) induzido/mantido pelo açúcar baunilhado evitando a diminuição da transmissão dopaminérgica no nucleus accumbens (Nacs) como resultado do stresse.

No decurso dessas experiências testaram-se outros medicamentos antidepressivos conhecidos como a imipramina (IMI) e a fluoxetina (FLX) (Am. J. Psychiatry. Março de 2000; 157(3):344-50) juntamente com a acetil-L-carnitina.

Inesperadamente, observou-se que a acetil-L-carnitina é o único medicamento capaz de antagonizar o efeito de diminuição da transmissão dopaminérgica no Nacs por repetida exposição ao stresse. Dessa forma, a acetil-L-carnitina permite aos animais considerar os alimentos agradáveis ao paladar como um reforço suficiente para manter o comportamento apetitivo estimulado.

EXEMPLO 1**Efeito a longo prazo da acetil-L-carnitina sobre a aquisição de um comportamento apetitivo.**

Realizaram-se duas experiências. A primeira experiência teve por finalidade investigar se o tratamento com acetil-L-carnitina pode prevenir o efeito negativo do stresse crónico sobre a aquisição por camundongos de um comportamento apetitivo sustentado pelo açúcar baunilhado (VAB).

Nessa experiência, trataram-se os camundongos com uma solução fisiológica (PS) ou acetil-L-carnitina (ALCAR). Os tratamentos iniciaram-se 2 semanas antes do ensaio de treino e continuaram durante o período da experiência, como descrito seguidamente na presente memória descritiva.

Dividiram-se 40 camundongos Sprague Dawley pesando aproximadamente 250 g em 4 grupos de acordo com o seguinte protocolo:

a) VAB, [grupo de controlo (CTR)]: trataram-se 10 camundongos com uma solução fisiológica (1 ml/Kg IP) duas vezes por dia (BID) durante 14 dias. Em seguida, iniciou-se um ensaio de três semanas de treino em um labirinto em Y (Y maze) (Brain. Res. Protocols 7(1):11-20; 2001).

b) acetil-L-carnitina: trataram-se 10 camundongos com acetil-L-car-nitina (10 mg/Kg IP, BID, em um volume de 1 ml/Kg) durante 14 dias. Seguidamente iniciou-se o ensaio do treino no labirinto em Y (Y maze);

c) Stresse: Trataram-se 10 camundongos com uma solução fisiológica (1 ml/Kg IP, BID) durante 14 dias. Seguidamente, expuseram-se os animais à sequência de pré-ensaio [no pré-ensaio, expuseram-se os animais igualmente a stresse inevitável (choques eléctricos) de intensidade e de duração mínimas, capazes de induzir uma modificação sustentada no comportamento. Brain. Res. Protocols 7(1):11-20; 2001]; ensaio de escape [(também definido como "ensaio") realizado 24 horas após o pré-ensaio, para avaliar a modificação comportamental induzida (Brain. Res. Protocols 7(1):11-20; 2001)]; treino no labirinto em Y ("Y-maze") e procedimento de exposição a stresse crónico em dias alternados (labirinto num dia, e stresse no dia seguinte) durante três semanas (Brain. Res. Protocols 7(1):11-20; 2001), continuando ao mesmo tempo o tratamento com uma solução fisiológica;

d) acetil-L-carnitina + Stresse: trataram-se 10 camundongos com acetil-L-carnitina (10 mg/Kg, IP, BID) durante 14 dias. Seguidamente, expuseram-se os animais à sequência de pré-ensaio; ensaio; treino no labirinto em Y ("Y-maze") e expuseram-se simultaneamente a procedimento de stresse crónico em dias alternados (labirinto um dia, e stresse no dia seguinte) durante três semanas, continuando ao mesmo tempo o tratamento com uma solução fisiológica.

O labirinto em Y ("Y-maze") era formado por três braços ("wings"). O açúcar baunilhado para a aquisição do comportamento apetitivo encontrava-se em um dos dois braços ("wings") divergentes (treino VAB, 3 semanas).

No final do treino VAB, todos os animais expostos a stresse passaram pelo ensaio de escape (Brain. Res. protocols 7(1):11-20; 2001).

A segunda experiência tinha por objectivo determinar se o tratamento com L-carnitina poderá antagonizar o efeito negativo do stresse crónico sobre a aquisição de VAB pelos camundongos.

Dividiram-se quarenta camundongos em 4 grupos, constituído cada um por 10 animais, como se segue:

e) VAB: administrou-se a solução fisiológica aos animais (1 ml/Kg IP, BID) durante 8 dias, e treinaram-se depois os camundongos no labirinto em Y ("Y-maze") para aquisição de VAB continuando ao mesmo tempo o tratamento com a solução fisiológica durante 3 semanas;

f) Stresse + VAB: expuseram-se os animais ao pré-ensaio. Vinte e quatro horas depois submeteram-se ao ensaio de escape, e expuseram-se seguidamente a um procedimento de stresse crónico durante 7 dias. No dia 9, os animais iniciaram o seu treino no labirinto em Y ("Y-maze") embora expostos a stresse em dias alternados;

g) acetil-L-carnitina + Stresse + VAB: Expuseram-se os animais ao pré-ensaio. Decorridas vinte e quatro horas passaram pelo ensaio de escape. Seguidamente, expuseram-se ao protocolo de stresse crónico durante 7 dias, ao mesmo tempo que lhes eram administrados 10 mg/Kg IP, BID durante 8 dias. No dia 9, os camundongos iniciaram o seu treino VAB no labirinto em Y ("Y-maze") e exposição ao stresse em dias alternados, continuando ao mesmo tempo o tratamento com a acetil-L-carnitina durante 3 semanas;

h) IMI + Stresse + VAB: expuseram-se os animais ao pré-en-

saio. Vinte e quatro horas mais tarde, passaram pelo ensaio de escape, e expuseram-se seguidamente ao protocolo de stresse crónico durante 7 dias ao mesmo tempo que lhes eram administrados 5 mg/Kg IP, BID durante 8 dias. No dia 9, os camundongos iniciaram o seu treino no labirinto em forma de Y ("Y-maze") e a exposição ao stresse em dias alternados, continuando ao mesmo tempo com a IMI durante 3 semanas.

No final do período de treino, submeteram-se todos os animais ao ensaio de escape.

Dois dias mais tarde, implantaram-se nos animais sondas de microdiálise no nucleus accumbens (Nacs) (Brain. Res. Protocols 5(1):16-24:200) e submeteram-se a diálise no dia seguinte.

Uma vez atingido o nível basal da dopamina, administrou-se aos camundongos uma dose unitária de 5 mg/Kg de cocaína IP em um volume de 0,1 ml de água, e submeteram-se a diálise no período dos 60 minutos seguintes.

Os resultados, apresentados nas Figuras 1 e 2, mostram a aquisição de VAB pelos camundongos controlo e pelos camundongos tratados com acetil-L-carnitina em comparação com camundongos expostos a stresse crónico.

É evidente que a exposição a stresse crónico tem um efeito negativo sobre a aquisição de comportamento apetitivo motivado.

Além do mais, o pré-tratamento de 14 dias com acetil-L-carnitina, seguido pela administração de acetil-L-carnitina ao longo da fase de treino em associação com a exposição a

stressse crónico tem impedido a ocorrência desse efeito negativo. Finalmente, os camundongos que adquiriram um VAB sob o efeito da acetil-L-carnitina recuperaram a sua capacidade total para evitar os estímulos negativos. No Quadro 1 apresentam-se os resultados.

QUADRO 1

Grupo	N° de escapes 24 horas após o pré-ensaio	N° de escapes Depois do treino com VAB e exposição ao stressse
Inicial ("Naive") [#]	26,3±0,4	
Stresse	1,4±0,7***	2,7±0,9***
ALCAR + stressse ^{\$}	25,8±2,5	26,4±2,9

= O grupo definido como Inicial ("Naive") submeteu-se ao ensaio de escape, mas não se submeteu ao procedimento de stressse crónico.

\$ = tratado com acetil-L-carnitina 10 mg/Kg IP, BID durante 14 dias

Os valores representam a média ± o erro padrão.

*** = $p < 0,001$ comparado com o grupo Inicial ("Naive") e o grupo acetil-L-carnitina + Stresse.

Os resultados obtidos mostram que a acetil-L-carnitina tem um efeito anti-anedónico que se sobrepõe aos efeitos conhecidos da IMI e da FLX (Brain. Res. Protocols 7(1):11-20; 2001).

Não obstante, a conclusão correcta que deriva de uma comparação paralela entre as experiências com acetil-L-carnitina descritas na presente memória descritiva e as experiências conhecidas com a IMI e a FLX é que a administração dessas substâncias aos camundongos durante um

período de 1 a 3 semanas antes de os expor ao procedimento de stresse crónico previne as sequelas de comportamento induzidas pelo stresse dessa ocorrência. Contudo, o facto de tais compostos prevenirem o desenvolvimento dos efeitos negativos do stresse crónico sobre a aquisição de um VAB não significa necessariamente que antagonizariam o efeito do stresse sobre um comportamento apetitivo motivado. O segundo protocolo experimental descrito anteriormente realizou-se para investigar esse ponto.

Os resultados apresentados no Quadro 2 seguinte mostram que:

- 1) os camundongos expostos a stresse crónico (Stresse) não adquirem um VAB;
- 2) a administração crónica da IMI durante exposição ao stresse e treino no labirinto em Y ("Y-maze") protegeu os camundongos do efeito do stresse crónico sobre a aquisição de um VAB.
- 3) a administração crónica da acetil-L-carnitina durante a exposição ao stresse e treino no labirinto em Y ("Y-maze") protegeram completamente os camundongos do efeito negativo do stresse crónico sobre a aquisição de um VAB.

QUADRO 2

Grupo	Nº de escolhas correctas
VAB	6,6±0,3
Stresse+VAB	2,4±0,8***
IMI+Stresse+VAB	2,9±1,2***
ALÇAR+Stresse+VAB	7,6±0,5

ALCAR 10 mg/Kg IP, BID ou IMI 5 mg/Kg BID, mais exposição ao stresse crónico durante 8 dias; no dia 9, treino no labirinto em Y ("Y-maze") para VAB, tratamento de 3 semanas com ALCAR ou IMI e exposição ao stresse, nos dias alternativos.

Os valores representam a média ± o erro padrão.

*** = $p < 0,001$ comparado com o grupo VAB e grupo ALCAR+Stresse+VAB

Os resultados do quadro 3 mostram que os camundongos pertencentes aos grupos seguintes: Stresse + VAB, IMI + Stresse e acetil-L-carnitina + Stresse apresentam um défice de escape agudo no dia anterior ao início do procedimento do treino VAB. Além do mais, os resultados mostram que ambos IMI e acetil-L-carnitina invertem completamente o défice de escapes induzido pelo stresse crónico.

QUADRO 3

Grupo	Nº de escapes 8 dias depois	Nº de escapes Após stress+3 semanas de treino VAB
Inicial ("Naive") [#]	24,7±0,5	
Stresse + VAB	1,6±0,6***	
ALCAR + Stresse + VAB	1,0±0,5***	22,4±2,8
IMI + Stresse + VAB	2,5±1,1***	24,8±1,0

= Submeteu-se o grupo Inicial ("Naive") ao ensaio de escape, mas não ao procedimento de stresse crónico.

ALCAR 10 mg/Kg IP, BID ou IMI 5 mg/Kg BID, mais exposição a stresse crónico durante 8 dias; a partir do dia 9, treino no labirinto em Y ("Y-maze") para VAB (3 semanas), ao mesmo tempo que continuaram o tratamento de 3 semanas com ALCAR ou IMI e a exposição ao stresse em dias alternados.

Os valores representam a média ± o erro padrão.

*** = $p < 0,001$ comparado com o grupo Inicial ("NAIVE"), o grupo ALCAR + Stresse + VAB, e grupo IMI + Stresse + VAB no final do período de treino.

Por fim, apresentam-se os resultados nas Figuras 3 e 4:

- a) os níveis basais da dopamina extraneuronal e da dopamina nos NAcS após a administração aguda de cocaína foram significativamente menores em camundongos treinados no labirinto em Y ("Y-maze") durante a exposição crónica ao stresse do que nos animais controlo;
- b) os níveis basais da dopamina extraneuronal e da dopamina nos Nacs após a administração aguda de cocaína foram significativamente superiores em camundongos treinados no labirinto em Y ("Y-maze") durante exposição a stresse crónico e tratados com acetil-L-carnitina do que em animais de controlo;

- c) os níveis basais da dopamina extraneuronal e da dopamina nos Nacs após a administração aguda de cocaína foram significativamente menores em camundongos treinados no labirinto em Y ("Y-maze") durante a exposição a stresse crónico e tratados com IMI do que nos camundongos de controlo, e que se sobrepõem aos níveis basais observados nos animais expostos a stresse crónico;
- d) os níveis de efluxo ("output") de dopamina nos Nacs dos camundongos treinados no labirinto em Y ("Y-maze") durante a exposição a stresse crónico e tratados com a acetil-L-carnitina sobrepuseram-se aos observados no grupo controlo.

O tratamento com IMI inverteu o défice de escape induzido pelo stresse, mas não protegeu os camundongos contra o efeito negativo do stresse crónico quer sobre a aquisição de VAB quer sobre a transmissão dopaminérgica nos Nacs.

Por contraste, os camundongos tratados com acetil-L-carnitina recuperaram a sua capacidade para adquirirem comportamento apetitivo motivado e evitarem estímulos negativos. Além disso, os níveis de dopamina extraneuronal nos Nacs dos camundongos treinados para um VAB durante exposição a stresse crónico e tratados com acetil-L-carnitina subrepuseram-se aos níveis registados nos camundongos de controlo, quer em condições basais quer após uma única administração de cocaína.

O modelo VAB é um modelo de comportamento apetitivo motivado sustentado pelo gosto agradável do açúcar baunilhado.

Apesar de alimentados à vontade ("ad libitum") com uma dieta padrão, os camundongos comeram avidamente os pequenos

aglomerados esféricos de açúcar baunilhado, consumo que induz a um aumento significativo do efluxo ("output") da dopamina nos Nacs (Behav.Pharmacol. 8:619-628, 1997).

Os pequenos aglomerados esféricos ("pellets") podem ou não atrair os camundongos quando expostos a stresse crónico que os podem consumir ou não.

Não obstante, não ocorre variação nos níveis de dopamina extraneuronal no sistema límbico dos camundongos que ingerem os pequenos aglomerados esféricos doces.

O aumento da dopamina em algumas zonas discretas do cérebro como no córtex pré-frontal e nos Nacs após exposição a um estímulo ambiental tem-se associado à importância do contingente adquirido por esse estímulo quando é percebido.

O aumento do efluxo ("output") de monoamina revela qual é o nível de importância de um determinado estímulo para que o corpo dele se aperceba.

Dessa forma, o consumo dos pequenos aglomerados esféricos ("pellets") de açúcar baunilhado no controlo de camundongos constitui um importante estímulo, que aumenta a libertação de dopamina nos Nacs e pode sustentar um comportamento apetitivo motivado que se evidencia quando se repete.

Por contraste, o consumo de pequenos aglomerados esféricos ("pellets") de açúcar baunilhado não é percebido como um importante estímulo pelos camundongos expostos ao stresse. Por consequência, o efluxo de dopamina nos Nacs não aumenta e não funciona como um reforço de comportamento apetitivo motivado.

EXEMPLO 2

Nesse exemplo estudou-se o efeito da administração, durante 7 dias, de acetil-L-carnitina, IMI ou FLX sobre a transmissão serotoninérgica e dopaminérgica do cérebro em camundongos expostos a stresse.

O objectivo dessa experiência foi determinar se uma exposição de 7 dias ao stresse poderá modificar o efluxo de dopamina e de serotonina no córtex pré-frontal (CPF) e na camada externa ("shell") do nucleus accumbens (Nacs), bem como para avaliar os efeitos de acetil-L-carnitina, IMI ou FLX sobre essas modificações.

Dividiram-se 60 camundongos em 6 grupos de 10 animais cada, como se segue:

- a) Controlo (Crt): administrou-se aos animais solução fisiológica 1 ml/Kg IP, BID durante 8 dias;
- b) acetil-L-carnitina: administrou-se aos animais acetil-L-carnitina 10 mg/Kg IP, BID durante 8 dias;
- c) Stresse: Expuseram-se os animais ao pré-ensaio, testaram-se relativamente a escape 24 horas mais tarde, e expuseram-se em seguida ao protocolo do stresse crónico durante 7 dias, ao mesmo tempo que se lhes administrava solução fisiológica (durante 8 dias);
- d) acetil-L-carnitina + Stresse: expuseram-se os animais a pré-ensaio, testaram-se relativamente a escape 24 horas mais tarde, e expuseram-se em seguida ao protocolo do stresse crónico durante 7 dias, ao mesmo tempo que se lhes

administrava acetil-carnitina 10 mg/Kg IP, BID, durante 8 dias;

e) IMI + Stresse: expuseram-se os animais ao pré-ensaio, testaram-se relativamente a escape 24 horas mais tarde, e expuseram-se em seguida ao protocolo do stresse crónico durante 7 dias, ao mesmo tempo que se lhes administrava IMI 5mg/Kg IP, BID durante 8 dias;

f) FLX + Stresse: expuseram-se os animais ao pré-ensaio, testaram-se relativamente a escape 24 horas mais tarde, e expuseram-se em seguida ao protocolo do stresse crónico durante 7 dias, ao mesmo tempo que se lhes administrava FLX 5 mg/Kg IP/dia durante 8 dias.

No 9º dia implantaram-se em todos os animais sondas de diálise nos Nacs; no 10º dia submeteram-se os animais a diálise.

Determinaram-se os níveis basais de dopamina durante 60 minutos.

Nesse momento, ofereceram-se aos camundongos 5 pequenos aglomerados esféricos ("pellets") de açúcar baunilhado (Refeição 1); durante os 60 minutos seguintes colheram-se 4 amostras do fluído da diálise.

Aos camundongos ofereceu-se uma vez mais açúcar baunilhado (Refeição 2), e colheram-se durante os 60 minutos seguintes amostras do fluído da diálise.

Finalmente, injectaram-se os camundongos com 5 mg/Kg de cocaína IP, 0,1 ml em água e colheram-se amostras do fluido da diálise durante os 60 minutos seguintes.

Para explicar o efeito protector exercido pela acetil-L-carnitina sobre a aquisição de um VAB em camundongos expostos a um procedimento de stresse crónico, assume-se que os pequenos aglomerados esféricos ("pellets") de açúcar baunilhado são capazes de manter um considerável nível de gosto agradável nos camundongos expostos a stresse crónico e tratados com acetil-L-carnitina.

Essa hipótese também assumiu que IMI não exerceria esse efeito.

Por outras palavras, se camundongos expostos inicialmente a stresse e tratados seguidamente com acetil-L-carnitina consumirem pequenos aglomerados esféricos ("pellets") de açúcar baunilhado e exibirem um aumento no efluxo de dopamina nos Nacs, ao mesmo tempo que tal não acontece com camundongos inicialmente expostos ao stresse e tratados seguidamente com IMI, então a acetil-L-carnitina pode definir-se como o primeiro composto capaz de antagonizar a anedonia induzida por stresse crónico.

Para investigar esse ponto, realizou-se uma experiência para determinar os efeitos que uma administração de 7 dias de IMI, FLX ou acetil-L-carnitina poderia exercer na transmissão dopaminérgica cerebral em camundongos expostos ao stresse.

As Figuras 5 e 6 mostram que após uma exposição de 7 dias ao stresse, os níveis basais de dopamina nos Nacs se apresentaram significativamente mais elevados nos camundongos

tratados com acetil-L-carnitina do que nos camundongos de controlo; além disso, os níveis basais de dopamina nos camundongos do grupo Stresse foram significativamente mais baixos do que nos controlos na mesma zona límbica.

Adicionalmente, o aumento de dopamina nos Nacs após a administração aguda de cocaína resultou significativamente mais elevado em camundongos tratados com acetil-L-carnitina e notavelmente menor nos animais pertencentes ao grupo Stresse do que nos camundongos de controlo. Nem o tratamento com IMI nem o tratamento com FLX foram capazes de proteger os camundongos dos efeitos neuroquímicos resultantes de uma exposição repetida ao stresse.

Pelo contrário, os animais enquanto expostos ao stresse, apresentaram níveis de dopamina extraneuronal nos Nacs, superiores aos observados no grupo de controlo quer em condições básicas quer após a administração de cocaína.

De acordo com os resultados divulgados em Neuroscience, 89:637-641, 1999, e em Behav. Pharmacol., 8:619-628, 1997, o consumo de pequenos aglomerados esféricos ("pellets") de açúcar baunilhado pelos animais de controlo e pelo grupo da acetil-L-carnitina induziu um pequeno, embora significativo, aumento na libertação de dopamina nos Nacs, tendo a tolerância a esse efeito desenvolvido rapidamente.

No Quadro 4 apresentam-se os resultados obtidos.

QUADRO 4

Grupo	Dopamina (aumento max. em percentagem)	
	Refeição 1	Refeição 2
Controlo	37,3±1,1**	8,5±4,3
Stresse	5,4±3,3	4,6±3,9
Acetil-L-carnitina	35,7±1,8**	6,8±5,1
IMI + Stresse	3,3±2,3	4,1±3,5
FLX + Stresse	4,6±4,2	3,6±4,0
Acetil-L-carnitina+Stresse	286,4±16,4***	276,7±18,6***

Animais expostos ao pré-ensaio, ao ensaio de escape e seguidamente a stresse crónico durante 7 dias durante a administração de ALCAR, IMI ou FLX;

Os valores representam a média ± o erro médio de 10 determinações;

** = $p < 0,01$ comparado com os seus próprios valores basais e com os valores da Refeição 2;

*** = $p < 0,001$ comparado com os seus próprios valores basais e com os valores da Refeição 1 do grupo de controlo e do grupo de acetil-L-carnitina + Stresse.

Os animais pertencentes ao grupo de Stresse ingeriram as duas refeições de açúcar baunilhado sem apresentar modificações significativas no efluxo de dopamina extraneuronal nos Nacs.

Ambos os camundongos do grupo IMI + stresse e do grupo FLX + Stresse ingeriram pequenos aglomerados esféricos ("pellets") de açúcar baunilhado com resultados similares aos do grupo de Stresse.

Os animais expostos a stresse e tratados seguidamente com acetil-L-carnitina consumiram avidamente as duas

refeições de açúcar baunilhado e evidenciaram um notável aumento no efluxo ("output") de dopamina (aproximadamente 300%) após as duas refeições consecutivas de açúcar baunilhado.

A análise dos resultados obtidos que compara os efeitos das medicações antidepressoras e da acetil-L-carnitina em termos de aquisição VAB em situações de exposição ao stresse conduz às seguintes conclusões:

a) Os antidepressores tradicionais e a acetil-L-carnitina impedem ambos, de um modo eficiente, as sequelas no comportamento resultantes de exposição ao stresse crónico e os efeitos referentes à aquisição de um VAB, desde que se tratem também os camundongos antes de se exporem ao pré-ensaio;

b) a administração diária de IMI depois da sequência do pré-ensaio e do ensaio de escape, e durante a fase de treino em camundongos expostos a procedimento de stresse crónico inverteu eficientemente a situação de défice de escapes. Todavia, não protegeu os animais quer dos efeitos negativos do stresse sobre a aquisição de um VAB quer da redução do efluxo de dopamina nos Nacs;

c) a administração diária da acetil-L-carnitina após a sequência do pré-ensaio e do ensaio de escape, e durante a fase de treino nos camundongos expostos ao procedimento de stresse crónico protegeu eficientemente os animais dos efeitos negativos do stresse sobre a aquisição de um VAB. Além disso, os níveis de transmissão dopaminérgica nos Nacs dos camundongos que tinham memorizado o comportamento apetitivo motivado reforçado pelos pequenos aglomerados

esféricos ("pellets") de açúcar baunilhado embora estando expostos ao procedimento de stresse e ao tratamento com acetil-L-carnitina sobrepuseram-se aos observados nos animais de controlo e foram significativamente mais elevados do que os observados em camundongos expostos a stresse crónico.

O efeito protector da acetil-L-carnitina sobre a aquisição de um VAB durante a exposição ao stresse crónico justifica-se pela capacidade de impedir a redução da transmissão dopaminérgica induzida pelo stresse nos Nacs.

Esse efeito foi induzido apenas pela acetil-L-carnitina. De facto, nem o tratamento com a IMI nem o tratamento com a FLX durante uma semana exibiu qualquer protecção sobre o comportamento e as sequelas neuroquímicas (Behav. Pharmacol., 6:562-567, 1995) (J. Neurochem, 72:2039-2046, 1999) da exposição ao stresse.

Pelo contrário, o efeito da acetil-L-carnitina afigurou-se reforçado pela exposição ao stresse, tendo em vista que a resposta dopaminérgica nos Nacs ao consumo de açúcar baunilhado tornou-se notavelmente mais elevada no grupo acetil-L-carnitina + Stresse do que nos grupos de controlo e da acetil-L-carnitina.

Consequentemente, a acetil-L-carnitina é o único composto conhecido capaz de antagonizar o decréscimo da transmissão dopaminérgica nos Nacs resultante de uma exposição repetida ao stresse.

O mecanismo desse efeito parece estar ligado à sua capacidade de aumentar o efluxo da dopamina na mesma área nos camundongos de controlo.

Quando tratados com acetil-L-carnitina, os camundongos expostos a stresse crónico mantiveram a sua capacidade para perceber um alimento agradável como um reforço suficiente para sustentar um comportamento apetitivo motivado.

De acordo com os resultados, conclui-se que a acetil-L-carnitina é o único composto conhecido capaz de antagonizar os efeitos negativos da exposição ao stresse crónico sobre a aquisição de um comportamento apetitivo motivado.

Lisboa, 3 de Janeiro de 2007

REIVINDICAÇÕES

1. Utilização da acetil-L-carnitina ou de um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, para a preparação de um medicamento para o tratamento da anedonia.

2. Utilização de acordo com a reivindicação 1., em que se escolhe o sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico da acetil-L-carnitina no grupo constituído por: cloreto, brometo, orotato, aspartato ácido, citrato ácido, magnésio citrato, fosfato ácido, fumarato e fumarato ácido, magnésio fumarato, lactato, maleato e maleato ácido, mucato, oxalato ácido, pamoato, sulfato ácido, glucose fosfato, tartarato, ácido tartárico, magnésio tartarato, 2-amino-etanossulfonato, 2-amino-etanossulfonato magnésio, colina tartarato e tricloroacetato.

Lisboa, 3 de Janeiro de 2007

FIGURA 1

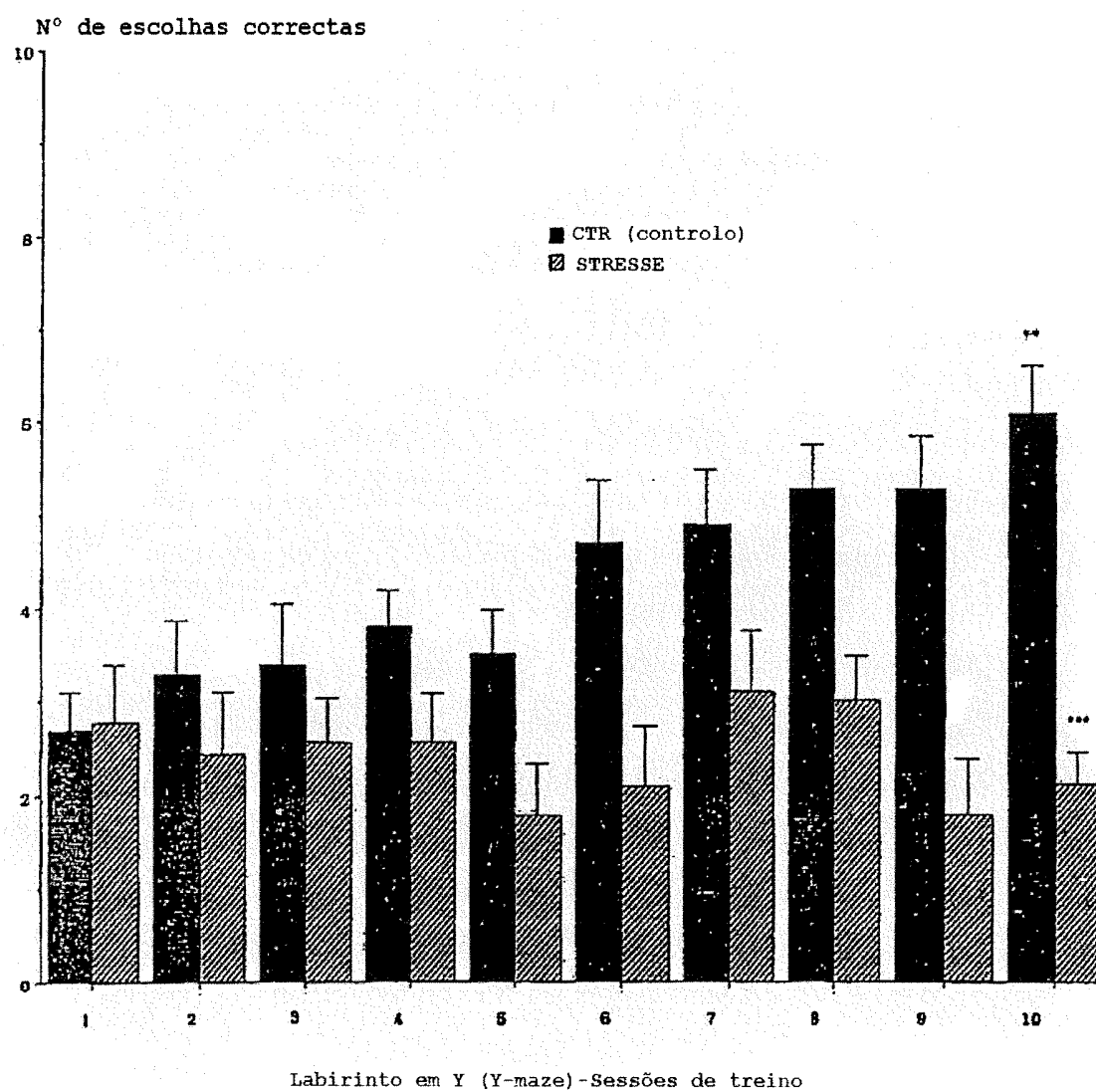


FIGURA 2

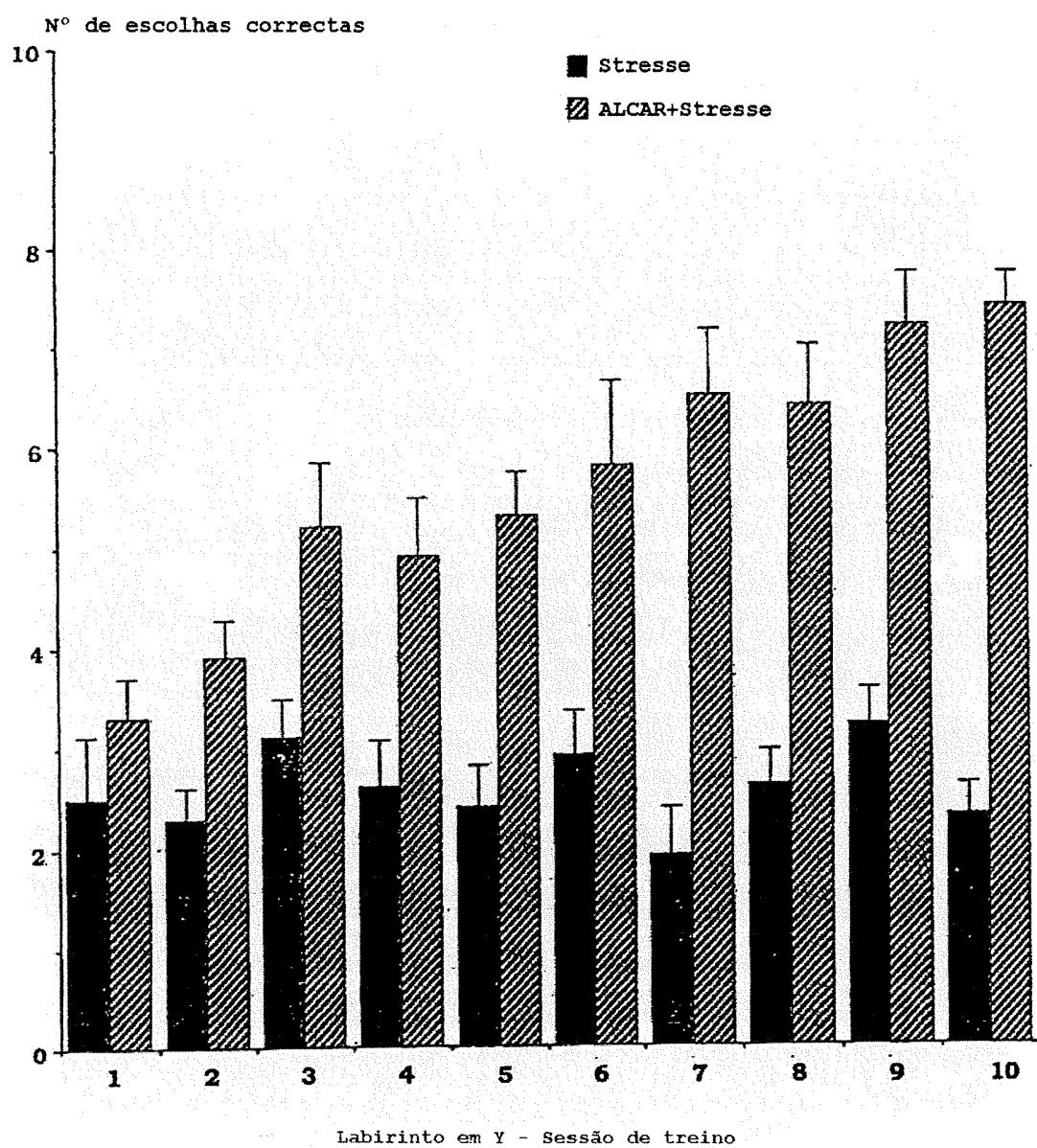
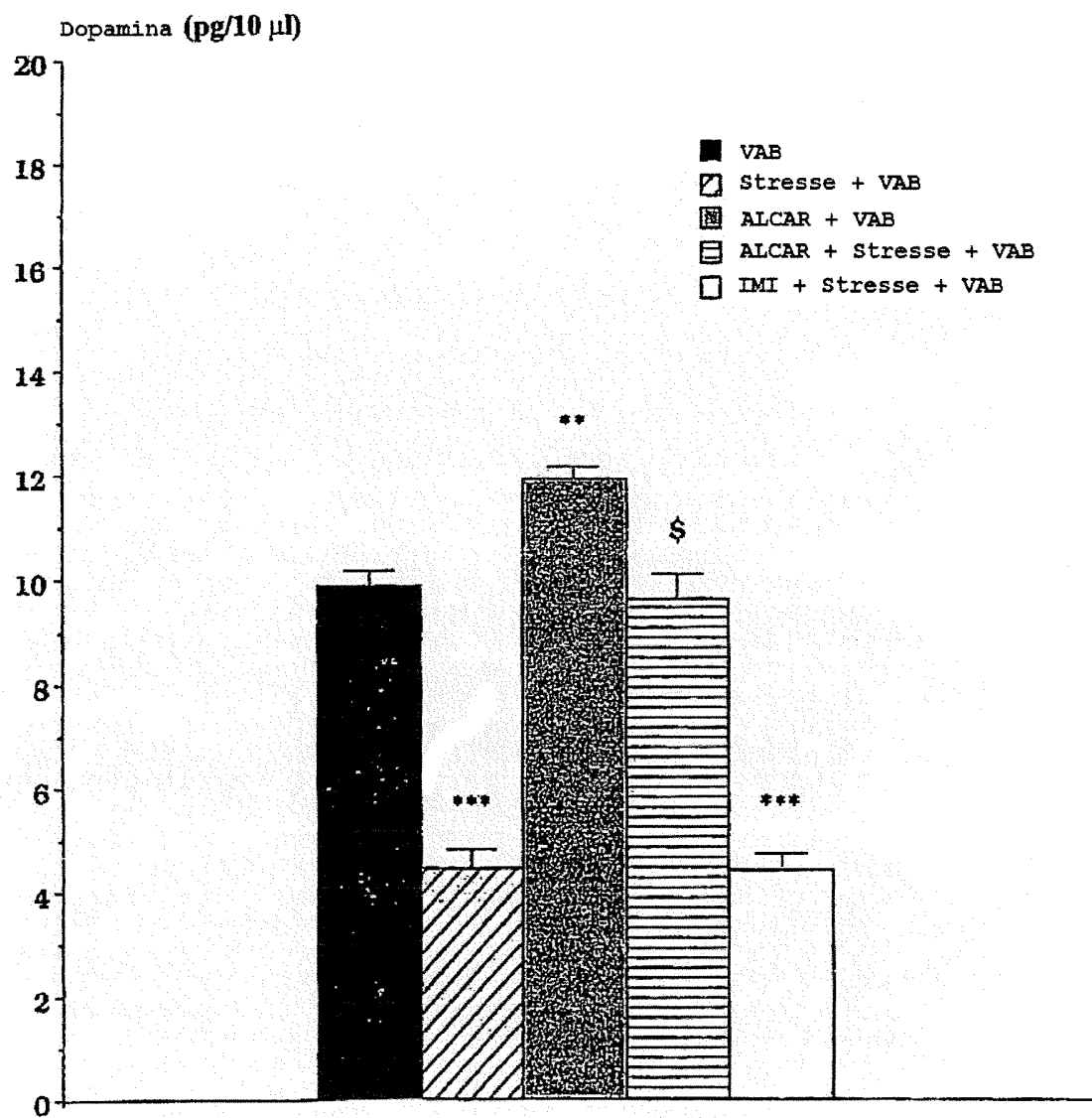


FIGURA 3



*** $p < 0.001$ versus VAB

** $p < 0.01$ versus VAB

\$ $p < 0.001$ versus VAB

FIGURA 4

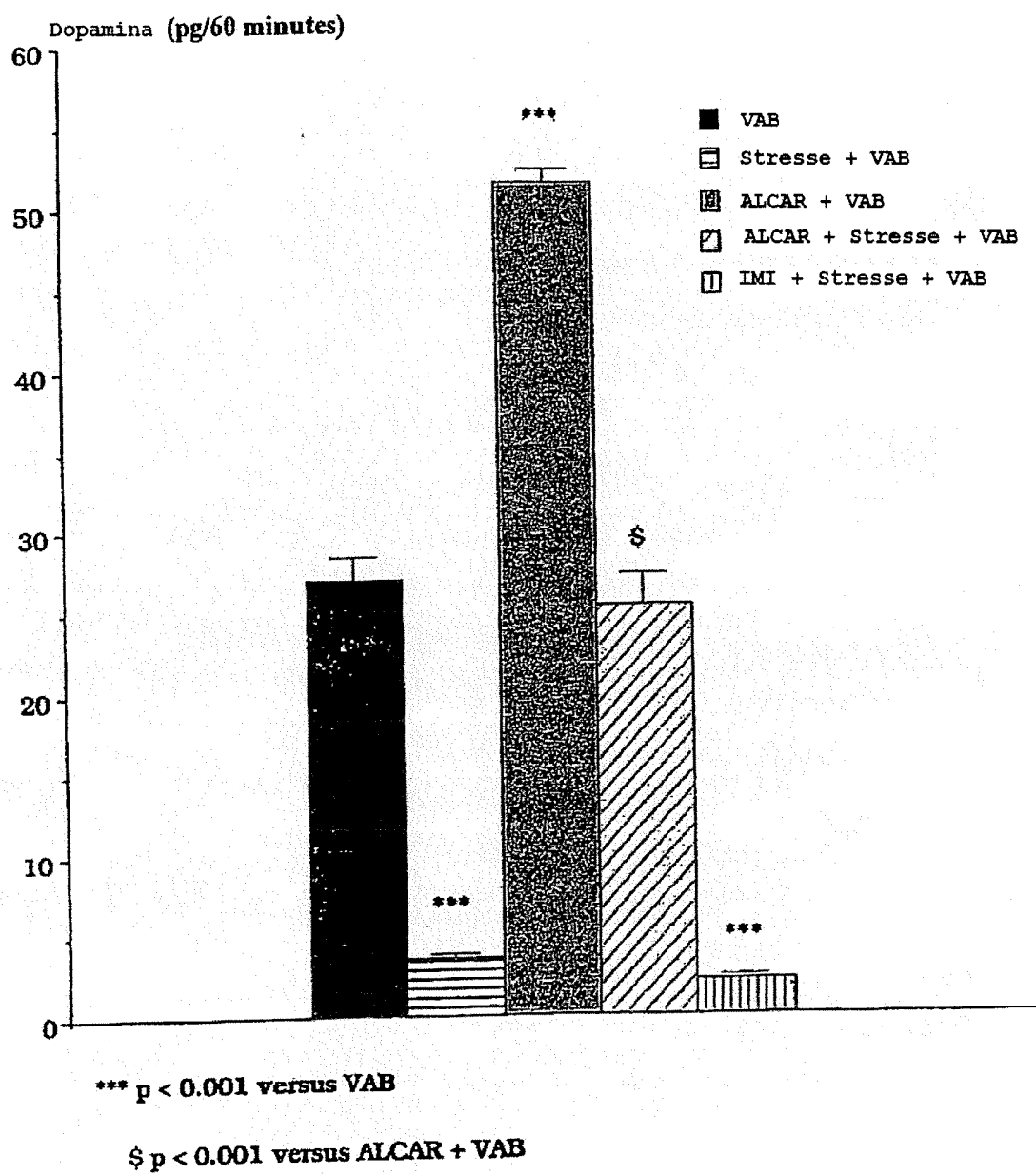
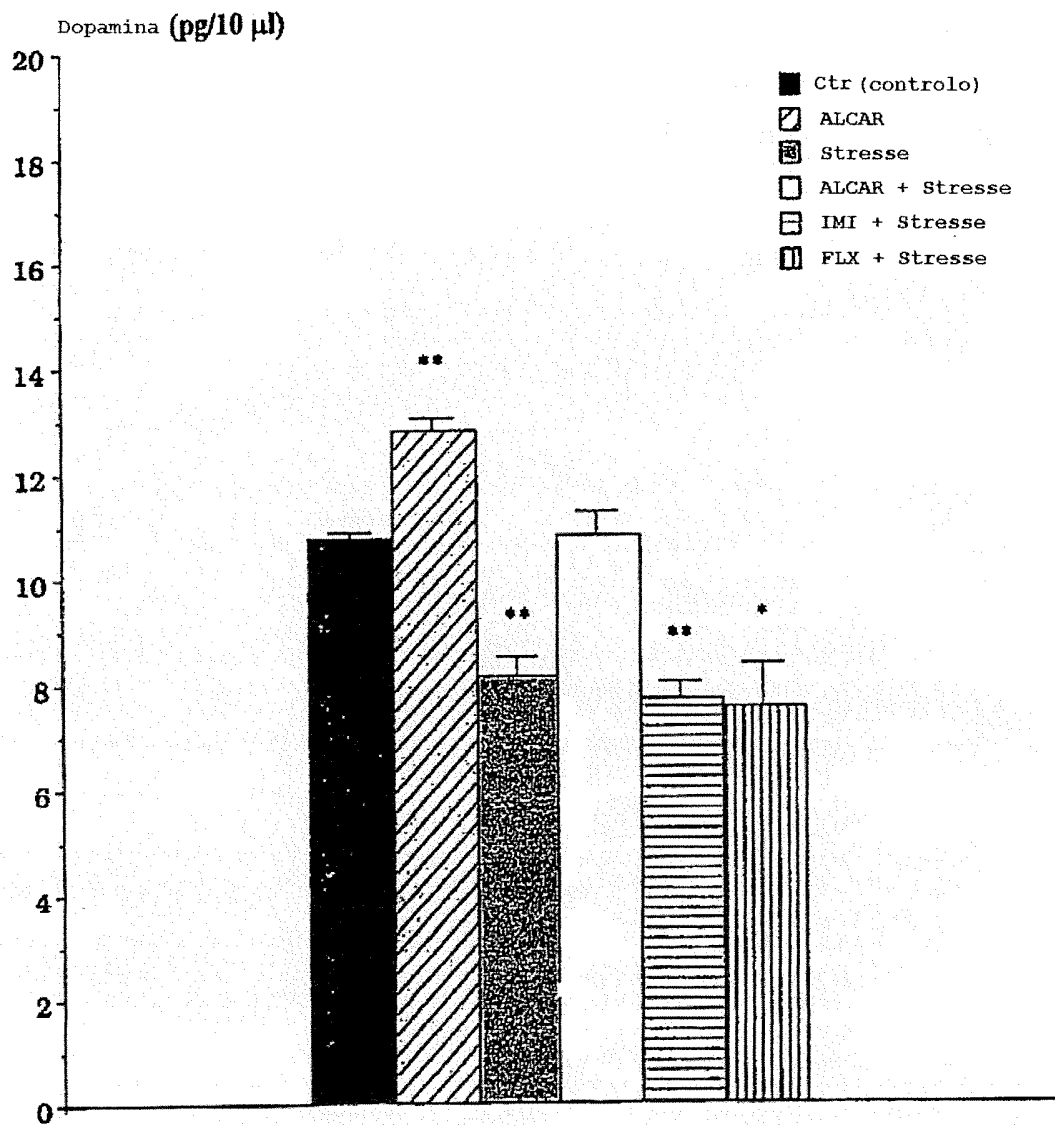


FIGURA 5



** $p < 0.01$ versus Ctr (control)

* $p < 0.05$ versus Ctr (control)

FIGURA 6

