

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

CAIO CÉSAR SESTILE

Efeito da sertralina e de sua associação com insulina em ratos portadores de diabetes mellitus tipo 2 induzidos por estreptozotocina submetidos ao teste do nado forçado

Maringá
2015

CAIO CÉSAR SESTILE

Efeito da sertralina e de sua associação com insulina em ratos portadores de diabetes mellitus tipo 2 induzidos por estreptozotocina submetidos ao teste do nado forçado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Saúde Humana.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elisabeth Aparecida Audi

Maringá

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S494e Sestile, Caio César
Efeito da sertralina e de sua associação com insulina em ratos portadores de diabetes mellitus tipo 2 induzidos por estreptozotocina submetidos ao teste do nado forçado/ . -- Maringá, 2015.
45 f. il., figs. , tabs.

Orientadora: Prof.a. Dr.a. Elisabeth Aparecida Audi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2015.

1. Sertralina. 2. Insulina. 3. Diabetes mellitus. 4. Trastornos de depressão. 5. Serotonina. 6. Teste do nado forçado. I. Audi, Elisabeth Aparecida, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 22. ED.615.58

JLM-001634

FOLHA DE APROVAÇÃO

CAIO CÉSAR SESTILE

Efeito da sertralina e de sua associação com insulina em ratos portadores de diabetes mellitus tipo 2 induzidos por estreptozotocina submetidos ao teste do nado forçado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Profa. Dra. Elisabeth Aparecida Audi
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Profa. Dra. Janaina Menezes Zanoveli
Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr. Nilton de Almeida Brito
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Roberto Barbosa Bazotte
Universidade Estadual de Maringá

Aprovado em: 04 de fevereiro de 2015.

Local defesa: Sala 215, Bloco k68, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família pelo apoio incondicional e a todos que contribuíram para sua realização.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida, pela sabedoria e por me conduzir nesta jornada.

Aos meus pais, Cidival Sestile e Luzia Sestile, pelo apoio, carinho, educação e incentivo durante toda minha vida.

Aos meus irmãos, que mesmo distantes, me apoiaram em minhas decisões.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Elisabeth Aparecida Audi, pela sua competência, orientação, dedicação e profissionalismo, e que diante de tantos obstáculos e contratemplos, soube me motivar e incentivar, o que foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho, a quem tenho grande admiração e respeito.

Aos funcionários do laboratório de inflamação do Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Jailson Araujo Dantas e Célia Regina Miranda, pela disponibilidade, apoio, colaboração e amizade.

A coordenação e os professores do programa de Pós-graduação em Ciência da Saúde.

Aos colegas de turma do programa de mestrado em Ciências da Saúde.

Aos colegas de laboratório, Jhonatan Christian Maraschin, Marcel Pereira Rangel e Mariana Kitayama, pela colaboração prestada ao desenvolvimento deste trabalho e aos momentos de descontração, amizade e apoio.

Aos meus amigos, pelo apoio e por estarem sempre perto em meus momentos de dificuldade e também em meus momentos de alegrias.

A todos, que direta ou indiretamente, incentivaram e ajudaram em meu trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Efeito da sertralina e de sua associação com insulina em ratos portadores de diabetes mellitus tipo 2 induzidos por estreptozotocina submetidos ao teste do nado forçado

RESUMO

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e o transtorno da depressão (TD) são doenças crônicas de alta prevalência no mundo. Estima-se que 11% a 30% dos pacientes com DM2 apresentam o TD. A condição crônica do DM2 pode repercutir no estado de humor dos indivíduos tornando-os susceptíveis ao desenvolvimento do TD. Alguns estudos propõem que o sistema insulina-serotonina do sistema nervoso central (SNC) possa ser responsável pelo desenvolvimento de doenças psiquiátricas associado a doenças metabólicas. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade tipo antidepressivo do tratamento crônico com sertralina comparado ao tratamento com insulina e a associação sertralina-insulina, em ratos Wistar com DM2, tratados com estreptozotocina (STZ), submetidos ao teste do nado forçado (TNF). Para isso, ratos neonatos foram tratados com STZ (160 mg/kg, i.p.). Após sete semanas foi iniciado o tratamento com sertralina (10 mg/kg, i.p.) e/ou insulina (1UI ou 2UI/kg, i.p.) por 21 dias e os animais foram submetidos ao TNF. Os ratos tratados com STZ apresentaram DM2 com intolerância a glicose após o período experimental comprovando a eficiência da indução por STZ. Os animais com DM2 tratados com sertralina apresentaram menor ganho de peso quando comparado aos demais grupos e tratamentos avaliados. O tratamento crônico com sertralina mostrou significativa redução no tempo de imobilidade indicando atividade tipo antidepressivo em ratos não diabéticos e em ratos com DM2. Da mesma forma, o tratamento com insulina ou sua combinação com sertralina mostrou atividade tipo antidepressivo em animais diabéticos submetidos ao TNF. No entanto, não foi observada redução significativa do tempo de imobilidade no tratamento combinado comparado ao tratamento isolado. Esses resultados mostram que a sertralina apresentou atividade tipo antidepressivo no TNF, com significativo efeito no peso dos animais diabéticos. A insulina também apresentou atividade tipo antidepressivo. Os tratamentos combinados de insulina e sertralina não mostraram vantagens em relação aos tratamentos isolados.

Palavras-chave: Diabetes mellitus tipo 2, transtorno da depressão, insulina, sertralina, serotonina, teste do nado forçado.

Effect of sertraline and its association with insulin in rats with type 2 diabetes mellitus induced by streptozotocin submitted to forced swimming test

ABSTRACT

The type 2 diabetes mellitus (DM2) and depression disorder (DD) are chronic diseases of high prevalence in the world. It is estimated that 11% to 30% of patients with DM2 have DD. The chronic condition of DM2 may be influencing the mood of individuals making them susceptible to the development of DD. Some studies suggest that insulin-serotonin system of the central nervous system (CNS) may be responsible for the development of psychiatric diseases associated with metabolic diseases. The aim of this study was to evaluate the antidepressant-like activity of chronic treatment with sertraline compared to treatment with insulin and the insulin-sertraline combination in Wistar rats with DM2 treated with streptozotocin (STZ), submitted to forced swimming test (FST). To this end, neonatal mice were treated with STZ (160 mg/kg, i.p.). After seven weeks was started treatment with sertraline (10 mg/kg, i.p.) and/or insulin (1UI or 2UI/kg, i.p.) for 21 days and the animals were submitted to the FST. The rats treated with STZ showed DM2 with glucose intolerance, after the experimental period proving the efficiency of induction by STZ. Animals with DM2 treated with sertraline showed less weight gain when compared to other groups and treatments. Chronic treatment with sertraline showed significantly reduced immobility time indicating antidepressant-like activity in non-diabetes rats and rats with DM2. Similarly, treatment with insulin or its combination with sertraline showed antidepressant-like activity in diabetic animals submitted to FST. However, it was not observed a significant reduction in immobility time in combined treatment compared to treatment alone. These results show that sertraline showed antidepressant-like activity in FST with significant weight loss in animals with DM2. Insulin also showed antidepressant-like activity. The combined treatment with insulin and sertraline showed no advantage over the treatments alone.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, depression disorder, insulin, sertraline, serotonin, forced swimming test.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Concentração de glicose no plasma antes e depois da sobrecarga de glicose.....	39
Tabela 1. Características gerais dos animais.....	40
Figura 2. Atividade tipo antidepressiva do tratamento por 21 dias com sertralina em ratos normais e diabéticos submetidos ao teste do nado forçado	41
Figura 3. Atividade tipo antidepressiva do tratamento por 21 dias com sertralina e insulina em ratos diabéticos, submetidos ao teste do nado forçado	42
Figura 4. Atividade locomotora avaliada pelo teste do campo aberto.....	43

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da ABNT (Capítulos I e III) e o artigo (Capítulo II) formatado conforme as normas da revista *Psychology and Behavior* disponíveis em:

<https://www.elsevier.com/journals/psychology-and-behavior/0031-9384/guide-for-authors>.

Sumário

CAPÍTULO I.....	12
1.1 DIABETES MELLITUS.....	12
1.2 EPIDEMIOLOGIA DO DIABETES MELLITUS.....	12
1.3 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	13
1.4 TRANSTORNO DA DEPRESSÃO: EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO.....	14
1.5 DIABETES MELLITUS TIPO 2 E TRANSTORNO DA DEPRESSÃO.....	15
1.6 TESTE DO NADO FORÇADO	16
1.7 MODELO ANIMAL DE DM2.....	17
1.8 JUSTIFICATIVA.....	17
1.9 OBJETIVOS	18
1.9.1 GERAL	18
1.9.2 ESPECÍFICOS	18
1.10 REFERÊNCIAS	19
CAPÍTULO II.....	23
Artigo 1: “EFEITO DA SERTRALINA E DE SUA ASSOCIAÇÃO COM INSULINA EM RATOS PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA SUBMETIDOS AO TESTE DO NADO FORÇADO.”.....	23
CAPÍTULO III	44
3.1 CONCLUSÕES	44
3.2 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	45

CAPÍTULO I

1.1 DIABETES MELLITUS

O diabetes mellitus (DM) é uma desordem metabólica crônica caracterizada por hiperglicemia e, causada pela incapacidade das células β , localizadas nas ilhotas de *Langerhans* do pâncreas, em secretar insulina e/ou pela resistência à insulina (IDF, 2013).

Os pacientes com hiperglicemia apresentam sintomas como poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia e visão turva e em casos mais graves, cetoacidose ou síndrome hiperosmolar não cetótica. Em longo prazo, pode ocorrer o aparecimento de complicações tais como perda da visão, insuficiência renal, neuropatia periférica, disfunção sexual, sintomas cardiovasculares (NOLAN; DAMM; PRENTKI, 2011).

Entre os tipos de diabetes, os mais comuns são o diabetes mellitus tipo 1 (DM1) e tipo 2 (DM2). O DM1 é caracterizado pela ausência total de insulina, como consequência da destruição irreversível das células β pancreáticas, instalando o quadro de hiperglicemia crônica. Tem origem genética e/ou autoimune e seu aparecimento ocorre na infância ou adolescência (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014).

O DM2 ocorre quando o organismo não produz insulina suficiente ou não consegue utilizar a insulina que é produzida de forma correta, fenômeno conhecido como resistência à insulina. Surge em resposta ao excesso de peso, sedentarismo, alto consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas e geralmente sua ocorrência inicia a partir dos 30 anos de idade (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014).

1.2 EPIDEMIOLOGIA DO DIABETES MELLITUS

Atualmente, segundo dados da Federação Internacional de Diabetes, cerca de 382 milhões de pessoas no mundo são diabéticos e 316 milhões apresentam tolerância à glicose diminuída. O DM2 é predominante em cerca de 90% dos casos. Estima-se que em 2035 teremos cerca de 592 milhões diabéticos (IDF, 2013).

O número de mortes causadas em decorrência do DM é bastante preocupante e vem crescendo ao longo dos anos. Em 2010 foram registrados aproximadamente 3,9 milhões de mortes causadas por DM e em 2013 atingiu a marca de 5,1 milhões de pessoas, o que

representa, respectivamente, 6,8% e 8,4% do total de mortes no mundo (EGEDE; ELLIS, 2010; IDF, 2013).

1.3 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DO DIABETES MELLITUS TIPO 2

O diagnóstico do DM2, baseado nos critérios da Associação Americana de Diabetes (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014), pode ser feito através do teste da glicemia em jejum, teste de tolerância à glicose (TTG) e/ou o teste da hemoglobina glicada (HbA_{1c}). No teste da glicemia em jejum, os pacientes são classificados em glicemia de jejum normal (<100 mg/dl), glicemia de jejum alterada (100-125 mg/dl) e diabético (>126 mg/dl). No TTG, duas horas após uma carga de glicose é feito a avaliação da glicemia, e os pacientes são classificados em tolerância normal à glicose (<140 mg/dl), intolerante à glicose (140-199 mg/dl) e diabético (>200 mg/dl). No teste da HbA_{1c} a classificação é de normal e aumentado (≥6.5%), sendo este também utilizado para avaliar o controle glicêmico nos últimos três meses.

Conforme os padrões de cuidados médicos em diabetes, a estratégia inicial recomendada para o tratamento do DM2 é a monoterapia com metformina. A segunda estratégia é a adição de outro antidiabético oral ou insulina combinada com a metformina, podendo como terceira estratégia ser incluído mais um antidiabético oral. Por último, a estratégia mais complexa recomendada para pacientes onde não ocorre a normalização da glicemia, é baseada na utilização de múltiplas doses diárias de insulina (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014).

A insulina de origem exógena é utilizada como terapia padrão no tratamento do DM1, devido sua eficácia no controle da glicemia. Em pacientes com DM2, com o declínio da função das células β , a terapia complementar com insulina pode ser necessária para conseguir atingir níveis recomendados de HbA_{1c} (TURNER et al., 1999; WENG et al., 2008). A terapia complementar com insulina é comumente inserida em fase já avançada do tratamento do DM2, quando os antidiabéticos orais não são capazes de manter a glicemia em níveis normais. Entretanto, mesmo em estágios iniciais do DM2 o uso de insulina exerce efeitos positivos no controle glicêmico (MOGHISSI; KING, 2014).

A hiperglicemia por um longo período em pacientes com DM2 pode levar ao desenvolvimento da glicotoxicidade crônica que está relacionada ao aumento da taxa de apoptose e à deterioração das células β do pâncreas, e esses efeitos tóxicos podem ser

reduzidos pela insulino-terapia (ROBERTSON; OLSON; ZHANG, 1994; SORLI; HEILE, 2014). Sendo assim, os benefícios da insulina em pacientes com DM2 na fase inicial do tratamento, não se limitam apenas na regulação da HbA_{1c} e da glicemia, mas na preservação da estrutura e função das células β do pâncreas.

A individualização do tratamento de pacientes com DM2 é importante para o controle glicêmico, visto que cada indivíduo responde de forma diferente as diversas estratégias de tratamento.

Diferentes formas de insulina são disponibilizadas pela indústria farmacêutica com objetivo de facilitar o controle glicêmico e principalmente aumentar a adesão à terapia com insulina em pacientes com DM2. Entre elas são disponibilizadas a insulina inalada e as insulinas modificadas que reduzem o número de aplicações diárias (TIBALDI, 2014). Outra opção são as bombas de infusão de insulina e o pâncreas artificial que detectam a glicemia e possuem recursos para sua administração automática de insulina (SORLI, 2014).

1.4 TRANSTORNO DA DEPRESSÃO: EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO

O transtorno da depressão (TD) é uma doença psiquiátrica, crônica e recorrente, caracterizada por humor deprimido e perda de prazer ou interesse, juntamente com vários outros sintomas, tais como perda ou ganho de peso excessivo, insônia ou hiperinsônia, agitação ou retardo psicomotor, cansaço excessivo, sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva, dificuldade de concentração e pensamentos recorrentes de morte (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Estima-se que 340 milhões de pessoas com idade entre 25 e 34 anos no mundo apresentam seus sintomas em algum momento da vida (IDF, 2013). Em pacientes diabéticos sua prevalência varia de 11% a 30%, dependendo do método de avaliação utilizado (BIESSELS et al., 2002; EGEDE; ELLIS, 2010). Pessoas com baixa escolaridade, solteiras, com história de eventos negativos na vida e do sexo feminino, apresentam maior risco em desenvolver o TD (MUSSELMAN et al., 2003).

A base da terapia farmacológica do TD são os antidepressivos. Os primeiros fármacos que surgiram foram os inibidores da enzima mono amino-oxidase (IMAO) na década de 1950, seguidos dos antidepressivos tricíclicos (ADT). Em 1990 surgiram os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), e por último, os inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina (ISRSN) e os bloqueadores de receptores. Todas essas classes de

antidepressivos apresentam comprovada e comparável eficácia no tratamento do TD (WALKER, 2013).

Antidepressivos podem exercer efeitos diferentes sobre o metabolismo. Há relatos de fármacos da classe dos ADT, a duloxetina e os ISRSN elevam a glicemia, e os IMAO levam à hipoglicemia (FRÁGUAS; SOARES; BRONSTEIN, 2009; HARDY et al., 2007).

Os ISRS atualmente são os fármacos de primeira escolha para o tratamento do TD devido ao melhor perfil de efeitos adversos em relação a outras classes de antidepressivos, porém parecem atuar de diferentes maneiras em relação à homeostase da glicose (YE et al., 2011).

A fluoxetina, um representante clássico dos ISRS, é muito eficaz no tratamento do TD, porém não reduziu a taxa da HbA_{1c} (LUSTMAN et al., 2000). Além disso, a fluoxetina inibiu a secreção de insulina, ao ativar o processo de apoptose e deterioração das células beta-pancreáticas, acelerando o processo de deficiência de insulina (ISAAC et al., 2013). Entretanto, estudos com outro representante da classe dos ISRS, a sertralina, com eficácia comparável a fluoxetina no tratamento do TD, foi associada com redução da HbA_{1c} (LUSTMAN et al., 2006), maior adesão a dietas recomendadas para pacientes com DM2 (GOODNICK et al., 1997) e com aumento da insulinemia (GOMEZ et al., 2001).

1.5 DIABETES MELLITUS TIPO 2 E TRANSTORNO DA DEPRESSÃO

A vivência da condição médica crônica no DM2 e a necessidade de mudanças no estilo de vida após o diagnóstico do DM2, principalmente quanto aos hábitos alimentares, inclusão da atividade física, o uso contínuo de um ou mais fármacos e a cronicidade da doença podem se caracterizar como agentes estressantes e provocar alterações no humor desses indivíduos (SANTOS FILHO; RODRIGUES; SANTOS, 2008; SASS et al., 2012) levando ao descontrole glicêmico, temperamento explosivo, ansiedade e depressão (DO NASCIMENTO et al., 2010).

No TD, alterações metabólicas como o DM2 são resultados do aumento, liberação e ação de hormônios contrarreguladores, alteração do transporte de glicose, resistência à insulina e a ativação de processo imuno-inflamatório (EGEDE; ELLIS, 2010). Além disso, os sintomas depressivos prejudicam a adesão ao tratamento, aumentando o risco de complicações em pacientes com DM2 (MARKOWITZ et al., 2011).

O DM2 por sua vez, causa alterações neurofisiológicas, levando a uma desregulação de neurotransmissores e ao desenvolvimento de doenças psiquiátricas (BARBACCIA; CHUANG; COSTA, 1982; BOYD; CLARKE; RAIZADA, 1986; GUPTA; KURHE; RADHAKRISHNAN, 2014).

O mecanismo de interação entre DM2 e TD não está elucidado, mas alguns estudos propõem uma relação bidirecional entre a insulina e a serotonina, ou seja, a insulina modula hormônios e neurotransmissores, principalmente a serotonina (XU et al., 2010), e a serotonina regula o equilíbrio de glicose através de receptores 5-HT_{2c}, reduz o peso corporal e promove a melhora do DM2 (ZHOU et al., 2007).

A ativação do sistema serotoninérgico através da microinjeção de um agente liberador e inibidor da recaptação de serotonina, dexfenfluramina, no hipotálamo de ratos aumentou imediatamente os níveis de insulina central. A microinjeção de insulina nessa região aumentou os níveis de serotonina, mas de forma tardia. Esses resultados sugerem que a ativação da serotonina seja o evento primário na interação insulina e serotonina, ou seja, a serotonina age sobre a insulina e não o inverso (OROSCO; GEROZISSIS, 2001; OROSCO; ROUCH; GEROZISSIS, 2000).

Embora essa relação seja bastante complexa e multifacetada, diversos estudos tentam mostrar o envolvimento dos distúrbios endócrinos na etiologia dos transtornos psiquiátricos em pacientes diabéticos (FRÁGUAS; SOARES; BRONSTEIN, 2009; KUMAR et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2009; PENTEADO; OLIVEIRA, 2009), porém, mais estudos serão necessários para avaliar a interação entre insulina e serotonina, na relação entre o DM2 e o TD.

1.6 TESTE DO NADO FORÇADO

O teste do nado forçado (TNF), desenvolvido por Porsolt e colaboradores em 1978, é um modelo animal preditivo de atividade tipo antidepressivo de fármacos, através da observação do comportamento animal diante de uma situação de estresse incondicionado (PORSOLT et al., 1978).

No TNF, os animais são colocados em um cilindro contendo água com profundidade suficiente para que os animais não possam tocar no fundo com suas patas ou cauda. Os parâmetros avaliados envolvem comportamento ativo (nado e escalada) e comportamento passivo (imobilidade) frente a um estímulo aversivo incondicionado, definido como ausência

de comportamentos ativos, como nadar, escalar ou escalar, quando o animal mantém apenas o focinho fora da água, poupando energia.

Os ratos são colocados previamente em um pré-teste (15 min) três vezes mais demorado que o teste (5 min), e aprendem que independente da resposta que emitam o estímulo aversivo persiste, o que faz com que os animais adotem uma resposta de imobilidade. A redução do tempo de imobilidade é interpretada como efeito tipo antidepressivo. Complementarmente ao TNF, é realizada a avaliação da atividade locomotora para a verificação de um resultado falso positivo no TNF (SLATTERY; CRYAN, 2012).

1.7 MODELO ANIMAL DE DM2

Os modelos animais de DM2 tendem a incluir modelos de resistência insulina e/ou modelos de insuficiência das células β do pâncreas, na qual, faz parte da condição de humanos com obesidade e DM2 (KING, 2012; REES; ALCOLADO, 2005).

O DM2 pode ser reproduzido em animais pela destruição química ou remoção cirúrgica de uma parte da massa β celular, por dietas ricas em gorduras e açúcares e por modificações genéticas (ARULMOZHI; VEERANJANEYULU; BODHANKAR, 2004).

A estreptozotocina (STZ) é uma substância que exerce um efeito tóxico sobre o DNA nuclear, danifica a membrana celular e leva a destruição de células β pancreáticas responsáveis pela produção de insulina (KING, 2012) e a sua administração em ratos neonatos (2 dias de idade) induz o desenvolvimento do DM2 na fase adulta (PORTHA et al., 1974; SARTORETTO et al., 2005).

No modelo de indução por STZ em neonatos, um pico de hiperglicemia ocorre dois dias após a administração de STZ, a qual é seguida por regeneração de células β do pâncreas e normoglicemia após seis semanas. Os animais apresentam intolerância à glicose, podendo ser usado em estudos relacionados ao tratamento do TD associado a DM2 (ARULMOZHI; VEERANJANEYULU; BODHANKAR, 2004).

1.8 JUSTIFICATIVA

Acima de 20% dos pacientes com DM2 sofrem de depressão (BIESSELS et al., 2002), onde os sintomas depressivos parecem ser mais persistentes e recorrentes e apresenta maior incidência de efeitos adversos, dificuldade de adesão ao tratamento, aumento da taxa de

mortalidade, como também um alto custo para o sistema de saúde (EGEDE; ELLIS, 2010). Consequentemente, a depressão em pacientes com DM2 é associada com um risco aumentado de complicações do diabetes, entre eles as alterações metabólicas (DO NASCIMENTO et al., 2010).

O mecanismo de interação entre DM2 e o TD está relacionado com o desarranjo fisiológico da insulina e da serotonina visto nessas doenças. Um conhecimento mais detalhado da interação entre a serotonina e da insulina na função endócrina e cerebral e os mecanismos regulatórios envolvidos constituem um avanço na compreensão das doenças metabólicas e mentais (GEROZISSIS; KYRIAKI, 2003).

Considerando que não encontramos até o momento trabalhos que utilizaram ratos portadores DM2 para avaliar a atividade tipo antidepressiva da sertralina e sua associação com insulina em um modelo animal para atividade tipo antidepressivo, esse estudo é inédito, e apresenta relevância científica, pois avalia a relação de duas doenças crônicas de alta prevalência mundial. Os resultados poderão ser úteis para propor à prática clínica novas estratégias de tratamento do TD em pacientes com DM2.

1.9 OBJETIVOS

1.9.1 GERAL

Verificar a atividade tipo antidepressivo do tratamento crônico com sertralina e sua associação com insulina em ratos portadores de DM2 induzidos com STZ e submetidos ao TNF.

1.9.2 ESPECÍFICOS

Avaliar a atividade tipo antidepressivo da sertralina em ratos portadores de DM2 induzidos com STZ comparado a ratos não diabéticos, submetidos ao TNF.

Avaliar a atividade tipo antidepressivo da insulina em ratos portadores de DM2 induzidos com STZ, submetidos ao TNF.

Avaliar a atividade tipo antidepressivo da sertralina associada à insulina em ratos portadores de DM2 induzidos com STZ, submetidos ao TNF.

1.10 REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes--2014. **Diabetes care**, v. 37, n. 1, p. S14–80, 2014.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Source: DSM-5**. 5. ed. Washington (DC): American Psychiatric Association, 2013.

ARULMOZHI, D.; VEERANJANEYULU, A.; BODHANKAR, S. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 36, n. 4, p. 217, 2004.

BARBACCIA, M. L.; CHUANG, D. M.; COSTA, E. Is insulin a neuromodulator? **Advances in biochemical psychopharmacology**, v. 33, p. 511–8, 1982.

BIESSELS, G. J.; VAN DER HEIDE, L. P.; KAMAL, A.; BLEYS, R. L. A. .; GISPEN, W. H. Ageing and diabetes: implications for brain function. **European Journal of Pharmacology**, v. 441, n. 1-2, p. 1–14, 2002.

BOYD, F. T.; CLARKE, D. W.; RAIZADA, M. K. Insulin inhibits specific norepinephrine uptake in neuronal cultures from rat brain. **Brain Research**, v. 398, n. 1, p. 1–5, 1986.

DO NASCIMENTO, A. B.; CHAVES, E. C.; GROSSI, S. A. A.; LOTTENBERG, S. A. The relationship between polipharmacy, chronic complications and depression in individuals with type 2 diabetes mellitus. **Revista da Escola de Enfermagem da U S P**, v. 44, n. 1, p. 40–6, 2010.

EGEDE, L. E.; ELLIS, C. Diabetes and depression: global perspectives. **Diabetes research and clinical practice**, v. 87, n. 3, p. 302–12, 2010.

FRÁGUAS, R.; SOARES, S. M. DE S. R.; BRONSTEIN, M. D. Depressão e diabetes mellitus. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 36, n. 3, p. 93–99, 2009.

GEROZISSIS, K.; KYRIAKI, G. Brain insulin: regulation, mechanisms of action and functions. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 23, n. 1, p. 1–25, 2003.

GOMEZ, R.; HUBER, J.; TOMBINI, G.; BARROS, H. M. T. Acute effect of different antidepressants on glycemia in diabetic and non-diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 1, p. 57–64, 2001.

GOODNICK, P. J.; KUMAR, A.; HENRY, J. H.; BUKI, V. M.; GOLDBERG, R. B. Sertraline in coexisting major depression and diabetes mellitus. **Psychopharmacology bulletin**, v. 33, n. 2, p. 261–4, 1997.

GUPTA, D.; KURHE, Y.; RADHAKRISHNAN, M. Antidepressant effects of insulin in streptozotocin induced diabetic mice: Modulation of brain serotonin system. **Physiology & behavior**, v. 129, p. 73–8, 2014.

HARDY, T.; SACHSON, R.; SHEN, S.; ARMBRUSTER, M.; BOULTON, A. J. M. Does treatment with duloxetine for neuropathic pain impact glycemic control? **Diabetes care**, v. 30, n. 1, p. 21–6, 2007.

IDF. **International Diabetes Federation: Diabetes Atlas**. 6. ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2013. v. 6

ISAAC, R.; BOURA-HALFON, S.; GUREVITCH, D.; SHAINSKAYA, A.; LEVKOVITZ, Y.; ZICK, Y. Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) inhibit insulin secretion and action in pancreatic β cells. **The Journal of biological chemistry**, v. 288, n. 8, p. 5682–93, 2013.

KING, A. J. F. The use of animal models in diabetes research. **British journal of pharmacology**, v. 166, n. 3, p. 877–94, 2012.

KUMAR, A.; HAROON, E.; DARWIN, C.; PHAM, D.; AJILORE, O.; RODRIGUEZ, G.; MINTZ, J. Gray matter prefrontal changes in type 2 diabetes detected using MRI. **Journal of magnetic resonance imaging: JMRI**, v. 27, n. 1, p. 14–9, 2008.

LUSTMAN, P. J.; CLOUSE, R. E.; NIX, B. D.; FREEDLAND, K. E.; RUBIN, E. H.; MCGILL, J. B.; WILLIAMS, M. M.; GELENBERG, A. J.; CIECHANOWSKI, P. S.; HIRSCH, I. B. Sertraline for prevention of depression recurrence in diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Archives of general psychiatry**, v. 63, n. 5, p. 521–9, 2006.

LUSTMAN, P. J.; FREEDLAND, K. E.; GRIFFITH, L. S.; CLOUSE, R. E. Fluoxetine for depression in diabetes: a randomized double-blind placebo-controlled trial. **Diabetes care**, v. 23, n. 5, p. 618–23, 2000.

MARKOWITZ, S. M.; GONZALEZ, J. S.; WILKINSON, J. L.; SAFREN, S. A. A review of treating depression in diabetes: emerging findings. **Psychosomatics**, v. 52, n. 1, p. 1–18, 2011.

MOGHISSI, E.; KING, A. B. Individualizing Insulin Therapy in the Management of Type 2 Diabetes. **The American journal of medicine**, v. 127, n. 10, p. S3–S10, 2014.

MUSSELMAN, D. L.; BETAN, E.; LARSEN, H.; PHILLIPS, L. S. Relationship of depression to diabetes types 1 and 2: epidemiology, biology, and treatment. **Biological Psychiatry**, v. 54, n. 3, p. 317–329, 2003.

NASCIMENTO, A. B. DO; CHAVES, E. C.; GROSSI, S. A. A.; LOTTENBERG, S. A. Correlação entre Inventário de Depressão de Beck e cortisol urinário em diabéticos tipo 2. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 22, n. 4, p. 399–403, 2009.

NOLAN, C. J.; DAMM, P.; PRENTKI, M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. **Lancet**, v. 378, n. 9786, p. 169–81, 2011.

OROSCO, M.; GEROZISSIS, K. Macronutrient-induced cascade of events leading to parallel changes in hypothalamic serotonin and insulin. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 25, n. 2, p. 167–74, 2001.

OROSCO, M.; ROUCH, C.; GEROZISSIS, K. Activation of hypothalamic insulin by serotonin is the primary event of the insulin-serotonin interaction involved in the control of feeding. **Brain research**, v. 872, n. 1-2, p. 64–70, 2000.

PENTEADO, M. DE S.; OLIVEIRA, T. C. DE. Stress-diabetes mellitus type II association. **Revista Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 7, n. 1, p. 40–45, 2009.

PORSOLT, R. D.; ANTON, G.; BLAVET, N.; JALFRE, M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **European journal of pharmacology**, v. 47, n. 4, p. 379–91, 1978.

PORTHA, B.; LEVACHER, C.; PICON, L.; ROSSELIN, G. Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. **Diabetes**, v. 23, n. 11, p. 889–95, 1974.

REES, D. A.; ALCOLADO, J. C. Animal models of diabetes mellitus. **Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association**, v. 22, n. 4, p. 359–70, 2005.

ROBERTSON, R. P.; OLSON, L. K.; ZHANG, H. J. Differentiating glucose toxicity from glucose desensitization: a new message from the insulin gene. **Diabetes**, v. 43, n. 9, p. 1085–9, 1994.

SANTOS FILHO, C. V. DOS; RODRIGUES, W. H. C.; SANTOS, R. B. Papéis de autocuidado - subsídios para enfermagem diante das reações emocionais dos portadores de diabetes mellitus. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, v. 12, n. 1, p. 125–129, 2008.

SARTORETTO, J. L.; MELO, G. A. N.; CARVALHO, M. H. C.; NIGRO, D.; PASSAGLIA, R. T.; SCAVONE, C.; CUMAN, R. K. N.; FORTES, Z. B. Metformin treatment restores the altered microvascular reactivity in neonatal streptozotocin-induced diabetic rats increasing NOS activity, but not NOS expression. **Life sciences**, v. 77, n. 21, p. 2676–89, 2005.

SASS, A.; GRAVENA, A. A. F.; PILGER, C.; MATHIAS, T. A. DE F.; MARCON, S. S. Depressão em idosos inscritos no programa de controle de hipertensão arterial e diabetes mellitus. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 25, n. 1, p. 80–85, 2012.

SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nature protocols**, v. 7, n. 6, p. 1009–14, 2012.

SORLI, C. New developments in insulin therapy for type 2 diabetes. **The American journal of medicine**, v. 127, n. 10, p. S39–48, 2014.

SORLI, C.; HEILE, M. K. Identifying and meeting the challenges of insulin therapy in type 2 diabetes. **Journal of multidisciplinary healthcare**, v. 7, p. 267–82, 2014.

TIBALDI, J. M. Evolution of insulin: from human to analog. **The American journal of medicine**, v. 127, n. 10, p. S25–38, 2014.

TURNER, R. C.; CULL, C. A.; FRIGHI, V.; HOLMAN, R. R. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. **JAMA**, v. 281, n. 21, p. 2005–12, 1999.

WALKER, F. R. A critical review of the mechanism of action for the selective serotonin reuptake inhibitors: do these drugs possess anti-inflammatory properties and how relevant is this in the treatment of depression? **Neuropharmacology**, v. 67, p. 304–17, 2013.

WENG, J. et al. Effect of intensive insulin therapy on beta-cell function and glycaemic control in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a multicentre randomised parallel-group trial. **Lancet**, v. 371, n. 9626, p. 1753–60, 2008.

XU, Y.; BERGLUND, E. D.; SOHN, J.-W.; HOLLAND, W. L.; CHUANG, J.-C.; FUKUDA, M.; ROSSI, J.; WILLIAMS, K. W.; JONES, J. E.; ZIGMAN, J. M.; LOWELL, B. B.; SCHERER, P. E.; ELMQUIST, J. K. 5-HT₂CRs expressed by pro-opiomelanocortin neurons regulate insulin sensitivity in liver. **Nature neuroscience**, v. 13, n. 12, p. 1457–9, 2010.

YE, Z.; CHEN, L.; YANG, Z.; LI, Q.; HUANG, Y.; HE, M.; ZHANG, S.; ZHANG, Z.; WANG, X.; ZHAO, W.; HU, J.; LIU, C.; QU, S.; HU, R. Metabolic effects of fluoxetine in adults with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. **PloS one**, v. 6, n. 7, p. e21551, 2011.

ZHOU, L.; SUTTON, G. M.; ROCHFORD, J. J.; SEMPLE, R. K.; LAM, D. D.; OKSANEN, L. J.; THORNTON-JONES, Z. D.; CLIFTON, P. G.; YUEH, C.-Y.; EVANS, M. L.; MCCRIMMON, R. J.; ELMQUIST, J. K.; BUTLER, A. A.; HEISLER, L. K. Serotonin 2C receptor agonists improve type 2 diabetes via melanocortin-4 receptor signaling pathways. **Cell metabolism**, v. 6, n. 5, p. 398–405, 2007.

CAPÍTULO II

Artigo 1: “EFEITO DA SERTRALINA E DE SUA ASSOCIAÇÃO COM INSULINA EM RATOS PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA SUBMETIDOS AO TESTE DO NADO FORÇADO.”

**EFEITO DA SERTRALINA E DE SUA ASSOCIAÇÃO COM INSULINA EM RATOS
PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 INDUZIDOS POR
ESTREPTOZOTOCINA SUBMETIDOS AO TESTE DO NADO FORÇADO**

Caio C. Sestile¹, Elisabeth A. Audi².

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde; ² Departamento de Farmacologia e
Terapêutica da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR

Endereço para correspondência: Universidade Estadual de Maringá, Departamento de
Farmacologia e Terapêutica (DFT) – Av. Colombo 5790 CEP 87020-900, Maringá, Paraná,
Brasil.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade tipo antidepressivo do tratamento crônico com sertralina e sua associação com insulina, em ratos Wistar com diabetes mellitus tipo 2 (DM2), induzidos por estreptozotocina (STZ) e submetidos ao teste do nado forçado (TNF). Para isso, ratos neonatos foram induzidos por STZ (160 mg/kg, i.p.). Após sete semanas foi iniciado o tratamento com sertralina (10mg/kg, i.p.) e/ou insulina (1U ou 2UN/kg, i.p.) por 21 dias e os animais foram submetidos ao TNF. Os ratos induzidos por STZ apresentaram DM2 comprovando a eficiência da STZ. O tratamento crônico com sertralina mostrou atividade antidepressiva em ratos não diabéticos e em ratos com DM2. Da mesma forma, o tratamento com insulina ou sua combinação com sertralina mostrou atividade antidepressiva em animais diabéticos submetidos ao TNF. Os animais DM2 tratados com sertralina apresentaram menor ganho de peso quando comparado aos demais grupos e tratamentos avaliados. No entanto, não foi observada redução significativa do tempo de imobilidade no tratamento combinado comparado ao tratamento isolado. Em conclusão, os tratamentos combinados de sertralina com insulina não mostraram vantagens em relação aos tratamentos isolados.

Palavras-chave: Diabetes mellitus tipo 2, transtorno da depressão, insulina, sertralina, serotonina, teste do nado forçado.

**EFFECT OF SERTRALINE AND ITS ASSOCIATION WITH INSULIN IN RATS
WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS INDUCED BY STREPTOZOTOCIN
SUBMITTED TO FORCED SWIMMING TEST**

Caio C. Sestile¹, Elisabeth A. Audi².

¹ Postgraduate Program in Health Sciences; ² Department of Pharmacology and Therapeutics,
State University of Maringá, Maringá, PR

Corresponding author: Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmacologia e
Terapêutica (DFT) – Av. Colombo 5790 CEP 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antidepressant-like activity of chronic treatment with sertraline and its association with insulin in Wistar rats with type 2 diabetes mellitus (DM2) induced by streptozotocin (STZ), submitted to forced swimming test (FST). To this end, neonatal mice were induced by STZ (160 mg/kg, i.p.). After seven weeks, the treatment was initiated with sertraline (10 mg/kg, i.p.) and/or insulin (1UI or 2UI / kg, i.p.) for 21 days and the animals were submitted to the FST. The STZ-induced rats showed DM2 with glucose intolerance, after the experimental period proving the efficiency of diabetes induction by STZ. Animals with DM2 treated with sertraline showed less weight gain when compared to other groups and treatments. Chronic treatment with sertraline showed antidepressant activity in non-diabetes rats and rats with DM2. Similarly, treatment with insulin or its combination with sertraline showed antidepressant activity in diabetic animals submitted to FST. However, it was not observed a significant reduction in immobility time in combined treatment compared to treatments alone. The combined treatment sertraline with insulin showed no advantage over the treatments alone.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, depression disorder, insulin, sertraline, serotonin, forced swimming test.

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é uma desordem metabólica crônica caracterizada por hiperglicemia, em decorrência da incapacidade das células β do pâncreas em produzir e secretar insulina e/ou pela resistência à insulina [1]. Estima-se que aproximadamente 382 milhões de pessoas no mundo são diabéticos, 316 milhões apresentam tolerância à glicose diminuída e que 90% dos pacientes apresentam diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) [2]. Algumas comorbidades neuropsicológicas têm sido relatadas em pacientes diabéticos, como o transtorno da depressão (TD). O TD é a doença psiquiátrica mais prevalente no mundo e atinge cerca de 340 milhões de pessoas [2] e sua prevalência em pacientes diabéticos varia de 11% a 30% [3].

Evidências indicam a existência de uma relação entre a insulina e a serotonina (5-HT) no DM2 associado ao TD [4]. A insulina modula hormônios e neurotransmissores, entre eles a 5-HT [5], em contrapartida, a 5-HT regula o equilíbrio de glicose através de receptores 5-HT_{2c}, reduz o peso corporal e melhora o DM2 [6]. Estudos mostram que o aumento de 5-HT no hipotálamo de ratos, obtido através da administração de um agente liberador e inibidor da recaptação de 5-HT, produz um aumento imediato dos níveis de insulina nessa região do cérebro, enquanto que a microinjeção intra-hipotálamo de insulina aumenta tardiamente os níveis de 5-HT nessa região do cérebro. Esses resultados sugerem que a ativação da 5-HT seja o evento primário na interação insulina e 5-HT, ou seja, a 5-HT age sobre a insulina e não o inverso [7,8].

A sertralina é um antidepressivo inibidor seletivo da recaptação de 5-HT (ISRS) [9] amplamente utilizada no tratamento do TD com significativa diminuição no tempo de remissão comparado a outros ISRS. Estudos mostram que o tratamento com sertralina melhora as taxas de hemoglobina glicada (HbA_{1c}) [10], está associada a maior adesão às dietas recomendadas em pacientes com DM2 [11] e com aumento dos níveis de insulina no plasma [12].

A insulina é o hormônio peptídeo eficaz no controle e redução da glicemia amplamente utilizada no tratamento do diabetes [13] e um neuromodulador que desempenha diversas funções no cérebro. Além de exercer um papel sobre a regulação de 5-HT no sistema nervoso central (SNC), a insulina participa dos processos neurobiológicos relacionados à fome, a reprodução e cognição [14].

Os modelos animais de DM2 tendem a incluir modelos de resistência insulina e/ou modelos de insuficiência das células beta, na qual, faz parte da condição de humanos com obesidade e DM2 [15,16]. A administração de estreptozotocina (STZ) em ratos neonatos (2 dias de idade) é conhecido por ser um modelo animal para DM2 [17]. A STZ é uma substância que exerce um efeito tóxico sobre o DNA nuclear, danifica a membrana celular e leva a destruição de células β pancreáticas responsáveis pela produção de insulina [16]. Com isso, os neonatos apresentam um pico de hiperglicemia, a qual é seguida por regeneração de células β do pâncreas e normoglicemia após seis semanas, por conseguinte, os animais apresentam intolerância à glicose [18].

O teste do nado forçado (TNF) é um modelo animal utilizado para avaliar a atividade tipo antidepressivo de drogas. Os parâmetros avaliados envolvem comportamento ativo (nado e escalada) e comportamento passivo (imobilidade) frente a estímulo aversivo incondicionado. A redução do comportamento passivo, ou seja, menor tempo de imobilidade é interpretado como efeito tipo antidepressivo [19].

Considerando a necessidade de estudar tais distúrbios como uma única doença com mecanismos relacionados, nosso trabalho teve como objetivo avaliar a atividade tipo antidepressivo do tratamento crônico com sertralina e sua associação com insulina humana em ratos portadores de DM2 induzidos por STZ e submetidos ao TNF.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais: Foram utilizados ratos Wistar neonatos. Os animais foram obtidos do biotério central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e alojados sob condições padrões de biotério (temperatura ambiente de $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$, 12h ciclo claro/escuro, 60% de umidade e ração *ad libitum*) no biotério setorial do Departamento de Farmacologia e Terapêutica. Os protocolos experimentais adotados foram submetidos a análise e aprovação pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEUA) da UEM (Protocolo 037/2014, Parecer 080/2014-CEUA/UEM) e seguiram as normas recomendadas pelas guias internacionais para pesquisa biomédica em animais experimentais (CIMS), Genebra, 1985.

Drogas: Estreptozotocina (Sigma Aldrich, Brasil), insulina humana (Humulin® N, Lilly), sertralina (Alekhya Drugs, India), tiopental sódico (Thiopentax®, Cristália), tampão de citrato de sódio (10mM, pH 4,5), tween 80 (polissorbato 80) e solução de glicose 50%.

Indução do DM2: O DM2 foi induzido em ratos Wistar machos neonatos (2 dias de idade, pesando de 8 a 10g) com injeção de STZ (160mg/kg, intraperitoneal (i.p.)) dissolvidos em tampão de citrato de sódio. Nos ratos controles foi injetado o mesmo volume de tampão de citrato de sódio. Após sete semanas da injeção de STZ, os animais foram submetidos ao teste de tolerância a glicose (TTG) para confirmar a indução do diabetes e ao final do tratamento crônico (21 dias) foi repetido o TTG para assegurar que os mesmos mantiveram-se diabéticos [20].

Teste de tolerância à glicose (TTG): O TTG foi realizado nos ratos diabéticos e controles. Os animais foram submetidos a um jejum e foram coletadas amostras de sangue a partir da ponta da calda, antes e 30 min após sobrecarga de glicose (0,5g glicose/kg peso corporal, por gavagem). A dose, a via de administração e o tempo de jejum foram baseados na literatura [20]. A dosagem da glicose foi realizada utilizando método enzimático-colorimétrico (Gold Analisa®, Brasil).

Caracterização dos animais: Os animais foram colocados, individualmente, em gaiolas metabólicas por 24 horas com água e ração determinada, no dia que antecedeu o início do teste comportamental. Foram avaliados o consumo de água e de alimento, o volume de urina e o peso corporal dos animais.

Experimento 1. Tratamento com sertralina: Os animais receberam uma dose diária, por 21 dias, de sertralina (10mg/kg, i.p.) dissolvida em veículo (água destilada a 3% Tween 80), os animais controles receberam o mesmo volume de veículo. Os animais foram alojados em dois grupos, o primeiro com animais normais controle (NC) e normais sertralina (NS) e o segundo com animais diabéticos controle (DC) e diabéticos sertralina (DS).

Experimento 2. Tratamento com sertralina e insulina humana em animais diabéticos: Os animais receberam uma dose diária, por 21 dias, de sertralina (10mg/kg, i.p., dissolvida em veículo) e insulina humana (1U e 2U/kg, i.p.). Os animais foram divididos em: diabético controle (DC), diabético sertralina (DS), diabético insulina 1U (D-Ins1U), diabético insulina 2U (D-Ins2U), diabético sertralina-insulina 1U (DS-Ins1U) e diabético sertralina-insulina 2U (DS-Ins2U). As doses e a via de administração do tratamento com insulina foram baseadas na literatura [21].

Teste do nado forçado (TNF): O TNF é um modelo utilizado para avaliar a atividade tipo antidepressivo de compostos sintéticos e naturais. O procedimento foi realizado em duas etapas, o pré-teste e teste. No pré-teste os animais foram colocados individualmente em um cilindro de acrílico transparente com 30 cm de diâmetro e 60 cm de altura, contendo água numa profundidade de 24 cm, mantida a uma temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$, durante 15 minutos.

Após 24 horas do pré-teste, o teste foi realizado nas mesmas condições. Os animais foram submetidos ao TNF por 5 min. O tempo de imobilidade foi mensurado pelo tempo (s) que o rato apresentou postura de imobilidade dentro da água, caracterizado pela inclinação vertical, imóvel ou somente com movimentos necessários para manter a cabeça acima do nível da água [19,22].

Teste do campo aberto (TCA): O TCA foi utilizado para mensurar a atividade locomotora dos animais, após o TNF. O aparato consiste em uma caixa de madeira com 70 cm de diâmetro com paredes de 40 cm de altura, dividida em 12 espaços, com iluminação do ambiente de 40 lux. O animal foi colocado em um dos cantos da caixa e seu comportamento observado por 5 min e a atividade locomotora total foi medida em metros pelo software ANY-Maze. A avaliação da atividade locomotora no campo aberto após o TNF teve a função de diferenciar o efeito psicoestimulante do efeito antidepressivo dos compostos testados.

Laparotomia: Ao final do período experimental, os animais foram mantidos em repouso por 24 h. Após esse período, foram submetidos a um jejum alimentar por 12 h. Os animais foram anestesiados com tiopental sódico (30 a 40mg/kg) e submetidos à técnica de laparotomia para coleta de amostras de sangue através da punção da veia cava inferior. Foi realizada a avaliação da glicemia em jejum pelo método enzimático-colorimétrico.

Desenho experimental: A indução do DM2 foi realizada em ratos neonatos, até 48 horas após nascimento. Após sete semanas, foram realizados TTG para confirmar o procedimento de indução e iniciado o tratamento crônico (21 dias) com sertralina e/ou insulina humana. No 19º dia de tratamento, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas, durante 24 h para avaliar consumo de alimento e água, volume de urina e o peso corporal. No 20º dia foi realizado o pré-teste do TNF, após 24 h foram realizados o TNF e TCA. No 23º dia foi realizado o TTG para confirmar o DM. No 24º dia após jejum de 12 h foi realizada a avaliação da glicemia em jejum.

Análises estatísticas: As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Statistica 8. Os elementos ilustrativos (figuras e tabelas) foram feitos no Graph Prism 5.

Indução do DM2: O Teste *t* de Student de amostras independentes foi utilizado para comparar duas médias (antes e depois do TTG) no mesmo grupo. O teste de análise de variância (ANOVA) de uma via seguido do teste *post hoc* de Duncan, foi utilizado quando mais do que duas médias foram comparadas (antes e depois do TTG) de grupos diferentes. Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão da média (DPM) para o teste *t* Student e em média \pm erro padrão da média (EPM) para o teste de ANOVA.

Caracterização dos animais: O teste de análise de variância (ANOVA) de uma via seguido do teste *post hoc* de Duncan, foi utilizado para evidenciar diferenças estatísticas entre as médias da ingestão de alimento e água, volume de urina, peso corporal, ganho de peso corporal e glicemia, sendo estes os fatores dependentes na comparação entre os grupos do estudo. Os dados foram expressos em média \pm EPM.

TNF: Em ambos os experimentos, a análise estatística foi realizada utilizando análise de variância de duas vias (ANOVA) seguido do teste *post hoc* de Duncan. No experimento 1 o tratamento (sertralina ou veículo) e o tipo do animal (não diabético ou diabético) sendo os fatores independentes. No experimento 2, o tratamento 1 (sertralina ou veículo) e tratamento 2 (insulina ou veículo) em animais diabéticos sendo os fatores independentes, para ambas as análises o tempo de imobilidade foi o fator dependente. Os dados foram expressos em média \pm EPM.

TCA: Em ambos os experimentos, a análise estatística foi realizada utilizando análise de variância de duas vias (ANOVA) seguido do teste *post hoc* de Duncan. No experimento 1 o tratamento (sertralina ou veículo) e o tipo do animal (não diabético ou diabético) sendo os fatores independentes. No experimento 2, o tratamento 1 (sertralina ou veículo) e tratamento 2 (insulina ou veículo) em animais diabéticos sendo os fatores independentes, sendo que para ambas as análises, a distância total percorrida foi o fator dependente. Os dados foram expressos em média \pm EPM.

RESULTADOS

Indução do DM2. A Figura 1 mostra diferença significativa da concentração de glicose após o TTG, comparado aos níveis de glicose antes do TTG, nos grupos diabéticos induzidos por STZ (D) e diabéticos induzidos por STZ tratados com insulina humana (I) ($F_{(2,67)}=20,237$; $p<0,001$). A análise *post-hoc* de Duncan revelou diferença significativa nos níveis de glicose final dos grupos D e I comparado ao não diabético (ND). Os resultados confirmam o DM2 pela intolerância à glicose, após todo o período experimental.

Caracterização dos animais. A Tabela 1 mostra as características dos animais utilizados nos experimentos. Não foram observadas alterações de ingestão de alimentos e água, volume de urina, peso corporal e glicemia em jejum em nenhum dos grupos. Entretanto, observou-se que o grupo diabético tratado com sertralina (DS) teve uma diferença significativa ($F_{(7,62)}=3,218$; $p<0,01$) no ganho de peso comparado aos grupos não diabético veículo (NDV), diabéticos veículo (DV), diabéticos insulina 1U (D-Ins1U), diabéticos

insulina 2U (D-Ins2U), diabéticos sertralina-insulina 1U (DS-Ins1U) e diabéticos sertralina-insulina 2U (DS-Ins2U).

TNF em ratos tratados com sertralina. A Figura 2 mostra que a sertralina apresentou efeito antidepressivo no teste de ANOVA duas vias ($F_{(1,33)}=27,464$; $p<0,001$). Análise *post-hoc* de Duncan mostrou atividade antidepressiva no grupo não diabético sertralina (NDS) comparado com o não diabético veículo (NDV) ($p<0,05$) e no grupo diabético sertralina (DS) comparado com o diabético controle (DC) ($p<0,01$). Não foi observada diferença estatística entre os ratos normais e diabéticos.

TNF em ratos tratados com sertralina e/ou insulina humana. A Figura 3 mostra efeito antidepressivo em ratos diabéticos, tratados com sertralina (DS), insulina (D-Ins1U, D-Ins2U) e sertralina-insulina (DS-Ins1U, DS-Ins2U). O teste ANOVA de duas vias mostrou efeito significativo nos tratamentos ($F_{(2,47)}=5,572$; $p<0,001$). O teste *post-hoc* de Duncan ($p<0,05$) mostrou diferença significativa em todos os grupos comparados ao grupo diabético veículo (DV). Porém, não observamos diferenças significativas do tratamento combinado (sertralina e insulina) comparado ao tratamento isolado (insulina ou sertralina).

TCA. A Figura 4 mostra que não houve diferença significativa na atividade locomotora entre os ratos normais e diabéticos tratados no experimento 1 e nos ratos diabéticos tratados com sertralina e/ou insulina no experimento 2.

DISCUSSÃO

O presente trabalho avaliou a atividade tipo antidepressivo do tratamento com sertralina e sua associação com insulina em ratos portadores DM2 induzidos por STZ, submetidos ao TNF.

A indução por STZ em ratos neonatos é um modelo para DM2 [17,23], no qual após a administração desse composto, os ratos exibem uma deficiência aguda de insulina e hiperglicemia. Essa hiperglicemia é transitória e após 6 semanas de idade, os animais podem passar a apresentar uma glicemia não significativamente diferente dos ratos controles, no entanto, apresentam tolerância a glicose alterada, característica observada em humanos com DM2 [18].

Nossos resultados mostraram uma diferença não significativa na glicemia em jejum nos animais diabéticos comparado aos animais controle (Tabela 1). No TTG, houve uma diferença significativa na glicemia, antes e depois da sobrecarga de glicose nos grupos diabéticos e diabéticos tratados com insulina. Também foi observada uma diferença

significativa na glicemia depois da sobrecarga de glicose nos grupos diabéticos e diabéticos tratados com insulina comparados ao grupo não diabéticos (Figura 1). Estes dados além de comprovar a eficiência da indução por STZ demonstram a presença de DM2 caracterizados por acentuada intolerância à glicose.

Na avaliação das características dos animais foi observada uma diferença significativa no ganho de peso corporal em ratos diabéticos tratados com sertralina comparado aos demais grupos avaliados. A 5-HT desempenha um papel importante na regulação da ingestão dos alimentos e do peso corporal via hipotálamo, pelo aumento da saciedade e diminuição da ingestão de carboidratos [24–26]. Os ISRS, como a sertralina, atuam por aumentar a disponibilidade na fenda sináptica ao inibir seletivamente a recaptação e em longo prazo, regula a produção e liberação de 5-HT, o que justificaria seus efeitos benéficos no controle da fome e do peso corporal em humanos não diabéticos [27], em animais obesos [28] e em animais diabéticos observados em nosso estudo.

Outro papel importante da 5-HT está relacionado com regulação da glicemia e do metabolismo dos lipídios [29]. Um relato de caso evidenciou um efeito hipoglicemiante em paciente normoglicêmico tratado com sertralina e que após a descontinuação, voltou a apresentar taxas normais de glicose [30]. Também foi observada uma redução dos níveis de glicemia em animais diabéticos e não diabéticos tratados com sertralina [12]. Estudos sugerem que a 5-HT se liga a receptores 5-HT₃ localizados nas ilhotas do pâncreas, aumenta a excitabilidade das células β , aumentando a liberação de insulina [31,32].

A atividade antidepressiva de drogas em animais induzidos com STZ tem sido relatada em estudos utilizando o TNF, entretanto, esses trabalhos utilizaram o modelo para DM1 [21,33] e para o presente estudo utilizamos o modelo animal para DM2.

No experimento 1 observou-se atividade tipo antidepressivo do tratamento com sertralina em ratos não diabéticos e diabéticos (figura 2). O tratamento com sertralina em animais submetidos ao TNF eleva os níveis de 5-HT no córtex pré-frontal e hipocampo, que são regiões do cérebro envolvidas nos sintomas cognitivos e afetivos comuns no TD [34], o que justifica os resultados observados em nosso estudo.

O diabetes causa alterações anatômicas e funcionais em regiões cerebrais como córtex pré-frontal, hipotálamo e hipocampo, a curto e em longo prazo [35,36], reduz a síntese de 5-HT [37] e causa a diminuição da neurogênese e a perda neuronal [36]. Entretanto, essas mudanças não parecem ser permanentes podendo ser moduladas positivamente com o tratamento com antidepressivo.

Em nosso estudo não foi observado diferença significativa no tempo de imobilidade dos ratos diabéticos em relação aos não diabéticos como observados em outros estudos [21,38], entretanto, tais estudos utilizaram um modelo animal para DM1 caracterizado pela ausência total de insulina, diferentemente, utilizamos modelo animal para DM2 caracterizado pela ausência parcial de insulina e/ou intolerantes à glicose.

No experimento 2, comparamos a atividade tipo antidepressivo da insulina, sertralina e da associação de sertralina e insulina no TNF em ratos com DM2. Todos os tratamentos apresentaram atividade antidepressiva, porém, não observamos diferença significativa do efeito antidepressivo quando associamos a 5-HT com insulina em comparação tratamento isolado (figura 3).

A insulina humana é tradicionalmente utilizada no tratamento do DM1, entretanto, pacientes com DM2, ao longo do tempo, podem necessitar de terapia com insulina [39–41]. Além do seu efeito hipoglicemiante, a insulina também tem sido descrita como um neuromodulador envolvido na liberação de monoamina [42,43].

Animais diabéticos tratados com STZ apresentam um aumento de monoamina oxidase (MAO) e redução dos níveis de 5-HT. Essas alterações são revertidas após o tratamento com insulina, com redução da MAO e aumento de 5-HT associado à atividade tipo antidepressivo quando submetidos ao TNF [21]. Além disso, foi observado que animais tratados com STZ apresentam um aumento do estresse oxidativo resultante da hiperglicemia decorrente da depleção da insulina e que o tratamento com insulina exerce um efeito neuroprotetor ao impedir alterações dos parâmetros de estresse oxidativo avaliados no córtex pré-frontal e no hipocampo, regiões do SNC envolvidas com sintomas cognitivos e afetivos também relacionados com sintomas da depressão [38].

Outros estudos tem avaliado um possível mecanismo de inibição da atividade da enzima que participa da síntese de 5-HT, a triptofano-5-hidroxilase, induzida por diabetes. Observou-se que após a indução de diabetes por STZ, uma diminuição significativa no córtex pré-frontal, hipotálamo e no tronco cerebral dos níveis de L-triptofano e da enzima triptofano-5-hidrolase em animais diabéticos comparados a animais controles. Alterações na síntese de 5-HT acarretam na redução deste neurotransmissor e diminuição da atividade cerebral [37,44].

Esses achados poderiam justificar a atividade antidepressiva da insulina e que o diabetes mellitus acarreta em prejuízos comportamentais e na função da 5-HT. Por atuarem cooperativamente nos mecanismos fisiológicos, a interação 5-HT-insulina parece regular um sistema falho, e não intensificar a ação desses neuromoduladores, evidenciado quando não se

observou atividade antidepressiva na associação sertralina e insulina comparada ao tratamento isolado em nossos experimentos. No entanto, a combinação do tratamento com insulina e um agente serotoninérgico como a sertralina, reduziria prejuízos metabólicos e neuronais em pacientes com DM2 associado ao TD.

Em conclusão, o tratamento crônico com sertralina apresentou atividade tipo antidepressivo em ratos com DM2 com intolerância à glicose, submetidos ao TNF e com significativo controle do ganho de peso. O efeito tipo antidepressivo observado no tratamento com insulina, foi compatível com os dados da literatura, entretanto, na associação sertralina e insulina não mostrou vantagens em relação ao tratamento isolado na atividade tipo antidepressivo. A sertralina se apresentou como um agente potencialmente eficaz no tratamento do TD em ratos com DM2 com intolerância a glicose, contudo, mais estudos são necessários para propor o mecanismo de interação da 5-HT e insulina para o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento do TD em pacientes com DM2.

REFERÊNCIAS

- [1] Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet* 2011;378:169–81.
- [2] IDF. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*. vol. 6. 6th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2013.
- [3] Egede LE, Ellis C. Diabetes and depression: global perspectives. *Diabetes Res Clin Pract* 2010;87:302–12.
- [4] Gupta D, Kanade P, Radhakrishnan M, Prabhakar V. Diabetes-associated depression: The serotonergic system as a novel multifunctional target. *Indian J Pharmacol* 2015;47:4.
- [5] Xu Y, Berglund ED, Sohn J-W, Holland WL, Chuang J-C, Fukuda M, et al. 5-HT₂CRs expressed by pro-opiomelanocortin neurons regulate insulin sensitivity in liver. *Nat Neurosci* 2010;13:1457–9.
- [6] Zhou L, Sutton GM, Rochford JJ, Semple RK, Lam DD, Oksanen LJ, et al. Serotonin 2C receptor agonists improve type 2 diabetes via melanocortin-4 receptor signaling pathways. *Cell Metab* 2007;6:398–405.
- [7] Orosco M, Rouch C, Gerozissis K. Activation of hypothalamic insulin by serotonin is the primary event of the insulin-serotonin interaction involved in the control of feeding. *Brain Res* 2000;872:64–70.
- [8] Orosco M, Gerozissis K. Macronutrient-induced cascade of events leading to parallel changes in hypothalamic serotonin and insulin. *Neurosci Biobehav Rev* 2001;25:167–74.
- [9] Graeff FG, Zangrossi H. The dual role of serotonin in defense and the mode of action of antidepressants on generalized anxiety and panic disorders. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem* 2010;10:207–17.
- [10] Lustman PJ, Clouse RE, Nix BD, Freedland KE, Rubin EH, McGill JB, et al. Sertraline for prevention of depression recurrence in diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry* 2006;63:521–9.
- [11] Goodnick PJ, Kumar A, Henry JH, Buki VM, Goldberg RB. Sertraline in coexisting major depression and diabetes mellitus. *Psychopharmacol Bull* 1997;33:261–4.
- [12] Gomez R, Huber J, Tombini G, Barros HMT. Acute effect of different antidepressants on glycemia in diabetic and non-diabetic rats. *Brazilian J Med Biol Res* 2001;34:57–64.
- [13] American Diabetes Association. *Standards of medical care in diabetes--2014*. *Diabetes Care* 2014;37:S14–80.

- [14] Gerozissis K, Kyriaki G. Brain insulin: regulation, mechanisms of action and functions. *Cell Mol Neurobiol* 2003;23:1–25.
- [15] Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med a J Br Diabet Assoc* 2005;22:359–70.
- [16] King AJF. The use of animal models in diabetes research. *Br J Pharmacol* 2012;166:877–94.
- [17] Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G. Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes* 1974;23:889–95.
- [18] Arulmozhi D, Veeranjanyulu A, Bodhankar S. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian J Pharmacol* 2004;36:217.
- [19] Slattery DA, Cryan JF. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nat Protoc* 2012;7:1009–14.
- [20] Sartoretto JL, Melo GAN, Carvalho MHC, Nigro D, Passaglia RT, Scavone C, et al. Metformin treatment restores the altered microvascular reactivity in neonatal streptozotocin-induced diabetic rats increasing NOS activity, but not NOS expression. *Life Sci* 2005;77:2676–89.
- [21] Gupta D, Kurhe Y, Radhakrishnan M. Antidepressant effects of insulin in streptozotocin induced diabetic mice: Modulation of brain serotonin system. *Physiol Behav* 2014;129:73–8.
- [22] Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978;47:379–91.
- [23] Portha B, Picon L, Rosselin G. Chemical diabetes in the adult rat as the spontaneous evolution of neonatal diabetes. *Diabetologia* 1979;17:371–7.
- [24] Blundell JE. Serotonin and appetite. *Neuropharmacology* 1984;23:1537–51.
- [25] Leibowitz SF, Shor-Posner G. Brain serotonin and eating behavior. *Appetite* 1986;7:1–14.
- [26] Simansky KJ. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behav Brain Res* 1996;73:37–42.
- [27] Maina G, Albert U, Salvi V, Bogetto F. Weight gain during long-term treatment of obsessive-compulsive disorder: a prospective comparison between serotonin reuptake inhibitors. *J Clin Psychiatry* 2004;65:1365–71.
- [28] Nielsen JA, Chapin DS, Johnson JL, Torgersen LK. Sertraline, a serotonin-uptake inhibitor, reduces food intake and body weight in lean rats and genetically obese mice. *Am J Clin Nutr* 1992;55:185S – 189S.

- [29] Watanabe H, Rose MT, Aso H. Role of peripheral serotonin in glucose and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2011;22:186–91.
- [30] Pollak PT, Mukherjee SD, Fraser AD. Sertraline-induced hypoglycemia. *Ann Pharmacother* 2001;35:1371–4.
- [31] Georgia S, Bhushan A. Pregnancy hormones boost beta cells via serotonin. *Nat Med* 2010;16:756–7.
- [32] Ohara-Imaizumi M, Kim H, Yoshida M, Fujiwara T, Aoyagi K, Toyofuku Y, et al. Serotonin regulates glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic β cells during pregnancy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:19420–5.
- [33] Cryan JF, Valentino RJ, Lucki I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neurosci Biobehav Rev* 2005;29:547–69.
- [34] Mikail HG, Dalla C, Kokras N, Kafetzopoulos V, Papadopoulou-Daifoti Z. Sertraline behavioral response associates closer and dose-dependently with cortical rather than hippocampal serotonergic activity in the rat forced swim stress. *Physiol Behav* 2012;107:201–6.
- [35] Dou J-T, Chen M, Dufour F, Alkon DL, Zhao W-Q. Insulin receptor signaling in long-term memory consolidation following spatial learning. *Learn Mem* 2005;12:646–55.
- [36] Beauquis J, Roig P, Homo-Delarche F, De Nicola A, Saravia F. Reduced hippocampal neurogenesis and number of hilar neurones in streptozotocin-induced diabetic mice: reversion by antidepressant treatment. *Eur J Neurosci* 2006;23:1539–46.
- [37] Herrera R, Manjarrez G, Hernandez J. Inhibition and kinetic changes of brain tryptophan-5-hydroxylase during insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Nutr Neurosci* 2005;8:57–62.
- [38] De Morais H, de Souza CP, da Silva LM, Ferreira DM, Werner MF, Andreatini R, et al. Increased oxidative stress in prefrontal cortex and hippocampus is related to depressive-like behavior in streptozotocin-diabetic rats. *Behav Brain Res* 2014;258:52–64.
- [39] Turner RC, Cull CA, Frighi V, Holman RR. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *JAMA* 1999;281:2005–12.
- [40] Weng J, Li Y, Xu W, Shi L, Zhang Q, Zhu D, et al. Effect of intensive insulin therapy on beta-cell function and glycaemic control in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a multicentre randomised parallel-group trial. *Lancet* 2008;371:1753–60.
- [41] Moghissi E, King AB. Individualizing Insulin Therapy in the Management of Type 2 Diabetes. *Am J Med* 2014;127:S3–10.

- [42] Barbaccia ML, Chuang DM, Costa E. Is insulin a neuromodulator? *Adv Biochem Psychopharmacol* 1982;33:511–8.
- [43] Boyd FT, Clarke DW, Raizada MK. Insulin inhibits specific norepinephrine uptake in neuronal cultures from rat brain. *Brain Res* 1986;398:1–5.
- [44] Manjarrez-Gutiérrez G, Herrera-Márquez JR, Molina-Hernández A, Bueno-Santoyo S, González-Ramírez M, Hernández J. [Changes in cerebral serotonin synthesis induced by insulin-dependent diabetes mellitus]. *Rev Invest Clin* 51:293–302.

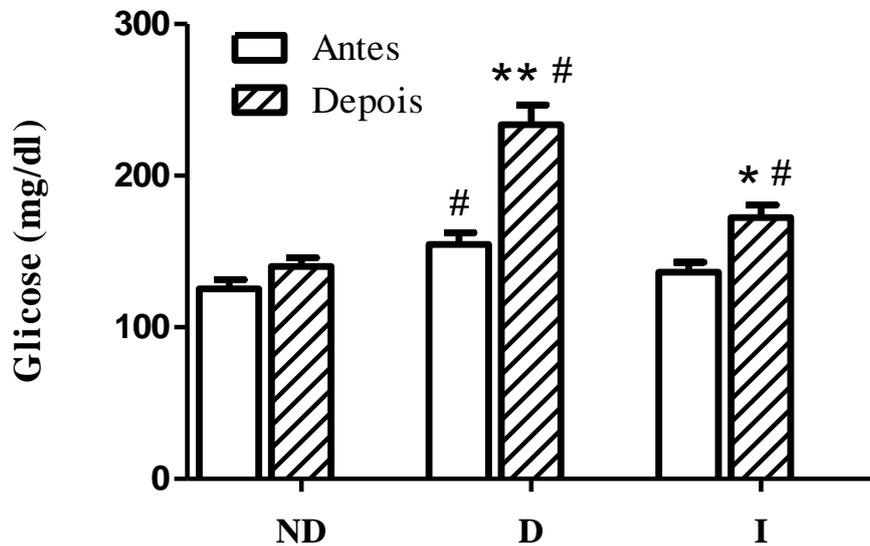


Figura 1. Concentração de glicose no plasma antes e depois da sobrecarga de glicose (0,5g/kg, por gavagem) em ratos não diabéticos (ND) (n=17), diabético induzido por STZ (D) (n=20) e diabético induzido por STZ tratado com insulina (I) (n=33), no teste de tolerância a glicose oral, após tratamento crônico (21 dias) insulina. Os resultados são expressos pelas médias \pm erro padrão da média (EPM). * $p < 0,05$ ou ** $p < 0,001$ comparado no mesmo grupo antes da sobrecarga de glicose. # $p < 0,05$ comparado com grupo C antes e depois sobrecarga de glicose.

Tabela 1

Características gerais dos animais

Grupos	N	Ingestão Água	Volume Urina	Ingestão Alimento	Peso Corporal	Ganho Peso Corporal	Glicemia de Jejum
NC	8	45,5±1,9	4,1±0,7	31,5±1,4	296,5±16,7	116,4±14,9	117,62±6,80
NS	9	47,3±3,8	3,6±0,4	30,4±2,0	279,2±14,3	96,3±12,2	108,11±4,48
DC	10	41,6±0,6	4,3±0,6	31,5±1,0	297,4±9,8	114,7±6,2	107,91±6,78
DS	10	39,4±4,2	2,8±0,3	30,5±2,5	281,8±12,2	77,4±8,8*	115,3±7,01
D-Ins1U	9	43,1±3,1	3,7±0,7	31,5±1,7	301,8±8,1	124,6±4,8	118,22±5,17
D-Ins2U	9	43,8±3,6	3,1±0,5	35,4±2,6	299,2±12,9	122,8±7,4	122,77±4,97
DS-Ins1U	7	41,7±2,1	2,8±0,4	31,7±2,2	290,6±8,4	110,9±6,4	107,85±6,58
DS-Ins2U	8	38,3±1,6	3,0±0,5	28,6±1,3	287,5±7,1	102,3±7,8	117,75±5,12

Resultados expressos em média \pm EPM dos ratos não diabéticos veículo (NDV), não diabéticos sertralina (NDS), diabéticos veículo (DV), diabéticos sertralina (DS), diabéticos insulina 1U (D-Ins1U), diabéticos insulina 2U (D-Ins2U), diabéticos sertralina-insulina 1U (DS-Ins1U) e diabéticos sertralina-insulina 2U (DS-Ins2U). * $p < 0,05$ indica diferença significativa comparada ao NC, DC, D-Ins1U, D-Ins2U, DS-Ins1U, DS-Ins2U.

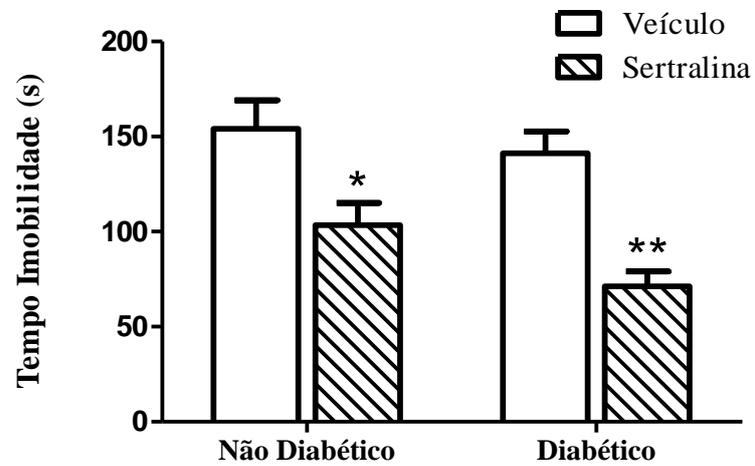


Figura 2. Atividade tipo antidepressivo após o tratamento (21 dias) com sertralina em ratos não diabéticos e diabéticos submetidos ao teste do nado forçado para ratos agrupados em não diabético veículo (n=8) e sertralina (n=9) e diabético veículo (n=10) e sertralina (n=10). Colunas representam o tempo de imobilidade (s) e as barras de erro representam o EPM. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$ indica diferença significativa comparada aos grupos: não diabético veículo e diabético veículo.

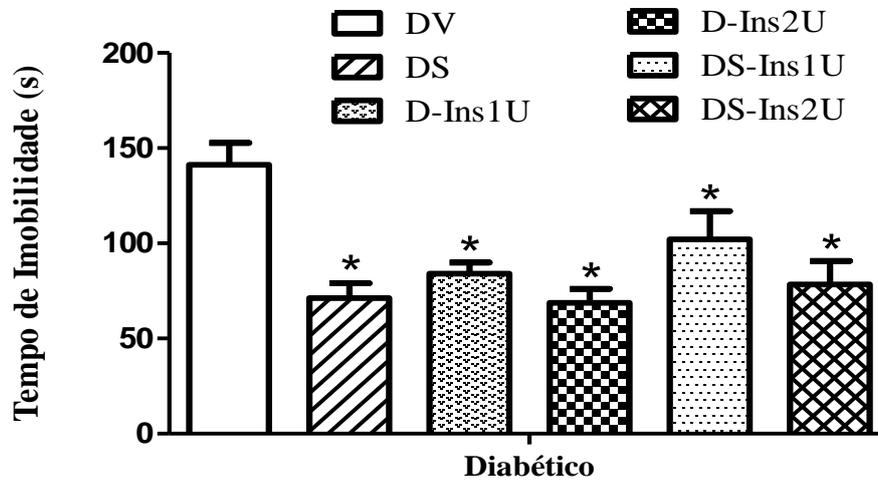


Figura 3. Atividade tipo antidepressivo do tratamento crônico (21 dias) com sertralina e insulina em ratos diabéticos, submetidos ao teste do nado forçado. Os animais foram agrupados em: diabético veículo (DV) (n=10), diabético sertralina (DS) (n=10), diabético insulina 1U (D-Ins1U) (n=9), diabético insulina 2U (D-Ins2U) (n=9), diabético sertralina-insulina 1U (DS-Ins1U) (n=7) e diabético sertralina-insulina 2U (DS-Ins2U) (n=8). Colunas representam o tempo de imobilidade (s) e as barras de erro representam o EPM. * $p < 0,05$ indica diferença significativa comparada ao grupo DV.

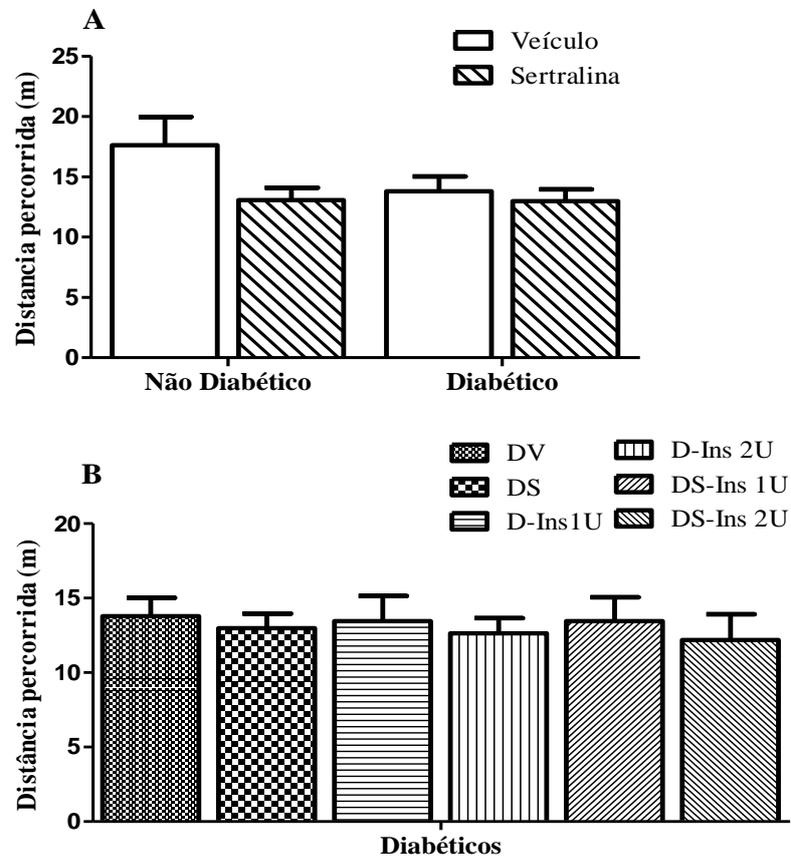


Figura 4. Atividade locomotora avaliada no teste do campo aberto. **(A)** experimento 1 ratos não diabéticos e diabéticos tratados com sertralina, comparado aos ratos não diabéticos veículo. **(B)** experimento 2, ratos diabéticos tratados com sertralina (DS), insulina 1U (D-Ins1U) insulina 2U (D-Ins2U), sertralina-insulina 1U (DS-Ins1U) e sertralina-insulina 2U (DS-Ins2U) comparados ao diabético veículo (DV). Colunas representam a distância percorrida (m) e as barras de erro representam o erro padrão da média (EPM).

CAPÍTULO III

3.1 CONCLUSÕES

Este estudo sobre a atividade tipo antidepressivo da sertralina-insulina e sua associação mostraram que:

1. O tratamento com sertralina em ratos com DM2 intolerantes à glicose apresentou redução do ganho de peso comparado com outros grupos.
2. A sertralina apresentou atividade tipo antidepressivo tanto em animais normais quanto em animais diabéticos submetidos ao TNF.
3. A insulina apresentou atividade tipo antidepressivo em ratos com DM2 intolerantes à glicose, submetidos ao teste do nado forçado.
4. A associação de sertralina e insulina não apresentou diferença na atividade tipo antidepressivo quando comparada aos tratamentos isolados.

3.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

Novas estratégias de tratamento do DM2 associado ao TD estão sendo estudadas devido ao crescimento exponencial dessas duas doenças crônicas. Os resultados desse estudo apontam o potencial farmacológico da sertralina no tratamento da depressão em pacientes diabéticos. Além da sua eficácia como antidepressivo, ela atua no controle do peso, importante no tratamento de pacientes com obesidade associada à resistência a insulina. Estudos prospectivos são necessários para avaliar o efeito da sertralina no controle da glicemia, que possibilitaria uma nova estratégia de tratamento em fase inicial do DM2.

O efeito antidepressivo da insulina observado neste trabalho em ratos diabéticos aponta a necessidade de estudos em humanos correlacionando o controle glicêmico com a redução dos sintomas depressivos em pacientes com DM2.

Por fim, os estudos que avaliem como a serotonina e a insulina cooperam para exercer o efeito antidepressivo, utilizando modelos de neuroimagem, imunohistoquímica de tecidos neuronais, poderiam elucidar os mecanismos de interação da insulina com a serotonina no SNC.