

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Greice Caletti

**Efeito Neuromodulador e
Neuroprotetor da Taurina em Ratos
Diabéticos**

UFCSPA

Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

**Porto Alegre
2016**

Greice Caletti

Efeito Neuromodulador e Neuroprotetor da Taurina em Ratos Diabéticos

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Gomez
Co-orientadora: Profa. Dra. Helena Maria Tannhauser Barros

**Porto Alegre
2016**

Catálogo na Publicação

Caletti, Greice

Efeito neuromodulador e neuroprotetor da taurina em ratos diabéticos / Greice Caletti. -- 2016.

106 p. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2016.

Orientador(a): Rosane Gomez ; coorientador(a): Helena Maria Tannhauser Barros.

1. estreptozotocina. 2. GABA. 3. microdiálise. 4. estresse oxidativo. 5. inflamação. I. Título.

Dedico esta Tese aos meus pais, Lirio Caletti (in memoriam) e Joice da Rosa Caletti, pelo amor dedicado a mim e por todo incentivo ao meu crescimento profissional. Exemplos de vida, educação e de família, sempre me mostraram que esforço, dedicação e perseverança abrem caminhos para o alcance dos nossos sonhos. Agradeço imensamente pelos pais que sempre foram, vibrando a cada conquista e fornecendo suporte nas horas difíceis. Pai, a saudade será eterna! AMO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS

Durante todo esse período de doutorado, contei com o apoio e incentivo de diversas pessoas, instituições e laboratórios. Desse modo, gostaria de prestar agradecimento a todos que tornaram possível a realização deste trabalho:

Primeiramente, gostaria de fazer um agradecimento especial à minha orientadora, Profa. Dra. Rosane Gomez, pela excelente contribuição científica durante todo o doutorado, não medindo esforços para que conseguíssemos cumprir todos os objetivos iniciais deste trabalho. Agradeço por toda orientação e dedicação, mas agradeço também por ser amiga e “mãezona” de todas as horas, desde os momentos de descontração até os momentos emotivos, onde um abraço faz toda a diferença. Obrigada pela confiança e por todo o suporte, em todos os momentos.

À Profa. Dra. Helena Maria Tannhauser Barros, minha co-orientadora, pela confiança, contribuições científicas nos artigos científicos e por disponibilizar o Laboratório de Neuropsicofarmacologia (UFCSPA) para realização de experimentos.

À minha família, especialmente meus pais, Lirio Caletti (*in memoriam*) e Joice da Rosa Caletti, minhas irmãs Giovana Caletti e Gisele Caletti, e meu afilhado Mateus Caletti Giordani, sempre presentes ao longo de toda essa jornada, demonstrando apoio e incentivo constantes.

Ao Guilherme Dexheimer Rampon, namorado e amigo, pelo carinho e dedicação ao longo destes anos, e por mostrar que a vida pode ser muito mais leve e menos complicada.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Neuropsicofarmacologia, Priscila Costa, Laísa Umpierrez, Luana Freese, Felipe Borges Almeida, Marilise Fraga, Natividade C. Pereira e Maurício Nin por toda contribuição em diversos momentos desse trabalho, além de oportunizar momentos de risadas, felicidade, união e conforto emocional dentro e fora do laboratório, tornando essa convivência extremamente agradável.

Aos colegas e amigos do Laboratório do Álcool e Tabaco (LAT – UFRGS), Solange Bandiera, Alana Witt Hansen, Dayane Quinteros e Ricardo Schneider Jr.

por todo auxílio na execução de experimentos e técnicas realizadas neste trabalho, como também pelos momentos de descontração.

Aos bolsistas de iniciação científica, Thiago Lucas Bastos de Mello, Jordan Cassiano da Silva, Thabata De Los Santos, Alan Fonseca, Paulo Fernandes e Luiza Steffens pelo auxílio na execução de experimentos e técnicas deste trabalho.

À bolsista de pós-doutorado Valéria Peres, pela contribuição na determinação de neurotransmissores pela técnica de HPLC, na Central Analítica da UFCSPA.

À professora Dinara Jaqueline Moura, por possibilitar a realização das técnicas de estresse oxidativo e de inflamação no Laboratório de Toxicidade Genética da UFCSPA e UFRGS.

Aos técnicos de laboratórios da UFCSPA, Letícia Maya e Felipe Grillo, por toda ajuda em importantes etapas desse trabalho.

Às universidades UFCSPA e UFRGS que com seus funcionários, professores e colaboradores, possibilitaram que este trabalho fosse realizado em sua plenitude, além de se tornarem minha segunda casa durante essa trajetória.

A todos vocês, muito obrigada!

RESUMO

Diabetes é uma desordem metabólica prevalente, com elevado risco de comorbidades. A hiperglicemia crônica promove estresse oxidativo e desencadeia processos inflamatórios, alterando funções em tecidos periféricos e centrais. No sistema nervoso central (SNC), aumenta risco de alterações de humor como depressão, possivelmente relacionados ao dano neuronal e alteração de sistemas neurotransmissores, como GABA e glutamato. Ratos diabéticos apresentam comportamento tipo-depressivo no teste do nado forçado, prevenido por agonistas GABAérgicos, justificando interesse nesse sistema neurotransmissor. Taurina é um aminoácido com propriedades antidiabética, osmorreguladora, antioxidante, neuroprotetora e neuromoduladora, amplamente distribuído no SNC. Nosso objetivo neste estudo foi investigar mecanismos relacionados ao efeito antidepressivo da taurina, considerando sua ação sobre a transmissão inibitória e excitatória, bem como suas propriedades neuroprotetoras em ratos diabéticos. Foram utilizados ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina e não diabéticos, tratados com salina ou taurina, na dose de 100 mg/kg, via intraperitoneal, por 28 dias. Para investigar o efeito neuromodulador da taurina sobre o sistema GABAérgico, avaliamos a expressão de mRNA da subunidade α_2 do receptor GABA_A, e do BDNF. Adicionalmente, para confirmar a interação da taurina sobre a transmissão inibitória e influência sobre a excitatória, analisamos as concentrações de GABA e glutamato extracelulares no hipocampo de ratos. Finalmente, exploramos o efeito neuroprotetor da taurina, considerando parâmetros de estresse oxidativo e inflamatórios, no hipocampo e córtex frontal de ratos. Nossos resultados mostraram que o diabetes aumentou a expressão de mRNA da subunidade α_2 do receptor GABA_A, além de aumentar os níveis de GABA e glutamato no hipocampo de ratos, após a natação forçada. Diabetes também reduziu a expressão de mRNA de BDNF, associado ao menor peso do cérebro desses animais. Diabetes aumentou dano oxidativo ao DNA, tanto no hipocampo como no córtex frontal, além de aumentar citocinas inflamatórias, principalmente no hipocampo. Taurina reverteu a maioria das alterações provocadas pelo diabetes. Portanto, taurina apresenta importante efeito neuromodulador, observado pela sua interferência sobre o sistema GABAérgico; e neuroprotetor, observado pela sua ação sobre BDNF, estresse oxidativo, dano ao

DNA e inflamação. Tais efeitos poderiam justificar em parte, seu efeito antidepressivo. A multiplicidade de mecanismos observados, associada à sua segurança já comprovada, poderiam justificar a indicação da taurina como adjuvante no tratamento da depressão em pacientes resistentes às terapias convencionais, especialmente em diabéticos.

Palavras-chave: estreptozotocina, GABA, microdiálise, ensaio cometa, estresse oxidativo, inflamação

ABSTRACT

Diabetes is highly prevalent metabolic disorder, with high risk of comorbidity. Chronic hyperglycemia promotes oxidative stress and triggers inflammatory processes, changing functions in central and peripheral tissues. In the central nervous system (CNS), increases risk of mood disorders such as depression, possibly related to neuronal damage and interference with neurotransmitter systems like GABA and glutamate. Diabetic rats exhibit depressive-like behavior in the forced swim test, prevented by GABAergic agonists, justifying interest in this neurotransmitter system. Taurine is semi-essential amino acid with antidiabetic, osmoregulation, antioxidant, neuroprotective and neuromodulator properties, and it is widely distributed in the CNS. Our aim in this study was to investigate possible mechanisms related to the antidepressant effect of taurine, considering interference on the inhibitory and excitatory transmission, as well as its neuroprotective properties in diabetic rats. Contemplating these objectives, we used streptozotocin-induced diabetic rats and non diabetic rats treated with saline or taurine, at dose of 100 mg/kg intraperitoneally, for 28 days. To investigate the neuromodulatory effect of taurine on the GABAergic system, we evaluate the mRNA expression of GABA_A receptor α_2 subunit and BDNF. Additionally, to confirm the interaction of taurine on the inhibitory transmission and testing their effect on excitatory transmission, we analyzed the GABA and glutamate extracellular efflux in the hippocampus of rats. Finally, we explored the neuroprotective effect of taurine, considering parameters of oxidative stress and inflammation in the hippocampus and frontal cortex of rats. Our results showed that diabetes increased mRNA expression of GABA_A receptor α_2 subunit, in addition to increasing levels of GABA and glutamate in the hippocampus of rats after forced swimming. Diabetes also reduced BDNF mRNA expression, associated with lower weight of the brains of these animals. Diabetes increased oxidative damage to DNA in both, the hippocampus and the frontal cortex, besides increasing inflammatory cytokines, particularly in the hippocampus. Taurine reversed most diabetes changes. Therefore, taurine showed important neuromodulator effect, observed for its interference on the GABAergic system; and neuroprotector, observed by its effect on BDNF, oxidative stress, DNA damage and inflammation. These effects, could explain, in part, its antidepressant effect. The multiplicity of

mechanisms, associated with their safety already proved, could justify the indication of taurine as an adjunct in the treatment of depression in patients resistant to conventional therapies, especially in diabetics.

Key-words: streptozotocin, GABA, microdialysis, comet assay, oxidative stress, inflammation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

PARTE I INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

I.1 INTRODUÇÃO

Figura 1 – Alterações neurofisiológicas decorrentes do diabetes que resultam em dano e morte neuronal no SNC.....	23
Figura 2 – Mecanismos patofisiológicos que contribuem para o desenvolvimento da depressão em diabéticos.....	27
Figura 3 – Estrutura química planar (A) e tridimensional (B) do aminoácido taurina.	28
Figura 4 – Síntese da taurina	29
Figura 5 – Estrutura química do GABA (A) e taurina (B).	34

PARTE II ARTIGOS CIENTÍFICOS

II.2 CAPÍTULO II

<i>Figure 1 – Extracellular GABA levels in CTR and STZ rats, before and after the FST</i>	Erro! Indicador não definido.
<i>Figure 2 – Extracellular glutamate levels in CTR and STZ rats, before and after the FST.....</i>	Erro! Indicador não definido.
<i>Figure 3 – Extracellular taurine levels in CTR and STZ rats, before and after the FST</i>	64

II.3 CAPÍTULO III

<i>Figure 1 – Effect of taurine on the DCF oxidation in diabetic rats (STZ) and non diabetic rats (CTR) in hippocampus (A) and frontal cortex.....</i>	83
<i>Figure 2 – Effect of taurine on the antioxidant enzymes activities (SOD, CAT) in diabetic rats (STZ) and non diabetic rats (CTR) in hippocampus (A, C) and frontal cortex (B, D).</i>	84
<i>Figure 3 – Effect of taurine on the damage index in diabetic rats (STZ) and non diabetic rats (CTR) in hippocampus (A) and frontal cortex (B).</i>	85
<i>Figure 4 – Effect of taurine on the inflammatory cytokines in hippocampus of the diabetic rats (STZ) and non diabetic rats (CTR)</i>	86
<i>Figure 5 – Effect of taurine on the inflammatory cytokines in frontal cortex of the diabetic rats (STZ) and non diabetic rats (CTR)</i>	87

PARTE III CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

III.1 INTEGRAÇÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÃO

Figura 6 – Diabetes induz alterações neurofisiológicas, neuroestruturais,

neuroquímicas e comportamentais em ratos, revertidas pelo tratamento crônico com taurina.92

LISTA DE TABELAS

PARTE II ARTIGOS CIENTÍFICOS

II.2 CAPÍTULO II

Table 1 – Baseline absolute values of GABA and glutamate in the hippocampus of diabetic (STZ) and non-diabetic (CTR) rats, treated with taurine (100mg/kg, 28 days, 1x/day, i.p.)..... 59

*Table 2 – Area under the curve (AUC) of GABA, glutamate and taurine efflux in the hippocampus of diabetic (STZ) and non-diabetic rats (CTR) treated with saline (0) or 100 mg/kg taurine (100) exposed to the FST. **Erro! Indicador não definido.***

PARTE III CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

III.1 INTEGRAÇÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÃO

Tabela 1 – Resumo dos resultados encontrados.92

LISTA DE ABREVIATURAS

DM *Diabetes Mellitus*

DM1 *Diabetes Mellitus* tipo 1

DM2 *Diabetes Mellitus* tipo 2

SNC Sistema Nervoso Central

GLUT Transportador de Glicose

AGEs *Advanced Glycation End-Products*

RAGE *Receptors for Advanced Glycation End-Product*

NF- κ B *Nuclear factor-kappa B*

IL-1 Interleucina-1

IL-6 Interleucina-6

IL-10 Interleucina-10

IL-12 Interleucina-12

INF γ Interferon gama

TNF- α *Tumoral Necrosis Factor alpha*

ICAM-1 *Intercellular Adhesion Molecule-1*

VCAM-1 *Vascular Cell Adhesion Molecule-1*

MCP-1 *Mococyte Chemoattractant Protein-1*

EROs Espécies Reativas de Oxigênio

SOD Superóxido Dismutase

CAT Catalase

GSH Glutationa reduzida

HPA *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal*

STZ Estreptozotocina

GABA Ácido γ -aminobutírico

GLU Glutamato

FST *Forced Swimming Test*

QALY *Quality-Adjusted Life-Year*

GAD Ácido Glutâmico Descarboxilase

GAT *GABA Transporters*

NMDA N-metil-D aspartato

AMPA Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico

EATT Transportador de Glutamato

BDNF *Brain Derived Neurotrophic Factor*

TauT *Taurine Transporters*

GABA_AR Receptor GABA_A

RNA Ácido Ribonucleico

DNA Ácido Desoxirribonucleico

AUC *Area Under Curve*

SUMÁRIO

PARTE I INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	17
I.1 INTRODUÇÃO	17
I.1.1 <i>DIABETES MELLITUS</i> E ALTERAÇÕES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL	17
I.1.1.1 Alterações fisiológicas do diabetes.....	18
I.1.1.2 Alterações neuroendócrinas	20
I.1.1.3 Alterações neuroestruturais.....	21
I.1.1.4 Alterações neuroquímicas	21
I.1.1.5 Diabetes e depressão.....	23
I.1.2 TAURINA.....	28
I.1.2.1 Taurina e diabetes.....	30
I.1.2.2 Taurina e depressão.....	32
I.2 JUSTIFICATIVA	35
I.3 OBJETIVOS	37
I.3.1 OBJETIVO GERAL.....	37
I.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
PARTE II ARTIGOS CIENTÍFICOS	38
II.1 CAPÍTULO I – Dose antidepressiva de taurina aumenta a expressão de mRNA da subunidade $\alpha 2$ do receptor GABA_A e de BDNF no hipocampo de ratos diabéticos	39
II.2 CAPÍTULO II – Efeito do diabetes e da administração de taurina sobre o efluxo de GABA e glutamato no hipocampo de ratos expostos ao teste de nado forçado	45
II.3 CAPÍTULO III – Efeito antioxidante e anti-inflamatório da taurina no hipocampo e córtex frontal de ratos diabéticos	65
PARTE III CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	88
III.1 INTEGRAÇÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÃO	89
III.2 PERSPECTIVAS	93
REFERÊNCIAS	94
ANEXO CEUA	104

PARTE I

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

I.1 INTRODUÇÃO

I.1.1 *DIABETES MELLITUS* E ALTERAÇÕES NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Diabetes mellitus é uma doença metabólica caracterizada por hiperglicemia decorrente de relativa ou absoluta falta de insulina. O crescente número de casos de diabetes remete preocupação substancial dos sistemas de saúde no mundo e no Brasil. Estimativas revelam que no mundo existem 382 milhões de indivíduos com diabetes e, em 2035, esse número chegará a 471 milhões de casos (WILD et al., 2004). O Brasil é o 4º no ranking entre países com maior número de casos de diabetes, perfazendo um total de 11,9 milhões de diabéticos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016). Diabetes tipo 1 (DM1) corresponde a cerca de 5 a 10% dos casos da doença e é ocasionado pela destruição autoimune das células β -pancreáticas, promovendo deficiência de insulina. Diabetes tipo 2 (DM2) corresponde a 80% dos casos e resulta da insuficiência e ou resistência à insulina pelos tecidos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2016).

O diabetes altera não apenas o metabolismo de carboidratos, mas também o metabolismo de proteínas e lipídeos. Sem controle adequado, o diabetes aumenta risco de complicações microvasculares, tais como retinopatia, nefropatia e neuropatia, e macrovasculares, incluindo isquemia cardiovascular, acidente vascular encefálico e doença vascular periférica (CHAMBERLAIN et al., 2016).

Além das complicações micro e macrovasculares mais comumente associadas ao mau controle glicêmico no diabetes, a hiperglicemia crônica pode afetar a função de outros órgãos, como o sistema nervoso central (SNC). Neurônios e músculos diferem na forma de captação da glicose do meio extracelular. Neurônios utilizam glicose como fonte de energia e sua captação é feita por transportadores de glicose GLUT de forma independente da insulina, sendo apenas dependente da diferença de concentração de glicose no meio intra e extracelular. Na hiperglicemia, neurônios captam até 4 vezes mais glicose, e caso os episódios sejam persistentes, o metabolismo da glicose causa importante dano neuronal (TOMLINSON; GARDINER, 2008). A investigação sobre os efeitos danosos do diabetes sobre o SNC teve seu início em 1922, quando pesquisadores avaliaram memória e atenção em pacientes diabéticos em testes cognitivos (MILES, 1922).

Naquele estudo, identificou-se que diabéticos apresentavam menor desempenho em testes de memória e atenção (MILES, 1922). Já em 1950, o termo encefalopatia diabética começou a ser utilizado para descrever disfunção cerebral e cognitiva em diabéticos (DJONG, 1950). Atualmente, evidências comprovam a magnitude do prejuízo promovido pelo diabetes sobre o cérebro, mostrando a influência da doença sobre alterações fisiológicas (TOMLINSON; GARDINER, 2008), neuroendócrinas (SCHWARTZ; STRACK; DALLMAN, 1997), neuroanatômicas (ERUS et al., 2015) e neuroquímicas (YAMATO et al., 2004).

I.1.1.1 Alterações fisiológicas do diabetes

Como mencionado anteriormente, neurônios não necessitam de insulina para captar glicose da corrente sanguínea e no caso de hiperglicemia, o aumento dos níveis plasmáticos de glicose aumenta também os níveis intracelulares de glicose. Nesse contexto, o excesso de glicose ativa a enzima aldose redutase, produzindo quantidades elevadas de sorbitol, ativando a via dos polióis. O acúmulo de sorbitol nas células nervosas ocorre tanto pela sua produção exacerbada como também pela dificuldade no transporte através da membrana plasmática, devido sua baixa permeabilidade. Como consequência, o excesso de sorbitol produz toxicidade nas células neuronais pelo aumento do efeito osmótico e pela ativação de cascatas apoptóticas (PRICE et al., 2004).

Outro efeito prejudicial da hiperglicemia crônica é a formação de produtos finais de glicação avançada (do inglês, *Advanced Glycation End-Products* – AGEs) (YAMAGISHI; MATSUI, 2010). A formação desses compostos irreversíveis tem origem na condensação da glicose com o grupamento amino de proteínas após várias reações e rearranjos. Os principais efeitos deletérios dos AGEs estão relacionados a sua capacidade oxidante de modificar as propriedades químicas e funcionais das mais diversas estruturas biológicas, além de aumentar a expressão de mediadores inflamatórios e promover estresse oxidativo (DOMINGUETI et al., 2015).

O acoplamento dos AGEs aos seus receptores RAGE (do inglês, *receptores for advanced glycation end-products*), na superfície de células endoteliais, musculatura lisa, fibroblastos, linfócitos, monócitos, macrófagos e astrócitos resulta

na ativação do fator de transcrição nuclear NF- κ B (do inglês, *nuclear factor-kappa B*) (DOMINGUETI et al., 2015). Após essa ativação, o NF- κ B induz a transcrição de vários genes, entre eles mediadores que regulam processos de imunidade, proliferação, apoptose, senescência celular e inflamação. Na inflamação, o NF- κ B regula a expressão gênica de quimiocinas, enzimas inflamatórias, moléculas de adesão e citocinas inflamatórias, tais como Interleucina 1 (IL-1), Interleucina 6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral alfa (do inglês, *Tumoral Necrosis Factor alpha* – TNF- α), desencadeando assim, uma resposta inflamatória (BISWAS, 2016).

A inflamação é um processo biológico fundamental para combater condições patológicas agudas ou crônicas, mantendo a homeostasia celular e tecidual através de mecanismos de reparo (MURIACH et al., 2014). Entretanto, em situações em que a inflamação torna-se persistente, como no diabetes, a amplificação da resposta inflamatória leva à alteração da função tecidual, com desequilíbrio na homeostasia de forma persistente e sistemática, levando ao desenvolvimento de complicações. A resposta inflamatória é desencadeada pela infiltração de células do sistema imune, como neutrófilos, monócitos e linfócitos no local da inflamação. Estas células liberam fatores que atraem moléculas de adesão como molécula de adesão intercelular-1 (do inglês, *intercellular adhesion molecule-1* – ICAM-1), molécula de adesão celular vascular-1 vascular (do inglês, *cell adhesion molecule-1* – VCAM-1) e proteína quimiotática de monócitos-1 (do inglês, *chemokines like monocyte chemoattractant protein 1* – MCP-1) e interleucina 8, sendo cruciais para a infiltração celular inflamatória. No local da inflamação, as células inflamatórias liberam enzimas, radicais livres (superóxido, peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso) e mediadores químicos (eicosanoides, citocinas, quimiocinas) para combater patógenos invasores (MURIACH et al., 2014).

A ligação dos AGEs em receptores RAGE desencadeia tanto processos inflamatórios, como também estresse oxidativo. Como mencionado, mediadores inflamatórios liberam radicais livres no local da inflamação que podem levar a exagerado estresse oxidativo. Definimos estresse oxidativo como desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, em favor de oxidantes, levando à ruptura do controle redox e ao dano tecidual (BISWAS, 2016). Radicais livres são espécies reativas que contém um ou mais elétrons despareados, sendo extremamente reativos com outras espécies, devido sua forte tendência de roubar elétrons a fim de tornar-se estável

(EVANS; DIZDAROGLU; COOKE, 2004). As espécies reativas de oxigênio (EROs) contém radicais livres e não- radicais na sua estrutura e podem tornar-se agentes oxidantes ou então, são convertidos em radicais. A formação de EROs é derivada do metabolismo celular, como por exemplo, no metabolismo oxidativo da glicose na mitocôndria. O primeiro ERO formado é o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que reage com a enzima superóxido dismutase (SOD) dando origem ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que por sua vez, se não sofrer ação da enzima catalase (CAT) ou da glutathione peroxidase, pode originar outro radical altamente deletério ao organismo, radical hidroxil (OH^{\bullet}), que produz danos a lipídeos, proteínas ou DNA, gerando peroxidação lipídica e dano ao DNA (BISWAS, 2016). No diabetes, o aumento na formação de EROs está relacionada à inflamação, ao comprometimento de enzimas antioxidantes (OBROSOVA et al., 2002), e pelo aumento do metabolismo oxidativo da glicose na mitocôndria, promovendo estresse oxidativo (TOMLINSON; GARDINER, 2008).

Como existe uma forte relação de interdependência entre estresse oxidativo e inflamação, onde a presença de um mecanismo patogênico estimula o desenvolvimento de outro, ERO como peróxido de hidrogênio também ativa NF- κ B, iniciando cascata de sinalização, aumentando a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias, potencializando a resposta inflamatória e oxidativa e levando a morte neuronal (BISWAS, 2016). AGEs, que também ativam NF- κ B, têm sido detectados em grande quantidade no cérebro, promovendo estes eventos patofisiológicos mencionados e propiciando o desenvolvimento de complicações diabéticas (Figura 1) (GOH; COOPER, 2008; GUGLIELMOTTO et al., 2012; NARDIN et al., 2016).

I.1.1.2 Alterações neuroendócrinas

Dentre as alterações neuroendócrinas encontradas no diabetes, o prejuízo na função e atividade do eixo hipotálamo-hipofisário adrenal (do inglês, hypothalamic-pituitary-adrenal – HPA) foi evidenciado em modelos animais de diabetes (CHAN et al., 2001; SCHWARTZ; STRACK; DALLMAN, 1997; SI; YANG; FU, 2015). Essas evidências mostraram que ratos diabéticos exibiram aumento dos níveis plasmáticos de corticosterona, com diminuição de ACTH hipofisário.

I.1.1.3 Alterações neuroestruturais

Estudos pré-clínicos têm demonstrado que o diabetes tem impacto negativo na perda neuronal, promovendo alterações neuroanatômicas que podem também ser observadas em humanos. Longo período de diabetes promove diminuição na proliferação de células hipocampais em animais, além de aumentar morte neuronal por necrose ou apoptose, confirmada por diversos marcadores, nessa mesma região, sendo acompanhada por alterações de função cognitiva (BEAUQUIS et al., 2006; JAFARI ANARKOOLI et al., 2008; LI et al., 2002; SADEGHI et al., 2016). Estudos clínicos de neuroimagem também indicam associação entre diabetes e anormalidades na estrutura cerebral, mostrando que pacientes diabéticos apresentam importante atrofia cerebral, com redução no volume da matéria cinzenta em várias regiões (ERUS et al., 2015; MOHEET; MANGIA; SEAQUIST, 2015). O tratamento glicêmico intensivo possibilita preservação de algumas estruturas cerebrais, mas não de todas (ERUS et al., 2015; HO; SOMMERS; LUCKI, 2013).

I.1.1.4 Alterações neuroquímicas

O diabetes também altera a neuroquímica cerebral tanto em ratos quanto em humanos. Estudos por microdiálise mostram que monoaminas extracelulares como, serotonina, noradrenalina e dopamina estão reduzidas no hipocampo, hipotálamo e estriado de ratos diabéticos, induzidos pela toxina estreptozotocina (STZ) ou em ratos diabéticos geneticamente modificados (KINO; YAMATO; AOMINE, 2004; YAMATO et al., 2004; OHTANI; OHTA; SUGANO, 1997). Entretanto, no núcleo arqueado os resultados são controversos, mostrando aumento de noradrenalina, dopamina e serotonina em ratos diabéticos (BARBER et al., 2003). Administração de insulina e, concomitantemente redução glicêmica, revertem essas alterações de monoaminas, mostrando uma relação entre controle glicêmico e os níveis extracelulares monoaminérgicos no cérebro de ratos (BARBER et al., 2003; OHTANI; OHTA; SUGANO, 1997; YAMATO et al., 2004).

Além do sistema monoaminérgico, os sistemas GABAérgico e glutamatérgico também são influenciados pelo diabetes. Ácido γ -aminobutírico (GABA), principal neurotransmissor inibitório do SNC, está aumentado no hipotálamo de ratos induzidos ao diabetes por STZ (OHTANI; OHTA; SUGANO, 1997). Em estudo em

nosso laboratório, apesar de não ser encontrada alteração de GABA basal em ratos diabéticos induzidos por STZ comparados a ratos não diabéticos, foi identificado retardo na liberação de GABA extracelular no estriado, após exposição desses animais ao modelo de natação forçada (FST, do inglês, Forced Swimming Test), teste que avalia propriedades antidepressivas de novos fármacos (GOMEZ et al., 2003). Além disso, a hiperglicemia também afeta o compartimento pré-sináptico no tecido neuronal, reduzindo a quantidade de transportadores de GABA no neurônio pré-sináptico após 2 semanas de diabetes (BAPTISTA et al., 2011). Quanto ao glutamato, principal neurotransmissor excitatório do SNC, foi observada diminuição na liberação desse neurotransmissor no hipocampo de ratos após 12 semanas de diabetes (REISI et al., 2009). Entretanto, testes *in vitro* com sinaptossomos hipocámpais extraídos de ratos com 8 semanas de diabetes mostram que a liberação de glutamato está aumentada (BAPTISTA et al., 2011).

Essas evidências revelam que mudanças neurofisiológicas e endócrinas ocasionadas pelo diabetes aumentam a glicose sanguínea e cerebral, promovendo deterioração na morfologia cerebral, além de ocasionar desequilíbrio na atividade monoaminérgica, GABAérgica e glutamatérgica. Essas mudanças podem se tornar persistentes e proeminentes, e esse desequilíbrio, principalmente entre a excitação e inibição, pode levar a disfunção neuronal, com prejuízos cognitivos de memória e atenção, e o aparecimento de comorbidades como depressão de humor (KODL; SEAQUIST, 2008; BERGE; RIISE, 2015; MOHEET; MANGIA; SEAQUIST, 2015; GURURAJAN et al., 2016).

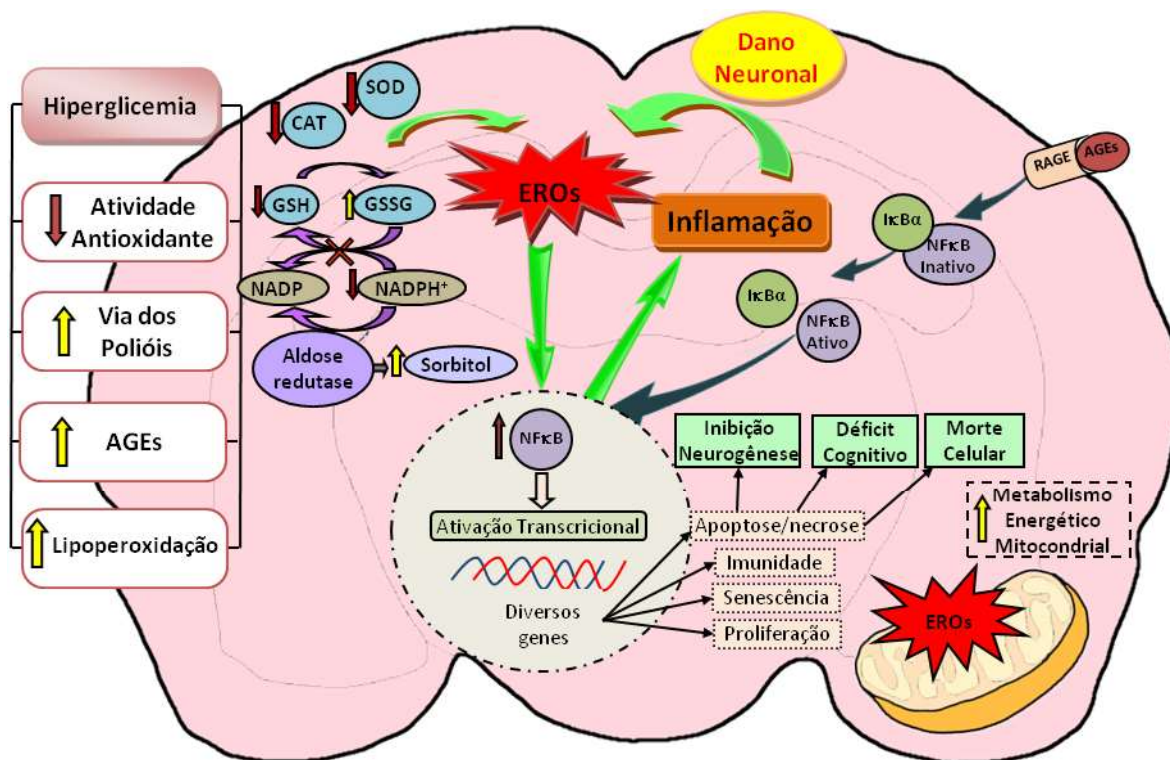


Figura 1 – Alterações neurofisiológicas decorrentes do diabetes que resultam em dano e morte neuronal no sistema nervoso central. Fonte: Adaptado de MURIACH et al., 2014.

I.1.1.5 Diabetes e depressão

Diabetes e depressão, de modo independente, são classificados como principais causas de incapacidade no mundo moderno. No Brasil, diabetes e depressão perfazem respectivamente a 6^a e 7^a causa de anos de vida ajustados por incapacidade (do inglês *Quality-adjusted life-year-QALY*) (MURRAY et al., 2015), refletindo alta prevalência e incapacitação de ambas as doenças. O diagnóstico de depressão em diabéticos mostra relevante interatividade, podendo tanto o diabetes agravar os sintomas de depressão como a depressão aumentar risco de complicações relacionadas ao diabetes (MOUSSAVI et al., 2007). Por outro lado, a depressão pode aumentar o risco de diabetes, pois promove mudanças comportamentais como diminuição de atividade física e maus hábitos alimentares, com consequente redução do metabolismo da glicose, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e resistência à insulina (LUSTMAN et al., 2000).

Coincidentemente, estudos revelam que a incidência da depressão é 2 a 3 vezes maior em indivíduos diabéticos do que em não diabéticos e que 1 em cada 3 pacientes diabéticos apresentam algum tipo de depressão (ANDERSON et al., 2001). Pacientes diabéticos depressivos tem piora significativa no seu prognóstico, aderem menos ao tratamento medicamentoso e são predispostos ao maior risco de obesidade, pobre controle glicêmico, tabagismo e sedentarismo (GOLDNEY et al., 2004).

Embora haja uma associação entre mau controle glicêmico e maior risco de depressão em pacientes diabéticos (LUSTMAN et al., 1992), os mecanismos patofisiológicos envolvidos na etiologia da depressão ainda não estão bem elucidados. A homeostase fisiológica no SNC depende do equilíbrio mantido por dois neurotransmissores com funções opostas de inibição e excitação neuronal, GABA e glutamato, respectivamente (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012). Entretanto, o desequilíbrio entre GABA e glutamato tem sido implicado na patofisiologia da depressão (SANACORA et al., 2004; SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012; RUBIO-CASILLAS; FERNÁNDEZ-GUASTI, 2016).

O GABA é abundante e amplamente distribuído no SNC, atuando como um neurotransmissor inibitório e participando do metabolismo energético. Por meio de sua neurotransmissão inibitória, modula uma série de mecanismos fisiológicos e comportamentais (PAREDES; AGMO, 1992). É sintetizado a partir do glutamato pela enzima ácido glutâmico descarboxilase (GAD) que possui duas isoformas GAD65 e GAD67. O término de sua ação é mediado por transportadores nomeados GAT, presente em neurônios e astrócitos. Uma vez na fenda sináptica, GABA se liga em receptores ionotrópicos do tipo GABA_A e metabotrópicos do tipo GABA_B. A ligação em receptores do tipo GABA_A permite influxo de íons cloreto no neurônio pós-sináptico, mediando transmissão sináptica inibitória (KENDELL; KRYSTAL; SANACORA, 2005).

O glutamato é sintetizado a partir de glicose ou de glutamina, produzida e secretada pelas células da glia, sendo transportada nas terminações nervosas e convertida em glutamato. Os receptores de glutamato são classificados em ionotrópicos (NMDA, AMPA e cainato) e metabotrópicos (mGluR), e o término da transmissão glutamatérgica se dá por recaptação do glutamato por seus transportadores pré-sinápticos e glias (EATT). A ligação do glutamato a seus receptores desencadeia eventos fisiológicos e fisiopatológicos, incluindo sensação

aumentada de dor (hiperalgesia), neurotoxicidade cerebral e alterações sinápticas envolvidas em certos tipos de formação da memória (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012).

Evidências mostram que a neurotransmissão GABAérgica está diminuída em indivíduos com depressão. GABA está diminuído no líquido cefalorraquidiano (GOLD et al., 1980), no plasma (SANACORA; SARICICEK, 2007) e no cérebro de pacientes depressivos (SANACORA et al., 1999). Já a neurotransmissão excitatória parece estar aumentada nesses indivíduos, mostrando níveis aumentados tanto no plasma de pacientes depressivos (MAURI et al., 1998), quanto no cérebro de indivíduos com depressão (HASHIMOTO; SAWA; IYO, 2007) ou com bipolaridade (LAN et al., 2009). Em modelos animais espontaneamente induzidos à depressão, reduzida expressão gênica e função nos receptores de glutamato no hipocampo foram encontradas (MATRISCIANO et al., 2008), e estudos clínicos sugerem uma redução na expressão gênica de transportadores de membrana de glutamato no hipocampo de pacientes depressivos (MEDINA et al., 2013). Esse desequilíbrio entre a transmissão inibitória e excitatória poderia contribuir para o desenvolvimento de sintomas depressivos.

Tanto a hiperglicemia crônica quanto eventos neurofisiológicos derivados desse desequilíbrio na circuitaria inibitória e excitatória, podem produzir alterações comportamentais em animais diabéticos avaliados em modelos de depressão. Em estudos realizados em nosso laboratório, verificamos que ratos induzidos ao diabetes apresentam o dobro do tempo de imobilidade no teste do nado forçado quando comparados com ratos não diabéticos, revelando um comportamento tipo-depressivo (GOMEZ; BARROS, 2000, CALETTI et al., 2012). Substâncias GABAérgicas, como clonazepam e taurina revertem o comportamento tipo-depressivo, reduzindo a imobilidade desses animais (GOMEZ; BARROS, 2000; CALETTI et al., 2012). Embora nesse modelo, o aumento da imobilidade possa estar associado ao estado de saúde dos animais, uma vez que apresentam declínio físico referente à rápida perda de peso, animais diabéticos não apresentam redução significativa da atividade locomotora quando testados no campo aberto ou quando expostos a ambiente novo (CALETTI et al., 2012; POPOVIÇ et al., 2001).

Níveis alterados de BDNF (do inglês, *brain derived neurotrophic factor*) também são identificados no plasma de pacientes diabéticos. BDNF é uma proteína pertencente à família de neurotrofinas, responsável pela sobrevivência, crescimento

e manutenção neuronal (PARK; POO, 2012). A interrupção do suporte neurotrófico tem sido associada à atrofia e perda neuronal, constituindo um dos mecanismos propostos para redução de volume do tecido neuronal em regiões do cérebro (DUMAN, 2014). Além disso, uma redução dos níveis de BDNF também é encontrada em pacientes depressivos, recuperando seus níveis normais após tratamento com antidepressivos (BRUNONI; LOPES; FREGNI, 2008).

Mecanismos neuroendócrinos, como ativação do eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal – HPA, com aumento do cortisol e catecolaminas também podem estar envolvidos na etiologia da depressão em diabéticos (HOLT; DE GROOT; GOLDEN, 2014), uma vez que níveis aumentados de hormônios do estresse são encontrados em depressivos (DE KLOET; DERIJK; MEIJER, 2007). Sabe-se que a ativação do eixo HPA pelo diabetes está associada à morte e atrofia neuronal, bem como redução da produção de fatores neurotróficos como o BDNF e alteração na função de sistemas neurotransmissores, todos implicado na etiologia da depressão (RUSTAD; MUSSELMAN; NEMEROFF, 2011; PUGAZHENTHI; QIN; REDDY, 2016). Assim, essas mudanças promovidas pelo diabetes favorecem o desenvolvimento dos sintomas depressivos (KAMAL et al., 2006).

Além das alterações endócrinas, alterações metabólicas no SNC podem estar relacionadas à etiologia da depressão em diabéticos. Como mencionado anteriormente, a hiperglicemia crônica favorece a formação de AGEs e essas substâncias têm sido detectados em grande quantidade no cérebro, estando relacionados aos eventos patofisiológicos das complicações diabéticas, como déficit cognitivo e de memória ou depressão de humor, além de prejuízo na comunicação glutamatérgica em ratos diabéticos (GOH; COOPER, 2008; GUGLIELMOTTO et al., 2012; NARDIN et al., 2016). Além disso, a ligação de AGEs ao seu respectivo receptor RAGE induz a translocação de NF- κ B ao núcleo celular, aumentando a expressão gênica de mediadores inflamatórios e, por consequência, de EROs. O aumento de mediadores inflamatórios e de estresse oxidativo é evidenciado também em pacientes depressivos, mostrando importante interação com o SNC, promovendo alterações na neurotransmissão, neuroendócrinas e na neuroplasticidade de maneira semelhante ao diabetes, contribuindo assim, para o desenvolvimento da depressão (MILLER; MALETIC; RAISON, 2009).

Parece evidente que mudanças em longo prazo ocasionadas pela hiperglicemia em várias regiões cerebrais e em circuitarias distintas que medeiam

comportamentos cognitivos e emocionais, representam a base biológica de transtornos de humor. E essas alterações são na grande maioria, compartilhadas aos eventos patofisiológicos que induzem o desenvolvimento de diversos tipos de depressão (Figura 2). Portanto, agentes terapêuticos que de maneira geral promovam controle dos efeitos patofisiológicos no diabetes, revertendo mudanças comportamentais nesses indivíduos, poderiam ser considerados alvos terapêuticos prevenindo ou amenizando o desenvolvimento de depressão no diabético.

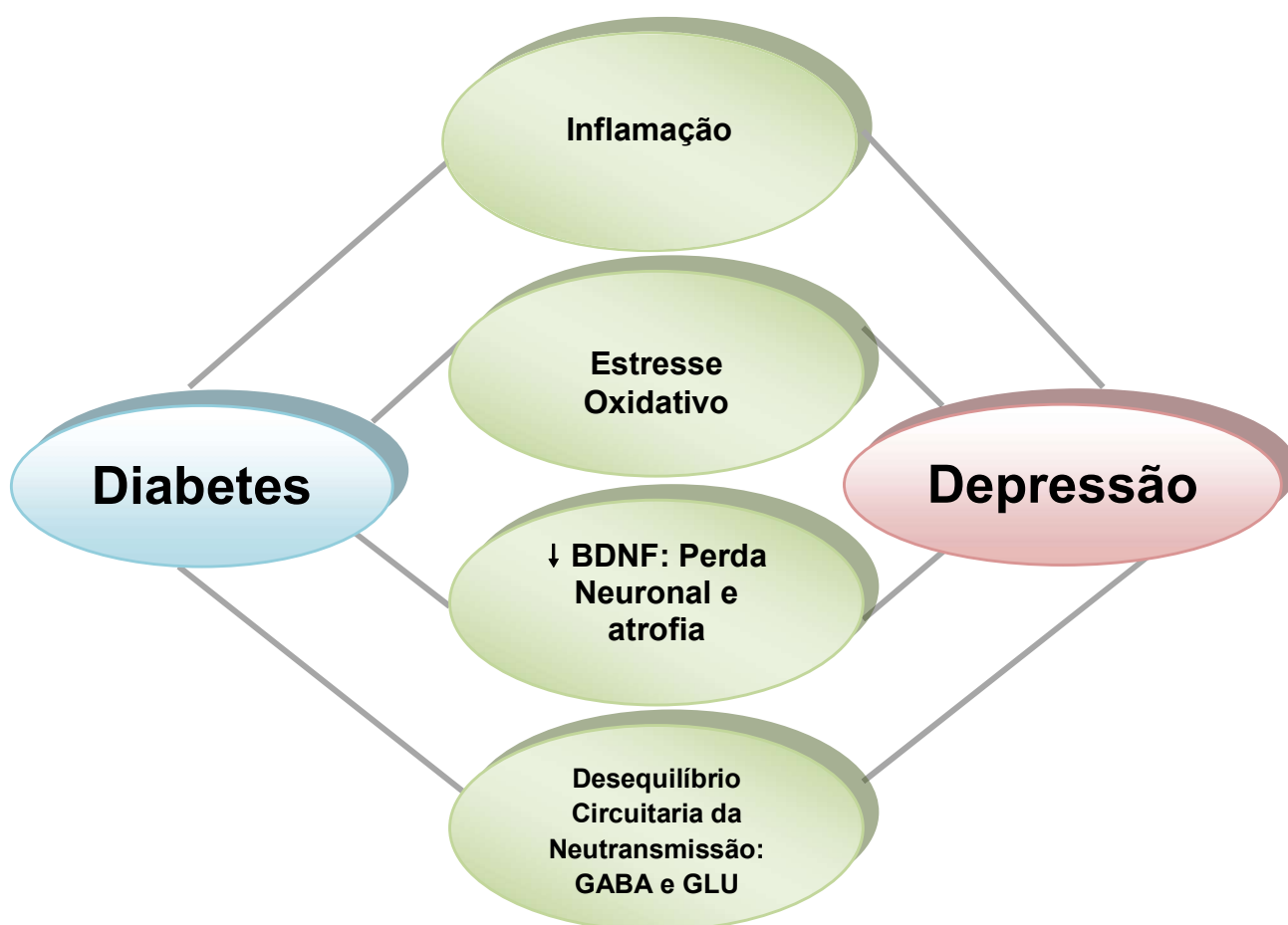


Figura 2 – Mecanismos patofisiológicos que contribuem para o desenvolvimento da depressão em diabéticos.

I.1.2 TAURINA

A taurina é considerada um aminoácido condicionalmente essencial porque não está incorporado em proteína, estando presente no organismo como molécula livre ou em peptídeos simples (HUXTABLE, 1992; SIRDAH, 2015). No organismo, deriva da síntese endógena ou da absorção intestinal de taurina exógena. A taurina é sintetizada no fígado e em menor quantidade no cérebro, pulmões, músculo esquelético, tecido adiposo e glândulas mamárias, distribuindo-se amplamente pelo organismo (LAMBERT et al., 2015). A taurina exógena, por outro lado, é obtida principalmente de frutos do mar e carne bovina, ou por ingestão de bebidas energéticas (STAPLETON et al., 1997; LAMBERT et al., 2015). A quantidade de taurina presente num indivíduo de 70 kg é de aproximadamente 70 g (0,1%), com uma concentração plasmática de 10 a 100 μM (HUXTABLE, 1992). No SNC, sua concentração varia de 8 a 20 μM no meio extracelular, entretanto o aminoácido é encontrado principalmente no meio intracelular, correspondendo a uma razão intracelular : extracelular de 600:1 (DELLA CORTE et al., 2002).

A taurina é um dos aminoácidos mais abundante nos mamíferos, sendo mais ácido que os demais por apresentar grupamento sulfônico (SO_3H) em substituição ao grupo carboxila (COOH) na sua estrutura (Figura 3). Esse grupamento confere propriedades antioxidantes ao aminoácido (PATEL et al., 2016).

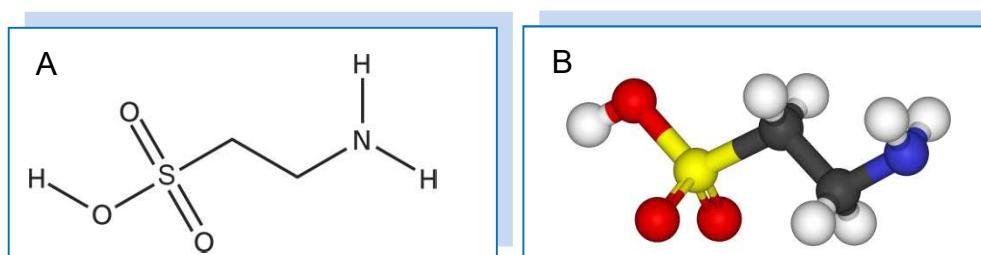


Figura 3 – Estrutura química planar (A) e tridimensional (B) do aminoácido taurina. Fonte: Adaptado de SIRDAH, 2015.

O equilíbrio dinâmico de taurina é mantido por meio de sua absorção, síntese, armazenamento e excreção (LAMBERT et al., 2015). A taurina é absorvida no trato intestinal por transportadores de taurina (TauT) dependentes de Na^+ e Cl^- , sendo amplamente distribuída aos tecidos pela corrente sanguínea. Na síntese endógena, pelo fígado, a taurina é derivada da metionina e cisteína, por reações de

descarboxilação e oxidação (Figura 4). Nesse processo de síntese, algumas enzimas são dependentes de vitamina B₆ como co-fator (HANSEN, 2001), uma enzima que sabidamente está reduzida em indivíduos diabéticos (AHN; MIN; CHO, 2011), justificando menor concentração de taurina plasmática nesses indivíduos (FRANCONI et al., 1995; MERHEB et al., 2007). Taurina não sofre metabolização, sendo excretada na urina ou conjugada com sais biliares e excretada pelas fezes (SVED et al., 2007).

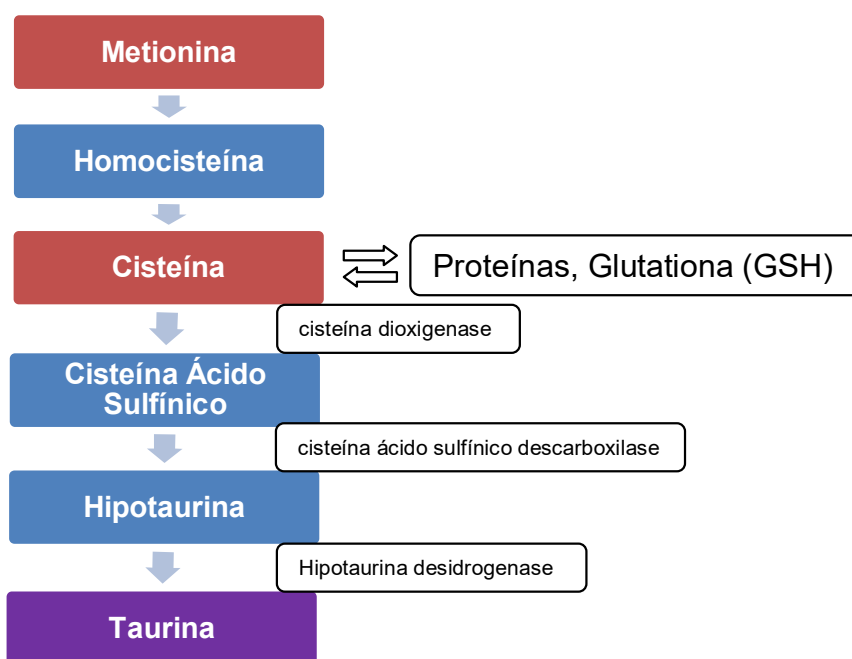


Figura 4 – Síntese da taurina. Fonte: Adaptado de HANSEN, 2001.

A taurina possui uma variedade de funções biológicas, participando de processos fisiológicos, incluindo a conjugação aos ácidos biliares, estabilização da membrana, regulação do cálcio intracelular, além de apresentar propriedade osmorreguladora, antioxidante, anti-inflamatória, anti-obesidade, redutora glicêmica, neuroprotetora e neuromoduladora (HUXTABLE, 1992; HANSEN, 2001; SCHAFFER; AZUMA; MOZAFFARI, 2009; KIM; GUPTA; LEE, 2007; MARCINKIEWICZ; KONTNY, 2014; MURAKAMI, 2015; WU; PRENTICE, 2010).

Sendo um dos aminoácidos mais abundantes no SNC, taurina está amplamente distribuída no tecido nervoso (HUXTABLE, 1989). As enzimas que

sintetizam taurina foram encontradas em regiões cerebrais como hipocampo (TABER et al., 1986) e cerebelo (KUMARI; PRENTICE; WU, 2013). Taurina é um composto hidrofílico, portanto necessita de transportadores específicos (TauT) para sua saída do plasma, captura pelas células endoteliais e liberação para o meio extracelular, atravessando a barreira hematoencefálica (LALLEMAND; DE WITTE, 2004; TACHIKAWA; HOSOYA, 2011).

Curiosamente, o aminoácido também é aceito como um neurotransmissor por alguns pesquisadores (WU; PRENTICE, 2010). Para ser considerada como um neurotransmissor, taurina preenche alguns critérios específicos que a torna especialmente importante ao SNC, como a presença de uma enzima específica para sua síntese no neurônio pré-sináptico; a liberação de taurina no meio extracelular é dependente ou independente de íons de cálcio para despolarização do neurônio; ação em receptores GABA_A provoca hiperpolarização neuronal em resposta a abertura de canais de cloro no cerebelo e hipocampo; o término de sua ação no terminal sináptico ocorre por sua captação através de transportador específico; e quanto a presença de um receptor específico no neurônio pós-sináptico para a taurina, as evidências são sugestivas, porém não são conclusivas, o que faz de sua classificação como um neurotransmissor não ser aceita por todos os pesquisadores (RIPPS; SHEN, 2012).

I.1.2.1 Taurina e diabetes

Evidências mostram que o tratamento com taurina pode reduzir a glicemia no diabetes e retardar as complicações decorrentes da doença (SCHAFFER; AZUMA; MOZAFFARI, 2009; ITO; SCHAFFER; AZUMA, 2012). Sugere-se que disfunções metabólicas determinadas pela hiperglicemia possam ser responsáveis pela deficiência de taurina nesses indivíduos (ITO et al., 2015; ITO; SCHAFFER; AZUMA, 2012). O efeito hipoglicemiante da taurina foi identificado em modelos animais de DM1 e DM2 e sobre a secreção e sensibilidade à insulina (ITO; SCHAFFER; AZUMA, 2012; SCHAFFER; AZUMA; MOZAFFARI, 2009).

Estudos pré-clínicos mostram que animais diabéticos por STZ, suplementados com taurina apresentam redução da glicemia, hemoglobina glicada, colesterol e triglicerídeos plasmáticos (GOODMAN; SHIHABI, 1990; YOU; CHANG, 1998; CALETTI et al., 2012; MANNA; DAS; SIL, 2013). A suplementação de taurina

também aumenta a sobrevivência de animais diabéticos (DI LEO et al., 2004), indicando efeito protetor frente às complicações apresentadas pela doença. Explorando efeitos antidiabéticos da taurina, autores apontam que esse efeito poderia estar associado ao aumento de transportadores de glicose pelos tecidos, especialmente o tecido muscular estriado cardíaco, porém sem resultados para o SNC (DAS; VASAN; SIL, 2012). Também não se descarta que taurina atue sobre receptores GABA_A nas células α -pancreáticas secretoras de glucagon, reduzindo sua secreção e mobilização de glicose hepática (BUSTAMANTE et al., 2001; CALETTI et al., 2012).

Taurina também apresenta efeito hipoglicemiante em modelos animais de DM2. Nesses animais, a taurina aumenta sensibilidade dos receptores de insulina na membrana plasmática, concomitantemente ao aumento da liberação de insulina pela célula β -pancreática, promovendo homeostasia da glicose e melhorando o perfil glicêmico (CARNEIRO et al., 2009; EL IDRISSEI; BOUKARROU; L'AMOREAUX, 2009; L'AMOREAUX et al., 2010). O aumento da secreção de insulina ocorre após a taurina ser transportada para o interior da célula β -pancreática, por transportadores TauT específicos, inibindo canais de K⁺ sensíveis ao ATP e promovendo liberação de grânulos de insulina (L'AMOREAUX et al., 2010). A sensibilização de receptores de insulina pela taurina estão relacionados à sua ação direta, estimulando a fosforilação de tirosina e ativando a cascata de translocação de transportadores de glicose (CARNEIRO et al., 2009).

Além da ação hipoglicemiante, taurina tem importante papel na diminuição dos eventos patofisiológicos do diabetes. Como visto anteriormente, diabetes gera resposta inflamatória e estresse oxidativo, via produção AGEs e aumento da expressão de NF- κ B. Taurina, suplementada na água de ratos diabéticos por 8 semanas diminui a expressão de NF- κ B e também o estresse oxidativo no cérebro desses animais (AGCA et al., 2014). Nandhini e colaboradores (2004) também mostraram que taurina inibe a reação de glicação *in vitro*, detoxificando AGEs tóxicos formados e prevenindo o acúmulo desses compostos (NANDHINI; THIRUNAVUKKARASU; ANURADHA, 2004). Diminuição da produção de AGEs e da expressão de NF- κ B, atenua a produção exacerbada de citocinas inflamatórias e EROs nesse ambiente de hiperglicemia.

Há evidências que apontam que taurina inibe a produção de radicais livres e aumenta a atividade de enzimas antioxidantes, como glutathiona peroxidase, catalase

e superóxido dismutase, evidenciando potencial antioxidante desse aminoácido, revertendo a toxicidade de compostos tóxicos (MARCINKIEWICZ; KONTNY, 2014). Estudos avaliando ação direta da taurina sobre os radicais livres apresentam resultados controversos. Alguns autores mostram que a taurina é incapaz de detoxificar diretamente radicais livres clássicos, como radical superóxido, radical hidroxil e peróxido de hidrogênio, devido à falta de um radical oxidante (SCHAFFER; AZUMA; MOZAFFARI, 2009; PATEL et al., 2016). Entretanto, outros mostram que em concentração fisiológica, taurina é capaz de sequestrar radicais superóxido e peróxido, além de espécies reativas de nitrogênio, porém sem qualquer reatividade sobre o peróxido de hidrogênio (OLIVEIRA et al., 2010). É importante salientar que a produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio é necessária para defesa contra patógenos exógenos. No entanto, prejuízo ocorre quando há desequilíbrio entre a produção exacerbada desses compostos e redução das defesas antioxidantes.

Taurina também neutraliza compostos tóxicos, como ácidos hipohalosos, responsáveis pela eliminação de bactérias, vírus, fungos e larvas, produzindo a molécula taurina-haloamina, que é mais estável e menos tóxica que esses ácidos. Os ácidos hipohalosos, quando produzidos em excesso, além de estresse oxidativo estimulam células do sistema imune para produção e liberação de citocinas pró-inflamatórias. Sugere-se que taurina-haloamina apresenta atividade anti-inflamatória, inibindo a produção de TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8, mediada pela diminuição de NF- κ B (KIM; KIM, 2005; MARCINKIEWICZ et al., 2006; KIM; CHA, 2014).

Níveis plasmáticos de taurina estão reduzidos em pacientes diabéticos (FRANCONI et al., 1995; MERHEB et al., 2007) e em animais diabéticos induzidos por STZ (FRANCONI et al., 1996), sendo possível essa deficiência estar envolvida com as complicações diabéticas. O aumento dos níveis plasmáticos de taurina em indivíduos diabéticos por suplementação poderia ser eficaz na prevenção dos eventos patofisiológicos subjacentes, reduzindo assim a severidade da doença.

I.1.2.2 Taurina e depressão

A deficiência de taurina tem sido associada com aumento da incidência de distúrbios neurológicos e psiquiátricos tais como esquizofrenia, epilepsia, Alzheimer

e depressão maior (BIRDSALL, 1998; KIM et al., 2014; LIMA et al., 2003). No entanto, poucos estudos exploram o potencial terapêutico desse aminoácido na prevenção de doenças neurodegenerativas ou tratamento de distúrbios de humor. Estudos em humanos comprovam que taurina está reduzida no plasma e no líquido cefalorraquidiano de pacientes depressivos, revelando possível interação com depressão (PERRY et al., 1975). Além disso, níveis reduzidos de taurina também são encontrados em diabéticos (FRANCONI et al., 1995, 1996).

Como visto anteriormente, o diabetes promove uma série de modificações neuroendócrinas que aumentam o risco de depressão. Assim, em estudo em nosso laboratório, almejamos identificar um possível efeito antidepressivo da taurina em ratos diabéticos (CALETTI et al., 2012). Utilizando um modelo animal de diabetes induzido por STZ, tratamos os animais por 28 dias com doses de taurina (0, 25, 50 e 100 mg/kg) comparando com animais não diabéticos controles também tratados. Ao final dos experimentos, os animais foram expostos ao FST. Observamos que ratos diabéticos apresentaram maior tempo de imobilidade no FST, exibindo um comportamento tipo-depressivo. A taurina reverteu esse comportamento em duas doses, de 25 e 100 mg/kg, sendo a última dose responsável também pelo efeito hipoglicemiante nos animais diabéticos (CALETTI et al., 2012). É importante notar que taurina mostra seu efeito antidepressivo somente em ratos diabéticos, sugerindo ação dependente do comprometimento neuroendócrino desses animais, entretanto, os mecanismos pelos quais taurina reverte o comportamento tipo-depressivo ainda não foram elucidados.

Em função da sua importância na modulação da função central, a redução na neurotransmissão GABAérgica tem sido cada vez mais implicado na etiologia da depressão, uma vez que agentes GABAérgicos têm demonstrado eficácia farmacológica no tratamento de distúrbios do humor (GOMEZ; BARROS, 2000; SANACORA et al., 2004). O desequilíbrio no sistema GABAérgico afeta toda a circuitaria neuronal, promovendo alterações inclusive no glutamato, que também tem sido cada vez mais envolvido na etiologia da depressão (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012). Nesse contexto, a quantidade elevada de taurina no SNC tem relevante finalidade. Estudos mostram que a suplementação oral de taurina modula tanto a transmissão inibitória quanto excitatória (DEL OLMO et al., 2000; EL IDRISSE, 2006; EL IDRISSE; HARRIS; TRENKNER, 1998; EL IDRISSE; TRENKNER, 2004). Sendo estruturalmente similar ao GABA (Figura 5), taurina age juntamente

com o GABA ativando receptores GABA_A, permitindo o influxo de íons cloreto nos neurônios pós-sinápticos, aumentando a inibição neuronal (EL IDRISSEI; TRENKNER, 2004). Taurina também age indiretamente sobre a transmissão excitatória, regulando a homeostase do cálcio intracelular após a transmissão excitatória do glutamato, prevenindo dano neuronal associado com a excitotoxicidade glutamatérgica (EL IDRISSEI, 2006). Esses mecanismos mostram que o tratamento com taurina modula a neurotransmissão, seja pelos efeitos diretos sobre a transmissão GABAérgica, como pelo efeito indireto na transmissão glutamatérgica.

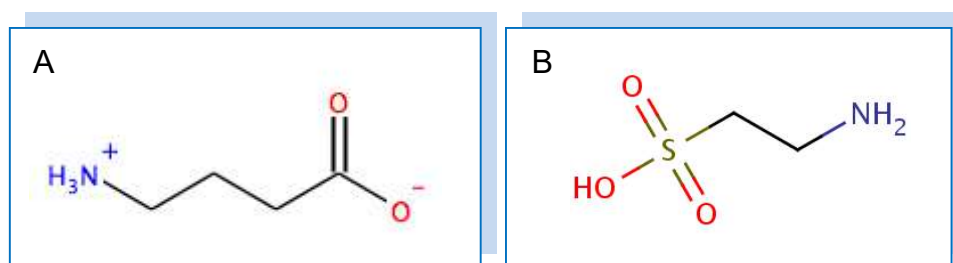


Figura 3 – Estrutura química do GABA (A) e taurina (B).

Uma vez que o desequilíbrio entre a excitação e inibição pode levar a uma disfunção neuronal propiciando o desenvolvimento de alterações de humor, como a depressão (BRAMBILLA et al., 2003; KENDELL; KRYSTAL; SANACORA, 2005; SANACORA; SARICICEK, 2007; SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012), e como a taurina interage modulando ambos os sistemas, o efeito antidepressivo que a taurina apresenta (MURAKAMI; FURUSE, 2010; CALETTI et al., 2012) pode ser, em parte, sugestivo dessa interação.

Outros fatores biológicos que estão relacionados ao desenvolvimento da depressão incluem redução da neurogênese, aumento da apoptose, estresse oxidativo, processos inflamatórios e diminuição de defesas antioxidantes (GAŁECKI et al., 2015). Taurina poderia reduzir essas alterações, pois evidências demonstram seu papel na neurogênese, anti-apoptose, antioxidante e anti-inflamatório (GEBARA et al., 2015; LEON et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010; MARCINKIEWICZ et al., 2006), podendo interromper o ciclo de desenvolvimento dos sintomas depressivos, reforçando a justificativa de seu efeito antidepressivo.

I.2 JUSTIFICATIVA

Em estudo anterior avaliamos o efeito antidepressivo de três diferentes doses de taurina (0, 25, 50 e 100 mg/kg) em animais diabéticos e não-diabéticos. Observamos que a taurina apresenta efeito antidepressivo em animais diabéticos em duas doses: 25 e 100 mg/kg. O aminoácido também agrega outros efeitos benéficos, reduzindo a glicemia e melhorando parâmetros nutricionais nos animais diabéticos (CALETTI et al., 2012).

Identificamos o efeito antidepressivo da taurina somente em animais diabéticos, e isso poderia ser justificado pelo fato de que a hiperglicemia crônica promove, em longo prazo, alterações neuroquímicas no SNC que mimetizam a depressão nesses animais. Portanto, ratos diabéticos seriam mais sensíveis ao efeito antidepressivo de fármacos no FST, sugerindo que o modelo de diabetes poderia representar também, um modelo crônico de depressão.

Dentre as modificações que a hiperglicemia crônica promove no SNC e que são compartilhados pela patofisiologia da depressão estão o desequilíbrio na circuitaria inibitória e excitatória, com prejuízo na neurotransmissão GABAérgica e glutamatérgica, como também redução no BDNF, neurotrofina responsável pela sobrevivência, crescimento e manutenção de neurônios. BDNF está diminuído no plasma de pacientes diabéticos e deprimidos, e também está associada à perda e atrofia neuronal, contribuindo assim para o desenvolvimento de depressão nesses pacientes. Além disso, aumento do estresse oxidativo e da inflamação são comumente identificados em diabéticos e depressivos, aumentando a vulnerabilidade do tecido neuronal frente a esses potentes agressores. Todas essas alterações poderiam ser manifestadas em ratos diabéticos, mostrando que o modelo de diabetes promove alterações patofisiológicas da depressão.

Uma vez identificado o papel antidepressivo da taurina em ratos diabéticos, buscaremos investigar os possíveis mecanismos para tal efeito. Evidências mostram importante interação da taurina com o sistema GABAérgico e glutamatérgico, modulando diretamente a transmissão GABAérgica e indiretamente a transmissão glutamatérgica. Taurina também melhora parâmetros relacionados à neurobiologia da depressão, representados por seu papel estimulador da neurogênese, anti-apoptótico, antioxidante e anti-inflamatório. Coincidentemente, indivíduos diabéticos e depressivos têm menores níveis de taurina no plasma comparados à população

em geral (FRANCONI et al., 1995; PERRY et al., 1975). Dessa forma, investigaremos o possível papel da taurina em todas as alterações promovidas pelo diabetes mencionadas acima, tais como sistema GABAérgico, BDNF, atrofia cerebral, estresse oxidativo e inflamação, em regiões do sistema límbico importantemente envolvidas na depressão, como hipocampo e córtex frontal, buscando mecanismos potenciais que justificariam o efeito antidepressivo em ratos diabéticos.

I.3 OBJETIVOS

I.3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar o efeito neuromodulador e/ou neuroprotetor da taurina em ratos diabéticos.

I.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

① investigar alterações na expressão de mRNA na subunidade α_2 do receptor GABA_A e de BDNF no hipocampo de ratos diabéticos e não diabéticos submetidos à natação forçada; além de avaliar atrofia cerebral, memória e possível reversão desses parâmetros pela taurina;

② avaliar GABA e glutamato na fenda sináptica hipocampal de ratos diabéticos e não diabéticos submetidos à natação forçada e a influência da taurina nesses parâmetros;

③ identificar a produção de marcadores oxidantes, antioxidantes e inflamatórios, bem como avaliar dano ao DNA produzidos pelo diabetes e a interferência da taurina nesse processo, adicionando possíveis mecanismos de ação da taurina e fortalecendo seu efeito antidepressivo.

PARTE II

ARTIGOS CIENTÍFICOS

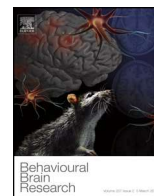
II.1 CAPÍTULO I

Artigo 1: Dose antidepressiva de taurina aumenta a expressão de mRNA da subunidade α_2 do receptor GABA_A e de BDNF no hipocampo de ratos diabéticos.

Os experimentos apresentados neste trabalho foram designados a responder às seguintes perguntas:

- 1) Diabetes altera a expressão de mRNA da subunidade α_2 do receptor GABA_A e de BDNF no hipocampo de ratos? Taurina modifica a expressão desses marcadores em ratos diabéticos?
- 3) Diabetes altera a memória de ratos? Qual é o efeito da taurina nesse contexto?
- 4) Diabetes diminui o tamanho do cérebro de ratos? Taurina previne a alteração no tamanho do cérebro de ratos diabéticos?

Este artigo foi publicado no periódico *Behavioural Brain Research* (Fator de Impacto: 3.028), intitulado “Antidepressant dose of taurine increases mRNA expression of GABA_A receptor α_2 subunit and BDNF in the hippocampus of diabetic rats”. **Behavioural Brain Research**, v. 283, p. 11–15, 15 abr. 2015. doi: 10.1007/s00726-012-1226-x.



Research report

Antidepressant dose of taurine increases mRNA expression of GABA_A receptor α_2 subunit and BDNF in the hippocampus of diabetic rats



Greice Caletti^{a,*}, Felipe Borges Almeida^b, Grasiela Agnes^c, Maurício Schüler Nin^{a,d}, Helena Maria Tannhauser Barros^{a,b}, Rosane Gomez^{a,e}

^a Programa de Pós Graduação de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA, Sarmiento Leite, 245, 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil

^b Departamento de Farmacociências, Laboratório de Neuropsicofarmacologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA, Sarmiento Leite, 245, 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil

^c Laboratório de Biologia Molecular, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA, Sarmiento Leite, 245, 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil

^d Disciplina de Bioestatística, Centro Universitário Metodista do IPA, Cel. Joaquim Pedro Salgado, 80, 90420-60, Porto Alegre, RS, Brazil

^e Departamento de Farmacologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Sarmiento Leite, 500, 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil

HIGHLIGHTS

- Taurine increases GABA_A α_2 subunit expression in the hippocampus of diabetic rats.
- Taurine increases BDNF expression in the hippocampus of diabetic rats.
- Diabetic rats have lower brain weight and taurine increases it.
- Taurine increases the short-term memory in diabetic rats.
- GABA_A α_2 subunit and BDNF changes may explain the antidepressant effect of taurine.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 December 2014

Received in revised form 9 January 2015

Accepted 10 January 2015

Available online 19 January 2015

Keywords:

Depression

Amino acid

Mood disorders

Brain atrophy

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a metabolic disorder associated with higher risk for depression. Diabetic rats present depressive-like behaviors and taurine, one of the most abundant free amino acids in the brain, reverses this depressive behaviors. Because taurine is a GABA_A agonist modulator, we hypothesize that its antidepressant effect results from the interaction on this system by changing α_2 GABA_A receptor subunit expression, beside changes on BDNF mRNA, and memory in diabetic rats. Streptozotocin-diabetic and non-diabetic Wistar rats were daily injected with 100 mg/kg of taurine or saline, intraperitoneally, for 30 days. At the end of the experiment, rats were exposed to the novel object recognition memory. Later they were euthanized, the brains were weighed, and the hippocampus was dissected for α_2 GABA_A subunit and BDNF mRNA expression. Real-time quantitative PCR (qPCR) showed that diabetic rats presented lower α_2 GABA_A subunit and BDNF mRNA expression than non-diabetic rats and taurine increased both parameters in these sick rats. Taurine also reversed the lower brain weight and improved the short-term memory in diabetic rats. Thus, the taurine antidepressant effect may be explained by interference with the GABA system, in line to its neuroprotective effect showed here by preventing brain weight loss and improving memory in diabetic rats.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

* Corresponding author at: Programa de Pós Graduação de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA, Sarmiento Leite, 245, Room 317, 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +55 5198480468; fax: +55 5133476711.

E-mail address: cgreice@hotmail.com (G. Caletti).

1. Introduction

Diabetes mellitus is a metabolic disorder that causes peripheral and central damage, altering the proper functioning of blood vessels, heart, kidneys, eyes, and brain [1,2]. In diabetic individuals, chronic hyperglycemia is associated with cognitive deficit and neuropsychiatric disorders such as depression [3,4]. Indeed, studies indicate that diabetic patients have a more than 20% higher risk of developing depression than do non-diabetic controls [5–7].

In rodents, chronic hyperglycemia is related to depressive-like behavior in the forced swimming test (FST), an animal model of depression [2,8–11].

Interestingly, GABAergic drugs such as clonazepam and taurine [2,9] reverse these depressive-like behaviors in diabetic rats. Furthermore, the γ -aminobutyric acid (GABA) neurotransmitter is decreased in the synaptic cleft in diabetics rats [2] and in depressed patients [12], suggesting that a GABAergic imbalance is crucial to the etiology of depression [12–15]. Moreover, studies in knockout mice have shown that the lack of the GABA_A receptor (GABA_AR) α_2 subunit is associated with depressive-like behaviors in different animal models [16].

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a well-known biomarker for depression and anxiety [17]. Recent studies have shown that both depressed [18,19] and diabetic patients [20,21] have lower serum BDNF levels, and that antidepressant treatment normalizes them [17]. A BDNF gene polymorphism is also associated with smaller hippocampal volume and brain atrophy [22,23].

Taurine (2-aminoethane-sulfonic acid) is one of the most abundant free amino acids in the brain [24]. It is a structural analog of the GABA that activates GABA_A receptors [25] and mimics the actions of GABA [26,27]. We previously reported the dose-dependent antidepressant effect of taurine in diabetic rats exposed to the FST [9]. However, the mechanism by which taurine reduces depressive-like behaviors in rodents is yet to be elucidated.

Thus, the objective of our study was to determine if an antidepressant dose of taurine alters the mRNA expression of GABA_AR α_2 subunit and BDNF in the hippocampus of diabetic rats. Additionally, we studied the effect of this dose on memory and brain size in diabetic rats.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Forty male Wistar rats (270–300 g), born and reared in the animal facility of Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Brazil, had diabetes induced by 60 mg/kg streptozotocin (STZ; Sigma, St Louis, USA) ($n=20$), which was dissolved in citrate buffer, pH 4.3, and administered intraperitoneal (i.p.) [32]. Rats in the control group ($n=20$) received vehicle, 1 mL/kg i.p. Diabetes was confirmed 48 h later with a glucometer (Glucotrend, Institute Boehringer, Mannheim, Germany), and only animals with blood glucose higher than 200 mg/dL were included in the study. All animals were housed four per cage (48 × 34 × 22 cm) and kept under ideal conditions of temperature and humidity, 12-h light–dark cycle (lights on 7:00 AM–7:00 PM), and food and water ad libitum. The experiments were approved by the Ethics Committee for Animal Use of the Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (#134/12), according to the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

2.2. Experimental procedure

After diabetes confirmation, rats were allocated to receive 100 mg/kg taurine (Biofarma, Porto Alegre, Brazil) (CRT100; STZ100) or saline (CTR0; STZ0), i.p., once a day for 30 days ($n=10$ /group). On days 23 and 24, rats were tested in the novel object recognition memory test (NORT). On days 29 and 30, rats were subjected to the FST [9]. At the end of the experiment, they were euthanized by decapitation, and the brain was carefully dissected and weighed. Immediately afterwards, the hippocampus was dissected and frozen in liquid nitrogen for later analysis of mRNA expression of GABA_AR α_2 subunit and BDNF by real-time

quantitative PCR (qPCR). The antidepressant effect of taurine in diabetic rats was previously described in Caletti et al., [9].

2.3. Real-time quantitative PCR (qPCR)

Relative gene expression of GABA_AR α_2 subunit and BDNF in the hippocampus was determined using reverse transcription combined with real-time quantitative PCR (qPCR) and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [10]. For hippocampal gene expression, five to six samples were randomly chosen from the animals subjected to the behavioral protocols [9]. Total RNA was extracted from the hippocampus using the Trizol™ Isolation Reagent Kit (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions, and samples were stored at -80°C . cDNA was synthesized using SuperScript III (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). DNA was quantified by using a NanoDrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). qPCR analysis was performed at least in duplicate using the StepOnePlus Real-Time PCR System (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). The set of primers for GABA_A α_2 subunit (sense: 5'-GACAATGACCACATTAAGCATCAG-3' and antisense: 5'-TCTTGGCTTCGGCTGGCTTGTCTC-3'), BDNF (sense: 5'-GATGAGGACCAGAAGGTTTCG-3' and antisense: 5'-GATTGGGTAGTTCGGCATTG-3'), and β -actin (endogenous control) (sense: 5'-TGTGATGGTGGGAATGGGTCAG-3' and antisense: 5'-TTTGATGTCACGCACGATTTC-3') was chosen from *Rattus norvegicus* data from the National Center for Biotechnology Information. The reaction contained 50 ng cDNA, 2× Power SYBR Green PCR Master Mix (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), and 0.17 μM of each primer.

2.4. Novel object recognition test

On day 23, rats were individually habituated to an arena (100 × 100 × 50 cm) for 20 min. On the next day, 60 min after taurine or saline administration, they were placed again in the same arena with two identical objects (A+A). They were allowed to explore them for 5 min during this familiarization phase and then removed from the arena. The objects and floor were cleaned with 10% ethanol and dried with a paper towel to remove olfactory cues. Immediately afterwards, the same rat was returned to the arena, where one object was replaced with a new one (A+B) to evaluate working memory for 5 min. Later, 150 min after the working memory test, rats were returned to the arena, with the old object and a second new one (A+C), and they explored them for 5 min for short-term memory evaluation. Finally, 24 h later, before taurine administration, rats were placed again in the arena with the old object and a third new one (A+D) for 5 min to evaluate long-term memory. Exploration was defined as sniffing or touching the objects with the nose and/or forepaws. Sitting on or going around the objects was not considered exploratory behavior [28]. Objects were heavy enough to ensure that they could not be knocked over or moved around by the animal. A video camera recorded all behaviors for later analysis by a blinded and trained evaluator. Memory index was considered as the time spent exploring the novel object divided by the sum of the times exploring the old and the novel object multiplied by 100 [29].

2.5. Statistical analyses

Statistical analyses were performed using a two-way analysis of variance (ANOVA-2 way) with diabetes condition and taurine treatment as factors. When appropriate, the Tukey post hoc test was performed. All results were presented as the mean \pm standard error of the mean (S.E.M.) and statistical significance was set at

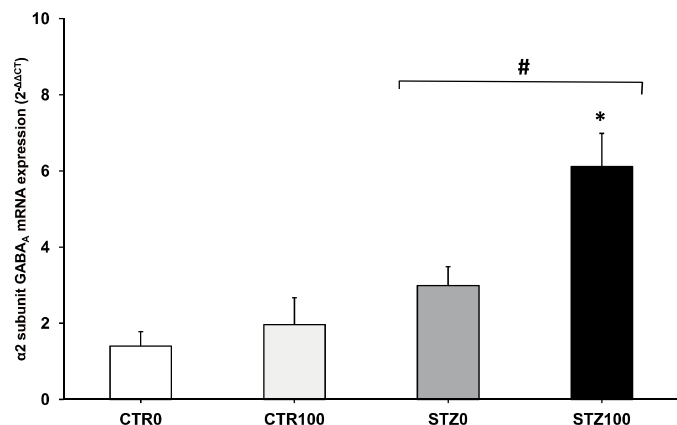


Fig. 1. Effect of chronic treatment with 100 mg/kg taurine on the mRNA expression of GABA_A receptor α_2 subunit in the hippocampus of diabetic (STZ) and non-diabetic rats (CTR). Data expressed as mean \pm S.E.M.; two-way ANOVA + Tukey test. # Different from non-diabetic rats (CTR, $P=0.001$); * different from saline control saline treated STZ-diabetic rats (STZ0, $P=0.011$).

$P < 0.05$. The Sigma Stat program (Jandel Scientific Co., v. 11.0, San Jose, USA) was used.

3. Results

Our results showed that diabetes increased the mRNA expression of GABA_A receptor α_2 subunit in the hippocampus of STZ-diabetic rats (CTR \times STZ) ($F_{(1,21)}=22.16$, $P < 0.001$) (Fig. 1). We also showed that an antidepressant-like dose of taurine significantly increased this GABA_A receptor subunit expression in the hippocampus, but only in STZ-diabetic rats (STZ100) ($F_{(1,21)}=9.17$, $P=0.011$). Indeed, we found a tendency to interaction between diabetes condition and taurine treatment ($P=0.059$), suggesting that taurine is more effective in diabetic sick rats.

Regarding BDNF mRNA expression, we found an interaction between diabetes condition and taurine treatment ($F_{(1,19)}=5.04$, $P=0.043$) (Fig. 2). BDNF was lower in STZ0 than in CTR0 rats ($P=0.013$) and taurine increased its expression only in STZ rats ($F_{(1,19)}=5.95$, $P=0.007$), with no differences in CTR rats ($P=0.732$).

Additionally we showed that STZ rats present lower brain weight than CTR rats ($F_{(1,37)}=25.71$, $P < 0.001$). Taurine treatment not only prevented the brain weight loss in STZ100 rats, but also increased the brain weight in CTR100 ($F_{(1,37)}=23.44$, $P < 0.001$)

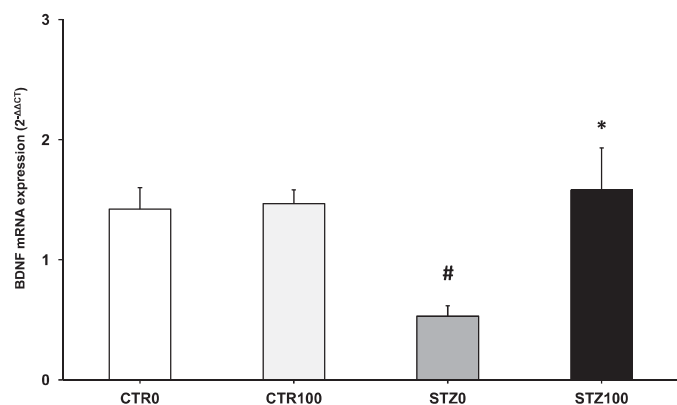


Fig. 2. Effect of chronic treatment with 100 mg/kg taurine on the mRNA expression of BDNF in the hippocampus of diabetic (STZ) and non-diabetic rats (CTR). Data expressed as mean \pm S.E.M.; two-way ANOVA + Tukey test. # Different from non-diabetic rats (CTR, $P=0.013$); * different from saline control saline treated STZ-diabetic rats (STZ0, $P=0.007$).

Table 1

Chronic taurine (100 mg/kg/day) prevents brain weight loss in diabetic (STZ) and non-diabetic (CTR) rats. Data expressed as mean \pm S.E.M.; Two-way ANOVA + Tukey test.

	<i>n</i>	Brain weight (g)	<i>P</i>
CTR0	10	1.13 \pm 0.01	
CTR100	10	1.24 \pm 0.02 [†]	<0.001
STZ0	10	1.09 \pm 0.01 [#]	<0.001
STZ100	10	1.13 \pm 0.01 [†]	0.038

[#] Different from CTR0 and STZ100 rats.

[†] Different from untreated groups (CTR0 and STZ0).

(Table 1). For these parameter we only found a tendency to diabetes and treatment interaction ($F_{(1,37)}=3.81$, $P=0.059$). Moreover, we found that taurine increased the short-term memory in STZ100 rats ($F_{(1,37)}=6.67$, $P=0.015$), with no differences among CTR rats or other types of memory (Fig. 3). In the short-term memory test, we only found that the STZ0 rats present a tendency to lower memory index than CTR0 rats ($P=0.056$).

4. Discussion

Our study aimed to identify some of the mechanisms by which taurine exerts an antidepressant-like effect in diabetic rats. Here, we showed that taurine treatment increased mRNA expression of GABA_A receptor α_2 subunit and BDNF in the hippocampus of STZ-diabetic rats. Additionally, we showed that taurine, at a dose of 100 mg/kg, prevented brain weight loss in STZ-diabetic rats and increased it in non-diabetic rats, while improving short-term memory in diabetic rats. Although not yet recognized as a full neurotransmitter, studies indicate that taurine acts as an agonist on GABA_A receptor in synaptic and extrasynaptic membranes [24,25,30]. Here, we showed that an antidepressant dose of taurine affected GABA system function, increasing GABA_A receptor α_2 subunit expression in the hippocampus of STZ-diabetic rats. Homozygous GABA_A receptor α_2 subunit knockout mice exhibit a pro-depressive profile in the FST and in the Tail Suspension Test [16], demonstrating the role of GABA in depressive-like behavior in rodents [2,32]. In a previous study, we showed that there was an increase in extracellular GABA levels during the FST in CTR and STZ rats but delayed in STZ rats [2]. However, instead of a lower mRNA expression of GABA_A receptor α_2 subunit, we found here that its expression was higher in STZ than CTR rats that swam. We propose that higher expression of GABA_A receptor α_2 subunit is a compensatory response to lower extracellular GABA levels in STZ rats, sensitizing this neurotransmitter system. Because the increase in receptor mRNA expression is an indirect measure of neurotransmitter system activity, further studies will be conducted to explore the α_2 -containing GABA_A receptor in the post- and extra-synaptic membranes. However, it is clear that taurine at a dose that reverses depressive-like behaviors in STZ rats, increased GABA_A receptor α_2 subunit expression. Indeed, we found a tendency for an interaction between the diabetes condition and taurine treatment, indicating that this effect is more important in diabetic rats. Studies show that chronic taurine supplementation increases not only GABA levels but also GABA synthesis by glutamic acid decarboxylases (GAD65 and GAD67) in the hippocampus of mice [33]. Because GABA levels are lower in STZ rats, we suggest that the antidepressant-like effect of taurine is related to the restoring of GABA system function, increasing GABA synthesis and α_2 -containing GABA_A receptor expression. Indeed, the α_2 -containing GABA receptors are highly expressed in limbic regions, and they may represent a target for the development of new antidepressants [34], such as taurine or other similar drugs.

Corresponding to BDNF serum levels in humans [20,21], we found that BDNF expression was lower in the hippocampus of STZ-diabetic rats. Because BDNF is a member of the nerve growth factor

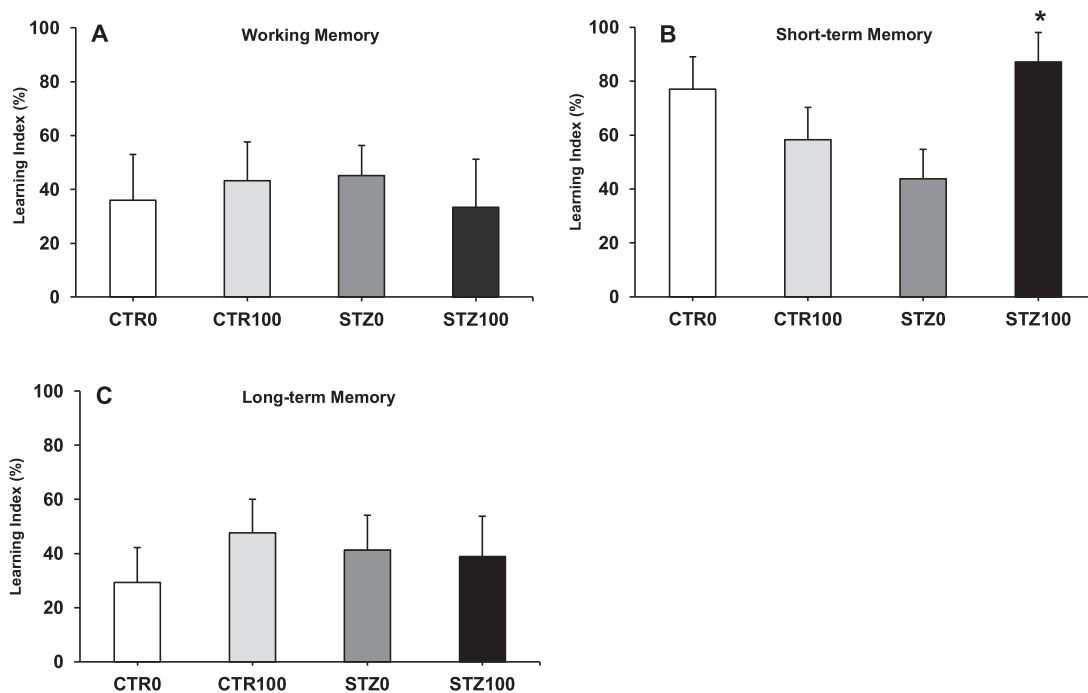


Fig. 3. Effect of chronic taurine (100 mg/kg) on A: working memory, B: short-term memory, C: long-term memory in diabetic (STZ) and non-diabetic (CTR) rats. Data expressed as mean \pm S.E.M.; two-way ANOVA + Tukey test. * Different from STZ0 rats.

family, its lower mRNA expression may affect the development, maintenance, survival, and, consequently, neuronal function in diabetic rats [35]. Coincidentally, we showed here that STZ-diabetic rats had lower brain weight. Depression is associated with atrophy and loss of neurons in limbic and cortical brain areas, which could contribute to the symptoms of depression [23]. Moreover, magnetic resonance imaging shows smaller hippocampal volume in depressed patients besides changes in other limbic areas [36,37]. We have proposed that chronic hyperglycemia, imposed by the diabetic condition, is a more reliable animal model to mimic human depression since, unlike from acute stressors, it affects brain plasticity and function over time [2,9,32]. Additionally, we showed that chronic taurine treatment increased BDNF expression and prevented brain weight loss in STZ rats. Different studies have shown that BDNF levels are lower in depressed individuals [18,19,38] and that antidepressant treatment restores them [17]. Taurine antidepressant effects have been explored in animal models [9,39,40]. Moreover, peripheral BDNF administration increases mobility in the FST and increases hippocampal neurogenesis in mice, demonstrating the relationship between BDNF, depression and brain atrophy [41]. Additional studies are needed to explore the relationship between taurine antidepressant effect and increased expression of GABA_A α_2 subunit or BDNF, or the neuroprotective effect of taurine per se. Curiously, taurine increased the brain weight also in non-diabetic CTR rats. In this CTR100 group, we did not find changes in GABA_A α_2 subunit or BDNF expression. Therefore, we suppose that this would be related to the neuroprotective effect of taurine [42,43], since chronic daily handling and the FST are stressors that may affect brain plasticity also in non-diabetic rats.

Finally, we showed that taurine enhanced short-term memory in STZ-diabetic rats during NORT. Unlike others, we only showed a tendency toward a decrease in short-term memory in STZ-diabetic rats the NORT ($P=0.06$). Piazza et al., [29] showed a lower memory index in STZ rats compared to CTR rats after 10 days of STZ administration and 50 min of the familiarization phase. Srodulski et al., [31], also showed a lower memory index in STZ rats after 60 days of

diabetes induction and 24 h of the familiarization phase. A recent study indicates that brain atrophy and cognitive impairment is related to midlife onset of diabetes, with late-life onset of diabetes having fewer effects on brain pathology in humans [44,45]. Because we found loss of brain weight in our STZ rats, we would expect a cognitive deficit during the NORT, but we do not discard the possibility that longer time of diabetes, such as 60 days in the study of Srodulski et al., [31], would affect this parameter. Moreover, discrepancies between other studies and ours may be related to different protocols, mainly because we performed three test phase, with different novel objects. However, we showed that taurine increased short-term memory in diabetic rats. Specifically in these rats, enhanced memory would be related to neuroprotective effect and increase in BDNF expression, since it is involved in the adult hippocampus in the encoding or consolidation of some component of object recognition memory. In adult mice, site-specific deletion of the BDNF gene in the hippocampus leads to impairments in object recognition memory [45]. Because taurine promotes increased BDNF mRNA expression in the hippocampus of STZ-diabetic rats, this event could explain the increased learning index exhibited by a strong preference towards exploring the novel object in STZ100 rats.

Thus, we may conclude that taurine has an antidepressant-like effect in STZ-diabetic rats by increasing mRNA expression of GABA_A α_2 subunit and BDNF in the hippocampus, and preventing brain weight loss. Additional studies will clarify if this antidepressant effect of taurine is related to upregulation of α_2 -containing GABA_A α_2 , increase of BDNF or neuroprotective mechanisms. Because taurine is a safe substance, it may be added to antidepressant therapy for mild to moderate depression or as an adjuvant in the conventional therapy.

Acknowledgments

This study was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq),

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre and Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil. The authors declare no competing financial interest.

References

- [1] Biessels GJ, Kappelle AC, Bravenboer B, Erkelens DW, Gispen WH. Cerebral function in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1994;37:643–50.
- [2] Gomez R, Vargas CR, Wajner M, Barros HMT. Lower in vivo brain extracellular GABA concentration in diabetic rats during forced swimming. *Brain Res* 2003;968:281–4.
- [3] Peyrot M, Rubin RR. Levels and risks of depression and anxiety symptomatology among diabetic adults. *Diabetes Care* 1997;20:585–90.
- [4] Anderson RJ, Freedland KE, Clouse RE, Lustman PJ. The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2001;24:1069–78.
- [5] Ali S, Stone MA, Peters JL, Davies MJ, Khunti K. The prevalence of co-morbid depression in adults with Type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med* 2006;23:1165–73. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01943.x>.
- [6] Barnard KD, Skinner TC, Peveler R. The prevalence of co-morbid depression in adults with Type 1 diabetes: systematic literature review. *Diabet Med* 2006;23:445–8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01814.x>.
- [7] Roy T, Lloyd CE. Epidemiology of depression and diabetes: a systematic review. *J Affect Disord* 2012;142(Suppl.):S8–21. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-0327\(12\)70004-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-0327(12)70004-6).
- [8] Hilakivi-Clarke LA, Wozniak KM, Durcan MJ, Linnoila M. Behavior of streptozotocin-diabetic mice in tests of exploration, locomotion, anxiety, depression and aggression. *Physiol Behav* 1990;48:429–33.
- [9] Caletti G, Olguins DB, Pedrollo EF, Barros HMT, Gomez R. Antidepressant effect of taurine in diabetic rats. *Amino Acids* 2012;43:1525–33. <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-012-1226-x>.
- [10] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods* 2001;25:402–8.
- [11] 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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2013.10.011>.
- [12] Sanacora G, Mason GF, Rothman DL, Behar KL, Hyder F, Petroff OA, et al. Reduced cortical gamma-aminobutyric acid levels in depressed patients determined by proton magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry* 1999;56:1043–7.
- [13] Petty F. GABA and mood disorders: a brief review and hypothesis. *J Affect Disord* 1995;34:275–81.
- [14] Sanacora G, Mason GF, Rothman DL, Krystal JH. Increased occipital cortex GABA concentrations in depressed patients after therapy with selective serotonin reuptake inhibitors. *Am J Psychiatry* 2002;159:663–5.
- [15] Brambilla P, Perez J, Barale F, Schettini G, Soares JC. GABAergic dysfunction in mood disorders. *Mol Psychiatry* 2003;8(721–737):715. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4001362>.
- [16] Vollenweider I, Smith KS, Keist R, Rudolph U. Antidepressant-like properties of α 2-containing GABA(A) receptors. *Behav Brain Res* 2011;217:77–80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2010.10.009>.
- [17] Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 2008;455:894–902. <http://dx.doi.org/10.1038/nature07455>.
- [18] Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry* 2003;54:70–5.
- [19] Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry J-M, Bertschy G. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biol Psychiatry* 2005;57:1068–72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.01.008>.
- [20] Serbedžija P, Ishii DN. Insulin and insulin-like growth factor prevent brain atrophy and cognitive impairment in diabetic rats. *Indian J Endocrinol Metab* 2012;16:S601–10. <http://dx.doi.org/10.4103/2230-8210.105578>.
- [21] He M, Wang J. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor in Chinese patients with Type 2 diabetes mellitus. *Acta Biochim Biophys Sin* 2014;46:426–7. <http://dx.doi.org/10.1093/abbs/gmu008>.
- [22] MacQueen G, Frodl T. The hippocampus in major depression: evidence for the convergence of the bench and bedside in psychiatric research? *Mol Psychiatry* 2011;16:252–64. <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2010.80>.
- [23] Duman RS. Neurobiology of stress, depression, and rapid acting antidepressants: remodeling synaptic connections. *Depress Anxiety* 2014;31:291–6. <http://dx.doi.org/10.1002/da.22227>.
- [24] Huxtable RJ. Taurine in the central nervous system and the mammalian actions of taurine. *Prog Neurobiol* 1989;32:471–533.
- [25] Jia F, Yue M, Chandra D, Keramidis A, Goldstein PA, Homanics GE, et al. Taurine is a potent activator of extrasynaptic GABA(A) receptors in the thalamus. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2008;28:106–15. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3996-07.2008>.
- [26] El Idrissi A, Trenkner E. Taurine as a modulator of excitatory and inhibitory neurotransmission. *Neurochem Res* 2004;29:189–97.
- [27] El Idrissi A, Boukarrou L, Heany W, Malliaros G, Sangdee C, Neuwirth L. Effects of taurine on anxiety-like and locomotor behavior of mice. *Adv Exp Med Biol* 2009;643:207–15.
- [28] Clarke JR, Cammarota M, Gruart A, Izquierdo I, Delgado-García JM. Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:2652–7. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0915059107>.
- [29] Piazza FV, Pinto GV, Trott G, Marcuzzo S, Gomez R, Fernandes M, et al. Enriched environment prevents memory deficits in type 1 diabetic rats. *Behav Brain Res* 2011;217:16–20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2010.09.017>.
- [30] L'Amoreaux WJ, Marsillo A, El Idrissi A. Pharmacological characterization of GABAA receptors in taurine-fed mice. *J Biomed Sci* 2010;17(Suppl. 1):S14. <http://dx.doi.org/10.1186/1423-0127-17-S1-S14>.
- [31] Srodulski S, Sharma S, Bachstetter AB, Brelfoard JM, Pascual C, Xie XS, et al. Neuroinflammation and neurologic deficits in diabetes linked to brain accumulation of amylin. *Mol Neurodegener* 2014;22:9–30. <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1326-9-30>.
- [32] Gomez R, Barros HM. Ethopharmacology of the antidepressant effect of clonazepam in diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2000;66:329–35.
- [33] El Idrissi A, L'Amoreaux WJ. Selective resistance of taurine-fed mice to isoniazide-potentiated seizures: in vivo functional test for the activity of glutamic acid decarboxylase. *Neuroscience* 2008;156:693–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.07.055>.
- [34] Engin E, Liu J, Rudolph U. α 2-containing GABA(A) receptors: a target for the development of novel treatment strategies for CNS disorders. *Pharmacol Ther* 2012;136:142–52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.08.006>.
- [35] Barde YA. Trophic factors and neuronal survival. *Neuron* 1989;2:1525–34.
- [36] Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry* 2000;157:115–8.
- [37] Zhao Y-J, Du M-Y, Huang X-Q, Lui S, Chen Z-Q, Liu J, et al. Brain grey matter abnormalities in medication-free patients with major depressive disorder: a meta-analysis. *Psychol Med* 2014;44:2927–37. <http://dx.doi.org/10.1017/S0033291714000518>.
- [38] Shirayama Y, Chen AC-H, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2002;22:3251–61.
- [39] Murakami T, Furuse M. The impact of taurine- and beta-alanine-supplemented diets on behavioral and neurochemical parameters in mice: antidepressant versus anxiolytic-like effects. *Amino Acids* 2010;39:427–34. <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-009-0458-x>.
- [40] Toyoda A, Iio W. Antidepressant-like effect of chronic taurine administration and its hippocampal signal transduction in rats. *Adv Exp Med Biol* 2013;775:29–43. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-6130-2_3.
- [41] Schmidt HD, Duman RS. Peripheral BDNF produces antidepressant-like effects in cellular and behavioral models. *Neuropsychopharmacology* 2010;35:2378–91. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2010.114>.
- [42] Tadros MG, Khalifa AE, Abdel-Naim AB, Arafa HMM. Neuroprotective effect of taurine in 3-nitropropionic acid-induced experimental animal model of Huntington's disease phenotype. *Pharmacol Biochem Behav* 2005;82:574–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2005.10.018>.
- [43] Wenting L, Ping L, Haitao J, Meng Q, Xiaofei R. Therapeutic effect of taurine against aluminum-induced impairment on learning, memory and brain neurotransmitters in rats. *Neuro Sci* 2014;35:1579–84. <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-014-1801-x>.
- [44] Roberts RO, Knopman DS, Przybelski SA, Mielke MM, Kantarci K, Preboske GM, et al. Association of type 2 diabetes with brain atrophy and cognitive impairment. *Neurology* 2014;82:1132–41. <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000000269>.
- [45] Heldt SA, Stanek L, Chhatwal JP, Ressler KJ. Hippocampus-specific deletion of BDNF in adult mice impairs spatial memory and extinction of aversive memories. *Mol Psychiatry* 2007;12:656–70. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.mp.4001957>.

PARTE III

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

III.1 INTEGRAÇÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÃO

Diabetes é uma doença metabólica que acomete 381 milhões de pessoas no mundo inteiro, tendo como estimativa atingir 471 milhões de pessoas no ano de 2035 (WILD et al., 2004). No Brasil, existiam 11,9 milhões de pessoas com diabetes no ano de 2014, na faixa etária de 20 a 79 anos, e estima-se que a doença possa atingir 19,2 milhões de pessoas em 2035 (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016).

A hiperglicemia crônica presente no diabetes não tratado promove uma séria de alterações neuroendócrinas e neuroquímicas que aumentam o risco de desenvolvimento de comorbidades. Além disso, diabetes aumenta a formação de produtos finais de glicação avançada que estão relacionados com consequente aumento de marcadores químicos do processo inflamatório e de radicais livres, levando a um quadro de inflamação e estresse oxidativo. Todas essas agressões são altamente deletérias ao SNC, produzindo importante disfunção celular e apoptótica no tecido neuronal, mantendo o cérebro sob alta vulnerabilidade.

Taurina é um aminoácido semi-essencial que possui propriedade fisiológica de osmorregulação, regulação do cálcio intracelular, antioxidante e anti-inflamatória (HUXTABLE, 1992). No SNC, taurina é amplamente distribuída, tendo papel importante na neuromodulação GABAérgica e na neuroproteção, principalmente contra a excitotoxicidade promovida pelo glutamato (EL IDRISSEI; TREKNER, 2004). Sendo estruturalmente similar ao GABA, taurina age como agonista de receptores GABA_A, permitindo o influxo de íons cloreto nos neurônios pós-sinápticos, aumentando a inibição neuronal (EL IDRISSEI; TREKNER, 2004). Apresentando essas características funcionais importantes, taurina é muito estudada como agente protetor em patologias associadas com alterações neuronais, oxidantes e inflamatórias, como o diabetes e suas complicações (ITO; SCHAFFER; AZUMA, 2012).

Em estudo realizado anteriormente, observamos que ratos diabéticos exibiam maior tempo de imobilidade no FST, exibindo um comportamento tipo-depressivo. A taurina reverteu esse comportamento apenas nos animais diabéticos. A fim de investigar os mecanismos responsáveis pelo efeito antidepressivo da taurina em animais diabéticos, analisamos o efeito neuromodulador e neuroprotetor da taurina, explorando sua possível intervenção em mediadores geralmente comprometidos

pelo diabetes e relacionados à depressão, como fatores de neurotransmissão GABAérgico e glutamatérgico, fatores neurotrófico e neuroanatômico, mecanismos oxidantes e inflamatórios, uma vez que o aminoácido está reduzido no plasma tanto em pacientes diabéticos, como em depressivos.

Os resultados obtidos no primeiro artigo nos mostram que o diabetes aumenta a expressão de mRNA da subunidade α_2 do receptor GABA_A e diminui BDNF no hipocampo de ratos diabéticos, que foram expostos ao modelo de natação forçada. Ratos diabéticos também apresentaram menor peso cerebral comparados aos ratos não diabéticos. O tratamento com taurina aumentou ainda mais a expressão de mRNA da subunidade α_2 do receptor GABA_A, reverteu a redução da expressão de mRNA de BDNF e do peso cerebral dos ratos diabéticos, além de melhorar a memória de curta duração nesses animais. Esses achados sugerem que o efeito antidepressivo apresentado pela taurina poderia ser justificado, em parte, pela upregulação da subunidade α_2 do receptor GABA_A, uma vez que essa subunidade está envolvida com propriedades antidepressivas, e pela reversão da menor expressão de mRNA de BDNF e da atrofia cerebral, manifestações comumente relacionadas à depressão em animais e humanos.

Os achados do segundo artigo ajudam a complementar os dados do artigo anterior e levam à melhor compreensão dos mecanismos responsáveis pelo efeito antidepressivo da taurina. Identificamos alterações na liberação de neurotransmissores no hipocampo de ratos diabéticos tratados com taurina. Esse estudo evidenciou que ratos diabéticos mostraram um aumento na liberação de GABA e glutamato após um evento estressor, o FST. A taurina previne a liberação de GABA, mas não de glutamato. Levando em consideração seu efeito sobre a ativação de receptores GABA_A, que reproduzem uma neurotransmissão inibitória, provavelmente a taurina esteja fazendo a ação do GABA, prevenindo sua liberação. Apesar de não prevenir a liberação de glutamato após o FST, a ação indireta da taurina é bem evidenciada na transmissão excitatória, diminuindo a excitotoxicidade induzida pelo glutamato. Sugerimos que o efeito da taurina poderia ocorrer após a transmissão glutamatérgica, modulando receptores NMDA e canais de Cálcio, diminuindo a quantidade de cálcio intracelular e assim evitando que mecanismos apoptóticos sejam iniciados, prevenindo a morte celular neuronal e consequentemente a atrofia neuronal. Considerando que um desequilíbrio na neurotransmissão GABAérgica e glutamatérgica são encontrados tanto em

indivíduos diabéticos quanto em indivíduos depressivos e que taurina possui uma ação neuromoduladora e neuroprotetora sobre ambos os sistemas, os resultados obtidos poderiam explicar, em parte, o efeito antidepressivo em ratos diabéticos.

Considerando que o diabetes aumenta a produção de substâncias tóxicas que produzem neurotoxicidade pelo estresse oxidativo e inflamação, e que mecanismos oxidantes e inflamatórios também estão associados ao desenvolvimento da depressão, no terceiro artigo avaliamos a produção de marcadores oxidantes, antioxidantes e inflamatórios produzidos pelo diabetes e a interferência da taurina nesse processo. Os resultados indicam que ratos diabéticos estão propensos a um ambiente neuronal de estresse oxidativo e de inflamação, identificado pelo aumento de radicais livres e citocinas inflamatórias no hipocampo e córtex frontal desses animais. O aumento do estresse oxidativo é acompanhado de um aumento de mecanismos reguladores antioxidantes na tentativa de reversão do quadro, identificado pelo aumento da enzima antioxidante SOD no hipocampo. A produção exacerbada de radicais livres promove maior dano ao DNA em ratos diabéticos, em ambas estruturas. Taurina reverte esse quadro oxidativo e inflamatório, diminuindo a produção de radicais livres, com conseqüente redução de dano ao DNA e da enzima antioxidante SOD, além de diminuir citocinas pró-inflamatórias, mostrando um papel antioxidante, anti-inflamatório e neuroprotetor. Não descartamos a possibilidade que o efeito antidepressivo apresentado pela taurina esteja relacionado à melhora do ambiente oxidativo e inflamatório presente no diabetes, diminuindo a severidade da doença e suas complicações. Portanto, esses resultados adicionam possíveis mecanismos de ação da taurina e fortalecem seu efeito antidepressivo.

Todas as alterações promovidas pelo diabetes no SNC produzem um risco aumentado de desenvolvimento de depressão em indivíduos diabéticos (RUSTAD; MUSSELMAN; NEMEROFF, 2011). De fato, estudos clínicos mostram alta prevalência dessa comorbidade em diabéticos (ANDERSON et al., 2001). Já em modelos animais, a hiperglicemia crônica pode promover alterações no SNC estritamente semelhantes às alterações percebidas pela depressão, que resultam em um comportamento tipo-depressivo nesses animais (GOMEZ; BARROS, 2000; CALETTI et al., 2012). Dessa forma, acreditamos que o modelo animal de diabetes seja um modelo confiável de depressão crônica, demonstrando validade de constructo.

Reunimos os resultados encontrados nessa tese na tabela 1. Esse conjunto de dados nos mostra que o diabetes promove importante neuroplasticidade, sendo revertida em parte, pelo tratamento crônico com taurina. Na figura 6, construímos um diagrama mostrando as principais alterações promovidas pelo diabetes e a reversão desse quadro pelo tratamento crônico com taurina.

Tabela 1 – Resumo dos resultados encontrados.

	Diabetes (+ FST artigo 1 e 2)	Taurina
α_2 GABA _A R	↑	↑
BDNF	↓	↑
Peso Cerebral	↓	↑
GABA	↑	↓
Glutamato	↑	↑
Estresse Oxidativo	↑	↓
Dano ao DNA	↑	↓
Inflamação	↑	↓

↑: aumento; ↓: diminuição.

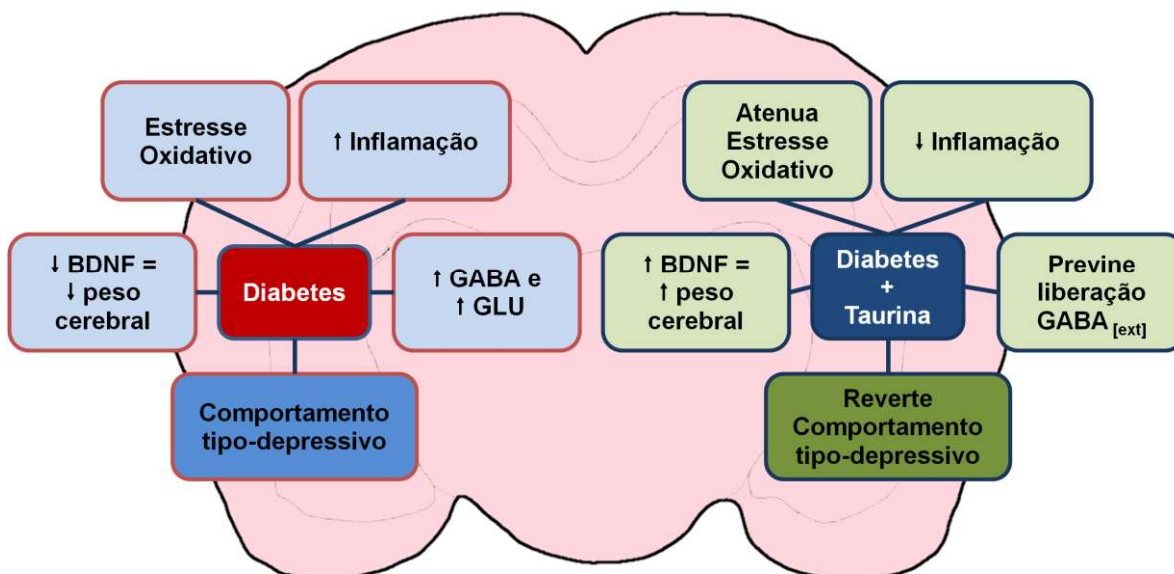


Figura 6 – Diabetes induz alterações neurofisiológicas, neuroestruturais, neuroquímicas e comportamentais em ratos, revertidas pelo tratamento crônico com taurina.

A reversão dos parâmetros investigados nesse trabalho pela administração crônica de taurina poderia explicar, em parte, seu efeito antidepressivo. Considerando nossos resultados e a multiplicidade de mecanismos apresentados

pela taurina, associada à sua segurança já comprovada, sugerimos investigação clínica de seus efeitos como adjuvante no tratamento da depressão em pacientes resistentes às terapias convencionais, especialmente em diabéticos.

III.2 PERSPECTIVAS

A fim de explorar melhor a discussão sobre a semelhança entre os mecanismos patofisiológicos decorrentes do diabetes e da depressão, bem como a interferência da taurina sobre esses processos, objetivamos realizar novos projetos que envolvam:

- Avaliação de alterações em sistemas inibitórios e excitatórios, bem como em outros sistemas de neurotransmissores sabidamente envolvidos na depressão, em regiões do sistema límbico em ratos diabéticos e não diabéticos, utilizando a técnica de microdiálise. Avaliação em diferentes regiões cerebrais torna-se importante, uma vez que diferenças na liberação de neurotransmissores são observadas entre as regiões cerebrais.

- Realização de estudo clínico com suplementação de taurina em pacientes depressivos não responsivos à terapia medicamentosa convencional, a fim de determinar possível efeito antidepressivo em humanos.

Este conjunto de dados permitirá a compreensão da plasticidade neuroquímica decorrente do diabetes nas regiões envolvidas no controle das emoções e o papel neuroprotetor da taurina. A realização de estudo clínico com suplementação de taurina poderá esclarecer se os efeitos observados em estudos *in vitro* e pré-clínicos se propagam a pacientes com diagnóstico de depressão, que se confirmado, possibilitaria a inclusão da taurina como um adjuvante no tratamento desses indivíduos.

REFERÊNCIAS

- AGCA, C. A. et al. Taurine ameliorates neuropathy via regulating NF- κ B and Nrf2/HO-1 signaling cascades in diabetic rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 71, p. 116–121, set. 2014.
- AHN, H. J.; MIN, K. W.; CHO, Y.-O. Assessment of vitamin B(6) status in Korean patients with newly diagnosed type 2 diabetes. **Nutrition Research and Practice**, v. 5, n. 1, p. 34–39, fev. 2011.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetes-2016 Abridged for Primary Care Providers. **Clinical Diabetes: A Publication of the American Diabetes Association**, v. 34, n. 1, p. 3–21, jan. 2016.
- ANDERSON, R. J. et al. The Prevalence of Comorbid Depression in Adults With Diabetes: A meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 24, n. 6, p. 1069–1078, 1 jun. 2001.
- BAPTISTA, F. I. et al. Diabetes induces early transient changes in the content of vesicular transporters and no major effects in neurotransmitter release in hippocampus and retina. **Brain Research**, v. 1383, p. 257–269, abr. 2011.
- BARBER, M. et al. Diabetes-induced neuroendocrine changes in rats: role of brain monoamines, insulin and leptin. **Brain Research**, v. 964, n. 1, p. 128–135, 21 fev. 2003.
- BEAUQUIS, J. et al. Reduced hippocampal neurogenesis and number of hilar neurones in streptozotocin-induced diabetic mice: reversion by antidepressant treatment: Hippocampal neuroplasticity in type 1 diabetes. **European Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 6, p. 1539–1546, mar. 2006.
- BERGE, L. I.; RIISE, T. Comorbidity between Type 2 Diabetes and Depression in the Adult Population: Directions of the Association and Its Possible Pathophysiological Mechanisms. **International Journal of Endocrinology**, v. 2015, p. 1–7, 2015.
- BIRDSALL, T. C. Therapeutic applications of taurine. **Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic**, v. 3, n. 2, p. 128–136, abr. 1998.
- BISWAS, S. K. Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–9, 2016.
- BRAMBILLA, P. et al. GABAergic dysfunction in mood disorders. **Molecular Psychiatry**, v. 8, n. 8, p. 721–737, 715, ago. 2003.
- BRUNONI, A. R.; LOPES, M.; FREGNI, F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. **The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)**, v. 11, n. 8, p. 1169–1180, dez. 2008.

- BUSTAMANTE, J. et al. An osmotic-sensitive taurine pool is localized in rat pancreatic islet cells containing glucagon and somatostatin. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 281, n. 6, p. E1275-1285, dez. 2001.
- CALETTI, G. et al. Antidepressant effect of taurine in diabetic rats. **Amino Acids**, v. 43, n. 4, p. 1525–1533, out. 2012.
- CARNEIRO, E. M. et al. Taurine supplementation modulates glucose homeostasis and islet function ☆. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, n. 7, p. 503–511, jul. 2009.
- CHAMBERLAIN, J. J. et al. Diagnosis and Management of Diabetes: Synopsis of the 2016 American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes. **Annals of Internal Medicine**, v. 164, n. 8, p. 542–552, 19 abr. 2016.
- CHAN, O. et al. Molecular regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in streptozotocin-induced diabetes: effects of insulin treatment. **Endocrinology**, v. 142, n. 11, p. 4872–4879, nov. 2001.
- DAS, J.; VASAN, V.; SIL, P. C. Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 258, n. 2, p. 296–308, jan. 2012.
- DE KLOET, E. R.; DERIJK, R. H.; MEIJER, O. C. Therapy Insight: is there an imbalanced response of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in depression? **Nature Clinical Practice. Endocrinology & Metabolism**, v. 3, n. 2, p. 168–179, fev. 2007.
- DEJONG, R. The nervous system complications of diabetes mellitus, with special reference to cerebrovascular changes. **The Journal of Nervous and Mental Disease**, v. 111, p. 181–206, 1950.
- DEL OLMO, N. et al. Taurine activates GABA(A) but not GABA(B) receptors in rat hippocampal CA1 area. **Brain Research**, v. 864, n. 2, p. 298–307, 12 maio 2000.
- DELLA CORTE, L. et al. The use of taurine analogues to investigate taurine functions and their potential therapeutic applications. **Amino Acids**, v. 23, n. 4, p. 367–379, 2002.
- DI LEO, M. A. S. et al. Long-term taurine supplementation reduces mortality rate in streptozotocin-induced diabetic rats. **Amino Acids**, v. 27, n. 2, p. 187–191, out. 2004.
- DOMINGUETI, C. P. et al. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. **Journal of Diabetes and its Complications**, dez. 2015.
- DUMAN, R. S. Pathophysiology of depression and innovative treatments: remodeling glutamatergic synaptic connections. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 16, n. 1, p. 11–27, mar. 2014.

EL IDRISSE, A. Taurine and brain excitability. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 583, p. 315–322, 2006.

EL IDRISSE, A.; BOUKARROU, L.; L'AMOREAUX, W. Taurine supplementation and pancreatic remodeling. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 643, p. 353–358, 2009.

EL IDRISSE, A.; HARRIS, C.; TRENKNER, E. Taurine modulates glutamate- and growth factors-mediated signaling mechanisms. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 442, p. 385–396, 1998.

EL IDRISSE, A.; TRENKNER, E. Taurine as a modulator of excitatory and inhibitory neurotransmission. **Neurochemical Research**, v. 29, n. 1, p. 189–197, jan. 2004.

ERUS, G. et al. Spatial patterns of structural brain changes in type 2 diabetic patients and their longitudinal progression with intensive control of blood glucose. **Diabetes Care**, v. 38, n. 1, p. 97–104, jan. 2015.

EVANS, M. D.; DIZDAROGLU, M.; COOKE, M. S. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. **Mutation Research**, v. 567, n. 1, p. 1–61, set. 2004.

FRANCONI, F. et al. Plasma and platelet taurine are reduced in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus: effects of taurine supplementation. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, n. 5, p. 1115–1119, maio 1995.

FRANCONI, F. et al. Taurine and diabetes. Humans and experimental models. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 403, p. 579–582, 1996.

GAŁECKI, P. et al. Mechanisms underlying neurocognitive dysfunctions in recurrent major depression. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 21, p. 1535–1547, 2015.

GEBARA, E. et al. Taurine increases hippocampal neurogenesis in aging mice. **Stem Cell Research**, v. 14, n. 3, p. 369–379, maio 2015.

GOH, S.-Y.; COOPER, M. E. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 93, n. 4, p. 1143–1152, abr. 2008.

GOLD, B. I. et al. GABA levels in CSF of patients with psychiatric disorders. **The American Journal of Psychiatry**, v. 137, n. 3, p. 362–364, mar. 1980.

GOLDNEY, R. D. et al. Diabetes, depression, and quality of life: a population study. **Diabetes Care**, v. 27, n. 5, p. 1066–1070, maio 2004.

GOMEZ, R. et al. Lower in vivo brain extracellular GABA concentration in diabetic rats during forced swimming. **Brain Research**, v. 968, n. 2, p. 281–284, 11 abr. 2003.

- GOMEZ, R.; BARROS, H. M. Ethopharmacology of the antidepressant effect of clonazepam in diabetic rats. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 66, n. 2, p. 329–335, jun. 2000.
- GOODMAN, H. O.; SHIHABI, Z. K. Supplemental taurine in diabetic rats: effects on plasma glucose and triglycerides. **Biochemical Medicine and Metabolic Biology**, v. 43, n. 1, p. 1–9, fev. 1990.
- GUGLIELMOTTO, M. et al. AGEs/RAGE complex upregulates BACE1 via NF- κ B pathway activation. **Neurobiology of Aging**, v. 33, n. 1, p. 196.e13-27, jan. 2012.
- GURURAJAN, A. et al. Molecular biomarkers of depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 64, p. 101–133, maio 2016.
- HANSEN, S. H. The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 17, n. 5, p. 330–346, 2001.
- HASHIMOTO, K.; SAWA, A.; IYO, M. Increased levels of glutamate in brains from patients with mood disorders. **Biological Psychiatry**, v. 62, n. 11, p. 1310–1316, 1 dez. 2007.
- HO, N.; SOMMERS, M. S.; LUCKI, I. Effects of diabetes on hippocampal neurogenesis: links to cognition and depression. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 8, p. 1346–1362, set. 2013.
- HOLT, R. I. G.; DE GROOT, M.; GOLDEN, S. H. Diabetes and Depression. **Current Diabetes Reports**, v. 14, n. 6, jun. 2014.
- HUXTABLE, R. J. Taurine in the central nervous system and the mammalian actions of taurine. **Progress in Neurobiology**, v. 32, n. 6, p. 471–533, 1989.
- HUXTABLE, R. J. Physiological actions of taurine. **Physiological Reviews**, v. 72, n. 1, p. 101–163, jan. 1992.
- ITO, T. et al. Impact of taurine depletion on glucose control and insulin secretion in mice. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 129, n. 1, p. 59–64, set. 2015.
- ITO, T.; SCHAFFER, S. W.; AZUMA, J. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications. **Amino Acids**, v. 42, n. 5, p. 1529–1539, maio 2012.
- JAFARI ANARKOOLI, I. et al. Evaluation of Bcl-2 family gene expression and Caspase-3 activity in hippocampus STZ-induced diabetic rats. **Experimental Diabetes Research**, v. 2008, p. 638467, 2008.
- KAMAL, A. et al. Synaptic transmission changes in the pyramidal cells of the hippocampus in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats. **Brain Research**, v. 1073–1074, p. 276–280, 16 fev. 2006.

KENDELL, S. F.; KRYSTAL, J. H.; SANACORA, G. GABA and glutamate systems as therapeutic targets in depression and mood disorders. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 9, n. 1, p. 153–168, fev. 2005.

KIM, C.; CHA, Y.-N. Taurine chloramine produced from taurine under inflammation provides anti-inflammatory and cytoprotective effects. **Amino Acids**, v. 46, n. 1, p. 89–100, jan. 2014.

KIM, H. Y. et al. Taurine in drinking water recovers learning and memory in the adult APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. **Scientific Reports**, v. 4, p. 7467, 2014.

KIM, J. W.; KIM, C. Inhibition of LPS-induced NO production by taurine chloramine in macrophages is mediated through Ras-ERK-NF-kappaB. **Biochemical Pharmacology**, v. 70, n. 9, p. 1352–1360, 1 nov. 2005.

KIM, S.-J.; GUPTA, R. C.; LEE, H. W. Taurine-diabetes interaction: from involvement to protection. **Current Diabetes Reviews**, v. 3, n. 3, p. 165–175, ago. 2007.

KINO, M.; YAMATO, T.; AOMINE, M. Simultaneous measurement of nitric oxide, blood glucose, and monoamines in the hippocampus of diabetic rat: an in vivo microdialysis study. **Neurochemistry International**, v. 44, n. 2, p. 65–73, jan. 2004.

KODL, C. T.; SEAQUIST, E. R. Cognitive Dysfunction and Diabetes Mellitus. **Endocrine Reviews**, v. 29, n. 4, p. 494–511, jun. 2008.

KUMARI, N.; PRENTICE, H.; WU, J.-Y. Taurine and Its Neuroprotective Role. In: EL IDRISSE, A.; L'AMOREAUX, W. J. (Eds.). **Taurine 8**. New York, NY: Springer New York, 2013. v. 775p. 19–27.

LALLEMAND, F.; DE WITTE, P. Taurine concentration in the brain and in the plasma following intraperitoneal injections. **Amino Acids**, v. 26, n. 2, p. 111–116, mar. 2004.

LAMBERT, I. H. et al. Physiological role of taurine--from organism to organelle. **Acta Physiologica (Oxford, England)**, v. 213, n. 1, p. 191–212, jan. 2015.

L'AMOREAUX, W. J. et al. Taurine regulates insulin release from pancreatic beta cell lines. **Journal of Biomedical Science**, v. 17 Suppl 1, p. S11, 2010.

LAN, M. J. et al. Metabonomic analysis identifies molecular changes associated with the pathophysiology and drug treatment of bipolar disorder. **Molecular Psychiatry**, v. 14, n. 3, p. 269–279, mar. 2009.

LEON, R. et al. Protective function of taurine in glutamate-induced apoptosis in cultured neurons. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, n. 5, p. 1185–1194, abr. 2009.

LI, Z.-G. et al. Hippocampal neuronal apoptosis in type 1 diabetes. **Brain Research**, v. 946, n. 2, p. 221–231, 16 ago. 2002.

- LIMA, L. et al. Taurine concentration in human blood peripheral lymphocytes: major depression and treatment with the antidepressant mirtazapine. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 526, p. 297–304, 2003.
- LUSTMAN, P. J. et al. Similarity of depression in diabetic and psychiatric patients. **Psychosomatic Medicine**, v. 54, n. 5, p. 602–611, out. 1992.
- LUSTMAN, P. J. et al. Depression and poor glycemic control: a meta-analytic review of the literature. **Diabetes Care**, v. 23, n. 7, p. 934–942, jul. 2000.
- MANNA, P.; DAS, J.; SIL, P. C. Role of sulfur containing amino acids as an adjuvant therapy in the prevention of diabetes and its associated complications. **Current Diabetes Reviews**, v. 9, n. 3, p. 237–248, maio 2013.
- MARCINKIEWICZ, J. et al. Anti-inflammatory effects of taurine derivatives (taurine chloramine, taurine bromamine, and taurolidine) are mediated by different mechanisms. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 583, p. 481–492, 2006.
- MARCINKIEWICZ, J.; KONTNY, E. Taurine and inflammatory diseases. **Amino Acids**, v. 46, n. 1, p. 7–20, jan. 2014.
- MATRISCIANO, F. et al. Defective group-II metabotropic glutamate receptors in the hippocampus of spontaneously depressed rats. **Neuropharmacology**, v. 55, n. 4, p. 525–531, set. 2008.
- MAURI, M. C. et al. Plasma and platelet amino acid concentrations in patients affected by major depression and under fluvoxamine treatment. **Neuropsychobiology**, v. 37, n. 3, p. 124–129, 1998.
- MEDINA, A. et al. Glutamate transporters: a key piece in the glutamate puzzle of major depressive disorder. **Journal of Psychiatric Research**, v. 47, n. 9, p. 1150–1156, set. 2013.
- MERHEB, M. et al. Taurine intestinal absorption and renal excretion test in diabetic patients: a pilot study. **Diabetes Care**, v. 30, n. 10, p. 2652–2654, out. 2007.
- MILES, W.R.; ROOT, H.F. Psychologic tests applied to diabetic patients. **Archives of Internal Medicine**, v. 30, p. 767–777, 1922.
- MILLER, A. H.; MALETIC, V.; RAISON, C. L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biological Psychiatry**, v. 65, n. 9, p. 732–741, 1 maio 2009.
- MOHEET, A.; MANGIA, S.; SEAQUIST, E. R. Impact of diabetes on cognitive function and brain structure: Impact of diabetes on brain. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1353, n. 1, p. 60–71, set. 2015.
- MOUSSAVI, S. et al. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. **The Lancet**, v. 370, n. 9590, p. 851–858, set. 2007.

MURAKAMI, S. Role of taurine in the pathogenesis of obesity. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, n. 7, p. 1353–1363, jul. 2015.

MURAKAMI, T.; FURUSE, M. The impact of taurine- and beta-alanine-supplemented diets on behavioral and neurochemical parameters in mice: antidepressant versus anxiolytic-like effects. **Amino Acids**, v. 39, n. 2, p. 427–434, jul. 2010.

MURIACH, M. et al. Diabetes and the brain: oxidative stress, inflammation, and autophagy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 102158, 2014.

MURRAY, C. J. L. et al. Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 306 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 188 countries, 1990–2013: quantifying the epidemiological transition. **The Lancet**, v. 386, n. 10009, p. 2145–2191, nov. 2015.

NANDHINI, A. T. A.; THIRUNAVUKKARASU, V.; ANURADHA, C. V. Stimulation of glucose utilization and inhibition of protein glycation and AGE products by taurine. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 181, n. 3, p. 297–303, jul. 2004.

NARDIN, P. et al. Peripheral Levels of AGEs and Astrocyte Alterations in the Hippocampus of STZ-Diabetic Rats. **Neurochemical Research**, 15 abr. 2016.

OBROSOVA, I. G. et al. An aldose reductase inhibitor reverses early diabetes-induced changes in peripheral nerve function, metabolism, and antioxidative defense. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 16, n. 1, p. 123–125, jan. 2002.

OHTANI, N.; OHTA, M.; SUGANO, T. Microdialysis study of modification of hypothalamic neurotransmitters in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Neurochemistry**, v. 69, n. 4, p. 1622–1628, out. 1997.

OLIVEIRA, M. W. S. et al. Scavenging and antioxidant potential of physiological taurine concentrations against different reactive oxygen/nitrogen species. **Pharmacological reports: PR**, v. 62, n. 1, p. 185–193, fev. 2010.

PAREDES, R. G.; AGMO, A. GABA and behavior: the role of receptor subtypes. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 16, n. 2, p. 145–170, 1992.

PARK, H.; POO, M. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 14, n. 1, p. 7–23, 20 dez. 2012.

PATEL, S. N. et al. Comparison of taurine and pantoyltaurine as antioxidants in vitro and in the central nervous system of diabetic rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 68, n. 2–3, p. 103–112, fev. 2016.

PERRY, T. L. et al. Hereditary mental depression and Parkinsonism with taurine deficiency. **Archives of Neurology**, v. 32, n. 2, p. 108–113, fev. 1975.

POPOVIÇ, M. et al. Learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats in a novel spatial/object discrimination task. **Behavioural Brain Research**, v. 122, n. 2, p. 201–207, 1 ago. 2001.

PRICE, S. A. et al. Mitogen-activated protein kinase p38 mediates reduced nerve conduction velocity in experimental diabetic neuropathy: interactions with aldose reductase. **Diabetes**, v. 53, n. 7, p. 1851–1856, jul. 2004.

PUGAZHENTHI, S.; QIN, L.; REDDY, P. H. Common Neurodegenerative Pathways in Obesity, Diabetes, and Alzheimer's Disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, maio 2016.

REISI, P. et al. Determination of the extracellular basal levels of glutamate and GABA at dentate gyrus of streptozotocin-induced diabetic rats. **Pathophysiology**, v. 16, n. 1, p. 63–66, jun. 2009.

RIPPS, H.; SHEN, W. Review: taurine: a “very essential” amino acid. **Molecular Vision**, v. 18, p. 2673–2686, 2012.

RUBIO-CASILLAS, A.; FERNÁNDEZ-GUASTI, A. The dose makes the poison: from glutamate-mediated neurogenesis to neuronal atrophy and depression. **Reviews in the Neurosciences**, 20 abr. 2016.

RUSTAD, J. K.; MUSSELMAN, D. L.; NEMEROFF, C. B. The relationship of depression and diabetes: Pathophysiological and treatment implications. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, n. 9, p. 1276–1286, out. 2011.

SADEGHI, A. et al. The Effect of Diabetes Mellitus on Apoptosis in Hippocampus: Cellular and Molecular Aspects. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 7, p. 57, 2016.

SANACORA, G. et al. Reduced cortical gamma-aminobutyric acid levels in depressed patients determined by proton magnetic resonance spectroscopy. **Archives of General Psychiatry**, v. 56, n. 11, p. 1043–1047, nov. 1999.

SANACORA, G. et al. Subtype-Specific Alterations of γ -Aminobutyric Acid and Glutamate in Patients With Major Depression. **Archives of General Psychiatry**, v. 61, n. 7, p. 705, 1 jul. 2004.

SANACORA, G.; SARICICEK, A. GABAergic contributions to the pathophysiology of depression and the mechanism of antidepressant action. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 6, n. 2, p. 127–140, abr. 2007.

SANACORA, G.; TRECCANI, G.; POPOLI, M. Towards a glutamate hypothesis of depression. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 63–77, jan. 2012.

SCHAFFER, S. W.; AZUMA, J.; MOZAFFARI, M. Role of antioxidant activity of taurine in diabetes. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 87, n. 2, p. 91–99, fev. 2009.

SCHWARTZ, M. W.; STRACK, A. M.; DALLMAN, M. F. Evidence that elevated plasma corticosterone levels are the cause of reduced hypothalamic corticotrophin-releasing hormone gene expression in diabetes. **Regulatory Peptides**, v. 72, n. 2–3, p. 105–112, 31 out. 1997.

SI, M. W.; YANG, M. K.; FU, X. D. Effect of hypothalamic-pituitary-adrenal axis alterations on glucose and lipid metabolism in diabetic rats. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 14, n. 3, p. 9562–9570, 2015.

SIRDAH, M. M. Protective and therapeutic effectiveness of taurine in diabetes mellitus: A rationale for antioxidant supplementation. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 9, n. 1, p. 55–64, jan. 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016) / Adolfo Milech...[et. al.]; organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio - São Paulo: A.C. Farmacêutica, 2016.

STAPLETON, P. P. et al. Taurine and human nutrition. **Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 16, n. 3, p. 103–108, jun. 1997.

SVED, D. W. et al. Absorption, tissue distribution, metabolism and elimination of taurine given orally to rats. **Amino Acids**, v. 32, n. 4, p. 459–466, 2007.

TABER, K. H. et al. Taurine in hippocampus: localization and postsynaptic action. **Brain Research**, v. 386, n. 1–2, p. 113–121, 29 out. 1986.

TACHIKAWA, M.; HOSOYA, K.-I. Transport characteristics of guanidino compounds at the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier: relevance to neural disorders. **Fluids and barriers of the CNS**, v. 8, n. 1, p. 13, 2011.

TOMLINSON, D. R.; GARDINER, N. J. Glucose neurotoxicity. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 36–45, jan. 2008.

WILD, S. et al. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v. 27, n. 5, p. 1047–1053, 1 maio 2004.

WU, J.-Y.; PRENTICE, H. Role of taurine in the central nervous system. **Journal of Biomedical Science**, v. 17, n. Suppl 1, p. S1, 2010.

YAMAGISHI, S.; MATSUI, T. Advanced Glycation end Products, Oxidative Stress and Diabetic Nephropathy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 3, n. 2, p. 101–108, 2010.

YAMATO, T. et al. Diabetes mellitus decreases hippocampal release of neurotransmitters: an in vivo microdialysis study of awake, freely moving rats. **Diabetes, Nutrition & Metabolism**, v. 17, n. 3, p. 128–136, jun. 2004.

YOU, J. S.; CHANG, K. J. Effects of taurine supplementation on lipid peroxidation, blood glucose and blood lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 442, p. 163–168, 1998.



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

CEUA –COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA E ENSINO

1) PROTOCOLO Nº: 082/12 Parecer 134/12

2) DATA DO PARECER: 20/06/12

3) TÍTULO DO PROJETO:

Avaliação de alterações do sistema GABAérgico e de parâmetros metabólicos e nutricionais pelo uso crônico de taurina em ratos diabéticos.

4) PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Rosane Gomez

5) RESUMO DO PROJETO:

6) OBJETIVOS DO PROJETO:

Geral: identificar o mecanismo antidepressivo da taurina relacionado com o sistema GABAérgico, bem como elucidar mecanismos envolvidos com variações de parâmetros metabólicos e nutricionais pelo uso crônico da taurina em animais diabéticos.

7) FINALIDADE DO PROJETO: Ensino Pesquisa

8) ITENS METODOLÓGICOS E ÉTICOS DO PROJETO:

Título Adequado Comentários

Introdução Adequada Comentários
Introdução bem embasada e coerente.

Objetivos Adequados Comentários

Relevância e Justificativa Adequados Comentários

Materiais e Métodos Adequados Comentários

Cronograma para execução da pesquisa Adequado Comentários

Orçamento e fonte financiadora Adequados Comentários

Referências Bibliográficas Adequadas Comentários

9) O PROJETO ESTÁ ADEQUADO À LEGISLAÇÃO VIGENTE:

Sim Não



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

10) INFORMAÇÕES RELATIVAS AOS ANIMAIS:

Grau de dor/estresse: B | C D E

Justifique:

Espécie: **Número Amostral:**

Redução Amostral: Sim Não

Justifique:

Substituição de Metodologia: Sim Não

Se achar necessário, justifique e sugira uma nova metodologia:

Aprimoramento da Metodologia: Sim Não

Se achar necessário, justifique e sugira aprimoramentos da metodologia:

Acomodação e manutenção dos animais: Adequada Inadequada

Se achar inadequada cite abaixo as melhorias necessárias:

Manipulação dos animais: Adequada Inadequada

Se achar inadequada cite abaixo as melhorias necessárias:

Analgesia dos animais (se aplicável): Adequada Inadequada

Se achar inadequada cite abaixo as melhorias necessárias com analgésico substituto:

Anestesia dos animais (se aplicável): Adequada Inadequada

Eutanásia dos animais (se aplicável): Adequada Inadequada

Local de Realização (Biotério/Laboratório): Biotério UFCSPA.

11) CRONOGRAMA DE UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS

Data	Espécie	Sexo	Quantidade
------	---------	------	------------

12) RECOMENDAÇÃO:

Aprovado

Com Pendência

Não aprovado

Comentários gerais sobre o projeto:



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 26303

Título: EFEITO DA TAURINA SOBRE O SISTEMA GABAÉRGICO E SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS, NUTRICIONAIS E IMUNES EM RATOS DIABÉTICOS

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

ROSANE GOMEZ - coordenador desde 01/07/2014
ADRIANA SIMON COITINHO - pesquisador desde 01/07/2014
CAROLINA FERREIRA SANTOS - pesquisador desde 01/07/2014
Solange Bandiera - pesquisador desde 01/07/2014

Equipe Externa:

Greice Caletti - pesquisador desde 01/07/2014

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 14/07/2014 - Sala 308 - Prédio da Faculdade de Educação - Porto Alegre - RS, em seus aspectos éticos e metodológicos, 144 ratos Wistar (Rattus norvegicus albinus) machos adultos, de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008 que disciplina a criação e utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa.

Porto Alegre, Quinta-Feira, 31 de Julho de 2014

CRISTIANE MATTE
Vice Coordenador da comissão de ética