

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

YANE COSTA CHAVES

**CANABIDIOL COMO POTENCIAL AGENTE TERAPÊUTICO NO
TRATAMENTO DA DEPRESSÃO E ANSIEDADE ASSOCIADAS AO
DIABETES**

CURITIBA

2019

YANE COSTA CHAVES

**CANABIDIOL COMO POTENCIAL AGENTE TERAPÊUTICO NO
TRATAMENTO DA DEPRESSÃO E ANSIEDADE ASSOCIADAS AO
DIABETES**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Janaina Menezes Zanoveli

Coorientadora: Profa. Dra. Joice Maria da Cunha

CURITIBA

2019

Agradecimentos

É uma felicidade imensa estar concluindo este ciclo como a primeira da minha família a me formar em uma universidade pública, gratuita e de qualidade. Me faltam palavras para descrever meu eterno agradecimento à minha querida avó Lucia que fez e ainda faz o possível e o impossível para que eu tenha a educação como prioridade, sempre me deu o melhor exemplo de vida e sempre esteve ao meu lado em todos os momentos. Obrigada por tanto!

A todos meus familiares, que de alguma forma contribuiu para minha formação e que eu pude aprender e compartilhar sentimentos e aprendizagens verdadeiras.

A minha orientadora, Prof^a Janaína, que abriu as portas do lab para eu aprender tanto durante esses anos, sempre muito paciente, atenciosa e empolgada com nossos projetos e com a ciência feita e lapidada dia-a-dia. Obrigada por todo o conhecimento transmitido e pelo exemplo de pesquisadora curiosa e humana para com seus orientados.

A todos meus amigos da vida, da universidade e do lab que pude contar e compartilhar momentos incríveis e aprendizagens inesquecíveis. Obrigada por fazerem parte da minha família do coração.

A todos os mestres que se eternizaram na construção do saber durante minha formação.

A Universidade Federal do Paraná que me mostrou ciência, política e educação de tantas formas, e a todos que, por meio dela, pude começar a desbravar um novo caminho. Muito obrigada!

“Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.”

Ricardo Reis

RESUMO

A associação do diabetes à depressão e à ansiedade vem aumentando ao longo dos anos, piorando a qualidade de vida dos pacientes e aumentando a morbimortalidade. Torna-se urgente tratar a depressão/ansiedade com um medicamento que também melhora a condição diabética. Nesse sentido, o canabidiol (CBD), foi identificado como um possível agente terapêutico no tratamento da depressão, ansiedade e diabetes. Assim, o objetivo do estudo foi investigar o efeito do CBD após o tratamento repetido (2 semanas) nas respostas comportamentais do tipo ansiedade (teste de labirinto mais elevado - EPM) e tipo depressão (teste de natação forçada modificada - mFST) em animais diabéticos, investigar o possível envolvimento de neurotransmissores como serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA) no córtex pré-frontal (PFC) e hipocampo (HIP), duas áreas encefálicas importantes para a mediação de comportamentos emocionais. Além disso, investigamos o envolvimento dos receptores 5HT1A, CB1 e CB2 nos mecanismos do CBD. O diabetes foi induzido em ratos Wistar machos pela injeção de estreptozotocina (60 mg/kg, i.p.). Duas semanas depois, tratamento repetido (14 dias) com CBD (0, 3, 10 ou 30 mg / kg, i.p.), imipramina (15 mg/kg, i.p.) como controle positivo, WAY100635 (antagonista de receptor 5-HT1A; 0,1 mg/kg i.p.), AM251 (antagonista de CB1; 1 mg/kg i.p.) e/ou AM630 (antagonista de receptor CB2; 1 mg/kg i.p.) foi iniciado. Nossos resultados mostram que o tratamento com CBD na maior dose foi capaz de aumentar os níveis plasmáticos de insulina, reduzir o comportamento do tipo ansiogênico e depressivo mais expressivo de animais diabéticos, os quais foram associados à melhora dos níveis alterados de 5-HT, NA e/ou DA em CPF e HIP de animais DBT. Além disso, o tratamento com o antagonista do receptor 5HT1A foi capaz de reverter o comportamento do tipo ansiolítico e antidepressivo e o tratamento com os antagonistas CB1 e CB2 foi capaz de reverter o comportamento do tipo depressivo do CBD em animais diabéticos. Assim, pode-se concluir que o tratamento repetido com CBD parece ter um potencial terapêutico e neuroprotetor no tratamento da depressão e ansiedade associada ao diabetes. Mais ainda, os dados indicam que o efeito do tipo antidepressivo é dependente da ativação direta e indireta dos receptores 5-HT1A, CB1 e CB2, enquanto o efeito do tipo ansiolítico é dependente da ativação do receptor 5-HT1A.

Palavras-chave: estreptozotocina, hipocampo, córtex pré-frontal, serotonina, ratos.

ABSTRACT

The association of diabetes with depression and with anxiety has been increasing over the years, worsening patients' quality of life and increasing morbidity and mortality. It becomes urgent to treat depression/anxiety with a drug that also improves the diabetic condition. In this sense, cannabidiol (CBD), has been identified as a possible therapeutic agent in the treatment of depression, anxiety and diabetes. Thus, the aim of the study was to investigate the effect of CBD after repeated treatment (2 weeks) on anxiety-like (elevated plus maze – EPM test) and depression-like (modified forced swimming test - mFST) behavioral responses in diabetic animals, investigate the possible involvement of neurotransmitters such as serotonin (5-HT), noradrenaline (NA) and dopamine (AD) in the prefrontal cortex (PFC) and hippocampus (HIP), two brain areas for mediating emotional behaviors. In addition, we investigated the involvement of 5HT1A, CB1 and CB2 receptors in CBD mechanisms. Diabetes was induced in male Wistar rats by streptozotocin injection (60 mg/kg, i.p.). Two weeks later, repeated treatment (14 days) with CBD (0, 3, 10 or 30 mg/kg, i.p.), imipramine (15 mg/kg, i.p.) as positive control, WAY100635 (5-HT1A receptor antagonist; 0.1 mg/kg i.p.), AM251 (CB1 receptor antagonist; 1 mg/kg i.p.) and/or AM630 (CB2 receptor antagonist; 1 mg/kg i.p.) has been started. Our findings show that CBD treatment was able to increase the plasma insulin levels, reduced the more expressive anxiogenic-like and depressive-like behavior of diabetic animals, which were associated with the improvement on the altered 5-HT, NA and/or DA levels in PFC and HIP from DBT animals. Moreover, treatment with 5HT1A receptor antagonist was able to reverse anxiolytic and antidepressant-like behavior and treatment with CB1 and CB2 antagonists was able to reverse CBD antidepressant-like behavior in diabetic animals. Thus, it can be concluded that repeated CBD treatment appears to have therapeutic and neuroprotective potential in the treatment of depression and anxiety associated with diabetes. Moreover, the data indicate that the antidepressant-like effect is dependent on the direct and indirect activation of 5-HT1A, CB1 and CB2 receptors, while the anxiolytic-like effect is dependent on 5-HT1A receptor activation.

Keywords: streptozotocin, hippocampus, prefrontal cortex, serotonin, rats.

LISTA DE SIGLAS

2-AG – 2-araquidonoilglicerol

5-HT – Serotonina

AEA – Anandamida

AM251/VEI – Animais diabéticos tratados com AM251 na dose de 1 mg/kg e veículo salina

AM251/CBD – Animais diabéticos tratados com AM251 na dose de 1 mg/kg e canabidiol na dose de 30 mg/kg

AM630/VEI – Animais diabéticos tratados com AM630 na dose de 1 mg/kg e veículo salina

AM630/CBD – Animais diabéticos tratados com AM630 na dose de 1 mg/kg e canabidiol na dose de 30 mg/kg

CA – Teste de Campo Aberto

CBD – Canabidiol

CBD/VEI – Animais diabéticos tratados com canabidiol na dose de 30 mg/kg

CPF – Córtex Pré-Frontal

DA – Dopamina

DBT – Animais diabéticos

DBT/VEI – Animais diabéticos tratados com o veículo salina

DBT/IMI - Animais diabéticos tratados com imipramina na dose de 15 mg/kg

DBT/CBD3 - Animais diabéticos tratados com o canabidiol na dose de 3 mg/kg

DBT/CBD10 – Animais diabéticos tratados com canabidiol na dose de 10 mg/kg

DBT/CBD30 – Animais diabéticos tratados com canabidiol na dose de 30 mg/kg

DM – Diabetes *Mellitus*

FAAH – Enzima amida hidrolase de ácidos graxos

HIP – Hipocampo

HPA – Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal

LCE – Teste de Labirinto em Cruz Elevado

NA – Noradrenalina

NGL – Animais normoglicêmicos

PFC – Pré-frontal cortex

SNC – Sistema Nervoso Central

STZ – Estreptozotocina

TNFm – Teste de Natação Forçada Modificado

WAY100635/VEI – Animais diabéticos tratados com WAY100635 na dose de 0,1 mg/kg e veículo salina

WAY100635/CBD – Animais diabéticos tratados com WAY100635 na dose de 0,1 mg/kg e canabidiol na dose de 30 mg/kg

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 ANIMAIS	20
3.2 DROGAS E TRATAMENTO.....	20
3.3 INDUÇÃO DO DIABETES.....	20
3.4 TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO	21
3.5 TESTE DE CAMPO ABERTO.....	21
3.6 TESTE DE LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	21
3.7 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE NORADRENALINA, DOPAMINA E SEROTONINA NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL E HIPOCAMPO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	22
3.8 QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE INSULINA	23
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	23
3.10 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	23
4. RESULTADOS	26
4.1 O tratamento prolongado com canabidiol induziu um efeito do tipo antidepressivo em ratos diabéticos.....	26
4.2 O tratamento prolongado com canabidiol induziu um efeito do tipo ansiolítico em ratos diabéticos.....	27
4.3 O tratamento prolongado com canabidiol aumentou o conteúdo reduzido de serotonina, sem alterar o conteúdo reduzido de noradrenalina e dopamina no hipocampo de ratos diabéticos.....	28
4.4 O tratamento prolongado com canabidiol reduziu o nível aumentado de noradrenalina e aumentou o nível reduzido de serotonina no córtex pré-frontal de ratos diabéticos.....	29

4.5	O tratamento prolongado com canabidiol aumentou o ganho de peso reduzido e induziu uma redução discreta da hiperglicemia, sem alterar a atividade locomotora dos ratos diabéticos.	30
4.6	O tratamento prolongado com canabidiol induziu um discreto aumento nos níveis plasmáticos de insulina de ratos diabéticos.	31
4.7	O tratamento prolongado com WAY100635 foi capaz de bloquear o efeito do tipo antidepressivo do canabidiol em ratos diabéticos.	32
4.8	O tratamento prolongado com WAY100635 foi capaz de bloquear o efeito do canabidiol ao induzir uma redução discreta da hiperglicemia, sem alterar a atividade locomotora e o ganho de peso dos ratos diabéticos.....	33
4.9	O tratamento prolongado com WAY100635 foi capaz de bloquear o efeito do tipo ansiolítico do canabidiol em ratos diabéticos.....	34
4.10	O tratamento prolongado com AM251 e AM630 foi capaz de bloquear o efeito do tipo antidepressivo do canabidiol em ratos diabéticos.	35
4.11	O tratamento prolongado com AM251 e AM630 não alterou o efeito do tipo ansiolítico do canabidiol em ratos diabéticos.	36
5.	DISCUSSÃO	38
6.	CONCLUSÃO	45
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma doença crônica caracterizada por alto nível de glicose sanguínea em decorrência da ausência ou falta de produção de insulina ou seu uso ineficaz (ZHANG et al., 2010; IDF, 2017). De acordo com o Atlas da Federação Internacional do Diabetes (2017) estima-se que existam mais de 424,9 milhões de pessoas portadoras de DM no mundo e até 2045 esse número deve subir para cerca de 628,6 milhões, sendo um problema global crescente. O diabetes pode ser classificado em vários tipos, sendo os três principais tipos são diabetes tipo 1 (DM1), diabetes tipo 2 (DM2) e diabetes gestacional. O DM1 é causado por uma reação autoimune do sistema imunológico contra às células β pancreáticas responsáveis pela produção de insulina, resultando em pouca ou nenhuma liberação deste hormônio e, conseqüentemente, prejuízo da entrada de glicose nas células; no DM2, o organismo produz insulina, mas sua função não é exercida adequadamente devido a baixa quantidade fornecida pelas células beta ou à resistência do organismo a esse hormônio, associado ao sobrepeso e obesidade, hábitos alimentares de risco e histórico familiar; já o diabetes gestacional, geralmente caracterizado como transitório, surge devido à produção de hormônios pela placenta que diminuem a ação da insulina (IDF, 2017).

A longo prazo, a hiperglicemia pode causar complicações à saúde do paciente, como doença cardiovascular, neuropatia, nefropatia, doença ocular, podendo gerar retinopatia e cegueira, além de prejuízos cognitivos, demência e depressão (WILLIAMSON et al., 2005; WAYHS et al., 2010; de MORAIS et al., 2018). Várias disfunções ou alterações tem sido observadas no Sistema Nervoso Central, como por exemplo aumento do estresse oxidativo, desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, prejuízo da neurogênese, inflamação e desregulação de neurotransmissores, sendo todas essas alterações também associadas a doenças neuropsiquiátricas como depressão e ansiedade (WILLIAMSON et al., 2005; ZANOVELI et al., 2015). Além disso, estudos mostram que pacientes diabéticos possuem de duas a três vezes mais chances de desenvolver depressão (ZANOVELI et al., 2015) e 40 a 60% mostram um aumento nos sintomas relacionados à ansiedade (GRIGSBY et al., 2002; LIN et

al., 2008; MAIA et al., 2014) quando comparados à população normoglicêmica, ao passo que alguns pacientes com essas psicopatologias apresentam níveis elevados de glicose em jejum, tolerância a glicose prejudicada e resistência à insulina quando comparados à população não diabética (GOLDEN et al., 2008), mostrando uma possível relação bidirecional entre diabetes e depressão/ansiedade.

Considerando que os déficits cognitivos e os distúrbios do humor estão sendo cada vez mais reconhecidos como uma característica proeminente do diabetes, a depressão é um transtorno mental de principal causa de doenças e incapacitação no mundo, sendo caracterizado por sintomas como humor deprimido, anedonia, perda de energia, sentimento de culpa ou baixa-autoestima, alterações do apetite ou do sono e concentração reduzida (World Health Organization, 2010). Sintomas ansiosos também são frequentes em outros transtornos psiquiátricos, como a depressão, e não determinam um transtorno ansioso típico, porém existem casos de diagnóstico coexistente (comorbidades), em que há dificuldade de identificar causas primárias ou secundárias dos sintomas. Nesse sentido, a ansiedade pode ser reconhecida como patológica quando é exagerada em relação ao seu estímulo e interfere o conforto emocional e a qualidade de vida do indivíduo, sendo classificada em diferentes tipos em que o transtorno de ansiedade generalizada é considerado o mais prevalente (CASTILLO et al., 2000; DSM-V, 2013)

Tendo em vista que a associação entre diabetes e depressão/ansiedade piora a qualidade de vida dos pacientes aumentando a morbidade e mortalidade, torna-se necessária a busca de tratamentos eficazes que melhorem ambas as condições. Sabe-se que o tratamento com antidepressivos é bastante comum, porém seu tempo de adesão é longo e nem todos os pacientes respondem de modo satisfatório ao tratamento, além de muitos antidepressivos alterar diretamente o controle glicêmico e interagir negativamente com drogas hipoglicêmicas (BHATTACHARJEE et al., 2013; GAGNON et al., 2018). Dessa forma, torna-se claro a urgência de melhor entendimento da fisiopatologia da depressão/ansiedade associada ao diabetes, além de buscar novas formas de tratamento que possuam efeitos em menor tempo, com baixos efeitos colaterais e com maior taxa de adesão. Nesse sentido, estudos indicam que o sistema

endocanabinóide (SEC) parece promissor para compreensão e modulação de doenças como diabetes e depressão (HILL et al., 2009; CAMPOS et al., 2012).

Esse sistema possui ações modulatórias tanto no Sistema Nervoso Central como no periférico através de receptores canabinóides do tipo CB1 e CB2, acoplados à proteína Gi/o e, quando ativados, inibem a atividade da enzima adenilato ciclase, ativam canais de potássio e inibem canais de cálcio voltagem dependente, reduzindo a liberação de neurotransmissores (CAMPOS et al., 2016). Os mais expressivos e mais estudados ligantes endógenos desse sistema são as moléculas lipofílicas anandamida (AEA) e o 2-araquidonilclicerol (2-AG) (CAMPOS et al., 2016). Ambas as moléculas são liberadas por demanda através de estímulo excitatório formadas pós-sinápticamente, agindo na fenda sináptica e atuando de forma retrógrada em receptores CB1 e CB2 pré-sinápticos. Sua ação é bastante ampla e complexa no Sistema Nervoso Central exercendo ação modulatória sobre vários comportamentos e, portanto, intervindo em comportamentos como memória, dor, ansiedade e depressão (MORAIS et al., 2016). Efeitos do tipo ansiolítico e antidepressivo podem ser acompanhados por níveis elevados de anandamida e pela estimulação da atividade neuronal monoaminérgica em regiões do cérebro que controlam o humor (CASSANO et al., 2011). Além disso, em modelos de diabetes do tipo 1 e 2, o sistema endocanabinóide parece desregulado e tem sido alvo de estudos para tratamento do distúrbio metabólico diretamente bem como de suas complicações (SERRA et al., 2007; GRUDEN et al., 2016).

Compreendendo a importância do sistema endocanabinóide na modulação de respostas comportamentais e fisiológicas, o CBD, composto não psicotomimético mais abundante presente na planta *Cannabis sativa*, tem ganhado grande destaque pelo seu potencial agente terapêutico em transtornos como ansiedade, epilepsia, esquizofrenia, dor crônica e depressão (IZZU et al., 2009; RÉUS et al., 2011). Toda via, os mecanismos moleculares envolvidos ainda estão pouco claros, podendo atuar como agonistas de receptores 5-HT_{1A}, inibidor da enzima amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH), ocasionando o aumento de endocanabinóides, e também podem atuar direta ou indiretamente em receptores canabinóides CB1 e/ou CB2 (ZANELATI et al., 2010; FOGAÇA et al., 2018). Como poucos estudos abordam o tratamento com CBD na diabetes,

e evidências indicam melhora nas condições diabéticas como disfunção cardiovascular, nefropatia, retinopatia e neuropatia em DM1 (DI MARZO et al., 2011), é necessário aprofundar o entendimento da associação entre o diabetes e a depressão/ansiedade, bem como investigar o efeito do tratamento do CBD sob essas ações comportamentais e mecanismos de ação do CBD nesses comportamentos, além da necessidade de tratamentos eficazes para essas comorbidades.

1.1 OBJETIVOS

- OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito do tratamento prolongado com canabidiol e o envolvimento de receptores 5-HT1A, CB1 e CB2 sobre respostas comportamentais de ansiedade e depressão em animais diabéticos induzidos pela estreptozotocina bem como a análise da condição diabética *per se*, como glicemia, ganho de peso e peso do pâncreas.

- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do tratamento prolongado com CBD com ou sem administração prévia do antagonista de receptores 5-HT1A, CB1 ou CB2 em animais diabéticos sobre o parâmetro comportamental de locomoção.

- Avaliar o efeito do tratamento prolongado com CBD com ou sem administração prévia do antagonista de receptores 5-HT1A, CB1 ou CB2 em animais diabéticos sobre o parâmetro comportamental de depressão.

- Avaliar o efeito do tratamento prolongado com CBD com ou sem administração prévia do antagonista de receptores 5-HT1A, CB1 ou CB2 em animais diabéticos sobre o parâmetro comportamental de ansiedade.

- Avaliar o efeito do tratamento prolongado com CBD com ou sem administração prévia do antagonista de receptores 5-HT1A, CB1 ou CB2 sobre parâmetros da condição diabéticas *per se* como peso corpóreo, glicemia e peso do pâncreas.

- Avaliar a dosagem de insulina no sangue após tratamento prolongado com CBD.
- Avaliar a quantificação de neurotransmissores no hipocampo e córtex pré-frontal após tratamento prolongado com CBD.

2. REVISÃO DA LITERATURA

O diabetes é uma condição crônica caracterizada pelo alto nível de glicose no sangue, resultado da falta da ação ou secreção da insulina, hormônio responsável por estimular a captação de glicose por tecidos sensíveis a este hormônio e inibir a liberação de glicose pelo fígado a partir da quebra do glicogênio (RANG et al., 2012; IDF, 2017). Existem vários tipos de diabetes com diferentes etiologias, mas com consequências semelhantes como a glicosúria (perda de glicose pela urina), causando poliúria (micção excessiva) e provocando polidipsia compensatória pela desidratação, sintomas da falta de reabsorção renal da glicose (IDF, 2017). Os dois tipos de diabetes mellitus mais conhecidos são do tipo 1 (DM1) e tipo 2 (DM2); o primeiro caracterizado por uma resposta autoimune em que as células β pancreáticas são destruídas resultando na falta ou insuficiente produção de insulina, é mais comum em crianças e adolescentes; o segundo por uma deficiência na secreção deste hormônio ou a resistência de sua ação, é mais comum em adultos mas vem crescendo o número de crianças e adolescentes com DM2 que possuem uma dieta pobre, sedentarismo e obesidade. Segundo o IDF de 2017, 425 milhões de pessoas são diabéticas no mundo e há uma projeção de aumento para 629 milhões até 2045, além do aumento da prevalência do DM1 em todo o mundo (YOU e HENNEBERG, 2016). As alterações metabólicas causadas pela hiperglicemia, uma vez que há comprometimento no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos, são uma das maiores causas de morbidade e mortalidade e geram diversas complicações em paciente com DM1, como doenças dos vasos sanguíneos macrovasculares (como por ex. aterosclerose) e microvasculares (afetando retina, rins e nervos periféricos), além disso, o controle intenso da glicose sanguínea pode levar ao aumento da hipoglicemia, sendo a barreira mais importante do tratamento para o controle da glicemia (MAAHS et al., 2011).

Além de complicações vasculares e danos físicos periféricos gerados pelos problemas metabólicos da DM1, alterações hormonais, nos sistemas de neurotransmissores e danos em áreas do encéfalo importantes para a emoção estão relacionadas com transtornos psíquicos como, demência e depressão, denominada em alguns estudos como “encefalopatia diabética” ou “neuropatia central” (BIESSELS et al., 2002; MIJNHOUT et al., 2006; MANSUR et al., 2014; SAEDI et al., 2018; HAN et al., 2018). Dessa forma, vários estudos mostram a associação entre diabetes e o aumento do estado de neuroinflamação, estresse oxidativo e desbalanço nos sistemas de neurotransmissão (WELLEN E HOTAMISLIGIL, 2005; de MORAIS et al., 2014, 2016; GUPTA et al., 2014; PRABHAKAR et al., 2015; da SILVA DIAS et al., 2016; HAN et al., 2018).

Considerando a relação entre diabetes e desregulação no Sistema Nervoso Central, estudos mostram a incidência de depressão em pacientes diabéticos (cerca de três vezes maior comparados com pacientes normoglicêmicos) além do aumento de incidência de DM1 em pacientes com transtorno depressivo (LUSTMAN et al., 1992; ANDERSON et al., 2001; ROY e LLOYD, 2012; SANTOS et al., 2013; MOULTON et al., 2015; ZANOVELI et al., 2015; RÉUS et al., 2017; POUWER, 2017; KAMPLING et al., 2017; AHOLA et al., 2018; BODEN, 2018). Além disso, estudos relatam que 40 a 60% dos pacientes diabéticos mostram um aumento nos sintomas relacionados à ansiedade (GRIGSBY et al., 2002; LIN et al., 2008; MAIA et al., 2014).

A depressão é considerada o transtorno de principal causa de incapacitação no mundo e sabe-se que mais de 300 milhões de pessoas foram diagnosticadas depressivas (OMS, 2017). Os sintomas associados à depressão são humor deprimido, acentuada diminuição do interesse ou prazer, perda ou ganho de peso corporal, insônia ou hipersonia, agitação ou retardo psicomotor, fadiga ou perda de energia, sentimento de inutilidade ou culpa excessiva, redução da capacidade de pensar ou concentrar, pensamentos recorrentes de morte, além de idealização suicida e, para que a depressão seja diagnosticada, segundo critérios do Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais (DSM-V, 2013), é necessário que no mínimo cinco dos sintomas listados estejam presentes durante um período de duas semanas, sendo pelo menos um deles o humor deprimido ou a perda do interesse ou prazer. De acordo com estudos

clínicos, pacientes com depressão apresentam uma diminuição na neurotransmissão monoaminérgica, baixos níveis de fator neurotrófico derivado do encéfalo (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), e desregulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, sendo este último a causa de elevados níveis de cortisol nesses indivíduos (BUTTENSCHON et al., 2017; RÉUS et al., 2017; JESULOLA et al., 2018), fatores que também estão associados a pacientes diabéticos além de elevada oxidação da glicose, deficiência ou sensibilidade alterada da ação da insulina e respostas neuroadaptativas que podem predispor a depressão (GUPTA et al., 2014; de MORAIS et al., 2014; da SILVA DIAS et al., 2016). Nesse sentido, hipotetiza-se a bidirecionalidade entre diabetes e depressão uma vez que compartilham consequências metabólicas e neuroadaptativas, porém sem estar esclarecido a ordem de aparecimento dessas doenças quando comorbidas, uma vez que os mecanismos fisiopatológicos causais associativos ainda não são bem definidos.

Considerando a neurobiologia do diabetes e depressão-ansiedade, estudos pré-clínicos mostram que modelos animais de DM1 apresentam uma série de alterações no encéfalo, tais como diminuição nos níveis de fator neurotrófico derivado do encéfalo no córtex pré-frontal e hipocampo (REDIVO et al., 2016; ABDELWAHED et al., 2018), hiperativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (JOSEPH e GOLDEN, 2017), alterações no sistema imune, como um aumento de citocinas pró-inflamatórias no hipocampo (da SILVA DIAS et al., 2016), desregulação de neurotransmissores como a noradrenalina e serotonina em diferentes áreas encefálicas envolvidas no comportamento emocional (BELLUSH et al., 1991; NESTLER et al., 2006; HO et al., 2012; GUPTA et al., 2014; ZANOVELI et al., 2016; DA SILVA DIAS et al., 2016) e alterações na plasticidade sináptica neuronal (GISPEN et al., 2000; MOCKING et al., 2013; PRABHAKAR et al., 2015; ASWAR et al., 2017).

Em relação ao envolvimento da serotonina, um neurotransmissor importante na mediação de respostas emocionais e que parece estar envolvido na associação diabetes/depressão, estudos mostram que animais diabéticos apresentam baixos níveis deste neurotransmissor em todo o conteúdo do cérebro (GUPTA et al., 2014). Evidências apontam que os receptores serotoninérgicos 5-HT1A estão diminuídos em pacientes diabéticos em áreas como o hipocampo

(PRABHAKAR et al., 2015) e o efeito de fármacos antidepressivos está reduzido em animais com diabetes seguindo o modelo de DM1, ressaltando o prejuízo na neurotransmissão serotoninérgica também em animais diabéticos (SHIMIZU, 1991; YAMATO et al., 2004).

Além do sistema serotoninérgico estritamente envolvido nessas patologias, o sistema canabinóide também parece apresentar um papel modulador em diferentes condições associadas ao diabetes (BOOZ et al., 2011; HORVÁTH et al., 2012; FREITAS et al., 2017) e a depressão (GOBBI et al., 2005; HILL et al., 2009; CAMPOS et al., 2012; ZHOU et al., 2017). O Sistema endocanabinóide é um sistema complexo composto por receptores CB1 e CB2 e seus principais ligantes endógenos são o N-araquidoniletanolamida (anandamida - AEA) e o 2-araquidoniletanolamida (2-AG). Ambas as moléculas agem como neurotransmissores atípicos e são formados pós-sinápticamente “sob demanda” por ação excitatória. Consequentemente, os compostos endógenos são liberados na fenda sináptica onde atuam de um modo retrógrado, ou seja, atuam em receptores pré-sinápticos localizados em neurônios de diferentes neurotransmissores (FREUND et al., 2003; HILL e GORZALKA 2005; MENDIGUREN et al., 2018), exercendo ações modulatórias amplas mediando diferentes comportamentos, tais como modulação da dor, memória, ansiedade e depressão (HILL et al., 2005; SCHREIBER et al., 2012; CAMPOS et al., 2012; FERREIRA-VIEIRA et al., 2014, de MORAIS et al., 2016; CAMPOS et al., 2017).

Atualmente, o tratamento de primeira escolha para tratar depressão e/ou ansiedade em indivíduos diabéticos são os antidepressivos. No entanto, esses fármacos possuem certas desvantagens, como controle cuidadoso da dosagem, latência de início de várias semanas, baixa adesão, recorrência dos sintomas na retirada (GOODWIN, 2003). Além disso, alguns efeitos colaterais indesejados dos antidepressivos são compartilhados aos sintomas diabéticos (como redução da libido, anormalidades do sono, aumento do apetite). Sabe-se que drogas antidepressivas podem alterar diretamente o controle glicêmico, o que pode ser um desafio para o tratamento dessas doenças em comorbidade (BHATTACHARJEE et al., 2013; DHAVALÉ et al., 2013; BYSTRITSKY et al., 2014; ZANOVELI et al., 2015; GAGNON et al., 2018). Portanto, a investigação de novos agentes farmacológicos para uso em pacientes com depressão e

ansiedade se faz necessária, especialmente com perfis mais eficazes, mais bem tolerados e que não afetem a condição diabética.

Nesse sentido, o CBD, composto não psicotomimético mais abundante presente na planta *Cannabis sativa*, tem se mostrado como um agente farmacológico de grande potencial no tratamento de diversas psicopatologias ou condições, tais como ansiedade, depressão, ataque epiléptico, esquizofrenia, dor crônica, dentre outras (IZZU et al., 2009; RÉUS et al., 2011; de MELLO SCHIER et al., 2014). Estudos mostram um potencial do CBD em induzir efeitos benéficos em relação ao estado diabético *per se*, reduzindo a incidência de DM1 em camundongos e a inflamação pancreática precoce nesse tipo de diabetes, podendo também retardar os danos causados pelo diabetes nas células β pancreáticas (WEISS et al., 2006; DI MARZO et al., 2011; LEHMANN et al., 2016). Estudo conduzido por EL-REMESSY e colaboradores (2006) mostrou que o tratamento com CBD em animais diabéticos foi capaz de bloquear os aumentos no estresse oxidativo reduzindo a peroxidação lipídica, diminuição dos níveis de fator de necrose tumoral- α , fator de crescimento endotelial vascular e molécula de adesão intercelular-1 e atuou reduzindo as citocinas pró-inflamatórias. Além disso, propriedades de proteção antioxidante, anti-inflamatória, estimuladora imunológica, neurológica e cardiovascular do CBD foram sugeridas com base em dados pré-clínicos e clínicos (CRIPPA et al., 2018). Os mecanismos pelos quais o CBD pode atuar são complexos e envolve múltiplos alvos, sendo eles como inibidor da degradação enzimática e da captação de anandamida, facilitando a sinalização endocanabinóide por meio dos receptores CB1, CB2 e do receptor vanilóide 1 (TRPV1) e como agonista dos receptores serotoninérgicos 5-HT1A (SILOTE et al., 2019). Estudos pré-clínicos indicam que a contribuição de cada um desses mecanismos para o perfil farmacológico induzido pelo CBD depende das análises comportamentais sob investigação (SILOTE et al., 2019).

Assim, a ação deste composto possui várias características que podem aliviar as condições diabéticas associadas à depressão e ansiedade, levando à hipótese de que o CBD possa ter propriedades terapêuticas intrínsecas e adjuvantes no diabetes e suas complicações.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Ratos machos Wistar, com peso entre 180 e 200 gramas no início do experimento fornecidos pelo biotério central do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Os animais tiveram livre acesso a água e alimento e foram mantidos sob um ciclo de luz claro/escuro de 12 h (7:00 às 19:00 h) e temperatura controlada em $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Todos os experimentos foram conduzidos em acordo com as normas e legislações contidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UFPR (CEUA 1106).

3.2 DROGAS E TRATAMENTO

Estreptozotocina (STZ, Santa Cruz Biotechnology Inc., EUA); citrato de sódio (Merck S.A, Brasil); imipramina (controle positivo) (IMI; 15 mg/kg; i.p.; Novartis Biociências S/A); canabidiol (CBD; 3, 10, 30 mg/kg; i.p.; 96% puro fornecido pela BSPG-Pharm, Sandwich, United Kingdom); WAY100635 (0,1 mg/kg; i.p.); AM251 (1 mg/kg); AM630 (1 mg/kg). A STZ foi diluída em tampão citrato 10 mM, pH 4,5 e administrada por via intraperitoneal (i.p.) na dose de 60 mg/kg. Imipramina foi diluída em salina e o CBD, WAY100635, AM251 e AM630 diluídos em 2% Tween 80 e salina.

3.3 INDUÇÃO DO DIABETES

A diabetes experimental do tipo 1 foi induzida através da administração única de estreptozotocina (modelo de diabetes tipo 1) (STZ; 60 mg/kg, intraperitoneal; diluído em tampão citrato, 10 mM, pH 4,5) em ratos previamente submetidos a jejum de 12 horas. A confirmação da hiperglicemia foi realizada três dias após a injeção de STZ, por meio da aplicação de um pequeno volume de sangue periférico colhido da cauda dos animais em fitas teste impregnadas de glicose oxidase (Accu-Check Active™, Roche) e realizada novamente ao final dos testes comportamentais. Animais com glicemia igual ou maior que 250mg/dL foram considerados diabéticos e mantidos nos grupos experimentais.

Paralelamente, grupos controles normoglicêmicos foram conduzidos, os quais receberam somente tampão citrato (10 mM, pH 4,5, volume equivalente).

3.4 TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO

O potencial efeito antidepressivo da imipramina e do CBD foi avaliado através do teste de natação forçada modificado descrito inicialmente por Porsolt e colaboradores (1979) e modificado por Detke e colaboradores (1995). Primeiramente o pré-teste foi realizado colocando individualmente os ratos para nadar em cilindros de plástico (30 cm de diâmetro por 40 cm de altura contendo 30 cm de água na temperatura de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$) por 15 minutos. Vinte e quatro horas após a sessão pré-teste, os animais foram submetidos a sessão teste de 5 minutos e a sessão filmada para posterior análise. Os comportamentos analisados foram de imobilidade (exceto pequenos movimentos necessários para flutuar), natação (movimentos através do cilindro de plástico) e escalada (movimento com as patas dianteiras na parede do cilindro na tentativa de sair do mesmo), avaliados a cada 5 segundos de experimento e analisados qual foi predominante neste intervalo. Ao final de cada sessão pré-teste e teste os animais foram removidos do cilindro e secos com panos limpos em caixas separadas antes de voltarem às suas caixas e os cilindros foram limpos.

3.5 TESTE DE CAMPO ABERTO

Com o intuito de analisar a atividade locomotora, os animais foram postos em uma arena retangular feita de madeira (40 cm de comprimento, 50 cm de largura e 63 cm de altura) com a base dividida em 9 retângulos e observado o número de retângulos cruzados com as 4 patas do animal durante 5 minutos e a sessão filmada para posterior análise. Entre cada animal o campo aberto foi higienizado com álcool 20% (de MORAIS et al., 2016).

3.6 TESTE DE LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

O potencial efeito ansiolítico da imipramina e do CBD foi avaliado através do teste de labirinto em cruz elevado descrito por Pellow e colaboradores (1985). O aparato é feito de madeira e fica a 50 cm do chão, possui 4 braços sendo 2 abertos e 2 fechados. Cada animal foi posto no centro do aparato e quantificado

o tempo nos braços abertos, número de entrada nos braços abertos e número de entrada nos braços fechados. Cada sessão de 5 minutos foi filmada para posterior análise. Entre cada animal o labirinto será higienizado com álcool 20%.

3.7 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE NORADRENALINA, DOPAMINA E SEROTONINA NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL E HIPOCAMPO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Após os experimentos comportamentais, os animais foram sacrificados por decapitação e os cérebros foram removidos do crânio e colocados em uma superfície fria do vidro. Em seguida, o córtex pré-frontal (PFC) e o hipocampo (HIP) foram dissecados e imediatamente congelados. O tecido foi homogeneizado com desregulador celular ultrassônico em 0,1 M de ácido perclórico com metabissulfito de sódio a 0,02% e padrão interno. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10000 x g por 30 minutos a 4 ° C e 20 µL de sobrenadante foram injetados na cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A fase móvel consiste em 20 g de ácido cítrico monohidratado (Merck S.A., Brasil), 200 mg de sal de sódio do ácido octano-1-sulfônico (Merck), 40 mg de EDTA (Sigma) e 900 mL de água para HPLC. O pH da fase móvel foi fixado em 4,0 e depois filtrado e o metanol foi adicionado a uma concentração final de 10% (v/v). O sistema de cromatografia líquida de alta eficiência foi equipado com uma coluna de fase reversa (Synergi Fusion-RP, 150 x 4,6 mm; tamanho de partícula de 4 µm) equipada com uma pré-coluna de 4 x 3,0 mm (SecurityGuard Cartridges Fusion-RP), acoplada a eletroquímica detecção (detector eletroquímico ESL Coulochem III) equipado com uma célula de proteção (ESA 5020) e uma célula analítica de eletrodo duplo (ESA 5011A); e uma bomba LC-20AT (Shimadzu) equipada com um injetor Rheodyne 7725 manual com um loop de 20 µl. A coluna foi mantida dentro de um forno com temperatura controlada (25 ° C, Shimadzu). Os potenciais oxidantes foram estabelecidos em 100 mV para o primeiro eletrodo e em 450 mV para o segundo eletrodo. Dopamina (DA), noradrenalina (NA) e serotonina (5-HT) foram detectadas no segundo eletrodo. As áreas de pico dos padrões externos foram usadas para quantificar os picos da amostra (de MORAIS et al., 2016).

3.8 QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE INSULINA

As amostras de sangue foram coletadas após a eutanásia e o plasma foi obtido por centrifugação sanguínea a 2500 rpm (15 min) a 4 °C e armazenado a -80 °C até o uso. Os níveis plasmáticos de insulina foram determinados de acordo com as instruções do fabricante por Ensaio Imunossorvente Ligado a Enzimas (kit ELISA para insulina de rato/camundongo; Merck Millipore; St. Charles, Missouri, EUA).

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene foram inicialmente utilizados para garantir que os dados satisfizessem os critérios para a realização de testes paramétricos. Quando os critérios foram aceitos, os resultados foram relatados como média \pm erro padrão da média (EPM). Os dados foram analisados pelo teste *t* de Student a fim de avaliar se houve diferença significativa entre o grupo de animais normoglicêmicos e diabéticos tratados com veículo, e pela análise de variância (ANOVA) de uma via com os tratamentos (diferentes grupos de tratamento) como um único fator independente. Quando apropriados, testes de Newman-Keuls e Bonferroni foram utilizados para análises *post-hoc*. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

3.10 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

EXPERIMENTO 1:

Os animais foram divididos em 6 grupos (n=6-12/grupo):

Grupo 1 – animais normoglicêmicos tratados com veículo salina (NGL/VEI)

Grupo 2 – animais diabéticos tratados com veículo salina (DBT/VEI)

Grupo 3 – animais diabéticos tratados com imipramina na dose de 15 mg/kg (DBT/IMI)

Grupo 4 – animais diabéticos tratados com CBD na dose de 3 mg/kg (DBT/CBD 3)

Grupo 5 – animais diabéticos tratados com CBD na dose de 10 mg/kg (DBT/CBD 10)

Grupo 6 – animais diabéticos tratados com CBD na dose de 30 mg/kg (DBT/CBD 30)

Duas semanas após a confirmação da condição diabética, os animais DBT receberam uma injeção intraperitoneal diária de CBD (0, 3, 10 ou 30 mg/kg) ou IMI (15 mg/kg) por duas semanas. Os testes comportamentais foram realizados nos dias 26 a 28 após a confirmação do diabetes (quarta semana) e pelo menos 4 horas após o tratamento com veículo (VEI) ou CBD. O teste LCE foi realizado no 26º dia. No dia seguinte (dia 27), a sessão de pré-teste do TNFm foi realizada e no dia 28, o teste de campo aberto foi conduzido seguido por uma sessão do TNFm. Imediatamente após o teste, a glicemia dos animais foi verificada. Na sequência, os ratos foram sacrificados por decapitação e o HIP e PFC foram retirados para a análise neuroquímica enquanto o plasma foi colhido para a análise da insulina (FIGURA 1).

Todos os experimentos comportamentais foram conduzidos por um pesquisador cego para tratamentos, mas não cego para a condição diabética, uma vez que os animais DBT exibem alterações fisiológicas características como poliúria, polifagia, polidipsia e redução do ganho de peso.

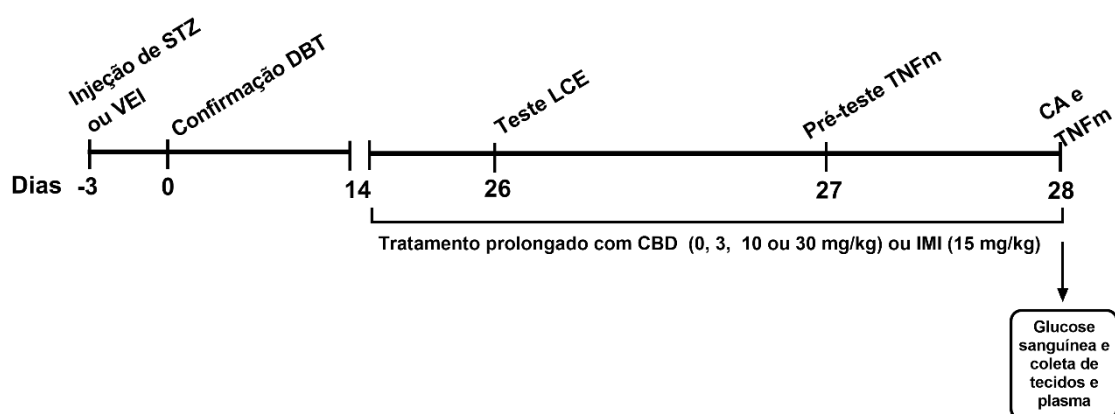


Figura 1 Linha temporal do protocolo experimental. STZ: estreptozotocina; VEI: veículo salina; DBT: diabetes; LCE: labirinto em cruz elevado; TNFm: teste de natação forçada modificado.

EXPERIMENTO 2:

Os animais foram divididos em 6 grupos (n=6-12/grupo):

Grupo 1 – animais diabéticos tratados com WAY100635 na dose de 0,1 mg/kg e salina (WAY100635/VEI)

Grupo 2 – animais diabéticos tratados com CBD na dose de 30 mg/kg e WAY100635 na dose de 0,1 mg/kg (CBD/WAY100635)

Grupo 3 – animais diabéticos tratados com AM251 na dose de 1 mg/kg e salina (AM251/VEI)

Grupo 4 – animais diabéticos tratados com AM251 na dose de 1 mg/kg e CBD na dose de 30mg/kg (AM251/CBD)

Grupo 5 – animais diabéticos tratados com AM630 na dose de 1 mg/kg e salina (AM630/VEI)

Grupo 6 – animais diabéticos tratados com AM630 na dose de 1 mg/kg e CBD na dose de 30mg/kg (AM251/CBD)

Duas semanas após a confirmação da condição diabética, os animais DBT receberam uma injeção intraperitoneal diária de WAY100635 (0,1 mg/kg), AM251 (1 mg/kg) ou AM635 (1 mg/kg) previamente ao tratamento com CBD (30 mg/kg) ou VEI por duas semanas. Os testes comportamentais foram realizados nos dias 26 a 28 após a confirmação do diabetes (quarta semana) e pelo menos 4 horas após o tratamento com veículo (VEI) ou CBD. O teste LCE foi realizado no 26º dia. No dia seguinte (dia 27), a sessão de pré-teste do TNFm foi realizada e no dia 28, o teste de campo aberto foi conduzido seguido por uma sessão do TNFm. Imediatamente após o teste, a glicemia dos animais foi verificada. Na sequência, os ratos foram sacrificados por decapitação e o HIP e PFC foram retirados para a análise neuroquímica enquanto o plasma foi colhido para a análise da insulina (FIGURA 2).

Todos os experimentos comportamentais foram conduzidos por um pesquisador cego para tratamentos, mas não cego para a condição diabética, uma vez que os animais DBT exibem alterações fisiológicas características como poliúria, polifagia, polidipsia e redução do ganho de peso.

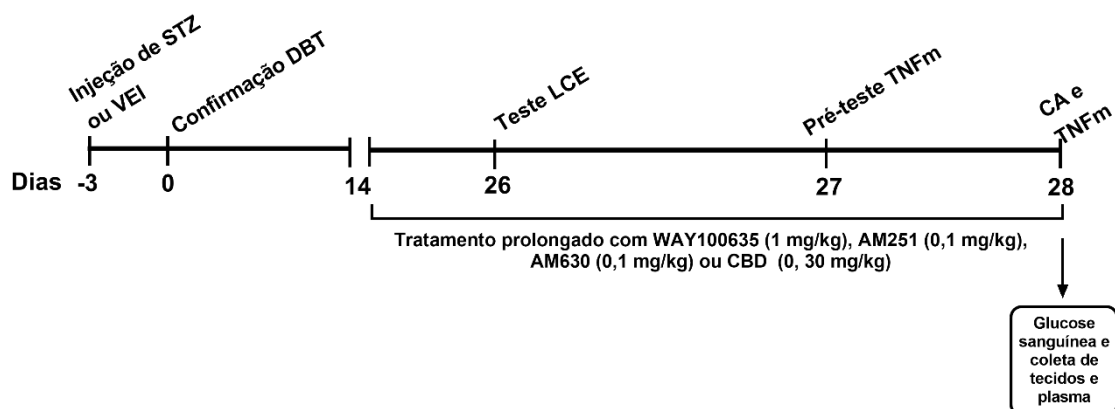


Figura 2 Linha temporal do protocolo experimental. STZ: estreptozotocina; VEI: veículo salina; DBT: diabetes; LCE: labirinto em cruz elevado; TNFm: teste de natação forçada modificado.

4. RESULTADOS

EXPERIMENTO 1 - Efeito do tratamento prolongado com canabidiol sobre respostas comportamentais de ansiedade e depressão em animais diabéticos induzidos pela estreptozotocina bem como a análise da condição diabética *per se*, como glicemia, ganho de peso e peso do pâncreas, além de dosagem de insulina e quantificação de neurotransmissores.

4.1 O tratamento prolongado com canabidiol induziu um efeito do tipo antidepressivo em ratos diabéticos.

Como mostrado na Figura 3, o teste *t* de Student mostrou diferença entre os animais NGL e DBT tratados com VEI nas contagens médias de imobilidade [$t=5,914$; $df=17$; $p < 0,05$, painel A], natação [$t=3,961$; $df=17$; $p < 0,05$, painel B] ou escalada [$t=4,36$; $df=17$; $p < 0,05$, painel C]. Quando grupos diabéticos foram analisados, a ANOVA unidirecional revelou que os tratamentos alteram significativamente as frequências médias de imobilidade [$F(4,38)=7,072$; $p < 0,05$, painel A], natação [$F(4,38)=5,11$; $p < 0,05$, painel B] e escalada [$F(4,38)=9,623$; $p < 0,05$, painel C]. O teste *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o tratamento prolongado com CBD (apenas na dose mais alta de 30 mg/kg) diminuiu significativamente a frequência média de imobilidade ($p < 0,05$) e aumentou a frequência média de natação ($p < 0,05$), sem causar uma mudança significativa na frequência média de escalada ($p > 0,05$). Além disso, o tratamento

com IMI diminuiu significativamente a frequência média de imobilidade ($p < 0,05$) e aumentou as frequências médias de natação e escalada ($p < 0,05$).

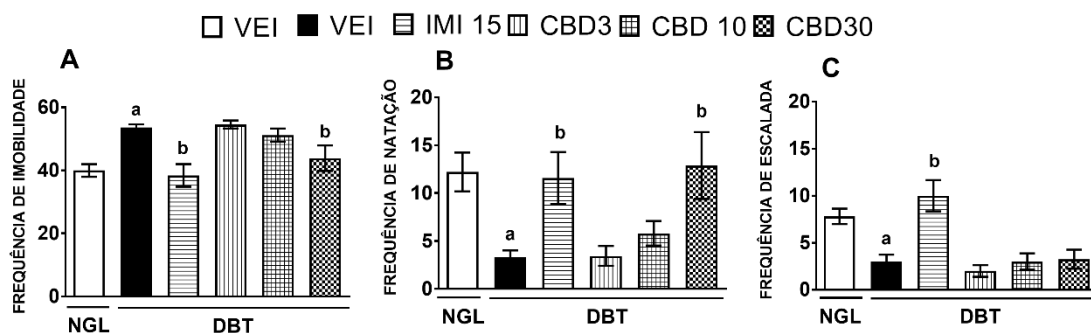


Figura 3 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 3, 10 ou 30 mg/kg, i.p.), imipramina (IMI; 15 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) nas frequências de imobilidade (painel A), natação (painel B) e escalada (painel C) em animais diabéticos (DBT) ou normoglicêmicos (NGL) submetidos a teste de natação forçada modificado. Os valores foram expressos como média \pm EPM ($n = 6-12$). a = $p < 0,05$ quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; b = $p < 0,05$ quando comparado aos animais DBT tratados com VEI.

4.2 O tratamento prolongado com canabidiol induziu um efeito do tipo ansiolítico em ratos diabéticos.

Conforme mostrado na Figura 4 (painéis A e B), o teste t de Student mostrou diferença entre os animais controle NGL e DBT (tratados com VEI) no número de entradas nos braços fechados [$t=3,164$; $df=17$; $p < 0,05$, painel A]. Quando grupos diabéticos foram analisados, a ANOVA unidirecional mostrou que o tratamento foi capaz de alterar o tempo de permanência nos braços abertos [$F(4,38) = 6,504$; $p < 0,05$, painel B], mas não o número de entradas nos braços fechados [$F(4,38)=0,673$; $p < 0,05$]. O teste *post hoc* de Newman-Keuls mostrou que o IMI e o CBD (30 mg/kg) aumentaram o tempo de permanência nos braços abertos ($p < 0,05$) sem alterar o número de entradas nos braços fechados ($p > 0,05$).

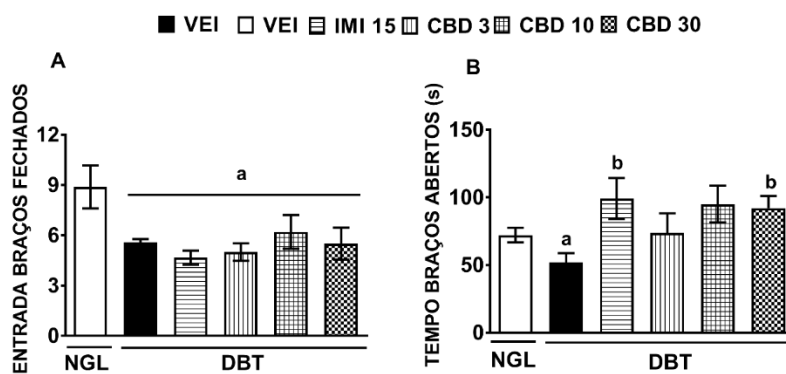


Figura 4 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 3, 10 ou 30 mg/kg, i.p.) imipramina (IMI; 15 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) no número de entradas nos braços fechados (painel A) e tempo de permanência nos braços abertos (painel B) de animais diabéticos (DBT) ou normoglicêmicos (NGL) submetidos a labirinto em cruz elevado. Os valores foram expressos como média \pm EPM (n = 6-12). a = p <0,05 quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; b = p <0,05 quando comparado aos animais DBT tratados com VEI.

4.3 O tratamento prolongado com canabidiol aumentou o conteúdo reduzido de serotonina, sem alterar o conteúdo reduzido de noradrenalina e dopamina no hipocampo de ratos diabéticos.

Como mostrado na Figura 5, quando comparados ao NGL, os animais DBT apresentaram uma redução significativa no conteúdo hipocampal de serotonina (t=2,775; df=9; p <0,05), noradrenalina (t=3,372; df=9; p <0,05) e dopamina (t=5,074; df=9; p <0,05).

Quando grupos diabéticos foram analisados, o teste ANOVA de uma via revelou que o tratamento foi capaz de alterar os níveis de serotonina [F (4,19)=19,18; p <0,05] e noradrenalina [F (4,19)=3,989; p <0,05], mas não dopamina [F (4,19)=2,486; p > 0,05] no hipocampo. O teste *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que, enquanto o CBD (na dose mais alta de 30 mg/kg) aumentou apenas os níveis hipocampais de serotonina (p <0,05), o tratamento com IMI aumentou os níveis de serotonina (p <0,05) e a noradrenalina (p <0,05) no hipocampo de ratos DBT.

● NGL/VEI ■ DBT/VEI ▲ DBT/IMI 15 ▼ DBT/CBD 3 □ DBT/CBD 10 ◐ DBT/CBD 30

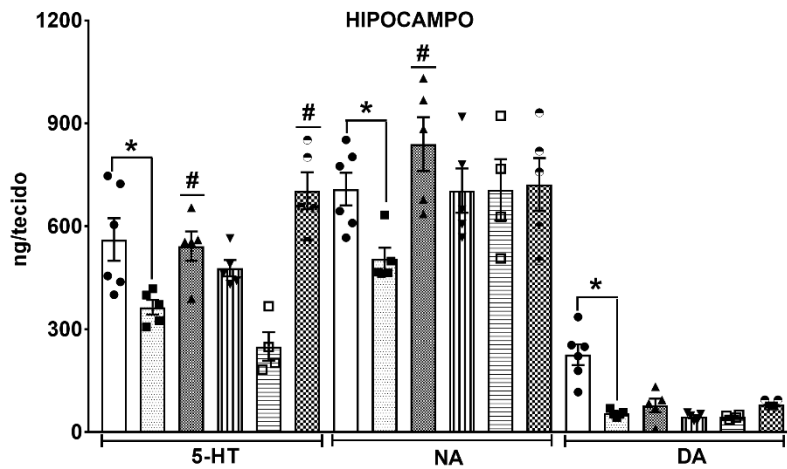


Figura 5 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 3, 10 ou 30 mg/kg, i.p.), imipramina (IMI; 15 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) nos níveis de serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA) no hipocampo de animais normoglicêmicos (NGL) ou diabéticos (DBT) (ng/g de tecido). Os valores foram expressos como média \pm EPM (n = 6-12). * p <0,05 quando comparado aos animais NGL tratados com VEI (NGL/VEI); #p <0,05 quando comparado aos animais DBT tratados com VEI (DBT/VEI).

4.4 O tratamento prolongado com canabidiol reduziu o conteúdo aumentado de noradrenalina e aumentou o conteúdo reduzido de serotonina no córtex pré-frontal de ratos diabéticos.

Como demonstrado na Figura 6, quando comparados ao NGL, os animais DBT tratados com veículo tiveram uma redução significativa no conteúdo do córtex pré-frontal da serotonina ($t=3,827$; $df=9$; $p <0,05$). Por outro lado, os níveis de noradrenalina foram significativamente maiores nos animais DBT ($t=2.511$; $df=9$; $p <0,05$), enquanto os níveis de dopamina não se alteraram ($t=1.357$; $df=9$; $p <0,05$).

Quando grupos diabéticos foram analisados, o teste ANOVA unidirecional revelou que o tratamento com CBD foi capaz de alterar a serotonina [$F(4,19)=13.000$; $p <0,05$] e a noradrenalina [$F(4,19)=13,82$; $p <0,05$], mas não a dopamina [$F(4,19)=1,537$; $p > 0,05$] no córtex pré-frontal de ratos DBT. O teste *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o CBD (30 mg/kg) foi capaz de aumentar significativamente os níveis de serotonina ($p <0,05$) e reduzir os níveis

de noradrenalina ($p < 0,05$). O tratamento com IMI também foi capaz de reduzir os níveis de noradrenalina no córtex pré-frontal ($p < 0,05$) dos animais DBT.

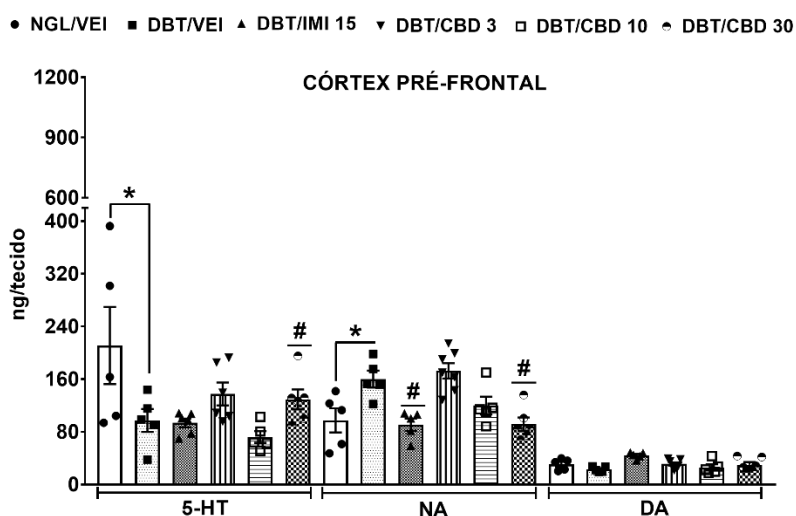


Figura 6 Efeito do tratamento prolongado com cannabidiol (CBD; 3, 10 ou 30 mg/kg, i.p.), imipramina (IMI; 15 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEH) nos níveis de serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA) no córtex pré-frontal de animais normoglicêmicos (NGL) ou diabéticos (DBT) (ng/g de tecido). Os valores foram expressos como média \pm EPM ($n = 6-12$). * $p < 0,05$ quando comparado aos animais NGL tratados com VEI (NGL/VEI); # $p < 0,05$ quando comparado aos animais DBT tratados com VEI (DBT/VEI).

4.5 O tratamento prolongado com cannabidiol aumentou o ganho de peso reduzido e induziu uma redução discreta da hiperglicemia, sem alterar a atividade locomotora dos ratos diabéticos.

O teste t de Student mostrou diferença entre os animais NGL e DBT tratados com VEI quando o número de cruzamentos [$t=5,133$; $df=17$; $p < 0,05$, painel A], ganho de peso [$t=7,133$; $df=17$; $p < 0,05$, painel B] ou glicemia [$t=23,91$; $df=17$; $p < 0,05$, painel C] foram avaliados. Quando grupos diabéticos foram analisados, o teste ANOVA unidirecional revelou que o tratamento não alterou o número de cruzamentos no campo aberto [$F(4,38)=1,258$; $p > 0,05$, painel A], mas alterou significativamente a glicemia [$F(4,38)=3,211$; $p < 0,05$, painel B] e ganho de peso [$F(4,38)=5,973$; $p < 0,05$, painel C]. O teste *post hoc* de Newman-Keuls mostrou que os animais DBT tratados com CBD (novamente apenas com a dose mais alta de 30 mg/kg) apresentaram um aumento no ganho de peso ($p < 0,05$) e uma diminuição significativa nos níveis glicêmicos ($p < 0,05$).

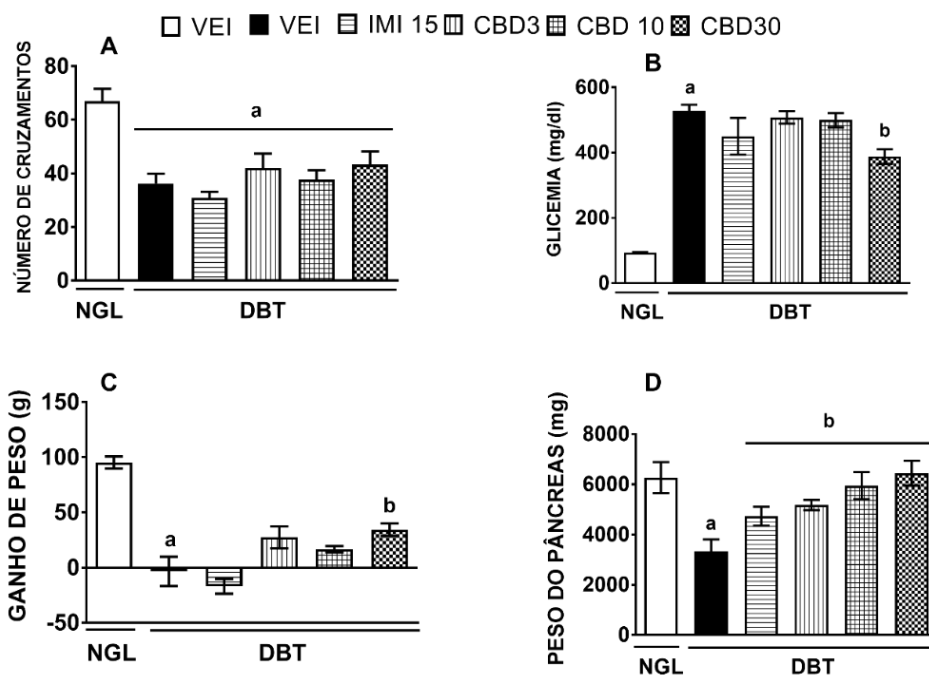


Figura 7 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 3, 10 ou 30 mg/kg, i.p.), imipramina (IMI; 15 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) no número de cruzamentos no teste de campo aberto (painel A), ganho de peso (painel B) e glicemia (painel C) de animais diabéticos (DBT) ou normoglicêmicos (NGL). Os valores foram expressos como média \pm EPM (n = 6-12). a = p <0,05 quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; b = p <0,05 quando comparado aos animais DBT tratados com VEI.

4.6 O tratamento prolongado com canabidiol induziu um discreto aumento nos níveis plasmáticos de insulina de ratos diabéticos.

Como mostrado na Figura 8, os animais DBT tiveram uma redução significativa nos níveis plasmáticos de insulina [$t=4,085$; $df=9$; $p <0,05$] quando comparado aos ratos NGL. A ANOVA de uma via mostrou que o tratamento alterou os níveis plasmáticos de insulina [$F(4,19) = 8,225$; $p <0,05$]. O teste *post hoc* mostrou que o CBD (30 mg/kg), mas não com o IMI, aumentou significativamente os níveis plasmáticos de insulina nos animais DBT ($p <0,05$).

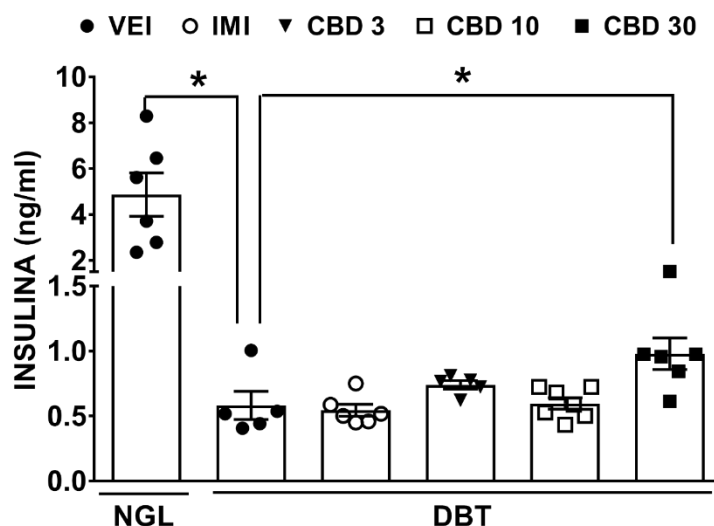


Figura 8 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 3, 10 ou 30 mg/kg, i.p.), imipramina (IMI; 15 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) nos níveis plasmáticos de insulina de diabéticos (DBT) ou animais normoglicêmicos (NGL). Os valores foram expressos como média \pm EPM (n = 6-12). * p < 0,05 quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; # p < 0,05 quando comparado aos animais DBT tratados com VEI.

EXPERIMENTO 2 - Efeito do tratamento prolongado com canabidiol e o envolvimento de receptores 5-HT_{1A}, CB₁ e CB₂ sobre respostas comportamentais de ansiedade e depressão em animais diabéticos induzidos pela estreptozotocina bem como a análise da condição diabética *per se*, como glicemia, ganho de peso e peso do pâncreas.

4.7 O tratamento prolongado com WAY100635 foi capaz de bloquear o efeito do tipo antidepressivo do canabidiol em ratos diabéticos.

Como mostrado na Figura 9, o teste *t* de Student mostrou diferença entre os animais NGL e DBT tratados com VEI nas frequências médias de imobilidade [t=5,965 df=10; p < 0,05, painel A], natação [t=4,158; df=10; p < 0,05, painel B] ou escalada [t=4,25; df=10; p < 0,05, painel C]. Quando grupos diabéticos foram analisados, a ANOVA unidirecional revelou que os tratamentos alteram significativamente as frequências médias de imobilidade [F (7,25)=5; p < 0,05, painel A], natação [F (3,66)=5; p < 0,05, painel B] e escalada [F (2,08)=5; p < 0,05, painel C]. O teste *post-hoc* de Bonferroni mostrou que o tratamento prolongado com CBD diminuiu significativamente a frequência média de imobilidade (p < 0,05) e aumentou a frequência média de natação (p < 0,05), sem causar uma

mudança significativa na frequência média de escalada ($p > 0,05$) e o tratamento com WAY100635 reverteu significativamente tanto a frequência média de imobilidade ($p < 0,05$) quanto a frequência média de natação ($p < 0,05$).

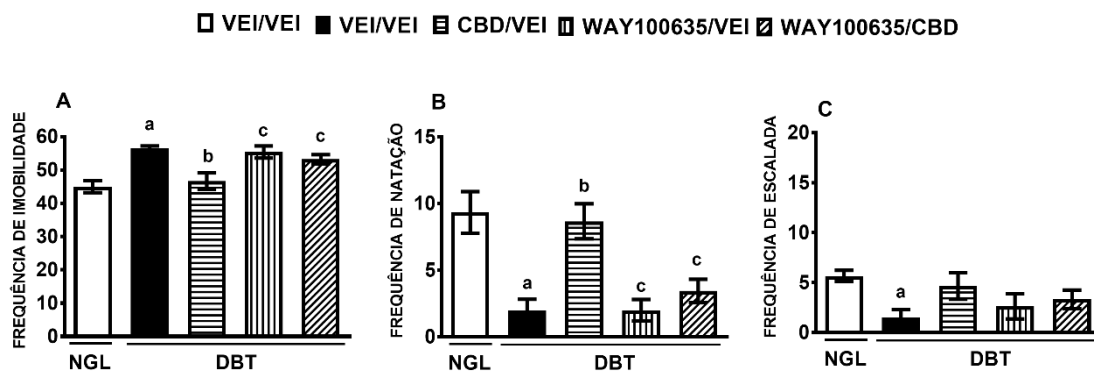


Figura 9 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 30 mg/kg, i.p.), WAY100635 (WAY; 0,1 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) nas frequências de imobilidade (painel A), natação (painel B) e escalada (painel C) em animais diabéticos (DBT) ou normoglicêmicos (NGL) submetidos a teste de natação forçada modificado. Os valores foram expressos como média \pm EPM ($n = 6-12$). a = $p < 0,05$ quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; b = $p < 0,05$ quando comparado aos animais DBT tratados com VEI; c = $p < 0,05$ quando comparado aos animais DBT tratados com CBD.

4.8 O tratamento prolongado com WAY100635 foi capaz de bloquear o efeito do canabidiol ao induzir uma redução discreta da hiperglicemia, sem alterar a atividade locomotora e o ganho de peso dos ratos diabéticos.

O teste *t* de Student mostrou diferença entre os animais NGL e DBT tratados com VEI quando a glicemia [$t=19,52$; $df=10$; $p < 0,05$, painel A], ganho de peso [$t=9,549$; $df=10$; $p < 0,05$, painel B] ou o número de cruzamentos [$t=2,598$; $df=10$; $p < 0,05$, painel C] foram avaliados. Quando grupos diabéticos foram analisados, o teste ANOVA unidirecional revelou que o tratamento alterou significativamente a glicemia [$F(35,66)=5$; $p > 0,05$, painel A], o ganho de peso [$F(7,843)=5$; $p < 0,05$, painel B], mas não alterou o número de cruzamentos no campo aberto e [$F(2,296)=5$; $p < 0,05$, painel C]. O teste *post hoc* de Bonferroni mostrou que os animais DBT tratados com CBD apresentaram um aumento no ganho de peso ($p < 0,05$) e uma diminuição significativa nos níveis glicêmicos ($p < 0,05$) e o

tratamento com WAY100635 reverteu significativamente a diminuição da glicemia ($p < 0,05$).

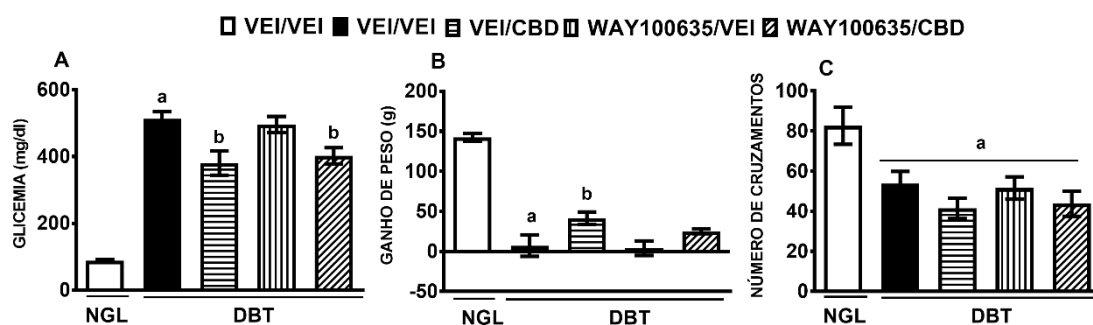


Figura 10 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 30 mg/kg, i.p.), WAY100635 (WAY; 0,1 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) na glicemia (painel A), ganho de peso (painel B) e número de cruzamentos no teste de campo aberto (painel C) de animais diabéticos (DBT) ou normoglicêmicos (NGL). Os valores foram expressos como média \pm EPM ($n = 6-12$). $a = p < 0,05$ quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; $b = p < 0,05$ quando comparado aos animais DBT tratados com VEI.

4.9 O tratamento prolongado com WAY100635 foi capaz de bloquear o efeito do tipo ansiolítico do canabidiol em ratos diabéticos.

Conforme mostrado na Figura 11 (painéis A e B), o teste t de Student mostrou diferença entre os animais controle NGL e DBT (tratados com VEI) no tempo de permanência nos braços abertos [$t=4,577$; $df=25$; $p < 0,05$, painel A] e no número de entradas nos braços fechados [$t=3,75$; $df=27$; $p < 0,05$, painel B]. Quando grupos diabéticos foram analisados, a ANOVA unidirecional mostrou que o tratamento foi capaz de alterar o tempo de permanência nos braços abertos [$F(4,25) = 9,645$; $p < 0,05$], mas não o número de entradas nos braços fechados [$F(4,27) = 5,502$; $p < 0,05$]. O teste *post hoc* de Bonferroni mostrou que o CBD aumentou o tempo de permanência nos braços abertos ($p < 0,05$), sem alterar o número de entradas nos braços abertos e fechados ($p > 0,05$) e o tratamento com WAY100635 reverteu significativamente tempo de permanência nos braços abertos ($p < 0,05$).

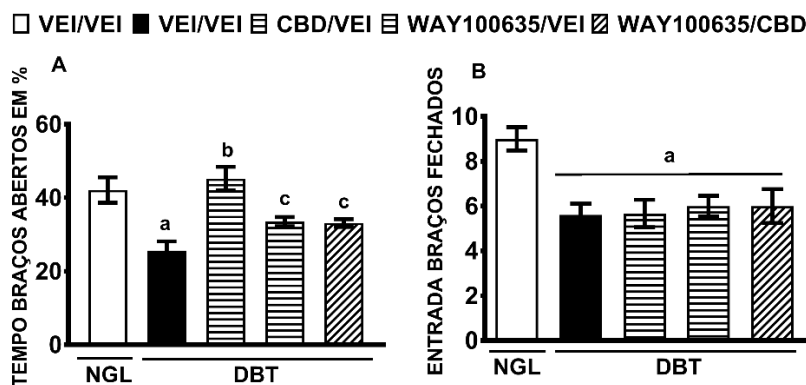


Figura 11 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 30 mg/kg, i.p.), WAY100635 (WAY; 0,1 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) no tempo de permanência nos braços abertos (painel A) e número de entradas nos braços fechados (painel B) de animais diabéticos (DBT) ou normoglicêmicos (NGL) submetidos a labirinto em cruz elevado. Os valores foram expressos como média \pm EPM (n = 6-12). a = p <0,05 quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; b = p <0,05 quando comparado aos animais DBT tratados com VEI; c = p <0,05 quando comparado aos animais DBT tratados com CBD.

4.10 O tratamento prolongado com AM251 e AM630 foi capaz de bloquear o efeito do tipo antidepressivo do canabidiol em ratos diabéticos.

Como mostrado na Figura 12, o teste *t* de Student mostrou diferença entre os animais NGL e DBT tratados com VEI nas contagens médias de imobilidade [t=5,633 df=60; p <0,05, painel A], natação [t=5,28; df=55; p <0,05, painel B] ou escalada [t=3,249; df=61; p <0,05, painel C]. Quando grupos diabéticos foram analisados, a ANOVA unidirecional revelou que os tratamentos alteram significativamente as frequências médias de imobilidade [F (6,60)=9,223; p <0,05, painel A], natação [F (6,55)=7,455; p <0,05, painel B] e escalada [F (6,61)=2,874; p <0,05, painel C]. O teste *post-hoc* de Bonferroni mostrou que o tratamento prolongado com CBD diminuiu significativamente a frequência média de imobilidade (p <0,05) e aumentou a frequência média de natação (p <0,05), sem causar uma mudança significativa na frequência média de escalada (p > 0,05), o tratamento com AM251 reverteu significativamente tanto a frequência média de imobilidade (p <0,05) quanto a frequência média de natação (p <0,05) e o tratamento com AM630 reverteu significativamente a frequência de imobilidade (p <0,05).

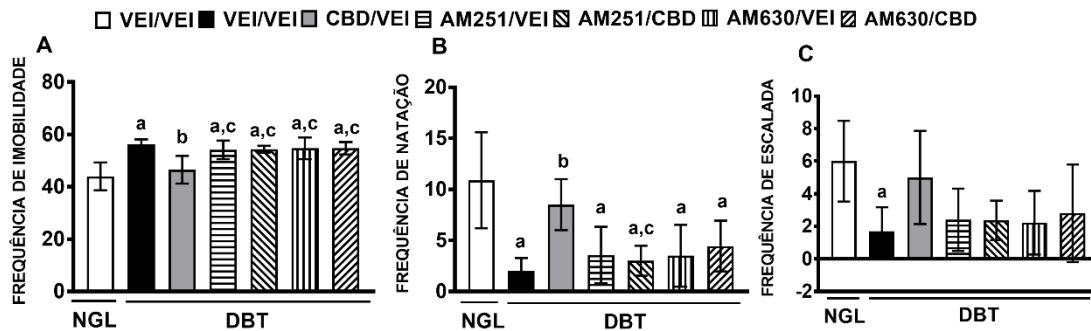


Figura 12 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 30 mg/kg, i.p.), AM251 (AM251; 1 mg/kg, i.p.), AM360 (AM360; 1 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) nas frequências de imobilidade (painel A), natação (painel B) e escalada (painel C) em animais diabéticos (DBT) ou normoglicêmicos (NGL) submetidos a teste de natação forçada modificado. Os valores foram expressos como média \pm EPM (n = 6-12). a = $p < 0,05$ quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; b = $p < 0,05$ quando comparado aos animais DBT tratados com VEI; c = $p < 0,05$ quando comparado aos animais DBT tratados com CBD.

4.11 O tratamento prolongado com AM251 e AM630 não alterou o efeito do tipo ansiolítico do canabidiol em ratos diabéticos.

Conforme mostrado na Figura 13 (painéis A e B), o teste *t* de Student mostrou diferença entre os animais controle NGL e DBT (tratados com VEI) no tempo de permanência nos braços abertos [$t=3,179$; $df=64$; $p < 0,05$, painel A] e no número de entradas nos braços fechados [$t=3,753$; $df=63$; $p < 0,05$, painel B]. Quando grupos diabéticos foram analisados, a ANOVA unidirecional mostrou que o tratamento foi capaz de alterar o tempo de permanência nos braços abertos [$F(6,64) = 4,144$; $p < 0,05$], mas não o número de entradas nos braços fechados [$F(6,63) = 4,396$; $p < 0,05$]. O teste *post hoc* de Bonferroni mostrou que o CBD aumentou o tempo de permanência nos braços abertos ($p < 0,05$), sem alterar o número de entradas nos braços abertos e fechados ($p > 0,05$) e o tratamento com AM251 e AM630 não reverteu significativamente o tempo de permanência nos braços abertos ($p < 0,05$).

□ VEI/VEI ■ VEI/VEI ▒ CBD/VEI ▨ AM251/VEI ▩ AM251/CBD ▪ AM360/VEI ▫ AM630/CBD

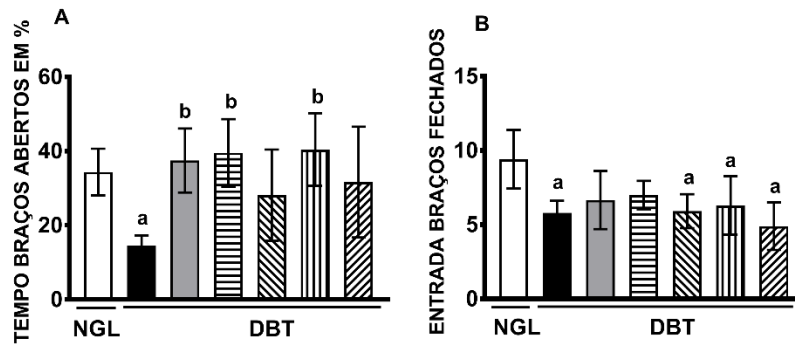


Figura 13 Efeito do tratamento prolongado com canabidiol (CBD; 30 mg/kg, i.p.), AM251 (AM251; 1 mg/kg, i.p.), AM360 (AM360; 1 mg/kg, i.p.) ou veículo (VEI) no tempo de permanência nos braços abertos (painel A) e número de entradas nos braços fechados (painel B) de animais diabéticos (DBT) ou normoglicêmicos (NGL) submetidos a labirinto em cruz elevado. Os valores foram expressos como média \pm EPM (n = 6-12). a = p <0,05 quando comparado aos animais NGL tratados com VEI; b = p <0,05 quando comparado aos animais DBT tratados com VEI.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho mostraram que o tratamento repetido com CBD na maior dose foi capaz de induzir efeito do tipo antidepressivo e ansiolítico em animais diabéticos induzidos pela estreptozotocina, além de melhorar de forma discreta as condições diabéticas *per se* ao aumentar o ganho de peso dos animais, induzir a redução da hiperglicemia e aumentar os níveis plasmáticos de insulina. Como já visto anteriormente no laboratório, este estudo corrobora os dados de que animais diabéticos possuem comportamento do tipo depressivo e ansioso mais pronunciado que os animais normoglicêmicos, por apresentarem expressivo aumento na frequência de resposta passiva (imobilidade) e redução na frequência de respostas ativas (natação e escalada) quando submetidos ao teste de natação forçada modificado, além de exibirem menor tempo de permanência nos braços abertos no teste de labirinto em cruz elevado (DAMIÁN et al., 2014; de MORAIS et al., 2014, 2016, 2018; GUPTA et al., 2014; GAMBETA et al., 2015; REDIVO et al., 2016; PEREIRA et al., 2018).

Em acordo com estudos realizados em animais normoglicêmicos, (REUS et al., 1981; EL-ALFY et al., 2010; ZANELATI et al., 2010; SCHIAVON et al., 2016), este trabalho mostrou o potencial efeito do tipo antidepressivo do CBD após o tratamento repetido na maior dose testada (30 mg/kg) ao reduzir a frequência de imobilidade e aumentar a frequência de natação dos animais diabéticos no teste de natação forçada modificado. Esse resultado corrobora com dados anteriores do laboratório que demonstraram efeito discreto do tipo antidepressivo após tratamento sub-crônico (três injeções), mas não agudo com a mesma dose de CBD em animais diabéticos (de MORAIS et al., 2018).

O presente estudo também mostrou uma diferença crítica entre o CBD e o antidepressivo imipramina em relação à condição diabética, ou seja, enquanto o tratamento prolongado com imipramina não alterou o ganho de peso reduzido e a hiperglicemia, o tratamento com CBD aumentou o ganho de peso e reduziu significativamente a hiperglicemia. Além disso, o CBD induziu um aumento nos níveis plasmáticos de insulina, sugerindo um efeito protetor ou regenerador nas células beta pancreáticas.

Estudos experimentais demonstraram efeitos benéficos do CBD no diabetes e em várias complicações decorrentes desta doença, incluindo retinopatia, cardiomiopatia, neuropatia e dor neuropática (HORVÁTH et al., 2012; JESUS et al., 2019). Nesses estudos, os efeitos benéficos do CBD foram atribuídos principalmente aos seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e protetores dos tecidos (HORVÁTH et al., 2012; LEHMANN et al., 2016; MANDOLINI et al., 2018). Hao e colaboradores (2015) mostraram que o CBD melhorou a função mitocondrial e a biogênese em um modelo de lesão miocárdica, o que também poderia contribuir para suas propriedades benéficas observadas no diabetes e em outras complicações diabéticas. Lehmann e colaboradores (2016) usando a microscopia intravital mostrou que o tratamento com CBD reduziu a inflamação pancreática precoce em camundongos diabéticos não obesos, um modelo animal de diabetes tipo 1, ou seja, o tratamento reduziu a ativação de leucócitos e aumentou a densidade capilar funcional na microcirculação pancreática. Em outro estudo, o tratamento com CBD em indivíduos com diabetes tipo 2 não tratados com insulina diminuiu a resistina e aumentou o peptídeo insulínico dependente de glicose, conseqüentemente diminuindo a resistência à insulina e favorecendo a produção de insulina plasmática, respectivamente (JADOON et al., 2016).

Considerando o potencial efeito ansiolítico do CBD, este trabalho mostrou que o tratamento com CBD foi capaz de aumentar o tempo de permanência nos braços abertos dos animais diabéticos no teste de labirinto em cruz elevado, como observado após o tratamento com imipramina, usado como controle positivo tanto no efeito do tipo depressivo como ansiolítico. Esse resultado está de acordo com dados observados em animais normoglicêmicos (GUIMARÃES et al., 1990; MOREIRA et al., 2006; ALMEIDA et al., 2013), usando outros testes pré-clínicos de ansiedade além do LCE também (MOREIRA et al., 2006; CAMPOS E GUIMARÃES, 2008; GOMES et al., 2011; ALMEIDA et al., 2013; FOGAÇA et al., 2014). Em complemento as evidências pré-clínicas, estudos clínicos apontam para o CBD como composto promissor na redução da ansiedade, especificamente para transtorno de ansiedade social generalizada avaliada em indivíduos durante o teste simulado de fala em público (BERGAMASCHI et al., 2011; ZUARDI et al., 1993, 2017). Por outro lado, estudos com dados conflitantes

sobre o CBD na ansiedade podem ser observados, com ambos efeitos do tipo ansiolítico e ansiogênico (BLEESING et al., 2015), possivelmente devido ao uso de diferentes doses e pela curva dose-resposta em forma de U invertido característica do CBD na ansiedade e em outras condições (GUIMARAES et al., 1990; ZUARDI et al., 2019; LINARES et al., 2019).

Considerando a hipótese monoaminérgica da depressão, pode-se relacionar o efeito do tipo antidepressivo do CBD nos animais diabéticos por intermédio do sistema serotoninérgico, uma vez que drogas que aumentam a disponibilidade de serotonina aumentam o comportamento de natação dos animais no teste de natação forçada, enquanto drogas que aumentam a disponibilidade de noradrenalina aumentam o comportamento de escalada (DETKE et al., 1995; CRYAN et al., 2002, 2005). Nesse sentido, nossos resultados corroboram essa hipótese por apresentar aumento da frequência de natação, mas não da frequência de escalada pelo CBD no mesmo teste, enquanto o antidepressivo imipramina, que aumenta a disponibilidade tanto de serotonina quanto de noradrenalina, aumentou ambas as frequências (natação e escalada), dados que também já foram observados anteriormente na literatura (RÉUS et al., 2011; de MORAIS et al., 2018), além de um estudo recente de Gregorio e colaboradores (2019) mostrar que o tratamento prolongado, mas não agudo, do CBD aumentou as taxas de disparo de serotonina no núcleo dorsal da rafe através da dessensibilização dos receptores 5-HT_{1A}.

Para testar essa hipótese, foram analisados conteúdos de serotonina, noradrenalina e dopamina após o tratamento prolongado com CBD em áreas cerebrais importantes no processamento de comportamentos emocionais como hipocampo e córtex pré-frontal. Como visto anteriormente na literatura (de MORAIS et al., 2016; HAN et al., 2018) animais diabéticos apresentam uma redução significativa nos níveis de serotonina no hipocampo e córtex pré-frontal, reforçando que há desregulação no sistema serotoninérgico em áreas críticas relacionadas à mediação do comportamento emocional. Assim, nossos resultados neuroquímicos corroboram os dados comportamentais, uma vez que níveis reduzidos de serotonina e noradrenalina observados no hipocampo dos ratos diabéticos podem explicar o comportamento do tipo depressivo mais pronunciado nesses animais quando comparados aos animais normoglicêmicos

no teste de natação forçada modificado, relacionado a redução dos comportamento de natação e escalada, respectivamente (de MORAIS et al., 2016).

No córtex pré-frontal dos animais diabéticos, enquanto há diminuição dos níveis de serotonina, os níveis de noradrenalina estão aumentados e os de dopamina inalterados. Esse aumento de noradrenalina já foi observado em estudos anteriores (de MORAIS et al., 2016) e corrobora com trabalhos mostrando que a desregulação no sistema monoaminérgico nesta região do encéfalo possui um papel importante na mediação da depressão e ansiedade associados ao diabetes (BELLUSH E REID, 1991; GUPTA et al., 2014; PRABHAKAR et al., 2015; de MORAIS et al., 2016; da SILVA DIAS et al., 2016). Além do mais, o conteúdo monoaminérgico foi avaliado nesta região como um todo, porém a atividade principal relacionada aos comportamentos do tipo depressivo e ansioso nos animais parece ocorrer na porção medial do córtex pré-frontal (SCOPINHO et al., 2010; STERN et al., 2010).

Visto os efeitos observados do CBD neste trabalho com o tratamento prolongado na dose de 30 mg/kg, é possível apontar seu potencial neuroprotetor por aumentar o nível reduzido de serotonina no hipocampo e no córtex pré-frontal e reduzir os níveis aumentados de noradrenalina no córtex pré-frontal dos animais diabéticos, podendo estar estritamente relacionados com os efeitos do tipo antidepressivo e ansiolítico, respectivamente.

Corroborando com essa hipótese, Sartim e colaboradores (2016), observou o efeito do tipo antidepressivo com administração aguda do CBD no córtex pré-frontal ventromedial bloqueado pelo pré-tratamento com o antagonista dos receptores 5-HT_{1A} WAY100635. Além disso, esse efeito do CBD em camundongos submetidos ao teste de natação forçada ou teste com ratos expostos ao desamparo aprendido depende de alterações na plasticidade neuronal no córtex pré-frontal medial (SALES et al., 2019). A redução do conteúdo de noradrenalina nesta região após o tratamento prolongado e o efeito ansiolítico do CBD podem ser relacionados e corroborados com dados que mostram redução do comportamento semelhante à ansiedade no teste de

labirinto em cruz elevado ao bloquear receptores beta-adrenérgicos, atenuando a transmissão noredrenérgica (STERN et al., 2010).

Deve-se mencionar que todos os efeitos observados parecem não apresentar comprometimento na atividade locomotora, embora os animais diabéticos apresentem uma redução no número de cruzamentos no teste de campo aberto e no número de entradas nos braços fechados no teste de labirinto em cruz elevado (GAMBETA et al., 2016; REDIVO et al., 2016; de MORAIS et al., 2016; 2018). Esse efeito parece ser devido ao aumento do estado aversivo desses animais, o que poderia causar uma consequente redução na atividade exploratória. De acordo com essa ideia, os dados deste trabalho mostram que a redução da atividade locomotora dos animais diabéticos não parece interferir no efeito do tipo antidepressivo do tratamento com CBD, por ser capaz de reduzir seletivamente uma resposta passiva (imobilidade) e aumentar a resposta ativa (natação) no teste de natação forçada modificado, além de aumentar o tempo exclusivamente nos braços abertos, reduzindo o tempo no braços fechados do teste de labirinto em cruz elevado nos animais diabéticos.

Em animais normoglicêmicos, é sabido que o potencial efeito do tipo antidepressivo do CBD é mediado por receptores 5-HT_{1A} (ZANELATI et al., 2010; LINGE et al., 2016) e por facilitação da neurotransmissão serotoninérgica (LINGE et al., 2016; SALES et al., 2018). Nos modelos animais, o efeito do tipo ansiolítico do CBD não parece ser mediado por receptores benzodiazepínicos (MOREIRA et al., 2006), mas por receptores 5-HT_{1A} (CAMPOS E GUIMARÃES, 2008; GOMES et al., 2011; FOGAÇA et al., 2014), uma vez que esse efeito não foi bloqueado pelo antagonista de receptores benzodiazepínicos flumazenil, mas parcialmente bloqueado pelo antagonista de receptores 5-HT_{1A} WAY100635 (RESSTEL et al., 2009; SCHIER et al., 2012).

Os mecanismos responsáveis pelos efeitos do CBD estão recentemente sendo investigados, mas está bem documentada sua atuação no sistema endocanabinóide por agir na diminuição do metabolismo/captação de anadamida, mais abundante canabinóide endógeno, por meio da inibição da enzima que atua na sua hidrólise (FAAH) e, conseqüentemente, na facilitação em respostas mediadas pelos receptores CB₁ e CB₂ desse sistema. Além disso,

tem-se visto cada vez mais clara sua atuação nos sistemas serotoninérgicos por meio de receptores 5-HT_{1A} em áreas relacionadas ao comportamento defensivo (CRIPPA 2019) ao ter seus efeitos modulados por antagonistas do mesmo receptor. Alguns estudos mostram sua atuação também como agonista de receptores PPAR γ , por meio da facilitação de neurogênese antes rompida em modelo de Doenças de Alzheimer e redução da neuroinflamação (ESPOSITO et al., 2011; SILOTE, 2019). Mais ainda, seu perfil de curva dose-resposta em forma de sino é relacionado com a ativação de receptores TRPV1 em altas doses. Todas essas ações farmacológicas comprovam a atividade pleitrópica deste composto que, conduzidos em modelos animais, indicam a contribuição de cada um desses mecanismos para o perfil farmacológico do CBD dependente das tarefas comportamentais sob investigação (SILOTE, 2019). Nesse sentido, os resultados obtidos nesse trabalho com relação ao mecanismo do CBD mostraram sua ação em receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, uma vez que o pré-tratamento com o antagonista deste receptor (WAY100635) foi capaz de bloquear o efeito do tipo antidepressivo nos animais diabéticos. Esses dados corroboram com estudos realizados anteriormente em animais normoglicêmicos por diversas administrações e modelos de transtornos psiquiátricos: sistêmica e aguda em camundongos (ZANELATI, 2010); diretamente na região ventromedial do córtex pré-frontal de ratos (SARTIM, 2016); sistêmica e crônica em modelo de Transtorno do Estresse Pós-Traumático (CAMPOS et al., 2012); subcutânea e crônica em modelo de ansiedade e alodinia mecânica (de Gregorio et al., 2018); diretamente na região pré-límbica do córtex pré-frontal (FOGAÇA et al., 2014); em modelo de isquemia *in vitro* e de forma aguda (HIND et al., 2016); entre outros.

É sabido que os receptores 5-HT_{1A} existem como duas populações no cérebro de mamíferos, como autoreceptores e heteroreceptores, os primeiros presentes em neurônios serotoninérgicos do núcleo da rafe e os segundos expressos principalmente no sistema límbico em neurônios glutamatérgicos, gabaérgicos e colinérgicos, ambos acoplados à proteína G inibitória. Estudos mostram que a estimulação dos receptores pós-sinápticos e o bloqueio ou dessensibilização dos receptores pré-sinápticos resulta em um efeito do tipo antidepressivo nos animais (NEWMAN-TANCREDI et al., 1997; SARTIM et al., 2016; ŽMUDZKA et

al., 2018). Dessa forma, nossos resultados indicam a ação do CBD no TNFm como agonista dos receptores 5-HT1A com uma possível seletividade para os pós-sinápticos e/ou dessensibilização dos pré-sinápticos, uma vez que o tratamento prolongado com o antagonista deste, WAY100635, foi capaz de reverter o efeito do tipo antidepressivo visto com o CBD. Além disso, o antagonismo *per se* do WAY100635 devido ao aumento na frequência de imobilidade no TNFm pode ser explicado pela atividade constitutiva dos receptores 5-HT1A *in vitro* (MARTEL et al., 2006).

Com relação a modulação dos receptores canabinóides e os efeitos no comportamento do tipo depressivo dos animais DBT, nossos resultados indicaram a interação entre os receptores CB1 e CB2 na ação do CBD devido ao bloqueio pelo pré-tratamento com antagonistas destes receptores sob a ação benéfica no comportamento do tipo depressivo dos animais. Estudos anteriores mostraram o papel crucial da anandamida ao induzir mudanças neuroadaptativas capazes de favorecer respostas benéficas em testes comportamentais estressores (de MORAIS et al., 2016). Nesse sentido, nossos resultados obtiveram respostas tanto envolvendo o sistema serotoninérgico quanto endocanabinóide, em que cabe considerar a hipótese da interação entre esses sistemas em respostas do tipo antidepressiva e ansiolítica nos animais. Segundo Sartim (2016), o sistema serotoninérgico do córtex pré-frontal ventromedial está sob controle de níveis de endocanabinóides locais e da ativação do receptor CB1 ao observar o efeito do tipo antidepressivo da anandamina nesta região e o bloqueio deste efeito com o WAY100635, uma vez que a literatura mostra que a administração do inibidor da FAAH aumenta a taxa de disparo de neurônios de serotonina e, conseqüentemente, efeito do tipo antidepressivo (BAMBICO et al., 2010; CASSANO et al., 2011). Dessa forma, é possível relacionar o efeito do CBD por ativação indireta dos receptores CB1, resultando também na modulação da liberação de serotonina, considerando que a ativação dos receptores CB1 localizados no córtex pré-frontal aumenta a liberação de 5-HT por esta região estar estritamente conectada com o núcleo da rafe por meio de projeções glutamatérgicas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho reforçam o potencial terapêutico do tratamento prolongado com o CBD no tratamento da depressão e ansiedade associadas ao diabetes, indicando um efeito neuroprotetor do CBD em áreas cerebrais como hipocampo e córtex pré-frontal, uma vez que atua na tentativa de restaurar a neurotransmissão serotoninérgica e noradrenérgica nessas áreas do cérebro. Pôde-se analisar também os mecanismos de ação pelos quais há modificação do comportamento desses animais após o tratamento com CBD, mostrando uma possível interação entre sistemas serotoninérgico e endocanabinóide nos efeitos comportamentais e neuroquímicos observados deste composto. Diante do grande desafio de tratar doenças psiquiátricas em indivíduos diabéticos, esses dados destacam uma vantagem significativa no tratamento da depressão e ansiedade associadas ao diabetes com CBD em relação à terapia convencional com medicamentos antidepressivos, uma vez que o CBD também exerceu efeitos benéficos nos parâmetros diabéticos avaliados. Essa abordagem forneceu evidências de que o CBD pode ser útil no tratamento de déficits físicos e comorbidades psiquiátricas em pacientes diabéticos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELWAHED, O.M.; TORK, O.M.; GAMAL EL DIN, M.M.; et al., Effect of glucagon-like peptide-1 analogue; Exendin-4, on cognitive functions in type 2 diabetes mellitus; possible modulation of brain derived neurotrophic factor and brain. **Visfatin. Brain Res Bull**, p. 139, v. 67-80, 2018.

AHOLA, A.J.; FORSBLOM, C.; GROOP, P.H.; et al., Association between depressive symptoms and dietary intake in patients with type 1 diabetes. **Diabetes Res Clin Pract**, p. 139, v. 91-99, 2018.

ALMEIDA, V.; LEVIN, R.; PERES, F.F.; NIIGAKI, S.T.; CALZAVARA, M.B.; ZUARDI, A.W.; HALLAK, J.E.; CRIPPA, J.A.S.; ABÍLIO, V.C. Cannabidiol exhibits anxiolytic but not antipsychotic property evaluated in the social

interaction test. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 41, p. 30-35, 2013.

American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diab Care**. 41, Suppl 1, 2018.

ANDERSON, R.J.; FREEDLAND, K.E.; CLOUSE, R.E.; et al., The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: a meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 24, p. 1069-78, 2001.

ASWAR, U.; CHEPURWAR, S.; SHINTRE, S.; et al., Telmisartan attenuates diabetes induced depression in rats. **Pharmacol Rep**, v. 69(2), p. 358-364, 2017.

ATKINSON, M.A.; EISENBARTH, G.S.; MICHELS, A.W. Type 1 diabetes. **Lancet**, v. 383(9911), p. 69-82, 2014.

BELLUSH, L.L.; REID, S.G. Altered behavior and neurochemistry during short-term insulin withdrawal in streptozocin-induced diabetic rats. **Diabetes**, v. 40(2), p. 217-22, 1991.

BERGAMASCHI, M.M.; QUEIROZ, R.H.; CHAGAS, M.H.; DE OLIVEIRA, D.C.; DE MARTINIS, B.S.; KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J.; ROESLER, R.; SCHRÖDER, N.; NARDI, A.E.; MARTÍN-SANTOS, R.; HALLAK, J.E.; ZUARDI, A.W.; CRIPPA, J.A. Cannabidiol reduces the anxiety induced by simulated public speaking in treatment-naïve social phobia patients. **Neuropsychopharmacology**, v. 36(6), p. 1219-26, 2011.

BHATTACHARJEE, S.; BHATTACHARYA, R.; KELLEY, G.A.; SAMBAMOORTHY, U. Antidepressant use and new-onset diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 29(4), p. 273–284, 2013.

BIESSELS, G.J.; VAN DER HEIDE, L.P.; KAMAL, A.; BLEYS, R.L.A.W.; GISPEN, W.H. Ageing and diabetes: implications for brain function. **Eur J Pharmacol**, v. 441, p. 1-14, 2002.

BLESSING, E.M.; STEENKAMP, M.M.; MANZANARES, J.; MARMAR, C.R. Cannabidiol as a potential treatment for anxiety disorders. **Neurotherapeutics**, v. 12, p. 825-836, 2015.

BODEN, M.T. Prevalence of mental disorders and related functioning and treatment engagement among people with diabetes. **J Psychosom Res**, v. 106, p. 62- 69, 2018.

BOOZ, G.W. Cannabidiol as an emergent therapeutic strategy for lessening the impact of inflammation on oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med**, v. 51, p. 1054-61, 2011.

BUTTENSCHØN, H.N.; KROGH, J.; NIELSEN, M.N.; et al., Association analyses of depression and genes in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. **Acta Neuropsychiatr**, v. 29(1), p. 59-64, 2017.

BYSTRITSKY, A.; DANIAL, J.; KRONEMYER, D. Interactions between diabetes and anxiety and depression: implications for treatment. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 43, p. 269-283, 2014.

CAMPOS, A.C.; GUIMARÃES, F.S. Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. **Psychopharmacology**, v. 199, p. 223-230, 2008.

CAMPOS, A. C.; MOREIRA, F. A.; GOMES, F. V.; DEL BEL, E. A.; GUIMARÃES, F. S. Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. **Philos Trans R Soc B**, v. 367, p. 3364–3378, 2012.

CAMPOS, A.C.; FOGAÇA, M.V.; SONEGO, A.B.; GUIMARÃES, F.S. Cannabidiol, neuroprotection and neuropsychiatric disorders. **Pharmacol Res**, v. 112, p. 119-127, 2016.

CAMPOS, A.C.; FOGAÇA, M.V.; SCARANTE, F.F.; JOCA, S.R.L.; SALES, A.J.; GOMES, F.V.; SONEGO, A.B.; RODRIGUES, N.S.; GALVE-ROPERH, I.; GUIMARÃES, F.S. Plastic and neuroprotective mechanisms involved in the

therapeutic effects of cannabidiol in psychiatric disorders. **Front Pharmacol**, v. 8, p. 269, 2017.

CASSANO, T.; GAETANI, S.; MACHEDA, T.; LACONCA, L.; ROMNA, A.; MORGESE, M.G.; CIMMINO, C.S.; CHIAROTTI, F.; BAMBICO, F.R.; GOBBI, G.; CUOMO, V.; PIOMELLI, D. Evaluation of the emotional phenotype and serotonergic neurotransmission of fatty acid amide hydrolase-deficient mice. **Psychopharmacology**, v. 214, p. 465-476, 2011.

CASTILLO, A.R.G.L.; RECONDO, R.; ASBAHR, F.R.; MANFRO, G.G. Transtornos de ansiedade. **Rev Bras Psiquiatr.**, v. 22, p. 20 – 23, 2000.

CHAMPANERI, S.; WAND, G. S.; GOLDEN, S. H. Biological Basis of Depression in Adults with Diabetes. **Curr Diab Rep**, v. 10, p. 396-405, 2010.

CRIPPA, J. A.; ZUARDI, A. W.; GARRIDO, G. E. J.; WICHERT-ANA, L.; PHILIP, K.; GUARNIERI, R.; FERRARI, L. A.; PAULO, M.; CECÍLIO, J. E. Effects of Cannabidiol (CBD) on Regional Cerebral Blood Flow. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, p. 417-426, 2004.

CRIPPA, J.A.; DERENUSSON, G.N.; FERRARI, T.B.; ANA-WICHERT, L.; DURAN, F.L.S.; MARTIN-SANTOS, R.; SIMÕES, M.V.; BHATTACHARYYA, S.; FUSAR-POLI, P.; ATAKAN, Z.; FILHO, A.S.; FREITAS-FERRARI, M.C.; MCGUIRE, P.K.; ZUARDI, A.W.; BUSATTO, G.F.; HALLAK, J.E.C. Neural basis of anxiolytic effects of cannabidiol (CBD) in generalized social anxiety disorder: a preliminar report. **J Psychopharmacol**, v. 25(1), p. 121-130, 2011.

CRIPPA, J.A.; GUIMARÃES, F.S.; CAMPOS, A.C.; ZUARDI, A.W. Translational Investigation of the Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD): Toward a New Age. **Front Immunol**, v. 9, p. 2009, 2018.

CRYAN, J.F.; MARKOU, A., LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends Pharmacol Sci**, v. 23, p. 238–245, 2002.

CRYAN, J.F.; VALENTINO, R.J.; LUCKI, I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 29(4-5), p. 547-69, 2005.

CUKIERMAN, H.C.; GERSTEIN, J.D.; WILLIAMSON, T. Cognitive decline and dementia in diabetes — systematic overview of prospective observational studies. **Diabetologia**, v. 48, p. 2460-2469, 2005.

DAMIÁN, J.P.; ACOSTA, V.; da CUÑA, M.; RAMÍREZ, I.; ODDONE, N.; ZAMBRANA, A.; BERVEJILLO, V.; BENECH, J.C. Effect of resveratrol on behavioral performance of streptozotocin-induced diabetic mice in anxiety tests. **Exp Amin**, v. 63(3), p. 277-287, 2014.

da SILVA DIAS, I.C.; CARABELLI, B.; ISHII, D.K.; de MORAIS, H.; de CARVALHO, M.C.; RIZZO, S.L.; ZANATA, S.M.; BRANDÃO, M.L.; CUNHA, T.M.; FERRAZ, A.C.; CUNHA, J.M.; ZANOVELI, J.M. Indoleamine-2,3-Dioxygenase/Kynurenine pathway as a potential pharmacological target to treat depression associated with diabetes. **Mol Neurobiol**, v. 53(10), p. 6997-7009, 2016.

de MELLO SCHIER, A.R.; de OLIVEIRA RIBEIRO, N.P.; COUTINHO, D.S.; MACHADO, S.; ARIAS-CARRIÓN, O.; CRIPPA, J.A.; ZUARDI, A.W.; NARDI, A.E.; SILVA, A.C. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of cannabidiol: a chemical compound of Cannabis sativa. **CNS Neurol. Disord. Drug Targets**, v. 13, p. 953–60, 2014.

de MORAIS, H.; SOUZA, C.P.; SILVA, L.M.; FERREIRA, D.M.; WERNER, M.F.; ANDREATINI, R.; CUNHA, J.M.; ZANOVELI, J.M. Increased oxidative stress in prefrontal cortex and hippocampus is related to depressive-like behavior in streptozotocin-diabetic rats. **Behav. Brain Res**, v. 258, p. 52-64, 2014.

de MORAIS, H.; SOUZA, C.P.; SILVA, L.M.; FERREIRA, D.M.; BAGGIO, C.H.; VANVOSSSEN, A.C.; CARVALHO, M.C.; SILVA-SANTOS, J.E.; BERTOGLIO, L.J.; CUNHA, J.M.; ZANOVELI, J.M. Anandamide reverses depressive-like behavior, neurochemical abnormalities and oxidative-stress parameters in

streptozotocin-diabetic rats: Role of CB1 receptors. **Eur J Pharmacol**, v. 26, p. 1590-1600, 2016.

de MORAIS, H.; CHAVES, Y.; WALTRICK, A.; JESUS, C.; GENARO, K.; CRIPPA, J.A.S.; CUNHA, J.M.; ZANOVELI, J.M. Sub-chronic treatment with cannabidiol but not with URB597 induced a mild antidepressant-like effect in diabetic rats. **Neurosci Lett**, v. 682, p. 62-68, 2018.

DETKE, M.J.; RICKELS, M.; LUCKI, I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 121(1), p. 66-72, 1995.

DHAVALE, H.S.; PANIKKAR, V.; JADHAV, B.S.; GHULGHULE, M.; DAGARIA, A. Depression and diabetes: impact of anti-depressant medications on glycaemic control. **J Assoc Physicians India**, v. 61(12), p. 896-9, 2013.

DI MARZO, V.; PISCITELLI, F.; MECHOULAM, R. Cannabinoids and endocannabinoids in metabolic disorders with focus on diabetes. **Handb Exp Pharmacol**, v. 203, p. 75-104, 2011.

DSM-V - Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. Porto Alegre, **Ed. Artes Médicas**, 2013.

EL-ALFYA, A.T.; IVEYA, K.; ROBINSONA, K.; AHMEDB, S.; RADWANB, M.; SLADEB, D.; KHANB, I.; ELSOHLYB, M.; ROSSB, S. Antidepressant-like effect of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and other cannabinoids isolated from *Cannabis sativa* L. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 95(4), p. 434-442, 2010.

EL-REMESSY, AB.; AL-SHABRAWAY, M.; KHALIFA, Y.; et al., Neuroprotective and blood-retinal barrier-preserving effects of cannabidiol in experimental diabetes. **Am J Pathol**, v. 168(1), p. 235-44, 2006.

ELIZABETH, H. B.; CAROLYN, M. et al.; Depression and Advanced Complications of Diabetes: A prospective cohort study. **Diabetes Care**, v. 33, p. 264–269, 2010.

ESPOSITO G.; SCUDERI, C.; VALENZA, M.; TOGNA, G.I.; LATINA, V.; FILIPPIS, D.; CIPRIANO, M.; CARRATÙ, M.R.; IUVONE, T.; STEARDO, L. Cannabidiol reduces A-Induced neuroinflammation and promotes hippocampal neurogenesis through PPAR γ involvement. **PLoS ONE**, v. 6, p. 12, 2011.

FERREIRA-VIEIRA, T.H.; BASTOS, C.P.; PEREIRA, G.S.; et al., A role for the endocannabinoid system in exercise-induced spatial memory enhancement in mice. **Hippocampus**, v. 24(1), p. 79-88, 2014.

FOGAÇA, M. V.; REIS, F.M.C.V.; CAMPOS, A. C.; GUIMARÃES, F.S. Effects of intra-prelimbic prefrontal cortex injection of cannabidiol on anxiety-like behavior: involvement of 5HT1A receptors and previous stressful experience. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 24, p. 410-419, 2014.

FOGAÇA, M. V.; CAMPOS, A. C.; COELHO, L. D.; DUMAN, R. S.; GUIMAR, F. S. Neuropharmacology The anxiolytic effects of cannabidiol in chronically stressed mice are mediated by the endocannabinoid system: Role of neurogenesis and dendritic remodeling. **Neuropharmacology**, v. 135, p. 22-33, 2018.

FREITAS, H.R.; ISAAC, A.R.; MALCHER-LOPES, R.; et al., Polyunsaturated fatty acids and endocannabinoids in health and disease. **Nutr Neurosci**, v. 7, p. 1-20, 2017.

FREUND, T.F.; KATONA, I.; PIOMELLI, D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. **Physiol Rev**, v. 83(3), p. 1017-66, 2003.

GAGNON, J.; LUSSIER, M.T.; MACGIBBON, B.; DASKALOPOULOU, S.S.; BARLETT, G. The impact of antidepressant therapy on glycemic control in Canadian Primary Care patients with *Diabetes Mellitus*. **Front. Nutr.**, v. 5, p.47, 2018.

GAMBETA, E.; SOUZA, C.P.; de MORAIS, H. Reestablishment of the hyperglycemia to the normal levels seems not to be essential to the anxiolytic-like effect induced by insulin. **Metab Brain Dis**, v. 31(3), p. 563-71, 2015.

GISPEN, W.H.; BIESSELS, G.J. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. **Trends Neurosci**, v. 23, p. 542–9, 2000.

GOBBI, G.; BAMBICO, F.R.; MANGIERI, R.; BORTOLATO, M.; CAMPOLONGO, P.; SOLINAS, M.; CASSANO, T.; MORGESE, M.G.; DEBONNEL, G.; DURANTI, A.; TONTINI, A.; TARZIA, G.; MOR, M.; TREZZA, V.; GOLDBERG, S.R.; CUOMO, V.; PIOMELLI, D. Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 102, p. 18620-5, 2005.

GOLDEN, S.H.; LAZO, M.; CARNETHON, M.; BERTONI, A.G.; SCHREINER, P.J.; DIEZ ROUX, A.V.; LEE, H.B.; LYKETSOS, C. Examining a bidirectional association between depressive symptoms and diabetes. **JAMA**, v. 299(23), p. 2751–2759, 2008.

GOMES, F.V.; RESSTEL, L.B.; GUIMARÃES, F.S. The anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the bed nucleus of the stria terminalis are mediated by 5-HT_{1A} receptors. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 213, p. 465–473, 2011.

GOODWIN, G.M. Consensus Group of the British Association for Psychopharmacology. Evidence-based guidelines for treating bipolar disorder: recommendations from the British Association for Psychopharmacology. **J Psychopharmacol**, v. 17(2), p. 149-73, 2003.

GREGORIO, D.; MCLAUGHLIN, R.J.; POSA, L.; OCHOA-SANCHEZ, R.; ENNS, J.; LOPEZ-CANUL, M.; ABOUD, M.; MAIONE, S.; CORNAI, S.; GOBBI, G. Cannabidiol modulates serotonergic transmission and reverses both allodynia and anxiety-like behavior in a model of neuropathic pain. **Pain**, v. 160(1), p. 136-150, 2019.

GRIGSBY, A.B.; ANDERSON, R.J.; FREEDLAND, K.E.; CLOUSE, R.E.; LUSTMAN, P.J. Prevalence of anxiety in adults with diabetes: A systematic review. **J Psychosom Res**, v. 53, p. 1053-1060, 2002.

GRUDEN, G.; BARUTTA, F.; KUNOS, G.; PACHER, P. Role of the endocannabinoid system in diabetes and diabetic complications. **British Journal of Pharmacology**, v. 173(7), p. 1116–1127, 2016.

GUIMARÃES, F.S.; CHIARETTI, T.M.; GRAEFF, F.G.; ZUARDI, A.W. Antianxiety effect of cannabidiol in the elevated plus-maze. **Psychopharmacology**, v. 100(4), p. 558-9, 1990.

GUPTA, D.; RADHAKRISHNAN, M.; KURHE, Y. Ondansetron, a 5HT₃ receptor antagonist reverses depression and anxiety-like behavior in streptozotocin-induced diabetic mice: possible implication of serotonergic system. **Eur J Pharmacol**, v. 744, p. 59-66, 2014.

HAN, X.; MIN, M.; WANG, J.; BAO, Z.; FAN, H.; LI, X.; ADELUSI, TI.; ZHOU, X.; YIN, X. Quantitative profiling of neurotransmitter abnormalities in brain, cerebrospinal fluid, and serum of experimental diabetic encephalopathy male rat. **J Neurosci Res**, v. 96(1), p. 138-150, 2018

HAO, E.; MUKHOPADHYAY, P.; CAO, Z.; ERDÉLYI, K.; HOLOVAC, E.; LIAUDET, L.; LEE, W.S.; HASKÓ, G.; MECHOULAM, R.; PACHER, P. Cannabidiol Protects against Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy by Modulating Mitochondrial Function and Biogenesis. **Mol Med**, v. 21, p. 38-45, 2015.

HILL, M.N., GORZALKA, B.B. Pharmacological enhancement of cannabinoid CB₁ receptor activity elicits an antidepressant-like response in the rat forced swim test. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v. 15, p. 593-9, 2005.

HILL, M. N.; HILLARD, C. J.; BAMBICO, F. R.; PATEL, S.; GORZALKA, B. B.; GOBBI, G. The therapeutic potential of the endocannabinoid system for the development of a novel class of antidepressants. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 30(9), p. 484-93, 2009.

HIND, W. H.; ENGLAND, T. J.; O'SULLIVAN, S. E. Cannabidiol protects an in vitro model of the blood-brain barrier from oxygen-glucose deprivation via PPAR γ and 5-HT_{1A} receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, p. 815-825, 2016.

HORVÁTH, B.; MUKHOPADHYAY, P.; HASKÓ, G.; PACHER, P. The endocannabinoid system and plant-derived cannabinoids in diabetes and diabetic complications. **Am J Pathol**, v.180(2), p. 432-442, 2012.

HO, N., BALU, D.T., HILARIO, M.R., BLENDY, J.A., LUCKI, I. Depressive phenotypes evoked by experimental diabetes are reversed by insulin. **Physiology & Behavior**, v. 105, p. 702-8, 2012.

HUANG, W. J.; CHEN, W.; ZHANG, X. Endocannabinoid system: Role in depression, reward and pain control (Review). **Molecular medicine reports**, v. 14, p. 2899-2903, 2016.

International Diabetes Federation (IDF) 2017. **IDF Diabetes Atlas**, 8th edition.

IZZO, A. A.; BORRELLI, F.; CAPASSO, R.; DI MARZO, V.; MECHOULAM, R. Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. **Trends Pharmacological Sciences**, v. 30(10), p. 515-27, 2009.

JADOON, K.A.; RATCLIFFE, S.H.; BARRETT, D.A.; THOMAS, E.L.; STOTT, C.; BELL, J.D.; O'SULLIVAN, S.E.; TAN, G.D. Efficacy and safety of cannabidiol and tetrahydrocannabivarin on glycemic and lipid parameters in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group pilot study. **Diabetes Care**, v. 39(10), p.1777-86, 2016.

JESUS, C.H.A.; REDIVO, D.D.B.; GASPARIN, A.T.; SOTOMAIOR, B.B.; de CARVALHO, M.C.; GENARO, K.; ZUARDI, A.W.; HALLAK, J.E.C.; CRIPPA, J.A.; ZANOVELI, J.M.; CUNHA, J.M. Cannabidiol attenuates mechanical allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats via serotonergic system activation through 5-HT_{1A} receptors. **Brain Res**, v. 1715, p. 159-164, 2019.

JESULOLA, E.; MICALOS, P.; BAGULEY, I.P. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? **Behav. Brain Res.**, v. 341, p. 79–90, 2018.

JOSEPH, J.J.; GOLDEN, S.H. Cortisol dysregulation: the bidirectional link between stress, depression, and type 2 diabetes mellitus. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1391(1), p. 20-34, 2017.

KAMPLING, H.; PETRAK, F.; FARIN, E.; et al., Trajectories of depression in adults with newly diagnosed type 1 diabetes: results from the German Multicenter Diabetes Cohort Study. **Diabetologia**, v. 60(1), p. 60-68, 2017.

LEHMANN, C.; FISHER, N.B.; TUGWELL, B.; SZCZESNIAK, A.; KELLY, M.; ZHOU, J. Experimental cannabidiol treatment reduces early pancreatic inflammation in type 1 diabetes. **Clin Hemorheol Microcirc**, v. 64(4), p. 655-662, 2016.

LIN, E.H.B.; VON KORFF, M.; ALONSO, J.; ANGERMEYER, M.C.; ANTHONY, J.; BROMET, E.; BRUFFAERTS, R.; GASQUET, I.; de GIROLAMO, G.; GUREJE, O.; HARO, J.M.; KARAM, E.; LARA, C.; LEE, S.; LEVINSON, D.; ORMEL, J.H.; POSADA-VILLA, J.; SCOTT, K.; WATANABE, M.; WILLIAMS, D. Mental disorders among persons with diabetes – Results from the World Mental Health Surveys. **J Psychosom Res**, v. 65(6), p. 571-580, 2008.

LINARES, I.M.; ZUARDI, A.W.; PEREIRA, L.C.; QUEIROZ, R.H.; MECHOULAM, R.; GUIMARÃES, F.S.; CRIPPA, J.A. Cannabidiol presents an inverted U-shaped dose-response curve in a simulated public speaking test. **Braz. J Psychiatry**, v. 41, p. 9-14, 2019.

LINGE, R.; JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, L.; CAMPA, L.; PILAR-CUÉLLAR, F.; VIDAL, R.; PAZOS, A.; ADELL, A.; DÍAZ, Á. Cannabidiol induces rapid-acting antidepressant-like effects and enhances cortical 5-HT/glutamate neurotransmission: role of 5-HT_{1A} receptors. **Neuropharmacology**, v. 103, p. 16-26, 2016.

LUSTMAN, P.J.; GRIFFITH, L.S.; GAVARD, J.A.; CLOUSE, R.E. Depression in adults with diabetes. **Diabetes Care**, v. 15, p. 1631–1639, 1992.

MAAHS, D.M.; WEST, N. A.; LAWRENCE, J. M.; DAVIS-MAYER, E. J. Chapter 1: Epidemiology of Type 1 Diabetes. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 39(3), p. 481–497, 2010.

MAIA, A.C.O.; BRAGA, A.A.; PAES, A.; MACHADO, S.; NARDI, A.E.; SILVA, A.C. Psychiatric comorbidity in diabetes type 1: a cross-sectional observational study. **Ver Assoc Med Bras**, v. 60(1), p. 59-62, 2014.

MANDOLINI, G.M.; LAZZARETTI, M.; PIGONI, A.; OLDANI, L.; DELVECCHIO, G.; BRAMBILLA, P. Pharmacological properties of cannabidiol in the treatment

of psychiatric disorders: a critical overview. **Epidemiol Psychiatr Sci**, v. 27(4), p. 327-335, 2018.

MANSUR, R.B.; CHA, D.S.; WOLDEYOHANNES, H.O.; SOCZYNSKA, J.K.; ZUGMAN, A.; BRIETZKE, E.; MCINTYRE, R.S. Diabetes mellitus and disturbances in brain connectivity: a bidirectional relationship? **Neuromolecular Med**, v. 16(4), p. 658-68, 2014.

MARTEL, J. C.; ORMIÈRE, A. M.; LEDUC, N.; ASSIÉ, M. B.; CUSSAC, D.; NEWMAN-TANCREDI, A. Native Rat Hippocampal 5-HT_{1A} Receptors Show Constitutive Activity. **Mol Pharmacol**, v. 71, p. 638–643, 2007.

MECHOULAM, R.; PARKER, L. The Endocannabinoid System and the Brain. **Annu. Rev. Psychol**, v. 64, p. 21–47, 2013.

MIJNHOUT, G.S.; SCHELTENS, P.; DIAMANT, M.; BIESSELS, G.J.; WESSELS, A.M.; SIMSEK, S.; SNOEK, F.J.; HEINE, R.J. Diabetic encephalopathy: a concept in need of a definition. **Diabetologia**, v. 49, p. 1447-1448, 2006.

MOCKING, R.J.; RUHÉ, H.G.; ASSIES, J.; et al., Relationship between the hypothalamic-pituitary-adrenal-axis and fatty acid metabolism in recurrent depression. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, p. 1607–17, 2013.

MOREIRA, F.A.; AGUIAR, D.C.; GUIMARÃES, F.S. Anxiolytic-like effect of cannabidiol in the rat Vogel conflict test. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 30, p. 1466-1471, 2006.

MOULTON, C.D.; PICKUP, J.C.; ISMAIL, K. The link between depression and diabetes: the search for shared mechanisms. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 3, p. 461-471, 2015.

NEWMAN-TANCREDI, A.; CONTE, C.; CHAPUT, C.; SPEDDING, M.; MILLAN, M. J. Inhibition of the constitutive activity of human 5-HT_{1A} receptors by the inverse agonist, spiperone but not the neutral antagonist, WAY 100635. **British Journal of Pharmacology**, v. 120, p. 737-739, 1997.

NESTLER, E.J.; CARLEZON, W.A.JR. The mesolimbic dopamine reward circuit in depression., **Biol psychiatry**, v. 15;59(12), p. 1151-9, 2006.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J Neurosci Methods**, v. 14(3), p. 149 – 167, 1985.

PEREIRA, L.O.; da CUNHA, I.C.; NETO, J.M.; PASCHOALINI, M.A.; FARIA, M.S. The gradient of luminosity between open/enclosed arms, and not the absolute level of Lux, predicts the behaviour of rats in the plus maze. **Behavioural Brain Research** 159(1): 55-61, 2005.

PEREIRA, M.M.; de MORAIS, H.; dos SANTOS SILVA, E.; CORSO, C.R.; ADAMI, E.R.; CARLOS, R.M.; ACCO, A.; ZANOVELI, J.M. The antioxidant gallic acid induces anxiolytic-, but not antidepressant-like effect, in streptozotocin-induced diabetes. **Metab Brain Dis**, v. 33(5), p. 1573-1584, 2018.

PORSOLT, R.D.; BERTIN, A.; BLAVET, N.; DENIEL, M.; JALFRE, M. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. **Eur J Pharmacol**, v. 57(2-3), p. 201-210, 1979.

POUWER, F. Depression: a common and burdensome complication of diabetes that warrants the continued attention of clinicians, researchers and healthcare policy makers. **Diabetologia**, v. 60(1), p. 30-34, 2017.

PRABHKAR, V.; GUPTA, D.; KANADE, P.; RADHAKRISHNAN, M. Diabetes-associated depression: The serotonergic system as a novel multifunctional target. **Indian J Pharmacol**, v. 47(1), p. 4-10, 2015.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; GARDNER, P. Controle da glicemia e tratamento da diabetes *mellitus*. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 7ª ed., 2012. p. 372-377.

REDIVO, D.D.; SCHREIBER, A.K.; ADAMI, E.R.; RIBEIRO, D.E.; JOCA, S.R.; ZANOVELI, J.M.; CUNHA, J.M. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid

treatment over mechanical allodynia and depressive-like behavior associated with experimental diabetes. **Behav Brain Res**, v. 298, p. 57-64, 2016.

RENN, B.N.; FELICIANO, L.; SEGAL, D.L. The bidirectional relationship of depression and diabetes: A systematic review. **Clin Psychol Rev**, v. 31, p. 1239-1246, 2011.

RESSTEL, L.B.M.; TAVARES, R.F.; LISBOA, S.F.S.; JOCA, S.R.L.; CORRÊA, F.M.A.; GUIMARÃES, F.S. 5-HT_{1A} receptors are involved in the cannabidiol-induced attenuation of behavioural and cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. **Br J Pharmacol**, v. 156(1), p. 181-188, 2009.

RÉUS, G. Z; AUGUSTA, M.; SANTOS, B; Paula, A.; ABELAIRA, H. M; CERETTA, L. B; QUEVEDO, J. Pathophysiological mechanisms involved in the relationship between diabetes and major depressive disorder. **Life Sciences**, v. 183, p. 78-82, 2017.

RÉUS, G.Z.; STRINGARI, R.B.; RIBEIRO, K.F.; LUFT, T.; ABELAIRA, H.M.; FRIES, G.R.; AGUIAR, B.W.; KAPZINSKI, F.; HALLAK, J.E.; ZUARDI, A.W.; CRIPPA, J.A.; QUEVEDO, J. Administration of cannabidiol and imipramine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases brain-derived neurotrophic factor levels in the rat amygdala. **Act Neuropsychiatric**, v. 23, p. 241–248, 2011.

ROY, T.; LLOYD, C.E. Epidemiology of depression and diabetes: A systematic review. **J Affect Disord**, v. 142S1, p. S8–S21, 2012.

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

SAEDI, E.; GHEINI, M. R.; FAIZ, F.; ARAMI, M. A. Diabetes mellitus and cognitive impairments. **World Journal of Diabetes**, v. 15; 7(17), p. 412-422, 2016.

SALES, A.J.; CRESTANI, C.C.; GUIMARÃES, F.S.; JOCA, S.R.L. Antidepressant-like effect induced by Cannabidiol is dependent on brain

serotonin levels. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 86, p. 255-261, 2018.

SALES, A.J.; FOGAÇA, M.V.; SARTIM, A.G.; PEREIRA, V.S.; WEGENER, G.; GUIMARÃES, F.S.; JOCA, S.R.L. Cannabidiol induces rapid and sustained antidepressant-like effects through increased BDNF signaling and synaptogenesis in the prefrontal cortex. **Mol Neurobiol**, v. 56(2), p. 1070-1081, 2019.

SANTOS, F.R.M.; BERNARDO, V.; GABBAY, M.A.L.; DIB, S.A.; SIGULEM, D. The impact of knowledge about diabetes, resilience and depression on glycemic control: A cross-sectional study among adolescents and young adults with type 1 diabetes. **Diabetol. Metab. Syndr**, v. 5(1), p. 55, 2013.

SARTIM, A.G.; GUIMARÃES, F.S.; JOCA, S.R. Antidepressant-like effect of cannabidiol injection into the ventral medial prefrontal cortex - possible involvement of 5-HT_{1A} and CB₁ receptors. **Behav Brain Res**, v. 303, p. 218-27, 2016.

SCHIAVON, A.P.; BONATO, J.M.; MILANI, H.; GUIMARÃES, F.S.; WEFFORT, R.M.O. Influence of single and repeated cannabidiol administration on emotional behavior and markers of cell proliferation and neurogenesis in non-stressed mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 64, p. 27-34, 2016.

SCHIER, A.R.M.; RIBEIRO, N.P.O.; OLIVEIRA, E.; SILVA, A.C.; HALLAK, J.E.C.; CRIPPA, J.A.; NARDI, A.E.; ZUARDI, A.W. Cannabidiol, a *Cannabis sativa* constituent, as an anxiolytic drug. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 34(Supl1), p. S104-S117, 2012.

SCHIER, A.R.M.; RIBEIRO, N.P.O.; COUTINHO, D.S.; MACHADO, S.; ARIAS-CARRIÓN, O.; CRIPPA, J.A.; ZUARDI, A.W.; NARDI, A.E.; SILVA, A.C. Antidepressant-like and anxiolytic-like effect of cannabidiol: a chemical compound of *Cannabis sativa*. **CNS Neurol Disord Drug**, v. 13(6), p. 953-60, 2014.

SCHREIBER, A.K.; NEUFELD, M.; JESUS, C.H.; et al., Peripheral antinociceptive effect of anandamide and drugs that affect the endocannabinoid

system on the formalin test in normal and streptozotocin-diabetic rats. **Neuropharmacology**, v. 63(8), p. 1286-97, 2012.

SCOPINHO, A.A.; SCOPINHO, M.; LISBOA, S.F.; CORREA, F.M.; GUIMARÃES, F.S.; JOCA, S.R. Acute reversible inactivation of the ventral medial prefrontal cortex induces antidepressant-like effects in rats. **Behav Brain Res**, v. 214(2), p. 437-42, 2010.

SERRA, G.; FRATTA, W. A possible role for the endocannabinoid system in the neurobiology of depression. **Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health**, v. 11, p. 1-11, 2007.

SHIMIZU, H. Alteration in hypothalamic monoamine metabolism of freely moving diabetic rat. **Neurosci Lett**, v. 14;131(2), p. 225-7, 1991.

SILOTE, G.P.; SARTIM, A.; SALES, A.; ESKELUND, A.; GUIMARÃES, F.S.; WEGENER, G.; JOCA, S. Emerging evidence for the antidepressant effect of cannabidiol and the underlying molecular mechanisms. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 98, p. 104–116, 2019.

STERN, C.A.; do MONTE, F.H.; GAZARINI, L.; CAROBREZ, A.P.; BERTOGLIO, L.J. Activity in prelimbic cortex is required for adjusting the anxiety response level during the elevated plus-maze retest. **Neuroscience**, v. 170(1), p. 214-22, 2010.

WAYHS, C.A.Y.; MANFREDINI, V.; SITTA, A.; DEON, M.; RIBAS, G.; VANZIN, C.; BIANCINI, G.; FERRI, M.; NIN, M.; BARROS, H.M.; VARGAS, C.R. Protein and lipid oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats submitted to forced swimming test: the insulin and clonazepam effect. **Metab Brain Dis**, v. 25, p. 297-304, 2010.

WEISS, L.; ZEIRA, M.; REICH, S.; et al., Cannabidiol lowers incidence of diabetes in non-obese diabetic mice. **Autoimmunity**, v. 39(2), p.143-51, 2006.

WELLEN, K.E.; HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammation, stress, and diabetes. **J Clin Invest**, v. 115(5), p. 1111–1119, 2005.

WILLIAMSON, T.; CUKIERMAN, H. C.; GERSTEIN, J. D. Cognitive decline and dementia in diabetes — systematic overview of prospective observational studies. **Diabetologia**, v.48, p. 2460-2469, 2005.

WILLNER, P.; SCHEEL-KRÜGER, J.; BELZUNG, C. The neurobiology of depression and antidepressant action. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 37, p. 2331-2371, 2013.

World Health Organization (WHO), 2017. Mental health in the workplace.

YAMATO, T.; MISUMI, Y.; YAMASAKI, S.; et al., Diabetes mellitus decreases hippocampal release of neurotransmitters: an in vivo microdialysis study of awake, freely moving rats. **Diabetes Nutr Metab**, v. 17(3), p. 128-36, 2004.

YOU W.P.; HENNEBERG M. Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally: the role of natural selection and life expectancy at birth. **BMJ Open Diabetes Research and Care**, 2016.

ZANELATI, T.V.; BIOJONE, C.; MOREIRA, F.A.; GUIMARÃES, F.S.; JOCA, S.R.L. Antidepressant-like effects of cannabidiol in mice: possible involvement of 5-HT 1A receptors. **Br J Pharmacol**, v. 159, p. 122–128, 2010.

ZANOVELI, J.M.; de MORAIS, H.; da SILVA, I.C.D.; SCHREIBER, A.K.; de SOUZA, C.P.; CUNHA, J.M. Depression associated with diabetes: from pathophysiology to treatment. **Curr Diabetes Rev**, v. 11, p. 11 – 14, 2015.

ZHANG, P.; ZHANG, X.; BROWN, J.; VISTISEN, D.; SICREE, R.; SHAW, J.; NICHOLS, Gr. Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 87, p. 293-301, 2010.

ZHOU, D.; LI, Y.; TIAN, T.; et al., Role of the endocannabinoid system in the formation and development of depression. **Pharmazie**, v. 1;72(8), p. 435-439, 2017.

ZUARDI, A.W.; COSME, R.A.; GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. **J Psychopharmacol**, v. 7, p. 82–88, 1993.

ZUARDI, A.W.; RODRIGUES, N.P.; SILVA, A.L.; BERNARDO, S.A.; HALLAK, J.E.C.; GUIMARÃES, F.S.; CRIPPA, J.A.S. Inverted u-shaped dose-response curve of the anxiolytic effect of cannabidiol during public speaking in real life. **Front Pharmacol**, v. 8, p. 259, 2017.

ŻMUDZKA, E.; SAŁACIAK, K.; SAPA, J.; PYTKA, K. Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies. **Lifesciences**, v. 210, p. 106-124, 2018.