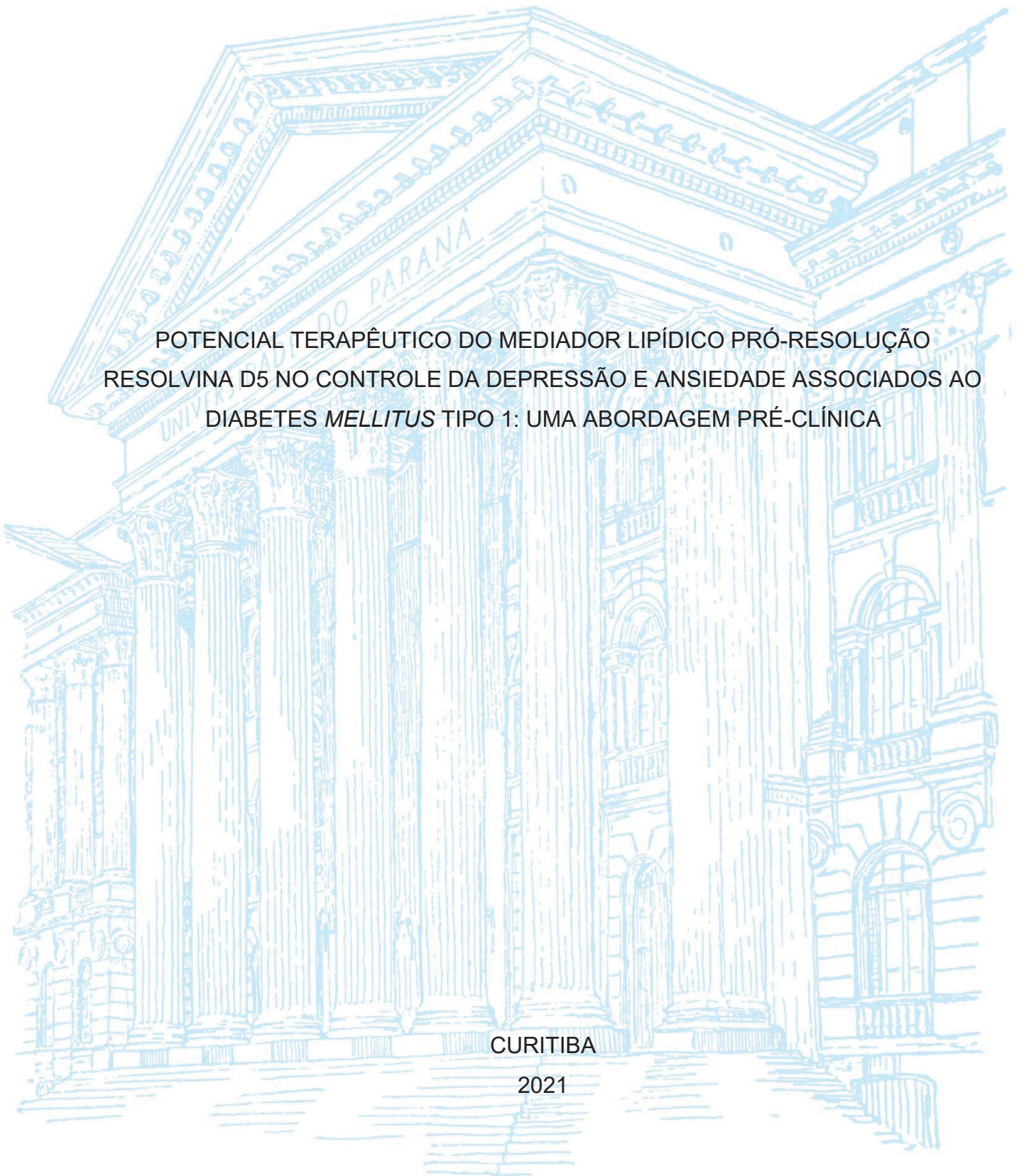


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
FELIPE FAGUNDES LEÃO

POTENCIAL TERAPÊUTICO DO MEDIADOR LIPÍDICO PRÓ-RESOLUÇÃO
RESOLVINA D5 NO CONTROLE DA DEPRESSÃO E ANSIEDADE ASSOCIADOS AO
DIABETES *MELLITUS* TIPO 1: UMA ABORDAGEM PRÉ-CLÍNICA

CURITIBA

2021



FELIPE FAGUNDES LEÃO

POTENCIAL TERAPÊUTICO DO MEDIADOR LIPÍDICO PRÓ-RESOLUÇÃO
RESOLVINA D5 NO CONTROLE DA DEPRESSÃO E ANSIEDADE ASSOCIADOS AO
DIABETES *MELLITUS* TIPO 1: UMA ABORDAGEM PRÉ-CLÍNICA

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito à obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Janaina Menezes Zanoveli
Co-orientador(a): Prof^a. Dr^a. Joice Maria da Cunha

CURITIBA

2021

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca de Ciências Biológicas.
(Rosilei Vilas Boas – CRB/9-939).

Leão, Felipe Fagundes.

Potencial terapêutico do mediador lipídico pró-resolução Resolvina D5 no controle da depressão e ansiedade associados ao Diabetes Mellitus tipo 1: uma abordagem pré-clínica. / Felipe Fagundes Leão. – Curitiba, 2021.
75 f. : il.

Orientadora: Janaina Menezes Zanoveli.

Coorientadora: Joice Maria da Cunha.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

1. Diabetes – Doenças – Tratamento. 2. Inflamação. 3. Ansiedade. 4. Depressão. I. Título. II. Zanoveli, Janaina Menezes. III. Cunha, Joice Maria da. IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

CDD (20. ed.) 616.462



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO FARMACOLOGIA -
40001016038P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **FELIPE FAGUNDES LEÃO** intitulada: **POTENCIAL TERAPÊUTICO DO MEDIADOR LIPÍDICO PRÓ-RESOLUÇÃO RESOLVINA D5 NO CONTROLE DA DEPRESSÃO E ANSIEDADE ASSOCIADOS AO DIABETES MELLITUS TIPO 1: UMA ABORDAGEM PRÉ-CLÍNICA.**, sob orientação da Profa. Dra. JANAÍNA MENEZES ZANOVELI, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 03 de Dezembro de 2021.

Assinatura Eletrônica

07/12/2021 09:00:47.0

JANAÍNA MENEZES ZANOVELI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

06/12/2021 16:55:02.0

MARIA APARECIDA BARBATO FRAZÃO VITAL

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

07/12/2021 10:17:04.0

DANIELE CRISTINA DE AGUIAR

Avaliador Externo (55002642)

Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531990 - Tel: (0xx41)3361-1693 - E-mail: pgfarmacologia@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 133067

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 133067

AGRADECIMENTOS

Parafraseando Foucault em sua obra “A Ordem do Discurso”, 1996, se fosse possível, gostaria de não ter de começar. É nesta perspectiva que inicio meus agradecimentos saudando a pessoa que me concebeu.

À minha querida mãe, que mesmo enferma, inspirou-me a insistir naquilo em que acredito e buscar o que me fosse de direito. A aprovação no processo seletivo do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia foi um presente que veio justamente no momento que perdia a pessoa que me apresentou ao mundo.

À minha Professora Orientadora, Janaína M. Zanoveli, que soube conduzir este trabalho de forma técnica, justa e humana. Mesmo imersa na realidade brutal em que se encontra a ciência e as universidades públicas, mostrou-se disposta e sempre pronta para ajudar e contribuir. Soube acolher, acalmar e orientar de forma serena e competente.

Aos meus amigos de laboratório que sempre estiveram nesta mesma página: prontos para contribuir em todos os momentos. Destaco o apoio, parceria e a confiança da Ana Paula Waltrick, que confiou a mim um projeto de tamanha importância e que tem muito apreço.

Aos meus amigos da vida, que me ajudaram a compreender e superar momentos em que precisei refletir para seguir estudando e sonhando. Agradeço a minha amiga Marina Gonçalves Oliveira, quem se dedicou fortemente a me ajudar a olhar o horizonte que, por vezes, sozinho não enxergava.

Aos meus amigos e colegas de trabalho, que sempre me motivaram e me deram subsídios para olhar o meu potencial, muito desafiado neste processo.

Aos meus gestores do Colégio Marista Santa Maria, que foram compreensíveis e me concederam momentos de dispensa para me dedicar a atividades do Mestrado, bem como me capacitar.

Aos animais, que deram a vida por este estudo. A eles minha profunda admiração e respeito.

A toda equipe administrativa e de professores do Departamento de Farmacologia, pelo acolhimento e companheirismo em todo este processo, em especial a Professora Dr^a Joice Maria da Cunha, que co-orientou este trabalho e investiu muitas horas no laboratório fazendo ensaio de ELISA conosco. A ela toda gratidão e estima.

À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de alcançar um objetivo tão nobre e ceder sua estrutura e equipamentos para manter a ciência brasileira viva.

Às agências de fomento, CNPq e Fundação Araucária, pelo financiamento do projeto ao qual esta pesquisa está vinculada (PRONEX).

À ciência e aos cientistas brasileiros, que mesmo no momento de trevas, protagonizado pelo negacionismo e desmonte das universidades públicas brasileiras, não desistem e fazem um trabalho ainda mais bonito.

Aos profissionais que me ajudaram a cuidar e tratar da minha saúde mental em um momento de pandemia e de intenso estresse.

Aos profissionais da saúde que deram a sua vida para salvar vidas durante a pandemia de Sars-COV-2, bem como ao SUS e seus colaboradores, que devolveram a esperança ao nosso país por meio da vacinação.

À Margareth Aparecida Gonçalves Oliveira, por me acolher e me dar segurança para alçar novos voos. Pela credibilidade que coloca em todo o conhecimento adquirido neste processo. Por me amar. Da mesma forma, toda sua família: Reginaldo, Renan e Marina.

Ao Colégio Marista Pio X, representado pelas pessoas do Prof^o Aloirmar José da Silva e Prof^a Andressa Wolkartt, pela oportunidade e credibilidade de crescimento profissional, apoio e por serem responsáveis por me levarem a um dos melhores momentos da minha caminhada.

À educação, por tudo o que me proporcionou ao longo de toda a vida. Devo a ela quem eu sou e quem eu inspiro. E é neste contexto que finalizo, retomando a reflexão do educador Paulo Freire: todo amanhã se cria num ontem, através de um hoje.

Gratidão!

Na minha pressa eu crescia sem saber para onde.

Clarisse Lispector

RESUMO

O diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) é uma doença crônica relacionada a um processo inflamatório persistente. Esse processo patológico atinge o sistema nervoso central levando à comorbidades psiquiátricas associadas, como transtornos depressivo e de ansiedade. Visto que o tratamento dessas comorbidades é um grande desafio devido às altas taxas de refratariedade, efeitos adversos, bem como prejuízo no controle glicêmico desses pacientes diabéticos, torna-se importante a busca de novos agentes terapêuticos eficazes no alívio do quadro psiquiátrico associado ao DM1, sem prejudicar a própria condição diabética. Considerando o aspecto inflamatório do DM1 e que mediadores lipídicos pró-resolução (MLPr) exercem ações protetoras em diferentes tecidos durante os processos inflamatórios, objetivamos avaliar em um modelo animal de DM1 o potencial terapêutico de um determinado MLPr, a resolvina D5 (RvD5), em comportamentos relacionados à depressão e à ansiedade. Além disso, seus efeitos sobre o processo neuroinflamatório em duas áreas do cérebro que são importantes na mediação das respostas emocionais, o hipocampo (HIP) e o córtex pré-frontal (CPF). Após sete dias de indução experimental de DM1, os animais foram tratados por 23 dias com RvD5 (1, 3 e 10 ng/animal), fluoxetina (FLX, 10 mg/kg - antidepressivo usado como controle positivo), ibuprofeno (IBU, 30 mg/kg - anti-inflamatório não esteroideal utilizado como controle positivo) ou veículo e submetidos aos seguintes testes comportamentais: labirinto em cruz elevado, campo aberto e teste de nado forçado modificado. Ao final, amostras do HIP e CPF foram processadas para análise dos níveis da citocina pró-inflamatória IL-1 β . Nossos resultados demonstraram que o tratamento contínuo com RvD5 (todas as doses) foi capaz de interromper significativamente os comportamentos do tipo ansiedade e depressivo mais pronunciados dos animais com DM1. É importante ressaltar que esse tratamento não prejudicou a condição diabética em si, pelo contrário, induziu uma melhora no quadro diabético; além de uma melhora no ganho de peso dos animais. Essas alterações benéficas foram acompanhadas de uma redução nos níveis aumentados de IL-1 β no HIP e no CPF desses animais com diabetes induzido experimentalmente, caracterizando um efeito neuroprotetor. Em conclusão, nossos dados indicam que o MLPr RvD5 tem potencial terapêutico para tratar ansiedade e depressão associadas ao DM1. Esse potencial pode estar relacionado com as características desse mediador em proteger o dano tecidual em regiões como o HIP e CPF, bem como na melhora induzida na condição diabética em si (peso corporal e glicemia) desses animais com o DM1 induzido.

Palavras-chave: estreptozotocina; interleucina 1 β ; resolvina D5; diabetes *mellitus* tipo 1; neuroinflamação; ansiedade; depressão; mediadores lipídicos pró-resolução.

ABSTRACT

Type-1 diabetes mellitus (T1DM) is a chronic disease related to a persistent inflammatory process. This pathological process reaches the central nervous system, leading to associated psychiatric comorbidities such as depression and anxiety. Since the treatment of these comorbidities is a major challenge due to the high rates of refractoriness, adverse effects, as well as impaired glycemic control in these diabetic patients, the search for new therapeutic agents effective in alleviating the psychiatric condition associated with T1DM, without harming the diabetic condition itself, becomes important. Considering the inflammatory aspect of T1DM and that specialized pro-resolution lipid mediators (SPM) exert protective actions in different tissues during inflammatory processes, we aimed to evaluate in an animal model of T1DM the therapeutic potential of a specific SPM, the resolvin D5 (RvD5), on behaviors related to depression and anxiety. Moreover, its effects on the neuroinflammatory process in two brain areas that are important in the mediation of emotional responses, the hippocampus (HIP) and prefrontal cortex (PFC). After seven days of experimental T1DM induction, animals were treated for 23 days with RvD5 (1, 3 e 10 ng/animal), fluoxetine (FLX, 10 mg/kg – antidepressant used as positive control), Ibuprofen (IBU, 30 mg/kg - the nonsteroidal anti-inflammatory used as positive control) or vehicle and submitted to the following behavioral tests: elevated plus maze, open field and modified forced swim tests. At the end, HIP and PFC samples were processed to analyze the proinflammatory cytokine IL-1 β levels. Our findings demonstrated that continuous treatment with RvD5 (all doses) was able to significantly disrupt the more pronounced anxious-like and depressive-like behaviors of animals with T1DM experimentally induced. It is important to emphasize that this treatment did not harm the diabetic condition itself, on the contrary, it induced an improvement in the diabetic condition; although this was slight, there was an increase in weight gain and a reduction in blood sugar levels. Furthermore, the treatment reduced the increased level of pro-inflammatory cytokine IL-1 β in HIP and CPF of these diabetic animals, characterizing a neuroprotective effect. In conclusion, our data indicate that SPM RvD5 has therapeutic potential to treat anxiety and depression associated with DM1. This potential is related to the characteristics of this mediator in protecting tissue damage in regions such as HIP and CPF, as well as not harming body weight or blood glucose in these animals with induced DM1.

Keywords: streptozotocin; interleukin 1 β ; resolving D5; type 1 diabetes *mellitus*; neuroinflammation; anxiety; depression; specialized pro-resolution lipid mediators.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	DIABETES <i>MELLITUS</i>	11
1.2	DEPRESSÃO E ANSIEDADE ASSOCIADOS AO DIABETES <i>MELLITUS</i>	12
1.3	MEDIADORES LIPÍDICOS PRÓ-RESOLUÇÃO.....	19
2	OBJETIVOS	24
2.1	OBJETIVO GERAL.....	24
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
3	ARTIGO	24
4	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 DIABETES *MELLITUS*

O diabetes *mellitus* (DM) é um distúrbio metabólico crônico que possui como principal característica a hiperglicemia (IDF, 2019). Existem três tipos principais de DM, que são diferenciados principalmente pelo modo como a hiperglicemia ocorre: o DM1, em que há insuficiência na produção de insulina; o DM2, em que ocorre a resistência à insulina e falha em sua ação; e o DM gestacional, em que há hiperglicemia durante a gestação (IDF, 2019). Os números populacionais de DM no mundo são alarmantes, de acordo com a IDF em 2019 aproximadamente 463 milhões de pessoas apresentavam a doença. Na América Latina, este número chegou a 32 milhões de pessoas (IDF, 2019).

O DM1, de principal interesse para este estudo, é uma doença autoimune com origens genéticas, porém, pode também ser desencadeado por fatores ambientais e de origem idiopática. Pelo fato de o DM1 ser mediado por anticorpos, sugere-se que infecções virais possam também originar esta patologia. Por exemplo, recentemente foi sugerida uma relação bidirecional entre DM1 e a contaminação por SARS-CoV-2 (Ebekoziën et al., 2020; Rubino et al., 2020; Sarwani et al., 2021). Segundo Byrne e colaboradores (2021), o SARS-CoV-2 pode se ligar ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) dentro do pâncreas, potencialmente levando aos danos das células das ilhotas β e um resultante aumento tanto da incidência ou da gravidade de DM1 de início recente relacionado temporalmente a picos clínicos de infecção por COVID-19 (McGlacken-Byrne et al., 2021). Independente da origem, se autoimune ou por infecção, a maioria das células β -pancreáticas produtoras de insulina são destruídas pelo próprio sistema imunológico, levando a uma queda drástica na produção de insulina e, conseqüentemente, a uma condição de hiperglicemia crônica (Li et al., 2014; Michels et al., 2015). O DM1 aparece principalmente em crianças, adolescentes e jovens, até os 20 anos de idade, e possui uma prevalência de até 10% dos casos totais do DM (IDF, 2019). Apesar da prevalência menor, quando comparado com o DM2, tanto a cronicidade e a dificuldade de prevenção colocam este tipo de DM como fator de atenção à saúde global. Em 2019 o IDF estimou que mais de um milhão de crianças e adolescentes apresentaram casos de DM1 no mundo, e em um ranking dos países

com os maiores números de casos, o Brasil aparece em terceiro lugar com aproximadamente 51 mil casos (IDF, 2019). Além disso, o órgão também estima altos gastos com o sistema de saúde no mundo, que pode chegar a 845 bilhões de dólares em 2045 e já acumulou, até 2019, 760 bilhões de dólares de déficit. Tais fatos alertam para a atenção a esta doença, tal qual o estudo de drogas inovadoras para o seu tratamento.

Além da hiperglicemia e as alterações metabólicas da doença, existem vários sinais e sintomas característicos do DM1 e que afetam a qualidade de vida dos pacientes, tais como a fome constante e a polifagia (aumento na ingestão de alimentos), perda de peso, polidipsia (sede excessiva) e boca seca, poliúria (aumento no volume de urina), visão embaçada, fadiga e cansaço, entre vários outros (Iqbal et al., 2018). As alterações metabólicas do DM1 e a hiperglicemia também podem levar o paciente a comorbidades importantes que prejudicam ainda mais a qualidade de vida, como por exemplo doenças cardiovasculares (Dei Cas et al., 2015; Avila et al., 2014), neuropatia diabética (Schreiber et al., 2015), insuficiência renal (Thomas et al., 2015) e as comorbidades psiquiátricas como transtornos de ansiedade e depressão maior (Siba et al., 2017; Zanoveli et al., 2016; Gilsanz et al., 2018), ambas sendo de grande interesse para este estudo.

1.2 DEPRESSÃO E ANSIEDADE ASSOCIADAS AO DIABETES *MELLITUS*

Os transtornos depressivos incluem transtorno disruptivo da desregulação do humor, transtorno depressivo maior (incluindo episódio depressivo maior), transtorno depressivo persistente (distímia), transtorno disfórico pré-menstrual, transtorno depressivo induzido por substância/medicamento, transtorno depressivo devido a outra condição médica, outro transtorno depressivo especificado e transtorno depressivo não especificado. (DSM-V, APA, 2014, p. 155)

O transtorno depressivo maior é um dos mais prevalentes na população mundial e altamente incapacitante (OMS, 2021). Este transtorno é caracterizado por episódios distintos de pelo menos duas semanas de duração (embora a maioria dos episódios dure um tempo consideravelmente maior) envolvendo alterações nítidas no afeto, na cognição e em funções neurovegetativas, e remissões interepisódicas. O diagnóstico baseado em um único episódio é possível, embora o transtorno seja

recorrente na maioria dos casos. Características comuns aos pacientes com este distúrbio são: humor deprimido, diminuição acentuada do prazer e interesse em atividades diárias anteriormente realizadas com apreço, perda ou ganho de peso, agitação ou retardo de atividades motoras diariamente, fadiga ou perda de energia com muita frequência, sentimentos de inutilidade ou culpa, capacidade diminuída de concentração diária, pensamentos recorrentes de morte ou idealização suicida (DSM-V, APA, 2014).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2021), a estimativa de indivíduos com depressão em todo o mundo é mais de 280 milhões de pessoas, de todas as idades (OMS, 2021). A OMS também alerta para casos em que os pacientes cometem suicídio, sendo esta a segunda causa de mortes de pessoas entre 15 e 29 anos, levando à morte pelo menos 700 mil pessoas por ano no mundo.

Além do transtorno de depressão maior, os transtornos de ansiedade também são altamente incapacitantes. Para o DSM-V, os transtornos de ansiedade incluem transtornos que compartilham características de medo e ansiedade excessivos e perturbações comportamentais relacionados, sendo o transtorno de ansiedade generalizada, transtorno de ansiedade social e transtorno de pânico, os mais comuns (DSM-V, APA, 2014). A ansiedade é definida como um estado de maior vigilância e responsividade que resulta em uma série de comportamentos defensivos mensuráveis. Estes comportamentos servem para prevenir ou reduzir danos ao organismo em face do inesperado e situações potencialmente perigosas e, portanto, a ansiedade é um mecanismo adaptativo e fisiológico que é essencial para a sobrevivência das espécies. A ruptura desse mecanismo adaptativo (exacerbação, intensidade e frequência da ativação de vias encefálicas) culmina no desdobramento do quadro patológico que é acompanhado de sintomas somáticos (Craske et al., 2017; Graeff et al., 1996, 1997, 2002). Pesquisa feita pela OMS (2017) mostra que o Brasil é o país com a maior taxa de pessoas com transtornos de ansiedade no mundo e o quinto em casos de transtornos de depressão. Segundo estimativas divulgadas, 9,3% dos brasileiros têm algum transtorno de ansiedade, e a depressão afeta 5,8% da população.

A associação entre essas doenças psiquiátricas com o DM ocorre por diversos mecanismos biológicos importantes e comuns a essas doenças, mas também vale frisar que há a presença do fator psicológico ligado ao DM, uma vez que a doença em si demanda muito do paciente como na rigidez do

autocuidado, o medo constante de uma piora ou dos efeitos da hipoglicemia que podem ocorrer em pacientes medicados, gerando muito estresse (Boden, 2018). Quando se fala destas psicopatologias associadas ao DM, é válido ressaltar que vários estudos relacionam diretamente os transtornos de depressão e a ansiedade com o diabetes, apontando, inclusive, uma relação bidirecional entre elas (Golden et al., 2008; Zanolini et al., 2016; Réus et al., 2017; Craske et al., 2017; Salim et al., 2012; Rechenberg et al., 2018). Essas doenças apresentam alterações neurobiológicas comuns como a desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) que pode levar a resistência à insulina ou a uma piora deste quadro, desregulações neuroquímicas como um desbalanço de monoaminas (serotonina – 5-HT, noradrenalina – NA e dopamina – DA) em áreas encefálicas importantes para a mediação do comportamento emocional, como hipocampo (HIP) e córtex pré-frontal (CPF), desregulações no sistema imunológico levando a quadros inflamatórios (Pettrak et al., 2018), além de outras alterações como na produção de proteínas importantes para a neurogênese e plasticidade sináptica (Beauquis et al., 2008; da Silva Dias et al., 2016; Redivo et al., 2016; Hammadi et al., 2018).

Tendo em vista o quadro inflamatório presente no DM1, bem como a consequente encefalopatia diabética (Chaves et al., 2020, 2021; Zanolini et al., 2016) presente no DM1, principalmente em pacientes que não fazem o manejo da glicemia e o autocuidado rigoroso como é recomendado, a neuroinflamação, caracterizada pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias, levando a inflamações crônicas, é uma das alterações comuns presentes nos transtornos de depressão e/ou ansiedade associados ou não ao DM. Existem estudos na literatura que relacionam altos níveis de depressão associada ao DM a disfunções metabólicas e no sistema imunológico. Um estudo feito em 2012 por Hood e colaboradores mostrou que pacientes com depressão associada ao DM apresentaram um aumento significativo de agentes pró-inflamatórios (Hood et al., 2012), como a lipoproteína A (LPA), uma lipoproteína capaz de ativar macrófagos e monócitos e aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias (Orsó & Schmitz, 2017). Neste mesmo trabalho, Hood e colaboradores mostraram outros marcadores alterados e aumentados em pacientes com depressão associada ao DM, como a proteína C reativa, a proteína amiloide A sérica, apolipoproteína B, entre outros, mostrando alterações metabólicas e de caráter inflamatório importantes (Hood et al., 2012).

Entre os indivíduos diabéticos, estudos mostram que a depressão pode ser de duas a três vezes mais recorrentes do que na população em geral (Johnson et al., 2013; Roy & Lloyd et al., 2012; Boden, 2018).

Em relação à ansiedade, cabe ressaltar que o componente inflamatório é parte importante no desencadeamento destes transtornos, como observado no estudo clínico de O'Donovan e colaboradores (2010), em que os autores observaram um aumento da interleucina-6 (IL-6), uma citocina pró-inflamatória, em pacientes com transtornos de ansiedade em relação a indivíduos não-ansiosos (O'Donovan et al., 2010). Vários outros estudos, clínicos e pré-clínicos mostraram o aumento destas moléculas em pacientes ansiosos e em animais com comportamento tipo ansioso, relatando diretamente a neuroinflamação com a ansiedade (Salim et al., 2012; Simões et al., 2018). A literatura também traz o estresse oxidativo como gatilho para a inflamação crônica que pode desencadear psicopatologias como a ansiedade, com o aumento de espécies reativas de oxigênio, citotoxicidade e morte celular (Hovatta et al., 2010). O estresse oxidativo aumenta a neuroinflamação a partir do aumento de citocinas pró-inflamatórias tais como algumas interleucinas e o fator α de necrose tumoral (TNF- α), como também pelo aumento de fatores de transcrição como o fator nuclear κ B (NF- κ B) (Salim et al., 2011; Salim et al., 2012; Hou & Baldwin, 2011).

O DM apresenta um quadro inflamatório crônico e de estresse oxidativo, além de um aumento da ativação do NF- κ B, um fator de transcrição e importante mediador inflamatório. Estudos apontam o aumento de citocinas pró-inflamatórias e a alta ativação do NF- κ B com as disfunções neuronais promovidas pelo DM, como por exemplo o grande aumento de morte celular no encéfalo (Muriach et al., 2014; Cai & Liu, 2012). Alguns trabalhos também relacionam a neuroinflamação com as inflamações crônicas consequentes dos distúrbios metabólicos do DM e até mesmo com doenças cerebrovasculares causadas pela doença. Essa neuroinflamação juntamente com um aumento no estresse oxidativo pode levar à morte neuronal e neurodegeneração, e aumenta as chances do aparecimento de transtornos psiquiátricos como o transtorno de depressão maior (Chen et al., 2016).

Em relação à depressão, pesquisas mostraram um aumento nas evidências que relacionam esta doença a processos inflamatórios (para revisão, ver Troubat et al., 2020). Adicionalmente, em um artigo de revisão de 2016, Kohler e colaboradores elencaram os três pontos principais que ligam a depressão a processos

inflamatórios: 1) inflamações crônicas aumentam o risco de desenvolvimento de transtornos de humor, principalmente a depressão; 2) pacientes depressivos apresentam um aumento significativo de marcadores pró-inflamatórios como as interleucinas pró-inflamatórias e o TNF- α ; e 3) agentes pró-inflamatórios podem levar ao aparecimento de sintomas de depressão, como por exemplo o interferon γ (IFN- γ), agente utilizado no tratamento de algumas doenças estimulando a resposta inflamatória do organismo, já demonstrou efeitos colaterais psiquiátricos causando sintomas de depressão nos pacientes (Kohler et al., 2016; Wichers et al., 2005).

Outros dados que apontam a inflamação como um processo importante na regulação de transtornos de humor são os que mostram o envolvimento da enzima glicogênio quinase sintase-3 (GSK-3) na regulação da inflamação e, como a inibição dessa enzima pode ser um alvo terapêutico importante em doenças como a depressão. A GSK-3 é uma proteína quinase que atua em várias funções, inclusive regulando processos inflamatórios, e possui dois tipos, a GSK-3 α e a GSK-3 β , sendo esta última altamente expressa no sistema nervoso central (Li & Jope, 2010). Assim, a partir do estímulo de receptores tipo *Toll* (TLR) de células do sistema imunológico, como monócitos, a GSK-3 induz a produção de citocinas pró-inflamatórias importantes, como a interleucina-1 β (IL-1 β), TNF- α e IFN- γ . Em contrapartida, a inibição da GSK-3 tem como consequência o aumento da citocina anti-inflamatória interleucina-10 (IL-10), além de diminuir a produção de citocinas pró-inflamatórias (Martin et al., 2005; Jope, 2011; Cao et al., 2017). A inibição da GSK-3 se dá a partir da fosforilação do aminoácido serina N-terminal, no caso do tipo GSK-3 α a serina-21, e no caso do tipo GSK-3 β a serina-9.

Vários trabalhos da literatura mostraram que o uso de diferentes drogas antidepressivas com efeitos já bem estabelecidos e amplamente utilizados na clínica, em diferentes protocolos (como tratamentos agudos e crônicos em ratos, em culturas celulares, *in vitro*) apresentou um aumento significativo da fosforilação de serina e, conseqüentemente, inibição da GSK-3 (para revisão, ver Li & Jope, 2010). Além disso, a inibição da GSK- β a partir da fosforilação da serina-9 também aumenta a expressão do Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo (BDNF), altamente importante para a plasticidade sináptica (Ren et al., 2018). A diminuição nos níveis de BDNF no encéfalo, principalmente em áreas importantes para a modulação de transtornos de humor como o CPF e o HIP, vem sendo estudada como um possível marcador para a depressão.

Curiosamente, estes níveis de BDNF aparecem reduzidos também em animais com DM1 experimental, sendo uma possível conexão entre as etiologias de DM1 e transtornos depressivos (Redivo et al., 2016). Ademais, estudos mostram que a expressão e a atividade da GSK-3 estão aumentadas em pacientes diabéticos e a inibição desta enzima a partir da fosforilação da serina se mostrou importante reguladora do metabolismo de glicose e da sensibilidade à insulina (Nadeem et al., 2015). O estudo de Nadeem e colaboradores (2015) mostrou um aumento nos níveis de GSK-3 β no HIP de animais com DM1 experimental quando comparado ao grupo controle normoglicêmico e, estes mesmos animais mostraram um comportamento tipo depressivo em testes comportamentais. Os autores discutem o aumento de GSK-3 β na condição diabética tendo uma possível relação com o comportamento tipo depressivo dos animais a partir de outros estudos que mostram a inibição do GSK-3 β como um potencial alvo terapêutico capaz de induzir um do tipo antidepressivo em animais (Kaidanovich-Beilin et al., 2004; Gould et al., 2004). Este mesmo trabalho mostrou que um tratamento por duas semanas com Imipramina, um antidepressivo tricíclico que inibe a recaptação preferencialmente de 5-HT e NA, consegue normalizar os níveis aumentados de GSK-3 β no HIP dos animais com DM1 induzido (Nadeem et al., 2015).

Outro ponto importante, que também está relacionado com a fisiopatologia da depressão, bem como do DM1 e que envolve o sistema serotoninérgico, é o envolvimento da enzima indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO). A IDO faz parte do metabolismo extra-hepático do triptofano, que é um aminoácido essencial utilizado no organismo para a produção de proteínas e, além disso, também é precursor da 5-HT. Mais de 95% do triptofano ingerido na dieta é metabolizado no fígado pela enzima triptofano dioxigenase (TDO), sendo pouco utilizado para a síntese de 5-HT. A oxidação do triptofano também ocorre de forma extra-hepática, principalmente pela enzima IDO. Na presença de quadros inflamatórios, importantes citocinas pró-inflamatórias como o IFN- γ e o TNF- α induzem uma maior atividade da IDO. Este aumento causa um desvio de triptofano para esta via de degradação, o que pode alterar a biossíntese de 5-HT. Além de diminuir a quantidade de 5-HT produzida, os metabólitos da degradação do triptofano podem ter ação citotóxica no organismo, causar estresse oxidativo e lipoperoxidação, levando à morte celular e podendo agravar ainda mais o quadro inflamatório (Dantzer et al., 2008; Maes & Rief, 2012).

A IDO aparece em trabalhos da literatura como parte importante do processo inflamatório dos transtornos depressivos (Maes et al., 2011; Schiepers et al., 2005; Wichers et al., 2004; Qin et al., 2018) e, em relação ao DM1, um trabalho do nosso laboratório demonstrou um aumento significativo de IDO no hipocampo de animais com DM1 experimental (da Silva Dias et al., 2016). Neste mesmo trabalho, da Silva Dias e colaboradores também observaram um aumento no comportamento tipo depressivo dos animais quando expostos no Teste de Natação Forçada Modificado (TNFM) e um aumento nas citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6 no HIP dos animais com o DM1 induzido. Estes parâmetros estavam aumentados em relação aos animais controle normoglicêmicos. Vale ressaltar que a utilização de drogas que têm ação anti-inflamatória, como o Ibuprofeno, bem como drogas que inibem direta ou indiretamente a ação da IDO, como a minociclina e 1-metil-triptofano – 1MT, foram capazes de reduzir a frequência do parâmetro analisado no TNFM, que indica comportamento tipo depressivo pronunciado (da Silva Dias et al., 2016).

Em relação à ansiedade, a modulação da neuroinflamação, por atuar na via GSK-3 e IDO, também parece ser importante. Um trabalho de 2016 mostrou que animais *knockout* com depleção total de GSK-3 α e GSK-3 β mostraram uma diminuição no comportamento tipo ansioso avaliado no teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) (Jung et al., 2016). A literatura traz ainda outras evidências de que a inibição da GSK-3 pela fosforilação da serina diminui comportamentos tipo ansioso. A exemplo disso, o trabalho de Polter e colaboradores, 2010, em que animais *knockout* com deficiência na fosforilação da serina mostraram comportamento tipo ansioso mais pronunciado no LCE, comparados aos animais controle (Polter et al., 2010). Em relação à enzima IDO, em um trabalho de 2012 realizado por Salazar e colaboradores, a utilização do 1-MT para a inibição da IDO em animais com comportamento tipo ansioso induzido pelo modelo de lipopolissacarídeo (LPS), que possui um caráter inflamatório, foi capaz de reduzir este comportamento. Este resultado sugere que este comportamento também pode estar relacionado com o aumento de IDO devido à inflamação (Salazar et al., 2012).

Interessante que todas essas alterações supracitadas em sistemas de neurotransmissores, BDNF, GSK-3 e IDO, estão associadas com o aumento de estresse oxidativo e a inflamação. Assim, tendo em vista todas as complicações dos transtornos de depressão e ansiedade associadas ao DM1, outro grande desafio

para os pacientes diabéticos é o tratamento dessas psicopatologias. Geralmente as drogas de primeira escolha para o tratamento destas comorbidades são os antidepressivos monoaminérgicos, como a fluoxetina e a sertralina (inibidores seletivos da recaptação de serotonina – ISRS) (Huang et al., 2013; Zanoveli et al., 2016). Muitos destes pacientes diabéticos são resistentes e/ou refratários a estes medicamentos, ou seja, não respondem bem ao tratamento. Os antidepressivos normalmente utilizados também podem precipitar efeitos colaterais indesejáveis, como alterações na pressão sanguínea, alterações de peso e disfunção sexual. Estes efeitos adversos podem inclusive acarretar a descontinuidade do uso do medicamento (Roopan & Larsen, 2016). Arelado a isso, alguns antidepressivos utilizados podem prejudicar o controle glicêmico, além de interagir com drogas hipoglicemiantes (Ghaeli et al., 2004; Barnard et al., 2013; Gagnon et al., 2018). Gagnon e colaboradores mostraram os efeitos dos antidepressivos utilizados na clínica no controle glicêmico dos pacientes diabéticos, inclusive alertando para o fato de que mesmo antidepressivos diferentes dentro da mesma classe, como os ISRS, podem alterar o controle glicêmico de formas distintas (Gagnon et al., 2018). Estas evidências mostram que tanto a pesquisa acerca das alterações neurobiológicas dos transtornos de depressão/ansiedade associados ao DM1, bem como a busca por tratamentos mais eficazes e que não alterem a condição diabética dos pacientes, devem ser constantes e são de extrema necessidade.

Importante mencionar que o tratamento do diabetes *mellitus per se*, mais especificamente do DM1, é feito com Insulina. Dados referentes ao controle do DM1 pelo uso da insulina revelam um papel importante que ela desempenha no sistema nervoso central (SNC). Além dos efeitos benéficos em diversos tecidos periféricos, diversos estudos revelaram a existência de receptores de insulina no SNC e o envolvimento desta via de sinalização em processos como a modulação da plasticidade sináptica dependente de atividade, importante para o aprendizado e a memória, bem como a sobrevivência das células nervosas, manutenção de sinapses excitatórias, neuroproteção e, inclusive, minimizando a resposta inflamatória (Arnold et al., 2018; Pomytkin et al., 2018).

Desta forma, pacientes acometidos com DM1 possuem deficiências também nas atividades do SNC, uma vez que transportadores de glicose dependentes da insulina são encontrados em regiões diversas do encéfalo. A glicose é um monossacarídeo indispensável para o metabolismo celular tal qual o dos neurônios.

Assim, estas células contêm transportadores desta molécula, sobretudo nas sinapses. Dentre as famílias destas proteínas, sabe-se que o GLUT-3 é muito abundante no SNC, como no hipocampo e amígdala, e não depende da insulina para desempenhar sua função. Por outro lado, estão presentes, mas em menor quantidade, também os transportadores de glicose GLUT-4, que são dependentes do hormônio. Em roedores, sabe-se da importância destas proteínas em comportamentos cognitivos, já que estas promovem maior influxo de glicose quando há hiperatividade metabólica nos neurônios, como em momentos de aprendizagem (Arnold et al., 2018). Logo, pode-se afirmar que a insulina é importante para atividades desempenhadas neste tecido e a sua redução no quadro de DM1 leva a alterações, gerando comorbidades psiquiátricas.

Em um trabalho de nosso laboratório, de Morais e colaboradores (2014) observaram importantes alterações em ratos com DM1 experimental induzido por estreptozotocina (STZ) resultantes do tratamento com insulina. Além da diminuição da glicose sanguínea e da perda de peso, o comportamento tipo depressivo também sofreu redução. Os autores também demonstraram uma redução do estresse oxidativo no CPF e no HIP, inclusive nos animais normoglicêmicos tratados com a droga. Nesta mesma direção, Ho e colaboradores (2011) avaliaram a ação deste hormônio em camundongos com DM1 experimental induzido por STZ. Dentre os resultados, eles observaram o aumento do BDNF e da proliferação de células no HIP, indicando uma ação neuroprotetora da insulina no SNC. Em conjunto, estes dados sugerem a importância deste hormônio para todo o organismo ressaltando a importância desta suplementação de forma rigorosa no caso do DM1. Aqui, é importante ressaltar que, infelizmente, muitos pacientes não fazem o controle glicêmico da maneira correta apresentando muitos picos de alto nível de açúcar no sangue em diferentes períodos (Charalampopoulos et al, 2018; Petitti et al., 2009) levando a todas as alterações neurobiológicas já supracitadas.

Todavia, mesmo com o tratamento de reposição de Insulina, porém, na grande maioria dos casos, não feito de maneira controlada ou rigorosa, os pacientes de DM1 desenvolvem doenças psiquiátricas, justificando o tratamento dessas comorbidades com drogas antidepressivas. Tendo em vista que o tratamento com antidepressivo e insulina ainda não são capazes de reverter os aspectos emocionais negativos apresentados pelos pacientes com DM1, a busca por novas terapias com maior eficiência, maior taxa de adesão e menos efeitos adversos torna-se

importante. Nesse sentido, os mediadores lipídicos pró-resolução (MLPr) podem ser uma alternativa.

1.3 MEDIADORES LIPÍDICOS PRÓ-RESOLUÇÃO

O processo inflamatório ocorre como uma resposta de proteção a infecções e danos no organismo, e consiste em uma série de acontecimentos complexa. Uma das fases deste processo é a resolução da inflamação, em que ocorre uma cascata de eventos que levarão ao restabelecimento do equilíbrio no local da inflamação (Fullerton & Gilroy, 2016). A resolução da inflamação ocorre de modo a prevenir que uma inflamação aguda persista a ponto de se tornar crônica, prevenindo também novos danos ao organismo e excesso de resposta inflamatória. Este processo de resolução consiste em algumas ações do organismo, como a suspensão da síntese de mediadores pró-inflamatórios e degradação dos mediadores que restaram da inflamação, a limitação da produção da infiltração de neutrófilos e a eferocitose produzida pelos macrófagos, processo de degradação e eliminação de células apoptóticas provenientes da inflamação (Headland & Norling, 2015).

Um outro fator importante para a resolução da inflamação, é a presença e ação dos chamados MLPr que auxiliam o organismo neste processo e limitam o processo inflamatório. Os MLPr foram identificados e classificados em quatro categorias: as lipoxinas, as resolvinas, as maresinas e as protectinas (Serhan & Chiang, 2013). A presença de mediadores pró-inflamatórios como a prostaglandina E_2 (PGE_2) e de células apoptóticas estimula a produção dos MLPr (Bandeira-Melo et al., 2000). Estes mediadores lipídicos são derivados principalmente dos ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 (AGPIs n-3), hidrocarbonetos essenciais aos mamíferos que só podem ser obtidos através da alimentação ou suplementação, pois não são produzidos de forma endógena (Arterburn et al., 2006; Messamore et al., 2017). Os AGPIs n-3 têm sido extensivamente estudados em várias condições, e demonstraram ter ações antioxidantes, anti-inflamatórias e antidepressivas (Naliwaiko et al., 2004; Vines et al., 2012; Wu et al., 2016; Delattre et al., 2017).

Entre os AGPIs n-3, os principais são o ácido docosaheptaenoico (DHA) e o ácido eicosapentaenoico (EPA), que são importantes em vários processos celulares, inclusive estruturalmente e em mecanismos de transdução de sinais (Dyall, 2015; Calder, 2017). Outra importante função dos AGPIs n-3, é que eles são precursores

dos mediadores lipídicos: resolvinas de série E, derivadas do EPA; resolvinas de série D (RvD), maresinas e protectinas, derivadas do DHA (Bannenberg & Serhan, 2010). Em contrapartida, a lipoxina é derivada do ácido graxo poli-insaturado da família ômega-6, ácido araquidônico.

Os MLPr são agonistas de receptores acoplados à proteína G. Uma destas proteínas já estudadas é o receptor FPR2/ALX, expresso em uma ampla gama de leucócitos e leva a efeitos pró e anti-inflamatórios (Chiang & Serhan, 2017). Lipoxinas como LXA4 e resolvinas, como RvD1 e RvD3, podem efetivamente ativar a sinalização do receptor FPR2/ALX. Outra proteína relacionada aos MLPr é o GPR32, um receptor órfão expresso predominantemente em neutrófilos humanos, monócitos, tecido adiposo e células endoteliais. RvD1, RvD3 e RvD5 ativam a resposta celular por meio deste receptor (Park et al., 2020; Han et al., 2021). Apesar disso, Flack e colaboradores (2020) demonstraram que a administração de RvD5 controlou a inflamação produzida por *E. coli*, reduzindo o tráfego de neutrófilos e aumentando a fagocitose bacteriana. No entanto, animais *knock-out* para o receptor GPR101 limitaram significativamente a ação da molécula na fagocitose bacteriana, ações protetoras e pró-resolutivas durante a artrite inflamatória. Desta forma, observou-se a importância de outro receptor órfão na ação da RvD5, ressaltando a importância de mais estudos sobre seu mecanismo de ação, ainda pouco conhecido.

Em um trabalho de 2016, Gu e colaboradores demonstraram *in vitro* que a presença de resolvinas e maresinas em monócitos humanos foi capaz de reduzir citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β e o TNF- α , além de aumentar a produção da citocina anti-inflamatória IL-10. Outro dado importante deste mesmo trabalho, foi que as resolvinas e maresinas utilizadas também foram capazes de aumentar a fosforilação da serina-9, inibindo a GSK-3 β , resultando também em uma ação anti-inflamatória (Gu et al., 2016). Em relação ao DM, alguns trabalhos recentes vêm relacionando os MLPR com a manutenção e resolução da inflamação que está fortemente associada à condição diabética (Das, 2013; Das, 2017).

Alguns grupos investigaram outras resolvinas de série D em modelos de depressão induzida, DM do tipo 1 e 2. Deyama et al (2017) administraram 10 ng/animal de RvD1 e RvD2, pela via intra-cérebro-ventricular, em animais com depressão induzida por lipopolissacarídeo (animais sem diabetes induzido). Além disso, também fizeram um segundo experimento administrando 0,3 ng/animal destas moléculas, bilateralmente, no CPF medial e giro denteado do HIP. Ambos os

resultados mostraram efeito do tipo antidepressivo dos compostos, além de que a administração de antagonistas do receptor FPR2/ALX (RvD1) e GPR18 (RvD2) reverteram este efeito, demonstrando o envolvimento destas proteínas no mecanismo de ação.

Bathiana e colaboradores conduziram dois estudos importantes envolvendo DM1 (2021) e DM2 (2020). Nestas investigações, os pesquisadores administraram 60 ng/animal de RvD1 nos modelos de DM1 induzido por STZ e DM2 induzido por Nicotinamida-STZ, respectivamente. No primeiro estudo, observou-se que o mediador lipídico foi administrado no mesmo dia da indução do DM e seguiu por 5 dias consecutivos. Eles observaram que a RvD1 diminuiu a gravidade do DM1 induzido por STZ, restaurando os níveis plasmáticos alterados de TNF- α , IL-6 e BDNF, expressão dos genes pancreáticos COX-1/COX-2/PPAR- γ e proteínas sinalizadoras de insulina (GSK-3 β /Foxo1) e as concentrações de antioxidantes e peróxidos lipídicos quase a níveis normais. O tratamento com RvD1 também restaurou a expressão dos genes Bcl2/Pdx, e outro mediador lipídico, a lipoxina A4 (LXA4) foi aumentado em níveis plasmáticos, bem como os níveis de RvD1. Além disso, foram aumentados os níveis de BDNF no cérebro, no pâncreas, no intestino e no fígado (Bathiana et al., 2021). No segundo estudo, também foram observados o aumento sérico de LXA4 e BDNF no pâncreas, fígado e cérebro. Do mesmo modo, alterou a expressão de outros marcadores como NF- κ B, iNOS e Bcl2/Bax, mostrando a supressão da inflamação e de vias apoptóticas. O tratamento com RvD1 aumentou a fosforilação de Akt e a subsequente ativação (fosforilação) de moléculas de sinalização de PI3K e mTOR, indicando que RvD1 atua através do eixo PI3K/Akt/mTOR, uma via importante nos estudos dos processos inflamatórios. Estes resultados permitem entender que outros mediadores lipídicos possam desempenhar funções benéficas semelhantes, amenizando danos associados à condição diabética e suas comorbidades psiquiátricas.

No presente estudo, o mediador de interesse foi a RvD5, uma resolvina da série D que aumenta a fagocitose em neutrófilos e macrófagos e reduz a expressão das moléculas pró-inflamatórias, NF- κ B e TNF- α (Serhan & Petasis, 2011; Deng et al., 2014). Esta molécula foi identificada em humanos no sangue, exsudatos hemorrágicos e líquido sinovial (Perry et al., 2020). Apesar disso, a biossíntese específica desta resolvina não foi claramente definida, mesmo que estudos apontem a via envolvendo as enzimas lipoxigenases (LOX), semelhante a biossíntese de

outras resolvinas de série D. Mesmo pouco explorada, é importante ressaltar que esta molécula já demonstrou efeitos benéficos em outros tecidos que não o nervoso. Por exemplo, Gobbetti e colaboradores (2017) demonstraram efeitos protetores deste composto contra colite e inflamação induzida por isquemia/reperfusão intestinal em camundongos (Gobbetti et al., 2017). Outro estudo avaliou a ação, desta e de outras resolvinas de série D, na neuropatia periférica induzida por quimioterapia. Outro resultado interessante, foi encontrado por Lou e colaboradores (2019), que observaram que a administração de 100 ng/animal de RvD5 reduziu a alodinia mecânica produzida por paclitaxel apenas em camundongos machos e não em fêmeas (Lou et al., 2019).

Tendo em vista o potencial terapêutico da RvD5 associado com a ausência de estudos com RvD5 em um modelo experimental de DM1, no presente estudo foi de nosso interesse avaliar em um modelo animal de DM1 induzido experimentalmente pela STZ o potencial terapêutico deste composto nas respostas emocionais relacionadas com ansiedade e depressão, bem como sobre a condição diabética em si (peso corporal e glicemia). Mais ainda, considerando o caráter inflamatório dessas condições associadas ao DM1, objetivamos investigar um possível efeito neuroprotetor do tratamento sobre os níveis elevados de um marcador pró-inflamatório, a IL-1 β , no CPF e HIP de animais com DM1 induzido.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar em animais com DM1 induzido experimentalmente o efeito do tratamento prolongado com a Resolvina D5 (RvD5) sobre comportamentos relacionados à depressão e à ansiedade nos testes de natação forçada modificado, campo aberto e labirinto em cruz elevado, bem como sobre a condição diabética e sobre a diminuição do processo de neuroinflamação no CPF e HIP.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do tratamento prolongado de três doses (1 ng, 3 ng, e 10 ng; i.p.) de Resolvina D5 (RvD5) sobre o comportamento do tipo depressivo de animais com DM1 experimental submetidos ao Teste da Natação Forçada Modificado (TNFM);
- Avaliar o efeito do tratamento prolongado de três doses (1 ng, 3 ng, e 10 ng; i.p.) de Resolvina D5 (RvD5) sobre o comportamento do tipo ansioso e sobre a atividade locomotora/exploratória de animais com DM1 experimental no Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e no Teste do Campo Aberto (CA);
- Avaliar o efeito do tratamento prolongado com Resolvina D5 (RvD5) sobre a diminuição da inflamação por meio da análise dos níveis de IL-1 β no córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo (HIP) de animais com DM1 experimental.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

TITLE PAGE

Resolvin D5 disrupts anxious- and depressive-like behaviors in a type-1 diabetes *mellitus* animal model.

Felipe Fagundes Leão¹, Ana Paula Waltrick¹, Waldiceu Aparecido Verri Junior²; Joice Maria da Cunha¹, Janaina Menezes Zanoveli^{1*}

¹ Laboratory of Neuropsychopharmacology, Department of Pharmacology, Biological Sciences Building, Federal University of Paraná, Rua Coronel H. dos Santos S/N, P.O. Box 19031, Curitiba, Paraná, 81540-990, Brazil

² Laboratory of Pain, Inflammation, Neuropathy, and Cancer, Department of Pathology, Londrina State University, Rod. Celso Garcia Cid KM480 PR445, CEP 86057-970, Cx Postal 10.011, Londrina, Parana, Brazil.

*Corresponding author: Janaina Menezes Zanoveli (address above)

Fax: +55 41 3226 2042; Phone: +55 41 3361 1717

E-mail: janaina.zanoveli@ufpr.br

Abstract

Rationale Type-1 diabetes *mellitus* (T1DM) is a chronic disease related to a persistent inflammatory process reaching the central nervous system, which leads to psychiatric comorbidities such as depression and anxiety. Since the treatment of these comorbidities is a great challenge, the search for new therapeutic agents effective in alleviating the psychiatric condition associated with T1DM, without harming the diabetic condition itself, becomes important.

Objectives Considering the inflammatory aspect of T1DM, we aimed to evaluate in an animal model of T1DM the therapeutic potential of a specific specialized pro-resolution lipid mediator (SPM), the resolvin D5 (RvD5), on behaviors related to depression and anxiety. Moreover, its effects on the neuroinflammatory process in two brain areas that are important in the mediation of emotional responses, the hippocampus (HIP) and prefrontal cortex (PFC).

Methods After experimental T1DM induction, animals were treated for 23 days with RvD5 (1, 3 e 10 ng/animal), antidepressant fluoxetine (FLX, 10 mg/kg), nonsteroidal anti-inflammatory ibuprofen (IBU, 30 mg/kg), or vehicle and submitted to the following behavioral tests: elevated plus maze, open field and modified forced swim tests. In the end, HIP and PFC samples were processed to analyze the pro-inflammatory cytokine IL-1 β levels.

Results RvD5 treatment disrupted the more pronounced anxious-like and depressive-like behaviors of T1DM animals and improved the diabetic condition, by increasing the weight gain and reducing the blood sugar levels. Additionally, it reduced the increased level of pro-inflammatory cytokine IL-1 β in the HIP and PFC of these animals.

Conclusions RvD5 presents the therapeutic potential to treat anxiety and depression associated with T1DM. This potential may be related to the characteristics of this mediator in protecting tissue damage, as demonstrated in this study by its pro-resolutive action on neuroinflammation in the HIP and PFC.

Keywords Streptozotocin, fluoxetine, ibuprofen, elevated plus maze, forced swim test, inflammation, specialized pro-resolution lipid mediators.

Introduction

Type-1 diabetes mellitus (T1DM) is defined as a heterogeneous and chronic metabolic disorder occurring with different prevalence across countries (IDF, 2019), leading to major damage, failures, and dysfunctions in different tissues of the body, including the central nervous system (Alan et al., 2014; Zanolini et al., 2016; IDF, 2019). In this sense, studies conducted in animal models of T1DM demonstrate that there are several related pathological processes, like increased oxidative stress with consequent neuroinflammation in brain areas important to the control of emotions, such as the hippocampus (HIP) and prefrontal cortex (PFC) (Vargas et al., 2012; Ho et al., 2013; Pamidi and Satheesha 2013; De Moraes et al., 2014; da Silva Dias et al., 2016; Zhao et al., 2016; Pereira et al., 2018). Furthermore, impaired function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neurochemical imbalance, and decrease in the synthesis of neurotrophic factors, such as the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) are also reported (Beauquis et al., 2008; da Silva Dias et al., 2016; Redivo et al., 2016; Hammadi et al., 2018). As a result, emotional behaviors are affected, that is, more pronounced anxious-like and depressive-like behaviors are observed in T1DM animals. In this context, clinical evidence turns in the same direction demonstrating a greater prevalence of neuropsychiatric disorders such as major depressive disorder and anxiety in T1DM patients, when compared to healthy people (Buchberger et al., 2016; Zanolini et al., 2016; Nefs et al., 2019; Nguyen et al., 2020).

Of particular interest to this study, neuroinflammation is characterized by an increase in pro-inflammatory cytokines in the central nervous system. This pathological process leads to chronic inflammation which is present in different conditions, such as depression, anxiety, and also in the T1DM. It is important to note that several reports are describing the highest prevalence of depression in diabetic individuals with immune system dysfunctions (for a review see Badescus et al., 2016; Herder et al., 2017; Hood et al., 2012). For example, Hood et al (2012) demonstrated that diabetic patients with depression had a significant increase in pro-inflammatory markers, such as lipoprotein A, a lipoprotein capable of activating macrophages and monocytes and also increasing the production of pro-inflammatory cytokines (Orsó and Schmitz, 2017). This evidence corroborates the relation between metabolic and inflammatory processes (Hood et al., 2012). It is also known that chronic inflammation can occur due to a failure to resolve its acute phase. This process is

performed by specialized lipid pro-resolving mediators (SPM), derived from omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), such as docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA).

The PUFAs have been extensively studied under various conditions and there is no surprise that omega-3 supplementation, which is the precursor of D-series resolvins, presents antioxidant and anxiolytic/antidepressant actions, as well pro-resolutive action of inflammation (Vines et al., 2012; Su et al., 2014; Wu et al., 2016; Redivo et al., 2016; Siba et al., 2017; Delattre et al., 2017; Kim et al., 2020; Wolters et al., 2021). It is important to point out that D-series Resolvins (RvD) are SPM synthesized from DHA, the most abundant PUFA in the brain, and comprise a group of six isomers (Serhan and Levy, 2018; Abdolmalek, 2020; Park et al., 2020). More specifically, the resolvin D5 (RvD5) is derived from an epoxide of DHA via a reaction involving lipoxygenases in polymorphonuclear neutrophils and macrophages (Chiang and Serhan, 2017; Park et al., 2020). Preclinical studies have shown important beneficial effects with the use of RvD5 in different tissues. Gobetti e coworkers (2017) demonstrated that RvD5 protected mice against experimentally induced colitis, prevented local and systemic inflammation after intestinal ischemia/reperfusion, and regulated endothelial-neutrophil interactions. Furthermore, it was reported that RvD5 promoted antiarthritic actions, by accelerating the resolution of bacterial infections (Flack et al., 2020), along with a reduction in formalin-induced spontaneous pain and inhibition of the mechanical allodynia in male mice (Lou et al., 2019). Despite all this evidence, there is still no study demonstrating the effects of RvD5 treatment on the brain and emotional behaviors, which highlights the importance of the present study.

Interestingly, beneficial effects on depressive-like behaviors induced by chronic stress or lipopolysaccharide have been demonstrated after intracerebroventricular infusions of two other series-D resolvins, the D1 and D2 (Deyama et al., 2017; Ishikawa et al., 2017). It is noteworthy that despite few studies, a personalized therapy with these n-3 PUFAs-derived metabolites in the treatment of psychiatric, neurodegenerative, and neurological conditions has been recently discussed and it has shown to be very promising (for a review see Giacobbe et al., 2020). Therefore, considering the severity of the psychopathologies associated with T1DM, our study was addressed to investigate the effects of continuous treatment (3 weeks) with RvD5 on depressive- and anxious-like behaviors in an animal model of T1DM. In

addition, we evaluated whether this treatment would be able to suppress the inflammation process by evaluating the level of the proinflammatory cytokine IL-1 β in the HIP and PFC of these diabetic animals.

Material and Methods

Animals

Experiments were carried out on male *Wistar* rats (180-220g) from the animal facility of Federal University of Parana (UFPR). Animals were maintained in groups of 4 per cage (41 x 32 x 16.5 cm) at constant room temperature (21 +/-2°C) under standard lighting conditions 12/12 h light/dark cycle (lights on 7 am) with free access to water and food. All experiments were carried out during the light phase between 07 am - 01 pm. The experiments were performed in the accordance with the recommendations of the Commission of Ethics in Animal Experimentation of UFPR (approval certificate #1260), with the consistency of ethical principles of the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). All efforts were made to minimize the number of animals used and their suffering.

Drugs

Streptozotocin (STZ; Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA), sodium citrate (Merck SA Indústrias Farmacêuticas, São Paulo, São Paulo, Brazil), Resolvin D5 (RvD5; Cayman Chemical Company, Michigan, USA). The antidepressant Fluoxetine (FLX; EMS S/A, Hortolândia, São Paulo, Brazil) and the nonsteroidal anti-inflammatory Ibuprofen (IBU; SIGMA-ALDRICH, St. Louis, MO, USA) were used as positive controls. STZ (60 mg/kg) was freshly dissolved in sodium citrate buffer (10 mM; pH 4.5), while FLX (10 mg/kg; i.p.), IBU (30 mg/kg; p.o.) and RvD5 (1, 3 or 10 ng/animal; i.p.) was diluted in 200 µL of sterile saline (0.9% NaCl), which also was administered as a control for induced-T1DM animals without treatment. All doses were prepared immediately before to administration and according to previous studies and pilot studies (da Silva Dias et al. 2016; Deyama et al. 2017).

Type-1 Diabetes mellitus (T1DM) induction

The experimental T1DM was induced in 12 hours-fasted animals by a single intraperitoneal (i.p.) injection of STZ (60 mg/kg). Normoglycemic (NGL) animals received a single intraperitoneal (i.p.) injection of its vehicle (VEH), the citrate buffer (10mM, pH 4.5). The induced-T1DM (STZ) condition was confirmed 72 hours after the STZ injection using blood samples from the tail vein (5 µL) added to test strips

impregnated with glucose oxidase (Accu-Check Active™, Roche). The rats with blood glucose levels equal or superior to 250 mg/dL were considered STZ and were kept in the study (De Moraes et. al. 2014; Da Silva Dias et. al. 2016; Chaves et. al 2021).

Elevated Plus Maze (EPM) Test

The EPM is widely used to evaluate drugs with anxiolytic-like profile (Pellow et al. 1995). The apparatus consisted of two open arms and two enclosed arms in the perpendicular position with the same dimensions (50 x 10 x 40 cm), elevated 50 cm above the floor. Both arms were extended from a central platform (10 cm²). After habituation in the experimental room for at least 1 hour, each animal was gently placed in the central platform facing a closed arm during 5 min. After each experimental session, the maze was cleaned with 20% ethanol solution. Rodents naturally avoid the open arms of the EPM, and anxiolytic compounds typically increase the exploration in these arms without changing the number of enclosed arm entries (Pellow et. al. 1985). Thus, as anxiety index, we evaluated the spatiotemporal measurements (open arm time and entries) in percentage: percentage of open arm entries (%OAE = $100 \times \text{open arm entries} / \text{total entries}$) and percentage of time spent on the open arms (%OAT = $100 \times \text{time spent on open arms} / [\text{time spent on open arms} + \text{time spent on closed arms}]$). As index of locomotor activity, the frequency of entry in the enclosed arms was quantified. The percentages are in relation to the total number of entries (open arms entries + enclosed arms entries).

Given that spatiotemporal measurements in the EPM test are sensitive to the effects of drugs that act through different mechanism of action (Griebel et al. 1997; Silva and Brandão 2000), and that the inclusion of measures can favor or increase the sensitivity of the effects of drugs, we evaluated some ethological items, that were: rearing, risk assessment (RA) and head dipping (HD). These categories were defined according to previous studies (Cruz et al. 1994; Silva and Brandão 2000) as follows: rearing – rising on the hind limbs; HD – exploratory movement in open arms, so that the animal projects the head of the maze toward the floor; and RA – exiting an enclosed arm with the forepaws and head, and investigating the surroundings (this behavior was often, but not necessarily, accompanied by body stretching, that is, the animal stretches to its full length and turns back to the anterior position). The anxiolytic-like effect is considered when the frequency of the RA decreases and the

HD frequency increases (Cruz et al. 1994; Silva and Brandão 2000). The rearing frequency has been considered as an index more related to the exploratory/locomotor activities (Cruz et al. 1994).

Modified Forced swimming Test (mFST)

The mFST was used for evaluating the antidepressant-like effects of the treatments. The apparatus consists of a plastic cylinder (20 cm x 50 cm) that contained 30 cm of water at 24 ± 1 °C. Firstly, the animals were placed within apparatus for 15 minutes (pre-test session). After 24 hours, the animals were submitted to a test session (5 minutes) in which the predominant behavior expressed by the animal for each 5 seconds was quantified as immobility (passive behavior), swimming or climbing, two active behaviors. Immobility is characterized by the absence of movement of the animal, except for a few movements to float and keep the head out of the water. Swimming is characterized by active movements of the animal in the cylinder with water and climbing is characterized by movements of the animal's paws towards the cylinder walls, indicating an attempt to escape of the apparatus. After the pre-test and test sessions, the animals were removed from the water, dried, and returned to their home cages. The water from the cylinders was changed at each session to avoid interference between the animals (Porsolt et al. 1978; Detke et al. 1995; Cryan et al. 2002; Chaves et al. 2020).

Open Field (OF) test

The OF test was used for evaluating the locomotory/exploratory activity of the animals. The apparatus consists of a rectangular arena (40 x 50 x 63 cm) with nine quadrants on the floor. For the session, the animals were placed kindly at the central area and the locomotion was counted when the four legs invaded a different quadrant. Furthermore, the frequency of the entries in the central area and of rearing behavior (when the rodent explores vertically the arena using two posterior paws) was quantified. After each experimental session, the apparatus was cleaned with 20% ethanol solution. (de Morais et al. 2014; da Silva Dias et al. 2016; Chaves et al. 2020).

Quantification of Proinflammatory Cytokine IL-1 β in the hippocampus (HIP) and prefrontal cortex (PFC) by ELISA

The animals were sacrificed by decapitation and the HIP and PFC were dissected and immediately stored at -80 °C. Samples were processed by maceration in PBS containing protease inhibitor cocktail (Pierce Thermo Fischer), and centrifuged at 10,000 rpm (10 min) at 4 °C. The supernatant was used to evaluate the IL-1 β levels according to the manufacturer's protocols (#88-6010; Thermo Fischer/Invitrogen, Waltham, MA, USA). Briefly, 96-well plates were coated with 100 μ L/well of antibody against the rat IL-1 β (1:250) and incubated overnight at 4°C. After washing the plates with PBS/Tween 20 (0.05 % Sigma), the non-specific binding was blocked for 60 min at room temperature with 200 μ L of ELISA/ELISPOT. After properly washed, both samples and standards were added on the wells and incubated for 2 h. After this period, plates were washed again with PBS/Tween and the plates were incubated with the detection antibody for 60 minutes. Next, plates were washed again and the avidin-HRP (1:250) was added to each well. After 30-min incubation, the plates were washed with PBS/Tween and 100 μ L of tetramethylbenzidine substrate solution (TMB) was added. The plates were then incubated for 15 min at room temperature. The reaction was stopped with 50 μ L of 2M H₂SO₄ and the optical density measured at 450 nm on a spectrophotometer (Spectra Max 250, Molecular Devices). The results were expressed as picograms/mg of total protein measured by the Bradford method (da Silva Dias et al. 2016)

Experimental procedures

All experimental sessions were recorded using a Sony® action cam 4 K for posterior analysis.

The animals were divided into two main groups: normoglycemic (NGL) and induced-T1DM (STZ). The NGL group was treated only with vehicle and served as a control group for the induced-T1DM condition. In turn, the STZ animals were divided into 6 subgroups according to the treatment: vehicle (VEH), Fluoxetine (FLX; 10 mg/kg, i.p.), Ibuprofen (IBU; 30 mg/kg, p.o.) and Resolvin D5 (RvD5; 1, 3 or 10 ng/animal; i.p.). All treatments started on day 07 (after confirmation of T1DM induction) and continued until the day 30. For the RvD5 treatment, the injections occurred always on alternate days, and in the drug-free day the animal received injection from its VEH. The other drugs were administered daily. On the day of the experimental tests, all treatments were carried out after the tests were completed. Thus, four weeks after the T1DM confirmation in rats, on the 28th day, the EPM was

performed. To minimize interference between tests; two days after, the pre-test of mFST was performed (30th day). Finally, in the following day and immediately after OF test, the mFST was performed. After these behavioral tests, animals were euthanized, and the HIP and PFC were collected and stored at freezer (-80 °C). The blood glucose (BG) and body weight (BW) were measured on days 0 and 31 (see below in the Figure 1 the schematic representation of experimental procedures). The weight gain was calculated by subtracting the BW taken on day 31 from the BW taken on day 0.

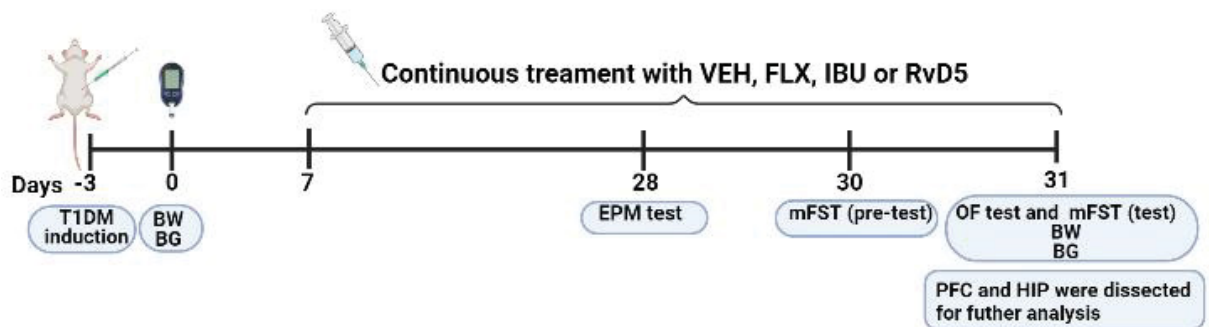


Fig. 1 – Timeline of experimental procedures. T1DM = Type-1 diabetes mellitus, BG = Blood glucose; BW = Body weight; VEH = Vehicle; FLX = Fluoxetine; IBU = Ibuprofen; RvD5 = Resolvin D5; mFST = Modified forced swim test; OF = Open field; EPM = Elevate plus maze; PFC = prefrontal cortex; HIP – hippocampus. *Created with BioRender.com.

Statistical analysis

Shapiro-Wilk normality test was used for determinate the distribution profile (Gaussian curvature). As the normality criteria was confirmed, the data are expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). It is important to mention that the number of animals are not identical between all groups because some (few) losses of animals with induced-T1DM occur. Thus, the final sample n of the groups for the behavioral tests are: NGL-VEH (n=8), STZ-VEH (n=6), STZ-FLX (n=7), STZ-IBU (n=7), STZ-RvD5 1 (n=8), STZ-RvD5 3 (n=8), STZ-RvD5 10 (n=8). To perform ELISA for cytokine dosage, the sample number was 6/group. In all analysis, the *t*-student test was used to compare the two groups (NGL and STZ) of animals treated

with VEH. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare all treated-STZ animals, considering as an independent factor the different treatments. When appropriate, the Newman-Keuls' *post hoc* test for multiple comparison analysis was used. The adopted significance level was 5%. GraphPad Prism 7.0 software for Windows (San Diego, CA, USA) was used for the data analysis.

Results

Prolonged treatment with RvD5 induced anxiolytic-like effect in induced-T1DM animals when submitted to EPM test.

The *t*-Student test revealed a more pronounced anxious-like behavior of STZ animals compared to NGL (treated with VEH) on the % of time spent in open arms [$t=4.2$ $df=12$; $p<0.05$; Fig. 2A] and % of frequency of the open arms entries [$t=3.73$ $df=12$; $p<0.05$; Fig. 2B], but not on frequency of the enclosed arms entries [$t=1.46$ $df=12$; $p>0.05$; Fig. 2C]. In relation to the exploratory activity (Fig. 2D-E), *t*-Student test showed a reduction in these activities [head dipping - $t=5.312$ $df=12$; $p<0.05$; rearing - $t=3.653$ $df=12$; $p<0.05$; and risk assessment - $t=5.101$ $df=12$; $p<0.05$], highlighting this pronounced anxious-like behavior of STZ animals compared to NGL. Among treated STZ animals, one-way ANOVA revealed difference between groups when classical parameters were evaluated [% time spent in open arms: $F(5, 38) = 5.775$; $p<0.05$; and % frequency of the entries in the open arms: $F(5, 38) = 15.12$; $p<0.05$]. On the other hand, one-way ANOVA did not show any difference when the frequency of the enclosed arms entries was evaluated [$F(5, 38) = 2.465$; $p>0.05$]. About exploratory activity, one-way ANOVA revealed difference between groups [head dipping: $F(5, 38) = 5.806$; $p<0,05$; risk assessment: $F(5, 38) = 4.269$; $p<0.05$ and rearing: $F(5, 38) = 3.67$; $p<0,05$]. The multiple comparison Newman-Keuls test revealed anxiolytic-like effect when all treatments were employed ($p<0.05$) on two classical parameters (the % of time spent in the open arms and the % of frequency of entries into them). Also, FLX and RvD5 (3 and 10 ng/animal) treatment induced an anxiolytic-like effect when head dipping was analyzed ($p<0.05$). The reduced risk assessment from STZ animals was also changed after these treatments, including IBU treatment ($p<0.05$), *i.e.* these treatments increased the frequency of this behavior. Regarding to rearing frequency, only FLX was able to increase this behavior in the STZ animals ($p<0.05$).

Fig. 2 Effect of the prolonged treatment with Resolvin D5 (RvD5, 1, 3 or 10 ng/animal, i.p.), vehicle (VEH, i.p), ibuprofen (IBU, 30 mg/kg, p.o.) or fluoxetine (FLX, 10 mg/kg, i.p.) on % time spent in the open arms (A), % frequency of open arms entries (B), number of enclosed arms entries (C) and exploratory activity: head dipping (D), rearing (E) and risk assessment (F) in induced-T1DM (STZ) or normoglycemic (NGL) animals submitted to EPM test. Values were expressed as mean \pm S.E.M (n=6-8). *p<0.05 when compared to NGL/VEH; #p<0.05 when compared to STZ/VEH

Prolonged treatment with RvD5 induced antidepressant-like effect in induced-T1DM animals submitted to the mFST.

The *t*-Student test revealed a more pronounced depressive-like behavior in STZ animals treated with VEH, when compared to VEH-treated NGL animals, on the immobility [$t=4.43$ df=12; $p<0.05$; Fig. 3A], swimming [$t=2.65$ df=12; $p<0.05$; Fig. 3B] and climbing [$t=3.74$ df=12; $p<0.05$; Fig. 3C] frequencies. The one-way ANOVA also showed that the treatments among STZ animals were significantly different when immobility [$F(5, 38) = 5.05$; $p<0.05$] and swimming [$F(5, 38) = 2.83$; $p<0.05$], but not climbing [$F(5, 38) = 1.97$; $p>0.05$], frequencies were analyzed. The Newman-Keuls test showed that all treatments were able to attenuate the depressive-like behavior of these STZ animals by reducing the immobility and increasing the swimming frequencies ($p<0.05$), without changing climbing frequency.

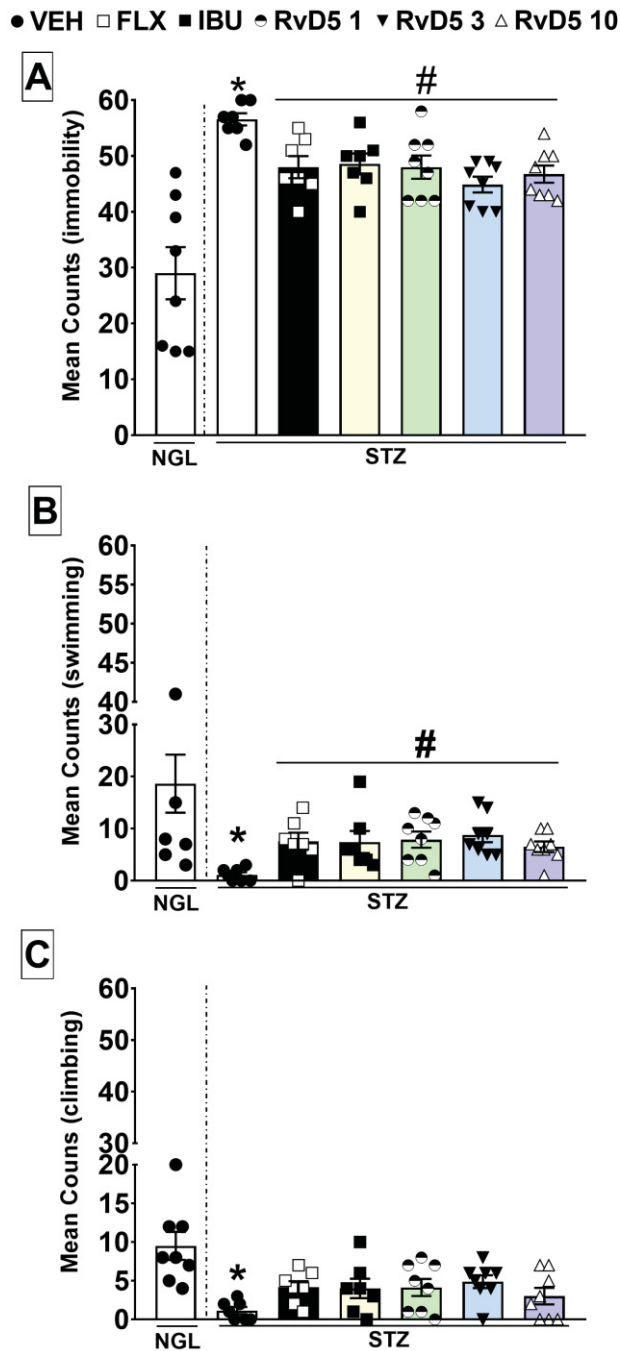


Fig. 3 Effect of the prolonged treatment with Resolvin D5 (RvD5, 1, 3 or 10 ng/animal, i.p.), vehicle (VEH, i.p.), ibuprofen (IBU, 30 mg/kg, p.o.) or fluoxetine (FLX, 10 mg/kg, i.p.) on immobility (A), swimming (B) or climbing (C) frequencies in induced-T1DM (STZ) or normoglycemic (NGL) animals submitted to mFST. Values were expressed as mean \pm S.E.M (n=6-8). * $p < 0.05$ when compared to NGL/VEH; # $p < 0.05$ when compared to STZ/VEH. Prolonged treatment with RvD5 did not alter locomotor activity of STZ animals but induced anxiolytic-like effect when animals were evaluated in the OF test.

Prolonged treatment with RvD5 did not alter locomotor activity of induced-T1DM animals but induced anxiolytic-like effect when animals were evaluated in the OF test.

The *t*-Student test revealed differences between the NGL and STZ animals treated with VEH on the number of crossings [$t=4.09$ $df=12$; $p<0.05$; Fig. 4A], and frequencies in the center area [$t=6.04$ $df=12$; $p<0.05$; ; Fig. 4B] and of rearing [$t=4.07$ $df=12$; $p<0.05$; Fig. 4C]. These results indicate that STZ animals present an anxious-like behavior (decreased frequency in the central area and of rearing) compared to NGL animals, as well as a decrease in the locomotor activity (decrease in the number of crossings). However, in treated-STZ animals, the one-way ANOVA analysis showed differences on the frequency in the central area [$F(5, 38) = 5.618$; $p<0.05$] and of rearing [$F(5, 38) = 6.039$; $p<0.05$], but not on crossings number [$F(5, 38) = 3.722$; $p<0.05$]. The Newman-Keuls test revealed that all treatments were able to increase the frequency in the central ($p<0.05$) while only the treatment with RvD5 significantly increased the frequency of rearing ($p<0.05$), indicating an anxiolytic-like effect. No treatment changed the decreased number of crossings of STZ animals ($p>0.05$).

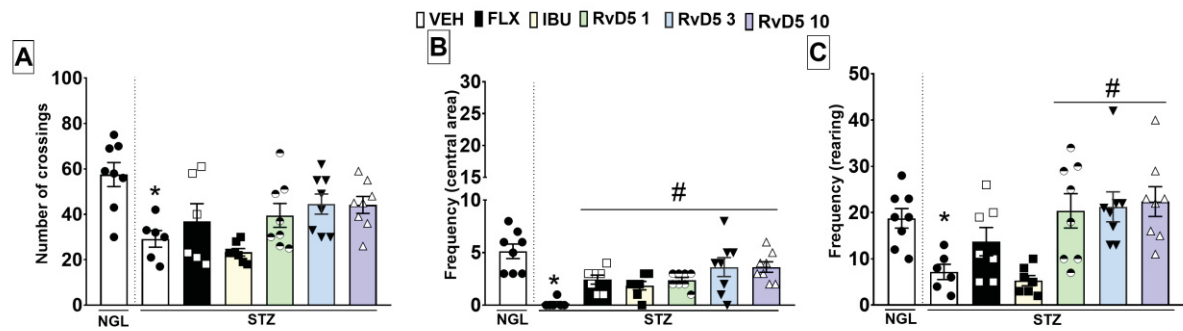


Fig. 4 Effect of the prolonged treatment with Resolvin D5 (RvD5, 1, 3 or 10 ng/animal, i.p.), vehicle (VEH, i.p.), ibuprofen (IBU, 30 mg/kg, p.o.) or fluoxetine (FLX, 10 mg/kg, i.p.) on the number of crossings (A), frequency in the central area (B) and frequency of rearing (C) in induced-T1DM (STZ) or normoglycemic (NGL) animals submitted to OF test. Values were expressed as mean \pm S.E.M (n=6-8). * $p < 0.05$ when compared to NGL/VEH; # $p < 0.05$ when compared to STZ/VEH

Prolonged treatment with RvD5 decreased the inflammatory cytokine IL-1 β levels in HIP and PFC measured for ELISA assay

The *t*-Student test revealed differences between the NGL and VEH groups in the amount of inflammatory cytokine IL-1 β in both HIP [t=2.794 df=10; $p < 0.05$] and PFC [t=2.727 df=10; $p < 0.05$]. These results shown the pronounced neuroinflammation in diabetic animals compared to normoglycemic group ($p < 0.05$). For the treatment of the diabetic animal, one-way ANOVA revealed difference in the amount of inflammatory cytokine IL-1 β between groups in both brain structures: HIP [F (5, 30) = 3.079; $p < 0.05$] and PFC [F (5, 30) = 7.228; $p < 0.05$]. The Newman-Keuls test showed that all treatments were able to decrease the neuroinflammation in the HIP and PFC when the IL-1 β , an important cytokine present in inflammatory processes, was quantified ($p < 0.05$). Statistically it was shown that the higher dose of RvD5 administered (10 ng/animal) was able to induce a more expressive reduction of the amount of IL-1 β in the PFC when compared to the anti-inflammatory IBU and the antidepressant FLX ($p < 0.05$).

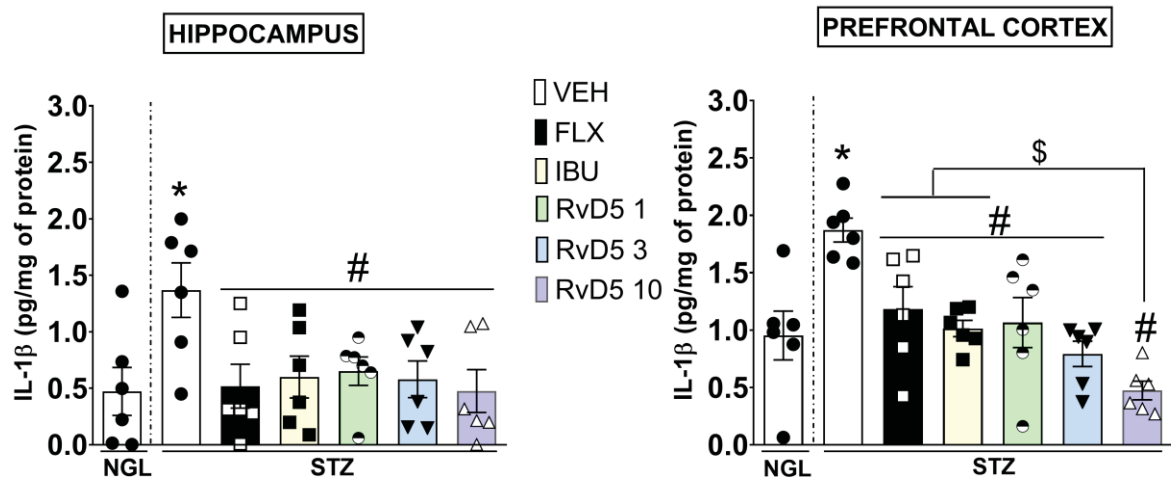


Fig. 5 Effect of the prolonged treatment with Resolvin D5 (RvD5, 1, 3 or 10 ng/animal, i.p.), vehicle (VEH, i.p), ibuprofen (IBU, 30 mg/kg, p.o.) or fluoxetine (FLX, 10 mg/kg, i.p.) on inflammatory cytokine IL-1 β levels in the hippocampus and prefrontal cortex from induced-T1DM (STZ) or normoglycemic (NGL) animals. Values were expressed as mean \pm S.E.M (n=6). * p <0.05 when compared to NGL/VEH; # p <0.05 when compared to STZ/VEH; \$ p <0.05 when compared to FLX and IBU groups

Prolonged treatment with RvD5 increased the weight gain and reduced the high levels of glycemia of diabetic animals

The *t*-Student test revealed differences between the NGL and STZ groups treated with VEH on the weight gain [$t=5.498$ $df=12$; $p<0.05$] and glycemia [$t=29.14$; $df=12$; $p<0.05$], showing increased blood glucose and reduced weight gain in STZ animals. The one-way ANOVA showed differences of the treatments on weight gain [$F(5, 38) = 4.386$; $p<0.05$] and glycemia [$F(5, 38) = 4.44$; $p<0.05$]. The Newman-Keuls *post hoc* test showed that only the treatment with the highest dose of RvD5 presented significant results in improving both parameters ($p<0.05$), *i.e.*, reducing glycemia and increasing the weight gain from STZ animals.

Table 1 Effect of the prolonged treatment with Resolvin D5 (RvD5, 1, 3 or 10 ng/animal, i.p.), vehicle (VEH, i.p), ibuprofen (IBU, 30 mg/kg, p.o.) or fluoxetine (FLX, 10 mg/kg, i.p.) on the parameters of glycemia and weight gain in normoglycemic (NGL) or induced-T1DM (STZ) animals

Treatments	Glycemia (mg/dL)	Weight gain (g)
NGL/VEH	98.9 ± 1.1	140.9 ± 18.6
STZ/VEH	542.8 ± 17.7*	-5.6 ± 10.9*
STZ/FLX	491 ± 20.4	8.2 ± 9.2
STZ/IBU	565.9 ± 11.7	10.5 ± 10.1
STZ/RvD5 1	504.4 ± 23.7	38 ± 7.0
STZ/RvD5 3	529.8 ± 23.2	47.2 ± 6.7
STZ/RvD5 10	447.3 ± 17.7#	61.6 ± 17.0#

Values were expressed as mean ± SEM of 6-8 animals/experimental group.
 *p < 0.05 when compared to NGL/VEH; # p < 0.05 when compared to STZ/VEH.

Discussion

The major findings of the present study are that continuous treatment with RvD5 (all doses) disrupts the anxious-like and depressive-like behaviors in rats with induced-T1DM (STZ animals). These beneficial effects may be related to its pronounced protective action once that RvD5 was able to induce a neuroprotective effect in the HIP and PFC of this T1DM by reducing the increased IL-1 β levels in these brain areas. This is the first study demonstrating the therapeutic potential of this D5-series resolvin for the treatment of psychiatric comorbidities associated with T1DM. Importantly, this treatment did not impair the overall diabetic condition, on the contrary, it minimized by improving the reduced weight gain and decreasing the increased glycemic levels of these animals, with high dose.

Our data related to anxiety-like behaviors obtained after the spatiotemporal analysis in the EPM and OF test are in accordance with previous findings (Ates et al. 2014; Damián et al. 2014; Gambeta et al. 2015; Siba et al. 2017; Pereira et al. 2018), showing that STZ animals present a more pronounced anxious-like behavior by reducing the percentual of the time spent and the number of entries in the open arms (EPM test) and decreasing rearing and central area frequencies (OF test). Interestingly, the prolonged treatment with RvD5 disrupts the anxious-like behavior of these STZ animals evaluated in these anxiety-related tests. It seems this treatment restored the behavior to a level comparable to that of NGL animals.

Regarding ethological measures obtained from the EPM test, the most concise data were with the behavior of HD. Thus, untreated-STZ animals showed a reduction in this behavior, consistent with a more anxious-like behavior (Cruz et al. 1994; Silva and Brandão 2000). In this situation, the animal tends to avoid potentially dangerous situations such as the exploration of the open and elevated space of the EPM. As expected, treatment with FLX and with RvD5 (all doses) induced a clear increase in this behavior, indicating an anxiolytic-like effect. Concerning Risk Assessment (RA) behavior, studies indicate that RA is a behavior that is very present in potentially dangerous situations (Blanchard et al. 1993). Moreover, this behavior is considered by some researchers a valuable tool to measure more precisely emotional reactivity in rodents (Roy and Chapillon 2004; for a review see Carobrez and Bertoglio 2005). The fact is that there are several apparently contradictory data suggesting that this measure in addition to other ethological measures are sensitive to changes that depend on the drug class, including its mechanism of action, and the animal's stress

level (Cole and Rodgers 1993; Rodgers and Cole 1993; Griebel et al. 1997). In this sense, our data show a decrease in the frequency of RA in T1DM rats. Interestingly, FLX and RvD5 treatments induced an opposite effect. This apparently contradictory result observed in T1DM animals may be due to the diabetic condition of the animal, once studies demonstrate these STZ animals present a dysregulation of the neurotransmitter dopamine, an important neurotransmitter in mediating motivational and rewarding behaviors (Lin et al. 2018; Pérez-Taboada et al. 2020). Consequently, this imbalance can precipitate a decrease in the motivation of these animals, altering exploratory activities, including locomotion.

Another important point is that our analysis of RA encompassed several other behaviors that in many studies are assessed separately and named RA. That is, we consider RA when the animal is in the closed arm and explores the surroundings, and we do not discriminate between body stretching (stretched-attend posture) and when the animal stretches to its full length and cautiously moves forward (flat-back approach). So, a more discriminative analysis could have given us a different result. However, it is noteworthy that in our most complete analysis of RA, the treatments were able to induce an opposite effect to that observed in untreated-STZ rats, indicating that the treatments induced some effect, which according to all other analyses, may be associated to the anxiolytic-like effect.

Concerning the rearing frequency, this is one of the ethological measures that are less sensitive in the analysis of anxiety behavior itself, as well as in the effect of drugs, especially anxiolytic drugs (Griebel et al. 1997; Silva and Brandão 2000). This analysis has been considered more related to exploratory and/or locomotor activity (Cruz et al. 1994). Considering the low sensitivity of this measure in detecting anxiolytic-like effects in the EPM test (Griebel et al. 1997; Silva and Brandão 2000), our data after the RvD5 treatment corroborate it. However, after continuous treatment with FLX, our data showed an increase in rearing in STZ animals, a result different from that obtained in the study conducted by Silva and Brandão (2000) who did not observe any alteration in the rearing of animals submitted to the EPM test (non-diabetics) after prolonged treatment with FLX. Interestingly, in the OF, there is a reduction in the rearing frequency and in the number of crossings in the OF test, which may reflect more the animal's emotional state than a locomotor change, since the number of entries in the closed arms of the EPM was not changed. Interestingly, in the OF test, the results were the opposite, that is, the treatment with RvD5

increased the rearing and FLX did not change this measure. Some possible explanations for these different results, in addition to the low sensitivity of this measure to assess anxiety, is that the animal's condition factor - whether or not they are induced-T1DM - may have influenced. Moreover, these differences in the tests – EPM and OF - may have occurred due to differences between the aversiveness of each apparatus, which may therefore change the sensitivity of the analysis (Carobrez et al. 2005). Here, it is important to mention that treatments with control drugs for the depressive and inflammatory condition, FLX and IBU, respectively, also induced anxiolytic-like effects. Thus, from these observations, we cannot infer that treatment with RvD5 would have some advantage over its controls. However, it is important to point out that this is the first study to demonstrate the anxiolytic-like effects of prolonged treatment with RvD5 in an animal model of T1DM.

Unlike what was observed after RvD5 treatment on anxiety parameters, the treatments (all treatments) were able to attenuate, but not restore, the more pronounced depressive-like behavior of T1DM animals when submitted to the mFST. Here, it is important to highlight some differences between the tests. While the EPM uses the fear of these animals for open and elevated spaces as a source of danger, generating a conflict in these animals between exploring potentially dangerous spaces (open arms) or not (closed arms), the mFST uses prior stress, that is, the animals are pre-exposed to a forced swim for 15 minutes before the test, which generates a behavioral despair condition. The correlated emotions are anxiety (EPM) and depression (mFST). Interestingly, it is known that patients with major depression respond later to treatments compared to those affected by anxiety disorders. Thus, as these are different conditions, the treatment time may not have been enough to reverse the depressive-like behavior. Although the effect observed after treatment with RvD5 in attenuating the depressive-like behavior of STZ animals is similar to the effect observed after treatment with FLX or IBU, these data were the first to demonstrate this antidepressant profile of RvD5 in this animal model of T1DM. Interestingly, the treatments (IBU, FLX, and RvD5) induced an antidepressant-like effect by decreasing the frequency of immobility and increasing the frequency of swimming, but without changing the frequency of climbing. These results are not surprising since previous studies conducted in this animal model of T1DM have already demonstrated that IBU, FLX, and PUFAs compounds act directly or indirectly by preferentially facilitating the serotonergic system (da Silva Dias et al. 2016; Redivo

et al. 2016; Kim et al. 2020). And, given that increased swimming frequency is related to increased serotonergic neurotransmission (for a review see Cryan et al. 2002; Slattery and Cryan 2012), we can suggest that the SPM RvD5 also acts preferentially favoring serotonergic system. It is worth mentioning that an antidepressant-like effect has already been demonstrated in studies conducted with other two resolvins of D-series, the resolvins D1 and D2 (Ishikawa et al. 2017; Deyama et al. 2017). In these studies, conducted in non-STZ animals, the animals received a single intracerebroventricular infusion of resolvin D1 or D2 that was adequate in attenuating the lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors or induced by chronic unpredictable stress when mice were submitted to two tests, the tail suspension test and forced swim test. Important to mention that Deyama and coworkers (2017) also demonstrated this antidepressant-like effect when resolvin D1 or D2 was administered bilaterally into the PFC or the HIP, indicating the involvement of these brain areas in the beneficial effect induced by these resolvins.

It is noteworthy that, in the present study, the prolonged treatment with RvD5 was carried out every other day and this does not seem to be a factor that has interfered with its beneficial action. It is known that the half-life of these lipidic mediators is quite short, ranging from seconds to minutes; however, they generally act locally in an autocrine or paracrine manner by binding to receptors on responsive cell types. For example, Gundala and colleagues (2017) showed that lipoxin A4 intraperitoneally injected enhanced plasma levels of lipoxin A4 until the end of the study's period of 30 days (they injected only for the first 5 days of the study's period). Thus, the authors implied that these bioactive lipids may have the ability to enhance their synthesis in an autocrine fashion (see also Bathina et al. 2020, 2021). Based on this premise, it is likely that even in the present study plasma and brain levels of another D-series resolvin, the RvD5 may have been enhanced in an autocrine fashion. But this needs to be confirmed in future studies.

Here, it is important to emphasize that many of the T1DM comorbidities, including psychiatric disorders, may be related to an increase in inflammatory processes both at the systemic and central levels (Basu et al. 2005; Hood et al. 2012; da Silva Dias et al. 2016; Orsó & Schmitz 2017; Muriach et al. 2014; Oliveira et al. 2016; Pugazhenti et al. 2017; Díaz-Gerevini et al. 2019). In this way, our group has already demonstrated an increase in pro-inflammatory cytokines in the 4th week after T1DM induction (da Silva Dias et al. 2016), along with a decrease in the BDNF levels

(Redivo et al. 2016) and an increase of oxidative stress in the HIP and PFC of these STZ animals (de Moraes et al. 2014; Pereira et al. 2018). Thus, the suppression of pro-inflammatory cytokines, for example, could improve or decrease the severity of T1DM and psycho-comorbidities. This was the rationale for the next experiment, also based on the demonstration that the anti-inflammatory metabolites of PUFAs, such as D-series resolvins, have already demonstrated properties of inflammation pro-resolution inducing neuroprotective actions (Das 2013; Krishnamoorthy et al. 2010; Serhan et al. 2008). Likewise, our data suggest the neuroprotective action of the prolonged treatment of a D-series resolvin. However, in the present study, this action was evaluated for the first time after the treatment with a D5-series resolvin (in all doses) in T1DM animals by demonstrating a significant reduction in IL-1 β levels in the HIP and PFC. The highest dose of RvD5 was able to restore levels to baseline compared to NGL animals. Interestingly, this neuroprotective action of the RvD5 treatment (at the highest dose) was superior in the PFC to that observed after treatment with the FLX and even IBU.

Given that increased pro-inflammatory cytokines occurs from the fourth week of T1DM induction (da Silva Dias et al. 2016), we could infer that having RvD5 treatment started on the seventh day after T1DM induction, this treatment could have a preventive role, somewhat, since a mild biological effect was observed on the diabetic condition itself by reducing the glycemia and improving the impaired weight gain of these animals. Thus, unlike controls IBU and FLX, the highest dose of RvD5 was able to reduce glycemia and improve the reduced weight gain of these STZ animals. Although no studies demonstrated the involvement of RvD5 in alleviating the damage caused by the persistent encephalopathy related to T1DM, other studies were conducted with other different lipid mediators. For example, Bathina and collaborators (2020, 2021) conducted two recent studies with RvD1 involving type-2 DM and T1DM. These studies showed that the treatment with RvD1 (60 ng/animal, injected for 5 consecutive days i.p.), in an animal model of type-2 DM, induced a neuroprotective action by modulating the PI3K/Akt/mTOR pathway, which is involved in inflammatory processes. Also, in the same animal model of T1DM used in the present study, the group demonstrated that RvD1 treatment (60 ng/animal, injected for 5 consecutive days from day 1 along with STZ for five consecutive days, i.p.), improved several parameters when animals were evaluated in the 4th week after diabetes induction, *i.e.*, reduced the severity of T1DM by restoring plasma levels of

pro-inflammatory markers and improving other important markers for psychiatric comorbidities associated with T1DM, such as BDNF and oxidative stress, for example.

Interestingly, as we observed after treatment with RvD5 (highest dose), the authors demonstrated that the treatment with RvD1 induced a gradual and sustained decrease in plasma glucose levels in treated-T1DM animals from the end of the 2nd week to the end of the study (4th week). Reinforcing this suggestion of protective action on pancreatic β -cells, Bathina et al (2021) also observed an increase in insulin secretion in addition to a decrease in resistance to insulin action. Moreover, this cytoprotective action on pancreatic β -cells has already been demonstrated in several studies in which the treatment was done with PUFAs (Suresh and Das 2003; Siba et al. 2017; Naveen et al. 2017) and at least, in part, this action seems to be mediated by the anti-inflammatory metabolites of PUFAs. Thus, taken together, it can be suggested that these D1 and D5 resolvins induce a gradual regeneration of pancreatic β -cells. However, it is noteworthy that systemic administration of compounds, as performed in our study, may have altered a series of peripheral inflammatory parameters, preventing the establishment of an intense inflammatory process, including in the CNS. Although RvD5 is a highly fat-soluble compound and can act directly on the CNS, its systemic pro-resolving action may also have contributed to the beneficial action on behavioral parameters and reduction of IL-1 β in the HIP and PFC. Evidence of this are the results observed after IBU treatment. The non-selective inhibition of the cyclooxygenase enzyme blocks the production of prostaglandins and, consequently, prevents the natural pro-resolution and healing process, exerting a peripheral anti-inflammatory effect. Thus, the central IL-1 β rates observed after treatment with IBU can be explained by its peripheral action, which also prevented or ameliorated the neuroinflammatory process.

Finally, it is important to note that our data seem to be not related to the potential impairment of locomotor activity. Although in the OF test the STZ animals presented a decrease in the number of crossings, the number of entries into the closed arms of the EPM, also used as an index of locomotor activity, was not changed. Most importantly, all treatments did not alter this locomotor activity index when STZ animals were evaluated in the EPM and OF tests. In contrast, the treatments were capable to increase exploratory activities assessed in the EPM and OF tests, as well as active behaviors assessed in the mFST.

To conclude, because of the increasingly common use of fish oil capsules containing as the main PUFAs different concentrations of EPA and DHA, our data draw attention to the importance of using, for example, specific precursors (Arachidonic Acid, EPA, or DHA) depending on the individual's health condition and of the purpose of using it, bearing in mind that D-series resolvins are metabolites from DHA. This may also lead to developing strategies that would metabolize the precursor to form its specific potent anti-diabetic product in the body.

Acknowledgments

We are grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES - Finance Code 001) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). AHB de Lima Silva and D Radulski D are recipients of CAPES fellowships and Prof JM Zanoveli receives CNPq productivity's grant (Process number 303863/2020-0)

Funding and disclosure

This study was supported by Brazilian grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; 303863/2020-0) and Fundação Araucária (chamada pública 02/2016, protocol 46849/ PRONEX), which had no other role in the design of the study, collection and analysis of data, and decision to submit the paper for publication.

Declaration of conflicting of interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Limitations

We had technical problems for the detection of other inflammatory markers, so we chose to publish only il-1 β data.

References

Abdolmaleki, F., Kovanen, P. T., Mardani, R., Gheibi-hayat, S. M., Bo, S., Sahebkar, A. (2020). Resolvins: Emerging Players in Autoimmune and Inflammatory Diseases. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 58(1), 82-91. doi: 10.1007/s12016-019-08754-9.

Alam, U., Asghar, O., Azmi, S., Malik R. A. (2014). General aspects of diabetes mellitus. *Handb Clin Neurol.* 126, 211-22. doi: 10.1016/B978-0-444-53480-4.00015-1

Ates, M., Dayi, A., Kiray, M., Sisman, A.R., Agilkaya, S., Aksu, I., Baykara, B., Buyuk, E., Cetinkaya, C., Cingoz, S., Uysal, Nazan. (2014). Anxiety- and depression-like behavior are correlated with leptin and leptin receptor expression in prefrontal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biotechnic & Histochemistry.* 89(3), 161–171. doi:10.3109/10520295.2013.825319.

Bădescu, S.V., Tătaru, C., Kobylinska, L., Georgescu, E.L., Zahiu, D.M., Zăgrean, A.M., Zăgrean, L. (2016). The association between Diabetes mellitus and Depression. *Journal of Medicine and Life.* 9(2), 120-5. PMC4863499.

Basu, S., Larsson, A., Vessby, J., Vessby, B., Berne, C. (2005). Type 1 diabetes is associated with increased cyclooxygenase- and cytokine-mediated inflammation. *Diabetes Care.* 28(6), 1371-5. doi: 10.2337/diacare.28.6.1371. PMID: 15920054.

Bathina, S., Das, U.N. (2021). Resolvin D1 Decreases Severity of Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetes Mellitus by Enhancing BDNF Levels, Reducing Oxidative Stress, and Suppressing Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences.* 22(4), 1516. doi: 10.3390/ijms22041516.

Bathina, S., Gundala, N. K.V., Rhenghachar, P., Polavarapu, S., Hari, A. D., Sadananda, M., Das, U.N. (2020). Resolvin D1 Ameliorates Nicotinamide-streptozotocin-induced Type 2 Diabetes Mellitus by its Anti-inflammatory Action and Modulating PI3K/Akt/mTOR Pathway in the Brain. *Archives of Medical Research.* 51(6), 492-503. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.05.002

Beauquis, J., Homo-Delarche, F., Revsin, Y., De Nicola, A.F., Saravia, F. (2008). Brain Alterations in Autoimmune and Pharmacological Models of Diabetes Mellitus: Focus on Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Axis Disturbances. *Neuroimmunomodulation.* 15(1), 61–67. doi:10.1159/000135625.

Beauquis, J., Homo-Delarche, F., Revsin, Y., De Nicola, A.F., Saravia, F. (2008). Brain alterations in autoimmune and pharmacological models of diabetes mellitus: focus on hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis disturbances. *Neuroimmunomodulation.* 15(1), 61-7. doi: 10.1159/000135625.

Blanchard, R.J., Yudko, E.B., Rodgers, R.J., Blanchard, D.C. (1993). Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear

and anxiety. *Behavior Brain Research*. 58, 155–165. doi: 10.1016/0166-4328(93)90100-5.

Buchberger, B., Huppertz, H., Krabbe, L., Lux, B., Mattivi, J.T., Siafarikas, A. (2016). Symptoms of depression and anxiety in youth with type 1 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 70, 70-84. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.04.019.

Cai, D., Liu, T. (2016). Inflammatory cause of metabolic syndrome via brain stress and NF-κB. *Aging*. 4(2), 98–115. doi:10.18632/aging.100431

Carobrez, A.P., & Bertoglio, L.J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 29(8), 1193-205. doi: 10.1016/j.neubiorev.2005.04.017.

Chaves Y.C., Genaro, K., Stern, C.A., de Oliveira Guaita, G., Crippa J.A., da Cunha, J.M., Zanoveli, J.M. (2020) Two-weeks treatment with cannabidiol improves biophysical and behavioral deficits associated with experimental type-1 diabetes. *Neuroscience Letters*. 729, 135020. doi: 10.1016/j.neulet.2020.135020.

Chaves, Y.C., Genaro, K., Crippa, J.A., da Cunha, J.M., Zanoveli, J.M. (2021). Cannabidiol induces antidepressant and anxiolytic-like effects in experimental type-1 diabetic animals by multiple sites of action. *Metabolic Brain Disease*. ;36(4), 639-652. doi: 10.1007/s11011-020-00667-3

Chiang, N., & Serhan, C. N. (2017). Structural elucidation and physiologic functions of specialized pro-resolving mediators and their receptors. *Molecular aspects of medicine*. 58, 114–129. doi: 10.1016/j.mam.2017.03.005.

Cole, J.C., & Rodgers, R.J. (1993). An ethological analysis of the effects of chlordiazepoxide and bretazenil (Ro 16-6028) in the murine elevated plus-maze. *Behavioural and Pharmacology*. 4(6), 573-580. PMID: 11224226.

Craske, M.G., Stein, M.B., Eley, T.C., Milad, M.R., Holmes, A., Rapee, R.M., Wittchen, H.U. (2017). Anxiety disorders. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017 May 4;3:17024. doi: 10.1038/nrdp.2017.24.

Cruz, A.P., Frei, F., Graeff, F.G. (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacological Biochemistry Behavior*. 49(1), 171-6. doi: 10.1016/0091-3057(94)90472-3.

Cryan, J.F., Markou, A., Lucki I. (2002). Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacological Sciences*. 23(5), 238-45. doi: 10.1016/s0165-6147(02)02017-5.

da Silva Dias, I.C., Carabelli, B., Ishii, D. K., de Moraes, H., de Carvalho, M.C., de Souza, L.E. R., Zanata, S.M., Brandão, M.L., Cunha. T.M., Ferraz, A.C., da Cunha, J.M., Zanolini, J. M. Indoleamine-2,3-Dioxygenase/Kynurenine Pathway as a Potential Pharmacological Target to Treat Depression Associated with Diabetes. *Molecular Neurobiology*. 53(10), 6997-7009. doi: 10.1007/s12035-015-9617-0

Damián, J. P., Acosta, V., Da Cuña, M., Ramírez, I., Oddone, N., Zambrana, A., Bervejillo, V., & Benech, J. C. (2014). Effect of resveratrol on behavioral performance of streptozotocin-induced diabetic mice in anxiety tests. *Experimental animals*. 63(3), 277–287. doi: 10.1538/expanim.63.277.

Dantzer, R., O'Connor, J.C., Freund, G. G., Johnson, R. W., Kelley, K W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*. 9(1), 46-56. doi: 10.1038/nrn2297.

Das, U.N. (2013). Arachidonic acid and lipoxin A4 as possible endogenous anti-diabetic molecules. *Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids*. 88(3), 201-10. doi: 10.1016/j.plefa.2012.11.009.

de Morais H., de Souza C.P., da Silva L.M., Ferreira D.M., Werner M.F., Andreatini R., da Cunha J.M., Zanolini J.M. (2014). Increased oxidative stress in prefrontal cortex and hippocampus is related to depressive-like behavior in streptozotocin-diabetic rats. *Behavioral Brain Research*. 258, 52-64. doi: 10.1016/j.bbr.2013.10.011.

Delattre, A.M., Carabelli, B., Mori, M.A., Kempe, P.G., Rizzo de Souza, L.E., Zanata S.M., Machado, R.B., Suchecki, D., Andrade da Costa, B.L.S., Lima, M.M.S., Ferraz, A.C. (2017). Maternal Omega-3 Supplement Improves Dopaminergic System in Pre and Postnatal Inflammation-Induced Neurotoxicity in Parkinson's Disease Model. *Molecular Neurobiology*. 54(3), 2090-2106. doi: 10.1007/s12035-016-9803-8.

Deng, B., Wang, C.W., Arnardottir, H.H., Li, Y., Cheng, C.Y., Dalli, J., Serhan, C.N. (2014). Maresin biosynthesis and identification of maresin 2, a new anti-inflammatory and pro-resolving mediator from human macrophages. *PLoS One*. 9(7), e102362. doi: 10.1371/journal.pone.0102362.

Detke M.J., Rickels, M., Lucki, I. (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*. 121(1), 66-72. doi: 10.1007/BF02245592.

Deyama, S., Ishikawa, Y., Yoshikawa, K., Shimoda, K., Ide, S., Satoh, M., Minami, M. (2017). Resolvin D1 and D2 reverse lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors through the mTORC1 signaling pathway. *International Journal of Neuropsychopharmacology*.20(7), 575-584. doi: 10.1093/ijnp/pyx023.

Díaz-Gerevini, G.T., Daín, A., Pasqualini, M.E., López, C.B., Eynard, A.R., Repossi, G. (2019). Diabetic encephalopathy: beneficial effects of supplementation with fatty acids ω 3 and nordihydroguaiaretic acid in a spontaneous diabetes rat model. *Lipids in Health and Disease*. 18(1), 43. doi: 10.1186/s12944-018-0938-7.

Dinarello, C.A. (2011). Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 117(14), 3720–3732. doi:10.1182/blood-2010-07-273417

Dobos, N., de Vries, E.F., Kema, I.P., Patas, K., Prins, M., Nijholta, I.M., Dierckxc, R.A., Korfb, J., den Boer, J.A., Luiten, P.G.M., Eisela, U.L.M. (2012). The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in a mouse model of neuroinflammation-induced depression. *Journal of Alzheimer's Disease*. 28(4), 905-15. doi: 10.3233/JAD-2011-111097.

Flak, M. B., Koenis, D. S., Sobrino, A., Smith, J., Pistorius, K., Palmas, F., & Dalli, J. (2020). GPR101 mediates the pro-resolving actions of RvD5n-3 DPA in arthritis and infections. *The Journal of Clinical Investigation*. 130(1), 359–373. doi: 10.1172/JCI1131609.

Fullerton J.N., Gilroy, D.W. (2016). Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. *Nature Reviews Drug Discovery*. 15(8), 551-67. doi: 10.1038/nrd.2016.39.

Gambeta, E., Souza, C.P., de Moraes, H. (2015). Reestablishment of the hyperglycemia to the normal levels seems not to be essential to the anxiolytic-like effect induced by insulin. *Metabolic Brain Disease*. 31(3), 563-71. doi: 10.1007/s11011-015-9770-1.

Giacobbe, J., Benoiton, B., Zunszain, P., Pariante, C.M., Borsini, A. (2020). The Anti-Inflammatory Role of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Metabolites in Pre-Clinical Models of Psychiatric, Neurodegenerative, and Neurological Disorders. *Front Psychiatry*. 11, 122. doi: 10.3389/fpsy.2020.00122.

Gobbetti, T., Dalli, J., Colas, R. A., Federici Canova, D., Aursnes, M., Bonnet, D., Alric, L., Vergnolle, N., Deraison, C., Hansen, T. V., Serhan, C. N., & Perretti, M. (2017). Protectin D1n-3 DPA and resolvin D5n-3 DPA are effectors of intestinal

protection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 114(15), 3963–3968. doi: 10.1073/pnas.1617290114.

Golden S.H., Lazo, M., Carnethon, M., Bertoni, A.G., Schreiner, P.J., Diez Roux, A.V., Lee, H.B., Lyketsos, C. (2008). Examining a bidirectional association between depressive symptoms and diabetes. *JAMA*. 299(23), 2751-9. doi: 10.1001/jama.299.23.2751.

Griebel, G., Rodgers, R.J., Perrault, G., Sanger, D.J. (1997). Risk assessment behaviour: evaluation of utility in the study of 5-HT-related drugs in the rat elevated plus-maze test. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*. 57(4), 817-27. doi: 10.1016/s0091-3057(96)00402-9.

Hammadi, S., Chan, O., Abdellali, M., Medjerab, M., Agoun, H., Bellahreche, Z., Khalkhal, A., Dahmani, Y. (2018). Hyperactivation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in streptozotocin-diabetic gerbils (*Gerbillus gerbillus*). *International Journal of Experimental Pathology*. 99(4), 172-179. doi: 10.1111/iep.12284.

Herder, C., Fürstos, J.F., Nowotny, B., Begun, A., Strassburger, K., Müssig, K., Szendroedi, J., Icks, A., Roden, M. GDS Group. (2017). Associations between inflammation-related biomarkers and depressive symptoms in individuals with recently diagnosed type 1 and type 2 diabetes. *Brain Behavior and Immunity*. 61, 137-145. doi: 10.1016/j.bbi.2016.12.025.

Ho, Nancy., Sommers, Marilyn S., Lucki, Irwin. (2013). Effects of diabetes on hippocampal neurogenesis: Links to cognition and depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 37(8), 1346–1362. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.03.010.

Hood, K.K., Lawrence. J.M., Anderson, A., Bell, R., Dabelea, D., Daniels, S., Rodriguez B., Dolan, L.M. (2012). Metabolic and inflammatory links to depression in youth with diabetes. *Diabetes Care*. 35(12), 2443-6. doi: 10.2337/dc11-2329.

International Diabetes Federation (IDF). IDF Diabetes Atlas. 9th edition. 2019. <http://www.diabetesatlas.org>

Ishikawa, Y., Deyama, S., Shimoda, K., Yoshikawa, K., Ide, S., Satoh, M., Minami, M. (2017). Rapid and sustained antidepressant effects of resolvin D1 and D2 in a chronic unpredictable stress model. *Behavioural Brain Research*. 332, 233 - 236. doi:10.1016/j.bbr.2017.06.010

Kale, M., Nimje, N., Aglawe, M.M., Umekar, M., Taksande, B., Kotagale, N. (2020). Agmatine Modulates Anxiety and Depression-like Behaviour in Diabetic

Insulin-Resistant Rats. *Brain Research*. 1747, 147045. doi: 10.1016/j.brainres.2020.147045.

Kim, E., Choi, J., Kim, M., Hong, J., Park, Y. (2020). N-3 PUFA Have Antidepressant-like Effects Via Improvement of the HPA-Axis and Neurotransmission in Rats Exposed to Combined Stress. *Molecular Neurobiology*. 57(9), 3860-3874. doi:10.1007/s12035-020-01980-9.

Klein, C.P., Sperotto, N.D., Maciel, I.S., Leite, C.E., Souza, A.H., Campos, M.M. (2014). Effects of D-series resolvins on behavioral and neurochemical changes in a fibromyalgia-like model in mice. *Neuropharmacology*. 86, 57-66. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.05.043.

Kovacs, N.P., Almási, A., Garai, K., Kuzma, M., Vancea, S., Fischer, E., Perjesi, P. (2019). Investigation of intestinal elimination and biliary excretion of ibuprofen in control and hyperglycemic rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 97(11), 1080-1089. doi: 10.1139/cjpp-2019-0164.

Krishnamoorthy, S., Recchiuti, A., Chiang, N., Yacoubian, S., Lee, C. H., Yang, R., Petasis, N. A., & Serhan, C. N. (2010). Resolvin D1 binds human phagocytes with evidence for proresolving receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 107(4), 1660–1665. doi: 10.1073/pnas.0907342107.

Lamon-Fava, S., So, J., Mischoulon, D., Ziegler, T.R., Dunlop, B.W., Kinkead, B., Schettler, P.J., Nierenberg, A.A., Felger, J.C., Maddipati, K.R., Fava, M., Rapaport, M.H. (2021). Dose- and time-dependent increase in circulating anti-inflammatory and pro-resolving lipid mediators following eicosapentaenoic acid supplementation in patients with major depressive disorder and chronic inflammation. *Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids*. 164, 102219. doi: 10.1016/j.plefa.2020.102219.

Liu D., Wang, Z., Liu, S., Wang, F., Zhao, S., Hao, A. (2011). Antiinflammatory effects of fluoxetine in lipopolysaccharide(LPS)-stimulated microglial cells. *Neuropharmacology*. 61(4), 592-9. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.04.033

Liu, Y.W., Zhu, X., Zhang, L., Lu, Q., Zhang, F., Guo, H., Yin, X.X. Cerebroprotective effects of ibuprofen on diabetic encephalopathy in rats. *Pharmacological Biochemistry and Behavior* 2014 Feb;117:128-36. doi: 10.1016/j.pbb.2013.11.027.

Luo, X., Gu, Y., Tao, X., Serhan, C.N., Ji, R.R. (2019). Resolvin D5 Inhibits Neuropathic and Inflammatory Pain in Male But Not Female Mice: Distinct Actions of D-Series Resolvins in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Frontiers in Pharmacology*. 10, 745. doi: 10.3389/fphar.2019.00745.

Maedler, K., Sergeev, P., Ris, F., Oberholzer, J., Joller-Jemelka, H.I., Spinas, G.A., Kaiser, N., Halban, P.A., Donath, M.Y. (2002). Glucose-induced β cell production of IL-1 β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *The Journal of Clinical Investigation*. 110(6), 851–860. doi: 10.1172/JCI15318.

Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 454(7203), 428-35. doi: 10.1038/nature07201.

Muriach, M., Flores-Bellver, M., Romero, F.J., Barcia, J.M. (2014). Diabetes and the Brain: Oxidative Stress, Inflammation, and Autophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014, 1-9. doi: 10.1155/2014/102158

Naliwaiko, K., Araújo, R.L., da Fonseca, R.V., Castilho, J.C., Andreatini, R., Bellissimo, M.I., Oliveira, B.H., Martins, E.F., Curi, R., Fernandes, L.C., Ferraz, A.C. (2004). Effects of fish oil on the central nervous system: a new potential antidepressant. *Nutritional Neuroscience*. 7(2), 91-9. doi: 10.1080/10284150410001704525.

Nefs, G., Hendrieckx, C., Reddy, P., Browne, J.L., Bot, M., Dixon, J., Kyrios, M., Speight, J., Pouwer, F. (2019). Comorbid elevated symptoms of anxiety and depression in adults with type 1 or type 2 diabetes: Results from the international diabetes MILES study. *Journal of Diabetes and its Complications*. 33(8), 523-529. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2019.04.013

Nguyen, L.A., Pouwer, F., Winterdijk, P., Hartman, E., Nuboer, R., Sas, T., Kruijff, I., Waarde, W.B.V., Aanstoot, H.J., Nefs, G. (2021). Prevalence and course of mood and anxiety disorders, and correlates of symptom severity in adolescents with type 1 diabetes: Results from diabetes LEAP. *Pediatric Diabetes*. 22(4), 638-648. doi: 10.1111/pedi.13174

Obuchowicz, E., Bielecka, A.M., Paul-Samojedny, M., Pudelko, A., Kowalski, J. (2014). Imipramine and fluoxetine inhibit LPS-induced activation and affect morphology of microglial cells in the rat glial culture. *Pharmacological Reports*. 66(1), 34-43. doi: 10.1016/j.pharep.2013.08.002

Orsó, E., Schmitz, G. (2017). Lipoprotein(a) and its role in inflammation, atherosclerosis and malignancies. *Clinical Research in Cardiology Supplements*. 12(1), 31-37. doi: 10.1007/s11789-017-0084-1.

Pamidi, N., Satheesha-Nayak, B. N. (2013). Effect of streptozotocin induced diabetes on rat hippocampus. *Bratislava Medical Journal*. 113(10), 583–588. doi:10.4149/bll_2012_130.

Park, J., Langmead, C., Riddy, D.M. (2020). New Advances in Targeting the Resolution of Inflammation: Implications for Specialized Pro-Resolving Mediator GPCR Drug Discovery. *ACS Pharmacology & Translational Science*. 3(1), 88-106. doi: 10.1021/acsptsci.9b00075

Pellow, S., Chopin, P., File, S.E., Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal Neuroscience Methods*. 1985 Aug;14(3):149-67.

Pereira, M.M., de Moraes, H., Silva, E.S., Corso, C.R., Adami, E.R.; Carlos, R.M., Acco, A., Zanoveli, J.M. (2018). The antioxidant gallic acid induces anxiolytic-, but not antidepressant-like effect, in streptozotocin-induced diabetes. *Metabolic Brain Disease*. 33(5), 1573-1584. doi: 10.1007/s11011-018-0264-9

Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet, N., Jalfre, M. (1978). Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal Pharmacology*. 47(4), 379-91. doi: 10.1016/0014-2999(78)90118-8.

Rechenberg, K., Grey, M., Sadler, L. (2018). "Anxiety and Type 1 diabetes are like cousins": The experience of anxiety symptoms in youth with Type 1 diabetes. *Research in Nurse and Health*. 1-11 . doi: 10.1002/nur.21913.

Redivo, D.D., Schreiber, A.K., Adami, E.R., Ribeiro, D.E., Joca, S.R., Zanoveli, J.M., da Cunha, J.M. (2016). Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid treatment over mechanical allodynia and depressive-like behavior associated with experimental diabetes. *Behavior Brain Research*. 2298(B), 57-64. doi: 10.1016/j.bbr.2015.10.058.

Réus, G.Z., Dos Santos, M.A.B., Strassi, A.P., Abelaira, H.M., Ceretta, L.B., Quevedo, J. (2017). Pathophysiological mechanisms involved in the relationship between diabetes and major depressive disorder. *Life Sciences*. 183, 78-82. doi: 10.1016/j.lfs.2017.06.025.

Rodgers, R.J., & Cole, J.C. (1993). Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus-maze behaviour in mice. *Physiology and Behavior*. 54(4), 729-36. doi: 10.1016/0031-9384(93)90084-s. PMID: 8248351.

Rodgers, R.J., Cole, J.C. (1993). Anxiety enhancement in the murine elevated plus maze by immediate prior exposure to social stressors. *Physiology & Behavior*. 53(2), 383-8. doi: 10.1016/0031-9384(93)90222-2.

Roy, V., Chapillon, P., (2004). Further evidences that risk assessment and object exploration behaviours are useful to evaluate emotional reactivity in rodents. *Behaviour. Brain Research*. 154, 439–448. doi: 10.1016/j.bbr.2004.03.010

Salim, S., Chugh, G., Asghar, M. (2012). Inflammation in anxiety. *Advances in Protein Chemistry and Structure Biology*. 88, 1-25. doi: 10.1016/B978-0-12-398314-5.00001-5.

Serhan, C. N., Chiang, N., & Van Dyke, T. E. (2008). Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature reviews. Immunology*. 8(5), 349–361. doi: 10.1038/nri2294.

Serhan, C.N., Levy, B.D. (2018). Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *The Journal of Clinical Investigation*. 128(7), 2657–2669. doi: 10.1172/JCI97943.

Serhan, C.N., Petasis, N.A. (2011). Resolvins and protectins in inflammation resolution. *Chemical Reviews*. 111(10), 5922-43. doi: 10.1021/cr100396c.

Setem, J., Pinheiro, A. P., Motta, V. A., Morato, S., Cruz, A. P. M. (1999). Ethopharmacological analysis of 5-HT ligand on the rat elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry Behavior*. 62, 515–521. doi: 10.1016/s0091-3057(98)00193-2

Siba, I.P., Bortolanza, M., Frazão Vital, M.A.B., Andreatini, R., da Cunha, J.M., Del Bel, E.A., Zanoveli, J.M. (2017). Fish oil prevents rodent anxious states comorbid with diabetes: A putative involvement of nitric oxide modulation. *Behavioral Brain Research*. 326, 173-186. doi: 10.1016/j.bbr.2017.03.008.

Silva, R.C., & Brandão, M.L. (2000). Acute and chronic effects of gepirone and fluoxetine in rats tested in the elevated plus-maze: an ethological analysis. *Pharmacological Biochemistry Behavior*. 65(2), 209-16. doi: 10.1016/s0091-3057(99)00193-8. PMID: 10672971.

Slattery, D.A., & Cryan, J.F. (2012). Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature Protocol*. 7(6), 1009-14. doi: 10.1038/nprot.2012.044.

Smith, R.S. (1991). The macrophage theory of depression. *Medical Hypotheses*. 35(4), 298-306. doi: 10.1016/0306-9877(91)90272-z.

Vargas, R., Rincon, J., Pedreanez, A., Viera, N., Hernandez-Fonseca, J.P., Pena, C., Mosquera, J. (2012). Role of angiotensin II in the brain inflammatory events during experimental diabetes in rats. *Brain Research*. 1453, 64– 76. doi: 10.1016/j.brainres.2012.03.021.

Vines, A., Delattre, A.M., Lima, M.M., Rodrigues, L.S., Suchecki, D., Machado, R.B., Tufik, S., Pereira, S.I., Zanata S.M., Ferraz, A.C. (2012). The role of 5-HT_{1A} receptors in fish oil-mediated increased BDNF expression in the rat hippocampus and cortex: a possible antidepressant mechanism. *Neuropharmacology*. 62(1), 184-91. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.06.017.

Wolters, M., von der Haar, A., Baalman, A. K., Wellbrock, M., Heise, T. L., & Rach, S. (2021). Effects of n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation in the Prevention and Treatment of Depressive Disorders-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 13(4), 1070. doi: 10.3390/nu13041070.

Wu, Y.Q., Dang, R.L., Tang, M.M., Cai, H.L., Li, H.D., Liao, D.H., He, X., Cao, L.J., Xue, Y., Jiang, P. (2016). Long Chain Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation Alleviates Doxorubicin Induced Depressive-Like Behaviors and Neurotoxicity in Rats: Involvement of Oxidative Stress and Neuroinflammation. *Nutrients*. 8(4), 243. doi: 10.3390/nu8040243.

Zaminelli, T., Gradowski, R.W., Bassani, T.B., Barbiero, J.K., Santiago, R.M., Maria-Ferreira, D., Baggio, C.H., Frazão Vital, M.A.B. (2014). Antidepressant and antioxidative effect of Ibuprofen in the rotenone model of Parkinson's disease. *Neurotoxicity Research*. 26(4), 351–62. doi: 10.1007/s12640-014-9467-y

Zanoveli, J.M., de Moraes, H., Dias, I.C., Schreiber, A.K., Souza, C.P., da Cunha, J.M. (2016). Depression Associated with Diabetes: From Pathophysiology to Treatment. *Current Diabetes Reviews*. 12(3), 165-78. doi: 10.2174/1573399811666150515125349.

Zhao, F., Li, J., Mo, L., Tan, M., Zhang, T., Tang, Y., Zhao, Y. (2016). Changes in neurons and synapses in hippocampus of streptozotocin-induced type 1

diabetes rats: A stereological investigation. *The Anatomical Record*. 299(9), 1174-83.
doi:10.1002/ar.23344.

4. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram o potencial terapêutico da RvD5 no tratamento da depressão e da ansiedade associadas ao DM1 experimental. Importante ressaltar que este efeito foi mais expressivo sobre a ansiedade, uma vez que nossos dados demonstraram uma restauração dos parâmetros relacionados ao comportamento do tipo ansioso, enquanto na depressão foi observado apenas uma melhora sobre os parâmetros relacionados ao comportamento do tipo depressivo. Adicionalmente, foi demonstrado que o tratamento prolongado restaurou os níveis de Il-1 β no HIP e CPF, caracterizando sua ação pró-resolutiva. Vale também ressaltar que o tratamento não prejudicou o controle glicêmico, pelo contrário, foi capaz de demonstrar uma melhora da condição diabética pois reduziu a glicemia sérica e aumentou o ganho de peso desses animais.

Em conjunto, e tendo em vista o uso populacional bastante comum de suplementes ricos em AGPI da família ômega-3, contendo EPA e DHA, como o óleo de peixe, pode-se inferir que o metabólito de DHA, a RvD5, apresenta um potencial terapêutico sobre respostas de ansiedade e depressão associadas ao DM1.

REFERÊNCIAS

American Psychiatric Association - APA. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5. Porto Alegre: Artmed, 2014.

Arnold SE, Arvanitakis Z, Macauley-Rambach SL, et al. Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: concepts and conundrums. *Nat Rev Neurol*. 2018;14(3):168-181. doi:10.1038/nrneurol.2017.185

Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr*. 2006 Jun;83(6 Suppl):1467S-1476S. doi: 10.1093/ajcn/83.6.1467S.

Avila G, Osornio-Garduño DS, Ríos-Pérez EB, Ramos-Mondragón R. Functional and structural impact of pirfenidone on the alterations of cardiac disease and diabetes mellitus. *Cell Calcium*. 2014 Nov;56(5):428-35. doi: 10.1016/j.ceca.2014.07.008.

Bandeira-Melo C, Serra MF, Diaz BL, Cordeiro RS, Silva PM, Lenzi HL, Bakhle YS, Serhan CN, Martins MA. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 and lipoxin A4 accelerate resolution of allergic edema in *Angiostrongylus costaricensis*-infected rats: relationship with concurrent eosinophilia. *J Immunol*. 2000 Jan 15;164(2):1029-36.

Bannenberg G, Serhan CN. Specialized pro-resolving lipid mediators in the inflammatory response: An update. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Dec;1801(12):1260-73. doi: 10.1016/j.bbalip.2010.08.002.

Barnard K, Peveler RC, Holt RI. Antidepressant medication as a risk factor for type 2 diabetes and impaired glucose regulation: systematic review. *Diabetes Care*. 2013 Oct;36(10):3337-45. doi: 10.2337/dc13-0560.

Bathina S, Gundala NKV, Rhenghachar P, et al. Resolvin D1 Ameliorates Nicotinamide-streptozotocin-induced Type 2 Diabetes Mellitus by its Anti-inflammatory Action and Modulating PI3K/Akt/mTOR Pathway in the Brain. *Arch Med Res*. 2020;51(6):492-503. doi:10.1016/j.arcmed.2020.05.002

Bathina S, Das UN. Resolvin D1 Decreases Severity of Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetes Mellitus by Enhancing BDNF Levels, Reducing Oxidative Stress, and Suppressing Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):1516. Published 2021 Feb 3. doi:10.3390/ijms22041516

Beauquis J, Homo-Delarche F, Revsin Y, De Nicola AF, Saravia F. Brain alterations in autoimmune and pharmacological models of diabetes mellitus: focus on hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis disturbances. *Neuroimmunomodulation.* 2008;15(1):61-67. doi:10.1159/000135625

Boden MT. Prevalence of mental disorders and related functioning and treatment engagement among people with diabetes. *J Psychosom Res.* 2018 Mar;106:62-69. doi: 10.1016/j.jpsychores.2018.01.001.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976 May 7;72:248-54.

Cai D, Liu T. Inflammatory cause of metabolic syndrome via brain stress and NF- κ B. *Aging (Albany NY).* 2012;4(2):98-115. doi:10.18632/aging.100431

Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochem Soc Trans.* 2017 Oct 15;45(5):1105-1115. doi: 10.1042/BST20160474.

Cao Q, Karthikeyan A, Dheen ST, Kaur C, Ling EA. Production of proinflammatory mediators in activated microglia is synergistically regulated by Notch-1, glycogen synthase kinase (GSK-3 β) and NF- κ B/p65 signalling. *PLoS One.* 2017 Oct 19;12(10):e0186764. doi: 10.1371/journal.pone.0186764.

Charalampopoulos D, Hermann JM, Svensson J, et al. Exploring Variation in Glycemic Control Across and Within Eight High-Income Countries: A Cross-sectional Analysis of 64,666 Children and Adolescents With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care.* 2018;41(6):1180-1187. doi:10.2337/dc17-2271

Chaves YC, Genaro K, Stern CA, et al. Two-weeks treatment with cannabidiol improves biophysical and behavioral deficits associated with experimental type-1 diabetes. *Neurosci Lett*. 2020;729:135020. doi:10.1016/j.neulet.2020.135020

Chaves YC, Genaro K, Crippa JA, da Cunha JM, Zanoveli JM. Cannabidiol induces antidepressant and anxiolytic-like effects in experimental type-1 diabetic animals by multiple sites of action. *Metab Brain Dis*. 2021;36(4):639-652. doi:10.1007/s11011-020-00667-3

Chen WW, Zhang X, Huang WJ. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Mol Med Rep*. 2016 Apr;13(4):3391-6. doi:10.3892/mmr.2016.4948.

Chiang N, Serhan CN. Structural elucidation and physiologic functions of specialized pro-resolving mediators and their receptors. *Mol Aspects Med*. 2017;58:114-129. doi:10.1016/j.mam.2017.03.005

Craske MG, Stein MB, Eley TC, Milad MR, Holmes A, Rapee RM, Wittchen HU. Anxiety disorders. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 May 4;3:17024. doi:10.1038/nrdp.2017.24.

da Silva Dias IC, Carabelli B, Ishii DK, de Moraes H, de Carvalho MC, Rizzo de Souza LE, Zanata SM, Brandão ML, Cunha TM, Ferraz AC, Cunha JM, Zanoveli JM. Indoleamine-2,3-Dioxygenase/Kynurenine Pathway as a Potential Pharmacological Target to Treat Depression Associated with Diabetes. *Mol Neurobiol*. 2016 Dec;53(10):6997-7009. doi: 10.1007/s12035-015-9617-0.

Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2008 Jan;9(1):46-56. doi: 10.1038/nrn2297.

Das UN. Arachidonic acid and lipoxin A4 as possible endogenous anti-diabetic molecules. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013 Mar;88(3):201-10. doi:10.1016/j.plefa.2012.11.009.

Das UN. Is There a Role for Bioactive Lipids in the Pathobiology of Diabetes Mellitus? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017 Aug 2;8:182. doi: 10.3389/fendo.2017.00182.

de Morais H, de Souza CP, da Silva LM, et al. Increased oxidative stress in prefrontal cortex and hippocampus is related to depressive-like behavior in streptozotocin-diabetic rats. *Behav Brain Res*. 2014;258:52-64. doi:10.1016/j.bbr.2013.10.011

Dei Cas A, Khan SS, Butler J, Mentz RJ, Bonow RO, Avogaro A, Tschoepe D, Doehner W, Greene SJ, Senni M, Gheorghide M, Fonarow GC. Impact of diabetes on epidemiology, treatment, and outcomes of patients with heart failure. *JACC Heart Fail*. 2015 Feb;3(2):136-45. doi: 10.1016/j.jchf.2014.08.004.

Delattre AM, Carabelli B, Mori MA, Kempe PG, Rizzo de Souza LE, Zanata SM, Machado RB, Suchecki D, Andrade da Costa BLS, Lima MMS, Ferraz AC. Maternal Omega-3 Supplement Improves Dopaminergic System in Pre and Postnatal Inflammation-Induced Neurotoxicity in Parkinson's Disease Model. *Mol Neurobiol*. 2017 Apr;54(3):2090-2106. doi: 10.1007/s12035-016-9803-8.

Deng B, Wang CW, Arnardottir HH, Li Y, Cheng CY, Dalli J, Serhan CN. Maresin biosynthesis and identification of maresin 2, a new anti-inflammatory and pro-resolving mediator from human macrophages. *PLoS One*. 2014 Jul 18;9(7):e102362. doi: 10.1371/journal.pone.0102362.

Deyama S, Ishikawa Y, Yoshikawa K, et al. Resolvin D1 and D2 Reverse Lipopolysaccharide-Induced Depression-Like Behaviors Through the mTORC1 Signaling Pathway. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2017;20(7):575-584. doi:10.1093/ijnp/pyx023

Dyall SC. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front Aging Neurosci*. 2015 Apr 21;7:52. doi: 10.3389/fnagi.2015.00052.

Ebekozien OA, Noor N, Gallagher MP, Alonso GT. Type 1 Diabetes and COVID-19: Preliminary Findings From a Multicenter Surveillance Study in the U.S. *Diabetes Care*. 2020;43(8):e83-e85. doi:10.2337/dc20-1088

Flak MB, Koenis DS, Sobrino A, et al. GPR101 mediates the pro-resolving actions of RvD5n-3 DPA in arthritis and infections. *J Clin Invest*. 2020;130(1):359-373. doi:10.1172/JCI131609

Fullerton JN, Gilroy DW. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. *Nat Rev Drug Discov*. 2016 Aug;15(8):551-67. doi: 10.1038/nrd.2016.39.

Gagnon J, Lussier MT, MacGibbon B, Daskalopoulou SS, Bartlett G. The Impact of Antidepressant Therapy on Glycemic Control in Canadian Primary Care Patients With Diabetes Mellitus. *Front Nutr*. 2018 Jun 12;5:47. doi: 10.3389/fnut.2018.00047.

Ghaeli P, Shahsavand E, Mesbahi M, Kamkar MZ, Sadeghi M, Dashti-Khavidaki S. Comparing the effects of 8-week treatment with fluoxetine and imipramine on fasting blood glucose of patients with major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2004 Aug;24(4):386-8.

Gilsanz P, Karter AJ, Beeri MS, Quesenberry CP Jr, Whitmer RA. The Bidirectional Association Between Depression and Severe Hypoglycemic and Hyperglycemic Events in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2018 Mar;41(3):446-452. doi: 10.2337/dc17-1566.

Gobbetti T, Dalli J, Colas RA, et al. Protectin D1n-3 DPA and resolvin D5n-3 DPA are effectors of intestinal protection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(15):3963-3968. doi:10.1073/pnas.1617290114

Golden SH, Lazo M, Carnethon M, Bertoni AG, Schreiner PJ, Diez Roux AV, Lee HB, Lyketsos C. Examining a bidirectional association between depressive symptoms and diabetes. *JAMA*. 2008 Jun 18;299(23):2751-9. doi: 10.1001/jama.299.23.2751.

Gould TD, Einat H, Bhat R, Manji HK. AR-A014418, a selective GSK-3 inhibitor, produces antidepressant-like effects in the forced swim test. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2004 Dec;7(4):387-90. doi: 10.1017/S1461145704004535.

Graeff FG. Role of 5-HT in defensive behavior and anxiety. *Rev Neurosci.* 1993;4(2):181-211. doi:10.1515/revneuro.1993.4.2.181

Graeff FG, Viana MB, Mora PO. Opposed regulation by dorsal raphe nucleus 5-HT pathways of two types of fear in the elevated T-maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996;53(1):171-177. doi:10.1016/0091-3057(95)02012-8

Graeff FG, Viana MB, Mora PO. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev.* 1997;21(6):791-799. doi:10.1016/s0149-7634(96)00059-0

Gu Z, Lamont GJ, Lamont RJ, Uriarte SM, Wang H, Scott DA. Resolvin D1, resolvin D2 and maresin 1 activate the GSK3 β anti-inflammatory axis in TLR4-engaged human monocytes. *Innate Immun.* 2016 Apr;22(3):186-95. doi: 10.1177/1753425916628618.

Headland SE, Norling LV. The resolution of inflammation: Principles and challenges. *Semin Immunol.* 2015 May;27(3):149-60. doi: 10.1016/j.smim.2015.03.014.

Hammadi S, Chan O, Abdellali M, et al. Hyperactivation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in streptozotocin-diabetic gerbils (*Gerbillus gerbillus*). *Int J Exp Pathol.* 2018;99(4):172-179. doi:10.1111/iep.12284

Han YH, Lee K, Saha A, et al. Specialized Proresolving Mediators for Therapeutic Interventions Targeting Metabolic and Inflammatory Disorders. *Biomol Ther (Seoul).* 2021;29(5):455-464. doi:10.4062/biomolther.2021.094

Ho N, Balu DT, Hilario MR, Blendy JA, Lucki I. Depressive phenotypes evoked by experimental diabetes are reversed by insulin. *Physiol Behav.* 2012;105(3):702-708. doi:10.1016/j.physbeh.2011.09.003

Hood KK, Lawrence JM, Anderson A, Bell R, Dabelea D, Daniels S, Rodriguez B, Dolan LM; SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. Metabolic and inflammatory links to depression in youth with diabetes. *Diabetes Care*. 2012 Dec;35(12):2443-6. doi: 10.2337/dc11-2329.

Hou R, Baldwin DS. A neuroimmunological perspective on anxiety disorders. *Hum Psychopharmacol*. 2012 Jan;27(1):6-14. doi: 10.1002/hup.1259.

Hovatta I, Juhila J, Donner J. Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders. *Neurosci Res*. 2010;68(4):261-275. doi:10.1016/j.neures.2010.08.007

Huang Y, Wei X, Wu T, Chen R, Guo A. Collaborative care for patients with depression and diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *BMC Psychiatry*. 2013 Oct 14;13:260. doi: 10.1186/1471-244X-13-260.

International Diabetes Federation (IDF). *IDF Diabetes Atlas*. 8th edition. 2019. <http://www.diabetesatlas.org>. Acesso em 10/10/2021

Iqbal A, Novodvorsky P, Heller SR. Recent Updates on Type 1 Diabetes Mellitus Management for Clinicians. *Diabetes Metab J*. 2018 Feb;42(1):3-18. doi: 10.4093/dmj.2018.42.1.3.

Ishikawa Y, Deyama S, Shimoda K, et al. Rapid and sustained antidepressant effects of resolvin D1 and D2 in a chronic unpredictable stress model. *Behav Brain Res*. 2017;332:233-236. doi:10.1016/j.bbr.2017.06.010

Johnson B, Eiser C, Young V, Brierley S, Heller S. Prevalence of depression among young people with Type 1 diabetes: a systematic review. *Diabet Med*. 2013 Feb;30(2):199-208. doi: 10.1111/j.1464-5491.2012.03721.x.

Joje RS. Glycogen synthase kinase-3 in the etiology and treatment of mood disorders. *Front Mol Neurosci*. 2011 Aug 9;4:16. doi: 10.3389/fnmol.2011.00016.

Jung EM, Ka M, Kim WY. Loss of GSK-3 Causes Abnormal Astrogenesis and Behavior in Mice. *Mol Neurobiol*. 2016 Aug;53(6):3954-3966. doi: 10.1007/s12035-015-9326-8.

Kaidanovich-Beilin O, Milman A, Weizman A, Pick CG, Eldar-Finkelman H. Rapid antidepressive-like activity of specific glycogen synthase kinase-3 inhibitor and its effect on beta-catenin in mouse hippocampus. *Biol Psychiatry*. 2004 Apr 15;55(8):781-4. doi: 10.1016/j.biopsych.2004.01.008.

Kohler O, Krogh J, Mors O, Benros ME. Inflammation in Depression and the Potential for Anti-Inflammatory Treatment. *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(7):732-42.

Li M, Song LJ, Qin XY. Advances in the cellular immunological pathogenesis of type 1 diabetes. *J Cell Mol Med*. 2014 May;18(5):749-58. doi: 10.1111/jcmm.12270.

Li X, Jope RS. Is glycogen synthase kinase-3 a central modulator in mood regulation? *Neuropsychopharmacology*. 2010 Oct;35(11):2143-54. doi: 10.1038/npp.2010.105.

Luo X, Gu Y, Tao X, Serhan CN, Ji RR. Resolvin D5 Inhibits Neuropathic and Inflammatory Pain in Male But Not Female Mice: Distinct Actions of D-Series Resolvins in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Front Pharmacol*. 2019;10:745. Published 2019 Jul 5. doi:10.3389/fphar.2019.00745

Maes M, Leonard BE, Myint AM, Kubera M, Verkerk R. The new '5-HT' hypothesis of depression: cell-mediated immune activation induces indoleamine 2,3-dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites (TRYCATs), both of which contribute to the onset of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011 Apr 29;35(3):702-21. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.12.017.

Maes M, Rief W. Diagnostic classifications in depression and somatization should include biomarkers, such as disorders in the tryptophan catabolite (TRYCAT)

pathway. *Psychiatry Res.* 2012 Apr 30;196(2-3):243-9. doi: 10.1016/j.psychres.2011.09.029.

Martin M, Rehani K, Jope RS, Michalek SM. Toll-like receptor-mediated cytokine production is differentially regulated by glycogen synthase kinase 3. *Nat Immunol.* 2005 Aug;6(8):777-84. doi: 10.1038/ni1221.

McGlacken-Byrne SM, Drew SEV, Turner K, Peters C, Amin R. The SARS-CoV-2 pandemic is associated with increased severity of presentation of childhood onset type 1 diabetes mellitus: A multi-centre study of the first COVID-19 wave. *Diabet Med.* 2021;38(9):e14640. doi:10.1111/dme.14640

Messamore E, Almeida DM, Jandacek RJ, McNamara RK. Polyunsaturated fatty acids and recurrent mood disorders: Phenomenology, mechanisms, and clinical application. *Prog Lipid Res.* 2017 Apr;66:1-13. doi: 10.1016/j.plipres.2017.01.001.

Michels A, Zhang L, Khadra A, Kushner JA, Redondo MJ, Pietropaolo M. Prediction and prevention of type 1 diabetes: update on success of prediction and struggles at prevention. *Pediatr Diabetes.* 2015 Nov;16(7):465-84. doi: 10.1111/pedi.12299.

Muriach M, Flores-Bellver M, Romero FJ, Barcia JM. Diabetes and the brain: oxidative stress, inflammation, and autophagy. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:102158. doi: 10.1155/2014/102158.

Nadeem RI, Ahmed HI, El-Denshary EE. Effect of Imipramine, Paroxetine, and Lithium Carbonate on Neurobehavioral Changes of Streptozotocin in Rats: Impact on Glycogen Synthase Kinase-3 and Blood Glucose Level. *Neurochem Res.* 2015 Sep;40(9):1810-8. doi: 10.1007/s11064-015-1670-6.

Naliwaiko K, Araújo RL, da Fonseca RV, Castilho JC, Andreatini R, Bellissimo MI, Oliveira BH, Martins EF, Curi R, Fernandes LC, Ferraz AC. Effects of fish oil on the central nervous system: a new potential antidepressant? *Nutr Neurosci.* 2004 Apr;7(2):91-9. doi: 10.1080/10284150410001704525.

O'Donovan A, Hughes BM, Slavich GM, Lynch L, Cronin MT, O'Farrelly C, Malone KM. Clinical anxiety, cortisol and interleukin-6: evidence for specificity in emotion-biology relationships. *Brain Behav Immun.* 2010 Oct;24(7):1074-7. doi: 10.1016/j.bbi.2010.03.003.

Organização Mundial da Saúde, 2019

Orsó E, Schmitz G. Lipoprotein(a) and its role in inflammation, atherosclerosis and malignancies. *Clin Res Cardiol Suppl.* 2017 Mar;12(Suppl 1):31-37. doi: 10.1007/s11789-017-0084-1.

Petitti DB, Klingensmith GJ, Bell RA, et al. Glycemic control in youth with diabetes: the SEARCH for diabetes in Youth Study. *J Pediatr.* 2009;155(5):668-72.e723. doi:10.1016/j.jpeds.2009.05.025

Park J, Langmead CJ, Riddy DM. New Advances in Targeting the Resolution of Inflammation: Implications for Specialized Pro-Resolving Mediator GPCR Drug Discovery. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2020;3(1):88-106. Published 2020 Jan 20. doi:10.1021/acsptsci.9b00075

Petrak F, Röhrig B, Ismail K. Depression and Diabetes. [Updated 2018 Jan 14]. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-

Perry SC, Kalyanaraman C, Tourdot BE, et al. 15-Lipoxygenase-1 biosynthesis of 7S,14S-diHDHA implicates 15-lipoxygenase-2 in biosynthesis of resolvin D5. *J Lipid Res.* 2020;61(7):1087-1103. doi:10.1194/jlr.RA120000777

Polter A, Beurel E, Yang S, Garner R, Song L, Miller CA, Sweatt JD, McMahon L, Bartolucci AA, Li X, Jope RS. Deficiency in the inhibitory serine-phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 increases sensitivity to mood disturbances. *Neuropsychopharmacology.* 2010 Jul;35(8):1761-74. doi: 10.1038/npp.2010.43.

Pomytkin I, Costa-Nunes JP, Kasatkin V, et al. Insulin receptor in the brain: Mechanisms of activation and the role in the CNS pathology and treatment. *CNS Neurosci Ther.* 2018;24(9):763-774. doi:10.1111/cns.12866

Qin Y, Wang N, Zhang X, Han X, Zhai X, Lu Y. IDO and TDO as a potential therapeutic target in different types of depression. *Metab Brain Dis.* 2018;33(6):1787-1800. doi:10.1007/s11011-018-0290-7

Rechenberg K, Grey M, Sadler L. "Anxiety and Type 1 diabetes are like cousins": The experience of anxiety symptoms in youth with Type 1 diabetes. *Res Nurs Health.* 2018 Oct 30. doi: 10.1002/nur.21913.

Redivo DD, Schreiber AK, Adami ER, Ribeiro DE, Joca SR, Zanoveli JM, Cunha JM. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid treatment over mechanical allodynia and depressive-like behavior associated with experimental diabetes. *Behav Brain Res.* 2016 Feb 1;298(Pt B):57-64. doi: 10.1016/j.bbr.2015.10.058.

Ren Z, Yan P, Zhu L, Yang H, Zhao Y, Kirby BP, Waddington JL, Zhen X. Dihydromyricetin exerts a rapid antidepressant-like effect in association with enhancement of BDNF expression and inhibition of neuroinflammation. *Psychopharmacology (Berl).* 2018 Jan;235(1):233-244. doi: 10.1007/s00213-017-4761-z.

Réus GZ, Dos Santos MAB, Strassi AP, Abelaira HM, Ceretta LB, Quevedo J. Pathophysiological mechanisms involved in the relationship between diabetes and major depressive disorder. *Life Sci.* 2017 Aug 15;183:78-82. doi: 10.1016/j.lfs.2017.06.025.

Roopan S, Larsen ER. Use of antidepressants in patients with depression and comorbid diabetes mellitus: a systematic review. *Acta Neuropsychiatr.* 2017 Jun;29(3):127-139. doi: 10.1017/neu.2016.54.

Roy T, Lloyd CE. Epidemiology of depression and diabetes: a systematic review. *J Affect Disord.* 2012 Oct;142 Suppl:S8-21. doi: 10.1016/S0165-0327(12)70004-6.

Rubino F, Amiel SA, Zimmet P, et al. New-Onset Diabetes in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(8):789-790. doi:10.1056/NEJMc2018688

Salazar A, Gonzalez-Rivera BL, Redus L, Parrott JM, O'Connor JC. Indoleamine 2,3-dioxygenase mediates anhedonia and anxiety-like behaviors caused by peripheral lipopolysaccharide immune challenge. *Horm Behav*. 2012 Aug;62(3):202-9. doi: 10.1016/j.yhbeh.2012.03.010.

Salim S, Asghar M, Taneja M, Hovatta I, Chugh G, Vollert C, Vu A. Potential contribution of oxidative stress and inflammation to anxiety and hypertension. *Brain Res*. 2011 Aug 2;1404:63-71. doi: 10.1016/j.brainres.2011.06.024.

Salim S, Chugh G, Asghar M. Inflammation in anxiety. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2012;88:1-25. doi: 10.1016/B978-0-12-398314-5.00001-5.

Sarwani A, Al Saeed M, Taha H, Al Fardan RM. New-Onset Diabetes Mellitus Presenting As Diabetic Ketoacidosis in Patients With COVID-19: A Case Series. *Cureus*. 2021 Jul 10;13(7):e16290. doi: 10.7759/cureus.16290.

Saúde, Organização Mundial. < <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em 09 de nov. 2021.

Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005 Feb;29(2):201-17. doi: 10.1016/j.pnpbp.2004.11.003.

Schreiber AK, Nones CFM, Reis RC, Chichorro JG, Cunha JM. Diabetic neuropathic pain: Physiopathology and treatment. *World J Diabetes*. 2015 Apr 15; 6(3): 432–444. doi: 10.4239/wjd.v6.i3.432.

Serhan CN, Chiang N. Resolution phase lipid mediators of inflammation: agonists of resolution. *Curr Opin Pharmacol*. 2013 Aug;13(4):632-40. doi: 10.1016/j.coph.2013.05.012.

Serhan CN, Petasis NA. Resolvins and protectins in inflammation resolution. *Chem Rev.* 2011 Oct 12;111(10):5922-43. doi: 10.1021/cr100396c.

Siba IP, Bortolanza M, Frazão Vital MAB, Andreatini R, da Cunha JM, Del Bel EA, Zanoveli JM. Fish oil prevents rodent anxious states comorbid with diabetes: A putative involvement of nitric oxide modulation. *Behav Brain Res.* 2017 May 30;326:173-186. doi: 10.1016/j.bbr.2017.03.008.

Simões LR, Netto S, Generoso JS, Ceretta RA, Valim RF, Domingui D, Michels M, Réus GZ, Valvassori SS, Dal-Pizzol F, Barichello T. Imipramine treatment reverses depressive- and anxiety-like behaviors, normalize adrenocorticotrophic hormone, and reduces interleukin-1 β in the brain of rats subjected to experimental periapical lesion. *Pharmacol Rep.* 2018 Aug 8;71(1):24-31. doi: 10.1016/j.pharep.2018.08.003.

Thomas MC, Brownlee M, Susztak K, Sharma K, Jandeleit-Dahm KA, Zoungas S, Rossing P, Groop PH, Cooper ME. Diabetic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2015 Jul 30;1:15018. doi: 10.1038/nrdp.2015.18.

Troubat R, Barone P, Leman S, et al. Neuroinflammation and depression: A review. *Eur J Neurosci.* 2021;53(1):151-171. doi:10.1111/ejn.14720

Vines A, Delattre AM, Lima MM, Rodrigues LS, Suchecki D, Machado RB, Tufik S, Pereira SI, Zanata SM, Ferraz AC. The role of 5-HT_{1A} receptors in fish oil-mediated increased BDNF expression in the rat hippocampus and cortex: a possible antidepressant mechanism. *Neuropharmacology.* 2012 Jan;62(1):184-91. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.06.017.

Wichers MC, Koek GH, Robaey G, Verkerk R, Scharpé S, Maes M. IDO and interferon-alpha-induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity. *Mol Psychiatry.* 2005 Jun;10(6):538-44. doi: 10.1038/sj.mp.4001600.

World Health Organization. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. 2017.

Wu YQ, Dang RL, Tang MM, Cai HL, Li HD, Liao DH, He X, Cao LJ, Xue Y, Jiang P. Long Chain Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation Alleviates Doxorubicin Induced Depressive-Like Behaviors and Neurotoxicity in Rats: Involvement of Oxidative Stress and Neuroinflammation. *Nutrients*. 2016 Apr 23;8(4):243. doi: 10.3390/nu8040243.

Zanoveli JM, Morais Hd, Dias IC, Schreiber AK, Souza CP, Cunha JM. Depression Associated with Diabetes: From Pathophysiology to Treatment. *Curr Diabetes Rev*. 2016;12(3):165-78. doi: 10.2174/1573399811666150515125349.