



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

PATRÍCIA ANDRÉA DA FONSECA MAGALHÃES

EFEITOS INIBITÓRIOS DA SERTRALINA NO SISTEMA URINÁRIO DE RATOS

**FORTALEZA
2010**

PATRÍCIA ANDRÉA DA FONSECA MAGALHÃES

EFEITOS INIBITÓRIOS DA SERTRALINA NO SISTEMA URINÁRIO DE RATOS

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins

FORTALEZA
2010

M168r Magalhães, Patrícia Andréa da Fonseca
Efeitos inibitórios da Sertralina no sistema urinário de
ratos/ Patrícia Andréa da Fonseca Magalhães. – Fortaleza,
2010.

138f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alice Maria Costa Martins
Dissertação (Mestrado em Farmacologia) –
Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina.
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

1.Sertralina 2. Fenilefrina 3. Sistema urinário 4.
Músculo liso 5. Artéria mesentérica superior I. Martins,
Alice Maria (Orient.) II. Título.

CDD: 615.782

PATRÍCIA ANDRÉA DA FONSECA MAGALHÃES

EFEITOS INIBITÓRIOS DA SERTRALINA NO SISTEMA URINÁRIO DE RATOS

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia

Aprovada em: 29/11/2010

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá
Universidade Federal do Ceará – UFC

Aos meus queridos e amados filhos, Alessandro e Beatriz, luz que ilumina todos os meus momentos e impulsiona-me a buscar vida nova a cada dia.

À minha mãe, Tânia, por ser exemplo de vida, perseverança, dedicação e amor. Sem o seu apoio incondicional esse trabalho não teria se concretizado.

À minha avó, Marilena, que por decisão de Deus não pôde vivenciar esta etapa importante em minha vida, mas foi um exemplo de perseverança e amor incondicional. Saudade eterna...

Ao meu esposo, Pedro, pelo imensurável apoio, carinho, companheirismo, e, sobretudo, pela sua presença que me dá forças para superar obstáculos.

AGRADECIMENTOS

Essa dissertação foi fruto de muito estudo, dedicação e persistência, e, sem a ajuda de várias pessoas este trabalho não estaria finalizado.

À minha orientadora, Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins, não somente por ter me aceitado como orientanda, mas, principalmente por ter acreditado em mim. Meu eterno agradecimento e enorme gratidão.

À Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro pelo acolhimento em seu laboratório e pela colaboração em muitos momentos.

Ao Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos por ter me recebido em seu laboratório, pelos bons conselhos e pelo seu exemplo de competência, simplicidade e amor à pesquisa.

À Profa. Dra. Renata Souza Alves pela disponibilidade e valiosa colaboração em muitos momentos.

Ao “anjo” Daniel Freire, à mestranda Lívia Talita e ao doutorando Rodrigo Siqueira. A palavra “obrigada” não expressará por inteiro o quanto a dedicação de vocês foi fundamental para a realização desse trabalho. Minha eterna gratidão.

Um agradecimento especial às mestrandas, Teresinha Brito e Roberta Jorge, pela disponibilidade, dedicação, companheirismo, carinho e torcida.

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso: Alfredo Vasconcelos, Carol Farias, Cássia Rodrigues, Davi Jucá, Franzé Batista, Géssica Fontes, Hélder Veras, Igor Sombra, João Paulo Melo, Luan Ferreira, Ubirajara Jr., Vasco Diógenes e Walter Breno por me acolherem, dividindo dias de agradável convivência, aprendizado, colaboração, amizade e saudosas confraternizações.

Aos colegas do Laboratório Escola Luís Capelo que sempre me receberam carinhosamente, em especial Moisés Tolentino e Willy Okoba pelos momentos de aprendizado e companheirismo.

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia de Venenos e Toxinas, em especial: Aline Sampaio, Beatriz Helena, Claudênio Diógenes, Inês Evangelista, João Paulo Barbosa, Marinetes Neri, Paulo César, Rafael Jorge pelo alegre convívio e colaboração.

Aos colegas do Laboratório de Cultivo Celular (LCC), em especial: Gdayllon Meneses, Isabel Oliveira, Marcus Felipe, Ramon de Paula Pessoa pela atenção e colaboração durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia pelos ensinamentos transmitidos.

Aos colegas da Pós-Graduação em Farmacologia, com os quais vivi momentos agradáveis e prazerosos durante o curso.

Às secretárias, Aura Rhanes e Márcia Borges, pela presteza e dedicação com que sempre me atenderam na Coordenação da Pós-Graduação.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia e do Centro de Biomedicina: Fernando, Joana, Bernadete, Chiquinho, Ana Paula, Alana, Michele e Aldenora pela atenção e disponibilidade.

Aos funcionários do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia: Dr. Armando Lemos, Jociê Silva e Carlos pela presteza no atendimento e cuidado com os animais experimentais.

Ao técnico, Haroldo Pinheiro pela disposição constante e valiosa ajuda. Meus sinceros agradecimentos.

À Sílvia França, Francisca Alves e Teresinha França pelo inestimável apoio técnico.

Às minhas queridas amigas, Roberta, Rose, Raquel e Valgícia por estarem presentes em tantos momentos, bons ou difíceis, tornando minha vida mais feliz.

À amiga recente, Amanda Lopes, pela força, confidências, risadas e pelos bons momentos de estresse.

À bibliotecária Norma Linhares pela atenção e gentileza com que me atendeu durante a adequação dessa dissertação às normas técnicas.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), pelo apoio financeiro.

A todos os profissionais, amigos e colegas, que diretamente ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

Em especial a Deus pelo dom da vida, renovando a cada provação que se apresenta e nos sonhos que se concretizam, como este que agora se torna realidade, e, a Nossa Senhora, minha mãe, por me ouvir falar, falar ao meu coração e ser minha intercessora junto ao Pai.

*“Se eu pudesse deixar algum presente a você,
deixaria aceso o sentimento de amar a vida dos seres humanos.*

*A consciência de aprender
tudo o que foi ensinado pelo tempo afora...*

*Lembraria os erros que foram cometidos
para que não mais se repetissem.*

A capacidade de escolher novos rumos.

*Deixaria para você, se pudesse,
o respeito àquilo que é indispensável:*

Além do pão, o trabalho.

Além do trabalho, a ação.

E quando tudo mais faltasse, um segredo:

*O de buscar no interior de si mesmo
a resposta e a força para encontrar a saída”*

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

Efeitos inibitórios da sertralina no sistema urinário de ratos. Patrícia Andréa da Fonseca Magalhães. Orientadora: Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins. Dissertação de Mestrado em Farmacologia. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2010.

Sertralina, fármaco pertencente à família dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina, é preferencialmente utilizada na terapêutica antidepressiva, possuindo boa tolerância com baixa incidência de efeitos colaterais. Neste trabalho, caracterizamos os efeitos farmacológicos da sertralina sobre o padrão miccional de ratos anestesiados, em parâmetros funcionais de rim isolado de ratos Wistar e em parâmetros contráteis de músculo liso vesical e vascular isolados de ratos. *In vitro*, preparações de músculo liso vesical e artéria mesentérica, foram mantidas em solução nutritiva aerada com 95% O₂ – 5% CO₂, pH 7,4, 37°C, para registro isométrico das contrações musculares. Usamos também rim isolado de rato, perfundido com solução de Krebs-Henseleit modificada contendo 6% de albumina bovina (37°C, 95% O₂ – 5% CO₂). *In vivo*, a bexiga de rato anestesiado foi continuamente infundida com salina à temperatura ambiente (23°C) através de bomba de infusão ajustada para fluxo de 0,06 mL/min e foram avaliados os parâmetros miccionais após administração de sertralina. Nestes experimentos, a sertralina (20 mg/kg, i.v.) aumentou significativamente a frequência miccional (controle = 0,16 ± 0,02 micções/min para 0,70 ± 0,09 micções/min), a pressão basal de enchimento (controle = 4,18 ± 2,11 cmH₂O para 25,38 ± 3,03 cmH₂O) e a pressão intravesical máxima alcançada durante as contrações miccionais (controle = 25,78 ± 2,11 cmH₂O para 40,88 ± 3,03 cmH₂O). Em rim isolado, a administração prévia de sertralina (30 µM) inibiu as alterações promovidas pela fenilefrina (10⁻⁴ M) na pressão de perfusão (PP; 178,31 ± 21,68 mmHg para 105,40 ± 14,46 mmHg), na resistência vascular renal (RVR; 6,82 ± 0,99 mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹ para 4,32 ± 0,55 mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹), no fluxo urinário (FU; 0,43 ± 0,15 mL.g⁻¹.min⁻¹ para 0,08 ± 0,03 mL.g⁻¹.min⁻¹) e no ritmo de filtração glomerular (RFG; 1,60 ± 0,40 mL.g⁻¹.min⁻¹ para 0,32 ± 0,17 mL.g⁻¹.min⁻¹). Em tiras isoladas de bexiga de rato, a sertralina inibiu, de maneira dependente de concentração as contrações induzidas por K⁺ 60 mM ou carbacol (CCh) 3 µM com CI₅₀ de 21,0 [15,8 – 28,0] µM e 22,8 [12,9 – 40,4] µM, respectivamente. Adicionada no estado estacionário da contração induzida por K⁺ (60 mM) ou CCh (1 µM), a sertralina produziu efeito relaxante de maneira dependente de concentração com CI₅₀ de 94,3 [42,2 - 146,4] µM e 67,8 [20,1 - 115,5] µM, respectivamente. Em anéis de artéria mesentérica estimulados por K⁺ (60 mM) ou fenilefrina (PHE, 60 µM) em meio sem Ca²⁺ com EGTA (0,5 mM), a sertralina (100 µM) inibiu as contrações induzidas por Ca²⁺ de 124,1 ± 8,1% para 48,3 ± 14,0% e 74,8 ± 13,5% para 35,9 ± 9,4%, respectivamente. Em suma, a sertralina aumentou a frequência miccional em ratos anestesiados, inibiu as alterações induzidas por PHE em rim isolado sendo seus efeitos provavelmente causados por sua ação antiespasmódica vascular. Essa hipótese foi confirmada pelos efeitos inibitórios em tiras de músculo liso vesical e em anéis de artéria mesentérica, sendo estes promovidos por provável interferência da sertralina com o influxo de Ca²⁺ pela membrana plasmática seja por canais operados por receptor ou por canais voltagem-dependentes.

Palavras-chave: Sertralina. Fenilefrina. Músculo liso. Artéria mesentérica superior. Sistema urinário.

ABSTRACT

Inhibitory effects of sertraline on rat urinary system. Patricia Andrea da Fonseca Magalhães. Advisor: Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins. Master's Dissertation in Pharmacology. Pharmacology Program. Department of Physiology and Pharmacology, UFC, 2010.

Sertraline, a drug belonging to the family of selective serotonin reuptake inhibitors, is used in antidepressant therapy, and has good tolerance with low incidence of side effects. Here we have characterized the pharmacological effects of sertraline on the pattern of voiding anesthetized rats, on the renal functional parameters of isolated rat kidney and on the contractile parameters of isolated bladder and mesenteric smooth muscle. *In vitro*, strips of urinary bladder and rings of mesenteric artery were kept in physiological solution aerated with 95% O₂ - 5% CO₂, pH 7.4, 37°C, for the record of isometric muscle contractions. We also used isolated rat kidney perfused with modified Krebs-Henseleit solution containing 6% bovine albumin (37°C, 95% O₂ - 5% CO₂). *In vivo*, urinary bladder of anesthetized rats was continuously infused with saline at room temperature (23°C) via an infusion pump set to flow 0.06 mL/min and urinary parameters were evaluated after administration of sertraline. In these experiments, sertraline (20 mg/kg, i.v.) significantly increased voiding frequency (control = 0.16 ± 0.02 urination/min to 0.70 ± 0.09 urination/min), basal pressure of filling (control = 4.18 ± 2.11 cmH₂O to 25.38 ± 3.03 cmH₂O) and maximum bladder pressure reached during the bladder contractions (control = 25.78 ± 2.11 cmH₂O to 40.88 ± 3.03 cmH₂O). In isolated kidneys, previous administration of sertraline (30 μM) inhibited the changes promoted by phenylephrine (10⁻⁴ M) in perfusion pressure (PP; 178.31 ± 21.68 mmHg to 105.40 ± 14.46 mmHg), renal vascular resistance (RVR, 6.82 ± 0.99 mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹ to 4.32 ± 0.55 mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹), urinary flow (UF; 0.43 ± 0.15 mL.g⁻¹.min⁻¹ to 0.08 ± 0.03 mL.g⁻¹.min⁻¹) and the rate of glomerular filtration rate (GFR, 1.60 ± 0.40 mL.g⁻¹.min⁻¹ to 0.32 ± 0.17 mL.g⁻¹.min⁻¹). In isolated strips of rat urinary bladder, sertraline inhibited, in a concentration-dependent manner, the contractions induced by 60 mM K⁺ or 3 μM carbachol (CCh) with IC₅₀ of 21.0 [15.8 to 28.0] μM and 22.8 [12.9 to 40.4] μM, respectively. Added to the plateau of a steady state contraction induced by K⁺ (60 mM) or CCh (1 μM), sertraline produced relaxing effect, in a concentration-dependent manner, with IC₅₀ of 94.3 [42.2 to 146.4] μM and 67.8 [20.1 to 115.5] μM, respectively. In rings of mesenteric artery stimulated by K⁺ (60 mM) or PHE (60 μM) in medium without Ca²⁺ with EGTA (0.5 mM), sertraline (100 μM) inhibited contractions induced by Ca²⁺ from 124.1 ± 8.1% to 48.3 ± 14.0% and 74.8 ± 13.5% to 35.9 ± 9.4% respectively. In conclusion, sertraline increased the urinary frequency voiding in anesthetized rats, inhibited the changes induced by PHE in isolated kidney and its effects probably are caused by its vascular antispasmodic actions. This hypothesis was confirmed by the inhibitory effects on bladder smooth muscle strips and mesenteric artery rings, which are promoted by a possible interference of sertraline with the Ca²⁺ influx through plasmalemmal channels, which may be receptor- or voltage-operated Ca²⁺ channels.

Keywords: Sertraline. Phenylephrine. Smooth muscle. Superior mesenteric artery. Urinary tract.

LISTA DE FIGURAS

1.	Sistema para registro dos parâmetros miccionais	36
2.	Incisão abdominal mediana para visualização da bexiga urinária	37
3.	Incisão no ápice da parede da bexiga urinária	38
4.	Introdução e fixação do tubo de polietileno (PE – 50) na bexiga	38
5.	Fechamento da incisão abdominal	38
6.	Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação cistométrica	40
7.	Parâmetros avaliados na cistometrografia	41
8.	Sistema para perfusão de rim isolado de rato	43
9.	Valores de pressão de perfusão (PP) registrados durante a calibração do sistema	44
10.	Valores registrados pelo fluxômetro (L/min) durante a calibração do sistema	44
11.	Valores de volume de solução (mL/min) registrados durante a calibração do sistema	44
12.	Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina em rim isolado de rato	46
13.	Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da perfusão de rim isolado de rato com fenilefrina na ausência e na presença da sertralina	48
14.	Sistema para registro de contrações em tecidos isolados	51
15.	Detalhe da montagem de anéis de artéria mesentérica para registro da contratilidade <i>in vitro</i>	52
16.	Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na contração induzida por fenilefrina em anéis de artéria mesentérica de rato	54
17.	Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na contração fásica induzida por fenilefrina ou cafeína em anéis de artéria mesentérica mantidos em meio sem Ca^{2+}	55

18. Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina em contrações induzidas pela depleção dos estoques intracelulares de Ca^{2+} em anéis de artéria mesentérica de ratos	56
19. Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas pela adição de Ca^{2+} em anéis de artéria mesentérica mantidos na presença de verapamil e fenilefrina ou mantidos em solução com alto K^+	57
20. Detalhe da montagem da tira de bexiga para registro da contratilidade <i>in vitro</i>	58
21. Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina no tônus basal de tiras isoladas de bexiga de rato	59
22. Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na inibição da contração induzida por K^+ e carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato.....	60
23. Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na reversão da pré-contração induzidas por K^+ e carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato.....	61
24. Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na confecção da CCE induzida por K^+ e carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato.....	62
25. Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina nas contrações fásicas transitórias induzidas por carbacol em meio sem Ca^{2+} com EGTA.....	63
26. Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas pela adição de Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga e despolarizadas por K^+ em meio sem Ca^{2+}	64
27. Efeito da sertralina na frequência de micção de ratos anestesiados..	68
28. Efeito da sertralina no intervalo miccional de ratos anestesiados.....	69
29. Efeito da sertralina na pressão basal de enchimento em ratos anestesiados.....	70

30. Efeito da sertralina na pressão intravesical máxima em ratos anestesiados	71
31. Efeito da sertralina na pressão de perfusão (PP) de rim isolado de rato	73
32. Efeito da sertralina na resistência vascular renal (RVR) de rim isolado de rato	74
33. Efeito da sertralina no fluxo urinário (FU) de rim isolado de rato	75
34. Efeito da sertralina no ritmo de filtração glomerular (RFG) de rim isolado de rato	76
35. Efeito da sertralina no percentual de transporte tubular de sódio (%TNa ⁺) de rim isolado de rato	77
36. Efeito da sertralina no percentual de transporte tubular de potássio (%TK ⁺) de rim isolado de rato	78
37. Efeito da sertralina no percentual de transporte tubular de cloreto (%TCl ⁻) de rim isolado de rato	79
38. Efeito da adição cumulativa de fenilefrina na presença de sertralina na pressão perfusão (PP) de rim isolado de rato	82
39. Efeito da adição cumulativa de fenilefrina na presença de sertralina na resistência vascular renal (RVR) de rim isolado de rato.....	83
40. Efeito da adição cumulativa de fenilefrina na presença de sertralina no fluxo urinário (FU) de rim isolado de rato	84
41. Efeito da adição cumulativa de fenilefrina na presença de sertralina no ritmo de filtração glomerular (RFG) de rim isolado de rato	85
42. Efeito inibitório da sertralina e verapamil na contração induzida por fenilefrina em anéis de artéria mesentérica isolados de rato	87
43. Efeito da sertralina na contração fásica induzida por fenilefrina, cafeína ou reposição de Ca ²⁺ em meio sem Ca ²⁺	89
44. Efeitos da sertralina nas curvas concentração–efeito induzidas por Ca ²⁺ em anéis de artéria mesentérica mantidos na presença de verapamil e fenilefrina ou K ⁺	92
45. Efeito da sertralina no tônus basal de tiras isoladas de bexiga de rato	94
46. Efeito inibitório da sertralina na contração induzida por K ⁺ em tiras isoladas de bexiga de rato	96

47. Efeito inibitório da sertralina na contração induzida por carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato.....	98
48. Efeito da sertralina na reversão da pré-contração induzida por K^+ em tiras isoladas de bexiga de rato.....	101
49. Efeito da sertralina na reversão da pré-contração induzida por carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato.....	103
50. Efeito da sertralina sobre a curva concentração–efeito induzida por K^+ em tiras isoladas de bexiga de rato.....	106
51. Efeito da sertralina sobre a curva concentração–efeito induzida por carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato.....	108
52. Efeito da sertralina na contração fásica induzida por carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato mantidas em meio sem Ca^{2+}	110
53. Efeito da sertralina na curva concentração–efeito induzida por Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga mantidas em presença de K^+	112
54. Efeito do verapamil na curva concentração-efeito induzida por Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga mantidas em presença de K^+	113

LISTA DE TABELAS

1.	Solução de Tyrode (pH = 7,4)	35
2.	Solução de Krebs–Henseleit (pH = 7,4)	36
3.	Determinação dos parâmetros da função renal	50
4.	Valores dos parâmetros da função renal avaliados nos experimentos com sertralina (30 μ M) em rim isolado de rato.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
ANOVA	Análise de variância
CAF	Cafeína
CaM	Calmodulina
CCE	Curva concentração–efeito
CCh	Carbacol
CI ₅₀	Concentração inibitória capaz de produzir 50% do efeito máximo
CICR	Liberação de cálcio induzida pelo cálcio
DAG	Diacilglicerol
E.P.M.	Erro padrão da média
EGTA	Ácido etileno-bis(β-amino-etil-éter)-N,N,N',N'-tetracético
FU	Fluxo urinário
i.p.	Intraperitoneal
i.v.	Intravenosa
IP ₃	Trifosfato de inositol
K60	Solução contendo 60mM de K ⁺
KH	Krebs-Henseleit
MLC	Cadeia leve de miosina
MLCK	Quinase de cadeia leve de miosina
MLCP	Fosfatase de cadeia leve de miosina
p/v	Peso/volume
PHE	Fenilefrina
PP	Pressão de perfusão

RFG	Ritmo de filtração glomerular
ROC	Canal para cálcio operado por receptor
RVR	Resistência vascular renal
SERCA	Bomba Ca^{2+} -ATPase presente no retículo sarcoplasmático
SERT	Sertralina
SKHM	Solução de Krebs-Henseleit modificada
SOC	Canal para cálcio operado por estoque
THAP	Tapsigargina
TN	Tyrode normal
v/v	Volume/volume
VOC	Canal para cálcio operado por voltagem
% TCI^-	Percentual de transporte tubular de cloreto
% TK^+	Percentual de transporte tubular de potássio
% TNa^+	Percentual de transporte tubular de sódio
$[\text{Ca}^{2+}]_c$	Concentração de cálcio no citoplasma
$[\text{Ca}^{2+}]_i$	Concentração de cálcio intracelular
5-HT	Serotonina
$\emptyset \text{Ca}^{2+}$	Solução fisiológica sem cálcio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Sertralina	22
1.2	O sistema urinário	23
1.3	Funções gerais do rim	23
1.4	O rim como órgão produtor de urina	24
1.5	Micção	25
1.6	Músculo Liso	27
1.7	Acoplamento excitação-contração no músculo liso	28
2	JUSTIFICATIVA	30
3	OBJETIVOS	32
3.1	Objetivo geral	32
3.2	Objetivos específicos	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	Aspectos éticos	34
4.2	Animais	34
4.3	Drogas e soluções	35
4.4	Cistometrografia	36
4.4.1	Sistema de registro	36
4.4.2	Calibração do sistema de registro	37
4.4.3	Cirurgia	37
4.4.4	Protocolo experimental para avaliação cistometrográfica	39
4.5	Perfusão renal	41
4.5.1	Sistema de perfusão de rim isolado	41
4.5.2	Calibração do sistema de perfusão de rim isolado	42
4.5.3	Técnica cirúrgica para isolamento do rim direito	45
4.5.4	Protocolos experimentais para ensaios com rim isolado	45
4.5.5	Análises bioquímicas	48
4.6	Experimentos para avaliação da contratilidade em anéis de artéria mesentérica ou tiras isoladas de bexiga de ratos	51
4.6.1	Sistema de registro	51
4.6.2	Calibração do sistema de registro.....	52
4.6.3	Experimentos <i>in vitro</i> com artéria mesentérica	52
4.6.4	Protocolos experimentais com anéis de artéria mesentérica	53

4.6.5	Experimentos <i>in vitro</i> com tiras isoladas de bexiga urinária	57
4.6.6	Protocolos experimentais com tiras isoladas de bexiga urinária.....	58
4.7	Análise estatística	65
5	RESULTADOS	67
5.1	Cistometrografia	67
5.1.1	Efeitos da sertralina em parâmetros miccionais de ratos anestesiados	67
5.2	Perfusão de rim isolado	72
5.2.1	Efeitos da sertralina em rim isolado	72
5.2.2	Efeitos da perfusão de rim isolado de rato com fenilefrina na ausência e na presença de sertralina	81
5.3	Contratilidade	86
5.3.1	Efeito da sertralina na contração de anéis de artéria mesentérica isolados de rato induzida por PHE	86
5.3.2	Efeito da sertralina na contração fásica de anéis de artéria mesentérica isolados de rato mantidos em meio sem Ca^{2+}	88
5.3.3	Efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas por Ca^{2+} em anéis de artéria mesentérica isolados de rato mantidos na presença de verapamil e fenilefrina ou K^+	91
5.3.4	Efeito da sertralina sobre o tônus basal de tiras isoladas de bexiga	94
5.3.5	Efeito inibitório da sertralina sobre a contração induzida por K^+ ou CCh em tiras isoladas de bexiga de rato	95
5.3.6	Efeito inibitório da sertralina aplicada no platô da contração induzida por K^+ ou carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato	100
5.3.7	Efeito da sertralina sobre a curva concentração-efeito induzida por concentrações crescentes de K^+ ou CCh em tiras isoladas de bexiga de rato	105
5.3.8	Efeito da sertralina nas contrações transitórias induzidas por CCh em meio livre de Ca^{2+} na presença de EGTA	110
5.3.9	Efeito da sertralina na CCE induzida por Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga de rato	111
6	DISCUSSÃO	115
7	CONCLUSÕES	125
	REFERÊNCIAS	127

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A depressão é um transtorno psiquiátrico com elevada prevalência na população mundial sendo uma das principais causas de incapacidade (ANDERSSON; PEHRSON, 2003; MILEA *et al.*, 2010). Embora sua etiologia ainda não esteja totalmente esclarecida, evidências sugerem complexa interação entre vários fatores (biológicos, genéticos, psicossociais e ambientais) (TIERNEY, 2007). Seu diagnóstico é baseado, sobretudo, em alguns sinais e sintomas incluindo alterações do sono e do apetite e, principalmente, alteração do estado de humor, predomínio anormal de tristeza, sensação de inutilidade, culpa, podendo inclusive o paciente desenvolver tendências suicidas (TIERNEY, 2007). Podem ser acometidos homens e mulheres de qualquer faixa etária, inclusive crianças e idosos. Estudos indicam que, na fase adulta, as mulheres têm o dobro de chances dos homens de desenvolverem a doença. Na população americana, cerca de 16% das pessoas têm ou já teve depressão (KESSLER *et al.*, 2005). As estimativas apontam que essa será, em breve, a segunda maior causa de morbi/mortalidade, perdendo apenas para os casos de isquemia cardíaca (MURRAY; LOPEZ, 1997).

Os medicamentos chamados “antidepressivos” são a base da terapia farmacológica da depressão, promovendo melhora geral nos principais sintomas na maior parte dos pacientes em relativamente pouco tempo de tratamento (FRAZER, 1997). Quimicamente, esses medicamentos são classificados em diferentes classes relacionadas pelas variações em suas estruturas e alvos farmacológicos. A compreensão da fisiopatologia da depressão engloba algumas hipóteses, dentre as quais a de que os níveis de determinados neurotransmissores poderiam estar alterados, particularmente serotonina e norepinefrina, tornando a regulação desses níveis o principal alvo farmacológico desses medicamentos. Os mais antigos pertencem à classe dos antidepressivos tricíclicos (ATC) e os inibidores da monoaminoxidase (IMAO). Antidepressivos tricíclicos são assim chamados por apresentarem um núcleo com três anéis, tendo a imipramina e amitriptilina como protótipos e suas ações incluem a inibição do transporte de norepinefrina e também de serotonina. Os inibidores da monoaminoxidase bloqueiam a atividade de enzimas monoaminoxidase tipo A e tipo B (MAO-A e MAO-B, respectivamente) que estão envolvidas na degradação intraneuronal de serotonina, norepinefrina e dopamina,

interferindo nos níveis teciduais desses neurotransmissores. Apesar da eficácia, a incidência de efeitos colaterais significativos limita a utilização dos antidepressivos tricíclicos e inibidores da monoaminoxidase. Por exemplo, os antidepressivos tricíclicos podem provocar efeitos como secura da boca, disfunções motoras no trato gastrointestinal superior e inferior, constipação, tonturas, taquicardia, palpitações, visão borrada e retenção urinária. Por outro lado, os inibidores da monoaminoxidase podem produzir crises hipertensivas se tomados junto com determinados alimentos ou suplementos dietéticos que contêm quantidades excessivas de tiramina. Além desses, outros fármacos também são efetivos no tratamento da depressão e são classificados como antidepressivos “atípicos” (ex.: bupropiona, mirtazapina), inibidores da recaptção de serotonina e de noradrenalina (ex.: venlafaxina, duloxetina), mas atualmente, a classe de antidepressivos mais comumente usada na clínica são os inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ex.: fluoxetina, paroxetina, sertralina). Esses fármacos bloqueiam mais seletivamente o transporte neuronal de serotonina, aumentando sua disponibilidade sináptica e promovendo a ativação de diferentes tipos de receptores 5-HT pós-sinápticos (FABRE *et al.*, 1995; FRAZER, 1997; BECKER *et al.*, 2004; TIERNEY, 2007).

A crescente necessidade de minimizar os efeitos colaterais dos antidepressivos bem como melhorar a qualidade de vida dos pacientes fez com que desde a sua introdução em 1987, os inibidores seletivos da recaptção de serotonina fossem preferencialmente utilizados na terapêutica antidepressiva, em substituição aos antidepressivos tricíclicos, principalmente em virtude de sua melhor tolerância nos casos de superdosagem, melhor perfil em relação aos efeitos colaterais, similaridade de eficácia e menores taxas de abandono do tratamento (ANDERSON, 2000; MEIJER *et al.*, 2004; WOLF; HOPKINS, 2008; KITAICHI *et al.*, 2010).

Apesar dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina apresentarem efeitos adversos mais bem tolerados, os pacientes comumente apresentam episódios de náuseas e vômitos, cefaléia e disfunção sexual, incluindo inibição da ejaculação no homem e diminuição da libido na mulher (FABRE *et al.*, 1995; VOTOLATO; STERN; CAPUTO, 2000; ANTONUCCIO, 2008).

1.1 Sertralina

É um fármaco tradicionalmente pertencente à família dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina. Foi aprovado pelo FDA (sigla da agência americana *Food and Drug Administration*) para o tratamento da depressão, transtorno obsessivo compulsivo, transtorno do pânico, transtorno do estresse pós-traumático, fobia social e síndrome da tensão pré-menstrual e/ou transtorno disfórico pré-menstrual (LOWENSTEIN *et al.*, 2007). *In vitro*, demonstrou ser um inibidor potente e específico da recaptação neuronal de serotonina (5-HT), mas com fraco efeito inibitório sobre a recaptação neuronal de dopamina e norepinefrina. De sua ação resulta uma potencialização dos efeitos da 5-HT em animais sem aumento da atividade catecolaminérgica. Em animais, é desprovida de atividades estimulantes, sedativas, anticolinérgicas ou cardiopáticas. Em voluntários saudáveis, a sertralina não causou sedação e não interferiu com a atividade psicomotora, não possuindo afinidade significativa por receptores colinérgicos (muscarínicos), serotoninérgicos, dopaminérgicos, adrenérgicos, histaminérgicos, GABAérgicos ou benzodiazepínicos (FABRE *et al.*, 1995; FRAZER, 1997; MUIJSERS; PLOSKER; NOBLE, 2002).

Embora com incidência de efeitos colaterais mais toleráveis que os antidepressivos clássicos, estudos com doses múltiplas de sertralina revelaram serem eles presentes, incluindo boca seca e aumento da sudorese, tontura e tremor, diarreia/fezes amolecidas, dispepsia e náusea, anorexia, insônia e sonolência, disfunção sexual (principalmente retardo na ejaculação). Após sua inserção no mercado, foram relatados também vários outros efeitos como dor torácica, edema periférico, hipertensão, palpitações, edema periorbital, síncope e taquicardia; dor abdominal, aumento do apetite, constipação, pancreatite e vômito; broncoespasmo; incontinência urinária e retenção urinária (ANDERSON, 2000; MUIJSERS; PLOSKER; NOBLE, 2002; GARTLEHNER *et al.*, 2007; LOWENSTEIN *et al.*, 2007; SERRETTI; CHIESA, 2009). Esses efeitos podem ser causados por ações diretas da sertralina em diferentes tecidos corporais.

1.2 O sistema urinário

O sistema urinário é um conjunto de órgãos envolvidos com a formação, armazenamento e eliminação da urina. Os rins são órgãos responsáveis pela formação contínua da urina, enquanto que a bexiga e a uretra são unidades funcionais do chamado trato urinário inferior, responsáveis pelo seu armazenamento e eliminação. Funcionalmente, a bexiga pode ser dividida em duas regiões distintas: o corpo, que está localizado acima do orifício ureteral e a base, região que se estende desde a junção ureterovesical, englobando o trígono até a uretra. A uretra é constituída de músculo liso e possui contribuição de musculatura esquelética. A bexiga urinária é um órgão oco revestido por músculo liso sendo a superfície externa coberta pela camada serosa, composta de fibras de colágeno e elastina e a interna constituída pela mucosa, recoberta internamente por células epiteliais protetoras que compõem o urotélio. A sua parede é formada por músculo liso, conhecido como músculo detrusor, e grandes quantidades de tecido conjuntivo, que sustentam o aumento de tensão durante o enchimento normal do órgão (LONGHURST; UVELIUS, 2001; ANDERSSON; ARNER, 2004; FRY *et al.*, 2009).

1.3 Funções gerais do rim

Os rins executam funções essenciais, como a regulação da composição e do volume dos líquidos corporais, através da excreção de água e de solutos principalmente por alterações na reabsorção ou na secreção tubular. Além disso, excretam alguns produtos de degradação do metabolismo, como uréia, creatinina e ácido úrico. Asseguram a eliminação de substâncias estranhas, como drogas, pesticidas e outras substâncias químicas do organismo. Sintetizam e secretam hormônios que participam na regulação da hemodinâmica sistêmica e renal (renina, angiotensina II e prostaglandinas), na produção de células vermelhas (eritropoietina) e no metabolismo mineral (calcitriol, metabólito ativo da vitamina D₃) (ROSE; RENNKE, 1999; STANTON; KOEPPEN, 2009).

1.4 O rim como órgão produtor de urina

A formação de urina pelos rins é iniciada pela filtração do sangue, sendo esse fenômeno observado no glomérulo renal. No organismo, estima-se uma quantidade significativa dessas estruturas, algo em torno de 1 milhão de unidades em cada rim humano. Esses componentes corporais são constituídos por aglomerados de vasos capilares dispostos em estruturas microscópicas envolvidas por uma cápsula de tecido epitelial com abertura para a região tubular do néfron, a unidade funcional do rim, assim chamada por ser a menor unidade fisiológica capaz de produzir a urina. Assim, compõem a chamada barreira de filtração glomerular a camada de células endoteliais capilares, a membrana basal e a camada de células epiteliais viscerais, os podócitos. Essa estrutura representa a camada pela qual deve haver passagem seletiva de substâncias que irão compor o filtrado glomerular (GUYTON; HALL, 2006; COSTANZO, 2007)

O controle da filtração glomerular é exercido principalmente pela regulação da resistência à passagem do fluxo sanguíneo através dos glomérulos, sendo a arteríola aferente e a arteríola eferente agentes principais desse controle. Através de mudanças na contratilidade desses vasos, o organismo controla vários parâmetros importantes da função renal como o ritmo de filtração glomerular, que representa a quantidade de líquido formado na cápsula de Bowman em determinado intervalo de tempo. Assim, mudanças na resistência de passagem do sangue por essas arteríolas podem produzir alterações importantes na pressão hidrostática e na pressão oncótica glomerular, forças determinantes no microambiente renal para determinação da filtração. Para alcançar essa regulação, que evita alterações bruscas da pressão arterial sistêmica ao glomérulo renal, o organismo utiliza hormônios e agentes locais produzidos por estruturas como a mácula densa e as células justaglomerulares, além de influências neurais mediadas principalmente pelo sistema nervoso simpático (COSTANZO, 2007; STANTON KOEPPEN, 2009).

Uma vez filtrado, o líquido formado na cápsula de Bowman prosseguirá pelos túbulos renais, inicialmente pelo túbulo proximal. Essa área é possuidora de especialização fisiológica para o transporte de solutos que serão retirados do líquido tubular para o ambiente intersticial renal e daí para o sangue, exercendo assim seu papel de promover reabsorção, principalmente. Existem vários tipos de transportes

nessa região, alguns ativos, outros passivos. Nessa região, haverá reabsorção completa de solutos como glicose e aminoácidos em condições fisiológicas. Assim, o líquido que entrará na alça de Henle será praticamente destituído desses elementos (CÓRDOVA, 2006; WIDMAIER *et al.*, 2006).

A alça de Henle é considerado o segmento diluidor do néfron, reabsorvendo principalmente solutos em relação à água. Isso transformará o líquido tubular em um líquido hipotônico o que proporcionará à parte final do néfron a reabsorção de água em virtude do gradiente osmótico que será gerado entre a luz tubular e o interstício renal na altura do ducto coletor (GUYTON; HALL, 2006).

A reabsorção de água que determinará o débito urinário é função da região final do néfron, o ducto coletor. Responsivo a hormônios, essa região é capaz de produzir canais de água, as aquaporinas, em resposta ao ADH, fazendo que ocorra efeito antidiurético. O ducto coletor também é responsivo a outros hormônios, como o Peptídeo Natriurético Atrial e a aldosterona, antagônicos fisiologicamente. Enquanto o primeiro aumenta a excreção renal de sódio ao ser liberado pelas células cardíacas, o segundo diminui a perda desse íon por abrir canais epiteliais de Na^+ na membrana luminal da célula do ducto coletor (STANTON; KOEPPEN, 2009).

1.5 Micção

É um evento fisiológico complexo que está sob controle voluntário e depende da maturação do sistema nervoso (FOWLER; GRIFFITHS; de GROAT, 2008). A inervação do trato urinário inferior é proveniente de três fontes de nervos periféricos: parassimpático sacral (nervos pélvicos), simpático tóraco-lombar (nervos hipogástricos e cadeia simpática) e somático sacral (nervos pudendos) que contêm vias aferentes e eferentes provenientes da medula espinhal. O detrusor, principal porção do músculo liso da bexiga recebe influência neural principalmente parassimpática, enquanto que a inervação do colo da bexiga e da uretra relacionada ao esfíncter interno tem inervação primordialmente simpática. O músculo estriado do esfíncter uretral externo é innervado pelos nervos somáticos (de GROAT, 2006; FOWLER; GRIFFITHS; de GROAT, 2008).

A integração coordenada entre músculo liso da bexiga urinária e músculo estriado do esfíncter uretral externo permite o armazenamento e a eliminação de urina, sendo essa coordenação regulada por sistemas neurais localizados no cérebro e na medula espinhal que são estimulados por *inputs* aferentes da bexiga (CHANG *et al.*, 2007).

A fase de armazenamento da urina é caracterizada pela manutenção de baixa pressão intravesical, ausência de contração involuntária do músculo detrusor e aumento da pressão uretral. Essas características são resultado da viscoelasticidade intrínseca da parede vesical associada à quiescência dos estímulos parassimpáticos, ativados principalmente no processo de esvaziamento. As contribuições neurogênicas que mantêm a bexiga inativa durante a fase de armazenamento caracterizam-se principalmente pela inibição dos impulsos eferentes parassimpáticos e ativação de eferentes simpáticos e somáticos (NISHIZAWA *et al.*, 1985; ANDERSSON; WEIN, 2004; YOSHIMURA *et al.*, 2008). Ao alcançar um nível limiar de volume de urina, os receptores de estiramento localizados na parede vesical são ativados, gerando sinais aferentes que caminham pelo nervo pélvico até a medula espinhal sacral, ascendem pelo trato espinotalâmico lateral e ativam o centro pontino da micção. Este envia sinais eferentes promovendo a contração da bexiga acompanhada de um relaxamento uretral favorecendo o esvaziamento da bexiga urinária. Durante a micção, o nervo sacral (pélvico) fornece *input* excitatório (colinérgico e purinérgico) para a bexiga e inibitório (nitrérgico) para a uretra. Esses sistemas periféricos são integrados através de regulações excitatórias e inibitórias provenientes da medula espinhal e do cérebro (de GROAT, 2006; FOWLER; GRIFFITHS; de GROAT, 2008; YOSHIMURA *et al.*, 2008).

Vários estudos tem demonstrado que a serotonina e seus receptores são envolvidos no controle central da função do trato urinário inferior (KADEKAWA *et al.*, 2009) e que seus efeitos podem ser inibitórios e excitatórios na atividade reflexa da bexiga dependendo do tipo de receptor ativado (de GROAT, 2006). Os neurônios serotoninérgicos são localizados no núcleo da rafe do tronco cerebral e projetam seus axônios amplamente em todo o cérebro e medula espinhal, incluindo o corno dorsal da medula espinhal, o núcleo simpático, o núcleo parassimpático e o núcleo motor do esfíncter uretral (núcleo de Onuf) (KADEKAWA *et al.*, 2009).

1.6 Músculo Liso

É um importante componente da maioria dos sistemas fisiológicos, como trato urinário, trato gastrintestinal, vasos sanguíneos e vias respiratórias. É formado por células fusiformes com núcleo único, localizado centralmente. Sua membrana apresenta numerosas invaginações em fileira, denominadas cavéolas, análogas aos túbulos T, no músculo esquelético que servem para aumentar a área de superfície para o influxo de íons. Associada às cavéolas e ao sarcolema encontra-se o retículo sarcoplasmático (RS) não tão extenso quanto encontrado em outros tipos de músculo. Além disso, o músculo liso possui actina e miosina, formando filamentos finos e grossos em proporções maiores do que no músculo esquelético e também filamentos intermediários citoesqueléticos, responsáveis por contribuir na transmissão de força a outras células adjacentes e ao tecido conjuntivo de fixação (ANDERSSON; ARNER, 2004; FRY *et al.*, 2009)

Emil Bozler (1941) definiu o músculo liso em duas classes baseado em seu comportamento contrátil: unitário e multiunitário. O músculo liso da bexiga é classificado como músculo liso unitário por se comportar como sincício funcional. Suas fibras estão dispostas sob a forma de lâminas ou feixes e suas membranas celulares estão interconectadas por junções comunicantes (*gap junctions*). Essas junções constituem vias de baixa resistência permitindo a livre passagem de íons de uma célula para outra, como também a propagação do potencial de ação, fazendo com que todas as fibras contraíam em conjunto. Todavia, a artéria mesentérica é classificada como músculo liso multiunitário. Nesse tipo de músculo, as fibras musculares são individualizadas e operam independentemente uma das outras. São amplamente inervadas pelo sistema nervoso autônomo e controladas principalmente por sinais nervosos. Raramente apresentam contrações espontâneas. Na prática, os músculos lisos multiunitários podem ser muito raros, visto que a grande maioria dos músculos lisos apresenta algum grau de interligação entre as células. No entanto, embora o músculo detrusor apresente várias das características atribuídas à músculo liso unitário, também é densamente inervado e funcionalmente requer uma coordenação nervosa para realizar a micção, características atribuídas ao padrão multiunitário (ANDERSSON; ARNER, 2004).

1.7 Acoplamento excitação-contração no músculo liso

A maquinaria contrátil do músculo liso inicialmente é ativada pela entrada do Ca^{+2} , que resulta em saturação da calmodulina (CaM) através da ocupação dos seus quatro sítios de ligação. O complexo cálcio-calmodulina (4Ca^{+2} -CaM) ativa a quinase da cadeia leve de miosina (MLCK, do inglês *myosin light chain kinase*) que posteriormente fosforila a cadeia leve da miosina (MLC, do inglês *myosin light chain*) e dessa forma promove a interação miosina-actina, gerando a contração. Por outro lado, quando a concentração citoplasmática do Ca^{+2} diminui, a calmodulina dissocia-se da quinase da cadeia leve de miosina, inativando-a. Sob essas condições, a fosfatase da cadeia leve de miosina (MLCP, do inglês *myosin light chain phosphatase*) desfosforila a cadeia leve da miosina induzindo o relaxamento (ANDERSSON; ARNER, 2004; AKATA, 2007; FRY *et al.*, 2009). Existem alguns mecanismos que reduzem o nível de Ca^{+2} livre no citoplasma incluindo a bomba Ca^{+2} - Mg^{+2} -ATPase presente na membrana plasmática (PMCA) que realiza o transporte ativo através do citoplasma para o meio extracelular, a bomba Ca^{+2} -ATPase presente no retículo sarcoplasmático (SERCA) que realiza o transporte ativo através do citoplasma para o reservatório intracelular e o trocador $3\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$ localizado na membrana plasmática. Acredita-se que ambas PMCA e SERCA apresentam um papel crucial na redução da concentração de Ca^{+2} livre no citoplasma (MARÍN *et al.*, 1999; AKATA, 2007).

A fonte de Ca^{+2} responsável pela ativação do processo contrátil pode ser proveniente do meio extracelular ou mobilizada a partir dos estoques intracelulares do retículo sarcoplasmático (FRY *et al.*, 2009). A contribuição dessas duas fontes de Ca^{+2} pode definir um padrão de resposta contrátil fásico e tônico (BOLTON, 1979). Os canais para Ca^{+2} presentes no plasmalema são as principais vias pelos quais o Ca^{+2} entra nas células musculares lisas, incluindo os dependentes de voltagem (VOC, do inglês *Voltage-Operated Channel*), operados por receptor (ROC, do inglês *Receptor-Operated Channel*) e regulados por estoque (SOC, do inglês *Store-Operated Channel*) (SOMLYO; SOMLYO, 1994; ORALLO, 1996; AKATA, 2007). Os canais de Ca^{+2} dependentes de voltagem (VOCs) são ativados pela despolarização da membrana plasmática promovendo o influxo de Ca^{+2} , esse acoplamento é definido como eletromecânico (SOMLYO; SOMLYO, 1994). Na maioria dos

músculos lisos, os canais tipo L são os mais numerosos VOCs e são provavelmente o principal caminho de influxo de Ca^{+2} (ORALLO, 1996). De acordo com Wegener *et al.* (2004) estudos em camundongos knockout-Cav1.2 em músculo liso demonstraram que os canais de cálcio tipo L são fundamentais para a contração da bexiga urinária. E o bloqueio desses canais induz um relaxamento em músculo liso vascular (BADAWI *et al.*, 2006)

A abertura dos canais de Ca^{+2} operados por receptor (ROCs) é decorrente de um acoplamento farmacomecânico envolvendo a ligação entre um agonista contrátil e um receptor específico presente na superfície celular sem, no entanto, alterar o potencial da membrana (SOMLYO; SOMLYO, 1994). O mecanismo mais importante do acoplamento farmacomecânico envolve a ativação da fosfolipase C por receptores acoplados à proteína G liberando o inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) e o diacilglicerol (DAG) como segundos mensageiros. O IP_3 difunde-se a partir da membrana celular para o citosol e abre canais para Ca^{+2} no retículo sarcoplasmático sensíveis à IP_3 , liberando Ca^{+2} (AKATA, 2007). A probabilidade de abertura dos VOCs aumenta com a despolarização da membrana, enquanto que a abertura dos ROCs é principalmente controlada pela interação entre agonista-receptor. Entretanto, essa definição não exclui a possibilidade que alguns ROCs possam ser dependentes de voltagem (AKATA, 2007). Os canais de Ca^{+2} regulados por estoque (SOC) são ativados em resposta à depleção do Ca^{+2} do retículo sarcoplasmático (PAREKH; PUTNEY, 2005). A entrada de Ca^{+2} através dos SOCs é considerada diferente da entrada de Ca^{+2} através dos ROCs. O esgotamento do retículo sarcoplasmático age como principal estímulo para a ativação da entrada de Ca^{+2} através dos SOCs. Além disso, evidências eletrofisiológicas indicam que esses canais são mais seletivos para Ca^{+2} (PAREKH; PUTNEY, 2005).

Sabe-se que o retículo sarcoplasmático apresenta um papel essencial na regulação da concentração de Ca^{+2} citoplasmática (AKATA, 2007). Além do receptor de IP_3 , que é capaz de liberar uma grande quantidade de Ca^{+2} para o citosol e desempenhar um papel fisiológico fundamental na mobilização de Ca^{+2} , o retículo sarcoplasmático também possui um canal de Ca^{+2} dependente de Ca^{+2} chamado de rianodina, sensível à rianodina e cafeína. A abertura desse canal é de curta duração, resultando em elevações localizadas do Ca^{+2} citoplasmático (SOMLYO; SOMLYO, 1994; ORALLO, 1996).

2 JUSTIFICATIVA

Embora disfunções renais não tenham sido mencionadas como efeitos colaterais em estudos que estabeleceram a eficácia e a segurança da sertralina (FINKEL *et al.*, 2004; LÖWE *et al.*, 2005; TORTA; SIRI; CALDERA, 2008), a sertralina parece ser farmacologicamente ativa nos rins e vasos sanguíneos, sendo essa hipótese baseada em vários argumentos. Já foi relatada inibição induzida por essa substância em canais de Ca^{2+} do tipo L e em canais de K^+ em miócitos ventriculares de rato (PARK *et al.*, 1999). Em artéria mesentérica humana, a sertralina inibe as contrações induzidas por KCl e norepinefrina, ação provavelmente mediada por sua capacidade de inibir o influxo de Ca^{2+} pela membrana celular (VILA *et al.*, 1999). Em aorta de rato e em vasos coronários apresentou efeito vasodilatador independente da integridade do endotélio (van MELLE *et al.*, 2004). Em canal deferente de ratos, a sertralina também apresentou efeitos inibitórios na elevação da pressão intraluminal induzida pela estimulação do nervo hipogástrico (KIM *et al.*, 2004), assim como inibiu a contração noradrenérgica, a potássica e a serotoninérgica nesse tecido, ações antagonizadas pela ativação de canais de Ca^{2+} (KALYONCU; OZYAVUZ; KARAOGLU, 1999). A sertralina também apresentou efeitos inibitórios na hipercontratilidade do músculo detrusor de ratos induzida pelo teste do nado forçado (BILGE *et al.*, 2008). Finalmente, estudos anteriores mostraram sua eficácia contra a hipotensão causada por hemodiálise, provavelmente por melhorar a regulação autonômica em resposta à hipovolemia (DHEENAN *et al.*, 1998; PERAZELLA, 2001; YALCIN *et al.*, 2003). Assim, a sertralina também pode produzir efeitos cardiovasculares e urinários.

Os efeitos urinários dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina parecem ser diferentes em relação aos antidepressivos tricíclicos. Por suas ações noradrenérgicas e anticolinérgicas, podem não somente provocar incontinência, mas também provocar dificuldades em iniciar a micção com perda de urina em pequenos volumes, fluxo urinário diminuído, bexiga atônica e obstrução completa, especialmente em pacientes com obstrução pré-existente (REMICK, 1988). Entretanto, alguns casos de dificuldades miccionais foram relatados em pacientes em uso de sertralina (LOWESTEIN *et al.*, 2007). Isso sugere que os efeitos da

sertralina, não são restritos apenas às suas ações serotoninérgicas centrais, mas também às interferências periféricas.

Portanto, estabelecer os efeitos da sertralina sobre o sistema urinário pode ser de grande importância visto que, a depressão é o problema psicológico mais comum, e este antidepressivo é frequentemente prescrito aos pacientes que sofrem com doença renal terminal (WUERTH *et al.*, 2001). Por outro lado, a serotonina exerce um importante papel como neurotransmissor no trato urinário (ANDERSSON; PEHRSON 2003) e, uma vez que um inibidor de sua recaptação pode afetar a micção alterando o controle nervoso da bexiga, explorar os efeitos da sertralina diretamente na musculatura vesical e na função renal significa também compreender as relações fisiológicas da serotonina no sistema urinário.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Estudar os efeitos da sertralina sobre o trato urinário de ratos incluindo a função miccional em animais anestesiados, a função renal em modelo de rim isolado, bem como a contratilidade de tecidos vascular e vesical.

3.2 Objetivos Específicos

- Relatar os efeitos da sertralina sobre a função miccional de ratos anestesiados;
- Estudar os efeitos da sertralina em rim isolado e tentar correlacioná-los com os efeitos da sertralina em tecidos isolados;
- Estabelecer o efeito da sertralina nos parâmetros contráteis de anéis de artéria mesentérica e tiras isoladas de bexiga;
- Esclarecer o(s) possível(is) mecanismo(s) de ação dos efeitos observados para a sertralina sobre a contratilidade do músculo liso vascular e urinário.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Farmacologia de Venenos e Toxinas, Laboratório Escola Luís Capelo e Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso, todos do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Também foram realizadas análises no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem.

4.1 Aspectos éticos

Esse trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) da Universidade Federal do Ceará tendo sido aprovado sob o número de protocolo 93/09. A utilização dos animais antes e durante os experimentos obedeceu às normas de manipulação de animais de laboratório preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

4.2 Animais

Ratos Wistar machos, pesando entre 200 e 300 g foram utilizados para a realização dos experimentos, sendo estes provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará, mas mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina. O acondicionamento dos animais foi feito em caixas de polipropileno, sob condições de temperatura constante entre 22 a 26°C, com um ciclo dia/noite padrão (12h claro / 12h escuro) com acesso a ração (Biotec®) e água *ad libitum*.

4.3 Drogas e soluções

Sertralina, etoxidiglicol (éter monoetílico de dietilenoglicol), cloreto de potássio (KCl), carbacol (CCh), acetilcolina (ACh), fenilefrina (PHE), verapamil, ácido etileno-bis (β -amino-etil-éter-N,N,N',N'-tetracético)(EGTA), albumina bovina (*grade V*), tapsigargina, cafeína e inulina foram adquiridos da companhia Sigma-Aldrich. Soluções dessas substâncias foram preparadas pela adição da substância pura diretamente em água destilada em concentrações 100 a 1000 vezes maiores que aquelas usadas na câmara durante os experimentos, exceto a sertralina, que foi dissolvida em etoxidiglicol (80%, p/v). Entretanto, as concentrações máximas desse veículo na câmara de banho jamais ultrapassaram 0,1% v/v. As soluções foram preparadas frescas e agitadas em aparelho Vortex imediatamente antes do uso. Para os procedimentos cirúrgicos, pentobarbital sódico (Cristália) e uretana foram diluídos em solução salina (NaCl 0,9%). Albumina bovina (6g%), uréia (0,075 g) e inulina (0,075 g) foram adicionadas à solução fisiológica para perfazerem um volume final de 100 mL (pH 7,4), apenas nos experimentos de perfusão renal. Nos experimentos *in vitro*, foram feitas soluções fisiológicas sem cálcio (Ca^{2+}), preparadas pela omissão do cloreto de cálcio (CaCl_2) e adição de EGTA.

Soluções fisiológicas usadas no presente estudo:

Tabela 1 – Solução de Tyrode (pH = 7,4)

Composição	Quantidade (mmol/L)
NaCl	136,00
KCl	5,00
NaH_2PO_4	0,36
MgCl_2	0,98
MgSO_4	1,18
CaCl_2	2,00
NaHCO_3	11,9
Glicose	5,50
Água destilada q.s.p.	1,00L

Tabela 2 – Solução de Krebs-Henseleit (pH = 7,4)

Composição	Quantidade (mmol/L)
NaCl	118,00
KCl	4,70
NaH ₂ PO ₄	1,20
MgSO ₄	1,20
CaCl ₂	2,50
NaHCO ₃	25,00
Glicose	10,00
Água destilada q.s.p.	1,00L

4.4 Cistometrografia

4.4.1 Sistema de registro

O sistema de registro da pressão intravesical foi composto por bomba de infusão contínua conectada em chave T ao cateter vesical e sistema de aquisição de sinais biológicos (PowerLab/8sp, ADInstruments) para obtenção de registros urodinâmicos contínuos de acordo com a figura abaixo.

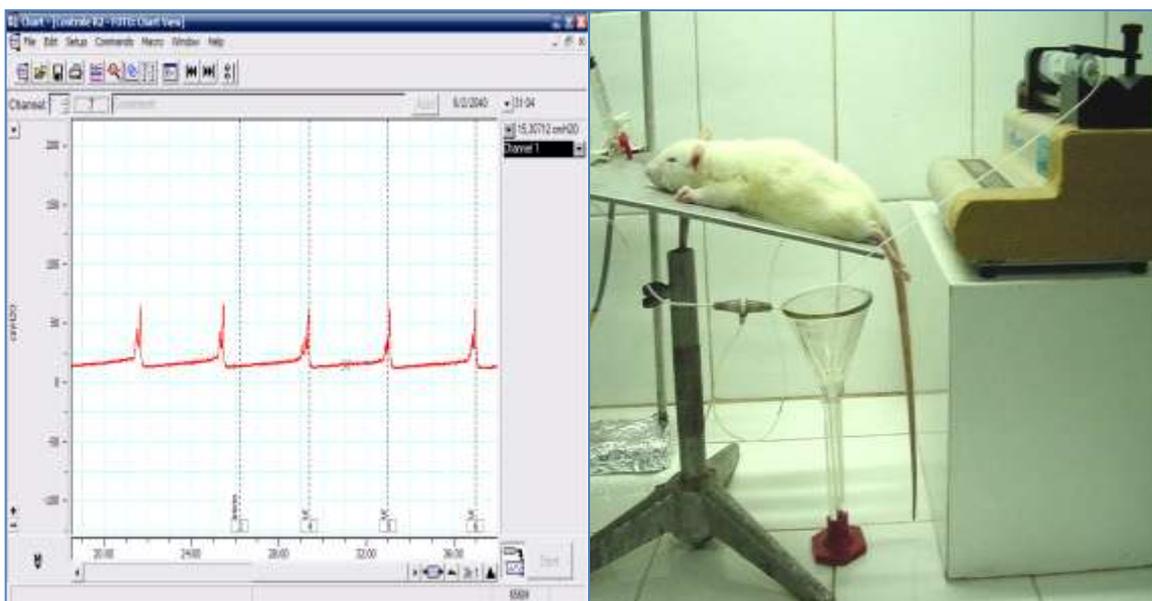


Figura 1 - Sistema para registro dos parâmetros miccionais
 Fonte: Laboratório Escola Luiz Capelo (LELC)

4.4.2 Calibração do sistema de registro

A calibração do sistema foi realizada antes de iniciar cada experimento, através de uma seringa contendo solução de NaCl 0,9% acoplada a manômetro e conectada ao transdutor de pressão do sistema de aquisição de sinais biológicos, determinando-se os níveis de 0 e 100 cmH₂O para referência durante o experimento.

4.4.3 Cirurgia

Os animais foram pesados e anestesiados com uretana (1,2 g/kg, i.p.). A tricotomia e assepsia abdominal foram realizadas após os animais demonstrarem ausência de resposta ao toque da pata (aproximadamente 15 -30 min após injeção de uretana). A exposição da bexiga urinária ocorreu após pequena incisão abdominal mediana (Figura 2). O cateter de polietileno (PE-50) foi inserido na bexiga através de incisão no ápice da parede da bexiga (Figura 3) e fixado com fio de sutura oftálmica 6-0 (Figura 4). A extremidade distal do tubo de polietileno (PE-50) foi preenchida com solução salina e cuidadosamente selada para evitar entrada de ar no lúmen da bexiga. O cateter foi externalizado e a incisão fechada com sutura de nylon 4-0 (Figura 5). A veia femural foi exposta para administração das substâncias.



Figura 2 – Incisão abdominal mediana para visualização da bexiga urinária



Figura 3 – Incisão no ápice da parede da bexiga urinária



Figura 4 – Introdução e fixação do tubo de polietileno (PE-50) na bexiga



Figura 5 – Fechamento da incisão abdominal

4.4.4 Protocolo experimental para avaliação cistometrográfica

Para esse estudo, só foram utilizados os ratos que não apresentaram movimentos espontâneos e ausência de movimento aos sinais de barulho, após o posicionamento do animal no sistema. A temperatura corporal foi mantida entre 36 - 37°C através de lâmpada incandescente acesa próxima ao animal. Todos os experimentos foram conduzidos entre 9:00 – 17:00h para minimizar os efeitos das alterações circadianas na função de micção (SMITH; KUCHEL, 2010). Por ocasião dos experimentos, os ratos foram posicionados em mesa com abertura abaixo do meato uretral por onde o tubo de polietileno (PE-50) foi conectado via chave T ao transdutor de pressão e à bomba de infusão contínua. A bexiga foi continuamente infundida com salina à temperatura ambiente (23°C) através de bomba de infusão ajustada para fluxo de 0,06 mL/min. Em todos os animais, a estabilização dos parâmetros fisiológicos foi obtida entre 30 e 45 min do início da infusão e o registro dos ciclos miccionais só foi iniciado após esse período. A administração de substâncias ocorreu somente após registro de pelo menos quatro ciclos miccionais reprodutíveis (período controle) e os registros experimentais foram obtidos por 20 min ininterruptos (Figura 6). Em cada animal os parâmetros avaliados (Figura 7) foram: frequência de micção (definida como o número de eventos miccionais em dado intervalo de tempo), intervalo inter-contração (definido como o tempo entre dois episódios miccionais), pressão intravesical máxima (definida como a pressão da bexiga necessária para evocar uma micção) e pressão basal de enchimento (definida como a menor pressão na bexiga após a micção) (KULLMANN *et al.*, 2008). Ao final de cada experimento, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e verificado a posição correta do cateter vesical. O critério de inclusão dos animais nas análises estatísticas se deu quando a posição do cateter estava correta, considerando que a ponta do cateter permanecia dentro do lúmen da bexiga e o mesmo não tocava a parede da bexiga e também não estava torcido e não apresentava vazamentos.

Os grupos experimentais utilizados nesse protocolo foram divididos em:

Grupo 1 – SERTRALINA (20 mg/kg)

Grupo 2 – SALINA (1 mL/kg)

Grupo 3 – VEÍCULO (ETOXIDIGLICOL)

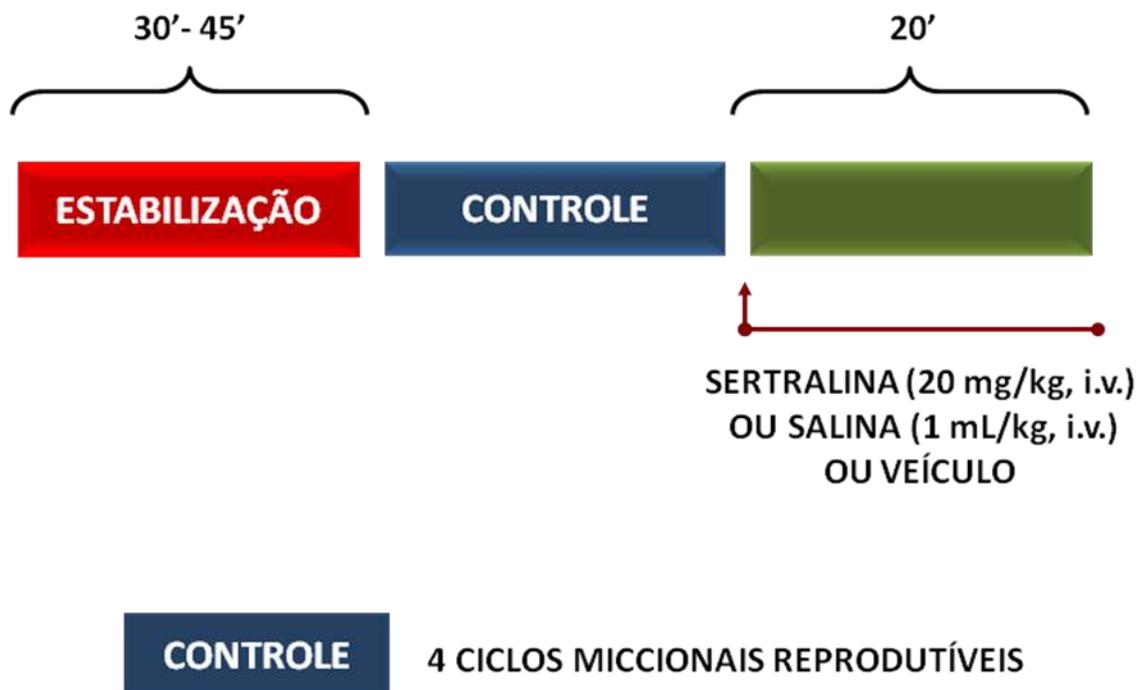
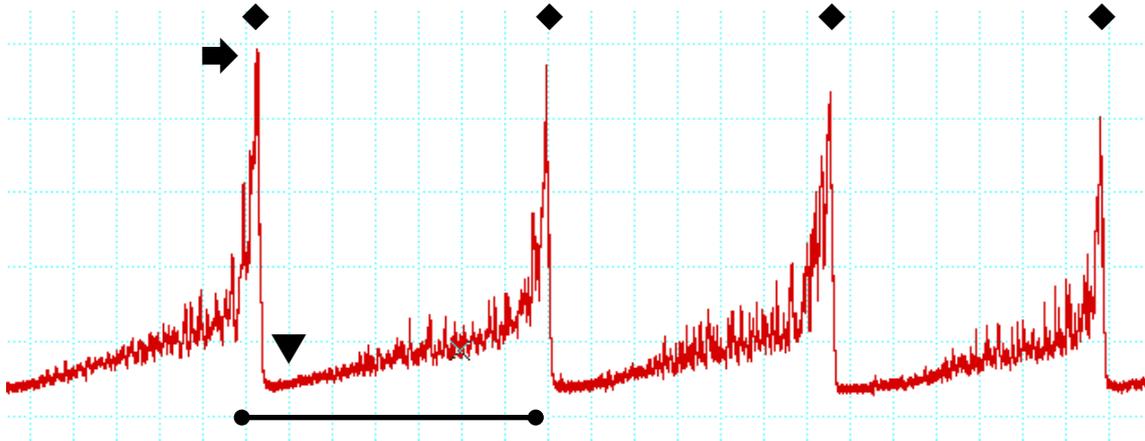


Figura 6 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação cistométrica



(◆) frequência de micção

(● ——— ●) intervalo inter-contracção

(▼) pressão basal de enchimento

(➡) pressão intravesical máxima

Figura 7 – Parâmetros avaliados na cistometrografia

4.5 Perfusão renal

4.5.1 Sistema de perfusão de rim isolado

A técnica de perfusão de rim isolado permite estudar mecanismos que controlam a função renal com a vantagem de não sofrer influências sistêmicas (NIZET, 1975). A utilização do modelo experimental de perfusão de rim isolado

(Figura 8) foi baseado no trabalho de Fonteles *et al.* (1983). Esse modelo consiste em dois subsistemas, um *in situ* e outro *in vitro* em circuito fechado, para realização da perfusão, ambos mantidos à temperatura de 37°C. A vantagem desse modelo experimental é permitir a manutenção constante dos parâmetros funcionais renais, utilizando pequenas quantidades de albumina na solução perfusora, com oxigenação contínua através de uma mistura carbogênica (95% O₂ – 5% CO₂) acoplada ao próprio sistema (Figura 8).

4.5.2 Calibração do sistema de perfusão de rim isolado

Antes de iniciar os experimentos foi feita a calibração do sistema com solução de NaCl 0,9% mantida à 37°C. Para cada unidade da bomba peristáltica (Haake, Alemanha) (1, 2, 3, 4 e 5) foram observados os seguintes parâmetros: pressão perfusão (mmHg), fluxo da solução no sistema (L/min) e o volume de solução coletado em um minuto (mL/min), respeitando um intervalo de 2 minutos entre as unidades. As figuras 9 a 11, que representam os registros de calibração, demonstram que o sistema manteve seus parâmetros constantes.

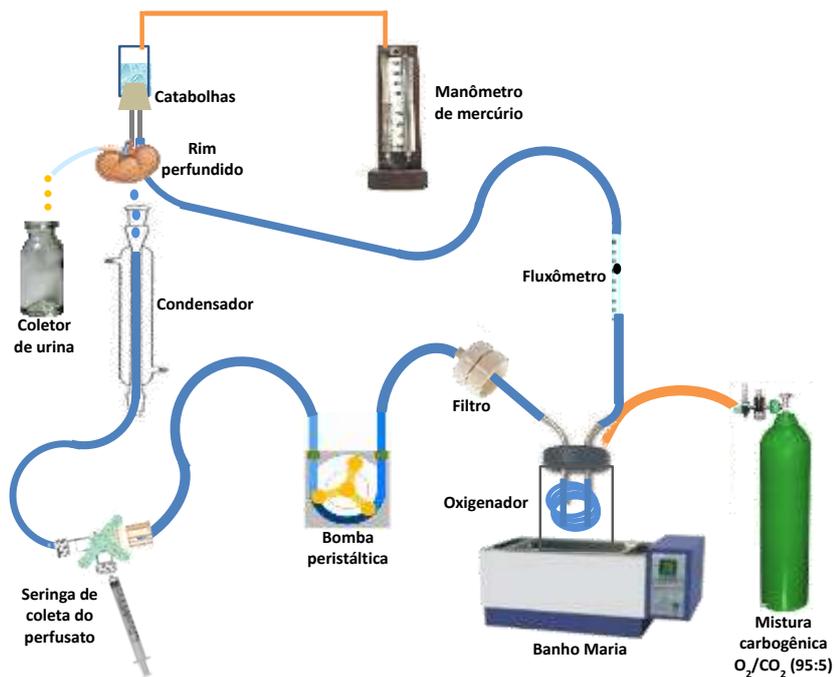


Figura 8 – Sistema para perfusão de rim isolado de rato.

No painel superior, foto do sistema utilizado.
 No painel inferior, esquema simplificado com os componentes do sistema.

Fonte: Laboratório de Farmacologia de Venenos e Toxinas (LFAVET)

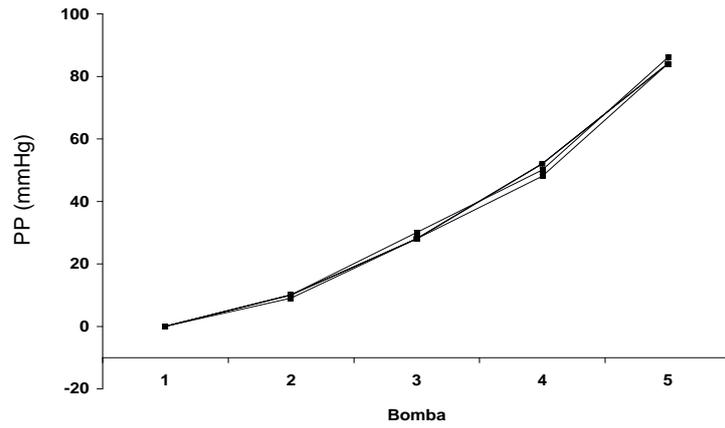


Figura 9 – Valores de pressão de perfusão (PP) registrados durante a calibração do sistema (n = 6).

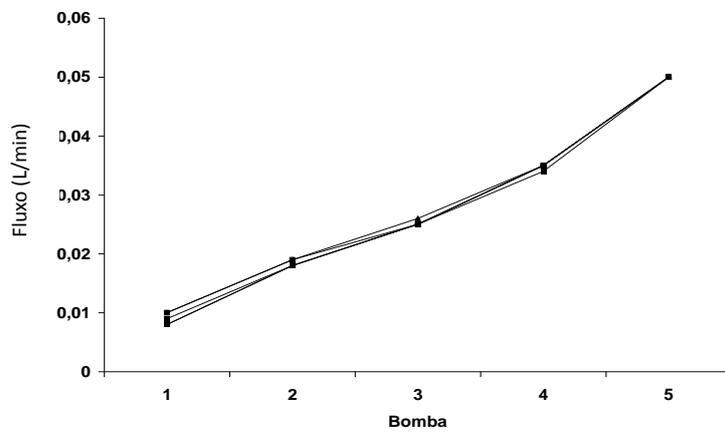


Figura 10 – Valores registrados pelo fluxômetro (L/min) durante a calibração do sistema (n = 6).

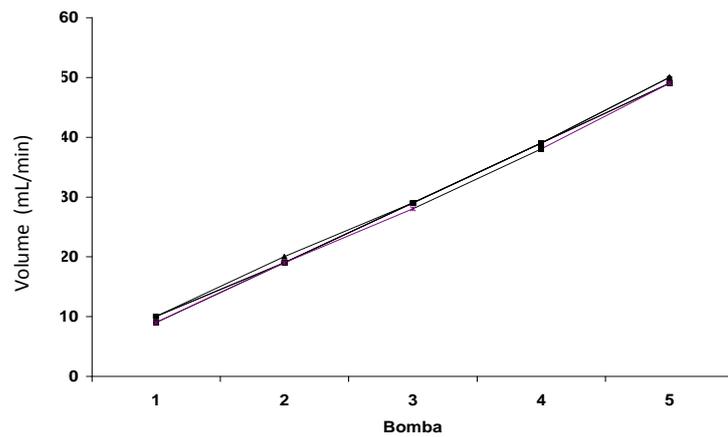


Figura 11 – Valores de volume de solução (mL/min) registrados durante a calibração do sistema (n = 6).

4.5.3 Técnica cirúrgica para isolamento do rim direito

Os animais doadores foram mantidos em jejum de 12h antes do procedimento cirúrgico, com água *ad libitum*.

A técnica cirúrgica utilizada para obtenção de rim isolado foi realizada segundo Bowman (1970) e modificada por Fonteles *et al.* (1983). Após anestesia com pentobarbital (50 mg/kg, i.p.), o animal foi colocado em decúbito dorsal, a veia femoral foi isolada e em seguida foi administrado manitol (3mL de solução 100 mg/mL) com objetivo de melhorar a visualização e posterior fixação da cânula ao ureter. Através de incisão medial no abdômen, penetrando na cavidade peritoneal, foi feito o deslocamento cuidadoso das alças intestinais, para melhor visualização do rim direito e estruturas adjacentes. O ureter direito foi identificado, dissecado e canulado com tubo PE-50. A artéria renal e artéria mesentérica superior foram devidamente identificadas e isoladas. A cápsula renal do rim direito foi cuidadosamente retirada e a artéria renal foi canulada via artéria mesentérica superior. Imediatamente após inserção do cateter na artéria renal, iniciou-se a perfusão do órgão. Sem a interrupção do fluxo perfusor, o conjunto rim-ureter foi retirado e transportado para o sistema de perfusão renal *in vitro*. Após a remoção do rim direito, os animais foram eutanasiados por exsanguinação através da artéria aorta abdominal.

4.5.4 Protocolos experimentais para ensaios com rim isolado

O rim foi perfundido por 120 min com solução de Krebs-Henseleit modificada (SKHM) contendo 6% de albumina bovina (37°C, 95% O₂ – 5% CO₂). A adição de drogas ocorreu apenas após 30 min de perfusão com SKHM, período em que os parâmetros renais se mostraram estáveis e os registros experimentais foram feitos a cada 10 min. A pressão de perfusão e o fluxo de perfusão foram registrados através de manômetro e fluxômetro, respectivamente, respeitando um intervalo de 10 minutos entre cada medida. Amostras de urina e perfusato foram coletadas a cada 10min e em seguida congeladas -20°C para posterior dosagem de sódio (Na⁺),

potássio (K^+), cloreto (Cl^-), inulina e medida da osmolaridade, importantes no cálculo dos parâmetros da função renal.

Os animais foram divididos em 5 grupos experimentais para essa metodologia, a saber:

- **GRUPO SERTRALINA 30 μ M**

A sertralina 30 μ M foi adicionada após o período de 30 min de estabilização do rim (controle) sob perfusão com SKHM e os registros e coletas foram feitos durante os 90 min seguintes (Figura 12).

- **GRUPO VEÍCULO**

Protocolo semelhante ao grupo sertralina, mas substituindo-se esta por etoxidiglicol na mesma concentração usada para dissolver a sertralina (0,03%)(Figura 12).

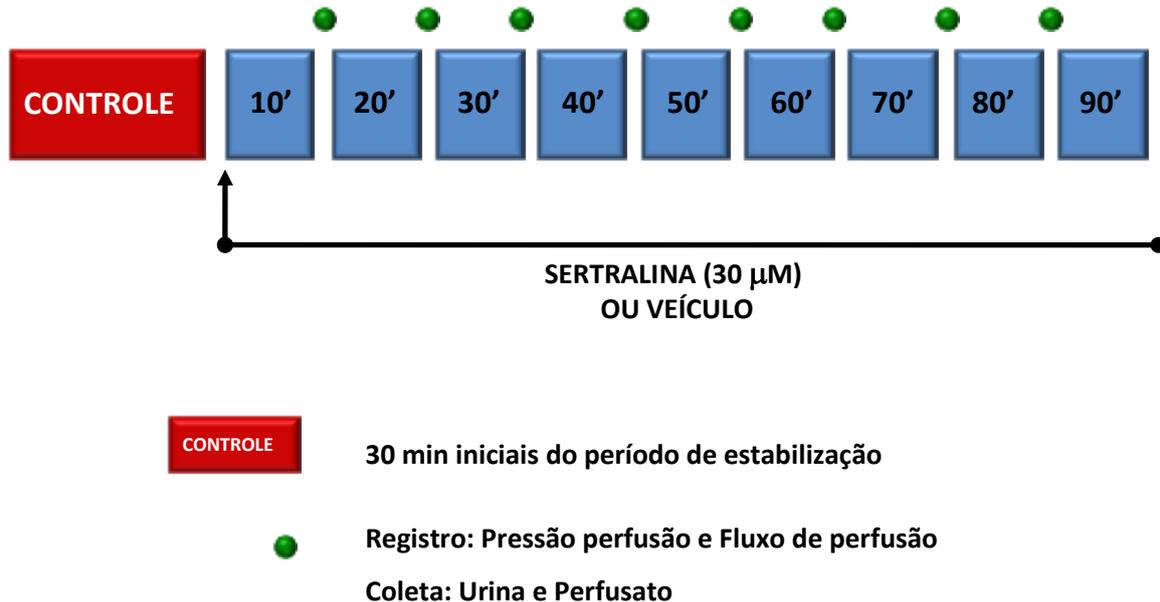


Figura 12 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina em rim isolado de rato

- **GRUPO FENILEFRINA**

Após os 30 min iniciais do período estabilização (controle), foi respeitado período adicional de 10 min com a preparação sendo perfundida com SKHM para dar início à construção de uma curva concentração-efeito mediante a adição de concentrações crescentes de fenilefrina (10^{-11} - 10^{-4} M). As concentrações foram adicionadas cumulativamente a cada 10 minutos, ao final do qual foram feitos os registros dos valores de pressão perfusão e fluxo de perfusão e a coleta das amostras correspondentes a cada concentração (Figura 13).

- **GRUPO FENILEFRINA NA PRESENÇA DE SERTRALINA 30 μ M**

Após 30 minutos iniciais de estabilização, foi adicionada sertralina (30 μ M), sendo respeitado um período de 10 min com a preparação sendo perfundida com sertralina e em seguida foi confeccionada uma curva concentração-efeito com adição de concentrações crescentes de fenilefrina (10^{-11} - 10^{-4} M). As concentrações foram adicionadas cumulativamente a cada 10 minutos, ao final do qual foram feitos os registros dos valores de pressão perfusão e fluxo de perfusão e a coleta das amostras correspondentes a cada concentração (Figura 13).

- **GRUPO FENILEFRINA NA PRESENÇA DO VEÍCULO**

Protocolo semelhante ao grupo fenilefrina na presença de sertralina, mas substituindo-se essa por etoxidiglicol na mesma concentração usada para dissolver a sertralina (0,03%) (Figura 13).



Figura 13 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da perfusão de rim isolado de rato com fenilefrina na ausência e na presença de sertralina

4.5.5 Análises bioquímicas

O método de íon eletrodo seletivo (RapidChem 744 - Bayer® diagnóstica) foi usado para avaliação das concentrações de sódio (Na^+), potássio (K^+), cloreto (Cl^-) nas amostras de urina e perfusato. As análises foram feitas no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem.

A inulina das amostras de perfusato e de urina foi determinada por hidrólise direta, conforme Walser; Davidson; Orloff (1955) e Fonteles *et al.* (1983), com modificações que permitiram a redução das quantidades de amostras e reagentes necessárias para a análise. O teor de inulina foi determinado no Laboratório de Farmacologia de Venenos e Toxinas (LAFAVET) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

A osmolaridade das amostras de urina e perfusato foi medida no Laboratório de Farmacologia de Venenos e Toxinas (LAFAVET) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, utilizando osmômetro (Osmômetro de Pressão a Vapor modelo WESCOR[®]-Vapro[®] 5520).

Os cálculos dos parâmetros funcionais renais foram realizados de acordo com os parâmetros contidos na tabela 3.

Tabela 3 – Determinação dos parâmetros da função renal conforme Martinez-Maldonado *et al.*, 1978.

PARÂMETRO RENAL	UNIDADE	FÓRMULA
Fluxo Urinário (FU)	mL. g ⁻¹ . min ⁻¹	FU = (Peso do volume urinário / Peso do rim esquerdo) / 10
Pressão Perfusão (PP)	mmHg	Leitura em manômetro
Ritmo de Filtração Glomerular (RFG)	mL. g ⁻¹ . min ⁻¹	RFG = (DOU in / DOP in x FU) <i>DOU in = densidade ótica da inulina na urina e</i> <i>DOP in = densidade ótica da inulina no perfusato</i>
Fluxo Perfusão Renal (FPR)	mL. g ⁻¹ . min ⁻¹	Registrado a cada 10 min/peso do rim/intervalo de tempo
Resistência Vascular Renal (RVR)	mmHg/ mL. g ⁻¹ . min ⁻¹	RVR = PP / FPR
Sódio Filtrado (FNa ⁺)	μEq. g ⁻¹ . min ⁻¹	FNa⁺ = RFG x PNa⁺ <i>(PNa⁺ = Concentração de sódio no perfusato)</i>
Sódio Excretado (ENa ⁺)	μEq. g ⁻¹ . min ⁻¹	ENa⁺ = FU x UNa⁺ <i>(UNa⁺ = Concentração de sódio na urina)</i>
Sódio Transportado (TNa ⁺)	μEq. g ⁻¹ . min ⁻¹	TNa⁺ = FNa⁺ - ENa⁺
Percentual de Sódio Transportado (%TNa ⁺)	-	%TNa⁺ = TNa⁺ x 100 / FNa⁺
Percentual de Sódio Proximal Transportado (% TpNa ⁺)	-	%TpNa⁺ = TpNa⁺ x 100 / FNa⁺
Potássio Filtrado (FK ⁺)	μEq. g ⁻¹ . min ⁻¹	FK⁺ = RFG x PK⁺ <i>(PK⁺ = concentração de potássio no perfusato)</i>
Potássio Excretado (EK ⁺)	μEq. g ⁻¹ . min ⁻¹	EK⁺ = FU x UK⁺ <i>(UK⁺ = Concentração de potássio na urina)</i>
Potássio Transportado (TK ⁺)	μEq. g ⁻¹ . min ⁻¹	TK⁺ = FK⁺ x EK⁺
Percentual de Potássio Transportado (%TK ⁺)	-	%TK⁺ = TK⁺ x 100 / FK⁺
Percentual de Potássio Proximal Transportado (% TpK ⁺)	-	%TpK⁺ = TpK⁺ x 100 / FK⁺
Cloreto Filtrado (FCl ⁻)	μEq. g ⁻¹ . min ⁻¹	FCl⁻ = RFG x PCl⁻ <i>(PCl⁻ = Concentração de cloreto no perfusato)</i>
Cloreto Transportado (TCI ⁻)	μEq. g ⁻¹ . min ⁻¹	TCI⁻ = FCl⁻ x ECl⁻
Percentual de Cloreto Transportado (%TCI ⁻)	-	% TCI⁻ = TCI⁻ x 100 / FCl⁻
Percentual de Cloreto Proximal Transportado (%Tp Cl ⁻)	-	% TpCl⁻ = TpCl⁻ x 100 / FCl⁻
Clearance Osmótico (C _{osm})	mL. g ⁻¹ . min ⁻¹	C_{osm} = [Uosm / Posm] x FU <i>Uosm = Osmolaridade da urina</i> <i>Posm = Osmolaridade do perfusato</i>

4.6 Experimentos para avaliação da contratilidade em anéis de artéria mesentérica ou tiras isoladas de bexiga de ratos

4.6.1 Sistema de registro

Os tecidos foram montados em câmaras de 5 mL para órgão isolado contendo solução fisiológica. Uma extremidade do tecido foi atada a um ponto fixo na câmara e a outra fixada à unidade transdutora de força, apropriada para registro isométrico das contrações. A solução fisiologia foi ajustada para pH 7,4 e aerada continuamente à 37°C (Radnoti) com mistura carbogênica (95% O₂ – 5% CO₂). Dependendo do tecido em estudo, as tiras receberam tensão basal (1 g - bexiga ou 0,5 g – artéria mesentérica) e os sinais gerados pelo transdutor de força foram registrados em sistema de aquisição computadorizado (PowerLab 8/30) de acordo com a figura do sistema a seguir:



Figura 14 – Sistema para registro de contrações em tecidos isolados
Fonte: Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso (LAFARMULI)

4.6.2 Calibração do sistema de registro

Antes de iniciar cada experimento foi realizada a calibração do sistema através de um peso padrão com massa correspondente a 1 g para os experimentos com tiras isoladas de bexiga e 0,5 g para anéis de artéria mesentérica. Esse peso foi colocado em cada transdutor de força para calibração do sistema de aquisição de dados.

4.6.3 Experimentos *in vitro* com artéria mesentérica de ratos

Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical imediatamente antes do início dos experimentos para obtenção dos tecidos. Através de uma incisão no abdômen do animal, o ramo superior da artéria mesentérica foi rapidamente retirado e colocado em solução modificada de Krebs-Henseleit. Após remoção cuidadosa de tecido adiposo e conectivo adjacente, a artéria foi cortada transversalmente em quatro segmentos, formando pequenos anéis (2 – 3 mm de comprimento). A luz dos anéis foi atravessada paralelamente por duas peças metálicas finas confeccionadas em aço inoxidável, sendo suspensas por fios de algodão e montadas em câmaras de 5 mL contendo solução modificada de Krebs-Henseleit conforme a figura 15.

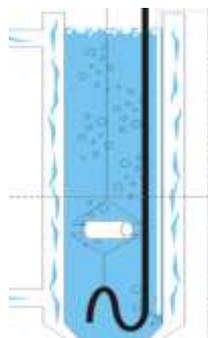


Figura 15 – Detalhe da montagem de anéis de artéria mesentérica para registro da contratilidade *in vitro*

Fonte: Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso (LAFARMULI)

4.6.4 Protocolos experimentais com anéis de artéria mesentérica

Cada anel de artéria mesentérica superior foi submetido a uma tensão constante de 0,5 g por um período de pelo menos 60 min em solução de Krebs-Henseleit para equilíbrio da preparação. Durante esse período, o meio nutritivo foi trocado a cada 15 min para prevenir a interferência de metabólitos. Após o período de estabilização, foram induzidas duas contrações similares com K^+ 60mM. Na maior parte dos protocolos, essas respostas contráteis foram usadas como contrações de referência e os resultados obtidos foram expressos como percentual da média destas contrações. O endotélio foi removido mecanicamente através de esfregaços suaves na luz vascular com haste de algodão embebido em solução fisiológica de Krebs-Henseleit. A remoção foi confirmada pela ausência de relaxamento das contrações de fenilefrina 0,1 μ M na presença de acetilcolina 1 μ M, conforme descrito por Furchgott e Zawadski (1980).

- **Efeito da sertralina na contração induzida por fenilefrina em anéis de artéria mesentérica de rato**

Para quantificar a inibição da contração muscular induzida por concentração submaximal de fenilefrina (0,3 μ M), anéis de artéria mesentérica foram expostos a uma dada concentração de sertralina (1 a 100 μ M) por um período de 10 min e, em seguida, foram estimulados com fenilefrina (0,3 μ M) ainda na presença de sertralina. A resposta inicial induzida por fenilefrina (0,3 μ M) na ausência de sertralina foi considerada como controle para posterior comparação com as demais obtidas na presença de sertralina. Em grupo separado de tecidos, as contrações de fenilefrina (0,3 μ M) foram inibidas por concentrações crescentes de verapamil (0,01 a 10 μ M), usado como controle positivo (Figura 16).



Figura 16 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na contração induzida por fenilefrina em anéis de artéria mesentérica de rato

• **Efeitos da sertralina na contração fásica induzida por fenilefrina ou cafeína em anéis de artéria mesentérica mantidos em meio sem Ca²⁺**

O objetivo desses experimentos foi avaliar a participação da sertralina sobre as contrações induzidas pela liberação de Ca²⁺ armazenado intracelularmente. Após o período de estabilização, os anéis de artéria mesentérica com endotélio intacto foram estimulados com fenilefrina (PHE, 1 µM) em solução normal de Krebs-Henseleit, em seguida, as preparações permaneceram por um período de 10 min em meio sem Ca²⁺ (contendo EGTA 0,1 mM) e, então, foram adicionadas PHE (1 µM) ou cafeína (10 mM). Após este procedimento, os anéis de artéria mesentérica foram mantidos por 60 min em solução de Krebs-Henseleit modificada contendo Ca²⁺ (2,5 mM) com lavagens sucessivas a cada 15 min e, então, foram estimulados novamente com PHE (1 µM), a fim de reencher os estoques intracelulares de Ca²⁺. Em seguida, as preparações foram novamente mantidas em solução sem Ca²⁺ (contendo EGTA 0,1 mM), desta vez na presença de sertralina (100 µM) por 10 min, sendo posteriormente administrada PHE (1 µM) ou cafeína (10 mM) ainda na

presença de sertralina (Figura 17). A amplitude destas contrações foi registrada em valores absolutos de força. Os experimentos com cafeína foram realizados com anéis de artéria mesentérica mantidos à temperatura de 25°C (NOGUERA; D'OCÓN, 1992).

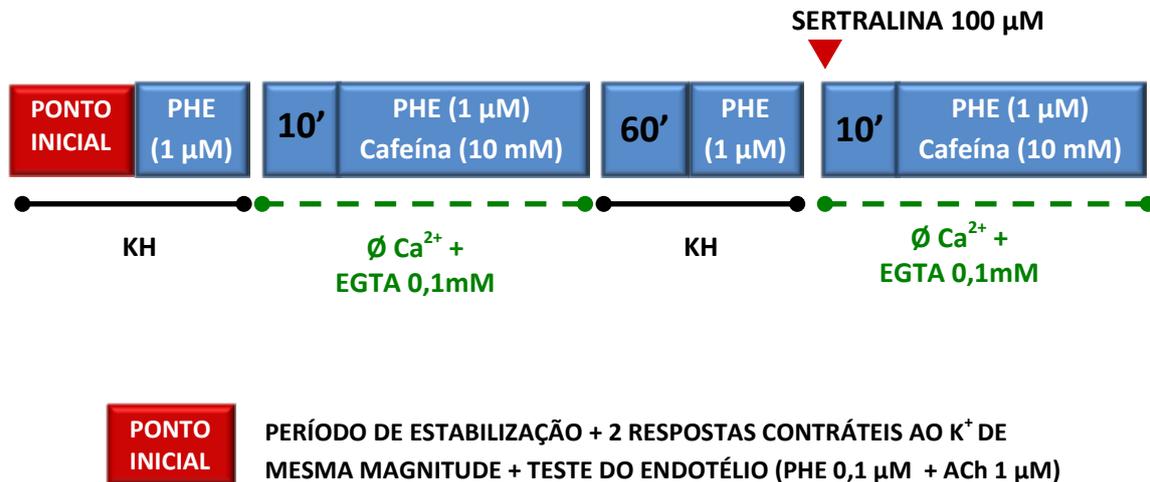


Figura 17 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na contração física induzida por fenilefrina ou cafeína em anéis de artéria mesentérica mantidos em meio sem Ca²⁺

- **Efeito da sertralina em contrações induzidas pela depleção dos estoques intracelulares de Ca²⁺ em anéis de artéria mesentérica de ratos**

Este protocolo experimental foi desenvolvido para avaliar os efeitos da sertralina na entrada capacitativa de Ca²⁺ mediada por canais operados por estoques. Esses canais são ativados após depleção dos estoques intracelulares promovidos pela taspigargina, substância que bloqueia seletivamente a bomba Ca²⁺-ATPase (SERCA) presente no retículo sarcoplasmático (PAREKH; PUTNEY, 2005). Anéis de artéria mesentérica com endotélio intacto foram mantidos em meio sem Ca²⁺ e na presença de EGTA (1 mM) com taspigargina 0,1 µM por 5 min sendo, então, estimulados com fenilefrina (10 µM) para produzir depleção dos estoques intracelulares. Posteriormente, as preparações foram lavadas com solução Krebs-Henseleit modificada sem Ca²⁺ e sem EGTA com adição de verapamil (3 µM) e taspigargina (0,1 µM) para, em seguida, Ca²⁺ (2 mM) ser adicionado a fim de

produzir efeito contrátil, induzido pela entrada capacitativa de Ca^{2+} . As preparações foram estimuladas com Ca^{2+} (2 mM) nessas condições tanto na ausência como na presença de sertralina (100 μM) (Figura 18).

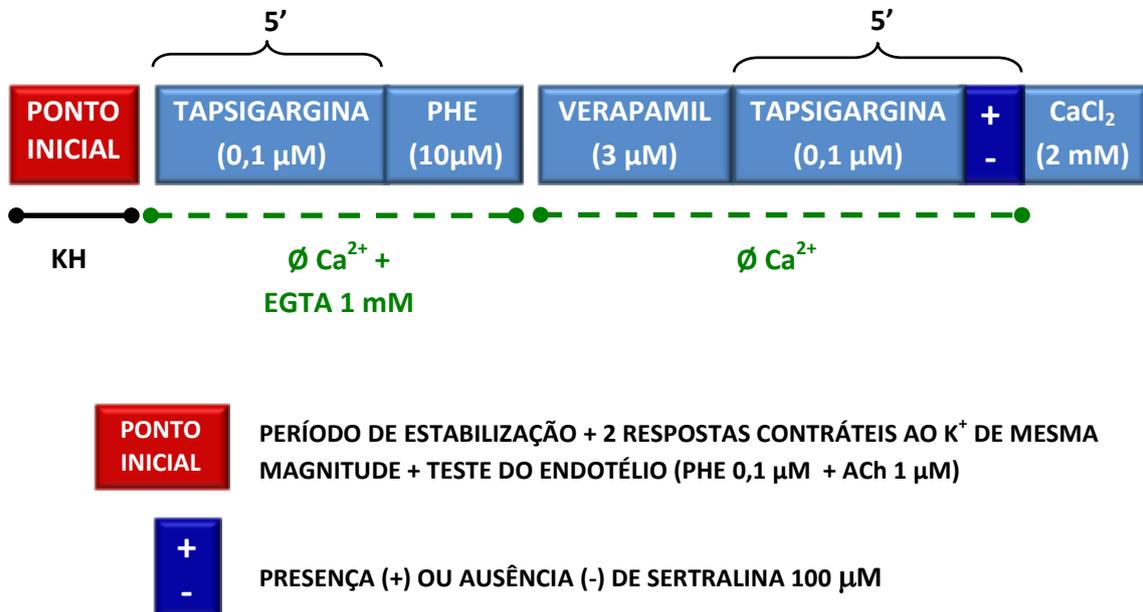


Figura 18 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina em contrações induzidas pela depleção dos estoques intracelulares de Ca^{2+} em anéis de artéria mesentérica de ratos

- **Efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas pela adição de Ca^{2+} em anéis de artéria mesentérica mantidos na presença de verapamil e fenilefrina ou mantidos em solução com alto K^+**

Para avaliar os efeitos da sertralina nas contrações induzidas pelo influxo de Ca^{2+} a partir do meio extracelular em anéis de artéria mesentérica, as preparações foram mantidas em meio sem Ca^{2+} (solução de Krebs-Henseleit sem Ca^{2+} contendo EGTA 0,5 mM) estimuladas com K^+ (60 mM; ativando canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes) ou fenilefrina (60 μM na presença de 3 μM de verapamil, ativando canais de Ca^{2+} operados por receptor) e após um período de 10 min, curvas concentração-efeito foram obtidas pela adição cumulativa de Ca^{2+} (0,1 – 10 mM) na ausência ou na presença de sertralina (100 μM) (Figura 19). A resposta máxima ao Ca^{2+} exógeno foi considerada alcançada, quando um determinado aumento na concentração de Ca^{2+} não induziu um aumento significativo no

desenvolvimento de força. A contração máxima obtida foi tomada como 100%, e as contrações obtidas na presença de sertralina foram normalizados em função desse valor.

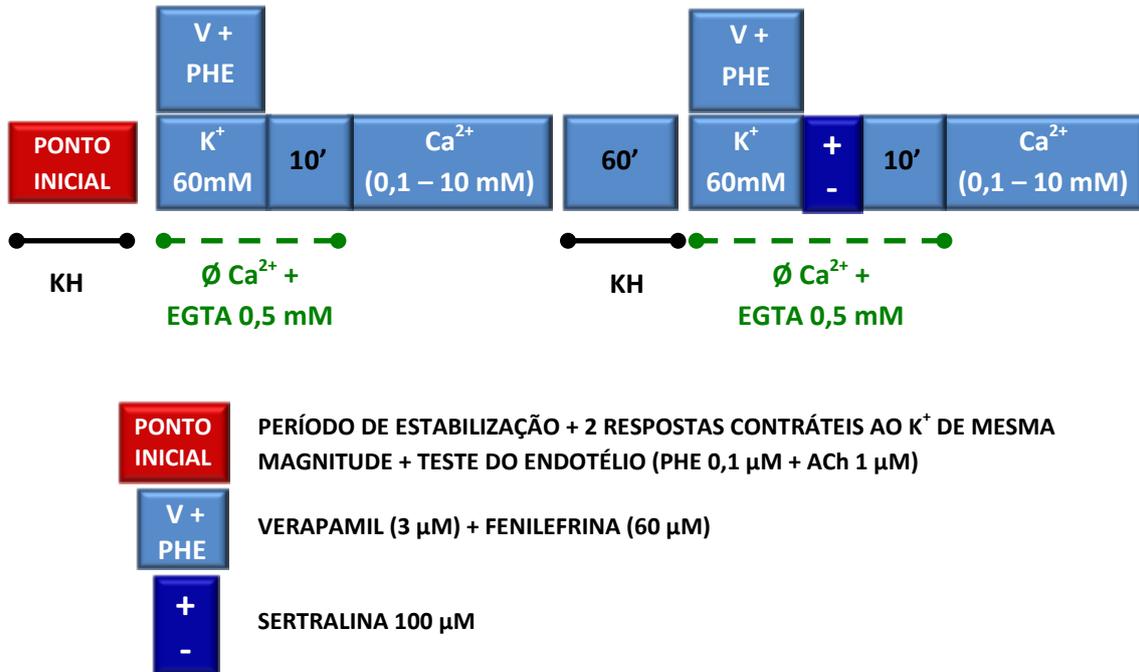


Figura 19 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas pela adição de Ca²⁺ em anéis de artéria mesentérica mantidos na presença de verapamil e fenilefrina ou mantidos em solução com alto K⁺

4.6.5 Experimentos *in vitro* com tiras isoladas de bexiga urinária

Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical imediatamente antes do início dos experimentos para obtenção dos tecidos. A região abdominal foi aberta cirurgicamente por uma incisão medial para exposição dos órgãos internos. A bexiga foi localizada na parte central inferior do abdômen próximo ao osso pélvico (LONGHURST; UVELIUS, 2001). Feita a remoção de gordura, próstata e tecido conjuntivo, os ureteres foram identificados com objetivo de separar funcionalmente o corpo e a base da bexiga. A bexiga foi seccionada horizontalmente ao nível da inserção do ureter. Por definição, o corpo da bexiga localiza-se acima da região de

inserção do ureter sendo a região abaixo a base (LONGHURST; UVELIUS, 2001). O corpo da bexiga foi transferido para uma placa de Petri contendo solução de Tyrode e cortado longitudinalmente em quatro tiras (6 x 2 mm). As tiras foram atadas em cada extremidade com fio de algodão e foram montadas verticalmente em câmaras de 5 mL contendo solução de Tyrode conforme a figura 20.

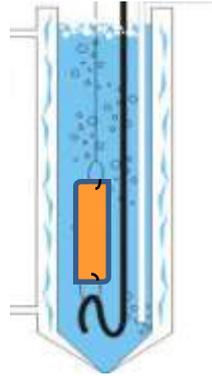


Figura 20 – Detalhe da montagem da tira de bexiga para registro da contratilidade *in vitro*
Fonte: Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso (LAFARMULI)

4.6.6 Protocolos experimentais com tiras isoladas de bexiga urinária

As tiras de bexiga foram mantidas em solução de Tyrode por um período de 60 min sem qualquer procedimento para adaptação às novas condições experimentais. Durante o período de equilíbrio da preparação, a solução de Tyrode foi renovada a cada 15 min sendo ajustada a tensão de repouso para 1g. Para avaliar a viabilidade das tiras de bexiga no início dos experimentos, foram observados o surgimento e a constância das contrações espontâneas nesse tecido e, após o período de equilíbrio, foram evocadas sucessivas contrações com K^+ 60mM até a obtenção de duas respostas contráteis de mesma magnitude, indicando o ponto inicial dos protocolos experimentais. A maior parte dos dados aqui apresentados, salvo quando explicitamente indicado, foram normalizados como um percentual da média dessas duas últimas contrações.

- **Efeito da sertralina no tônus basal de tiras isoladas de bexiga de rato**

Para avaliar os efeitos da sertralina sobre o tônus basal de tiras isoladas de bexiga de rato, esta foi adicionada de forma crescente e cumulativa (1, 3, 10, 30, 100, 300, 600, 1000, e 3000 μM) à solução fisiológica de Tyrode normal na câmara de banho após o período de equilíbrio da preparação. Foi rigorosamente respeitado o intervalo de 5 minutos para cada concentração. Consideramos alteração do tônus basal, a subtração entre a linha de base obtida ao final de cada período de exposição à sertralina, da obtida na sua ausência. Em grupo separado de tiras, foi construída a curva concentração-efeito para o veículo (etoxidiglicol) nas mesmas concentrações usadas para dissolver a sertralina seguindo as condições descritas anteriormente (Figura 21).

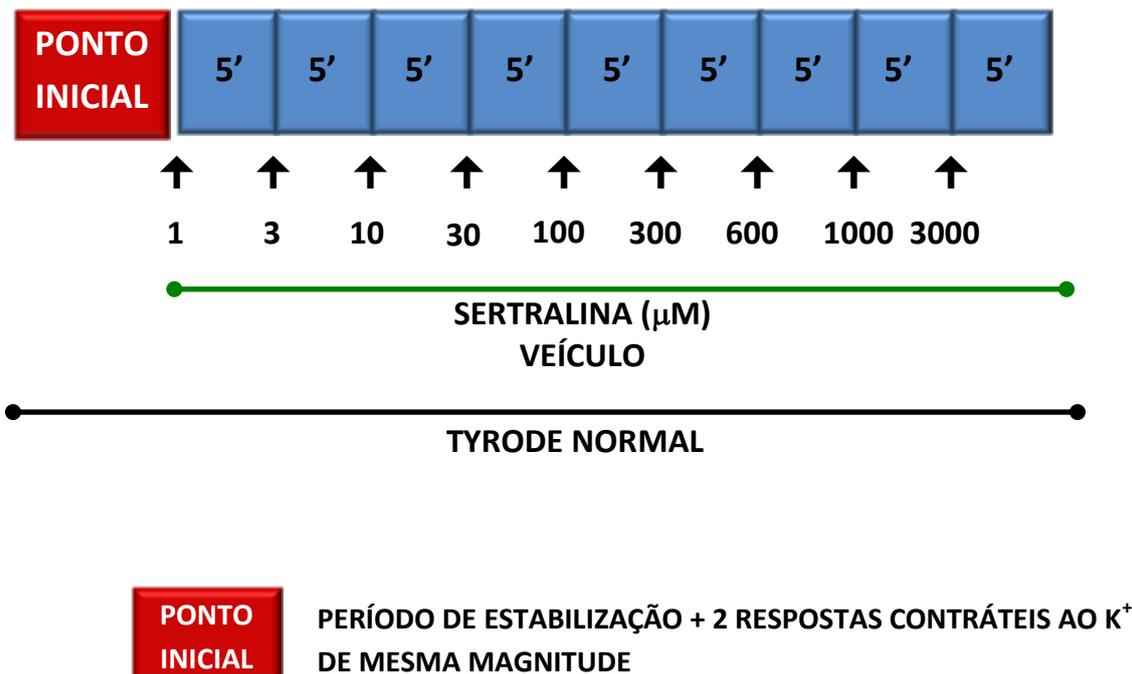


Figura 21 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina no tônus basal de tiras isoladas de bexiga de rato

- Efeito da sertralina na inibição da contração induzida por K^+ e carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato

Para quantificar a inibição da contração muscular pela sertralina, as tiras de bexiga foram expostas previamente a uma dada concentração de sertralina (1 a 100 μM) por um período de 10 min e em seguida foram estimuladas com concentrações submaximais de K^+ (60 mM) ou carbacol (CCh, 3 μM). A resposta induzida pelo K^+ ou CCh na ausência de sertralina foi considerada como controle para posterior comparação com as demais obtidas na presença de sertralina (Figura 22).

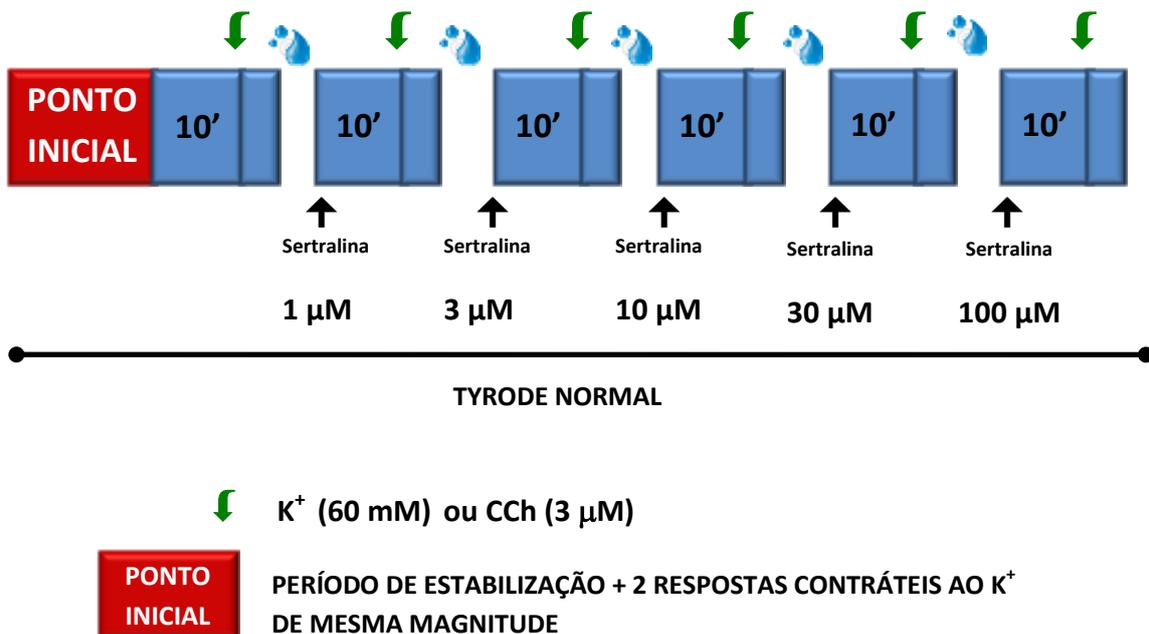


Figura 22 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na inibição da contração induzida por K^+ e carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato

- Efeito da sertralina na reversão da pré-contracção induzidas por K^+ e carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato

Foi avaliado o efeito da sertralina no componente tônico da resposta contrátil induzida por K^+ (60 mM) ou carbacol (CCh, 1 μ M). Uma vez alcançado o platô de uma contracção sustentada induzida por K^+ ou CCh, foram confeccionadas curvas concentração-efeito pela adição cumulativa e crescente de sertralina (1, 3, 10, 30, 100 e 300 μ M), respeitando o intervalo de 5 minutos para cada concentração (Figura 23).

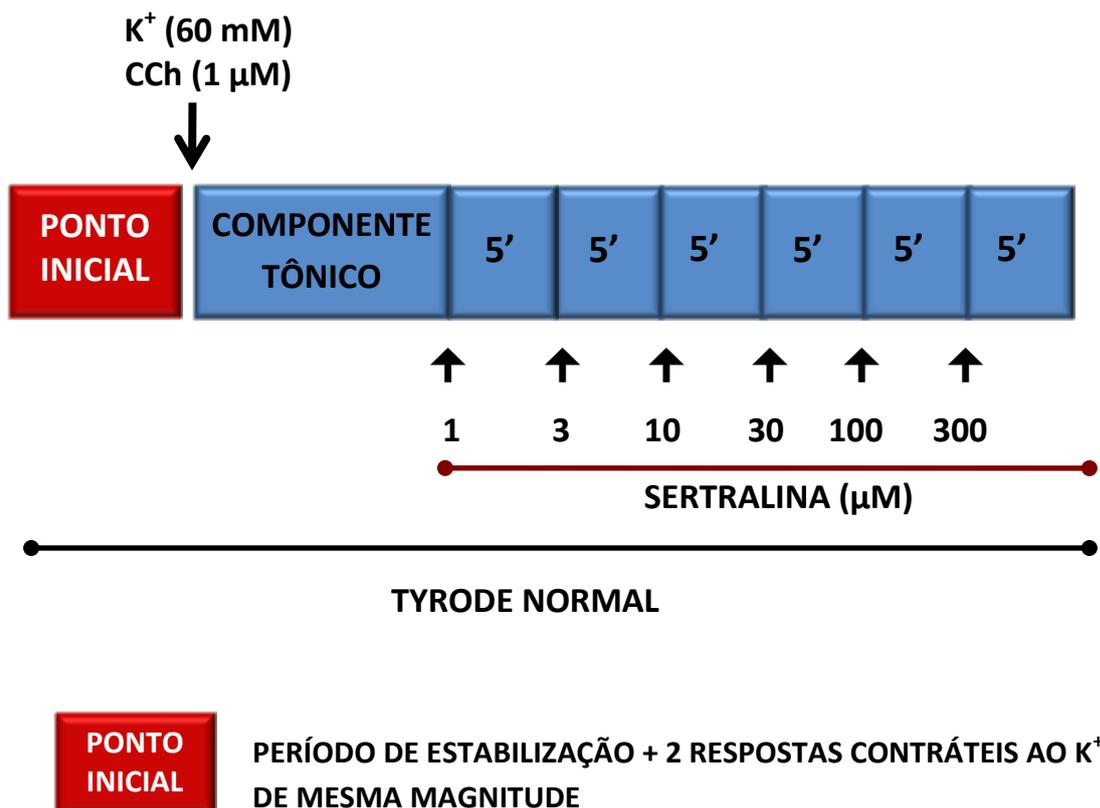


Figura 23 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina na reversão da pré-contracção induzida por K^+ e carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato

- **Efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas pela adição de Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga e despolarizadas por K^+ em meio sem Ca^{2+}**

Para avaliar se a sertralina produz efeito em contrações induzidas pelo influxo de Ca^{2+} a partir do meio extracelular mediante a abertura de canais de Ca^{2+} ativados por voltagem, as preparações foram mantidas em meio sem Ca^{2+} (solução de Tyrode sem Ca^{2+} contendo EGTA 0,1 mM), estimuladas com K^+ (60 mM) e após um período de 10 min, curvas cumulativas concentração-efeito foram obtidas pela adição de Ca^{2+} (0,1 – 20 mM) tanto na ausência como na presença de sertralina (30 μM ou 100 μM) (Figura 26). A máxima resposta ao Ca^{2+} exógeno foi considerada alcançada quando um determinado aumento na concentração de Ca^{2+} não induziu aumento significativo no desenvolvimento de força. A contração máxima obtida foi tomada como 100%, e as contrações obtidas na presença de sertralina foram normalizadas em função desse valor. Em grupo separado de tiras de bexiga, CCE em resposta à adição de Ca^{2+} foi construída na ausência ou na presença de verapamil (3 ou 30 μM), o qual foi usado como controle positivo (Figura 26).

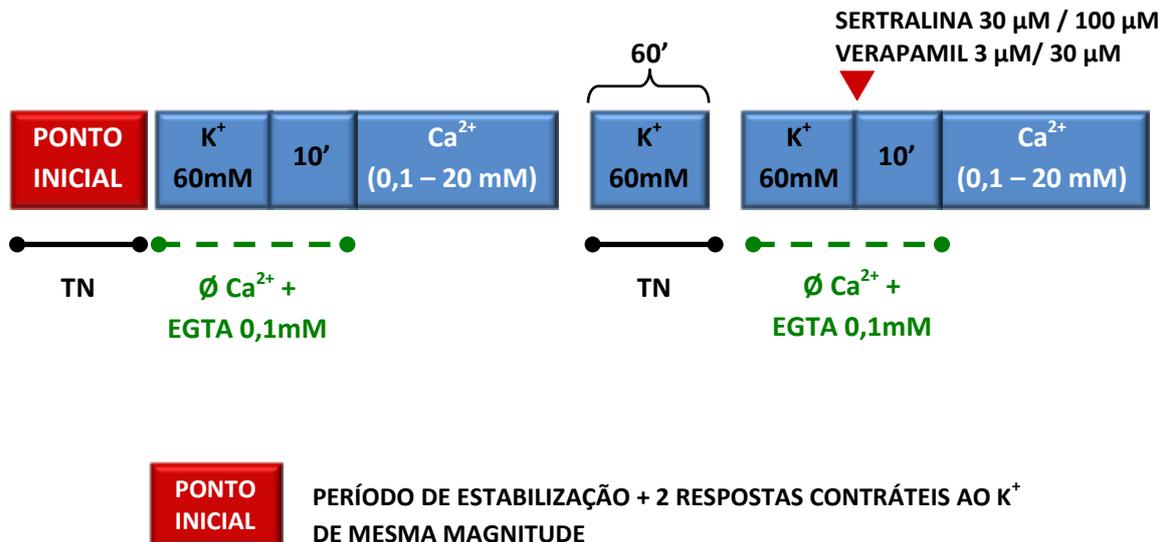


Figura 26 – Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar o efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas pela adição de Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga e despolarizadas por K^+ em meio sem Ca^{2+}

4.7 Análise estatística

A maior parte dos resultados são apresentados como média aritmética \pm erro padrão da média (E.P.M.), com a representação do número de observações experimentais (n). São considerados estatisticamente significantes os resultados que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese nula menor que 5% ($p < 0,05$). Para comparação de dois grupos usamos o teste t pareado ou não pareado, conforme a necessidade. Para comparação de mais de dois grupos experimentais foram utilizados ANOVA e testes de múltipla comparação, citados apropriadamente na seção de resultados e/ou nas legendas das figuras. As CI_{50} s foram calculadas por interpolação semi-logarítmica e expressas com a média geométrica seguida do intervalo de confiança 95%. Para comparação de tratamento foi utilizada ANOVA de duas variáveis. Os teste foram aplicados com a utilização do programa SigmaStat (Systat Software Inc, USA). Os gráficos aqui mostrados foram confeccionados com o programa SigmaPlot (Systat Software Inc, USA).

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Cistometrografia

5.1.1 Efeitos da sertralina em parâmetros miccionais de ratos anestesiados

Ratos anestesiados com uretana sob infusão intravesical contínua de solução salina (0,06 mL/min) apresentaram registros cistometrográficos típicos de acordo com a Figura 7. A partir dos registros experimentais puderam ser avaliados vários parâmetros relacionados à fisiologia da micção desses animais, os quais foram alterados de maneira significativa pela administração de dose única e em *bolus* de sertralina (20 mg/kg, i.v.). Por exemplo, a sertralina produziu aumento significativo ($p < 0,05$; Holm-Sidak) da frequência miccional de $0,16 \pm 0,02$ micções/min ($n = 8$) no controle para $0,70 \pm 0,09$ micções/min ($n = 6$) (Figura 27). Também foi observada diminuição do intervalo inter-contração de $8,19 \pm 0,09$ min ($n = 8$) para $1,49 \pm 0,22$ min ($n = 6$) (Figura 28). Outros parâmetros funcionais foram aumentados após administração de sertralina em relação ao período controle, como a pressão basal de enchimento de $4,18 \pm 2,11$ cmH₂O ($n = 8$) para $25,38 \pm 3,03$ cmH₂O ($n = 6$) (Figura 29) e a pressão intravesical máxima alcançada durante as contrações miccionais de $25,78 \pm 2,11$ cmH₂O ($n = 8$) para $40,88 \pm 3,03$ cmH₂O ($n = 6$) (Figura 30). A administração de salina ou do veículo (etoxidiglicol) não promoveu nenhuma alteração significativa nos parâmetros experimentais avaliados ($p > 0,05$; Holm-Sidak; Figuras 27 a 30).

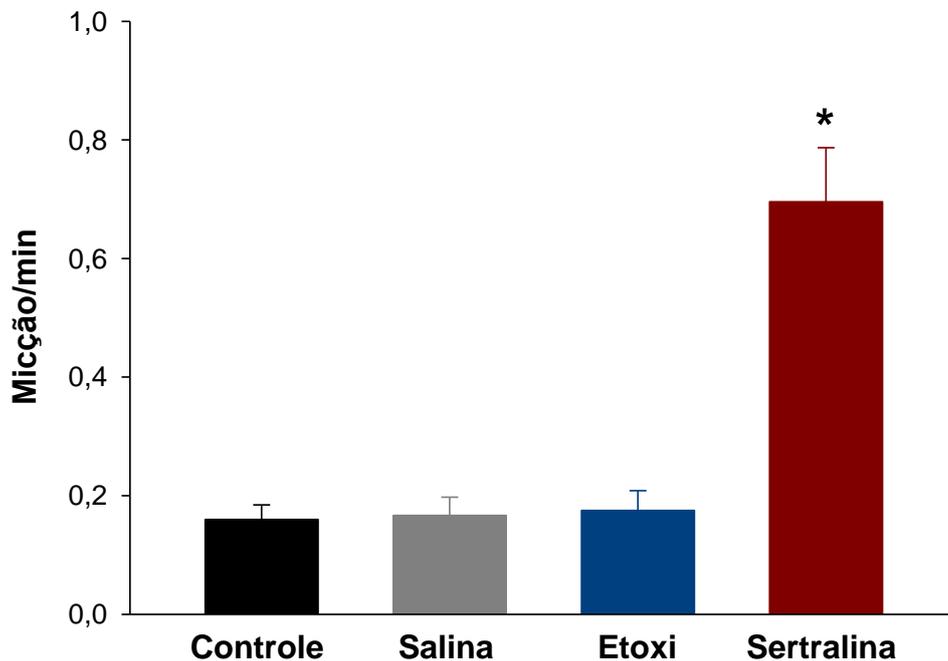


Figura 27 – Efeito da sertralina na frequência de micção de ratos anestesiados

O gráfico mostra que administração de sertralina (20mg/kg; i.v.; ■; n = 6) aumentou a frequência miccional de ratos anestesiados quando comparada aos valores obtidos no período controle (■; n = 8). A avaliação das alterações miccionais provocadas pela sertralina foi obtida após período de 20 min da injeção de sertralina. Em grupo separado, foi administrado somente o veículo (etoxidiglicol; i.v.; ■; n = 6) na mesma concentração e volume usados para dissolver a sertralina (0,03% v/v). Em outro grupo, a salina (■; n = 6) também foi administrada (1mL/kg, i.v.), demonstrando que tanto a salina quanto o veículo não promoveram alterações na frequência miccional de ratos anestesiados quando comparados ao período controle. Os resultados são expressos como média ± E.P.M.. A análise estatística foi feita por teste Holm-Sidak. * p < 0,05 em comparação a média dos valores obtidos durante o período controle.

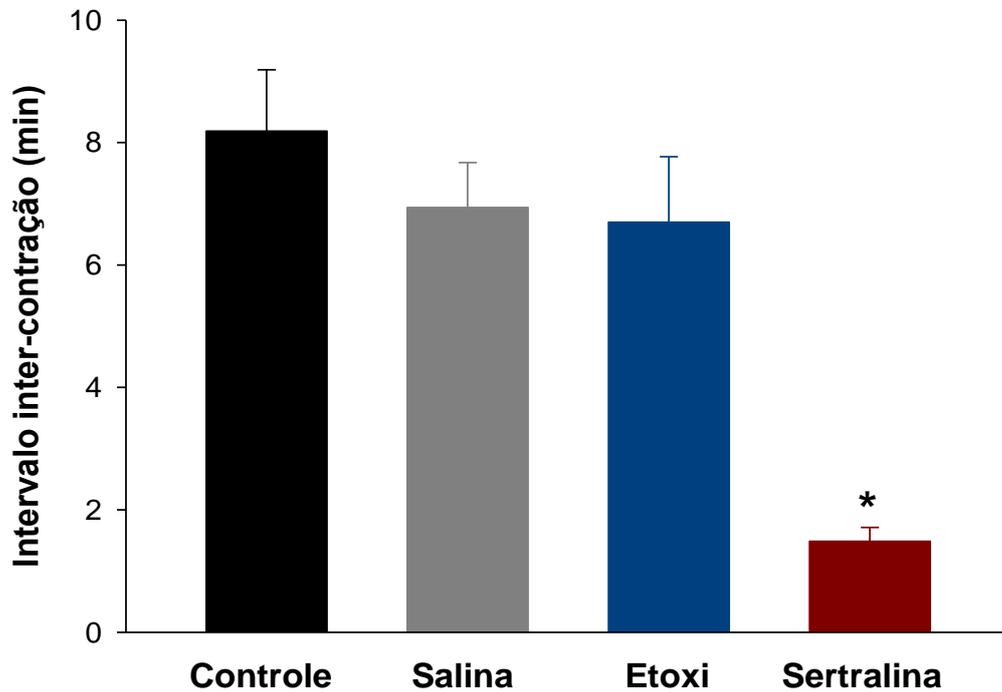


Figura 28 – Efeito da sertralina no intervalo miccional de ratos anestesiados

O gráfico mostra que administração de sertralina (20 mg/kg; i.v.; ■; n = 6) diminui o intervalo inter-contracção em ratos anestesiados quando comparado aos valores obtidos no período controle (■; n = 8). A avaliação das alterações miccionais provocadas pela sertralina foi obtida após período de 20 min da injeção de sertralina. Em grupo separado, foi administrado somente o veículo (etoxidiglicol; i.v.; ■; n = 6) na mesma concentração e volume usados para dissolver a sertralina (0,03% v/v). Em outro grupo, a salina (■; n = 6) também foi administrada (1mL/kg, i.v.), demonstrando que tanto a salina quanto o veículo não promoveram alterações no intervalo inter-contracção de ratos anestesiados quando comparados ao período controle. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M.. A análise estatística foi feita por teste Holm-Sidak. * $p < 0,05$ em comparação a média dos valores obtidos durante o período controle.

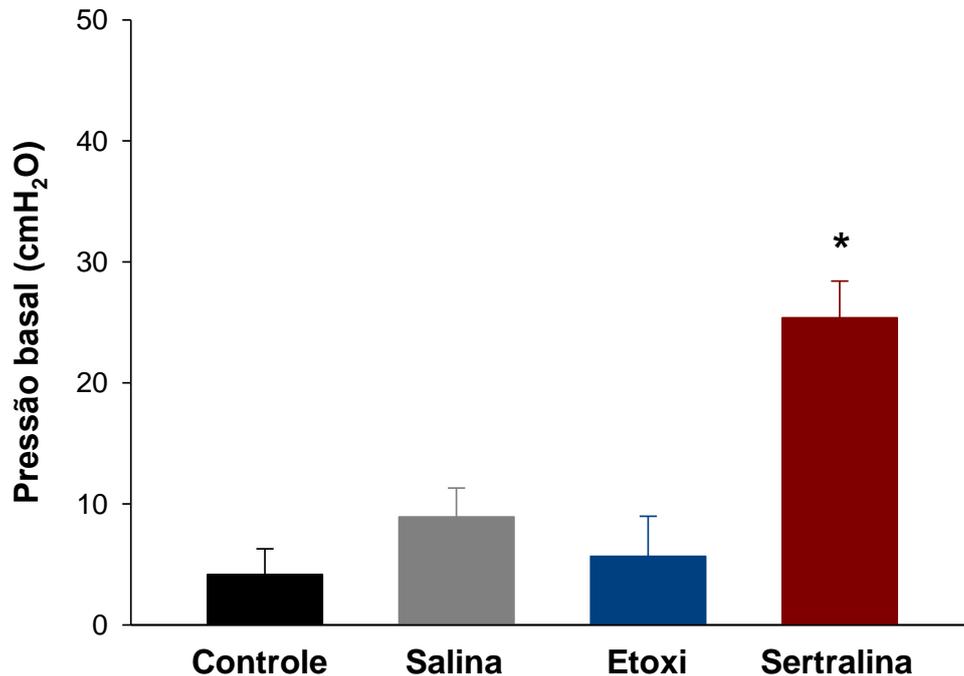


Figura 29 – Efeito da sertralina na pressão basal de enchimento em ratos anestesiados

O gráfico mostra que administração de sertralina (20 mg/kg; i.v.; ■; n = 6) aumentou a pressão basal de enchimento em ratos anestesiados quando comparada aos valores obtidos no período controle (■; n = 8). A avaliação das alterações miccionais provocadas pela sertralina foi obtida após período de 20 min da injeção de sertralina. Em grupo separado, foi administrado somente o veículo (etoxidiglicol; i.v.; ■; n = 6) na mesma concentração e volume usados para dissolver a sertralina (0,03% v/v). Em outro grupo, a salina (■; n = 6) também foi administrada (1mL/kg, i.v.), demonstrando que tanto a salina quanto o veículo não promoveram alterações na pressão basal de enchimento em ratos anestesiados quando comparados ao período controle. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M.. A análise estatística foi feita por teste Holm-Sidak. * $p < 0,05$ em comparação a média dos valores obtidos durante o período controle.

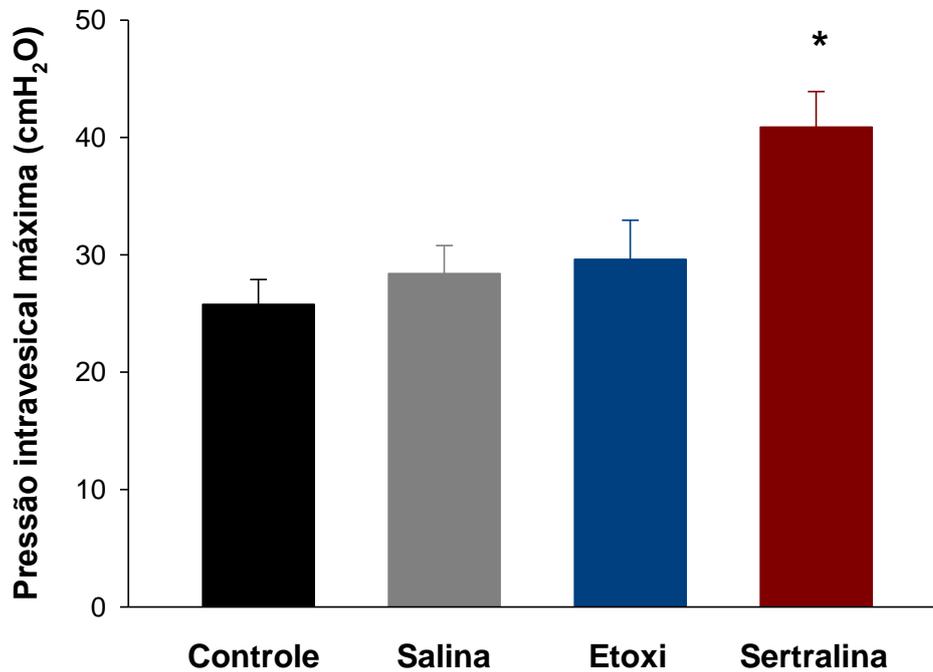


Figura 30 – Efeito da sertralina na pressão intravesical máxima em ratos anestesiados

O gráfico mostra que administração de sertralina (20 mg/kg; i.v.; ■; n = 6) aumentou a pressão intravesical máxima alcançada durante as contrações miccionais em ratos anestesiados quando comparada aos valores obtidos no período controle (■; n = 8). A avaliação das alterações miccionais provocadas pela sertralina foi obtida após período de 20 min da injeção de sertralina. Em grupo separado, foi administrado somente o veículo (etoxidiglicol; i.v.; ■; n = 6) na mesma concentração e volume usados para dissolver a sertralina (0,03% v/v). Em outro grupo, a salina (■; n = 6) também foi administrada (1mL/kg, i.v.), demonstrando que tanto a salina quanto o veículo não promoveram alterações na pressão intravesical máxima alcançada durante as contrações de ratos anestesiados quando comparados ao período controle. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M.. A análise estatística foi feita por teste Holm-Sidak. * $p < 0,05$ em comparação a média dos valores obtidos durante o período controle.

5.2 Perfusão de rim isolado

5.2.1 Efeitos da sertralina em rim isolado

A perfusão de rim isolado de rato com sertralina (30 μ M; n = 4) não apresentou alterações significativas ($p > 0,05$; ANOVA) em nenhum dos parâmetros da função renal, que permaneceram estáveis durante todo o período experimental (90 min de perfusão com sertralina; $p > 0,05$; ANOVA; Figura 31 a 37 e Tabela 4). Os parâmetros avaliados foram pressão de perfusão (Figura 31), resistência vascular renal (Figura 32), fluxo urinário (Figura 33), ritmo de filtração glomerular (Figura 34), percentual de transporte tubular de sódio (Figura 35), potássio (Figura 36) e cloreto (Figura 37). A perfusão do rim apenas com veículo (etoxidiglicol) na mesma concentração (0,03%) usada para dissolver a sertralina também não alterou significativamente os parâmetros renais ($p > 0,05$; ANOVA; Figuras 31 a 37). A perfusão do rim apenas com a solução de Krebs-Henseleit também não alterou os parâmetros renais avaliados conforme resultados semelhantes já reportados anteriormente (EVANGELISTA *et al.*, 2010; FONTELES *et al.*, 2009; MARTINS *et al.*, 2005; HAVT *et al.*, 2005; MONTEIRO *et al.*, 2001).

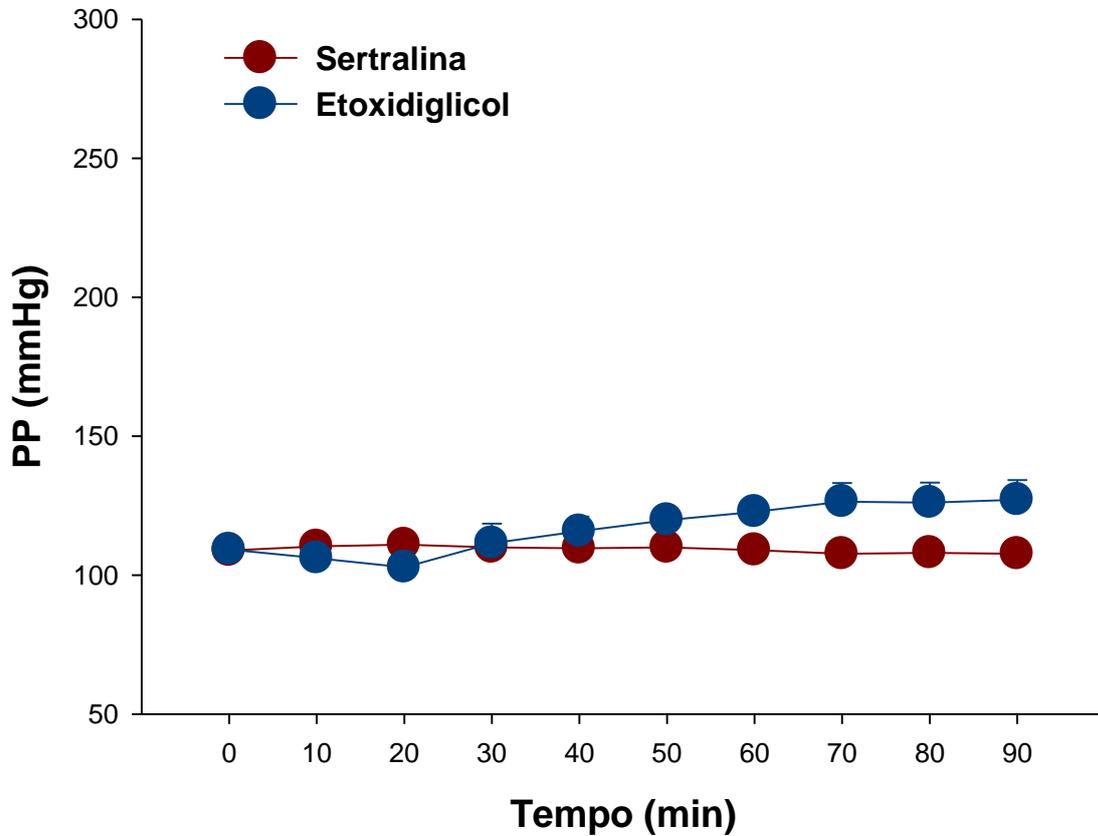


Figura 31 – Efeito da sertralina na pressão de perfusão (PP) de rim isolado de rato

Gráfico mostrando que a perfusão contínua com sertralina (30 μ M; ●; n = 4) não promove alterações significativas ($p > 0,05$; ANOVA) na pressão de perfusão de rim isolado de rato. A pressão de perfusão na ausência de sertralina foi de $108,87 \pm 3,14$ mmHg e foi avaliada em intervalos de 10 min. Em um grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; n = 4) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. O tempo 0 (controle) é o momento em que a sertralina 30 μ M foi adicionada à solução perfusora, tempo este, que corresponde ao final dos 30 min iniciais do período de estabilização. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M..

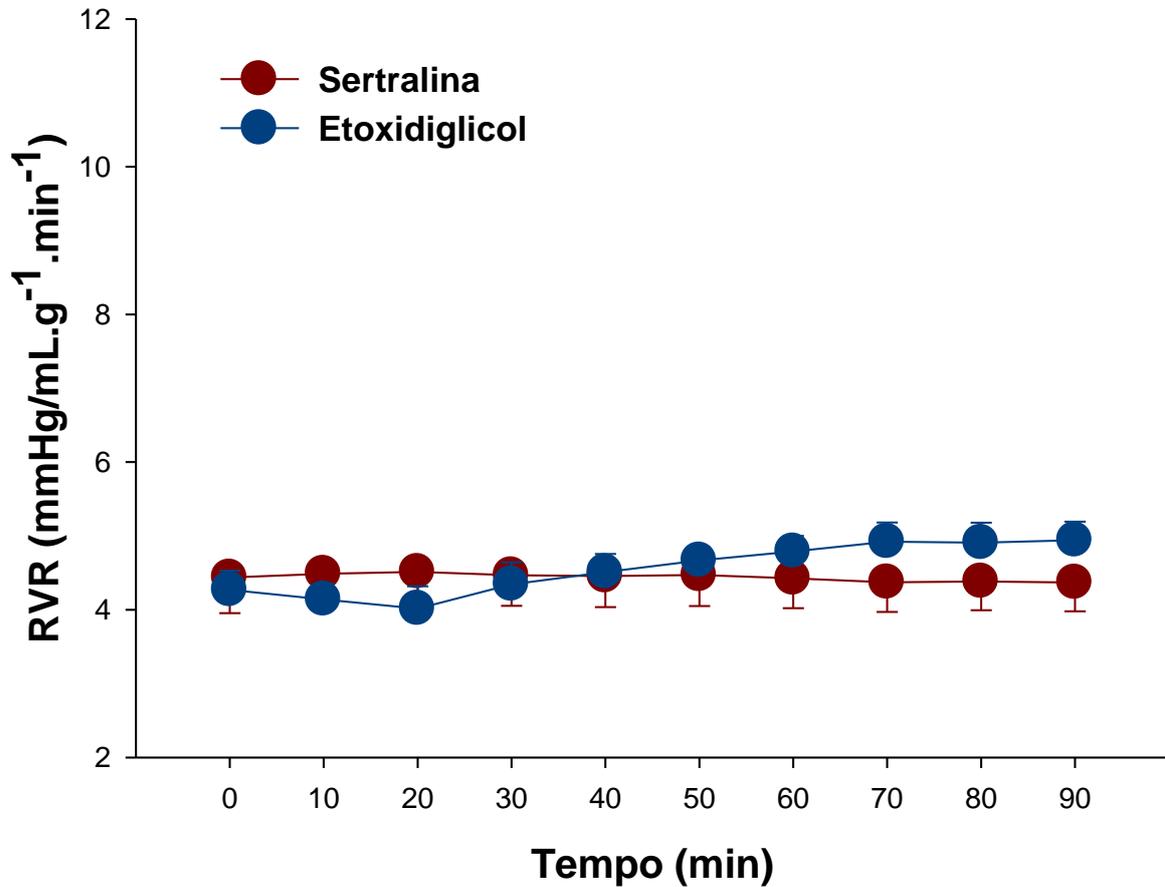


Figura 32 – Efeito da sertralina na resistência vascular renal (RVR) de rim isolado de rato

O gráfico mostra que a perfusão contínua com sertralina (30 μM ; ●; $n = 4$) não promove alterações significativas ($p > 0,05$; ANOVA) na resistência vascular renal de rim isolado de rato. A resistência vascular renal na ausência de sertralina foi de $4,44 \pm 0,48 \text{ mmHg/mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ e foi avaliada em intervalos de 10 min. Em um grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; $n = 4$) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. O tempo 0 (controle) é o momento em que a sertralina 30 μM foi adicionada à solução perfusora, tempo este, que corresponde ao final dos 30 min iniciais do período de estabilização. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M..

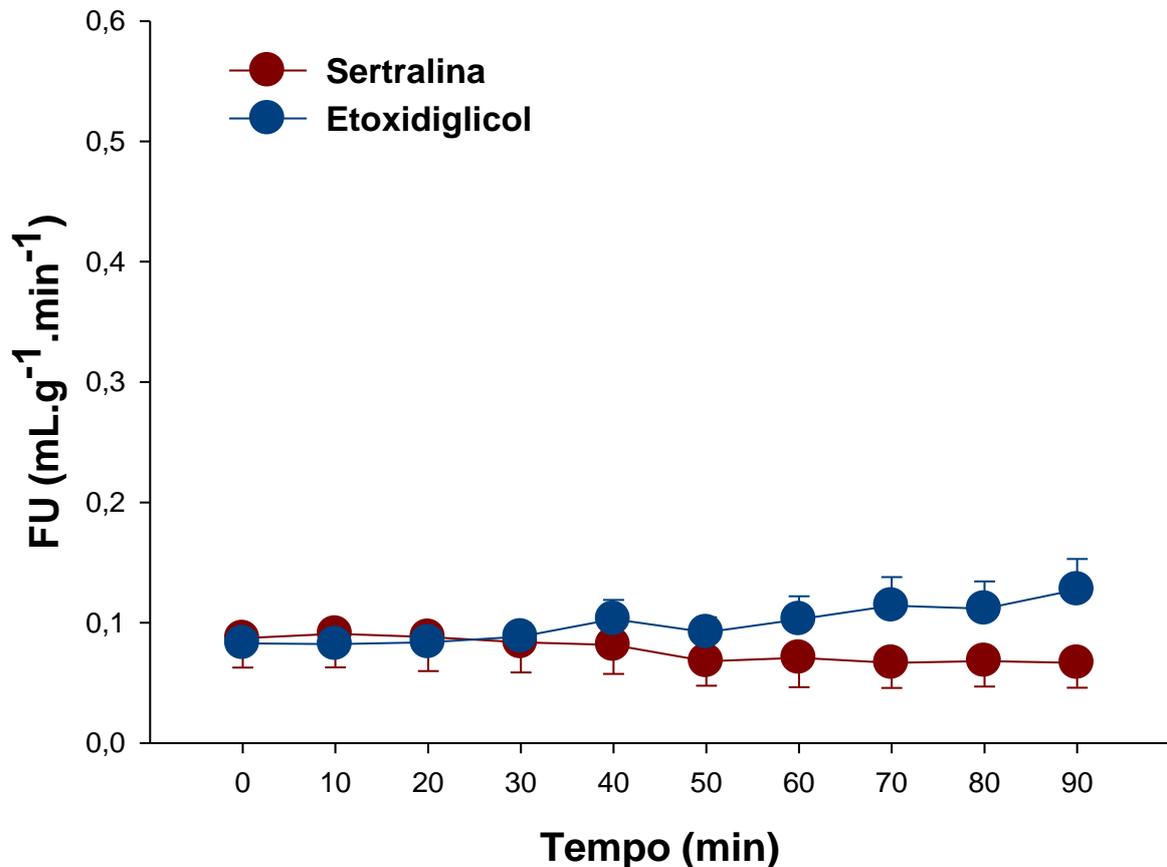


Figura 33 – Efeito da sertralina no fluxo urinário (FU) de rim isolado de rato

O gráfico mostra que a perfusão contínua com sertralina (30 μ M; ●; n = 4) não promove alterações significativas ($p > 0,05$; ANOVA) no fluxo urinário de rim isolado de rato. O fluxo urinário na ausência de sertralina foi de $0,09 \pm 0,02$ mL.g⁻¹.min⁻¹ e foi avaliado em intervalos de 10 min. Em um grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; n = 4) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. O tempo 0 (controle) é o momento em que a sertralina 30 μ M foi adicionada à solução perfusora, tempo este, que corresponde ao final dos 30 min iniciais do período de estabilização. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M..

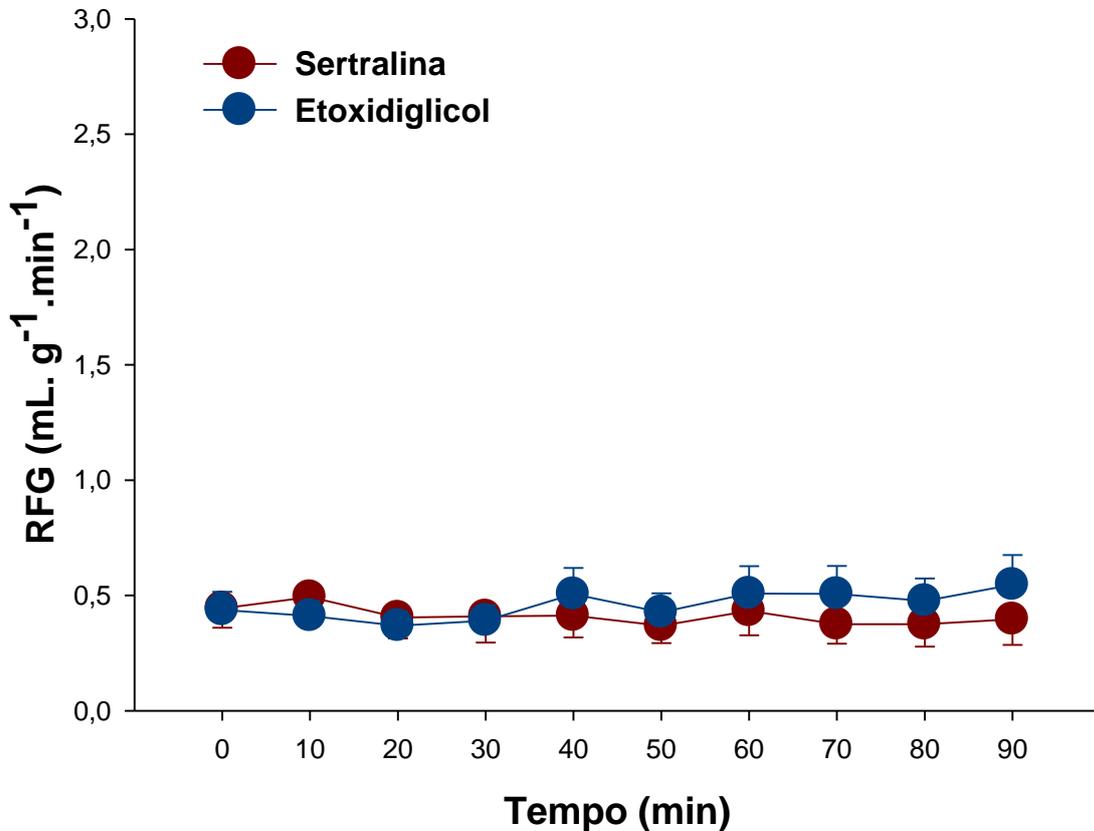


Figura 34 – Efeito da sertralina no ritmo de filtração glomerular (RFG) de rim isolado de rato

O gráfico mostra que a perfusão contínua com sertralina (30 μ M; ●; n = 4) não promove alterações significativas ($p > 0,05$; ANOVA) no ritmo de filtração glomerular em rim isolado de rato. O ritmo de filtração glomerular na ausência de sertralina foi de $0,44 \pm 0,08 \text{ mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ e foi avaliado em intervalos de 10 min. Em um grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; n = 4) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. O tempo 0 (controle) é o momento em que a sertralina 30 μ M foi adicionada à solução perfusora, tempo este, que corresponde ao final dos 30 min iniciais do período de estabilização. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M..

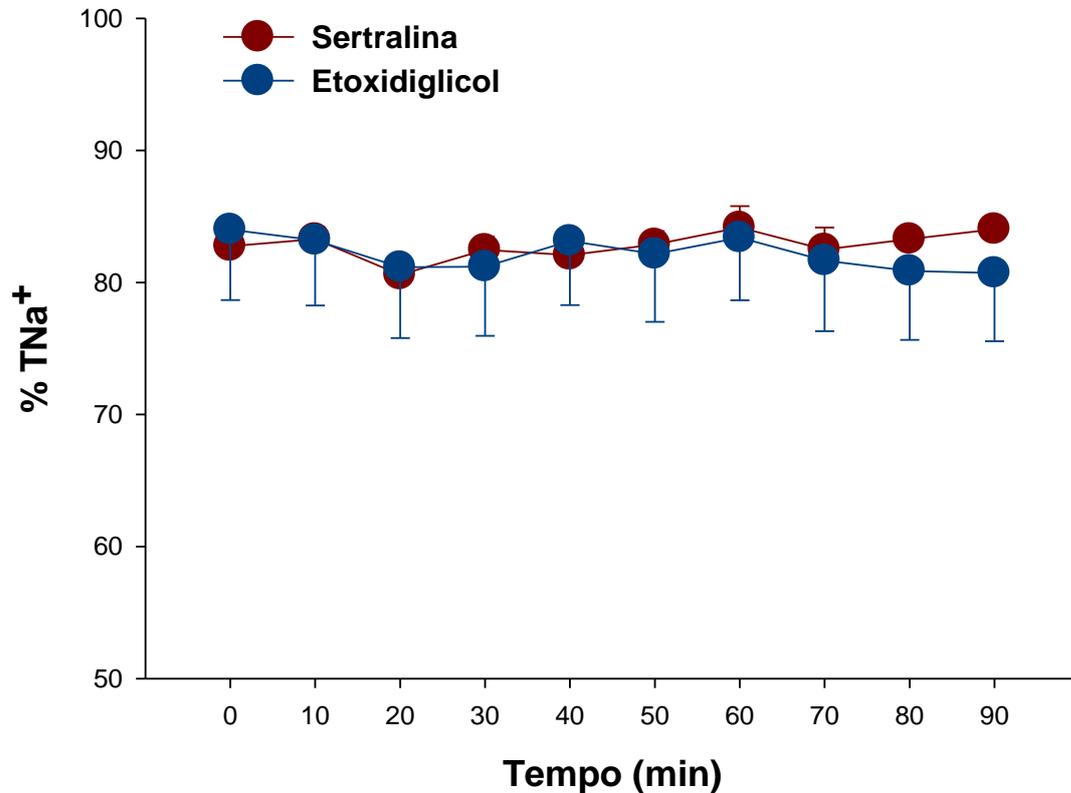


Figura 35 – Efeito da sertralina no percentual de transporte tubular de sódio (% TNa⁺) de rim isolado de rato

Gráfico mostrando que a perfusão contínua com sertralina (30 μ M; ●; n = 4) não promove alterações significativas ($p > 0,05$; ANOVA) no percentual de transporte tubular de sódio em rim isolado de rato. O percentual de transporte tubular de sódio ainda na ausência de sertralina foi de $82,75 \pm 1,22\%$ e foi avaliado em intervalos de 10 min. Em um grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; n = 4) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. O tempo 0 (controle) é o momento em que a sertralina 30 μ M foi adicionada à solução perfusora, tempo este, que corresponde ao final dos 30 min iniciais do período de estabilização. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M.

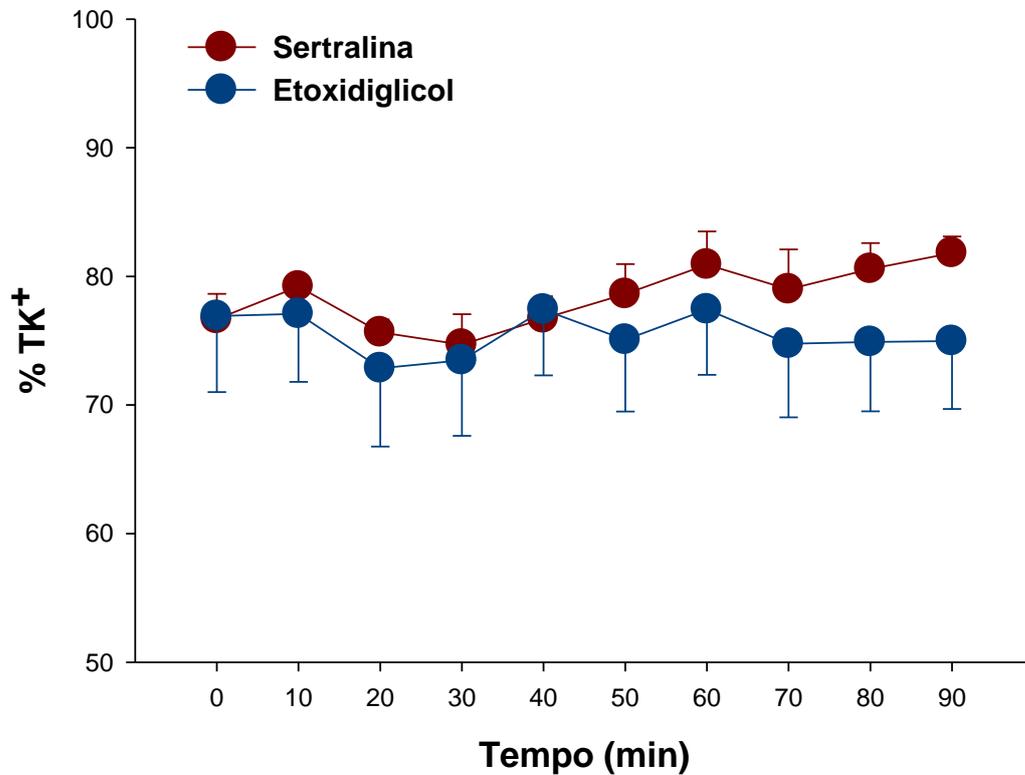


Figura 36 – Efeito da sertralina no percentual de transporte tubular de potássio (% TK⁺) de rim isolado de rato

O gráfico mostra que a perfusão contínua com sertralina 30 μ M (●; n = 4) não promove alterações significativas ($p > 0,05$; ANOVA) no percentual de transporte tubular de potássio em rim isolado de rato. O percentual de transporte tubular de potássio ainda na ausência de sertralina foi de $76,68 \pm 1,97\%$ e foi avaliado em intervalos de 10 min. Em um grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; n = 4) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. O tempo 0 (controle) é o momento em que a sertralina 30 μ M foi adicionada à solução perfusora, tempo este, que corresponde ao final dos 30 min iniciais do período de estabilização. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M..

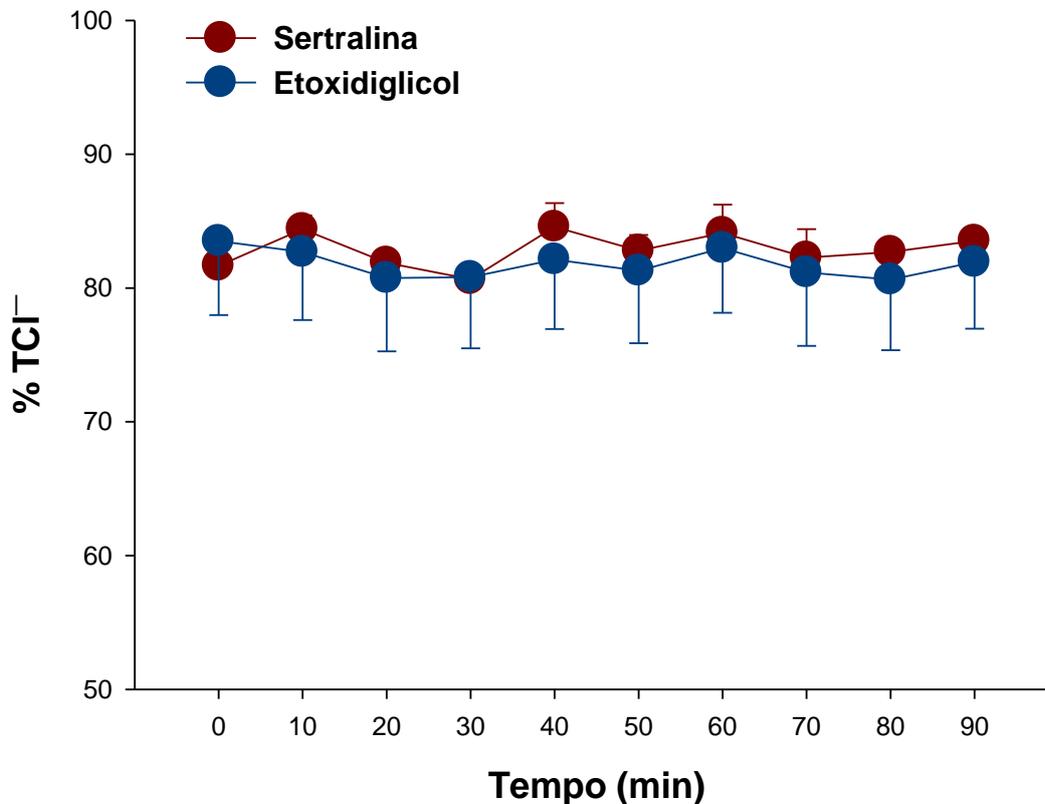


Figura 37 – Efeito da sertralina no percentual de transporte tubular de cloreto (% TCl⁻) de rim isolado de rato

O gráfico mostra que a perfusão contínua com sertralina 30 μ M (●; n = 4) não promove alterações significativas ($p > 0,05$; ANOVA) no percentual de transporte tubular de cloreto em rim isolado de rato. O percentual de transporte tubular de cloreto ainda na ausência de sertralina foi de $81,67 \pm 1,31\%$ e foi avaliado em intervalos de 10 min. Em um grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; n = 4) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. O tempo 0 (controle) é o momento em que a sertralina 30 μ M foi adicionada à solução perfusora, tempo este, que corresponde ao final dos 30 min iniciais do período de estabilização. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M..

Tabela 4 - Valores de todos os parâmetros da função renal avaliados nos experimentos realizados com sertralina (30 μ M) em rim isolado de rato.

Tempo de perfusão (min)	FU (mL.g ⁻¹ .min ⁻¹)	PP (mmHg)	RVR (mmHg/ mL.g ⁻¹ .min ⁻¹)	RFG (mL.g ⁻¹ .min ⁻¹)	%TNa ⁺	%TK ⁺	TCI ⁻
Controle (tempo 0)	0,09 \pm 0,02	108,87 \pm 3,14	4,44 \pm 0,48	0,44 \pm 0,08	82,75 \pm 1,22	76,68 \pm 1,97	81,67 \pm 1,31
10	0,09 \pm 0,03	110,34 \pm 2,74	4,49 \pm 0,45	0,49 \pm 0,12	83,29 \pm 0,94	79,21 \pm 0,63	84,40 \pm 1,02
20	0,09 \pm 0,03	111,01 \pm 2,60	4,51 \pm 0,44	0,40 \pm 0,09	80,59 \pm 1,24	75,64 \pm 1,00	81,88 \pm 0,57
30	0,08 \pm 0,02	110,01 \pm 1,91	4,47 \pm 0,41	0,41 \pm 0,11	82,47 \pm 1,00	74,68 \pm 2,38	80,66 \pm 0,99
40	0,08 \pm 0,02	109,67 \pm 2,14	4,46 \pm 0,42	0,41 \pm 0,09	82,07 \pm 0,58	76,72 \pm 1,73	84,57 \pm 1,78
50	0,07 \pm 0,02	110,01 \pm 2,24	4,47 \pm 0,42	0,37 \pm 0,07	82,87 \pm 1,01	78,63 \pm 2,33	82,79 \pm 1,17
60	0,07 \pm 0,02	109,01 \pm 2,26	4,43 \pm 0,40	0,43 \pm 0,11	84,16 \pm 1,63	80,92 \pm 2,58	84,11 \pm 2,12
70	0,07 \pm 0,02	107,67 \pm 2,12	4,37 \pm 0,40	0,37 \pm 0,08	82,50 \pm 1,66	78,99 \pm 3,10	82,27 \pm 2,12
80	0,07 \pm 0,02	108,01 \pm 2,35	4,38 \pm 0,39	0,38 \pm 0,10	83,28 \pm 0,46	80,58 \pm 2,02	82,69 \pm 0,56
90	0,07 \pm 0,02	107,67 \pm 2,19	4,37 \pm 0,39	0,40 \pm 0,11	84,03 \pm 0,41	81,81 \pm 1,29	83,53 \pm 0,46

Valores são média \pm E.P.M. com n = 4 para todas as medidas avaliadas.

5.2.2 Efeitos da perfusão de rim isolado de rato com fenilefrina na ausência e na presença de sertralina

A perfusão de rim isolado de rato com concentrações cumulativas de fenilefrina (10^{-11} – 10^{-4} M; $n = 4$) aumentou significativamente ($p < 0,05$; teste Dunn) a pressão de perfusão (PP) de $108,02 \pm 0,76$ mmHg no período controle para $178,31 \pm 21,68$ mmHg na presença de fenilefrina (10^{-4} M; Figura 38). Nessa concentração, a fenilefrina também aumentou significativamente ($p < 0,05$; Dunn) os valores de resistência vascular renal (RVR; controle = $4,10 \pm 0,09$ mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹ para $6,82 \pm 0,99$ mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹; Figura 39), fluxo urinário (FU; controle = $0,11 \pm 0,02$ mL.g⁻¹.min⁻¹ para $0,43 \pm 0,15$ mL.g⁻¹.min⁻¹; Figura 40) e ritmo de filtração glomerular (RFG; controle = $0,44 \pm 0,08$ mL.g⁻¹.min⁻¹ para $1,60 \pm 0,40$ mL.g⁻¹.min⁻¹; Figura 41). Por outro lado, quando os rins foram previamente perfundidos por 10 min com sertralina (30 μ M), a fenilefrina foi ineficaz para induzir mudanças funcionais, mesmo na maior concentração utilizada neste estudo (10^{-4} M). Sob tais condições e após perfusão com fenilefrina (10^{-4} M), os valores dos parâmetros renais foram: PP = $105,40 \pm 14,46$ mmHg; RVR = $4,32 \pm 0,55$ mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹, FU = $0,08 \pm 0,03$ mL.g⁻¹.min⁻¹ e RFG = $0,32 \pm 0,17$ mL.g⁻¹.min⁻¹ os quais não diferiram dos valores registrados nos rins perfundidos apenas com fenilefrina ($p > 0,05$; ANOVA; Figuras 38 a 41). A perfusão do rim isolado somente com o veículo na mesma concentração usada para dissolver a sertralina não alterou os efeitos da fenilefrina nos parâmetros funcionais renais ($p > 0,05$; ANOVA; Figuras 38 a 41).

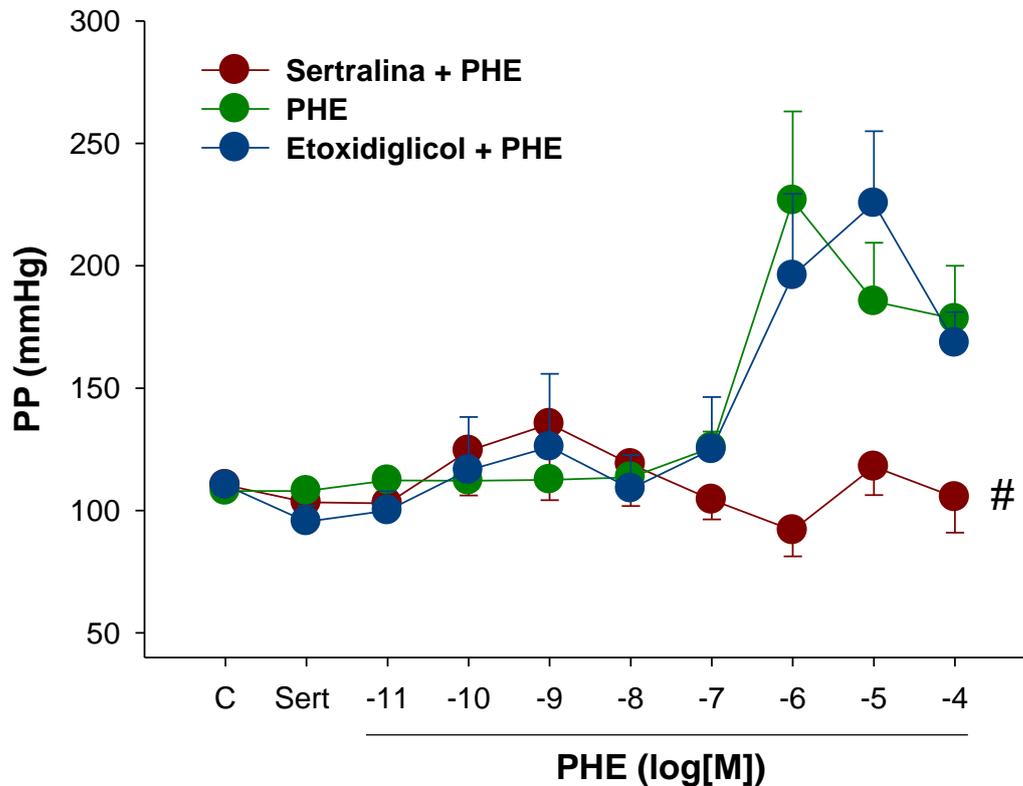


Figura 38 – Efeito da adição cumulativa de fenilefrina na presença de sertralina na pressão de perfusão (PP) de rim isolado de rato

O gráfico mostra as alterações na pressão de perfusão após perfusão de rim isolado de rato com fenilefrina (10^{-11} – 10^{-4} M; PHE; $n = 4$) na ausência (●) ou na presença contínua de sertralina ($30 \mu\text{M}$; ●; $n = 4$). A pressão de perfusão foi registrada em intervalos de 10 min para cada concentração de fenilefrina. Em grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; $n = 4$) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. # indica a diferença significativa entre os tratamentos (PHE vs. Sertralina + PHE) ($p < 0,05$; two-way ANOVA). C, parâmetro antes da adição de sertralina e PHE; Sert, parâmetro após 10 min de perfusão com sertralina ($30 \mu\text{M}$); PHE (log[M]), valores logaritmos da concentração molar de fenilefrina adicionada a cada 10 min.

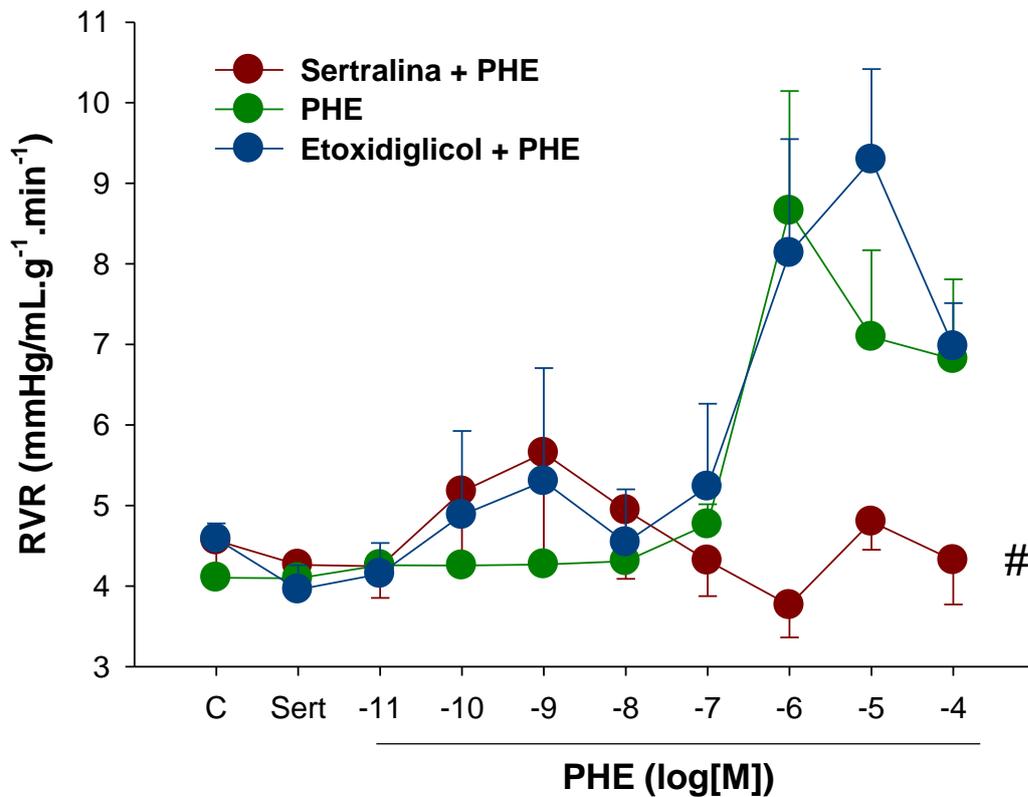


Figura 39 – Efeito da adição cumulativa de fenilefrina na presença de sertralina na resistência vascular renal (RVR) de rim isolado de rato

O gráfico mostra as alterações na resistência vascular renal após perfusão de rim isolado de rato com fenilefrina (10^{-11} – 10^{-4} M; PHE; $n = 4$) na ausência (●) ou na presença contínua de sertralina ($30 \mu\text{M}$; ●; $n = 4$). A resistência vascular renal foi avaliada em intervalos de 10 min para cada concentração de fenilefrina. Em grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; $n = 4$) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. # indica a diferença significativa entre os tratamentos (PHE vs. Sertralina + PHE) ($p < 0,05$; two-way ANOVA). C, parâmetro antes da adição de sertralina e PHE; Sert, parâmetro após 10 min de perfusão com sertralina ($30 \mu\text{M}$); PHE (log[M]), valores logaritmos da concentração molar de fenilefrina adicionada a cada 10 min.

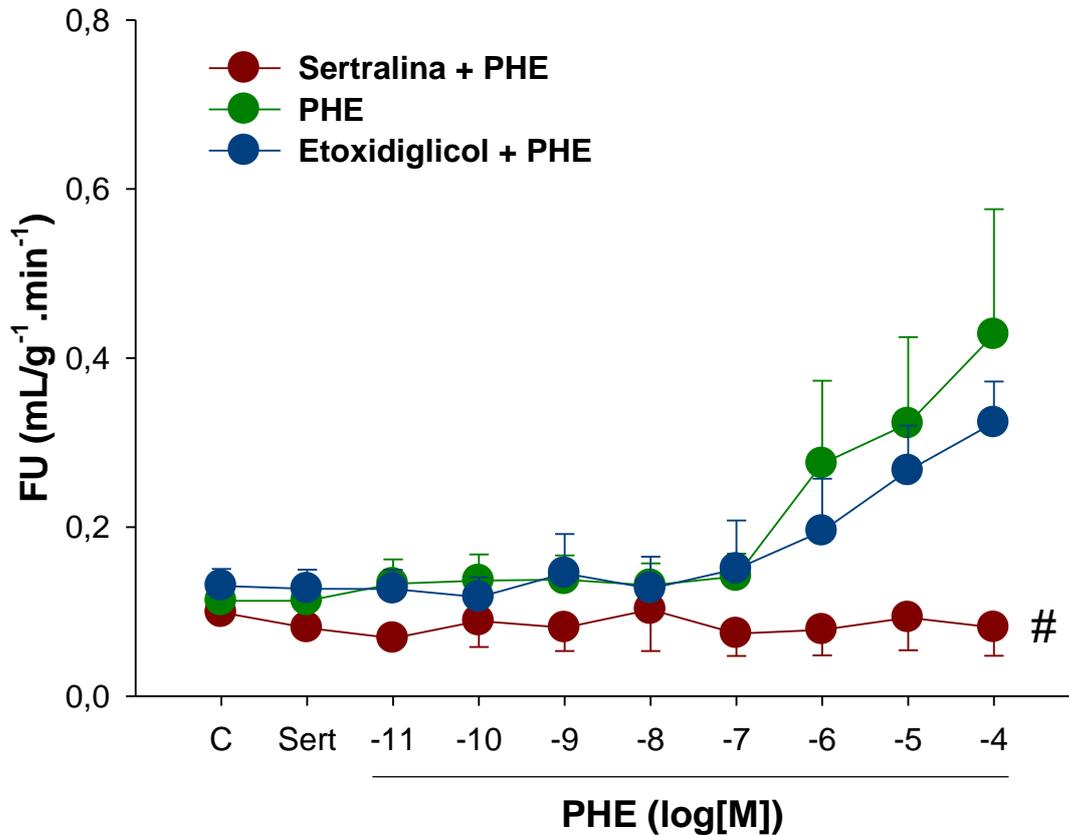


Figura 40 – Efeito da adição cumulativa de fenilefrina na presença de sertralina no fluxo urinário (FU) de rim isolado de rato

O gráfico mostra as alterações no fluxo urinário após perfusão de rim isolado de rato com fenilefrina (10^{-11} – 10^{-4} M; PHE; $n = 4$) na ausência (●) ou na presença contínua de sertralina ($30 \mu\text{M}$; ●; $n = 4$). O fluxo urinário foi avaliado em intervalos de 10 min em uma dada concentração de fenilefrina. Em um grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; $n = 4$) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. # indica a diferença significativa entre os tratamentos (PHE vs. Sertralina + PHE) ($p < 0,05$; two-way ANOVA). C, parâmetro antes da adição de sertralina e PHE; Sert, parâmetro após 10 min de perfusão com sertralina ($30 \mu\text{M}$); PHE (log[M]), valores logaritmos da concentração molar de fenilefrina adicionada a cada 10 min.

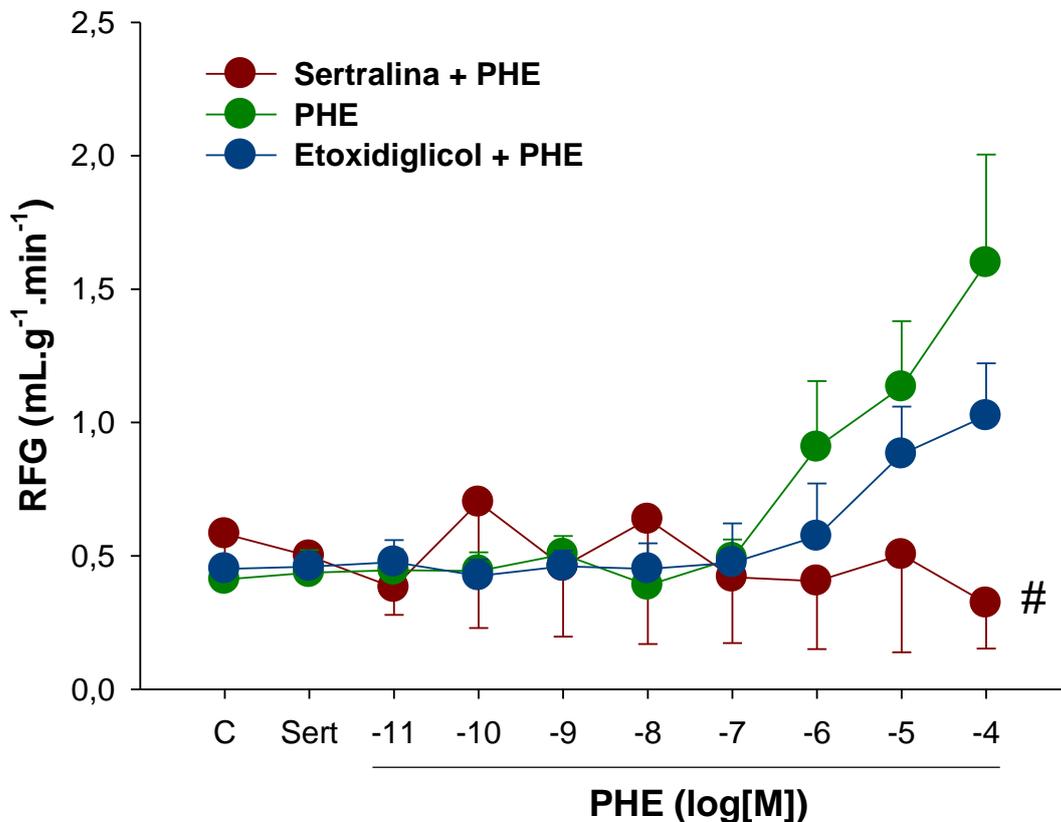


Figura 41 – Efeito da adição cumulativa de fenilefrina na presença de sertralina no ritmo de filtração glomerular (RFG) de rim isolado de rato

O gráfico mostra as alterações no ritmo de filtração glomerular após perfusão de rim isolado de rato com fenilefrina (10^{-11} – 10^{-4} M; PHE; $n = 4$) na ausência (●) ou na presença contínua de sertralina ($30 \mu\text{M}$; ●; $n = 4$). O ritmo de filtração glomerular foi avaliado em intervalos de 10 min em uma dada concentração de fenilefrina. Em grupo separado, os rins foram perfundidos somente com veículo (etoxidiglicol; ●; $n = 4$) na mesma concentração (0,03% v/v) usada para dissolver a sertralina. # indica a diferença significativa entre os tratamentos (PHE vs. Sertralina + PHE) ($p < 0,05$; two-way ANOVA). C, parâmetro antes da adição de sertralina e PHE; Sert, parâmetro após 10 min de perfusão com sertralina ($30 \mu\text{M}$); PHE (log[M]), valores logaritmos da concentração molar de fenilefrina adicionada a cada 10 min.

5.3 Contratilidade

5.3.1 Efeito da sertralina na contração de anéis de artéria mesentérica isolados de rato induzida por PHE

Em anéis de artéria mesentérica com o endotélio intacto, sertralina (1 - 100 μM) inibiu de forma significativa ($p < 0,05$; teste de Holm-Sidak) as contrações induzidas por PHE (0,3 μM ; $320,7 \pm 58,2$ mg; $n = 5$) de maneira dependente de concentração (Fig. 42). O valor da CI_{50} para a inibição induzida pela sertralina foi de 15,1 [9,2 - 24,6] μM ($n = 5$) e uma inibição quase completa foi observada em 100 μM ($4,1 \pm 0,8\%$ da contração controle). Em preparações sem endotélio, a sertralina quase inibiu totalmente a contração induzida por PHE (0,3 μM ; $401,8 \pm 51,2$ mg; $n = 6$), mas com aumento do valor da CI_{50} , o que correspondeu a 28,8 [20,4 - 40,6] μM ($n = 6$, $p < 0,05$; teste t de Student). Em anéis com endotélio intacto, o verapamil diminuiu a contração induzida por PHE (0,3 μM) com CI_{50} de 0,5 [0,2 - 1,3] μM ($n = 5$), com valores significativamente menores que os observados para a sertralina ($p < 0,05$; teste t de Student).

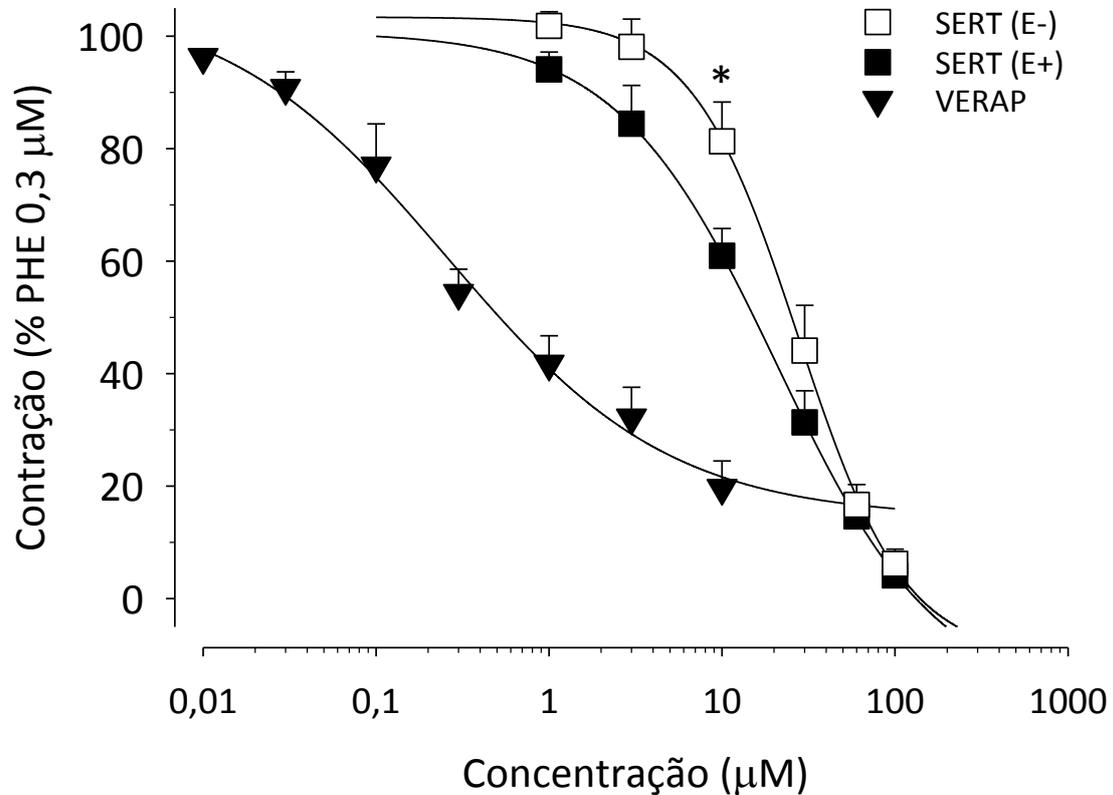


Figura 42 – Efeito inibitório da sertralina e verapamil na contração induzida por fenilefrina em anéis de artéria mesentérica isolados de rato

O gráfico mostra o efeito inibitório da sertralina (1 - 100 µM) ou verapamil (0,01 – 10 µM) na contração induzida por uma concentração submaximal de fenilefrina (PHE; 0,3 µM) em anéis de artéria mesentérica isolados de rato. Os experimentos com sertralina foram realizados em preparações com endotélio (■; n= 5) e sem endotélio (□; n = 6), entretanto o verapamil foi utilizado como controle positivo mas em preparações com o endotélio intacto (▼; n = 5). * indica que a inibição induzida por sertralina (em 10 µM) foi significativamente menor em anéis de artéria mesentérica sem endotélio do que em anéis com endotélio íntegro ($p < 0,05$; two-way ANOVA seguido pelo teste de Holm-Sidak).

5.3.2 Efeito da sertralina na contração fásica em anéis de artéria mesentérica isolados de rato mantidos em meio sem Ca^{2+}

Em anéis de artéria mesentérica isolados de rato com endotélio intacto mantidos em meio sem cálcio contendo EGTA 0,1 mM, a fenilefrina (1 μM) produziu uma contração fásica correspondente a $117,3 \pm 24,3$ mg ($n = 10$) (Figura 43) significativamente menor ($p < 0,05$; teste t Student) do que a obtida em meio contendo 2,5 mM Ca^{2+} ($460,9 \pm 82,3$ mg; $n = 6$). Na presença de sertralina (100 μM), essa contração fásica alcançada foi $88,8 \pm 25,1$ mg ($n = 9$), sem diferença significativa comparada à contração na ausência de sertralina ($p > 0,05$; teste t Student). Em meio sem Ca^{2+} , o estímulo contrátil da cafeína (10 mM; 25°C; Figura 43), em vez de fenilefrina, produziu uma contração fásica em anéis de artéria mesentérica de $59,8 \pm 5,9$ mg ($n = 6$) na ausência e $59,0 \pm 12,2$ mg ($n = 8$) na presença de sertralina (100 μM). Esses valores não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$; teste t Student). Adicionalmente, um grupo de anéis de artéria mesentérica mantidos em meio sem Ca^{2+} contendo tapsigargina 0,1 μM foi estimulado com fenilefrina (10 μM) para depletar os estoques intracelulares de Ca^{2+} (Figura 43). Após a remoção de fenilefrina (10 μM), a concentração normal de Ca^{2+} (2 mM) foi então restaurada e o tecido desenvolveu resposta contrátil cuja amplitude foi de $54,9 \pm 10,3$ mg ($n = 5$) na ausência e $42,9 \pm 5,5$ mg ($n = 5$) na presença de sertralina (100 μM). Mais uma vez, esses valores não apresentaram significância estatística ($p > 0,05$; teste t Student).

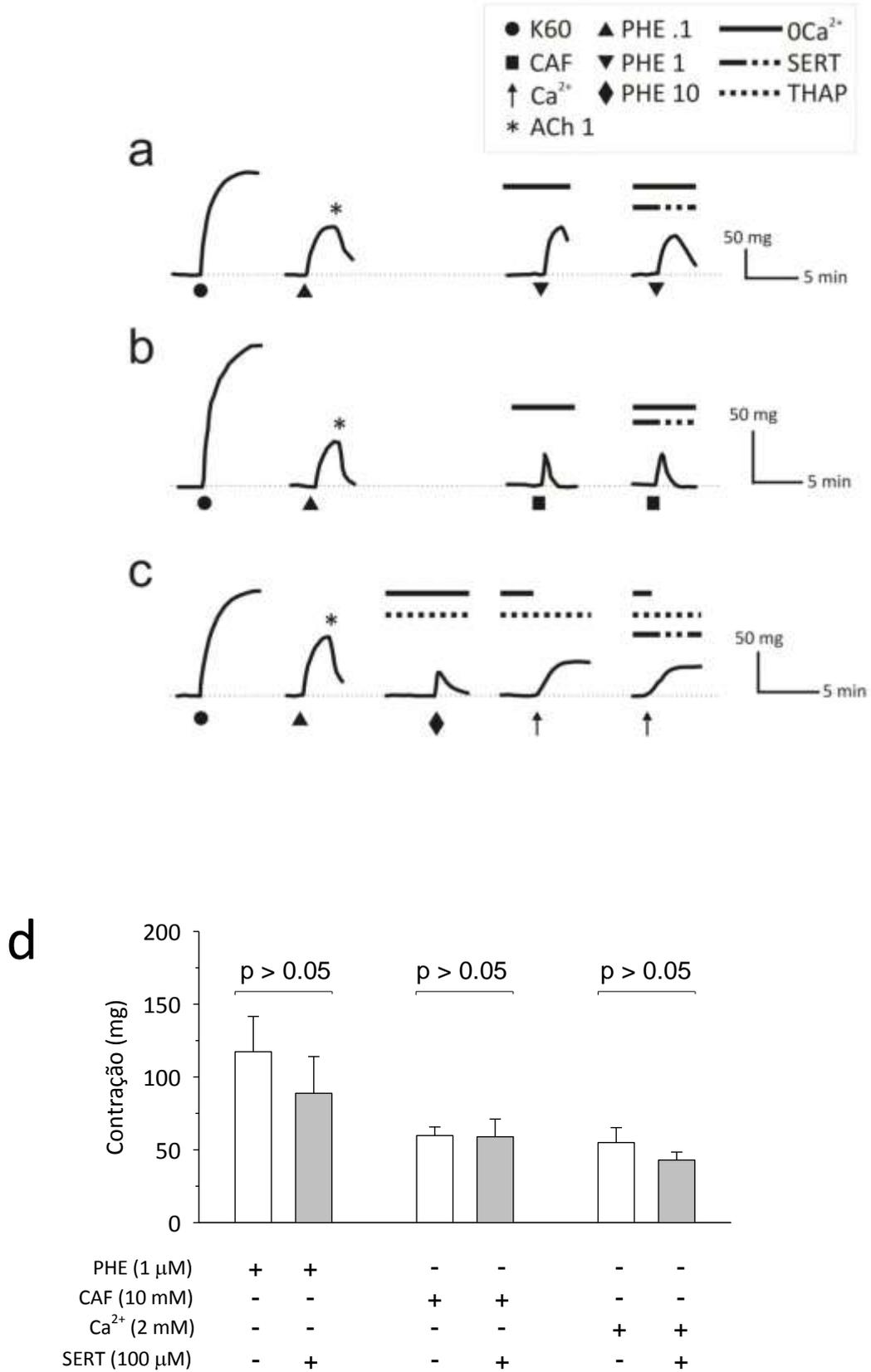


Figura 43 – Efeito da sertralina na contração fásica induzida por fenilefrina, cafeína ou reposição de Ca²⁺ em meio sem Ca²⁺

Painel **a** até **c** mostra o registro de traçado típico de experimento com a contração inicial induzida por K^+ 60mM que serviu de referência em meio contendo Ca^{2+} . Para avaliar a integridade do endotélio, os anéis foram estimulados com fenilefrina (PHE; ▲ ; 0,1 μ M) e após o estabelecimento de um platô da contração foi adicionado acetilcolina (ACh ; * ; 1 μ M). O relaxamento induzido por ACh demonstra a integridade do endotélio. Os anéis de artéria mesentérica foram, então, submetidos a condições livre de Ca^{2+} (SKHM sem Ca^{2+} com EGTA 0,1 mM). Após 6 min em tais condições, foram estimulados por fenilefrina (PHE; ▼; 1 μ M; n = 9 – 10; painel **a**) ou cafeína (CAF; ■ ; 10 mM à 25°C; n = 6 – 8; painel **b**) na ausência ou na presença de sertralina (SERT; 100 μ M). No painel **c**, os anéis de artéria mesentérica foram tratados em meio livre de Ca^{2+} (SKHM sem Ca^{2+} com EGTA 1 mM) com taspigargina (THAP; 0,1 μ M) sendo subsequentemente estimulados por fenilefrina (PHE; ◆ ; 10 μ M) para depletar os estoques intracelulares de Ca^{2+} . Após a remoção da fenilefrina, a contração ocorre pela adição de Ca^{2+} (\uparrow ; 2 mM sem EGTA; n = 5) na ausência e na presença de sertralina (SERT). Em **d**, gráfico mostra os valores médios dessas contrações, demonstrando que a sertralina (SERT) não foi capaz de induzir mudanças inibitórias.

5.3.3 Efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas por Ca^{2+} em anéis de artéria mesentérica isolados de rato mantidos na presença de verapamil e fenilefrina ou K^+

Um grupo de anéis de artéria mesentérica foi mantido em meio sem Ca^{2+} como descrito anteriormente, onde um grupo foi estimulado por uma alta concentração de fenilefrina (60 μM) na presença de verapamil (3 μM) e outro por uma alta concentração de K^+ (60 mM). Sob tais condições, anéis de artéria mesentérica produziram contrações não sustentadas que rapidamente voltaram ao valor inicial e, em seguida, uma curva concentração-efeito de Ca^{2+} (0,1 - 10 mM; Fig. 44) foi construída na ausência ou na presença de sertralina (100 μM). Em comparação com a contração inicial induzida por K^+ 60 mM, que serviu como referência, os valores de E_{max} foram obtidos em 10 mM Ca^{2+} e corresponderam a $124,1 \pm 8,1\%$ ($n = 5$) e $74,8 \pm 13,5\%$ ($n = 6$) em anéis estimulados com K^+ ou PHE, respectivamente. Na presença de sertralina (100 μM), esses valores foram significativamente reduzidos ($p < 0,05$; two-way ANOVA) para $48,3 \pm 14,0\%$ e $35,9 \pm 9,4\%$ em preparações estimuladas por K^+ e PHE, respectivamente.

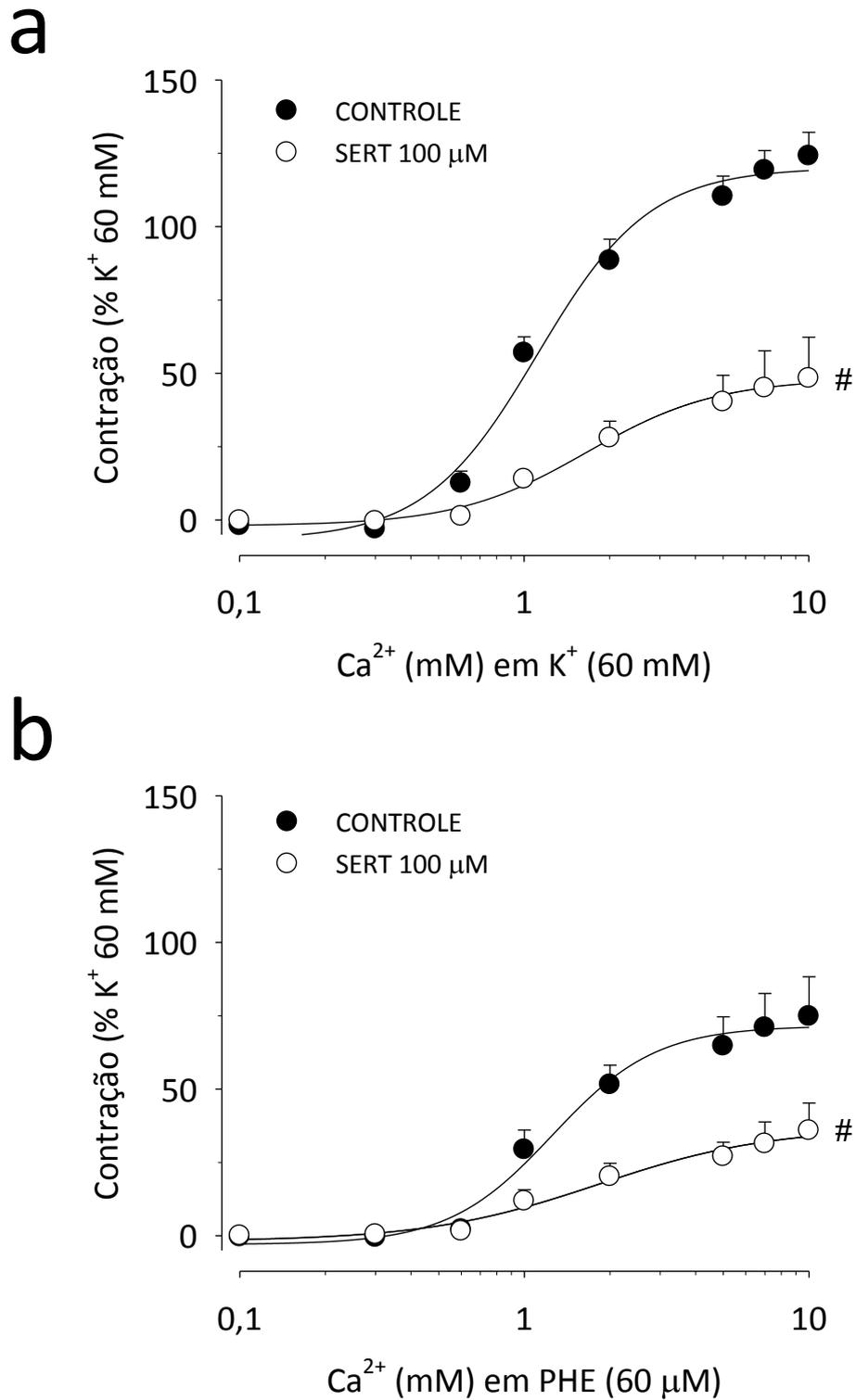


Figura 44 – Efeito da sertralina nas curvas concentração-efeito induzidas por Ca^{2+} em anéis de artéria mesentérica mantidos na presença de verapamil e fenilefrina ou K^+

O gráfico mostra as contrações induzidas por Ca^{2+} de maneira concentração-dependente em anéis de artéria mesentérica mantidos em meio sem Ca^{2+} (EGTA 0,5mM). Anterior à adição do Ca^{2+} , os anéis foram tratados e mantidos em soluções contendo K^+ 60 mM (n = 5; painel a) ou fenilefrina (60 μM) mais verapamil (3 μM) (n = 6; painel b). A escolha dessa concentração de verapamil foi por bloquear completamente contrações induzidas por K^+ em anéis de artéria mesentérica (dados não mostrados). # indica que a comparação em bloco da curva concentração-efeito entre os anéis de artéria mesentérica mantidas na ausência (controle) ou na presença de sertralina (100 μM) apresentaram diferenças significativas (p <0,05; two-way ANOVA).

5.3.4 Efeito da sertralina sobre o tônus basal de tiras isoladas de bexiga

A adição cumulativa de sertralina (1 - 1000 μM ; ●; n = 4) não alterou o tônus basal de tiras isoladas de bexiga. Apesar da tendência à diminuição do tônus basal, principalmente nas concentrações mais altas de sertralina, os valores obtidos não apresentaram diferença estatística àqueles observados antes da adição de sertralina ou veículo (etoxidiglicol) ($p > 0,05$; ANOVA). Da mesma forma, a adição do veículo (etoxidiglicol; ●; n = 4) nas mesmas proporções usadas para dissolver a sertralina não provocou qualquer alteração significativa no tônus basal de tiras isoladas de bexiga (Figura 45).

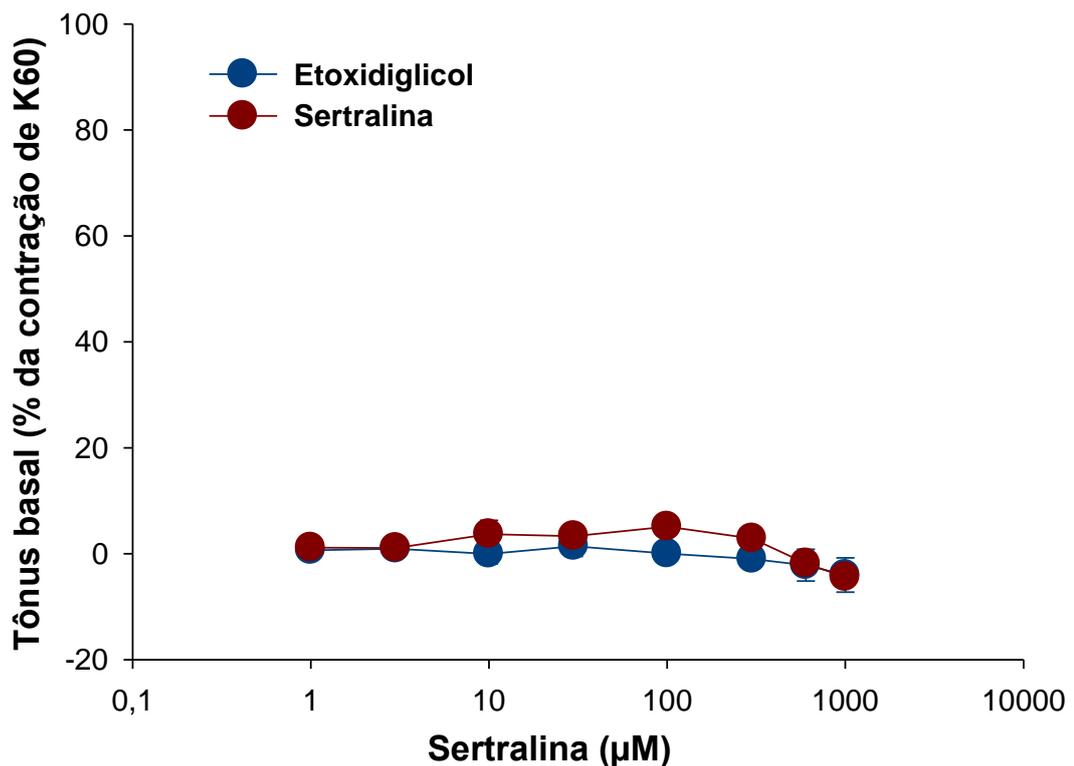


Figura 45 – Efeito da sertralina no tônus basal de tiras isoladas de bexiga de rato

Os valores estão expressos como percentual da contração induzida por K^+ 60 mM. As barras verticais indicam erro padrão da média (E.P.M).

5.3.5 Efeito inibitório da sertralina sobre a contração induzida por K^+ ou carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato

Adicionada por um período prévio de 10 min à solução de banho, a sertralina inibiu, de maneira dependente de concentração ($p < 0,001$; ANOVA), as contrações induzidas por K^+ 60 mM (Figura 46) ou CCh 3 μ M (Figura 47). Para as contrações induzidas por K^+ 60 mM (controle = $150,8 \pm 26,0$ mg), os valores de CI_{50} corresponderam a 21,0 [15,8 – 28,0] μ M ($n = 11$). Para as contrações induzidas por CCh 3 μ M (controle = $436,5 \pm 67,6$ mg) os valores de CI_{50} corresponderam a 22,8 [12,9 – 40,4] μ M ($n = 11$). A comparação estatística dos valores de CI_{50} não revelou diferença significativa entre eles ($p > 0,05$; teste t não pareado). Vale destacar que, apenas na concentração de 1 μ M, a sertralina aumentou significativamente a contração induzida por CCh 3 μ M, enquanto que o efeito inibitório só foi observado a partir da concentração de 10 μ M.

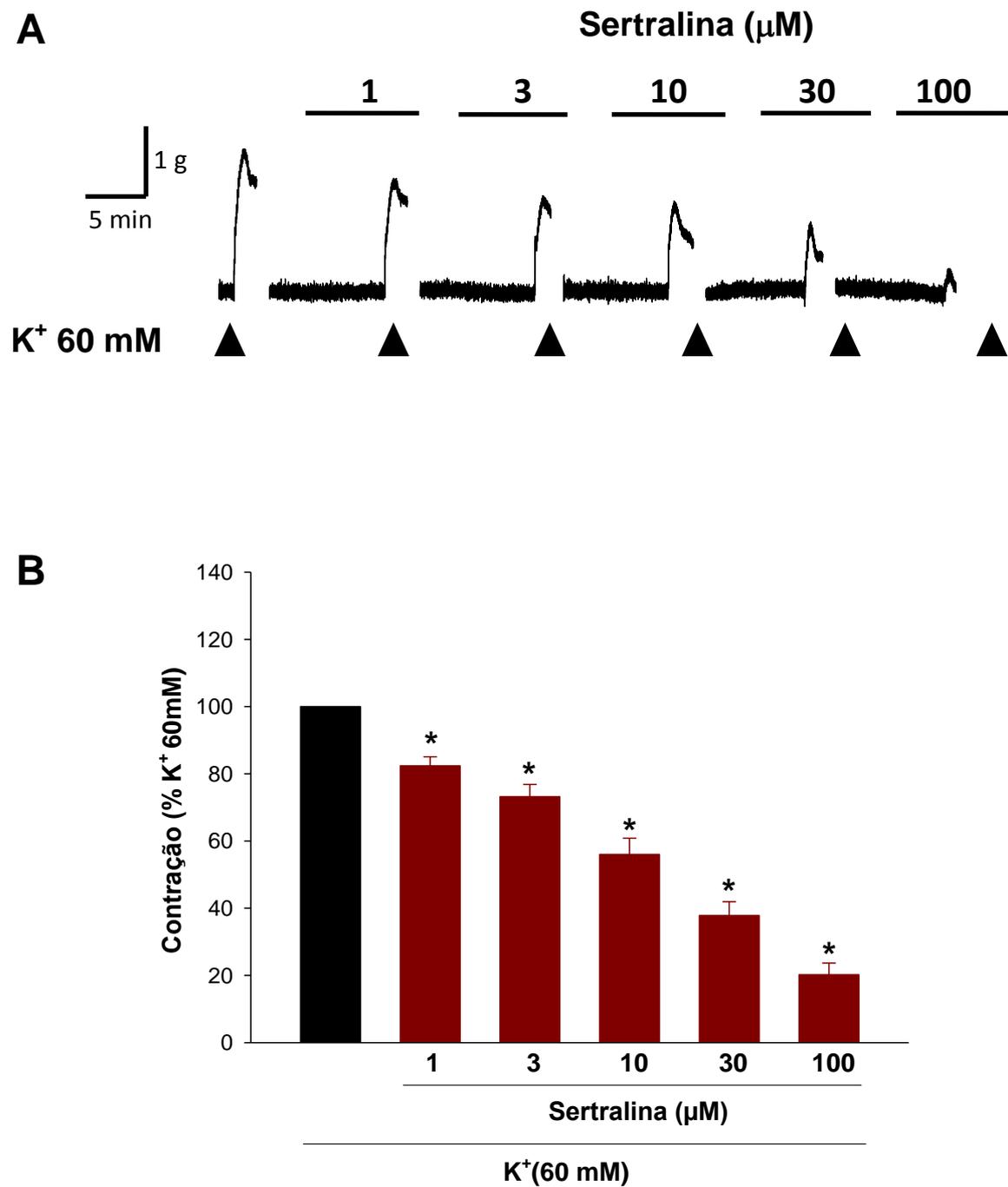


Figura 46 – Efeito inibitório da sertralina na contração induzida por K^+ em tiras isoladas de bexiga de rato

(A) Traçado original de um experimento mostrando o efeito inibitório da sertralina (1 – 100 μM) sobre as contrações induzidas por $\text{K}^+ 60 \text{ mM}$ em tiras isoladas de bexiga. O símbolo (\blacktriangle) indica o momento da administração do $\text{K}^+ 60 \text{ mM}$ durante o

experimento. A primeira contração induzida por K^+ 60 mM foi obtida na ausência de sertralina e sua amplitude foi considerada como controle. As concentrações de sertralina utilizadas e o período da aplicação são indicados pelos valores acima do símbolo (—). Após cada contração induzida por K^+ 60 mM, a preparação foi lavada por um período de aproximadamente 15 min para adicionar uma nova concentração de sertralina. Para facilitar a visualização dos efeitos, as etapas de lavagem não foram mostradas.

(B) O gráfico mostra a média da inibição da contração induzida por K^+ 60mM pela sertralina (1 – 100 μ M; n = 11). Os valores estão expressos em percentual da contração controle induzida por K^+ 60 mM na ausência de sertralina. As barras verticais indicam erro padrão da média (E.P.M). * $p < 0,05$; teste Holm-Sidak, comparado à contração controle.

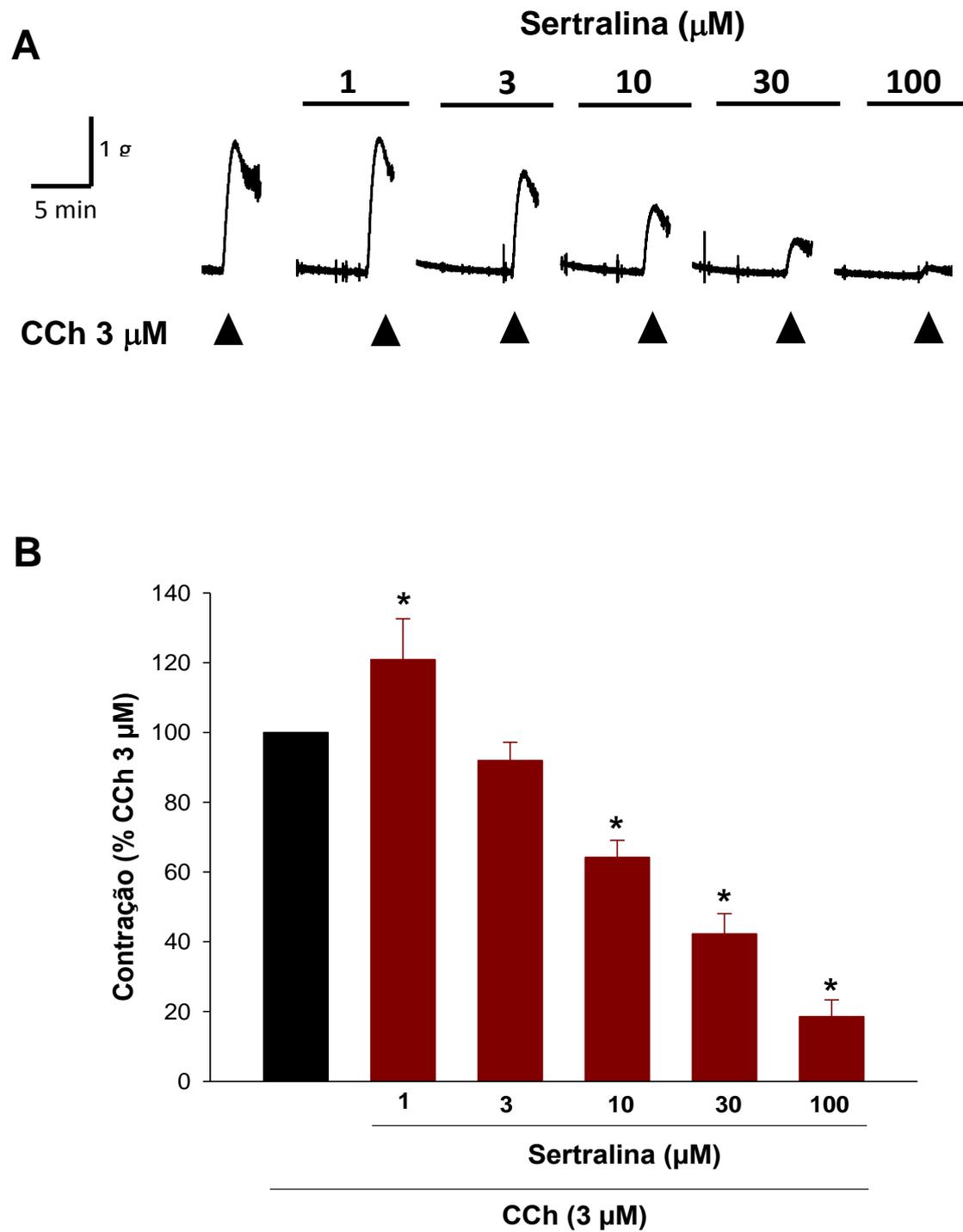


Figura 47 – Efeito inibitório da sertralina na contração induzida por carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato

(A) Traçado original de um experimento mostrando o efeito inibitório da sertralina (1 – 100 μM) sobre as contrações induzidas por CCh 3 μM em tiras isoladas de bexiga.

O símbolo (▲) indica o momento da administração do CCh 3 μ M durante o experimento. A primeira contração induzida por CCh 3 μ M foi obtida na ausência de sertralina e sua amplitude foi considerada como controle. As concentrações de sertralina utilizadas e o momento da aplicação são indicados pelos valores acima do símbolo (—). Após cada contração induzida por CCh 3 μ M, a preparação foi lavada por um período de aproximadamente 15 min para adicionar uma nova concentração de sertralina. Para facilitar a visualização dos efeitos, as etapas de lavagem não foram mostradas.

(B) O gráfico mostra a média da inibição da contração induzida por CCh 3 μ M pela sertralina (1 – 100 μ M; n = 11). Os valores estão expressos em percentual da contração controle induzida por CCh 3 μ M na ausência de sertralina. Vale salientar o efeito potencializador da sertralina (1 μ M) na contração induzida por CCh 3 μ M. As barras verticais indicam erro padrão da média (E.P.M). * $p < 0,05$; Holm-Sidak, comparado à contração controle.

5.3.6 Efeito inibitório da sertralina aplicada no platô da contração induzida por K^+ ou carbacol em tiras isoladas de bexiga de rato

Adicionada no estado estacionário da contração induzida por K^+ 60 mM ou CCh 1 μ M, a sertralina em concentrações crescentes (1 – 300 μ M) produziu efeito relaxante de maneira dependente de concentração ($p < 0,001$; ANOVA). Para a contração induzida por K^+ 60mM, o primeiro efeito relaxante foi observado com 30 μ M de sertralina (Figura 48), enquanto que a reversão da contração induzida por CCh 1 μ M ocorreu significativamente já a partir da concentração de 10 μ M de sertralina (Figura 49). Para as contrações induzidas por K^+ 60 mM (controle = $150,8 \pm 26,0$ mg), os valores de CI_{50} corresponderam a 94,3 [42,2 - 146,4] μ M ($n = 10$). Para as contrações induzidas por CCh 1 μ M (controle = $327,9 \pm 84,4$ mg) os valores de CI_{50} corresponderam a 67,8 [20,1 - 115,5] μ M ($n = 5$). A comparação estatística dos valores de CI_{50} não revelou diferença significativa entre eles ($p > 0,05$; teste t não pareado).

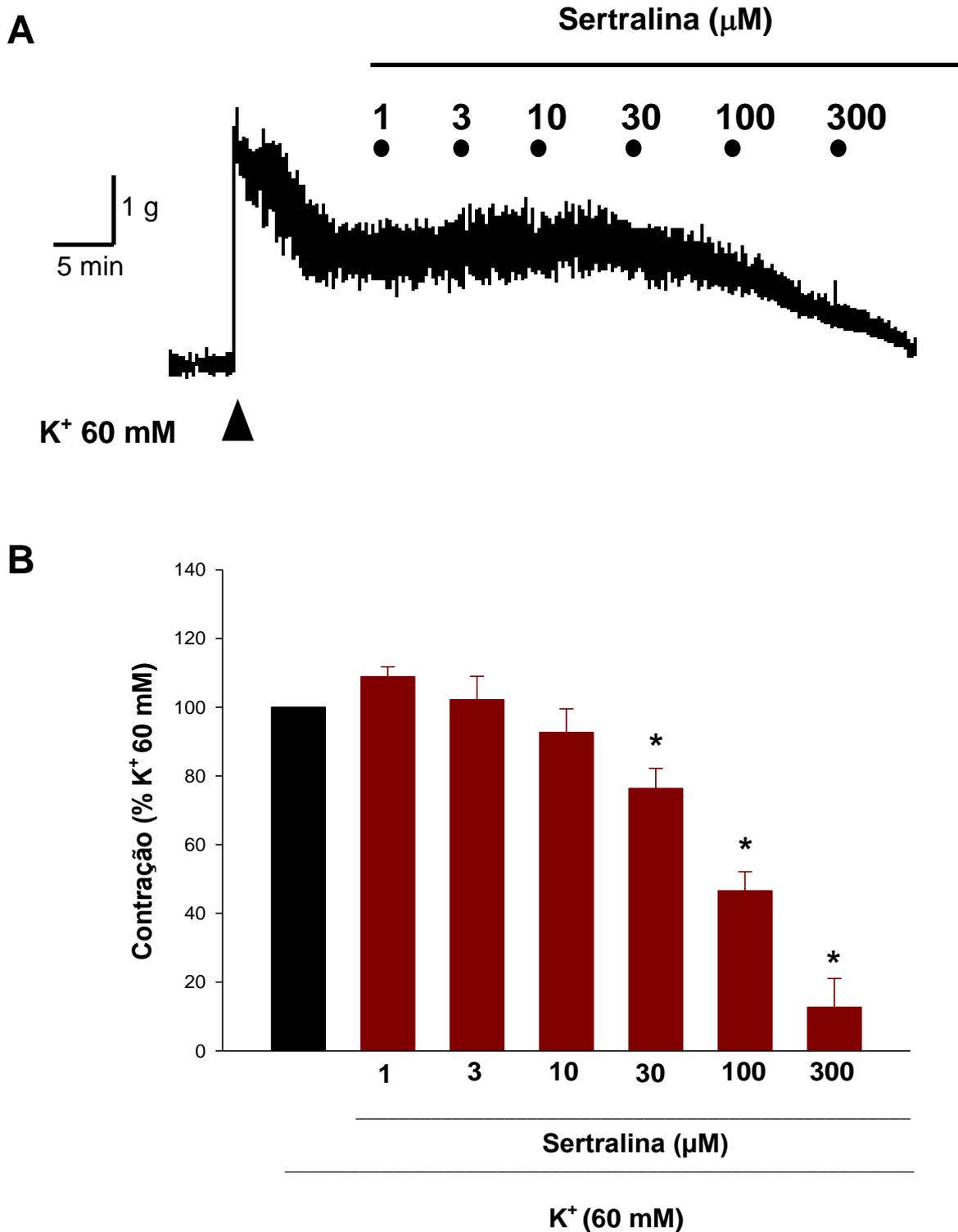


Figura 48 – Efeito da sertralina na reversão da pré-contracção induzida por K^+ em tiras isoladas de bexiga de rato

(A) Traçado original mostrando o efeito relaxante da adição cumulativa de concentrações crescentes de sertralina (1 – 300 μM) em tiras isoladas de bexiga

contraídas com 60 mM de K^+ . O símbolo (\blacktriangle) indica o momento da administração do K^+ 60 mM durante o experimento. As concentrações de sertralina utilizadas e o momento da aplicação são indicados pelos valores acima do símbolo (\bullet).

(B) O gráfico mostra os valores médios da contração induzida por K^+ 60 mM na ausência e na presença de concentrações crescentes de sertralina (1 – 300 μ M; n = 10). Os valores estão expressos em percentual da contração controle induzida por K^+ 60 mM antes da adição de sertralina. As barras verticais indicam erro padrão da média (E.P.M). * $p < 0,05$; teste Holm-Sidak, comparado à contração antes da adição de sertralina.

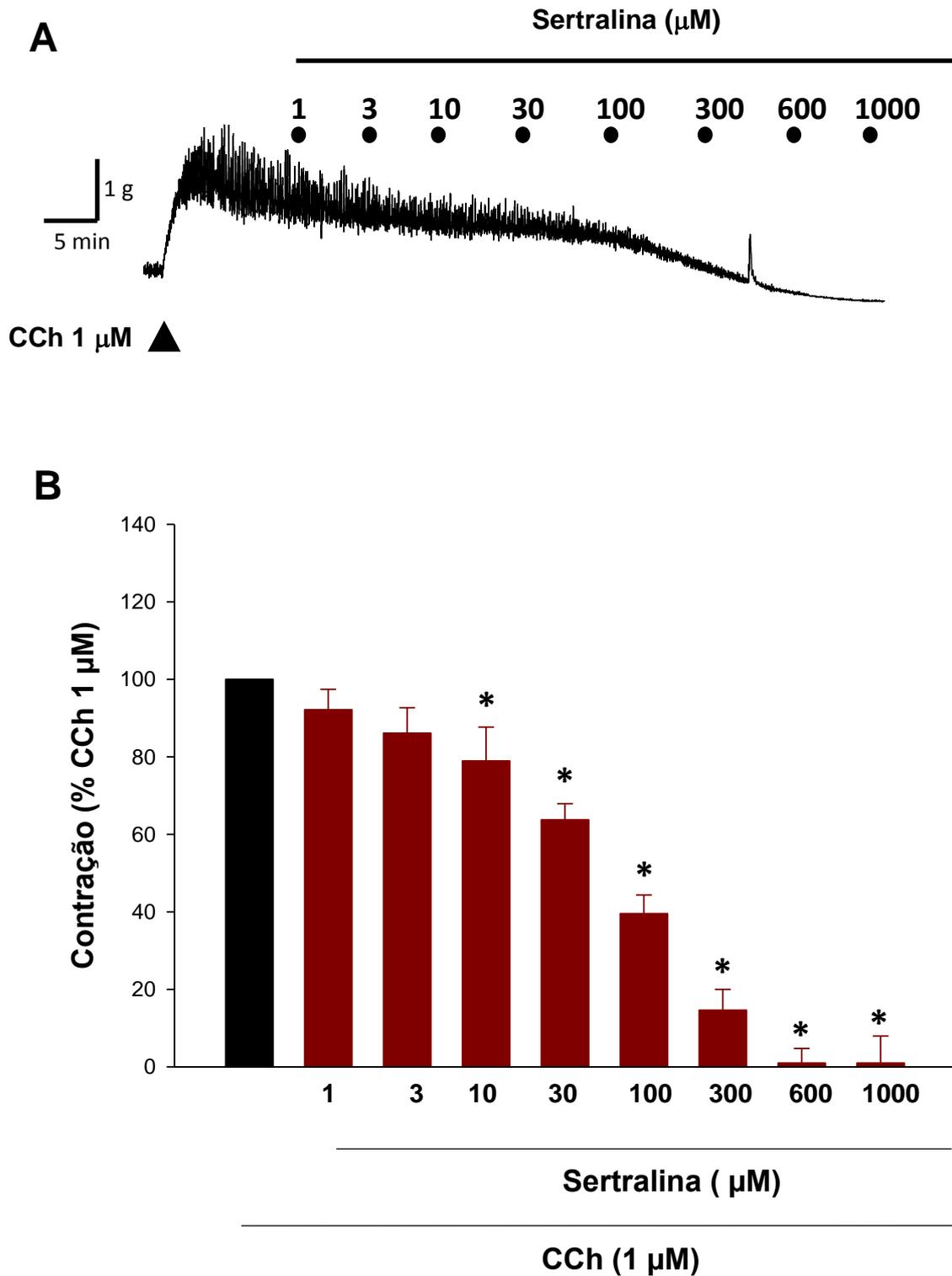


Figura 49 – Efeito da sertralina na reversão da pré-contratação induzida por CCh em tiras isoladas de bexiga de rato

(A) Traçado original de um experimento com tiras isoladas de bexiga mostrando o efeito relaxante da adição cumulativa de concentrações crescentes de sertralina (1 –

1000 μM) contraídos com CCh 1 μM . O símbolo (\blacktriangle) indica o momento da administração do CCh 1 μM durante o experimento. As concentrações de sertralina utilizadas e o momento da aplicação são indicados pelo símbolo (\bullet). Nota-se um artefato no registro após administração de sertralina 600 μM .

(B) O gráfico mostra os valores médios da contração induzida por CCh 1 μM na ausência e na presença de concentrações crescentes de sertralina (1 – 1000 μM ; n = 5). Os valores estão expressos em percentual da contração controle induzida por CCh 1 μM antes da adição de sertralina. As barras verticais indicam erro padrão da média (E.P.M). * $p < 0,05$; teste Holm-Sidak, comparado à contração antes da adição de sertralina.

5.3.7 Efeito da sertralina sobre a curva concentração-efeito induzida por concentrações crescentes de K⁺ ou CCh em tiras isoladas de bexiga de rato

Na ausência de sertralina, a adição de concentrações crescentes de K⁺ (10 a 140 mM) ou de CCh (0,001 a 300 μM) produziu efeito contraturante de maneira dependente de concentração ($p < 0,001$; ANOVA) em tiras isoladas de bexiga de rato. Para as contrações induzidas por K⁺, o efeito máximo foi de $602,5 \pm 92,5$ mg ($n = 13$) e foi alcançado na concentração de 140 mM. Esse valor foi expresso como 100% e as demais curvas na presença de sertralina ou do veículo foram normalizadas em função desse percentual. Como pode ser visto na Figura 50, na presença de sertralina houve redução significativa ($p < 0,05$; two-way ANOVA) do efeito máximo alcançado pela adição de K⁺ para $41,4 \pm 6,4\%$ na concentração de 3 μM de sertralina ($n = 9$) e $25,1 \pm 8,7\%$ na de 30 μM ($n = 9$). Redução do efeito máximo também foi observada nos experimentos feitos com CCh (Figura 51). Na presença de sertralina nas mesmas concentrações de 3 e 30 μM, o efeito máximo da curva concentração-efeito induzida por CCh foi de apenas $53,7 \pm 3,8\%$ ($n = 12$) e $11,3 \pm 2,3\%$ ($n = 12$) dos valores obtidos na curva controle, respectivamente. Esses valores apresentaram diferença significativa ao serem comparados ao controle ($p < 0,05$; two-way ANOVA).

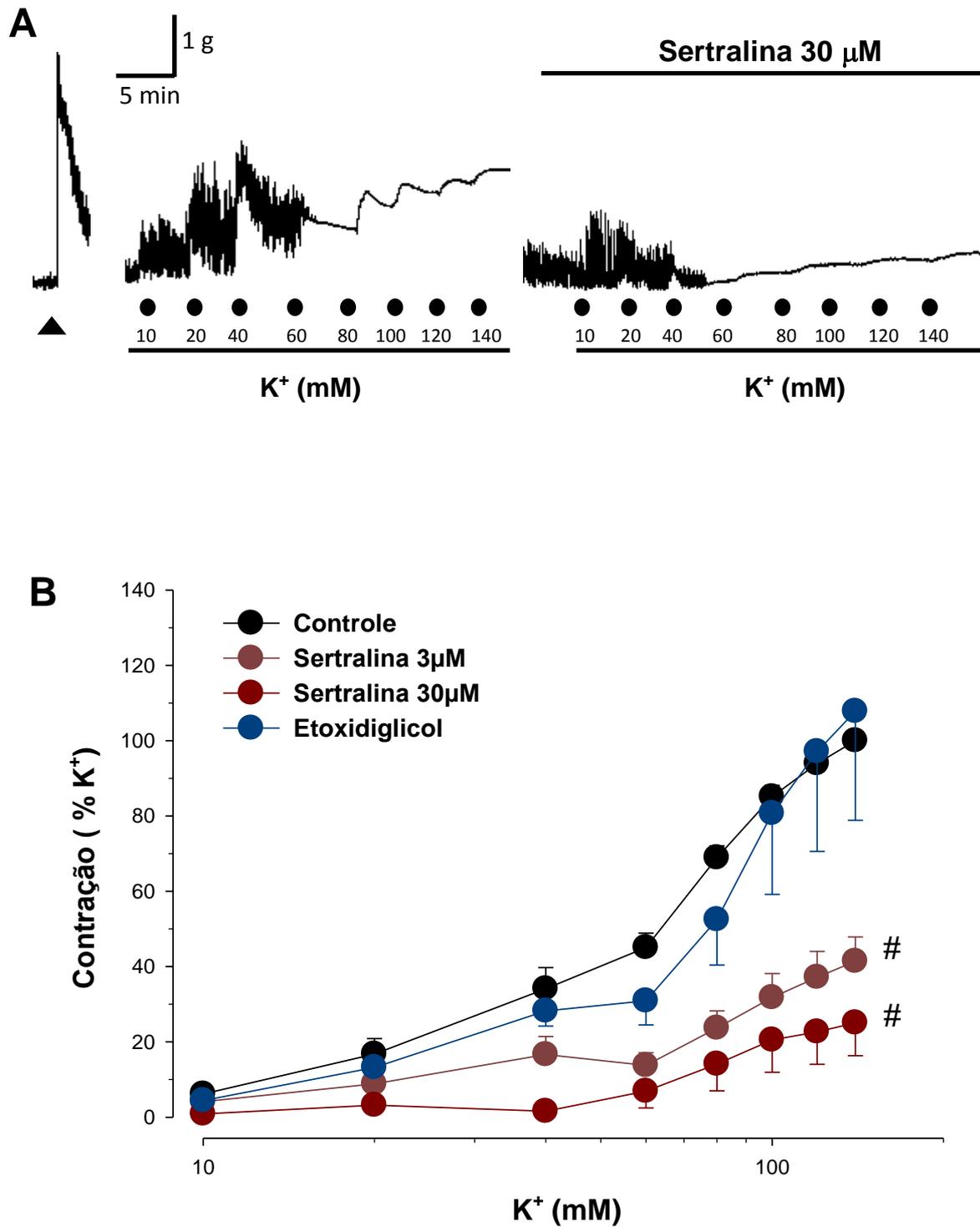


Figura 50 – Efeito da sertralina sobre a curva concentração-efeito induzida por K^+ em tiras isoladas de bexiga de rato

(A) Traçado original de um experimento onde tiras isoladas de bexiga foram expostas à adição cumulativa de concentrações crescentes de K^+ (10 – 140 mM) na

ausência (traçado à esquerda) e na presença de sertralina 30 μM (traçado à direita). O símbolo (\blacktriangle) indica o momento da administração do K^+ 60 mM antes de iniciar o experimento para avaliar a viabilidade da preparação. As concentrações de K^+ utilizadas e o momento da aplicação são indicados pelo símbolo (\bullet). Após cada curva induzida por K^+ , a preparação foi lavada por um período de aproximadamente 15 min para adicionar uma nova concentração de sertralina. Para facilitar a visualização dos efeitos, as etapas de lavagem não foram mostradas.

(B) Gráfico com os valores médios da contração induzida por concentrações crescentes de K^+ (10 – 140 mM) na ausência (\bullet ; n = 13) e na presença de sertralina 3 μM ($\color{red}\bullet$; n = 9) ou 30 μM ($\color{red}\bullet$; n = 9) ou veículo (etoxidiglicol, $\color{blue}\bullet$; n = 8). O valor máximo obtido na ausência de sertralina (controle) foi considerado como 100% e serviu de referência para a normalização dos valores na presença de sertralina. As barras verticais representam E.P.M. # p < 0,05; two-way ANOVA em relação à curva controle.

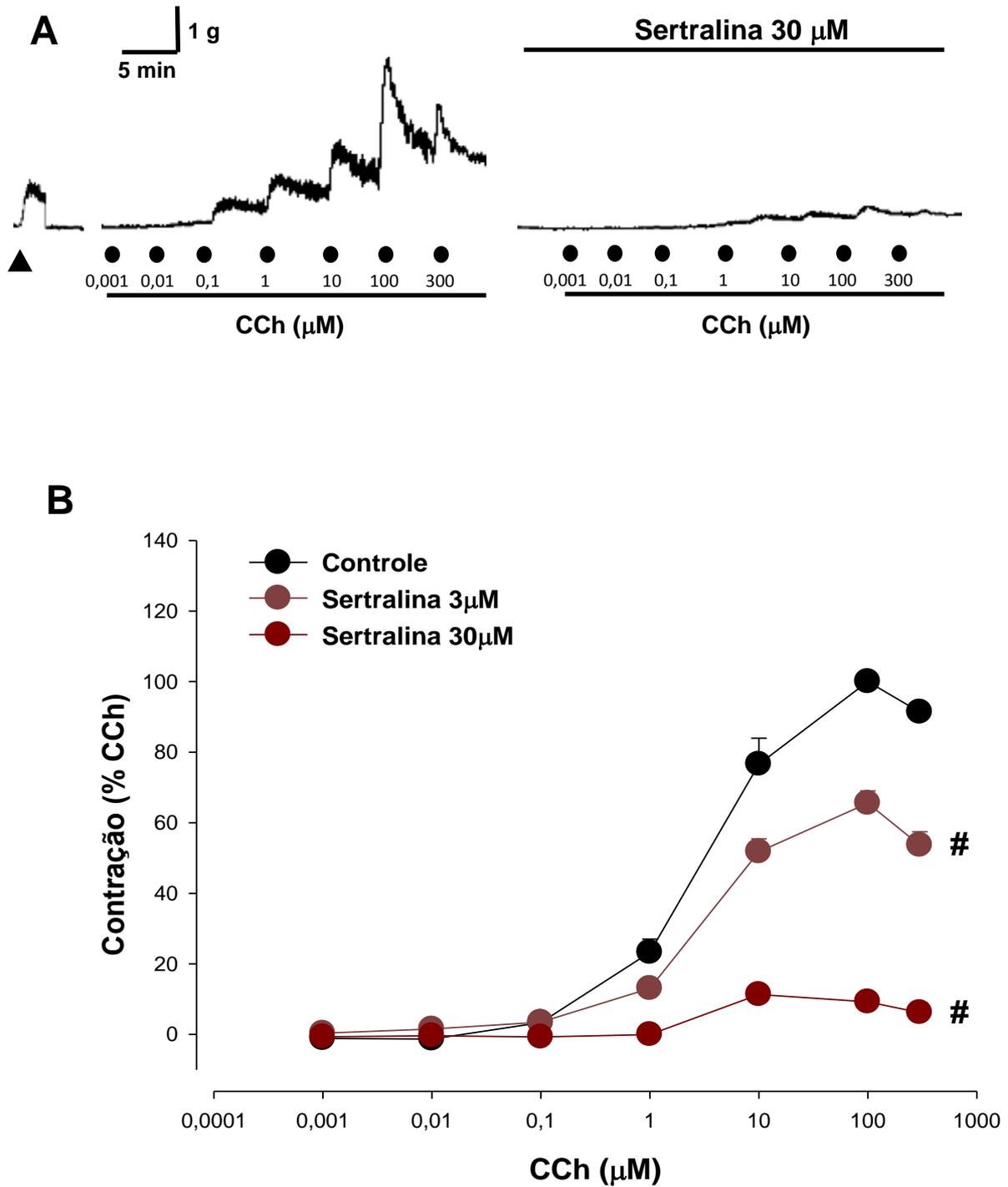


Figura 51 – Efeito da sertralina sobre a curva concentração-efeito induzida por CCh em tiras isoladas de bexiga de rato

(A) Traçado original de um mesmo experimento onde tiras isoladas de bexiga foram expostas à adição cumulativa de concentrações crescentes de CCh (0,001 – 300 µM) na ausência de sertralina (traçado à esquerda) e na presença de sertralina 30

μM (traçado à direita). O símbolo (\blacktriangle) indica o momento da administração do CCh $1 \mu\text{M}$ antes de iniciar o experimento para avaliar a viabilidade da preparação. As concentrações de CCh utilizadas e o momento da aplicação são indicados pelo símbolo (\bullet). Após cada curva contrátil induzida por CCh, a preparação foi lavada por um período de aproximadamente 15 min para adicionar uma nova concentração de sertralina. Para facilitar a visualização dos efeitos, as etapas de lavagem não foram mostradas.

(B) Gráfico com os valores médios da contração induzida por concentrações crescentes de CCh ($0,001 - 300 \mu\text{M}$) na ausência (\bullet ; $n = 12$) e na presença de sertralina $3 \mu\text{M}$ ($\color{red}\bullet$; $n = 12$) ou $30 \mu\text{M}$ (\bullet ; $n = 12$). O valor máximo obtido na ausência de sertralina (controle) foi considerado como 100% e serviu de referência para a normalização dos valores na presença de sertralina. As barras verticais representam E.P.M. # $p < 0,05$; two-way ANOVA em relação à curva controle.

5.3.8 Efeito da sertralina nas contrações transitórias induzidas por CCh em meio livre de Ca^{2+} na presença de EGTA

Em meio sem cálcio contendo EGTA (0,1 mM) a adição de carbacol (CCh, 10 μM) produziu contração fásica (não sustentada) que foi correspondente a $52,4 \pm 9,2\%$ do valor obtido com a mesma concentração de CCh, mas na presença de Ca^{2+} (n = 6). Na presença de sertralina (30 μM) a contração fásica do CCh foi de $44,9 \pm 3,5\%$ (n = 6), valor sem diferença estatística ($p > 0,05$; teste t não pareado) (Figura 52).

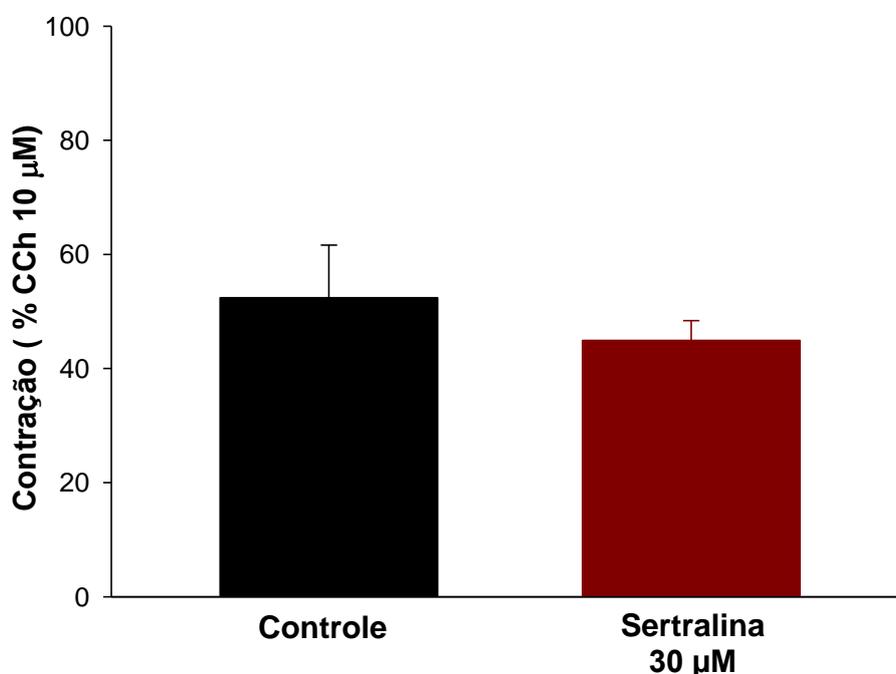


Figura 52 – Efeito da sertralina na contração fásica induzida por CCh em tiras isoladas de bexiga de rato mantida em meio sem Ca^{2+}

O gráfico mostra os valores médios da contração induzida por CCh 10 μM na ausência (n = 6) e na presença de sertralina (30 μM ; n = 6). Os valores estão expressos em percentual da contração induzida por CCh 10 μM antes da remoção do Ca^{2+} extracelular. As barras verticais indicam erro padrão da média (E.P.M).

5.3.9 Efeito da sertralina na CCE induzida por Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga de rato mantidas em presença de K^+

Um grupo de tiras de bexiga foi mantido em meio sem Ca^{2+} , sendo posteriormente estimulados por uma alta concentração de K^+ (60 mM). Sob tais condições, as tiras de bexiga produziram contrações não sustentadas que rapidamente voltaram ao valor inicial e, em seguida, uma curva concentração-efeito de Ca^{2+} (0,1 - 20 mM; Fig. 53) foi construída na ausência ou na presença de sertralina (30 e 100 μM). Na ausência de sertralina, o efeito máximo foi alcançado na concentração de 10 mM Ca^{2+} e esse ponto foi considerado como 100% para efeito de comparação com as respostas contráteis na presença de sertralina. Como podemos ver na Figura 53, o efeito máximo nessa concentração de Ca^{2+} foi reduzido para $65,1 \pm 14,8\%$ quando o tecido foi pré-tratado com sertralina 30 μM ($n = 11$) e para $57,9 \pm 17,5\%$ ($n = 11$) quando o tecido foi pré-tratado com sertralina 100 μM . Esses valores foram significativamente menores que os registrados na ausência de sertralina ($p < 0,05$; two-way ANOVA), mas não diferiram entre si. Em grupo separado de tiras isoladas de bexiga, a exposição do tecido ao verapamil 3 μM ou 30 μM (Figura 54) também diminuiu a amplitude máxima da curva concentração-efeito construída pela adição de Ca^{2+} para valores correspondentes a $29,1 \pm 6,3\%$ ($n = 7$) e $8,4 \pm 1,8\%$ ($n = 7$) da resposta controle, respectivamente. O efeito máximo promovido pelo Ca^{2+} na presença de verapamil em qualquer concentração foi significativamente menor do que os valores do efeito máximo observado em qualquer concentração de sertralina ($p < 0,05$; teste t não pareado).

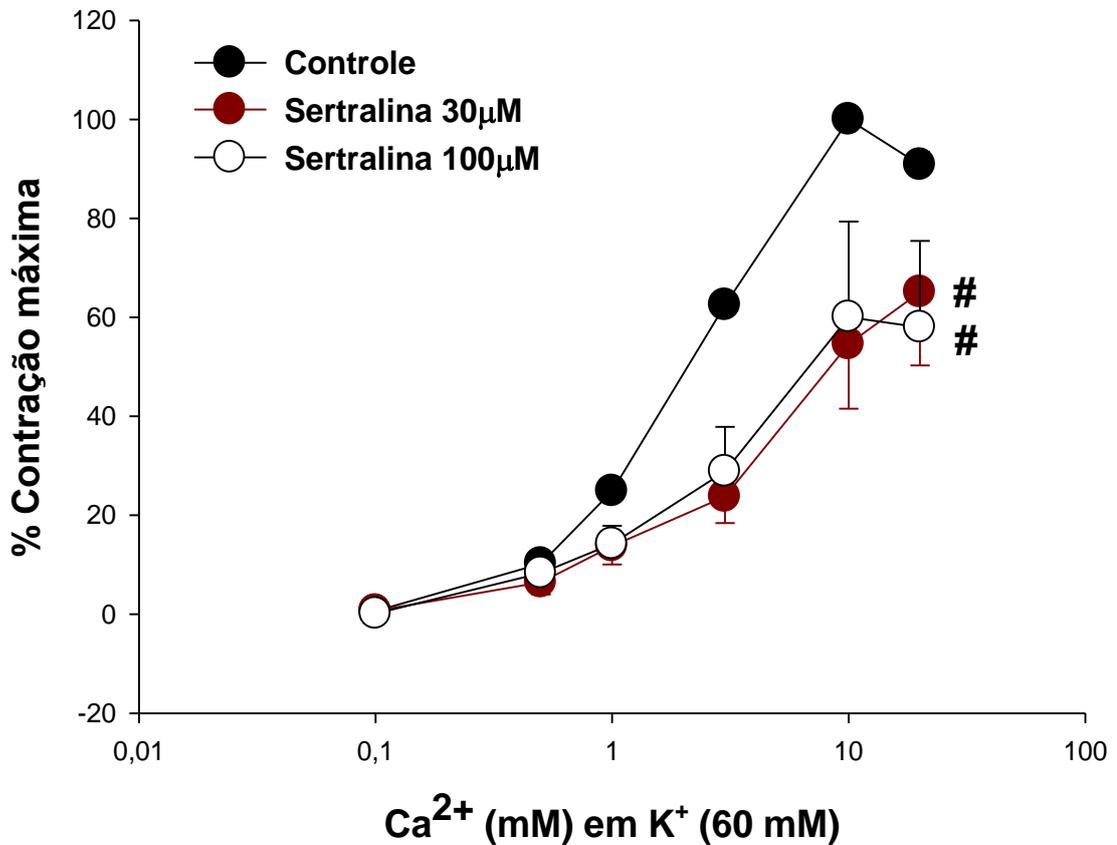


Figura 53 – Efeito da sertralina na curva concentração-efeito induzida por Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga mantidas em presença de K^+

O gráfico mostra as contrações induzidas por Ca^{2+} de maneira concentração-dependente em tiras isoladas de bexiga mantidas em meio sem Ca^{2+} (com EGTA 0,1 mM). Anterior à adição do Ca^{2+} , as tiras de bexiga foram tratadas e mantidas em soluções contendo K^+ 60 mM. As curvas foram construídas na ausência (●) ou na presença de sertralina 30 μM (●) ou 100 μM (○). # indica que a comparação em bloco da curva concentração-efeito entre as tiras de bexiga mantidas na ausência (controle) ou na presença de sertralina apresentou diferença significativa ($p < 0,05$; two-way ANOVA).

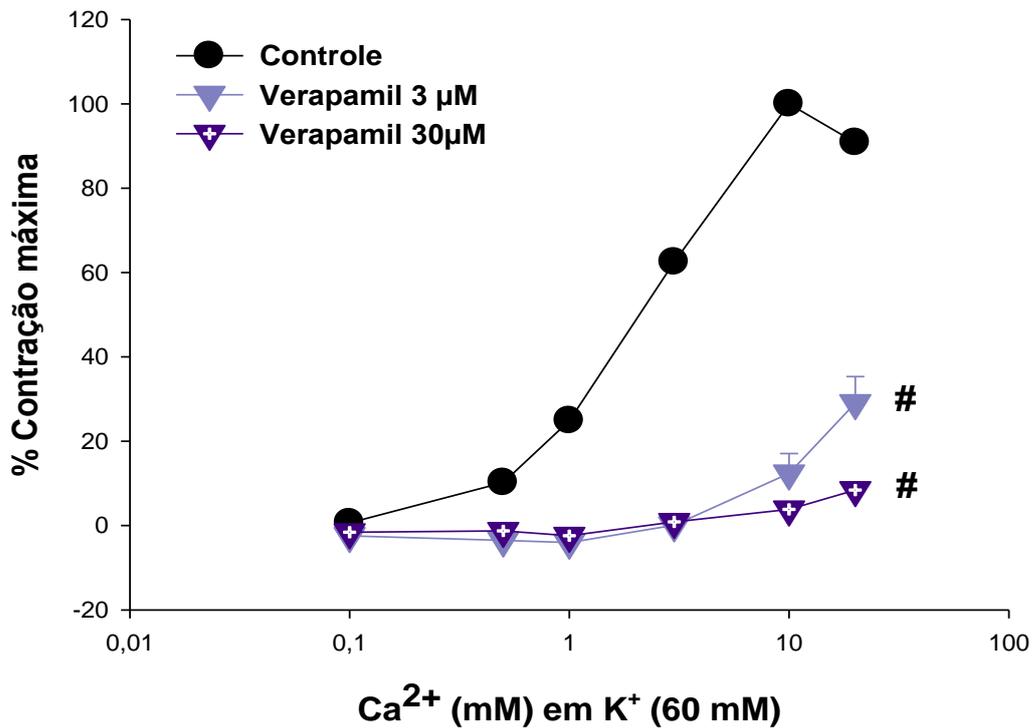


Figura 54 - Efeito do verapamil na curva concentração-efeito induzida por Ca^{2+} em tiras isoladas de bexiga mantidas em presença de K^+

O gráfico mostra as contrações induzidas por Ca^{2+} de maneira concentração-dependente em tiras de bexiga mantidas em meio sem Ca^{2+} (com EGTA 0,1 mM). Anterior à adição do Ca^{2+} , as tiras de bexiga foram tratadas e mantidas em soluções contendo K^+ 60mM. As curvas foram construídas na ausência (●) ou na presença de verapamil 3 μM (▼) ou 30 μM (▼). # indica que a comparação em bloco da curva concentração-efeito entre as tiras de bexiga mantidas na ausência (controle) ou na presença de verapamil apresentou diferença significativa ($p < 0,05$; two-way ANOVA).

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

No presente trabalho, utilizamos diferentes metodologias para a análise dos efeitos farmacológicos da sertralina, substância pertencente ao grupo classificado como os inibidores seletivos da recaptção de serotonina (5-HT). Na prática clínica, são substâncias mais bem toleradas do que os antigos antidepressivos tricíclicos por apresentarem menor incidência de efeitos colaterais. Entretanto, embora disfunções no sistema urinário sejam relatadas como efeitos adversos dos antidepressivos serotoninérgicos, na literatura científica internacional existem apenas poucos relatos dos efeitos dessas substâncias sobre as funções fisiológicas nesse sistema.

No presente estudo, verificamos que essa substância é possuidora de eficácia farmacológica no sistema urinário. Nos estudos *in vivo* aqui apresentados, verificamos que a sertralina alterou os parâmetros miccionais de ratos anestesiados. Em modelo de rim isolado, ela impediu as alterações de importantes parâmetros de função renal induzidos pela fenilefrina. Além disso, em tecidos isolados de bexiga, diminuiu a resposta contrátil a agentes contraturantes clássicos como K^+ ou CCh.

Relatos na literatura mostram que os inibidores seletivos da recaptção de serotonina podem causar incontinência urinária (VOTOLATO; STERN; CAPUTO, 2000; MOVIG *et al.*, 2002; HERGÜNER *et al.*, 2007; MAALOUF; GILBERT, 2010). Em estudo prospectivo, Movig *et al.* (2002) relataram um risco duas vezes maior para desenvolvimento de incontinência urinária em pacientes tratados com inibidores seletivos da recaptção de serotonina quando comparados com a não utilização desses agentes. O mesmo estudo demonstrou que pacientes tratados com sertralina desenvolveram incontinência urinária com maior frequência comparados aos tratados com fluvoxamina, fluoxetina ou paroxetina.

Está bem descrito na literatura que o aumento da liberação de ACh das terminações nervosas presentes no músculo detrusor é a principal via responsável pela contração miccional (ANDERSSON, 1999). Por outro lado, existem evidências de que a serotonina pode exercer ação facilitadora e potencializadora da transmissão neuromuscular colinérgica em tiras de músculo detrusor humano (TONINI; CANDURA, 1996), e isso pode interferir no equilíbrio fisiológico de regulação da micção.

Em nosso estudo, os principais efeitos observados para a sertralina foram aumento da frequência miccional e a consequente diminuição do intervalo inter-contracção. Além disso, outros parâmetros funcionais também foram aumentados em relação ao grupo controle como a pressão basal de enchimento e a pressão máxima alcançada durante as contracções miccionais. Uma vez que a serotonina exerce importante papel como neurotransmissor no controle do trato urinário inferior (ANDERSSON; PEHRSON, 2003), a sertralina, como um inibidor de sua recaptação, pode afetar a micção por seus efeitos no controle nervoso da bexiga (LOWENSTEIN *et al.*, 2007).

Estudos em animais sugerem que a incontinência secundária à utilização de antidepressivos serotoninérgicos pode ser mediada por receptores 5-HT₄ encontrados na bexiga (VOTOLATO; STERN; CAPUTO, 2000). Assim, a ação da sertralina seria a de, reduzir a recaptação de 5-HT, e aumentar a disponibilidade desse neurotransmissor nas proximidades das células musculares lisas vesicais. Essa hipótese pode ser sustentada por comparação com a ativação de receptores 5-HT₄ entéricos, considerada como o principal mecanismo da ação pró-cinética gastrointestinal. A cisaprida, por exemplo, parece exercer sua conhecida ação pró-cinética por ativar esses receptores e, no sistema urinário, ela pode aumentar também a micção volitiva em pacientes com retenção urinária devida a danos neurológicos de várias origens, bem como aumentar a frequência miccional em pacientes com distúrbios gastrointestinais tratados com esse fármaco (PILLANS; WOOD, 1994; FRANCESCHETTI *et al.*, 1997).

Além do envolvimento dos receptores 5-HT₄, estudos relatam a possibilidade de outros subtipos de receptores para 5-HT também serem envolvidos por apresentarem papéis importantes no controle das vias neurais autonômicas e somáticas no trato urinário inferior (HELTON; THOR; BAEZ, 1994; de GROAT, 2002; READ; SANGER; RAMAGE, 2003; RAMAGE, 2006; MBAKI; RAMAGE, 2008). Para aumentar ainda mais a complexidade dessas relações, diferentes espécies podem fornecer efeitos modulatórios diferentes para os mesmos subtipos de receptores. Em ratos, por exemplo, os efeitos facilitatórios na micção são mediados pela ativação dos receptores 5-HT_{1A} que, por outro lado, promovem efeitos inibitórios na micção em gatos (FOWLER; GRIFFITHS; de GROAT, 2008; CHENG; de GROAT, 2010). A ativação de receptores 5-HT_{1A} no sistema nervoso central com 8-OH-DPAT (agonista de receptores 5-HT_{1A}) facilita o reflexo miccional (LECCI *et al.*, 1992) e a

administração exógena de agonista seletivo, ou liberação endógena de serotonina, facilita o reflexo miccional por causar diminuição do volume limiar para desencadear o reflexo miccional, aumento da duração do relaxamento do esfíncter uretral externo e consequente redução da resistência de saída da uretra (CHENG; de GROAT, 2010).

A sertralina também apresenta acentuada habilidade inibitória na recaptação de dopamina quando comparada com outros inibidores seletivos da recaptação de serotonina (TATSUMI *et al.*, 1997), podendo ser responsável por aumentar o risco de desenvolvimento de incontinência urinária (MOVIG *et al.*, 2002). A este respeito, estudos experimentais em ratos neurologicamente intactos, demonstraram envolvimento inibitório tônico de receptores dopaminérgicos D₁ no reflexo miccional, por outro lado, a estimulação de receptores dopaminérgicos D₂ localizados centralmente promoveu hiperatividade da bexiga de maneira dose-dependente (SEKI *et al.*, 2001). Vale salientar ainda a ação farmacológica da sertralina em bloquear, de algum modo, receptores α adrenérgicos, receptores estes, responsáveis pelo mecanismo de continência urinária presente no esfíncter da bexiga (RICHELSON, 2003).

Mediante o exposto acima, e considerando que os dados obtidos nesse trabalho foram realizados com a administração aguda de uma única dose de sertralina, não é possível explicar o efeito da sertralina sob os parâmetros miccionais avaliados. O sítio exato responsável pela modulação da micção causado pelo antidepressivo, com os resultados que dispomos, não pode ser identificado, em virtude do complexo circuito neural que controla a micção, envolvendo vias em vários níveis do cérebro, medula espinhal e sistema nervoso periférico, e também por ser mediado por múltiplos neurotransmissores. Apesar dessas muitas limitações, podemos afirmar que seus efeitos agudos observados *in vivo* (p. ex. aumento da frequência miccional, diminuição do intervalo inter-contração), diferem e não podem ser explicados por ação direta da sertralina que, *in vitro*, apresentou efeitos inibitórios em tiras de bexiga.

Em preparações isoladas de bexiga urinária de rato demonstramos que este inibidor seletivo da recaptação de serotonina causa diminuição das contrações submaximais induzidas por K⁺ ou CCh. Evidenciou-se através da comparação dos valores de CI₅₀ que não houve diferença estatística na potência da sertralina para inibir as contrações induzidas por K⁺ ou CCh. O mesmo ocorreu comparando os

valores de CI_{50} em relação à potência da sertralina na reversão das pré-contrações induzidas K^+ ou CCh. Assim, conclui-se que não há especificidade entre o acoplamento farmacomecânico ou eletromecânico, o que torna improvável a possibilidade de seu efeito anticolinérgico ser decorrente de antagonismo direto com o receptor muscarínico, parecendo ser exercido por alguma via comum aos dois agentes.

Estudos têm relatado vários efeitos *in vitro* da sertralina que podem não estar relacionados à inibição da recaptação de serotonina. Previamente foram relatadas inibição induzida por essa substância em canais de Ca^{2+} do tipo L e em canais de K^+ em miócitos ventriculares de rato (PARK *et al.*, 1999). Em artéria mesentérica humana, a sertralina possui ação inibitória sobre as contrações induzidas por KCl e norepinefrina, ação provavelmente mediada por sua capacidade de inibir o influxo de Ca^{2+} pela membrana celular (VILA *et al.*, 1999). Em aorta de rato e em vasos coronários apresentou efeito vasodilatador independente da integridade do endotélio (van MELLE *et al.*, 2004). Em canal deferente de ratos, a sertralina também apresentou efeitos inibitórios na elevação da pressão intraluminal induzida pela estimulação do nervo hipogástrico (KIM *et al.*, 2004), assim como inibiu a contração noradrenérgica, a potássica e a serotoninérgica nesse tecido, ações antagonizadas pela ativação de canais de Ca^{2+} (KALYONCU; OZYAVUZ; KARAOGLU, 1999).

Em nosso estudo, trabalhamos com as hipóteses de que o mecanismo responsável pelo relaxamento provocado pela sertralina no músculo liso da bexiga urinária está provavelmente relacionado com a interferência no influxo ou com a liberação de Ca^{2+} intracelular. Entretanto, é pouco provável que o efeito antiespasmódico da sertralina envolva a segunda, ou seja, a inibição da liberação de Ca^{2+} dos seus estoques intracelulares. Essa conclusão é reforçada pelo fato da sertralina não ter inibido as contrações induzidas pela liberação de Ca^{2+} dos estoques pela formação de IP_3 com conseqüente ativação de seus receptores presentes no retículo sarcoplasmático.

Como se sabe, a contração no músculo liso é iniciada pelo aumento da concentração de cálcio no citoplasma ($[Ca^{2+}]_c$) (SOMLYO; SOMLYO, 1994). Sabe-se que K^+ e CCh são agentes contraturantes e ambos promovem aumento da $[Ca^{2+}]_c$. Entretanto, as respostas contráteis obtidas por K^+ são decorrentes da despolarização da membrana e posterior ativação de canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes

(acoplamento eletromecânico) (SOMLYO; SOMLYO, 1994). Por outro lado, agonistas como o CCh induzem contração por ativação de receptores muscarínicos, sem alterar necessariamente o potencial de membrana (acoplamento farmacomecânico) (SOMLYO; SOMLYO, 1994). Todavia, a ativação de receptores muscarínicos por agonistas também pode ser responsável pela abertura de canais de Ca^{2+} tipo L, voltagem-dependentes modulados por efeitos secundários no potencial de membrana (HEGDE *et al.*, 1997; GIGLIO; DELBRO; TOBIN, 2001; ANDERSSON; ARNER, 2004; AKATA, 2007). Esses dois mecanismos parecem operar simultaneamente em determinadas células de músculo liso, e a excitação de um único agente pode resultar em um acoplamento eletromecânico sozinho, como farmacomecânico ou ainda a combinação desses dois mecanismos (SOMLYO; SOMLYO, 1994; ORALLO, 1996).

Os mecanismos que ligam a ativação à contração, no músculo liso são compostos por duas fases: um componente fásico rápido seguido por um lento mais sustentado, componente tônico (BOLTON, 1979). Esta resposta bifásica envolve duas fontes de Ca^{2+} no músculo liso. Em detrusor, os agonistas muscarínicos produzem esta resposta bifásica, e é sugerido que a contração fásica ocorra pela liberação de Ca^{2+} dos estoques intracelulares mediados pelo IP_3 . Enquanto, a contração tônica é atribuída ao influxo de Ca^{2+} através dos canais de Ca^{2+} voltagem-dependente. Por outro lado, a contração induzida por K^+ é mediada pela influxo de Ca^{2+} através da abertura de canais do tipo L, voltagem-dependente e abertura de canais de Ca^{2+} presentes no retículo sarcoplasmático, independentemente da ativação de receptores muscarínicos (BOLTON, 1979; KARAKI, 2004).

A sertralina inibiu as contrações induzidas pela adição cumulativa de Ca^{2+} em meio sem Ca^{2+} com adição de EGTA mantidas em solução previamente estimulada por altas concentrações de K^+ , reforçando a hipótese de que seu efeito antiespasmódico realmente envolve a participação de canais de Ca^{2+} tipo L. A estimulação prévia do tecido por K^+ nessas condições, promove a abertura desses canais para Ca^{2+} voltagem-dependente e a adição cumulativa de Ca^{2+} ao meio extracelular produz desenvolvimento gradual da força contrátil em virtude da sua passagem através das vias celulares previamente ativadas. Seus efeitos foram semelhantes aos efeitos de um bloqueador classicamente conhecido por atuar nesses canais, o verapamil. Esses resultados reforçam a possibilidade de que o efeito inibitório da sertralina reside na sua ação sobre a membrana celular.

Nossa hipótese é reforçada pelos experimentos conduzidos em modelo de rim isolado de rato, onde a sertralina, com uma única concentração, foi capaz de inibir as alterações dos parâmetros da função renal induzidos pela fenilefrina. De forma geral, esse efeito parece ser principalmente devido à ação inibitória da sertralina sobre os efeitos contráteis induzidos por este agonista adrenérgico na vasculatura renal. Na verdade, a sertralina promoveu efeito antiespasmódico sobre artéria mesentérica isolada de rato por uma provável diminuição da entrada de Ca^{2+} a partir do meio extracelular.

Sob condições normais, a perfusão contínua dos rins de ratos com sertralina sozinha não alterou os parâmetros renais, que permaneceram estáveis durante todo o período experimental. O mesmo foi observado com os rins perfundidos com o veículo (etoxidiglicol), confirmando a confiabilidade das nossas preparações de rim isolado, assim como, reforçando o fato de que os efeitos aqui relatados não se devem à qualquer ação que possa ser causada pelo veículo, mas sim pela sertralina.

Quando os rins foram perfundidos com concentrações crescentes de fenilefrina, a pressão de perfusão e a resistência vascular renal foram aumentadas provavelmente em virtude da ativação de receptores adrenérgicos α_1 por ação desse agonista seletivo α . Uma vez ativados pela presença de catecolaminas, os receptores adrenérgicos α_1 aumentam a resistência vascular como resultado da vasoconstrição renal, um dos mecanismos fisiológicos envolvidos na regulação da hemodinâmica renal (DREW; WHITING, 1979; NIELSEN *et al.*, 1992; AWE; ADEAGBO, 2007).

Apesar de, isoladamente, ter sido inerte na função renal, a sertralina, previamente adicionada à solução de perfusão, inibiu os efeitos induzidos pela fenilefrina, revelando também a propriedade inibitória desse agente antidepressivo em vasos renais. Como já dissemos, alguns estudos já relataram que a sertralina tem efeito inibidor em vasos sanguíneos humanos, tais como as artérias mamárias interna e mesentérica, bem como em anéis de aorta de rato (VILLA *et al.*, 1999; van MELLE *et al.*, 2004). Também foi descrito o relaxamento da musculatura lisa como uma propriedade farmacológica de outros antidepressivos da família dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (GRUETTER *et al.*, 1992; YARIS *et al.*, 2003; KADIOGLU *et al.*, 2010). Comparada com o verapamil, controle positivo, a sertralina apresentou uma potência farmacológica menor, visto que seus valores de CI_{50} foram

cerca de 30 vezes maiores aos valores de CI_{50} observados para o verapamil ($0,5 \mu\text{M}$ para verapamil x $15 \mu\text{M}$ para a sertralina).

É interessante notar que, em rins isolados, a sertralina $30 \mu\text{M}$ aboliu completamente as respostas renais induzidas pela fenilefrina, ao passo que em anéis de artéria mesentérica, as contrações induzidas pela fenilefrina foram reduzidas apenas parcialmente (para algo em torno de 31%), indicando que na vasculatura renal a sertralina pode exercer uma inibição da fenilefrina mais eficaz do que em outros leitos vasculares. No entanto, esses efeitos ocorreram em faixa de concentração de sertralina semelhante aos descritos em outros estudos realizados em aorta de ratos (BECKER *et al.*, 2004) e em vasos sanguíneos humanos (VILLA *et al.*, 1999; van MELLE *et al.*, 2004). Além disso, os efeitos induzidos pela sertralina foram apenas ligeiramente dependentes da integridade do endotélio, revelando que suas ações vasoativas acontecem principalmente por vias independentes do endotélio. Pelo menos em corpos cavernosos de camundongos, mas não em aorta de ratos, a liberação de óxido nítrico já foi relatada como provável mecanismo envolvido no efeito relaxante da sertralina (van MELLE *et al.*, 2004; KADIOGLU *et al.*, 2010).

Para aprofundar o estudo sobre como a sertralina diminui a resposta vascular à fenilefrina, experimentos adicionais foram realizadas com sertralina usada na concentração de $100 \mu\text{M}$, que quase totalmente inibiu a resposta adrenérgica em anéis de artéria mesentérica. Em células musculares lisas, receptores adrenérgicos α_1 são integrantes da família de receptores acoplados à proteína-G e são responsáveis por mediar a contração vascular aumentando a concentração de cálcio no citoplasma ($[Ca^{2+}]_c$) (MINNEMAN; ESBENSHADE, 1994). Uma vez ativados, ocorre a formação de segundos mensageiros trifosfato de inositol (IP_3) e diacilglicerol (DAG) a partir dos fosfolípidos de membrana, fosfolipase C (BERRIDGE, 2009). O IP_3 pode mobilizar rapidamente Ca^{2+} a partir de suas reservas intracelulares, tais como o retículo sarcoplasmático, causando um aumento transitório da $[Ca^{2+}]_c$, o que poderia ser associada com a contração fásica (não sustentada) induzida por fenilefrina em anéis de artéria mesentérica em meio sem Ca^{2+} . Uma vez que a sertralina não alterou a contração fásica induzida pela fenilefrina em tais condições, podemos concluir que é pouco provável que seus

efeitos inibitórios sobre anéis de artéria mesentérica sejam também mediados pela interferência na capacidade do IP_3 para promover a liberação de Ca^{2+} intracelular.

Da mesma forma, os experimentos realizados em meio sem Ca^{2+} com cafeína ou com reposição extracelular de Ca^{2+} após o tratamento com tapsigargina permitem concluir que é improvável que a sertralina atue interferindo em outros dois caminhos celulares relacionados com a regulação $[Ca^{2+}]_i$, quais sejam a liberação de Ca^{2+} induzida pelo próprio Ca^{2+} (CICR, do inglês *calcium-induced calcium release*) e a entrada "capacitiva" de Ca^{2+} , respectivamente. A cafeína promove contração transitória do músculo liso vascular pela liberação do *pool* de Ca^{2+} sensível à rianodina do retículo sarcoplasmático (HUME; MCALLISTER; WILSON, 2009), enquanto que as células musculares lisas que esgotam seus estoques intracelulares de Ca^{2+} pela ação conjunta entre a tapsigargina, um inibidor da Ca^{2+} -ATPase do retículo sarcoplasmático e a fenilefrina ativam os canais de Ca^{2+} chamados de operado por estoque (SMANI; PATEL; BOLOTINA, 2008). Portanto, a ineficácia da sertralina não alterando essas contrações mostra que ela provavelmente inibe a contratilidade mesentérica alterando a entrada de Ca^{2+} por outra via. Em geral, os mecanismos envolvidos nos efeitos inibitórios dos antidepressivos sobre as contrações do músculo liso vascular ainda não estão totalmente esclarecidos, mas suas capacidades de inibir a entrada transmembrana de Ca^{2+} são comumente relatadas, especialmente através de canais de Ca^{2+} voltagem-dependente (BECKER *et al.*, 2004; YARIS *et al.*, 2003). Sob condições de ausência nominal de Ca^{2+} , a sertralina diminuiu as contrações induzidas pela adição de Ca^{2+} em anéis de artéria mesentérica mantidos em soluções despolarizantes (K^+ 60 mM). Como já havíamos comentado anteriormente, a estimulação do tecido nessas condições promove a abertura de canais de Ca^{2+} voltagem-dependente transformando o plasmalema apto ao subsequente influxo de Ca^{2+} quando este cátion está disponível a partir do meio externo (SOMLYO; SOMLYO, 1994). Assim, de acordo com nossos dados com preparações mantidas em solução despolarizante (K^+ 60 mM), podemos concluir pelo menos que: 1) é improvável a ocorrência de um antagonismo direto da sertralina no receptor adrenérgico α e, 2) os nossos resultados corroboram com o conceito geral de que a sertralina é capaz de diminuir a entrada de Ca^{2+} através dos canais de Ca^{2+} tipo L, voltagem-dependente, como sugerido tanto em tecidos vasculares como em não vasculares (DREW; WHITING, 1999; BECKER *et al.*, 2004; van MELLE *et al.*, 2004).

Em preparações mesentéricas mantidas em meio sem Ca^{2+} e contendo uma mistura de fenilefrina e verapamil, o qual foi utilizado em concentração capaz de bloquear completamente a resposta induzida por alta concentração de K^+ . Nessas condições, a ativação de receptores adrenérgicos α_1 por uma alta concentração de fenilefrina (60 μM) pode levar à ativação da entrada de Ca^{2+} por canais operados por receptor, ou seja, o acoplamento farmacomecânico (SOMLYO *et al.*, 1999). Uma vez que a sertralina também apresentou efeito inibitório sobre esse tipo de contração, concluímos que ela também é capaz de diminuir o influxo de Ca^{2+} através desses canais. Este perfil de ação da sertralina envolvendo supostamente a inibição de canais de Ca^{2+} operados por receptor não foi descrito até o momento.

Assim, tanto em rins como em anéis de artéria mesentérica isolada de ratos, a sertralina apresentou efeito antiespasmódico que parece ter sido causado por uma ação direta da substância tanto no músculo liso vascular como no músculo liso vesical. Nesses tecidos, suas ações parecem não estar relacionadas à inibição da liberação de Ca^{2+} por vias intracelulares, mas através da interferência com o influxo de Ca^{2+} pelo plasmalema reduzindo a permeabilidade de ambos canais de Ca^{2+} , operados por receptor e voltagem-dependentes.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Nos estudos *in vivo*, a sertralina aumenta a frequência miccional em ratos anestesiados;

A sertralina apresenta efeito antiespasmódico em músculo liso vesical por provavelmente diminuir o influxo de Ca^{2+} pela membrana plasmática através de canais de Ca^{2+} voltagem-dependente;

Em rins e em anéis de artéria mesentérica isolada de ratos, a sertralina apresenta efeito antiespasmódico por interferir com o influxo de Ca^{2+} pelo plasmalema reduzindo a permeabilidade de ambos canais de Ca^{2+} , operados por receptor e voltagem-dependente.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AKATA, T. Cellular and molecular mechanisms regulating vascular tone. Part 1: basic mechanisms controlling cytosolic Ca²⁺ concentration and the Ca²⁺-dependent regulation of vascular tone. **J Anesth.**, v. 21, n. 2, p. 220-231, 2007.

ANDERSON, I.M. Selective serotonin reuptake inhibitors versus tricyclic antidepressants: a meta-analysis of efficacy and tolerability. **J. Affect. Disord.**, v. 58, n. 1, p. 19-36, 2000.

ANDERSSON, K.E.; ARNER, A. Urinary Bladder Contraction and Relaxation: Physiology and Pathophysiology. **Physiol. Rev.**, v. 84, n. 3, p. 935-986, 2004.

ANDERSSON, K.E.; PEHRSON, R. CNS involvement in overactive bladder: pathophysiology and opportunities for pharmacological intervention. **Drugs** v. 63, n. 23, p. 2595-2611, 2003.

ANDERSSON, K.E.; WEIN, A. J. Pharmacology of the lower urinary tract: basis for current and future treatments of urinary incontinence. **Pharmacol. Rev.**, v. 56, n. 4, p. 581-631, 2004.

ANDERSSON, K.E. Advances in the pharmacological control of the bladder. **Exp. Physiol.**, v. 84, n. 1, p. 195-213, 1999.

ANTONUCCIO, D. Treating depressed children with antidepressants: more harm than benefit? **J. Clin. Psychol. Med. Settings**, v. 15, n. 2, p. 92-97, 2008.

AWE, S.O.; ADEAGBO, A.S. Vascular alpha₁-adrenoceptors in isolated perfused rat kidney: influence of ageing. **Auton. Autacoid Pharmacol.**, v. 27, n. 1, p. 19-26, 2007.

BADAWI, J.K.; LI, H.; LANGBEIN, S.; KWON, S.T.; KAMP, S.; BROSS, S. Inhibitory effects of L- and T-type calcium antagonists on contractions of human detrusor muscle. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v. 62, n. 5, p. 347-354, 2006.

BECKER, B.; MOREL, N.; VANBELLINGHEN, A.M.; LEBRUN, P. Blockade of calcium entry in smooth muscle cells by the antidepressant imipramine. **Biochem. Pharmacol.**, v. 68, n. 5, p. 833-842, 2004.

BERRIDGE, M.J. Inositol trisphosphate and calcium signalling mechanisms. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1793, n. 6, p. 933-940, 2009.

BILGE, S.; BOZKURT, A.; BAS, D.B.; AKSOZ, E.; SAVLI, E.; ILKAYA, F.; KESIM, Y. Chronic treatment with fluoxetine and sertraline prevents forced swimming test-induced hypercontractility of rat detrusor muscle. **Pharmacol. Rep.**, v. 60, n. 6, p. 872-879, 2008.

BOLTON, T.B. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. **Physiol. Rev.**, v. 59, n. 3, p. 606-718, 1979.

BOWMAN, R.H. Gluconeogenesis in the isolated perfused rat kidney. **J. Biol. Chem.**, v. 245, n. 7, p. 1604-1612, 1970.

BOZLER, E. Action potentials and conduction of excitation in muscle. **Biol. Symp.**, v. 3, p. 95-109, 1941.

CHANG, H.Y.; CHENG, C.L.; CHEN, J.J.; de GROAT, W.C. Serotonergic drugs and spinal cord transections indicate that different spinal circuits are involved in external urethral sphincter activity in rats. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 292, n. 3, p. F1044-105353, 2007.

CHENG, C.L.; de GROAT, W.C. Role of 5-HT_{1A} receptors in control of lower urinary tract function in anesthetized rats. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 298, n. 3, p. F771-778, 2010.

CÓRDOVA, A.M. **Fisiologia dinâmica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

COSTANZO, L.S. **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

DARBLADE, B.; BEHR-ROUSSEL, D.; OGER, S.; HIEBLE, J.P.; LEBRET, T.; GORNY, D.; BENOIT, G.; ALEXANDRE, L.; GIULIANO, F. Effects of potassium channel modulators on human detrusor smooth muscle myogenic phasic contractile activity: potential therapeutic targets for overactive bladder. **Urology**, v. 68, n. 2, p. 442-448, 2006.

de GROAT, W.C. Influence of central serotonergic mechanisms on lower tract urinary tract function. **Urology**, v. 59, n. 5, p. 30-36, 2002.

de GROAT, W.C. Integrative control of the lower urinary tract: preclinical perspective. **Br. J. Pharmacol.**, v. 147, Suppl 2, p. S25-40, 2006.

DHEENAN, S.; VENKATESAN, J.; GRUBB, B.P.; HENRICH, W.L. Effect of sertraline hydrochloride on dialysis hypotension. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 31, n. 4, p. 624-630, 1998.

DREW, G.M.; WHITING, S.B. Evidence for two distinct types of postsynaptic alpha-adrenoceptor in vascular smooth muscle in vivo. **Br. J. Pharmacol.**, v. 67, n. 2, p. 207-215 1979.

EVANGELISTA, I.L.; MARTINS, A.M.; NASCIMENTO, N.R.; HAVT, A.; EVANGELISTA, JS, de NORÕES, T.B.; TOYAMA, M.H.; DIZ-FILHO, E.B.; TOYAMA, D.O.; FONTELES, M.C.; MONTEIRO, H.S. Renal and cardiovascular effects of Bothrops marajoensis venom and phospholipase A2. **Toxicon**, v. 55, n. 6, p. 1061-1070, 2010.

FABRE, L.F.; ABUZZAHAB, F.S.; AMIN, M.; CLAGHORN, J.L.; MENDELS, J.; PETRIE, W.M.; DUBE, S.; SMALL, J.G. Sertraline safety and efficacy in major depression: a double-blind fixed-dose comparison with placebo. **Biol. Psychiatry**, v. 38, p. 592-602, 1995.

FINKEL, S.I.; MINTZER, J.E.; DYSKEN, M.; KRISHNAN, K.R.; BURT, T.; MCRAE, T. A randomized, placebo-controlled study of the efficacy and safety of sertraline in the treatment of the behavioral manifestations of Alzheimer's disease in outpatients treated with donepezil. **Int. J. Geriatr. Psychiatry**, v. 19, n. 1, p. 9-18, 2004.

FONTELES, M.C.; COHEN, J.J.; BLACK, A. J.; WERTHEIM, S. J. Support of kidney function by long-chain fatty acids derived from renal tissue. **Am. J. Physiol.**, v. 244, n. 3, p. F235-246, 1983.

FONTELES, M.C.; HAVT, A.; PRATA, R.B.; PRATA, P.H.; MONTEIRO, H.S.; LIMA, A.A.; JORGE, A.R.; SANTOS, C.F.; GREENBERG, R.N.; NASCIMENTO, N.R. High-salt intake primes the rat kidney to respond to a subthreshold uroguanylin dose during ex vivo renal perfusion. **Regul. Pept.**, v. 158, n. 1-3, p. 6-13, 2009.

FOWLER, C.J.; GRIFFITHS, D.; de GROAT, W.C. The Neural control of micturition. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 9, n. 6, p. 453-466, 2008.

FRANCESCHETTI, GP, CANDURA, SM, VICINI, D, TONINI, M. Cisapride enhances detrusor contractility and improves micturition in a woman with lazy bladder. **Scand. J. Urol. Nephrol.**, v. 31, n. 2, p. 209-210, 1997.

FRAZER, A. Pharmacology of antidepressants. **J. Clin. Psychopharmacol.**, v. 17 Suppl 1, p. 2S-18S, 1997.

FRY, C.H.; MENG, E.; YOUNG, J.S. The physiological function of lower urinary tract smooth muscle. **Auton. Neurosci.**, v. 154, n. 1-2, p. 3-13, 2009.

FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, n. 5789, p. 373-376, 1980.

GARTLEHNER, G.; HANSEN, R.A.; THIEDA, P.; DEVEAUGH-GEISS, A.M.; GAYNES, B.N.; KREBS, E.E.; LUX, L.J.; MORGAN, L.C.; SHUMATE, J.A.; MONROE, L.G.; LOHR, K.N. Comparative effectiveness of second-generation antidepressants in the pharmacologic treatment of adult depression. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality, 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK43023/>. Acesso em: 18 ago 2010.

GIGLIO, D.; DELBRO, D.S.; TOBIN, G. On the functional role of muscarinic M2 receptors in cholinergic and purinergic responses in the rat urinary bladder. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 428, n. 3, p. 357-364, 2001.

GRUETTER, C.A.; LEMKE, S.M.; ANESTIS, D.K.; SZAREK, J.L.; VALENTOVIC, M.A. Potentiation of 5-hydroxytryptamine-induced contraction in rat aorta by chlorpheniramine, citalopram and fluoxetine. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 217, n. 2-3, p. 109-118, 1992.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Fisiologia renal. **Guyton & Hall: Tratado de Fisiologia Médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HAVT, A.; TOYAMA, M.H.; DO NASCIMENTO, N.R.; TOYAMA, D.O.; NOBRE, A.C.; MARTINS, A.M.; BARBOSA, P.S.; NOVELLO, J.C.; BOSCHERO, A.C.; CARNEIRO, E.M.; FONTELES, M.C.; MONTEIRO, H.S. A new C-type animal lectin isolated from *Bothrops pirajai* is responsible for the snake venom major effects in the isolated kidney. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.**, v. 37, n. 1, p. 130-141, 2005.

HEGDE, S.S.; CHOPPIN, A.; BONHAUS, D.; BRIAUD, S.; LOEB, M.; MOY, T.M.; LOURY, D.; EGLIN, R.M. Functional role of M2 and M3 muscarinic receptors in the urinary bladder of rats in vitro and in vivo. **Br. J. Pharmacol.**, v. 120, n. 8, p. 1409-1418, 1997.

HELTON, L.A.; THOR, K.B.; BAEZ, M. 5-hydroxytryptamine_{2A}, 5-hydroxytryptamine_{2B}, and 5-hydroxytryptamine_{2C} receptor mRNA expression in the spinal cord of rat, cat, monkey and human. **Neuroreport**. v. 5, n. 18, p. 2617-2620, 1994.

HERGÜNER, S.; KILINÇASLAN, A.; GÖRKER, I.; TÜZÜN, U. Serotonin-selective reuptake inhibitor-induced enuresis in three pediatric cases. **J. Child. Adolesc. Psychopharmacol.**, v. 17, n. 3, p. 367-369, 2007.

HUME, J.R.; MCALLISTER, C.E.; WILSON, S.M. Caffeine inhibits InsP3 responses and capacitative calcium entry in canine pulmonary arterial smooth muscle cells. **Vascul. Pharmacol.**, v. 50, n. 3-4, p. 89-97, 2009.

KADEKAWA, K.; NISHIJIMA, S.; SUGAYA, K.; MIYAZATO, M.; SAITO, S. Mechanisms by which the serotonergic system inhibits micturition in rats. **Life Sci.**, v. 85, n. 15-16, p. 592-596, 2009.

KADIOGLU, M.; MUCI, E.; OZYAVUZ, R.; YARIS, E.; KESIM, M.; KALYONCU, N.I. Paroxetine inhibited the relaxations induced by EFS in mice corpus cavernosum: is it a NOS inhibition? **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v. 24, n. 1, p. 55-61, 2010.

KALYONCU, N.I.; OZYAVUZ, R.; KARAOGLU, S. Sertraline inhibits the contractile responses to noradrenaline, KCl and electrical field stimulation of rat isolated vas deferens. **J. Auton. Pharmacol.**, v. 19, n. 6, p. 365-369, 1999.

KARAKI, H. Historical techniques: cytosolic Ca²⁺ and contraction in smooth muscle. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 25, p. 7, p. 388-393, 2004.

KESSLER, R.C.; BERGLUND, P.; DEMLER, O.; JIN, R.; MERIKANGAS, K.R.; WALTERS, E.E. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSMIV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 62, p. 593-602, 2005.

KIM, S.W.; LEE, S.H.; PAICK, J.S. In vivo rat model to measure hypogastric nerve stimulation-induced seminal vesicle and vasal pressure responses simultaneously. **Int. J. Impot. Res.**, v. 16, n. 5, p. 427-432, 2004.

KULLMANN, F.A.; ARTIM, D.E.; BIRDER, L.A.; de GROAT, W.C. Activation of muscarinic receptors in rat bladder sensory pathways alters reflex bladder activity. **J Neurosci.**, v. 28, n. 8, p. 1977-1987, 2008.

LECCI, A.; GIULIANI, S.; SANTICIOLI, P.; MAGGI, C.A. Involvement of 5-hydroxytryptamine 1A receptors in the modulation of micturition reflexes in the anesthetized rat. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 262, n. 1, p. 181-189, 1992.

LEE, K.S. Alterations in voiding frequency and cystometry in the clomipramine induced model of endogenous depression and reversal with fluoxetine. **J. Urol.**, v. 170, n. 5, p. 2067-2071, 2003.

LONGHURST, P.A.; UVELIUS, B. Pharmacological techniques for the in vitro study of the urinary bladder. **J. Pharmacol. Toxicol. Methods**, v. 45, n. 2, p. 91-108, 2001.

LÖWE, B.; SCHENKEL, I.; BAIR, M.J.; GÖBEL, C. Efficacy, predictors of therapy response, and safety of sertraline in routine clinical practice: prospective, open-label, non-interventional postmarketing surveillance study in 1878 patients. **J. Affect. Disord.**, v. 87, n. 2-3, p. 271-279, 2005.

LOWENSTEIN, L.; MUELLER, E.R.; SHARMA, S.; FITZGERALD, M.P. Urinary hesitancy and retention during treatment with sertraline. **Int. Urogynecol. J. Pelvic Floor Dysfunct.**, v. 18, n. 7, P. 827-829, 2007.

MAALOUF, F.T.; GILBERT, A.R. Sertraline-induced enuresis in a prepubertal child resolves after switching to fluoxetine. **J. Child Adolesc. Psychopharmacol.**, v. 20, n. 2, p. 161-162, 2010.

MARÍN, J.; ENCABO, A.; BRIONES, A.; GARCÍA-COHEN, E.C.; ALONSO, M.J. Mechanisms involved in the cellular calcium homeostasis in vascular smooth muscle: calcium pumps. **Life Sci.**, v. 64, n. 5, p. 279-303, 1999.

MARTINEZ-MALDONADO, M.; STAWROULAKI-TSAPARA, A.; TSAPARA, N.; SUKI, W.N.; EKNOYAN, G.. Renal effects of Lithium administration in rats: alteration in water and electrolyte metabolism and the response to vasopressin and cyclic-adenosine monophosphate during prolonged administration. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 80, n. 3, p. 445-461, 1978.

MBAKI, Y.; RAMAGE, A.G. Investigation of the role of 5-HT₂ receptor subtypes in the control of the bladder and the urethra in the anaesthetized female rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 155, n. 3, p. 343-356, 2008.

MEIJER, W.E.; HEERDINK, E.R.; LEUFKENS, H.G.; HERINGS, R.M.; EGBERTS, A.C.; NOLEN, W.A. Incidence and determinants of long-term use of antidepressants. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v. 60, n. 1, p. 57-61, 2004.

MILEA, D.; GUELFUCCI, F.; BENT-ENNAKHIL, N.; TOUMI, M.; AURAY, J.P. Antidepressant monotherapy: A claims database analysis of treatment changes and treatment duration. **Clin. Ther.**, v. 32, n. 12, p. 2057-2072, 2010.

MINNEMAN, K.P.; ESBENSHADE, T.A. Alpha 1-adrenergic receptor subtypes. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 34, p. 117-133, 1994.

MONTEIRO, H.S.; DA SILVA, I.M.; MARTINS, A.M.; FONTELES, M.C. Actions of *Crotalus durissus terrificus* venom and crotoxin on the isolated rat kidney. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 34, n. 10, p. 1347-1352, 2001.

MOVIG, K.L.; LEUFKENS, H.G.; BELITSER, S.V.; LENDERINK, A.W.; EGBERTS, A.C. Selective serotonin reuptake inhibitor-induced urinary incontinence. **Pharmacoepidemiol. Drug Saf.**, v. 11, n. 4, p. 271-279, 2002.

MUIJSERS, R.B.; PLOSKER, G.L.; NOBLE, S. Sertraline: a review of its use in the management of major depressive disorder in elderly patients. **Drugs Aging**, v. 19, n. 5, p. 377-392, 2002.

MURRAY, C.J.; LOPEZ, A.D. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: global burden of disease study. **Lancet**, v. 349, n. 1498-1504, 1997.

NIELSEN, H.; HASENKAM, J.M.; PILEGAARD, H.K.; AALKJAER, C.; MORTENSEN, F.V. Age-dependent changes in alpha-adrenoceptor-mediated contractility of isolated human resistance arteries. **Am. J. Physiol.**, v. 263, n. 4 pt 2, p. H1190-1196, 1992.

NISHIZAWA, O.; FUKUDA, T.; MATSUZAKI, A.; MORIYA, I.; HARADA, T.; TSUCHIDA, S. Role of the sympathetic nerve in bladder and urethral sphincter function during the micturition cycle in the dog evaluated by pressure flow EMG study. **J. Urol.**, v. 134, n. 6, p. 1259-1261, 1985.

NIZET, A. The isolated perfused kidney: possibilities, limitations and results. **Kidney Int.**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 1975.

NOGUERA, M.A.; D'OCÓN, M.P. Different and common intracellular calcium-stores mobilized by noradrenaline and caffeine in vascular smooth muscle. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, v. 345, n. 3, p. 333-341, 1992.

ORALLO, F. Regulation of cytosolic calcium levels in vascular smooth muscle. **Pharmacol. Ther.**, v. 69, n. 3, p. 153-171, 1996.

PAREKH, A.B.; PUTNEY, J.W. JR. Store-operated calcium channels. **Physiol. Rev.**, v. 85, n. 2, p. 757-810, 2005.

PARK, K.S.; KONG, I.D.; PARK, K.C.; LEE, J. W. Fluoxetine inhibits L-type Ca²⁺ and transient outward K⁺ currents in rat ventricular myocytes. **Yonsei Med. J.**, v. 40, n. 2, p. 144-151, 1999.

PERAZELLA, M. A. Pharmacologic options available to treat symptomatic intradialytic hypotension. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 38, n. 4, p. S26-36, 2001.

PILLANS, P.I.; WOOD, S.M. Cisapride increases micturition frequency. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 19, n. 4, p. 336-338, 1994.

RAMAGE, A.G. The role of central 5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin) receptors in the control of micturition. **Br. J. Pharmacol.**, v. 147, n. 2, p. S120-131, 2006.

READ, K.E.; SANGER, G.J.; RAMAGE, A.G. Evidence for the involvement of central 5-HT₇ receptors in the micturition reflex in anaesthetized female rats. **Br. J. Pharmacol.**, v. 140, n. 1, p. 53-60, 2003.

REMICK, R.A. Anticholinergic side effects of tricyclic antidepressants and their management. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 12, p. 225-231, 1988.

RICHELSON, E. Interactions of antidepressants with neurotransmitter transporters and receptors and their clinical relevance. **J. Clin. Psychiatry**, v. 64, Suppl 13, p. 5-12, 2003.

ROSE, B.D.; RENNKE, H.G. **Fisiopatologia renal**. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999.

SEKI, S.; IGAWA, Y.; KAIDOH, K.; ISHIZUKA, O.; NISHIZAWA, O.; ANDERSSON, K.E. Role of dopamine D1 and D2 receptors in the micturition reflex in conscious rats. **Neurourol. Urodyn.**, v. 20, n. 1, p. 105-113, 2001.

SERRETTI, A.; CHIESA, A. Treatment-emergent sexual dysfunction related to antidepressants: a meta-analysis. **J. Clin. Psychopharmacol.**, v. 29, n. 3, p. 259-266, 2009.

SMANI, T.; PATEL, T.; BOLOTINA, V.M. Complex regulation of store-operated Ca^{2+} entry pathway by PKC-epsilon in vascular SMCs. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.**, v. 294, n. 6, p. C1499-1508, 2008.

SMITH, P.P.; KUCHEL, G.A. Continuous uroflow cystometry in the urethane-anesthetized mouse. **Neurourol. Urodyn.**, v. 29, n. 7, p. 1344-1349, 2010.

SOMLYO, A.P.; SOMLYO, A.V. Signal transduction and regulation in smooth muscle. **Nature**, v. 372, n. 6503, p. 231-236, 1994.

SOMLYO, A.P.; WU, X.; WALKER, L.A.; SOMLYO, A.V. Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.**, v. 134, p. 201-234, 1999.

STANTON, B.A.; KOEPPEN, B.M. **Berne & Levy – Fisiologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

TATSUMI, M.; GROSHAN, K.; BLAKELY, R.D.; RICHELSON, E. Pharmacological profile of antidepressants and related compounds at human monoamine transporters. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 340, n. 2-3, p. 249-258, 1997.

TIERNEY, J.G. Treatment-resistant depression: managed care considerations. **J. Manag. Care Pharm.**, v.13, n. 6 Suppl A, p. S2-7, 2007.

TONINI, M.; CANDURA, S.M. 5-HT₄ receptor agonists and bladder disorders. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 17, n. 9, p. 314-316, 1996.

TORTA, R.; SIRI, I.; CALDERA, P. Sertraline effectiveness and safety in depressed oncological patients. **Support Care Cancer**, v. 16, n. 1, p. 83-91, 2008.

van MELLE, J.P.; BUIKEMA, H.; van den BERG, M.P.; van BUITEN, A.; van VELDHUISEN, D.J.; BOONSTRA, P.W.; van GILST, W.H. Sertraline causes strong coronary vasodilation: possible relevance for cardioprotection by selective serotonin reuptake inhibitors. **Cardiovasc. Drugs Ther.**, v. 18, n. 6, p. 441-447, 2004.

VILA, J.M.; MEDINA, P.; SEGARRA, G.; LLUCH, P.; PALLARDÓ, F.; FLOR, B.; LLUCH, S. Relaxant effects of antidepressants on human isolated mesenteric arteries. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v. 48, n. 2, p. 223-229, 1999.

VOTOLATO, N.A.; STERN, S.; CAPUTO, R.M. Serotonergic Antidepressants and Urinary Incontinence. **Int. Urogynecol. J. Pelvic Floor Dysfunct.**, v. 11, n. 6, p. 386-388, 2000.

WALSER, M.; DAVIDSON, D.G.; ORLOFF, J. The renal clearance of alkali-stable inulin. **J. Clin. Invest.**, v. 34, p. 1520-1523, 1955.

WEGENER, J.W.; SCHULLA, V.; LEE, T.S.; KOLLER, A.; FEIL, S.; FEIL, R.; KLEPPISCH, T.; KLUGBAUER, N.; MOOSMANG, S.; WELLING, A.; HOFMANN, F. An essential role of Cav1.2 L-type calcium channel for urinary bladder function. **FASEB J.**, v. 18, n. 10, p. 1159-1161, 2004.

WIDMAIER, E.P.; RAFF, H.; STRANG, K.T. Vander, Sherman & Luciano - **Fisiologia Humana - Os Mecanismos das funções corporais**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

WOLF, N.J.; HOPKO, D.R. Psychosocial and pharmacological interventions for depressed adults in primary care: a critical review. **Clin. Psychol. Rev.**, v. 28, n. 1, p. 131-161, 2008.

WUERTH, D.; FINKELSTEIN, S.H.; CIARCIA, J.; PETERSON, R.; KLIGER, A.S.; FINKELSTEIN, F.O. Identification and treatment of depression in a cohort of patients maintained on chronic peritoneal dialysis. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 37, n. 5, p. 1011-1017, 2001.

YALCIN, A.U.; KUDAIBERDIEVA, G.; SAHIN, G.; GORENEK, B.; AKCAR, N.; KUSKUS, S.; BAYRAK, F.; TIMURALP, B. Effect of sertraline hydrochloride on cardiac autonomic dysfunction in patients with hemodialysis-induced hypotension. **Nephron Physiol.**, v. 93, n. 1, p. P21-28, 2003.

YARIS, E.; KESIM, M.; KADIOGLU, M.; KALYONCU, N.I.; ULKU, C.; OZYAVUZ, R. The effects of paroxetine on rat isolated vas deferens. **Pharmacol. Res.**, v. 48, n. 4, p. 335-345, 2003.

YOSHIMURA, N.; KAIHO, Y.; MIYAZATO, M.; YUNOKI, T.; TAI, C.; CHANCELLOR, M.B.; TYAGI, P. Therapeutic receptor targets for lower urinary tract dysfunction. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, v. 377, n. 4-6, p. 437-48, 2008.